

УДК: 616-053.36:616.831:612.15]-071-073.432.19

DOI: 10.15587/2519-4798.2018.143413

ПРОГНОСТИЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ НЕЙРОНАЛЬНИХ БІОМАРКЕРІВ NSE ТА БІЛКА S-100 В ГОСТРОМУ ПЕРІОДІ ГІПОКСИЧНО-ІШЕМІЧНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ У ДОНОШЕНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ

© Д. М. Сурков

На сьогоднішній день залишається не з'ясованою відповідність абсолютних сироваткових концентрацій нейрон-специфічної енолази (NSE) та протеїну S-100 ступеню важкості та можливим наслідкам гіпоксично-ішемічної енцефалопатії (ГІЕ) і моніторинговим показникам мозкової перфузії та центральної гемодинаміки у новонароджених.

Мета дослідження. Визначити діагностичну та прогностичну значущість NSE та S-100 в гострому періоді ГІЕ у доношених новонароджених.

Матеріали і методи. Досліджено 89 доношених новонароджених з оцінкою по Апгар при народженні менше 7 балів та Sarnat II-III ст. в терміні ≤ 72 годин після пологів. Проаналізований зв'язок показників NSE та протеїну S-100 з оцінкою за шкалою коми Глазго, виникненням судом, підтверджених за даними аЕЕГ, небажаним розвитком неврологічних ускладнень у вигляді церебральної лейкомаляції, та кінцевими клінічними показниками ефективності лікування.

Результати. В гострому періоді ГІЕ сироваткові концентрації біомаркерів ураження головного мозку протеїну S-100 та NSE істотно перевищують референтні значення з перших годин після народження і залишаються вище нормативних до 5ї доби життя. Динаміка даних показників достовірно змінюється протягом цього періоду. Найбільш діагностично і прогностично значущими виявились дані вимірювання біомаркерів на 3й день лікування, одразу після закінчення лікувальної гіпотермії, початку зігрівання та реперфузії головного мозку, коли обидва показники найбільше корелювали з оцінкою за ШКГ: як NSE ($r=-0,3$; $p=0,002$), так і S-100 ($r=-0,3$; $p=0,003$). Критичною величиною S-100 у 1й день щодо вірогідного розвитку лейкомаляції є показник $>1,8$ мкг/л ($p=0,002$), що понад у 3 рази перевищує контрольний рівень 0,51 мкг/л, наведений Simon-Pittmel J. (2017) для доношених новонароджених.

Висновки. Визначення сироваткових концентрацій біомаркерів ураження головного мозку протеїну S-100 та нейрон-специфічної енолази NSE в гострому періоді гіпоксично-ішемічної енцефалопатії у доношених новонароджених має достовірне діагностичне та прогностичне значення і корелює з перебігом та клінічними наслідками ГІЕ

Ключові слова: каспази, біомаркери, протеїн S-100, NSE, гіпоксія, ішемія, реперфузія, гіпотермія, енцефалопатія, новонароджені

1. Вступ

Важка гіпоксично-ішемічна енцефалопатія (ГІЕ) наразі залишається основною причиною перинатальної смертності та розвитку неврологічного дефіциту різної важкості, таких як церебральний параліч, судом, порушення зору, розумова відсталість, порушення здатності до навчання та епілепсія [1, 2]. ГІЕ характеризується клінічними та лабораторними ознаками гострого або підгострого ураження головного мозку. На клітинному рівні пошкодження нейронів розвивається у два етапи: початкова ішемічна фаза, що характеризується смертю клітин у зонах недостатньої перфузії крові, та фаза реперфузії, яка розвивається через 2–6 годин і характеризується апоптоетичною загибеллю нейронів та збільшенням ділянок ураження тканини мозку [3, 4]. Прогноз у дітей, що перенесли важку ГІЕ у неонатальному періоді, часто песимістичний і асоціюється із неврологічною інвалідацією різного ступеня [2].

Діагностичні критерії ГІЕ в Україні регламентуються Наказом МОЗ від 28.03.2014 № 225 Уніфікований клінічний протокол «Початкова, реанімаційна і післяреанімаційна допомога новонародженим в

Україні», та базуються на класифікації Sarnat (в модифікації A. Hill, J. J. Volpe, 1994).

Проте на сьогоднішній день залишається відкритим питання прогнозу ступеня відновлення когнітивних функцій головного мозку, подальшого моторного та психоневрологічного розвитку, та здатності до набуття освіти у дітей, що перенесли середньо-важку або важку ГІЕ у неонатальному періоді. Серед діагностичних методів більшість дослідників приділяють увагу патернам амплітудно-інтегрованої електроенцефалографії (аЕЕГ), доплерометрії церебрального кровотоку, а саме індексу резистентності (RI) судин головного мозку, а також визначенню рівня сироваткових білків – маркерів ураження головного мозку [5–8].

До останніх можна віднести нейрон-специфічну енолазу (NSE), білок S-100, гліальний фібрилярний кислий протеїн (Glial Fibrillary Acidic Protein, GFAP), убіквітин карбокси-термінальну гідролазу (Ubiquitin Carboxyl-terminal Hydrolase, UCH-L1), тау-протеїн (Tau protein), мікро-РНК (miRNA), лактат-дегідрогеназу (LDH), та мозкову креатинкіназу (CK-BB) [9–12]. Між собою біомаркери відрізняються

як специфічністю, так і чутливістю при різних варіантах пошкодження головного мозку. Також для більшості з них відсутні як загально прийняті для неонатального періоду нормативні референтні сироваткові концентрації, так і порогові величини, які з одного боку прогностично корелювали би з наслідками ГІЕ, а з другого – дозволяли би визначити важкість ішемічного пошкодження в перші години або дні після народження.

2. Обґрунтування дослідження.

Нашу увагу привернули можливості визначення біохімічних маркерів ураження головного мозку нейрон-специфічної енолази (NSE) та протеїну S-100 як найбільш досліджених та, за даними багатьох авторів, прогностично значущих в неонатальному періоді [13, 14].

NSE – один з ферментів гліколізу (2-фосфо-D-гліцерато-гідроліаза), існуючий у вигляді декількох димеризованих ізоферментів (aa, ab, ay, bb і уу), утворених з трьох субодиниць – a, b та у. Даний фермент був ідентифікований і вивчений в 70–80 рр. XX століття. За останній період накопичений великий експериментальний і клінічний матеріал, що стосується аналізу NSE в біологічних рідинах при гіпоксично-ішемічній енцефалопатії [15, 16].

