

УДК: 616.831-005.4-085.279-053.32/.35

В.Е.Маркевич, І.В.Тарасова, В.О.Петрашенко

АНТИОКСИДАНТНИЙ ЗАХИСТ НЕДОНОШЕНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ У РАЗІ ГІПОКСИЧНО-ІШЕМІЧНОГО УРАЖЕННЯ ЦЕНТРАЛЬНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ

*Сумський державний університет, медичний інститут,
кафедра педіатрії з курсом медичної генетики, Україна*

Ключові слова: гіпоксія, недоношені діти, мідь, церулоплазмін.

ВСТУП

Найбільшою проблемою в неонатології є гіпоксичні ушкодження головного мозку. Особливо велике значення має гіпоксичне ураження недоношених новонароджених, у яких воно в 10-15 разів частіше постає причиною загибелі дітей [1]. Гіпоксія плода спричиняє порушення мітохондріального окислювального фосфорилування [2]. При цьому відбувається активування анаеробного метаболізму глюкози, зниження продукції макроергів, порушення активності АТФ-ази та деполяризація пресинаптичних мембран [3]. Такі процеси призводять до підвищення внутрішньоклітинної концентрації кальцію, який у свою чергу запускає безліч біохімічних каскадів, у тому числі протеази, фосфоліпази, ендонуклеази, які викликають апоптоз клітини. Крім того, іони кальцію спричиняють утворенню вільних радикалів та активують перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) [4].

ПОЛ на фоні гіпоксії викликає активацію антиоксидантної системи організму, до складу якої входить і мідьміська оксидаза церулоплазмін (ЦП). Церулоплазмін відноситься до білків, які містять катіони міді перемінної валентності. Він включає у собі 90-95% іонів міді сироватки крові та є одним з основних антиоксидантів плазми [5]. Антирадикальні властивості ЦП пояснюються його здатністю зв'язувати катіони металів та супероксидні радикали, інгібувати активні кисневі метаболіти, попереджувати окислення ліпідів [6].

Участь міді та церулоплазміну в антиоксидантному захисті недоношених новонароджених на фоні гіпоксичного ураження центальної нервової системи залишається не дослідженою.

МЕТА РОБОТИ

За показниками концентрації міді та церулоплазміну у плазмі крові дослідити стан антиоксидантної системи у недоношених новонароджених на фоні гіпоксично-ішемічного ураження ЦНС.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Матеріалом для дослідження була периферійна венозна кров новонароджених, яку брали шляхом венепункції зранку натщесерце. Визначення рівня міді та церулоплазміну проводилося у сироватці крові 33 недоношених (I група) у разі гіпоксично-ішемічного ураження ЦНС легкого ступеня та у 40 передчасно народжених (II група) на фоні важкої гіпоксії. Ступінь важкості гіпоксії визначався з урахуванням перебігу вагітності та пологів, стану після народження (оцінки за шкалою Апгар, наявності ознак порушення функцій центральної нервової системи, дихальної, серцево-судинної та сечовидільної систем протягом перших трьох діб життя), лабораторних (показники сечовини та креатиніну в крові, клінічний аналіз сечі, рН крові) та інструментальних (УЗД) даних.

Групу порівняння склали 26 умовно здорових недоношених новонароджених (III група).

Для визначення міді у сироватці та еритроцитах застосовували атомно-абсорбційний спектрофотометр С-115МІ, оснащений комп'ютерною приставкою для автоматичного обчислення вмісту МЕ виробництва НВО Selmi (Україна).

Рівень церулоплазміну визначався імунотурбодиметричним методом, в основі якого лежить специфічна турбодиметрична реакція між анти-церулоплазмін поліклональною антисироваткою та антигеном при оптимальній рН, з використанням наборів реактивів фірми «SENTINEL CH» (Італія).

Статистична обробка результатів досліджень здійснювалася за допомогою програм Excel та Statistica 6.0. Використовувалися методи варіаційної статистики, придатні для медико - біологічних досліджень. Визначали середньоарифметичне (M), похибку середньоарифметичного (m). За допомогою критерію Ст'юдента (t) визначали показник достовірності (P).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз перинатального онтогенезу досліджуваних груп представлений у таблиці 1.

