

ПОКАЗАТЕЛИ НЕЙРОМОДУЛИНА И В-АРРЕСТИНА-2 У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ С ПЕРИНАТАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ЦНС

Андреев А.В.¹, Харламова Н.В.², Песенкина А.А.³, Кряжева Е.О.⁴

¹Андреев Артём Владимирович – врач анестезиолог-реаниматолог, отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных, аспирант,

кафедра акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии, Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова;

²Харламова Наталья Валерьевна – доктор медицинских наук, заведующая отделом, отдел неонатологии и клинической неврологии детского возраста, профессор,

кафедра акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии;

³Песенкина Анна Алексеевна – ординатор,

кафедра акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова;

⁴Кряжева Елизавета Олеговна – студент,

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Ивановская государственная медицинская академия Минздрава России, г. Иваново

Аннотация: в настоящий момент в научных работах достаточно хорошо изучены отдельные нейромаркеры повреждения ЦНС у новорожденных. Одними из таких маркеров являются ростовой белок нейромодулин, который способствует росту нейронов и пластичности нервных окончаний, и адапторный белок β -аррестин-2. Цель исследования – изучить концентрации нейромодулина и β -аррестина-2 в первые сутки жизни у глубоко недоношенных новорожденных с перинатальным поражением ЦНС. Обследованы 81 глубоко недоношенных новорожденных, которые были разделены на группы в зависимости от наличия внутрижелудочковых кровоизлияний (ВЖК): I группа – 48 детей, у которых в ходе наблюдения в раннем неонатальном периоде было верифицировано ВЖК; II группа – 33 новорожденных без ВЖК. Уровень нейромодулина у глубоко недоношенных новорожденных, у которых впоследствии не сформировалось ВЖК, составил 0,541 [0,461; 0,595] нг/мл с референтным интервалом от 0,122 до 0,982 нг/мл. При сравнительном анализе концентрации нейромодулина выявлено, что у детей I группы значения нейромодулина были статистически значимо выше, чем у детей II группы (1,469 [1,284; 1;966] нг/мл vs 0,541 [0,461; 0,595] нг/мл; $p < 0,001$). Для глубоко недоношенных детей II группы концентрация β -аррестина-2 в крови составила 0,986 [0,883; 1,127] нг/мл, референтный интервал: 0,666 – 1,233 нг/мл. Выводы. Установлены референтные интервалы концентраций нейромодулина и β -аррестина-2 в первые сутки жизни у глубоко недоношенных новорожденных с перинатальным поражением ЦНС в зависимости от наличия ВЖК и ГВ.

Ключевые слова: нейромодулин, β -аррестин-2, глубоко недоношенные новорожденные, внутрижелудочковые кровоизлияния.

Для максимально ранней диагностики внутрижелудочковых кровоизлияний (ВЖК) и коррекции выявляемых отклонений в развитии ребенка необходимы качественная и количественная оценка изменений, обусловленных морфофункциональной незрелостью и/или патологическим процессом [1]. Использование современных методов исследования, в том числе, биохимических маркеров (нейромодулин) в комплексе диагностики с клиническими показателями у глубоко недоношенных новорожденных позволит улучшить выявление церебральных нарушений и оптимизировать их коррекцию [2, 3].

Белок GAP-43 является ключевым регуляторным белком нервных окончаний и играет важную роль в процессе роста и развития нейронов, «навигации» их конусов роста по ориентирующим внеклеточным сигналам, что необходимо для формирования сложной топографии межнейрональных связей [4, 5, 6]. В настоящий момент нет данных о значимых уровнях у новорожденных детей.

β -аррестин-2 – адапторный белок, регулирующий целый ряд биохимических процессов, действует, в том числе, на эндотелиальную NO-синтазу (eNOS), β -адренорецепторы, рецепторы, сопряженные с G-белком, участвует в различных физиологических процессах, в том числе пролиферации, дифференцировке и апоптозе [7]. К настоящему времени также отсутствуют данные о значимых уровнях у новорожденных детей.

Цель исследования – изучить концентрации нейромодулина и β -аррестина-2 в первые сутки жизни у глубоко недоношенных новорожденных с перинатальным поражением ЦНС.

Материалы и методы. На базе ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации проводилось проспективное одноцентровое исследование.

В исследование включались новорожденные со сроком гестации менее 32 недель и массой тела при рождении менее 1500 г.

Обследован 81 новорожденный ребенок в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных (ОРИТН). Все дети на этапе анализа были разделены на группы в зависимости от наличия внутрижелудочковых кровоизлияний (ВЖК): I группа – 48 детей, у которых в ходе наблюдения в раннем неонатальном периоде было верифицировано ВЖК; II группа – 33 новорожденных без ВЖК.

