

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.831-005.4-053.2-07

Базарный В.В., Вольхина С.А., Ахманаева Е.Ю., Ковтун О.П.

СЫВОРОТОЧНЫЕ БИОМАРКЕРЫ В ДИАГНОСТИКЕ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ У ДЕТЕЙ

ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, 620028, г. Екатеринбург, Российская Федерация

Диагностика гипоксически-ишемической энцефалопатии новорожденных остается актуальной проблемой неонатологии. В ходе работы были обследованы дети в возрасте до 1 года — здоровые и пациенты с гипоксически-ишемическим повреждением ЦНС. Определялся уровень нейротрофических факторов в крови методом ИФА. Были выявлены повышение активности нейронспецифической енолазы (NSE), снижение содержания нейротрофического фактора мозга (BDNF) и фактора роста нервов (b-NGF) в сыворотке у детей раннего возраста. Эти лабораторные параметры характеризуются при данной патологии разнонаправленными сдвигами. ROC-анализ позволил установить диагностическую чувствительность и диагностическую специфичность для NSE — 56 и 85% соответственно и для BDNF — 91 и 46% соответственно. Уровень фактора роста нервов не обладал сколько-нибудь значимой диагностической эффективностью. Корреляционный анализ не позволил выявить связи между состоянием новорожденного при родах по шкале Апгар и уровнем нейротрофических факторов ($r < 0,3$, $p > 0,05$).

Ключевые слова: нейротрофические факторы; гипоксически-ишемическая энцефалопатия.

Для цитирования: Базарный В.В., Вольхина С.А., Ахманаева Е.Ю., Ковтун О.П. Сывороточные биомаркеры в диагностике гипоксически-ишемического поражения центральной нервной системы у детей. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61 (5): 283-285. DOI 10.18821/0869-2084-2016-61-5-283-285

Bazarnyi V.V., Volkhina S.A., Akhmanaeva E.Yu., Kovtun O.P.

THE SERUM BIOMARKERS IN DIAGNOSTIC OF HYPOXIC ISCHEMIC AFFECTION OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM IN CHILDREN

The Uralskii state medical university of Minzdrav of Russia, 620028 Yekaterinburg, Russia

The diagnostic of hypoxic ischemic encephalopathy of newborns continues to be an actual problem of neonatology. In the course of study healthy children and children with hypoxic ischemic damage of central nervous system were examined. The level of neurotrophic factors in blood was determined using enzyme-linked immunosorbent assay technique. The study established increasing of activity of neuro-specific enolase (NSE), decreasing of content of brain derived neurotrophic growth factor (BDNF) in serum of children of early age. These laboratory parameters are characterized by multi-directional shifts under the given pathology. The receiver operating characteristic analysis permitted to establish diagnostic sensitivity and diagnostic specificity for NSE - 56% and 85% correspondingly and for BDNF - 91% and 46% correspondingly. The level of brain derived neurotrophic growth factor had no significant diagnostic effectiveness. The correlation analysis established no relationships between state of newborn under delivery on Apgar score and level of neurotrophic factors ($r < 0.3$, $p > 0.05$).

Key words: neurotrophic factors; hypoxic ischemic encephalopathy

For citation: Bazarnyi V.V., Volkhina S.A., Akhmanaeva E.Yu., Kovtun O.P. The serum biomarkers in diagnostic of hypoxic ischemic affection of central nervous system in children. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2016; 61 (5): 283-285. (in Russ.)

DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-5-283-285

For correspondence: Bazarnyi V.V., doctor of medical sciences, professor of the chair of clinical laboratory diagnostic and bacteriology. e-mail: vlad-bazarny@yandex.ru

Information about authors:

Bazarnyi V.V., <http://orcid.org/0000-0003-0966-9571>

Akhmanaeva E.Y., <http://orcid.org/0000-0001-7068-9526>

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Financing. The study had no sponsor support

Received 01.12.2015
Accepted 15.12.2015

Гипоксически-ишемическая энцефалопатия рассматривается как сложный патологический процесс, в понимании патогенеза которого до сих пор существуют

пробелы, а лечебно-диагностические технологии недостаточно эффективны. В значительной степени это связано с тем, что в современной клинической практике отсутствуют бесспорно значимые и адекватно определяемые лабораторные критерии нейронального повреждения, которые коррелировали бы с тяжестью заболевания и прогнозом поражения ЦНС, как это показано для электроэнцефалограммы и магнитно-резонансной томографии, диагностическая чувствительность (ДЧ) и диа-

Для корреспонденции: Базарный Владимир Викторович, д-р мед. наук, проф. каф. клинической лабораторной диагностики и бактериологии ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, 620028, Екатеринбург, e-mail: vlad-bazarny@yandex.ru

гностическая специфичность (ДС) которых составляет 89 — 98% [7, 9].