Фракція гліальних білків мозку, які продукуються головним чином астроцитами, була відкрита в 1965 році і названа S-100. Назва «S-100» пов'язана зі здатністю білка розчинятися в 100 % розчині сульфату амонію при pH 7,2. Церебральний протеїн S-100 являє собою комбінацію двох тісно пов'язаних білків сімейства: S-100A₁ (S-100α) та S-100B (S-100β). Білки S-100 синтезуються гліальними клітинами, а потім транспортуються в нейрони. Основна частина білків S-100B (до 85–90 % від загального вмісту в нервовій тканині) зосереджена в астроцитах; 10–15 % розташована в нейронах, мінімальне кількість визначається в олігодендроцитах. Припускають, що біологічна роль S-100B є різною: в фізіологічних (наномолярних) концентраціях переважає нейротрофічний ефект в період розвитку або нервової регенерації, а в високих (мікромолярних) концентраціях – можливі прояви нейротоксических ефектів, як в гострому періоді ГІЕ [17, 18].

На сьогоднішній день доведений зв'язок нейрон-специфічної енолази (NSE) та протеїну S-100 з клінічними проявами та віддаленими наслідками неонатальної ГІЕ [7, 13], але залишаються не з'ясованими відповідність абсолютних сироваткових концентрацій ступеню важкості ГІЕ за шкалою Sarnat та моніторинговим показникам мозкової перфузії і центральної гемодинаміки. Крім того відсутні рекомендації щодо практичної цінності використання NSE та протеїну S-100 для вибору тактики інтенсивної терапії гострого періоду неонатальної гіпоксично-ішемічної енцефалопатії у доношених новонароджених.

3. Мета дослідження

Визначити діагностичну та прогностичну значущість нейрон-специфічної енолази (NSE) та про-

теїну S-100 в гострому періоді гіпоксично-ішемічної енцефалопатії у доношених новонароджених.

4. Матеріали і методи

Були проаналізовані показники сироваткової концентрації нейрон-специфічної енолази (NSE) та протеїну S-100 у доношених немовлят, які у 2012–2016 рр. перебували на лікуванні у відділенні анестезіології та інтенсивної терапії для новонароджених (ВАІТН) КЗ «Дніпропетровська обласна дитяча клінічна лікарня ДОР» з діагнозом «Важка гіпоксично-ішемічна енцефалопатія».

Критерії включення: доношені новонароджені гестаційного віку 37–42 тижнів та масою тіла ≥ 2500 г. із оцінкою за Апгар при народженні менше 7 балів та оцінкою за Sarnat II–III ст., післянатальний вік до 72 годин після пологів.

Критерії виключення: уроджені вади розвитку серця та центральної нервової системи, гестаційний вік <37 тижнів, маса тіла при народженні <2500 г., післянатальний вік більше 72 годин після пологів.

Діагноз «Гіпоксично-ішемічна енцефалопатія» встановлювався відповідно до Наказу МОЗ України від 08.06.2007 року № 312 «Про затвердження клінічного Протоколу з первинної реанімації та післяреанімаційної допомоги новонародженим», та Наказу МОЗ України від 28.03.2014 року № 225 «Уніфікований клінічний протокол «Початкова, реанімаційна та післяреанімаційна допомоги новонародженим в Україні» за шкалою Sarnat (Н. В. Sarnat, М. S. Sarnat, 1976 в модифікації А. Hill, I. I. Volpe, 1994).

Всім дітям проводилась рутинна інтенсивна терапія відповідно до Наказу МОЗ України від 28.03.2014 року № 225 «Уніфікований клінічний протокол «Початкова, реанімаційна та післяреанімаційна допомоги новонародженим в Україні».

Сироваткова концентрація нейрон-специфічної енолази (NSE) та протеїну S-100 вимірювалась імунохімічним методом з електрохемілюмінесцентною детекцією (ECLIA, лабораторія Synevo, GCLP 2011, ISO 9001:2000, сертифікат акредитації МОЗ України МЗ № 012850). Референтними показниками відповідно до стандартів лабораторії вважались діапазони норми для NSE до 16,3 нг/мл, для протеїну S-100 до 0,105 мкг/л. За даними Simon-Pimmel J. et al. (2017) у новонароджених та малюків до 1 місяця життя верхньою границею норми вважається рівень протеїну S-100 до 0,51 мкг/л, а за даними Abbasoglu A. et al. (2015) нормативною величиною концентрації NSE у доношених здорових немовлят є 18,06±12,83 нг/мл (95 % ДІ, 13,94–22,19 нг/мл) [16, 19]. Етапи дослідження: показники сироваткової концентрації нейрон-специфічної енолази (NSE) та протеїну S-100 вимірювались в перший день при надходженні до ВАІТН, на 3-тю та 5-ту добу лікування.

Був досліджений кореляційний зв'язок показників NSE та протеїну S-100 з оцінкою за шкалою коми Глазго, модифікованою для немовлят (шкала «Глазго – Санкт-Петербург», Йова А. С. із співав., 2005 р.), наявністю судом, підтверджених за дани-

ми амплітудно-інтегрованої ЕЕГ (аЕЕГ), небажаним розвитком неврологічних ускладнень у вигляді церебральної лейкомаляції, та кінцевими клінічними показниками ефективності лікування (загальна тривалість штучної вентиляції легень, терміни знаходження у ВАІТН та в цілому до виписки з стаціонару).

На всіх етапах дослідження немовлятам проводилась стандартна нейросонографія на апараті Sonosite Titan мікроконвексним датчиком частотою 5–8 МГц з визначенням лінійних швидкостей мозкового кровотоку (максимальна систолічна швидкість (Vs), см/с; максимальна діастолічна швидкість (Vd), см/с; та середня швидкість (Vm); см/с) в передній мозковій артерії (Arteria Cerebri Anterior, ACA), з подальшим розрахунком таких індексів, як: RI – індекс резистентності мозкових судин Пурсело (Pourcelot Resistive Index):

$$RI=(Vs-Vd)/Vs;$$

PI – пульсаційний індекс Гослінга мозкового кровотоку (Gosling Pulsatility Index):

$$PI=(Vs-Vd)/Vm, \text{ де } Vm=(Vs+2\cdot Vd)/3;$$

ЦПТ Aaslid – церебральний перфузійний тиск (ЦПТ) за формулою Aaslid R. (1986):

$$\text{ЦПТ}=1,1\cdot(Vs-Vd)/PI-5 \text{ mm Hg};$$

ЦПТ Czosnyka – церебральний перфузійний тиск за формулою Czosnyka M. (1998):

$$\text{ЦПТ}=\text{CAT}\cdot(Vd/Vm)+14,$$

де CAT – середній артеріальний тиск, мм рт. ст.

Статистичну обробку матеріалів дослідження проводили з використанням пакету програмного забезпечення JASP 0.9.0.1 (Amsterdam, The Netherlands, 2018) у відповідності із загальноприйнятими стандартами математичної статистики.

Перед статистичною обробкою всі дані були перевірені на нормальність розподілу із застосуванням W тесту Шапіро-Вілкса.

Для непараметричних даних первинна статистична обробка даних включала розрахунок медіани M, 25 та 75 перцентилів. Для статистичного порівняння значень досліджуваних груп використовували U-критерій Манна-Уїтні (Mann-Whitney U-test). Для визначення кореляційного зв'язку використовувалась R-критерій Спірмана.