Таблиця 1

Перинатальний онтогенез

Показник	I група n=33	II група n=40	III група n=26
Загроза переривання, вагітності, %	42,4	57,5	38,5
Анемія вагітних, %	39,4	35,0	15,4
Аборт в анамнезі, %	57,6	62,5	30,8
Вагіноз, кольпіт, %	18,2	12,5	7,7
Хронічна фетоплацентарна недостатність, %	18,2	22,5	16,2
Інфекції, %	24,2	32,5	-
Преєклампсія, %	3,0	15,0	-
Соматична патологія, %	12,1	20,0	7,7
Кесарів розтин, %	15,2	72,5	15,4
Маса при народженні, г	2030,11±42,3	1547,14±119,37	2276±85,09
Термін гестації, тижні	33,84±0,3	31,16±0,6	35,73±0,4

Серед малюків I групи (18 дівчат та 15 хлопчиків) недоношені I ступеня склали 60,6% (20) дітей, недоношені II ступеня – 33,3% (11) дітей, глибоконедоношені III-IV ступеня – 6,1% (2) новонароджених.

Оцінка ступеня асфіксії після народження за шкалою Апгар показала, що на першій хвилині життя 15 дітей (45,5%) знаходилося у стані асфіксії легкого ступеня (6-7 балів за шкалою), 18 дітей (54,5%) не мали клінічних ознак асфіксії (8-10 балів). На п'ятій хвилині життя усі діти мали оцінку за шкалою Апгар 8-10 балів.

Клінічне обстеження встановило, що 100% дітей мали перинатальне гіпоксичне ураження ЦНС, яке маніфестувало симптомами підвищеної нервово-рефлекторної збудливості у 84,8% випадків (28 дітей) та симптомами пригнічення у 15,2% випадків (5 малюків). Кисневу терапію у вигляді вільного потоку кисню отримували 30,3% дітей (10 малюків), решта - 69,7% (23) новонароджених були кисневонезалежними.

За даними нейросонографії (НСГ), 6 дітей (18,2%) мали перивентрикулярні крововиливи, у такої ж кількості знаходили ознаки незрілості мозку, кісти спостерігалися у 1 недоношеного новонародженого (3%). У всіх дітей було розрихлення хоріоїдальних сплетінь.

Серед малюків II групи (18 дівчат та 22 хлопчики) недоношені I ступеня склали 12,5% (5) дітей, II ступеня – 27,5% (11) дітей, III-IV ступеня – 60,0% (24) новонароджених. Під час пологів туге обвиття пуповини навколо шиї діагностовано у 15,0% (6) новонароджених. Визначення ступеня асфіксії за допомогою шкали Апгар показало, що на першій хвилині життя оцінку 0-3 бали отримали 7,5% (3) дітей, 4-5 балів - 37,5% (15)

новонароджених, 6-7 балів отримали 55,0% (22) малюків. На п'ятій хвилині життя 10,0% (4) дітей мали оцінку за шкалою Апгар 4-5 балів, 85,0% (34) недоношених мали 6-7 балів та 5,0% (2) малюків були оцінені за шкалою Апгар у 8-10 балів.

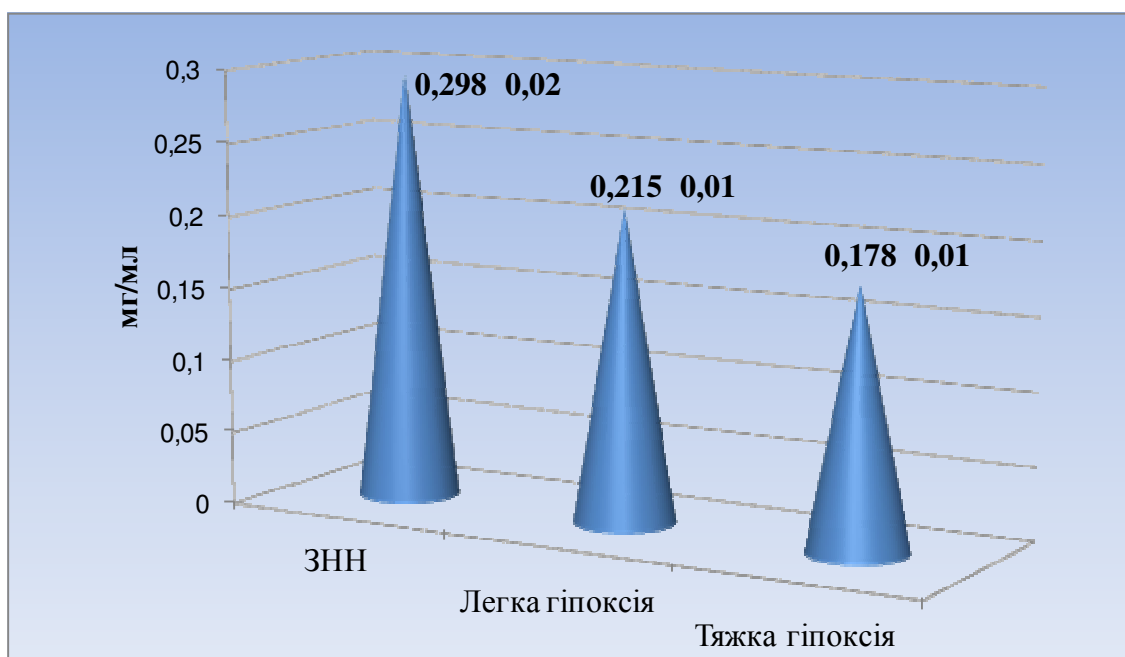
Перинатальне гіпоксичне ураження ЦНС тяжкого ступеня мали 100% дітей цієї групи. Воно проявлялося симптомами пригнічення у 87,5% випадків (35 малюків) та підвищеної нервово-рефлекторної збудливості у 12,5% випадків (5 дітей). Кисневу терапію у вигляді вільного потоку кисню отримували 10,0% дітей (4 малюків), решта – 90,0% (36) новонароджених знаходилися на штучній вентиляції легень. За даними НСГ, 9 дітей (22,5%) мали перивентрикулярні крововиливи, ознаки незрілості мозку спостерігалися у 7 малюків (17,5%). У всіх дітей знаходили розрихлення хоріоїдальних сплетінь.