К числу потенциальных лабораторных маркеров перинатального повреждения ЦНС относят, в частности, глиальный кислый фибриллярный белок — ключевой белок скелета, специфичный для астроцитов: нейронспецифическую енолазу (NSE) и некоторые другие. Особый интерес в последние годы вызывает изучение нейротрофических факторов, представителем которых являются нейротрофический фактор мозга (BDNF — brain-derived neurotrophic factor) и фактор роста нервов (NGF). Это полифункциональные молекулы, участвующие в регуляции роста и дифференцировании нервной ткани. Они обладают антиапоптотическим и другими эффектами, обеспечивающими пластичность нервной ткани и восстановительные процессы в ней [1, 2, 5, 6], но их диагностическая эффективность недостаточно оценена.

Учитывая высокую частоту перинатальной патологии ЦНС у детей и отсутствие лабораторных алгоритмов ее мониторинга, нами была сформулирована цель данной работы — определение клинико-диагностической информативности сывороточных биомаркеров повреждения нервной ткани при гипоксически-ишемическом повреждении ЦНС у детей раннего возраста.

Материалы и методы. Работа основана на анализе клинико-лабораторных данных 140 детей в возрасте от 1 мес до 1 года. Основную группу составили 100 детей с установленным диагнозом — перинатальное поражение ЦНС среднетяжелой и тяжелой степени. Диагностика и оценка степени тяжести перинатального поражения ЦНС осуществлялись в соответствии с общепринятыми клинико-инструментальными критериями гипоксических и геморрагических последствий перинатальных поражений нервной системы у детей 1-го года жизни. Контрольная группа представлена 46 здоровыми младенцами, сопоставимыми с основной группой по полу, возрасту, массе при рождении, возрасту матери.

Комплекс лабораторного обследования включал определение в сыворотке детей уровней b-NGF (RayBiotech. Inc.) и BDNF (R&D Systems) методом твердофазного гетерогенного иммуноферментного анализа. Учет результата реакции проводили на вертикальном планшетном фотометре Multiscan Ascent 354 (Финляндия).

Определение активности нейронспецифической енолазы (NSE) выполняли на автоматическом анализаторе Modular Analytics E170 (Roche) с использованием оригинальных тест-систем и контрольных материалов.

Статистическая обработка результатов проведена на основе методов вариационной статистики с использованием программы Statistica 6.0. Для сравнительного ана-

лиза количественных признаков использовали критерий Манна—Уитни. Корреляционные связи определяли с помощью коэффициента Спирмена.

Для оценки диагностической эффективности измеряемых параметров использовали ROC-анализ, который заключается в построении кривой зависимости специфичности и чувствительности теста, а площадь под кривой (AUC) является интегральной характеристикой диагностической ценности теста. С этой целью использована надстройка AtteStat для офисной программы Excel.

Результаты. Клинически дети основной группы были практически здоровы. У 100% обследованных в основной группе выявлены различные неврологические отклонения, прежде всего двигательные нарушения (пирамидная недостаточность, миотонический синдром, парез/паралич центрального и периферического характера), гипертензионно-гидроцефальный синдром и вегетовисцеральная дисфункция. Всем детям была выполнена нейросонография (НСГ), при которой установлено отсутствие изменений в НСГ-картине у здоровых детей в 100% случаев. У младенцев основной группы выявлены кисты в перивентрикулярной зоне и умеренное расширение субарахноидальных пространств. Следовательно, результаты клинико-инструментального исследования указывают на наличие признаков перинатального повреждения ЦНС у детей основной группы. Позже (в течение года наблюдения) у них была отмечена задержка в психомоторном развитии на 64% ($p < 0,001$), в то время как в группе сравнения не выявлено отклонений в неврологическом статусе и психомоторном развитии.

Основная задача данного исследования заключалась в определении уровня нейротрофических факторов у детей обеих групп (табл. 1). Активность NSE при гипоксически-ишемическом поражении ЦНС была существенно повышена, что характерно для данной патологии [7, 8]. Содержание BDNF и NGF у больных детей было снижено на 39 и 32% соответственно ($p < 0,05$).

Следовательно, перинатальная травма ЦНС при гипоксически-ишемическом повреждении сопровождалась повышением уровня нейронспецифической енолазы, при этом одновременно снижалось содержание нейротрофических факторов роста.

Не все изученные биомаркеры обладали одинаковой диагностической эффективностью, о чем свидетельствуют величины ДЧ, ДС и показатель AUC (табл. 2). Наиболее высокая ДЧ при гипоксически-ишемическом повреждении ЦНС определена для BDNF — 91%, а ДС — для NSE (85%), т.е., наиболее чувствительным тестом в диагностике энцефалопатии оказался BDNF (однако его специфичность была очень низкой), наиболее специфичным — NSE.