Для визначення міри впливу на досліджувані результати показник кожного із введених у модель факторів при фіксованому положенні на середньому рівні інших факторів ми використовували множинний лінійний регресійний аналіз. Отримане рівняння регресії ми використовували для прогнозування досліджуваного явища. Перед проведенням регресійного аналізу непараметричні дані трансформувалися у параметричні. Прогностична значущість

тестів NSE та протеїну S-100 оцінювалась за аналізом кривої ROC (Receiver Operating Characteristic).

5. Результати дослідження

Сироваткова концентрація NSE була досліджена у 89 немовлят, з них рівень протеїну S-100 – у 83 немовлят.

З представлених в табл. 1 даних видно, що сироваткова концентрація біохімічних маркерів ураження головного мозку в усіх новонароджених з діагнозом ГІЕ істотно перевищувала нормативні референтні лабораторні значення.

Таблиця 1

Сироваткова концентрація NSE та протеїну S-100 у доношених новонароджених з ГІЕ при надходженні до ВАІТН, на 3^т та 5^т дні лікування

Етап дослідження	S100, мкг/л (n=83)	NSE, нг/мл (n=89)
	Медіана (25–75 %)	
День 1	0,94 (0,55–2,1)	64,4 (41,9–83,3)
День 3	0,63 (0,27–1,28)	57,5 (36,9–86)
День 5	0,42 (0,3–0,75)	49 (28,1–76,9)

Дані, наведені у табл. 2, демонструють суттєве статистично значуще зниження медіани показників протеїну S-100 з 1^{го} до 3^{го} дня ($p<0,001$) і у подальшому до 5^{го} дня ($p=0,002$ у порівнянні з 3^{го} по 5^т день; $p<0,001$ у порівнянні з 1^{го} по 5^т день), що, вірогідно, свідчить про зменшення ступеня ураження нейронів та проявів ГІЕ.

Таблиця 2

Динаміка показників протеїну S-100 (мкг/л) в досліджуваній популяції*

Показник S-100	Середнє значення		Показник S-100	Середнє значення	p
	Медіана (25–75 %)			Медіана (25–75 %)	
День 3	0,63 (0,25–1,28)	–	День 5	0,47 (0,3–0,83)	0,002
День 1	0,94 (0,55–2,1)	–	День 5	0,47 (0,3–0,83)	<0,001
День 1	0,94 (0,55–2,1)	–	День 3	0,63 (0,25–1,28)	<0,001

Примітка: * – Wilcoxon signed-rank test

Дані, наведені у табл. 3, демонструють зниження рівня NSE протягом всього періоду дослідження. Рівень NSE був найвищим у 1^т день і достовірно зменшився протягом лікування до 5^{го} дня ($p=0,001$). Ми не виявили статистично значущої різниці між рівнями NSE, виміряними на 1^т і 3^т день лікування. Проте різниця між 3^т і 5^т днями була статистично значущою ($p=0,018$). У порівнянні з динамікою протеїну S-100 (табл. 2), зменшення рівня цього маркера відбувалось повільніше, при чому швидкість зміни концентрації NSE була неоднаковою протягом різних етапів дослідження.

Таблиця 3
Динаміка показників NSE (нг/мл) досліджуваній популяції*

Показник NSE	Середнє значення		Показник NSE	Середнє значення	р
	Медіана (25–75 %)			Медіана (25–75 %)	
День 1	64,4 (41,9–83,3)	–	День 3	57,5 (37,4–83,9)	0,692
День 1	64,4 (41,9–83,3)	–	День 5	48,1 (27,9–75,9)	0,001
День 3	57,5 (37,4–83,9)	–	День 5	48,1 (27,9–75,9)	0,018

Примітка: * – Wilcoxon signed-rank test

Табл. 4 описує кореляційні зв'язки між рівнем протеїну S-100, виміряним протягом 1^{го}, 3^{го} та 5^{го} днів лікування. Знайдена позитивна кореляція між рівнем S-100, виміряним на 1^й і 3^й дні лікування ($r=0,4$; $p=0,001$) та між 5^м та 3^м днями лікування ($r=0,6$; $p<0,001$). Відсутність кореляційного зв'язку між рівнем протеїну S-100 на 5^й і 1^й дні може бути пояснена тим, що на цей параметр впливав не тільки початковий стан немовлят при надходженні, але й ефективність лікування.

Таблиця 4
Кореляційний зв'язок між показниками протеїну S-100 протягом етапів дослідження

Показник S-100	Spearman коефіцієнт (r)	р
День 1 – День 3	0,4	0,001
День 3 – День 5	0,6	<0,001
День 5 – День 1	0,1	0,389

Дані, наведені в табл. 5, демонструють, що показники NSE корелюють в динаміці з однаковою рівністю на всіх етапах дослідження.

Враховуючи загальну динаміку обох маркерів ураження головного мозку, ми провели кореляційний аналіз для виявлення зв'язку між обома досліджуваними показниками протягом курсу лікування (табл. 6 та рис. 1).

Таблиця 5
Кореляційний зв'язок між показниками протеїну NSE протягом етапів дослідження

Показник NSE	Spearman коефіцієнт (r)	р
День 1 – День 3	0,5	<0,001
День 3 – День 5	0,4	<0,001
День 5 – День 1	0,3	0,002

Дані табл. 6 та графіки на рис. 1 демонструють статистично значущу помірну ступінь позитивної кореляції між двома біомаркерами ура-

ження головного мозку S-100 та NSE. Наявність кореляції підтверджує, що вони обидва пов'язані з проявами пошкодження головного мозку у ранньому періоді ГІЕ.

Таблиця 6
Кореляційний зв'язок між показниками NSE та протеїну S-100 протягом етапів дослідження

Зв'язок NSE та S-100	Spearman коефіцієнт (r)	р
День 1	0,46	<0,001
День 3	0,59	<0,001
День 5	0,54	<0,001

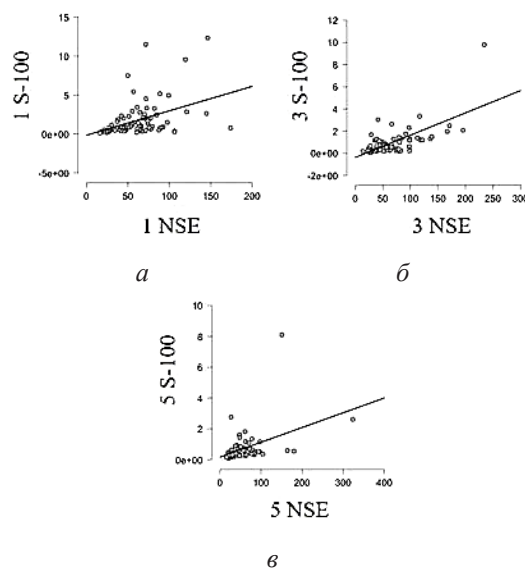


Рис. 1. Кореляційні зв'язки між показниками NSE та протеїну S-100: а – на 1^й день дослідження; б – на 3^й день дослідження; в – на 5^й день дослідження

Наш наступний крок полягав у визначенні рівня NSE, що мав би таке саме діагностичне значення, як це було раніше показано для S-100. На першому етапі ми оцінили рівень NSE у новонароджених, які надійшли до ВАІТН протягом перших 6 годин після народження. З огляду на наявність кореляції між цими двома маркерами наступним етапом аналізу було з'ясувати, чи обидва маркери однаково співвідносяться з клінічними проявами ГІЕ, зокрема, оцінкою за шкалою Глазго.

