© Постернак Д.Г.
УДК: 612.086:616-009.1

# МАРКЕРИ АПОПТОЗА У НОВОНАРОДЖЕНИХ ДІТЕЙ З ГІПОКСИЧНИМ УРАЖЕННЯМ ЦНС ЛЕГКОГО СТУПЕНЯ*

*Постернак Д.Г.*

ДЗ «Луганський державний медичний університет» МОЗ України, м. Рубіжне, Луганська область.

*Перинатальное гипоксическое поражение ЦНС у новорожденных является ведущей причиной высокой смертности и инвалидности в детском возрасте. Однако существуют трудности в диагностике, терапии и прогнозировании исходов гипоксических повреждений головного мозга у новорожденных детей. Нами изучены маркеры апоптоза в крови (уровень циркулирующей фрагментированной ДНК и ДНК-фрагментации в лимфоцитах) у 36 доношенных новорожденных пациентов с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС легкой степени, гестационный возраст которых составил от 36 до 41 недели. В контрольную группу вошли 20 здоровых доношенных детей. Степень тяжести гипоксического поражения центральной нервной системы мы определяли, используя анамнез заболевания, шкалу Апгар, клинические критерии, изменение неврологического статуса по Шабалову Н.П., нейросонографию. Этапы исследования новорожденных – первые, третьи и седьмые сутки. У пациентов с гипоксическим поражением центральной нервной системы легкой степени отмечалась однонаправленная динамика изменений всех изучаемых маркеров апоптоза. Так максимальный рост циркулирующей фрагментированной ДНК на 8,6% и увеличение уровня ДНК-фрагментации в лимфоцитах в 1,6 раз отмечались на 3-й день исследования. На последнем этапе наблюдалась тенденция к снижению показателей и возвращению к первоначальным цифрам. Это сопровождалось улучшением неврологического статуса новорожденных. Таким образом, динамика изменения маркеров апоптоза таких, как уровень циркулирующей ДНК и ДНК-фрагментации в лимфоцитах у здоровых новорожденных, свидетельствует об адаптации организма пациента к послеродовому стрессу к 7-м суткам. А однонаправленные изменения уровней изучаемых показателей у новорожденных с гипоксическим поражением ЦНС легкой степени отражает тяжесть поражения головного мозга, а так же указывает на адекватность выбранных методов детекции апоптоза.*

Ключевые слова: гипоксия, новорожденные дети, фрагментированная ДНК, ДНК-фрагментации в лимфоцитах, поражение ЦНС.

В останні десятиліття перинатальне гіпоксичне ураження ЦНС у новонароджених є провідною причиною високої смертності та інвалідності в дитячому віці [2, 8]. Однак існують труднощі в діагностиці, терапії та прогнозуванні наслідків гіпоксичних пошкоджень головного мозку у новонароджених дітей [1, 6].

Великий практичний інтерес представляє вивчення таких маркерів апоптозу, як величина циркулюючої фрагментованої ДНК [3, 7] і рівень ДНК-фрагментації в лімфоцитах крові новонароджених дітей [4, 5].

## Матеріали та методи дослідження

Нами досліджено маркери апоптоза в крові (рівень циркулюючої фрагментованої ДНК та ДНК-фрагментації в лімфоцитах) у 36 доношених новонароджених дітей із перинатальним гіпоксичним ураженням ЦНС легкого ступеня. Гестаційний вік пацієнтів склав від 36 до 41 тижня. В контрольну групу ввійшли 20 здорових доношених дітей.

Ступінь тяжкості гіпоксичного ураження центральної нервової системи ми визначали, використовуючи анамнез захворювання, шкалу Апгар, клінічні критерії, класифікацію неврологічного статусу за Шабаловим Н. П. [2], а також інструментальні методи діагностики (нейросонографію).

Етапи дослідження новонароджених – перша, третя та сьома доба.

Для визначення циркулюючої фрагментованої ДНК та ДНК-фрагментації в лімфоцитах ми використовували метод, заснований на кольоровій реакції з дифеніламіновим реагентом в модифікації проф. І. А. Комаревцевої та співавт. (виділення проводиться одразу в лізис-буфері pH = 8).

## Результати та їх обговорення

У здорових новонароджених контрольної групи рівень циркулюючої фрагментованої ДНК в крові (табл.1) знижувався на 7-у добу неонатального періоду.

*Таб 1.*
*Рівень циркулюючої фрагментованої ДНК у крові новонароджених з перинатальним гіпоксичним ураженням ЦНС легкого ступеня.*

| Групи спостереження | 1-а доба | 3-я доба | 7-а доба |
|---|---|---|---|
| Контрольна група | 16,4 ± 3,1 % | 14,4 ± 2,8 % | 13,8 ± 3,2 % |
| Група з ГУ ЦНС легкого ступеня | 29,6 ± 3,9 %* | 38,2 ± 4,2 %* | 30,4 ± 3,3 %** |

*Примітка: * - p < 0,05 – порівняно з контрольною групою;*
*** - p < 0,05 – порівняно з попереднім етапом*

У дітей з гіпоксичним ураженням ЦНС легкого ступеня на 3-ю добу реєструвалося максимальне зростання циркулюючої фрагментованої ДНК, яке перевищувало вихідні дані на 8,6%. На останньому етапі

* *Цитування при атестації кадрів: Постернак Д.Г. Маркери апоптоза у новонароджених дітей з гіпоксичним ураженням ЦНС легкого ступеня // Проблеми екології і медицини. – 2015. – Т. 19, № 5-6. – С. 17–18.*

дослідження спостерігалася тенденція до зниження і повернення до початкових цифр.