При этом следует отметить, что диагностическая эффективность каждого из изученных тестов составляет всего 70%, что несколько ниже представленных в ли-

Таблица 1

Содержание некоторых сывороточных биомаркеров (в пкг/мл) в крови детей при гипоксически-ишемической энцефалопатии

Показатель	Основная группа	Контрольная группа
BDNF	914,9±63,2 $p = 0,003$	1498,3±131,2
b-NGF	130,0±13,8 $p = 0,039$	192,5±20,7
NSE	40,0±2,0 $p = 0,001$	27,6±1,5

Таблица 2

Диагностическая информативность сывороточных биомаркеров при гипоксически-ишемической энцефалопатии

Показатель	ДЧ, %	ДС, %	AUC
BDNF	91	46	0,70
b-NGF	57	72	0,64
NSE	56	85	0,70

тературе диагностических инструментальных методов нейровизуализации [7, 9]. Диагностическая эффективность фактора роста нервов оказалась достаточно низкой.

Для определения взаимосвязи клинических и лабораторных данных был проведен корреляционный анализ уровня нейротрофических факторов и состояния ребенка при рождении, оцененного в баллах по шкале Апгар. Такой методический подход не позволил выявить связей между состоянием ребенка при родах по шкале Апгар и уровнем нейротрофических факторов ($r < 0,3$; $p > 0,05$).

NSE, BDNF и b-NGF в литературе рассматриваются как потенциальные биомаркеры повреждения ЦНС. В частности, изменения их уровня в ликворе показано при травматическом повреждении мозга, целом ряде неврологических и психических заболеваний [3, 4, 6]. Этим определяется интерес исследователей к оценке возможности их применения в клинической практике, в том числе педиатрической.

Диагностика гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных и детей раннего возраста остается одной из проблемных задач неонатологии. В данной работе нами определены изменения уровней вышеперечисленных сывороточных биомаркеров у детей. Установленные сдвиги изучаемых лабораторных показателей могут в определенной степени объяснить нарушения процессов формирования некоторых структур ЦНС, течение восстановительных процессов в нервной ткани в ответ на ее гипоксическое повреждение. Признавая важную роль нейротрофических факторов в механизмах патогенеза гипоксии мозга, мы не обнаружили их значительной диагностической эффективности. Поэтому общепризнанный комплексный подход к установлению данного диагноза с применением современных методов нейровизуализации остается актуальным.

Заключение. Перинатальное поражение ЦНС гипоксически-ишемической природы характеризуется повышением уровня NSE, снижением содержания BDNF и NGF в крови у детей раннего возраста. Однако невысокая чувствительность теста на NSE, низкая специфич-

ность BDNF и низкая диагностическая эффективность показателя фактора роста нервов не позволяют рекомендовать их в качестве обязательных тестов. И поэтому процесс оценки информации о лабораторных биомаркерах перинатального повреждения ЦНС требует дальнейшего анализа.

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bothwell M. NGF, BDNF, NT3, and NT4. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2014; 220: 3—15.
2. Calabrese F., Rossetti A.C., Racagni G., Gass P., Riva M.A., Molteni R. Brain-derived neurotrophic factor: a bridge between inflammation and neuroplasticity. *Front. Cell. Neurosci.* 2014; 8: 430.
3. Chalalak L.F., Sánchez P., Adams-Huet B., Laptook A.R., Heyne R.J., Rosenfeld C.R. Biomarkers for severity of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy and outcomes in newborns receiving hypothermia therapy. *J. Pediatr.* 2014; 164(3): 468—74.
4. Huang T.L., Lin C.C. Advances in biomarkers of major depressive disorder. *Adv. Clin. Chem.* 2015; 68: 177—204.
5. Lu B., Nagappan G., Lu Y. BDNF and synaptic plasticity, cognitive function, and dysfunction. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2014; 220: 223—50.
6. Martínez-Levy G.A., Cruz-Fuentes C.S. Genetic and epigenetic regulation of the brain-derived neurotrophic factor in the central nervous system. *Yale J. Biol. Med.* 2014; 87(2): 173—86.
7. Massaro A.N., Jeromin A., Kadom N., Vezina G., Hayes R.L., Wang K.K. et al. Serum biomarkers of MRI brain injury in neonatal hypoxic ischemic encephalopathy treated with whole-body hypothermia: a pilot study. *Pediatr. Crit. Care Med.* 2013; 14(3): 310—7.
8. Sun J., Li J., Cheng G., Sha B., Zhou W. Effects of hypothermia on NSE and S-100 protein levels in CSF in neonates following hypoxic/ischaemic brain damage. *Acta Paediatr.* 2012; 101(8): 316—20.
9. Van Laerhoven H., de Haan T.R., Offringa M., Post B., van der Lee J.H. Prognostic tests in term neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy: a systematic review. *Pediatrics.* 2013; 131(1): 88—98.

Поступила 01.12.15

Принята к печати 15.12.15