Дані в табл. 7 демонструють статистично значущу негативну кореляцію між рівнем S-100, виміряним на 3^й день (рис. 2) лікування ($r=-0,3$; $p=0,002$), і відсутність кореляції між S-100, виміряною у 1^й та 5^й дні лікування та шкалою коми Глазго відповідно.

Дані в табл. 8 демонструють статистично значущу негативну кореляцію між рівнем NSE на 3^й день і оцінкою за шкалою коми Глазго у 3^й і 5^й дні лікування ($p=0,002$ та $p=0,006$ відповідно). Рівень NSE, виміряний на 5^й день, також суттєво співвідноситься з оцінкою за ШКГ на 5^й день ($p=0,008$).

Таблиця 7

Кореляційний аналіз зв'язку рівню протеїну S-100 з оцінкою рівня свідомості за шкалою коми Глазго (ШКГ) на 1^й, 3^й та 5^й дні дослідження

	День 1 S-100		День 3 S-100		День 5 S-100	
	r	p-value	r	p-value	r	p-value
День 1 ШКГ	-0,04	0,357	-	-	-	-
День 3 ШКГ	-	-	-0,3	0,003	-	-
День 5 ШКГ	-	-	-	-	0,04	0,619

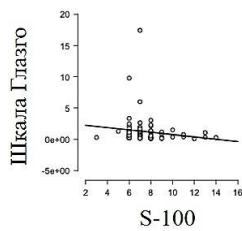


Рис. 2. Кореляція між рівнем протеїну S-100 та оцінкою за ШКГ на 3^й день лікування

Таблиця 8

Кореляційний аналіз зв'язку рівню NSE з оцінкою рівня свідомості за шкалою коми Глазго (ШКГ) на 1^й, 3^й та 5^й дні дослідження

	День 1 NSE		День 3 NSE		День 5 NSE	
	r	p-value	r	p-value	r	p-value
День 1 ШКГ	0,04	0,708	-	-	-	-
День 3 ШКГ	-	-	-0,3	0,002	-	-
День 5 ШКГ	-	-	-0,3	0,006	-0,3	0,008

Виходячи з цих даних, ми можемо припустити, що NSE має більшу діагностичну цінність, ніж S-100, через її достовірний кореляційний зв'язок з оцінкою рівня свідомості за ШКГ (рис. 3).

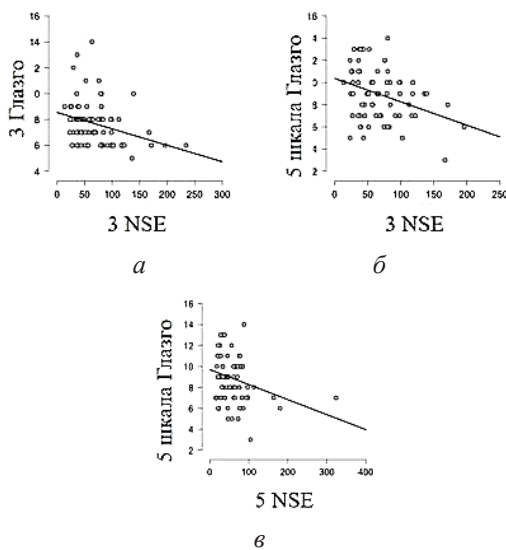


Рис. 3. Кореляція між рівнем NSE та оцінкою за ШКГ: а – на 3^й день дослідження; б – між 3^м і 5^м днями дослідження; в – на 5^й день дослідження

Нашим наступним кроком було визначити, чи існує зв'язок між досліджуваними маркерами ураження головного мозку і таким істотним ускладненням ГІЕ, як наявність судом.

Дані в табл. 9 показують, що пацієнти з наявністю судом протягом періоду дослідження мали більш високий рівень S-100 у 1^й та 3^й день. Як ми вже показали раніше, цей рівень S-100, виміряний на 3^й день, співвідноситься з клінічними проявами ГІЕ (особливо оцінкою за шкалою коми Глазго). Поточна інформація підтверджує той факт, що S-100 на 3^й день має діагностичне значення і пов'язаний з наявністю судом к 5^{му} дню лікування. Цікаво відзначити, що S-100, виміряний на 5^й день лікування, був нижчим у пацієнтів, у яких зареєстровані судоми на 5^й день лікування (рис. 4). Представляється можливим, що судоми на 5^й день лікування пов'язані з реперфузією головного мозку після припинення лікувальної гіпотермії та зігрівання немовлят через 72 години від початку інтенсивної терапії.

Таблиця 9

Порівняння рівню протеїну S-100 (мкг/л) між групами пацієнтів з наявністю та без судом, зареєстрованими к 5^{му} дню дослідження*

Показник	Діти без судом (n=78)	Діти з судомами (n=6)	p-value
День 1 S-100	0,89 (0,54–2,09)	1,38 (0,79–4,39)	0,120
День 3 S-100	0,59 (0,25–1,29)	0,66 (0,33–1,41)	0,557
День 5 S-100	0,43 (0,30–0,83)	0,42 (0,17–0,61)	0,809

Примітка: * – Mann-Whitney U-тест

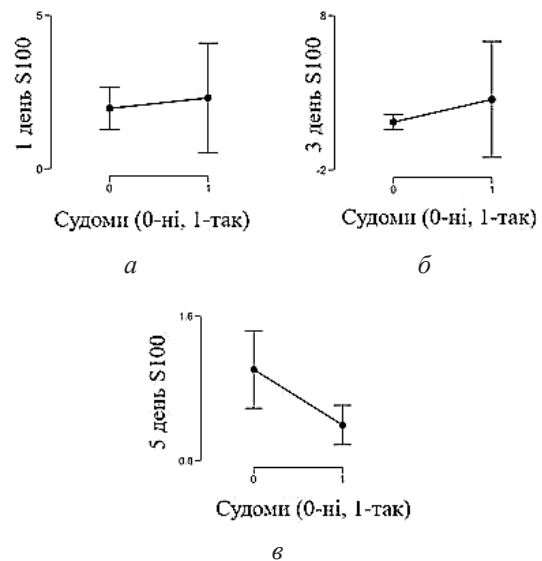


Рис. 4. Порівняння рівню протеїну S-100 у малюків з наявністю, або без судом протягом періоду дослідження: а – на 1^й день дослідження; б – на 3^й день дослідження; в – на 5^й день дослідження

Дані в табл. 10 показують, що у пацієнтів, в яких к 5^{му} дню лікування були зареєстровані судомні напади, рівень NSE був значно вищим на всіх етапах дослідження, порівняно з такими, що не мали судом протягом лікування.