Динаміка рівня ДНК-фрагментації в лімфоцитах (табл.2) у здорових новонароджених контрольної групи була аналогічною з рівнем циркулюючої фрагментованої ДНК в крові. Досліджуваний маркер також знижувався на 7-у добу спостереження.

*Таб. 2.*
*Рівень ДНК-фрагментації в лімфоцитах крові новонароджених з перинатальним гіпоксичним ураженням ЦНС легкого ступеня.*

| Групи спостереження | 1-а доба | 3-я доба | 7-а доба |
|---|---|---|---|
| Контрольна група | 10,8 ± 1,6 % | 7,4 ± 1,8 % | 4,6 ± 1,7 % |
| Група з ГУ ЦНС легкого степеня | 19,5 ± 2,9 %* | 32,2 ± 2,4 %*,** | 20,4 ± 2,1 %*,** |

*Примітка: * - p < 0,05 – порівняно з контрольною групою;*
*** - p < 0,05 – порівняно з попереднім етапом*

У пацієнтів з гіпоксичним ураженням центральної нервової системи легкого ступеня відзначалася однонаправлена динаміка змін усіх досліджуваних маркерів. Так на 3-ю добу рівень ДНК-фрагментації в лімфоцитах зростав в 1,6 раз, а до 7-ї доби знижувався.

У новонароджених з перинатальним гіпоксичним ураженням ЦНС легкого ступеня на 3 добу реєструвалося збільшення явищ апоптоза. Це збігалося з погіршенням неврологічного статусу, що проявлялося транзиторним синдромом збудження і/або пригнічення ЦНС. Синдром збудження характеризувався руховим занепокоєнням, тремором, вздрагуваннями, немотивованим криком, помірною тахікардією і тахіпное при пробудженні. До симптомів пригнічення ми відносили м'язову гіпотонію або дистонію, гіпокінезію, швидке виснаження вроджених рефлексів і зниження церебральної активності. Нейросонографічні зміни були відсутні. Також відзначалося зростання всіх досліджуваних маркерів апоптоза.

На останньому етапі дослідження ми спостерігали позитивну динаміку, яка проявлялася у зменшенні інтенсивності апоптоза. Це відповідало зменшенню рівня досліджуваних показників з тенденцією до повернення до початкових цифр. Так на 7-му добу спостереження рівень циркулюючої фрагментованої ДНК, порівняно з 3-м днем, був нижче на 7,8% (табл.1), а кількість ДНК-фрагментації в лімфоцитах зменшувалася в 1,6 разів (табл.2).

Критеріями неврологічного поліпшення у дітей було: відновлення адекватного рівня свідомості, поліпшення рефлекторних функцій, відновлення емоційної сфери (реакції на зовнішні подразники, появу спонтанної рухової активності, активне смоктання, прояв голодного занепокоєння).

## Висновки

Динаміка змін маркерів апоптоза таких, як рівень циркулюючої ДНК та ДНК-фрагментації в лімфоцитах у здорових новонароджених контрольної групи, свідчить про адаптацію організму пацієнта до післяпологового стресу на 7-у добу.

Односпрямовані зміни рівнів досліджуваних показників у новонароджених з гіпоксичним ураженням ЦНС легкого ступеня в ранньому неонатальному періоді відображає тяжкість ураження головного мозку, а також вказує на адекватність обраних методів детекції апоптозу.

## Література:


1. Неонатология: национальное руководство. Н.Н. Володин, ред. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013: 896 с.
2. Пальчик А.Б., Шабалов Н.П. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных. 4-е изд., испр. и доп. – М.: МЕДпресс-информ, 2013. – 288 с.
3. Тамкович С.Н., Власов В.В., Лактионов П.П. Циркулирующие ДНК крови и их использование в медицинской диагностике. Молекулярная биология 2008; 42: 1: 12-23.
4. Ioannou YA, Chen FW. Quantitation of DNA fragmentation in apoptosis. Nucleic Acids Res 1996; 24:992–3.
5. Manoj A, Ramachandra RK, Vishnu BB, Venkatesh C, Bobby Z. DNA damage in perinatal asphyxia using micronucleus assay. Curr Pediatr Res 2011;15(1):5–9.
6. Polat M., Simşek A., Tansuğ N. et al. Prediction of neurodevelopmental outcome in term neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy // Eur. J. Paediatr. Neurol. – 2013. – Vol. 17, №3. – P. 288-293.
7. Rainer TH, Wong LKS, Lam W, Yuen E, Lam NYL, Metrewel C, et al. Prognostic use of circulating plasma nucleic acid concentrations in patients with acute stroke. Clin Chem 2003; 49:562–9.
8. Soliman A.M., Al-Gendy R.A., Abdel-Moety H. Hypoxicischemig encephalopathy in term neonates: early bio chemical indicators // Australian J. Basic and Applied Sci. – 2011. – № 5. – P.82-87.