III групу склали 26 умовно здорових недоношених новонароджених (13 хлопчиків та 13 дівчат). Серед них недоношені I ступеня склали 65,4% (17 дітей), недоношені II ступеня – 34,6% (9 дітей).

За шкалою Апгар оцінку 6-7 балів на 1-й хвилині життя отримали 15,4% (4) новонароджених, 8-10 балів – 84,8% (22) дітей. На 5-й хвилині життя усі малюки були оцінені за шкалою Апгар у 8-10 балів. У пологовому залі всі діти оглянуті неонатологом. Шкірні покриви і видимі слизові були чистими і мали блідо-рожевий колір. Еластичність шкіри, тургор тканин та тонус скелетних м'язів були у задовільному стані. Патологічних відхилень з боку внутрішніх органів не виявлялося. Перкуторно над легеньми визначався ясний легеневий звук, аускультативно - пуерильне дихання.

При визначенні рівня церулоплазміну у сироватці крові встановлено, що його рівень в умовно здорових недоношених новонароджених становив $0,298 \pm 0,02$ мг/мл (рисунок 1). На фоні гіпоксії легкого ступеня концентрація цього фермента в сироватці крові знижувалася на 28% порівняно із здоровими дітьми ($p < 0,01$) (рисунок 1). Отже, навіть незначне гіпоксичне ураження ЦНС у недоношених новонароджених призводить до напруження антиоксидантної системи організму, що у свою чергу знижує адаптаційні можливості передчасно народжених. Перинатальна гіпоксія тяжкого ступеня призводила до виснаження цього антиоксиданта – вміст церулоплазміну зменшувався майже вдвічі порівняно з показником у ЗНН ($p < 0,001$). Крім того, його концентрація на фоні важкої гіпоксії була на 17% меншою відносно дітей з легкою гіпоксією ($p < 0,05$) (рисунок 1).

Рисунок 1



Концентрація церулоплазміну в сироватці крові недоношених дітей на фоні гіпоксії

Таким чином, на фоні важкої гіпоксії відбувається пригнічення активності одного з основних компонентів антиоксидантної системи плазми крові - церулоплазміну.

Відомо, що в структурі церулоплазміну міститься 6 іонів міді, 3 з яких формують центри, які приймають участь у процесах передачі електронів, а решта 3 – формують центр, що приймає участь у каталітичному циклі супероксиддисмутази, яка забезпечує видалення супероксидних радикалів [7].

Так, на фоні гіпоксії в сироватці крові та еритроцитах недоношених новонароджених спостерігалось достовірне зниження концентрації міді порівняно з ЗНН (таблиця 2). У передчасно народжених вміст міді на фоні гіпоксичного ураження легкого ступеня знижувався на 37% в сироватці крові та на 26% в еритроцитах. А при тяжкій гіпоксії складав 50% від показника ЗНН як в сироватці, так і в еритроцитах (табл. 2).