Після того, як була доведена достовірна діагностична і прогностична значущість маркерів ураження головного мозку протеїну S-100 та NSE у доношених немовлят з проявами ГІЕ, наступним етапом було завдання виявити можливий зв'язок сироваткових концентрацій біомаркерів з патернами церебрального кровотоку. За отриманими даними, статистично значущих кореляційних зв'язків між маркерами ураження головного мозку та показниками мозкового кровотоку у 1^й та 5^й день дослідження знайдено не було.

Таблиця 10

Порівняння рівню NSE (нг/мл) між групами пацієнтів з наявністю та без судом, зареєстрованими к 5^{му} дню дослідження*

Показник	Діти без судом (n=82)	Діти з судомами (n=7)	p-value
День 1 NSE	62,9 (41,8–84,7)	72,6 (56,9–74,5)	0,221
День 3 NSE	57,3 (37,9–83,8)	65,3 (29,4–102,2)	0,564
День 5 NSE	50,3 (32,2–77,6)	28,1 (20,7–68,5)	0,936

Примітка: * – Mann-Whitney U-тест

Дані, наведені в табл. 11, демонструють негативну статистично достовірну кореляцію між S-100 та показниками PI та RI церебральної перфузії, вимірюваними на 3^й день дослідження. Чим вище S-100, тим нижче показники PI та RI. Кореляція підтверджує, що рівень протеїну S-100 відображує реальний стан церебральної гемодинаміки і, отже, ступінь пошкодження мозку. Оскільки вже доведено, що S-100 достовірно відображує ураження нейронів в гострому періоді ГІЕ, то наявність підтвердженої кореляції між параметрами PI та RI і рівнем S-100 дозволяє використовувати ультразвукове доплерівське дослідження мозкового кровообігу у якості оцінки тяжкості ураження головного мозку та збереження його здатності до ауторегуляції кровотоку.

Таблиця 11

Кореляційні зв'язки між рівнем протеїну S-100 та NSE і параметрами мозкового кровотоку в 3^й день дослідження

Показник	День 3 NSE		День 3 S-100	
	r	p-value	r	p-value
RI	-0,1	0,100	-0,2	0,037
PI	-0,1	0,108	-0,2	0,039
ЦПТ Aaslid	-0,1	0,121	-0,05	0,340
ЦПТ Czosnyka	-0,05	0,344	0,2	0,898

Після того, як було показано зв'язок між S-100 і NSE з клінічним станом пацієнтів, включаючи патерни мозкової гемодинаміки, наявність судом та рівень свідомості за шкалою коми Глазго, наступним кроком було визначення зв'язків рівню S-100 і NSE з результатами та наслідками лікування.

Попередньо був доведений високий рівень діагностичної цінності показників S-100 та NSE, вимірюваних на 3^й день лікування. На наступному етапі ми проаналізуємо можливий кореляційний зв'язок між цими показниками, вимірюваними на 3^й день і такими результатами лікування, як тривалість проведення штучної вентиляції легень (ШВЛ), строки знаходження у відділенні інтенсивної терапії та загальний термін лікування до виписки з стаціонару (табл. 12).

Таблиця 12

Кореляційний аналіз зв'язку між S100 та NSE, вимірюваними на 3^й день, з клінічними результатами лікування

Результат лікування	Показник	S-100		NSE	
	Медіана (25–75 %)	r	p-value	r	p-value
Тривалість ШВЛ (днів)	5 (4–7)	0,1	0,128	0,3	0,015
Всього днів в стаціонарі	24 (20–33)	0,04	0,376	0,2	0,085
Всього днів у ВАІТН	12 (9–16)	0,2	0,093	0,3	0,003

Незважаючи на статистично значущу кореляцію між рівнем протеїну S-100, визначеним на 3^й день, та оцінкою за шкалою коми Глазго, не було виявлено достовірної кореляції цього показника з кінцевими клінічними результатами. Тільки термін перебування у ВАІТН продемонстрував тенденцію до позитивної кореляції між цим показником і рівнем S-100 на 3^й день, але недостовірну (p=0,093). У той же час вимірюваний на 3^й день показник NSE продемонстрував статистично значущу позитивну кореляцію з тривалістю штучної вентиляції легень та перебуванням у ВАІТН.

У досліджуваній популяції серед тих немовлят, у кого визначались показники S-100 та NSE, було 12 пацієнтів, в яких було у подальшому діагностовано таке ускладнення ГІЕ, як розвиток лейкомаляції. Оскільки такі новонароджені мають найгірший неврологічний прогноз, на наступному етапі було вивчено потенційний взаємозв'язок між динамікою S-100 і NSE та вірогідністю встановлення діагнозу лейкомаляції у доношених новонароджених з важкою ГІЕ (табл. 13).

Аналіз динаміки протеїну S-100 показав, що малюки з лейкомаляцією мали значно більш високий рівень S-100 у 1^й день, ніж ти, в кого у подальшому не було розвитку лейкомаляції (p=0,038). Також треба відзначити, що медіана S-100, вимірюваної на 3^й день, була навіть нижчою серед тих пацієнтів, у яких у подальшому діагностована лейкомаляція. Це підтверджує:

1) що рівень S-100 відображує тяжкість пошкодження головного мозку;

2) тяжкість первинного ураження мозку в перинатальному періоді є більш прогностично значущою для розвитку лейкомаляції, аніж проведена інтенсивна терапія, про що свідчить значно вищий рівень S-100 в групі немовлят, які надійшли до ВАІТН в перші 6 годин після народження (рис. 5).

Таблиця 13

Порівняння рівню протеїну S-100 (мкг/л) у пацієнтів з подальшим розвитком лейкомаляції та без неї протягом етапів дослідження*

Рівень S-100	Діти без лейкомаляції (n=69)	Діти з розвитком лейкомаляції (n=11)	p-value
День 1	0,88 (0,52–2,03)	1,93 (0,79–4,72)	0,038
День 2	0,63 (0,26–1,28)	0,61 (0,27–1,24)	0,437
День 3	0,42 (0,3–0,78)	0,49 (0,33–0,76)	0,384

Примітка: * – Mann-Whitney U-тест

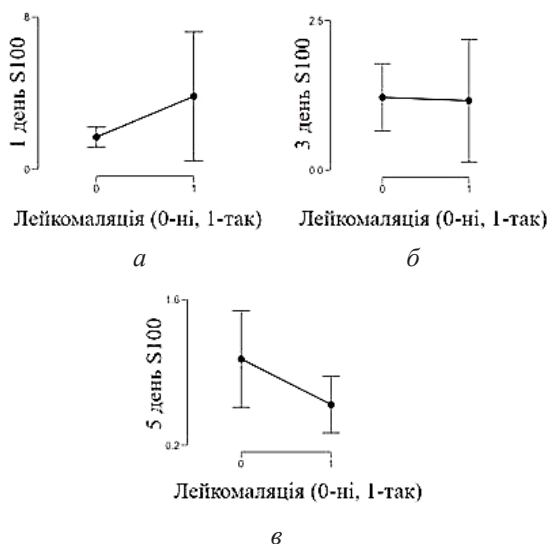


Рис. 5. Кореляційні зв'язки між рівнями протеїну S-100 та подальшим розвитком лейкомаляції:

а – на 1^й день дослідження; б – на 3^й день дослідження; в – на 5^й день дослідження

Щоб визначити, чи рівень S-100, виміряний в перший день лікування, демонструє будь-яке прогностичне значення для подальшого розвитку лейкомаляції, було використано аналіз отриманої операційної характеристичної кривої (Receiving Operative Characteristic, ROC), наведеної на рис. 6.