При диагностике ВЖК использовали классификацию Papile L. et al. [8]. Материалом для лабораторного исследования служила венозная кровь, взятая в 1 сутки жизни в количестве 0,3 мл. Исследование проводилось в лаборатории клинической биохимии и генетики. Определение концентрации нейромодулина и β -аррестина-2 осуществлялось иммуноферментным методом на анализаторе «EL-808» (США) реагентами фирмы «Cloud-Clone Corp» (США) согласно методике к наборам. Результаты выражались в нг/мл.

Клиническая характеристика детей, включенных в исследование, приводится в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика пациентов, включенных в исследование

Показатели	Группа I (n=48)	Группа II (n=33)	p
Гестационный возраст, недели	29 [27; 30]	29 [28,0; 30,0]	0,63 7
Масса, г	1200 [970; 1450]	1250 [960; 1390]	0,95 6
Длина, см	37 [33,5; 39,5]	37 [35; 39]	0,60 0
Оценка по шкале Апгар на 1 мин, баллы	4 [3; 5]	5 [4; 5]	0,03 4
Оценка по шкале Апгар на 5 мин, баллы	6 [5; 6]	6 [6; 6]	0,03 7
ВЖК I степени, n (%)	29 (60,4%)	0	–
ВЖК II степени, n (%)	15 (31,3%)	0	–
ВЖК III-IV степени, n (%)	4 (8,3%)	0	–

Установлено, что группы были сопоставимы по массо-ростовым показателям, сроку гестации ($p < 0,05$). Не было значимых статистических различий по степени дыхательной недостаточности при рождении, а также необходимости интубации трахеи в родовом зале и потребности в ИВЛ в ОРИТН ($p < 0,05$). Группа I имела значимо меньшую оценку по шкале Апгар в конце 1-ой ($p = 0,034$) и 5-ой минут жизни ($p = 0,037$) в сравнении с группой II.

Статистическая обработка полученных данных выполнялась с помощью использования программы Statistica 13.0 (Statsoft Ink, США). Количественные характеристики представлены в формате: Me [Q25%; Q75%]. Для концентраций нейромодулина и β -аррестина-2 отдельно рассчитывались референтные интервалы в формате Me [Q2,5%; Q97,5%] соответственно требованиям ГОСТ Р 53022.3 – 2008. Для оценки различий использовался критерий Манна-Уитни для несвязанных выборок. Корреляционный анализ проводился с помощью определения коэффициента корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Значения концентрации нейромодулина в крови у глубоко недоношенных новорожденных в первые сутки жизни без верифицированного ВЖК (группа II) в зависимости от гестационного возраста представлены в таблице 2. Уровень нейромодулина у глубоко недоношенных новорожденных, у которых впоследствии не сформировалось ВЖК, составил 0,541 [0,461; 0,595] нг/мл с референтным интервалом от 0,122 до 0,982 нг/мл.

Таблица 2. Концентрация нейромодулина (GAP-43) в 1-ые сутки жизни глубоко недоношенных новорожденных без верифицированного ВЖК (II группа)

Гестационный возраст, недели	Концентрация нейромодулина (GAP-43), нг/мл				
	2,5%	25%	Me	75%	97,5%
25-27 недель (n=7)	0,122	0,461	0,541	0,595	0,982
28-29 недель (n=11)	0,454	0,495	0,593	0,641	0,683
30-31 неделя (n=15)	0,122	0,411	0,498	0,587	0,625
Общее значение (n=33)	0,259	0,437	0,541	0,609	0,982

Значения концентрации нейромодулина в крови у глубоко недоношенных новорожденных без верифицированного ВЖК у детей с ГВ 25-27 недель, 28-29 недель и 30-31 неделя (таблица 2) статистически значимых различий не имеют ($p>0,05$).

В зависимости от наличия ВЖК получены следующие данные о концентрации нейромодулина (GAP-43) в первые сутки жизни глубоко недоношенных новорожденных (таблица 3), при этом концентрация нейромодулина у детей I группы составила 1,469 [1,284; 1,966] нг/мл, минимальное и максимальное значение при этом – 0,136 и 2,911 нг/мл соответственно.