Таблиця 2

Концентрація міді в сироватці крові та еритроцитах недоношених дітей

	Гіпоксія легкого ступеня		Гіпоксія важкого ступеня		Умовно здорові недоношені	
	І група n=33		ІІ група n=40		ІІІ група n=26	
	Сироватка, мкмоль/л	Еритроцити, мкг/мг золи	Сироватка, мкмоль/л	Еритроцити, мкг/мг золи	Сироватка, мкмоль/л	Еритроцити, мкг/мг золи
мідь	5,10±0,18 p<0,001	0,36±0,02 p<0,01	3,19±0,13 p<0,001 p ₁ <0,001	0,29±0,01 p<0,001 p ₁ <0,01	7,02±0,20	0,45±0,03

p- достовірність різниці показників відносно ЗНН;
 p1- достовірність різниці показників дітей з гіпоксією легкого ступеня відносно гіпоксії тяжкого ступеня.

Цікавим є дослідження кореляції між концентрацією церулоплазміну та рівнем міді у сироватці крові, оскільки 90-95% міді знаходиться в організмі у складі цього фермента.

Показники парної кореляції вмісту церулоплазміну та міді в сироватці крові наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Показники парної кореляції r_{xy} вмісту церулоплазміну та міді в сироватці крові

	Гіпоксія легкого ступеня	Гіпоксія важкого ступеня	Умовно здорові недоношені
	I група n=33	II група n=40	III група n=26
r_{xy}	0,62 p<0,01	0,69 p<0,001	0,68 p<0,05

Дослідження показників парної кореляції рівня церулоплазміну та міді у сироватці крові дозволило встановити, що для недоношених дітей властивим є значний позитивний зв'язок.

Таким чином, гіпоксичне ураження ЦНС призводить до значного виснаження як сироваткового, та і еритроцитарного пулів міді. Активне засвоєння міді організмом новонароджених відбувається за рахунок білків та амінокислот. Абсорбована мідь зв'язується з альбуміном та транскупреїном і транспортується до печінки, де відбувається її включення до складу церулоплазміну. У недоношених новонароджених у разі гіпоксії відбувається ураження гепатоцитів з порушенням білковосинтетичної функції печінки та зниження синтезу альбуміну та транскупреїну. Це призводить до зниження засвоєння міді та метаболізму її у печінці, що проявляється зменшенням синтезу церулоплазміну [5,6].

Крім того, у випадку гіпоксичного ураження в організмі дитини відбувається активація анаеробного гліколізу зі зниженням продукції АТФ. Порушення синтезу макроергів викликає деполяризацію пресинаптичних мембран та накопичення кальцію всередині клітин. Підвищення рівня іонів кальцію спричиняє утворення вільних радикалів, які активують перекисне окислення ліпідів мембран, викликають важкий ацидоз та подальший апоптоз клітин. У здорових малюків церулоплазмін активно зв'язує супероксидні радикали, які вивільнюються при фагоцитозі. Крім того, він інгібує лізосомальні ферменти, які виходять з клітин під час їх деструкції. Недостатність синтезу церулоплазміну через незрілість білковосинтетичної функції печінки у недоношених

призводить до зниження антирадикальної здатності білків інгібувати активні кисневі метаболіти, попереджувати окислення ліпідів у мембранах. Вільні радикали та продукти ПОЛ, у свою чергу, чинять токсичний вплив на гепатоцити печінки та ще у більшій мірі порушують синтетичну функцію печінки, зокрема її можливість щодо синтезу ферментів антиоксидантної системи. Таким чином, формується порочне патогенетичне коло: недостатня білковосинтетична функція печінки у недоношених → зниження білків антиоксидантної системи → порушення дезактивації продуктів ПОЛ → активація протеаз, ліпаз, вільних радикалів → токсичний вплив на гепатоцити → ще більше пригнічення синтезу антиоксидантних білків.

Отже, у недоношених новонароджених на фоні гіпоксичного ураження ЦНС відбувається порушення антиоксидантних механізмів захисту, що потребує подальшої розробки корекції цього патологічного стану. Крім того дискусійним залишається питання потреби замісної терапії препаратами міді та церулоплазміну у новонароджених у разі гіпоксії.

ВИСНОВКИ

1. Перебіг перинатальної гіпоксії, особливо гіпоксії важкого ступеня, призводить до виникнення дефіциту сироваткового і тканинного вмісту міді та пригнічення активності одного з важливих плазмових факторів антиоксидантної системи крові – церулоплазміну.
2. Актуальним є питання розробки методів корекції дефіциту міді та активації синтезу церулоплазміну у недоношених новонароджених у разі гіпоксично-ішемічного ураження ЦНС.