На підставі результатів аналізу ROC можна сказати, що значення S-100 1,84 мкг/л має слабку, але значущу прогностичну цінність 27 % та негативну прогностичну цінність 91 % щодо розвитку лейкомаляції.

Аналогічно був проведений кореляційний аналіз зв'язку рівня NSE та розвитку церебральної лейкомаляції (табл. 14).

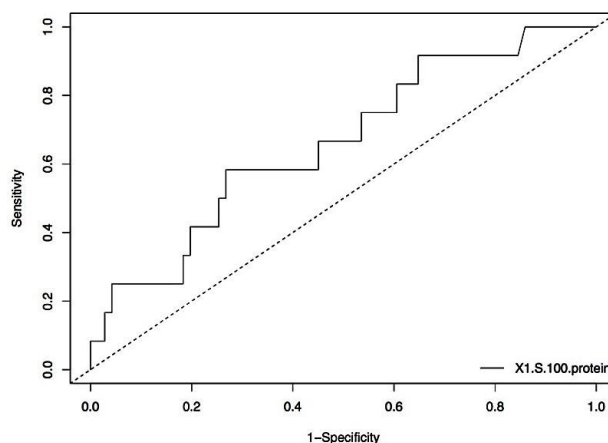


Рис. 6. Площа під кривою (Area Under the Curve, AUC) становить 0,66±0,05 (95 % ДІ, 0,55-0,76), p=0,002 з чутливістю 58 % та специфічністю 73 %

Таблиця 14

Порівняння рівню протеїну NSE (нг/мл) у пацієнтів з подальшим розвитком лейкомаляції та без неї протягом етапів дослідження*

Рівень NSE	Діти без лейкомаляції (n=69)	Діти з розвитком лейкомаляції (n=11)	P-value
День 1	63,9 (41,7–80,9)	70,0 (43,4–89,6)	0,307
День 2	55,4 (36,3–83,8)	68,3 (44,5–100,5)	0,171
День 3	47,8 (27,6–74,9)	64,6 (39,9–102,7)	0,082

Примітка: * – Mann-Whitney U-тест

Треба відзначити, що не було знайдено статистично достовірних кореляційних зв'язків між рівнями NSE на всіх етапах дослідження та подальшим розвитком лейкомаляції.

Оскільки діти надходили до ВАІТН у різні терміни, ми провели аналіз показника S-100 у малюків, які надійшли у строк до 6 годин після народження, або після 6 годин (табл. 15).

Таблиця 15

Порівняння значень протеїну S-100 (мкг/л) у немовлят, які надійшли до лікарні у перші 6 годин від народження, та у термін 6–72 годин*

Показник S-100	>6 годин (n=60)	6–72 години (n=23)	p-value
День 1	0,84 (0,48–1,76)	2,02 (0,81–3,45)	0,003
День 3	0,59 (0,29–1,28)	0,78 (0,21–1,29)	0,500
День 5	0,43 (0,22–0,74)	0,59 (0,30–1,30)	0,161

Примітка: * – Mann-Whitney U-тест

Серед пацієнтів, які надійшли до лікарні протягом перших 6 годин, протеїн S-100, виміряний у 1^й день, був достовірно вищими, ніж серед немовлят, які були госпіталізовані у термін 6–72 години (p=0,003), що свідчить про те, що найважчі пацієнти потрапляли до ВАІТН негайно, протягом перших

6 годин життя. Рівень S-100 був вищим у дітей, що надійшли пізніше 6 годин життя, на 3^й і 5^й день лікування життя, але різниця була статистично незначущою (рис. 7).

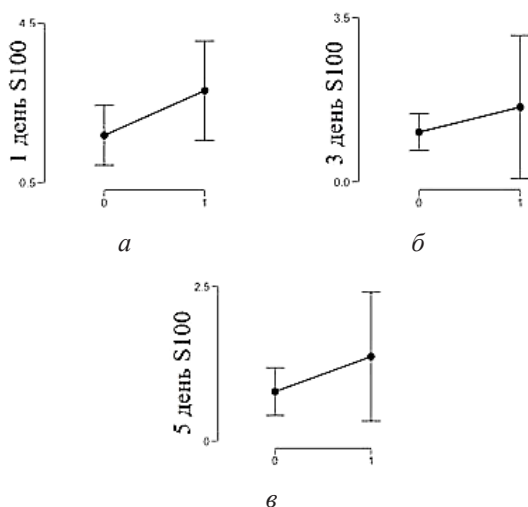


Рис. 7. Порівняння показника S-100 протягом дослідження у дітей, що надійшли до лікарні у перші 6 годин після народження: а – на 1^й день дослідження; б – на 3^й день дослідження; в – на 5^й день дослідження

Дані, наведені в табл. 16, показують, що пацієнти, які надійшли до ВАІТН впродовж перших 6 годин після народження, мали вищий рівень NSE, ніж ті, хто потрапив до лікарні пізніше, чим через 6 годин. Це підтверджує той факт, що малюки, які надійшли в перші 6 годин, перебували в гіршому стані, і саме тому вони були доставлені до ВАІТН максимально швидко, хоча така різниця і не була статистично значущою.

Таблиця 16

Порівняння значень NSE (нг/мл) у немовлят, які надійшли до лікарні у перші 6 годин від народження, та у термін 6–72 годин*

Показник NSE	>6 годин (n=60)	6–72 години (n=23)	p-value
День 1	64,4 (39,6–88,8)	61,2 (45,8–67,4)	0,531
День 3	60,1 (38,4–93,2)	51,4 (34,5–77,9)	0,167
День 5	53,8 (27,7–76,3)	45,7 (30,5–74,9)	0,431

Примітка: * – Mann-Whitney U-тест

6. Обговорення результатів дослідження

Отримані результати показали, що в гострому періоді гіпоксично-ішемічної енцефалопатії у доношених новонароджених сироваткові концентрації біомаркерів ураження головного мозку протеїну S-100 та NSE істотно перевищують референтні значення з перших годин після народження і залишаються вище нормативних до 5^ї доби життя. Динаміка даних показників достовірно змінюється протягом цього періоду.