Таблица 3. Концентрация нейромодулина (GAP-43) в 1-ые сутки жизни у глубоко недоношенных новорожденных

Концентрация нейромодулина (GAP-43), нг/мл		p
I группа	II группа	
1,469 [1,284; 1,966]	0,541 [0,461; 0,595]	<0,001

При сравнительном анализе концентрации нейромодулина выявлено, что у детей с наличием верифицированного ВЖК (I группа) значения нейромодулина были статистически значимо выше, чем у детей с отсутствием ВЖК (II группа) ($p<0,001$). Такие статистические различия выявлены среди детей всех трех подгрупп гестационного возраста (ГВ) ($p<0,001$).

Значения концентрации нейромодулина (GAP-43) в зависимости от степени ВЖК представлены в таблице 4.

Таблица 4. Концентрация нейромодулина (GAP-43) в 1-ые сутки жизни глубоко недоношенных новорожденных в зависимости от степени ВЖК

Степень ВЖК	Концентрация нейромодулина (GAP-43), нг/мл				
	2,5%	25%	Ме	75%	97,5%
ВЖК I ст. (n=29)	0,136	1,065	1,348	1,525	2,634
ВЖК II ст. (n=15)	0,764	1,457	1,492	2,134	2,911
ВЖК III-IV ст. (n=4)	1,348	1,703	2,169	2,388	2,497

Стоит отметить, что среди всех детей, включенных в исследование, степень ВЖК статистически значимо коррелировала с концентрацией нейромодулина в крови ($r=0,771$; $p<0,001$); в подгруппе детей с ГВ 25-27 недель степень ВЖК статистически значимо коррелировала с концентрацией нейромодулина ($r=0,869$; $p<0,001$), как и в подгруппе детей с ГВ 28-29 недель ($r=0,771$; $p<0,001$) и в подгруппе детей с ГВ 30-31 неделя ($r=0,794$, $p<0,001$).

Значения концентрации β -аррестина-2 в крови у глубоко недоношенных новорожденных в первые сутки жизни без верифицированного ВЖК в зависимости от гестационного возраста представлены в таблице 5. Для глубоко недоношенных детей II группы концентрация β -аррестина-2 в крови составила 0,986 [0,883; 1,127] нг/мл, при этом референтный интервал (2,5%; 97,5%): 0,666 – 1,233 нг/мл. По данным литературы для новорожденных детей также отсутствуют какие-либо данные об референтных значениях β -аррестина-2 в сыворотке крови.

Таблица 5. Концентрация β -аррестина-2 в 1-ые сутки жизни глубоко недоношенных новорожденных II группы, нг/мл

ГВ, недели	Концентрация β -аррестина-2, нг/мл				
	2,5%	25%	Ме	75%	97,5%
Общее значение (n=40)	0,666	0,883	0,986	1,127	1,233
25-27 недель (n=6)	0,739	0,908	1,041	1,167	1,197
28-29 недель (n=14)	0,614	0,835	0,925	1,019	1,245
30-31 неделя (n=20)	0,719	0,902	1,017	1,130	1,222

Концентрация β -аррестина-2 в 1-е сутки жизни глубоко недоношенных новорожденных II группы (без верифицированного ВЖК) статистически не различалась между подгруппами в зависимости от ГВ ($p>0,05$).

Однако при статистическом анализе выявлено, что уровень β -аррестина-2 у детей с ВЖК был статистически значимо меньше в сравнении с детьми II группы ($p<0,001$). Показатели были меньше во всех подгруппах в зависимости от ГВ, однако только среди детей с ГВ 30-31 неделя наблюдалось значимое статистическое различие ($p<0,001$), в остальных случаях различия были не значимы ($p>0,05$) (таблица 6).

Таблица 6. Концентрация β -аррестина-2 в 1-ые сутки жизни глубоко недоношенных новорожденных, нг/мл

ГВ, недели	Концентрация β -аррестина-2, нг/мл			p
	I группа – ВЖК	II группа – без ВЖК		
25-27 недель	0,916 [0,500; 1,048]	1,041 [0,908; 1,167]		>0,05

28-29 недель	0,535 [0,276; 1,124]	0,925 [0,835; 1,019]	>0,05
30-31 неделя	0,510 [0,309; 0,773]	1,017 [0,902; 1,130]	<0,001
Общее значение	0,549 [0,307; 0,972]	0,986 [0,883; 1,127]	<0,001

Обсуждение. Нейромодулин необходим для развития аксонов, чтобы расти к своим правильным мишеням и формировать синаптические связи во время развития нейронов и после их возможного повреждения [9]. При отсутствии значимого повреждения нейронов вне зависимости от ГВ концентрация нейромодулина в крови у детей II группы составила 0,541 [0,461; 0,595] нг/мл. Так как нейромодулин в норме всегда располагается в клетке [9, 10], на наш взгляд, это максимальная концентрация белка, которая может быть в крови у глубоко недоношенных новорожденных в первые сутки жизни в ответ на тяжелую или умеренную асфиксию при рождении. Полученные значения нейромодулина (0,122 – 0,982 нг/мл) у глубоко недоношенных новорожденных без верифицированного ВЖК (группа II) могут быть использованы как вариант гестационной нормы (ГВ 26–31 неделя) в первые сутки жизни.