Література

1. Муравская Е.А. Содержание микроэлементов в сыворотке крови у недоношенных новорожденных с поражением ЦНС / Е.А. Муравская // Материалы Международной 64-й научной студенческой конференции им. Н.И. Пирогова. – 2005. – С. 5.
2. Никонов В.В. Метаболическая терапия гипоксических состояний / В.В.Никонов, А.Ю. Павленко // Медицина неотложных состояний. - № 3-4. – 2009.- С.22-23.
3. Matthew V.Covey. Pathophysiology of Perinatal Hypoxia – Ischemia and the Prospects for Repair from Endogenous and Exogenous Stem Cells / Matthew V.Covey, Steven W.Levison // Neo Reviews. – Vol.7. – No.7. – 2006. – P.353-362.
4. Ізюмець О.І. Терапія новонароджених з гіпоксично-ішемічним пошкодженням ЦНС при застосуванні комплексної терапії з використанням цитиколіну / О.І. Ізюмець, В.М. Дудник, І.В. Іщук, М.В. Добіжа, С.О. Паненко, Л.В. Сафонюк, Л.І. Лайко // Перинатологія і педіатрія. - №1(41). – 2010. – С.97-99.
5. Sedlak Eric. Role of Copper in Thermal Stability of Human Ceruloplasmin / Eric Sedlak, Gabriel Zoldak, Pernilla Wittung-Stafshede // Biophysical Journal. – Vol.94. – Issue 4. – 2008. – P.1384-1391.
6. Failla M. Trace Elements and Host Defense: Recent Advances and Continuing Challenges / Failla M. // Nutr.- Vol.133.- 2003. - P.1443-1447.
7. Нетребенко О.К. Роль меди и селена в питании недоношенных детей / О.К.Нетребенко // Педиатрия. - №2. – 2005. – С.59-64.

В.Е.Маркевич, І.В.Тарасова, В.О.Петрашенко

**АНТИОКСИДАНТНИЙ ЗАХИСТ НЕДОНОШЕНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ У РАЗІ
ГІПОКСИЧНО-ІШЕМІЧНОГО УРАЖЕННЯ ЦЕНТРАЛЬНОЇ НЕРВОВОЇ
СИСТЕМИ**

*Сумський державний університет, медичний інститут,
кафедра педіатрії з курсом медичної генетики, Україна*

РЕЗЮМЕ

Стаття присвячена дослідженню антиоксидантної системи у недоношених новонароджених на фоні гіпоксичного ураження ЦНС. Напруженість системи антиоксидантного захисту оцінювали за показниками концентрації міді та церулоплазміну у крові. Встановлено, що перинатальна гіпоксія призводить до значного виснаження міді та церулоплазміну як антиоксидантів, що потребує розробки принципів корекції.

Ключові слова: гіпоксія, недоношені діти, мідь, церулоплазмін.

В.Э.Маркевич, И.В.Тарасова, В.А.Петрашенко

**АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ
ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ
СИСТЕМЫ**

*Сумской государственной университет, медицинский институт,
кафедра педиатрии с курсом медицинской генетики*

РЕЗЮМЕ

Статья посвящена изучению антиоксидантной системы у недоношенных новорожденных при гипоксическом поражении ЦНС. Напряженность системы антиоксидантной защиты оценивали по показателям концентрации меди и церулоплазмينا в крови. Установлено, что перинатальная гипоксия приводит к значительному истощению меди и церулоплазмينا как антиоксидантов, что требует разработки принципов коррекции.

Ключевые слова: гипоксия, недоношенные дети, медь, церулоплазмин.

V.E.Markevich, I.V.Tarasova, V.A.Petrashenko

**ANTIOXSDANT DEFENCE OF PRETERM BIRTH NEWBOTNS, SUFFERING
PERINATAL HYPOXIA**

Sumy State University,Medical Institute,

Department of Pediatrics with Course of Medical Genetics

SUMMURY

The article is devoted the study of the antioxidant system at preterm birth newborns, suffering perinatal hypoxia. Tension of the system of antioxidant defence was estimated on indexes by the concentrations of copper and ceruloplasmin in blood. It is set that over a perinatal hypoxia brings to considerable exhaustion of copper and ceruloplasmin as antioxidants, that requires development of principles of correction.

Keywords: hypoxia, preterm birth newborns, copper, ceruloplasmin.

Маркевич В. Е. Антиоксидантний захист недоношених новонароджених у разі гіпоксично-ішемічного ураження центральної нервової системи / В. Е. Маркевич, І. В. Тарасова, В. О. Петрашенко // Здоровье ребенка. – 2011. – №2(29). – С. 107-110.