Показники сироваткової концентрації S-100 та NSE достовірно корелюють між собою з 1^{го} по

5^й день гострого періоду ГІЕ ($p < 0,001$). Вони також достовірно корелюють з клінічними проявами ГІЕ (оцінкою свідомості за шкалою коми Глазго, наявністю та вірогідністю розвитку судом), найближчими наслідками (розвиток лейкомаляції) та кінцевими клінічними показниками ефективності інтенсивної терапії (тривалість проведення ШВЛ, терміни лікування у ВАІТН та в цілому в стаціонарі до виписки на амбулаторне лікування).

Найбільш діагностично і прогностично значущими виявились дані вимірювання біомаркерів на 3^й день лікування, одразу після закінчення лікувальної гіпотермії, початку зігрівання та реперфузії головного мозку, коли обидва показники найбільше корелювали з оцінкою за ШКГ: як NSE ($r = -0,3$; $p = 0,002$), так і S-100 ($r = -0,3$; $p = 0,003$).

Рівень протеїну S-100 у 1^й день має більший зв'язок з подальшим виникненням судомного синдрому ($p = 0,120$) та з можливим розвитком ускладнення ГІЕ у вигляді лейкомаляції ($p = 0,038$), а концентрація NSE на 3^й день – з кількістю днів респіраторної підтримки ($r = 0,3$; $p = 0,015$) та тривалістю проведення інтенсивної терапії в цілому ($r = 0,3$; $p = 0,003$). Необхідно відмітити, що рівень протеїну S-100 у 1^й день був достовірно вище у малюків, що надійшли до ВАІТН у перші 6 годин життя, ніж у пізніший термін ($p = 0,003$), що можна пояснити більш важким станом одразу після народження, внаслідок чого транспортування з пологових відділень відбувалось у невідкладному порядку. Критичною величиною S-100 у 1^й день щодо вірогідного розвитку лейкомаляції є показник вище 1,8 мкг/л ($p = 0,002$), що понад у три рази перевищує контрольний рівень 0,51 мкг/л для доношених новонароджених [19].

Щодо характеристики церебральної перфузії, то достовірний кореляційний зв'язок був знайдений на 3^й день між концентрацією протеїну S-100 та індексом резистентності Пурсело, RI ($r = -0,2$; $p = 0,037$) і пульсаційним індексом Гослінга, PI ($r = -0,2$; $p = 0,039$), що дає можливість використовувати оцінку доплерівського патерну мозкового кровотоку наприкінці 72 годин періоду лікувальної гіпотермії у якості діагностичного маркера важкості ГІЕ та прогностичного визначення ризику розвитку неврологічних ускладнень. Ці висновки збігаються з результатами інших дослідників щодо дослідження прогностичної цінності RI [6, 18].

7. Висновки

1. Визначення сироваткових концентрацій біомаркерів ураження головного мозку протеїну S-100 та нейрон-специфічної енолази NSE в гострому періоді гіпоксично-ішемічної енцефалопатії у доношених новонароджених має достовірне діагностичне та прогностичне значення і корелює з перебігом та клінічними наслідками ГІЕ.

2. Оскільки рівень протеїну S-100 та NSE має різну прогностичну значущість стосовно вірогідності розвитку лейкомаляції, тривалості проведення ШВЛ та терміну лікування у ВАІТН, а також різний

ступінь зв'язку с клінічними проявами ГІЕ (оцінка свідомості за шкалою коми Глазго, наявність судом), представляється доцільним вимірювати рівень обох біомаркерів в сироватці крові, а не лише одного з них.

3. Практичне значення мають визначення рівня маркерів одразу при надходженні до ВАІТН та наприкінці періоду терапевтичної гіпотермії на 3^{ій} день лікування. Дані щодо концентрації протеїну S-100 та NSE на 5^{ій} день гострого періоду ГІЕ не мають вже істотного значення і доцільності вимірювання. Пороговим значенням рівню протеїну S-100 щодо ризику розвитку важкого наслідку ГІЕ у вигляді лейкомаляції слід вважати концентрацію понад 1,8 мкг/л

у першу добу лікування, особливо протягом перших 6 годин після народження.

4. Розрахункові доплерівські показники індексу резистентності (RI) та пульсаційного індексу (PI) достовірно і об'єктивно відображують ступінь ураження головного мозку при ГІЕ та наявність або порушення ауторегуляції мозкового кровотоку, таким чином, можуть використовуватись для оцінки важкості стану доношених новонароджених після перенесеної перинатальної гіпоксії-ішемії, а їх дані на 3^{ій} день лікування наприкінці періоду керованої лікувальної гіпотермії – як клінічний предиктор несприятливого перебігу важкої ГІЕ у доношених новонароджених.

Література

1. Part 13: Neonatal Resuscitation: 2015 American Heart Association Guidelines Update for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care / Wyckoff M. H. et. al. // *Circulation*. 2015. Vol. 132, Issue 18. P. 543–560. doi: <http://doi.org/10.1161/cir.0000000000000267>
2. Neuroprotection for Perinatal Hypoxic Ischemic Encephalopathy in Low- and Middle-Income Countries / Tagin M. et. al. // *The Journal of Pediatrics*. 2015. Vol. 167, Issue 1. P. 25–28. doi: <http://doi.org/10.1016/j.jpeds.2015.02.056>
3. Mechanism of caspase-3 activation during hypoxia in the cerebral cortex of newborn piglets / Chiang M.-C. et. al. // *Neuroscience Letters*. 2007. Vol. 421, Issue 1. P. 67–71. doi: <http://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.05.024>
4. Kaur C., Rathnasamy G., Ling E.-A. Roles of Activated Microglia in Hypoxia Induced Neuroinflammation in the Developing Brain and the Retina // *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2013. Vol. 8, Issue 1. P. 66–78. doi: <http://doi.org/10.1007/s11481-012-9347-2>
5. Glass H. C. Neonatal seizures: advances in mechanisms and management // *Clinics in Perinatology*. 2014. Vol. 41, Issue 1. P. 177–190. doi: <http://doi.org/10.1016/j.clp.2013.10.004>
6. Transfontanellar duplex brain ultrasonography resistive indices as a prognostic tool in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy before and after treatment with therapeutic hypothermia / Gerner G. J. et. al. // *Journal of Perinatology*. 2015. Vol. 36, Issue 3. P. 202–206. doi: <http://doi.org/10.1038/jp.2015.169>
7. Biomarkers for Severity of Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy and Outcomes in Newborns Receiving Hypothermia Therapy / Chalak L. F. et. al. // *The Journal of Pediatrics*. 2014. Vol. 164, Issue 3. P. 468–474. doi: <http://doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.10.067>
8. Douglas-Escobar M., Weiss M. D. Biomarkers of hypoxic-ischemic encephalopathy in newborns // *Frontiers in Neurology*. 2012. Vol. 3. P. 144. doi: <http://doi.org/10.3389/fneur.2012.00144>
9. Qian J., Zhou D., Wang Y.-W. Umbilical artery blood S100 β protein: a tool for the early identification of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy // *European Journal of Pediatrics*. 2008. Vol. 168, Issue 1. P. 71–77. doi: <http://doi.org/10.1007/s00431-008-0711-4>
10. Umbilical cord interleukin-6 levels are elevated in term neonates with perinatal asphyxia / Chiesa C. et. al. // *European Journal of Clinical Investigation*. 2003. Vol. 33, Issue 4. P. 352–358. doi: <http://doi.org/10.1046/j.1365-2362.2003.01136.x>
11. A Pilot Study of Novel Biomarkers in Neonates With Hypoxic-Ischemic Encephalopathy / Douglas-Escobar M. et. al. // *Pediatric Research*. 2010. Vol. 68, Issue 6. P. 531–536. doi: <http://doi.org/10.1203/pdr.0b013e3181f85a03>
12. Biomarkers of Brain Injury in Neonatal Encephalopathy Treated with Hypothermia / Massaro A. N. et. al. // *The Journal of Pediatrics*. 2012. Vol. 161, Issue 3. P. 434–440. doi: <http://doi.org/10.1016/j.jpeds.2012.02.047>
13. Biomarkers S100B and Neuron-Specific Enolase Predict Outcome in Hypothermia-Treated Encephalopathic Newborns / Massaro A. N. et. al. // *Pediatric Critical Care Medicine*. 2014. Vol. 15, Issue 7. P. 615–622. doi: <http://doi.org/10.1097/pcc.0000000000000155>
14. Proinflammatory Cytokines, Enolase and S-100 as Early Biochemical Indicators of Hypoxic-Ischemic Encephalopathy Following Perinatal Asphyxia in Newborns / Chaparro-Huerta V. et. al. // *Pediatrics & Neonatology*. 2017. Vol. 58, Issue 1. P. 70–76. doi: <http://doi.org/10.1016/j.pedneo.2016.05.001>
15. Белобородова Н. В., Дмитриева И. Б., Черневская Е. А. Диагностическая значимость белка S100В при критических состояниях // *Общая реаниматология*. 2011. Т. 7, № 6. С. 72–76. doi: <http://doi.org/10.15360/1813-9779-2011-6-72>
16. Serum Neuron-specific Enolase Levels in Preterm and Term Newborns and in Infants 1–3 Months of Age / Abbasoglu A. et. al. // *Pediatrics & Neonatology*. 2015. Vol. 56, Issue 2. P. 114–119. doi: <http://doi.org/10.1016/j.pedneo.2014.07.005>