По результатам лабораторного исследования у детей с верифицированным ВЖК концентрация нейромодулина в крови в первые сутки жизни была практически в 3 раза выше, чем у новорожденных без ВЖК (1,469 [1,284; 1,966] нг/мл против 0,541 [0,461; 0,595] нг/мл соответственно, $p < 0,001$). Данные о значимых повышении концентрации нейромодулина в крови у глубоко недоношенных новорожденных с перинатальным поражением ЦНС в первые сутки жизни могут быть обусловлены повреждением нейронов незрелой мозговой ткани в результате гипоксии с последующим повреждением гематоэнцефалического барьера путем сложного каскада реакций [11, 12, 13].

Полученные значения β -аррестина-2 (0,666 – 1,233 нг/мл) у детей II группы также могут быть использованы как вариант гестационной нормы (ГВ 26–31 неделя) в первые сутки жизни.

В связи с этим дальнейшее изучение содержания нейромодулина и β -аррестина-2 в крови у глубоко недоношенных новорожденных позволило бы углубить наши представления о патогенезе перинатального поражения ЦНС, а также внутрижелудочковых кровоизлияний.

Выводы. Установлены референтные интервалы концентраций нейромодулина и β -аррестина-2 в первые сутки жизни у глубоко недоношенных новорожденных с перинатальным поражением ЦНС в зависимости от наличия ВЖК и ГВ.

Источники финансирования: Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-315-90074.

Список литературы

1. Андреев А.В., Песенкина А.А., Харламова Н.В. Патогенез перинатального поражения центральной нервной системы у недоношенных новорожденных // *Материалы 65-й Всероссийской межвузовской студенческой научной конференции с международным участием* / Тверской гос. мед. ун-т. Тверь, 2019. 1086 с.
2. Gilard V. [et al.]. Intraventricular Hemorrhage in Very Preterm Infants: A Comprehensive Review // *J Clin Med.*, 2020. № 9 (8). P. 2447.
3. Матвеева Е.А. [и др.]. Региональная модель реализации медицинской помощи детям, родившимся с очень низкой и экстремально низкой массой тела // *Рос. Вестн. перинатол. и педиатр.*, 2018. № 63 (6). С. 68–74.
4. C. Sortica da Costa [et al.]. Changes in hemodynamics, cerebral oxygenation and cerebrovascular reactivity during the early transitional circulation in preterm infants // *Pediatr Res.* 2019. № 86 (2). P. 247-253.
5. Committee on Fetus and Newborn and Section on Anesthesiology and Pain Medicine Prevention and management of procedural pain in the neonate: an update // *Pediatrics*, 2016. № 137 (2). e20154271.
6. Holahan M.R. A Shift from a Pivotal to Supporting Role for the Growth Associated Protein (GAP-43) in the Coordination of Axonal Structural and Functional Plasticity // *Front. Cell. Neurosci.*, 2017. № 11. P. 266.
7. Lymperopoulos A. [et al.]. Not all arrestins are created equal: Therapeutic implications of the functional diversity of the β -arrestins in the heart // *World. J. Cardiol.*, 2019. № 11 (2). P. 47-56.
8. Papile L. [et al.]. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage in premature infants: a study of infants < 1500gms // *J Pediatr.*, 1978. № 92. P. 529–534.
9. Chung D., Shum A., Caraveo G. GAP-43 and BASP1 in Axon Regeneration: Implications for the Treatment of Neurodegenerative Diseases // *Front Cell Dev Biol.* 2020. №8. 567537.
10. Holahan M.R. GAP-43 in synaptic plasticity: molecular perspectives / M. R. Holahan // *Research and Reports in Biochemistry.* 2015. № 5. P. 137-46.
11. Perlman J. *Neurology: Neonatology Questions and Controversies.* Elsevier, 2018. 320 p.

12. Нейробиологические основы возникновения и восстановительного лечения перинатального поражения центральной нервной системы у детей. Под ред. Намазовой-Барановой Л.С. Москва: ПедиатрЪ, 2016. 184 с.
13. Голосная Г.С. [и др.]. Взаимодействие нейротрофических и проапоптотических факторов в патогенезе гипоксического поражения головного мозга у новорожденных // Педиатрия, 2010. № 89 (1). С. 20-25.