17. Zaigham M., Lundberg F., Olofsson P. Protein S100B in umbilical cord blood as a potential biomarker of hypoxic-ischemic encephalopathy in asphyxiated newborns // Early Human Development. 2017. Vol. 112. P. 48–53. doi: <http://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2017.07.015>
18. Elstad M., Whitelaw A., Thoresen M. Cerebral Resistance Index is less predictive in hypothermic encephalopathic newborns // Acta Paediatrica. 2011. Vol. 100, Issue 10. P. 1344–1349. doi: <http://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2011.02327.x>
19. Reference ranges for serum S100B neuroprotein specific to infants under four months of age / Simon-Pimmel J. et. al. // Clinical Biochemistry. 2017. Vol. 50, Issue 18. P. 1056–1060. doi: <http://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.08.014>

Рекомендовано до публікації д-р мед. наук, професор Снісар В. І.
Дата надходження рукопису 29.08.2018

Сурков Денис Миколайович, кандидат медичних наук, завідувач відділення, відділення анестезіології та інтенсивної терапії для новонароджених, Комунальний заклад «Дніпропетровська обласна дитяча клінічна лікарня Дніпропетровської обласної ради», вул. Космічна, 13, м. Дніпро, Україна, 49100
E-mail: densurkov@hotmail.com

УДК 616.711.6-007.17:611.018:537.533.35:616.741-009.1
DOI: 10.15587/2519-4798.2018.142525

СТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ БАГАТОРОЗДІЛЬНОГО М'ЯЗА ПАЦІЄНТІВ ІЗ ДЕГЕНЕРАТИВНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ПОПЕРЕКОВОГО ВІДДІЛУ ХРЕБТА

© В. О. Радченко, А. Г. Скіданов, Н. О. Ашукіна, В. Є. Мальцева, З. М. Данищук

Мета: на підставі гістологічного та електронномікроскопічного аналізів дослідити структурно-функціональні зміни паравертебральних м'язів пацієнтів із дегенеративними захворюваннями поперекового відділу хребта.

Матеріал і методи: проведено гістологічний та електронно-мікроскопічний аналіз багатороздільних м'язів 49 пацієнтів (27 чоловіків і 22 жінки), які перебували на лікуванні в період із вересня 2015 року до березня 2018 року. Матеріал отримано під час операцій із приводу дегенеративних захворювань поперекового відділу хребта: нестабільності (9 хворих), спондилолітезу (11), спінального стенозу (9), грижі міжхребцевих дисків поперекового відділу хребта (20).

Результати: встановлені дистрофічні порушення м'язових волокон (нерівномірність товщини, дискоїдний розпад, втрата поперечної смугастості та полігональності, заміщення м'язових волокон жирною тканиною, розростання фіброзної тканини, набряк). Переважання жиркової тканини виявлено у 20 % препаратів пацієнтів із грижею міжхребцевого диска, у 22,22 % – із нестабільністю, 36,36 % – із спондилолітезом, 44,44 % – зі стенозом хребтового каналу. Розростання сполучної тканини лише в перимізії визначено в пацієнтів із діагнозом «грижа міжхребцевих дисків», у решти – і в перимізії, і в ендомізії. На ультрамікроскопічному рівні в післяопераційному матеріалі хворих груп «спондилолітез» і «спінальний стеноз», окрім міжміофібрилярного набряку та порушення архітекtonіки саркомерів, а також структури та розташування мітохондрій, визначено вогнища некрозу міофібрил. Ділянки із нормальним розподілом мітохондрій відмічено лише в групі з діагнозом «грижа між хребцевих дисків». У групі з діагнозом «спінальний стеноз» встановлено порушення ультраструктурної організації венул, що чинить негативний вплив на живлення й, відповідно, функціонування багатороздільного м'яза.

Висновки: найбільші прояви дистрофічних порушень м'язових волокон на тканинному й ультраструктурному рівнях визначено в пацієнтів із діагнозами «спондилолітез» та «спінальний стеноз»

Ключові слова: дегенеративні захворювання, т. multifidus, гістологія, електронна мікроскопія, мітохондрії, поперековий відділ хребта, пацієнти

1. Вступ

Біль у нижній частині спини є надзвичайно поширеною проблемою, з якою стикається більшість населення земної кулі [1]. За результатами популяційних досліджень, кількість пацієнтів із хронічним поперековим болям збільшується з кожним роком. На нього страждають особи переважно у віці 40 ро-

ків і старше [2]. У зв'язку з цим у світі проводять різнопланові дослідження, спрямовані на з'ясування механізмів виникнення цього недугу [3], розроблення ефективних методів лікування, прогнозування результатів. Проте усі ці питання залишаються не до кінця розв'язаними та вимагають подальшого вивчення.