

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ И НЕЙРОНСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЕНОЛАЗЫ В КРОВИ НОВОРОЖДЕННЫХ С НАРУШЕНИЯМИ ЦНС

УДК 616.8–053.31–074:577.151/.152

Поступила 9.02.2015 г.

© **М.В. Ведунова**, к.б.н., руководитель лаборатории по разработке методов нейропротекции Нижегородского нейронаучного центра НИИ «Институт живых систем»¹; старший научный сотрудник отдела биохимии ЦНИЛ²;
К.А. Терентьева, аспирант кафедры госпитальной педиатрии²;
Н.А. Щелчкова, к.б.н., зав. отделом молекулярно-клеточных технологий ЦНИЛ²; старший научный сотрудник лаборатории по разработке методов нейропротекции Нижегородского нейронаучного центра НИИ «Институт живых систем»¹;
М.А. Косарева, аспирант кафедры госпитальной педиатрии²;
Т.А. Мищенко, младший научный сотрудник отдела молекулярно-клеточных технологий ЦНИЛ²; младший научный сотрудник лаборатории по изучению фармакологических свойств нейротропных лекарственных средств Нижегородского нейронаучного центра НИИ «Институт живых систем»¹;
О.В. Халецкая, д.м.н., профессор, зав. кафедрой госпитальной педиатрии²;
И.В. Мухина, д.б.н., профессор, зав. ЦНИЛ²; зав. кафедрой нормальной физиологии им. Н.Ю. Беленкова²; профессор кафедры нейродинамики и нейробиологии биологического факультета¹; руководитель лаборатории по изучению фармакологических свойств нейротропных лекарственных средств Нижегородского нейронаучного центра НИИ «Институт живых систем»¹

¹Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Н. Новгород, 603950, проспект Гагарина, 23;

²Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Цель исследования — оценить диагностическое значение содержания нейротрофического фактора головного мозга BDNF, глиального нейротрофического фактора GDNF и нейронспецифической енолазы NSE в плазме крови новорожденных с перинатальным гипоксическим поражением центральной нервной системы (ЦНС).

Материалы и методы. Исследовалась концентрация нейротрофических факторов и фермента NSE в плазме крови новорожденных с гестационным возрастом 31–42 нед. В основные группы вошли новорожденные с признаками перинатального поражения ЦНС (1-я группа — с судорожными состояниями, 2-я группа — с признаками тяжелого перинатального поражения ЦНС), которое было диагностировано на основании осмотра, оценки динамики неврологического статуса и данных нейросонографического обследования. Контрольную группу составили здоровые новорожденные. Определение концентрации BDNF, GDNF и фермента NSE осуществляли методом иммуноферментного анализа при поступлении ребенка в стационар и через 10–14 дней от начала терапии.

Результаты. Установлено достоверное увеличение концентрации NSE в плазме крови новорожденных с судорожными состояниями. Концентрация BDNF достоверно увеличивается в плазме крови детей с признаками тяжелого перинатального поражения ЦНС в период после проведения реабилитационной терапии. Отмечена обратная корреляционная зависимость между уровнем BDNF и GDNF. Показано прогностическое значение определения BDNF и NSE в плазме крови новорожденных с тяжелыми нарушениями ЦНС.

Заключение. Наибольшей диагностической значимостью для оценки степени тяжести поражения головного мозга у детей на этапе раннего неонатального периода обладает определение концентрации NSE и BDNF, что позволяет использовать данные маркеры сразу после рождения до развития неврологической симптоматики.

Ключевые слова: нейронспецифическая енолаза; нейротрофический фактор головного мозга; глиальный нейротрофический фактор; гипоксия; перинатальное поражение ЦНС.

Для контактов: Ведунова Мария Валерьевна, e-mail: Mvedunova@yandex.ru

Determining Concentration of Neurotrophic Factors and Neuron Specific Enolase in the Blood of Newborns with Central Nervous System Damages as a New Approach in Clinical Diagnostics

M.V. Vedunova, PhD, Head of the Laboratory for Neuroprotection Methods Development, Nizhny Novgorod Neuroscience Centre, Institute of Living Systems¹; Senior Researcher, Biochemistry Department, Central Research Laboratory²;

K.A. Terentieva, PhD Student, Hospital Pediatrics Department²;

N.A. Shchelchkova, PhD, Head of Molecular and Cell Technologies Department, Central Research Laboratory²; Senior Researcher, Laboratory for Neuroprotection Methods Development, Nizhny Novgorod Neuroscience Centre, Institute of Living Systems¹;

M.A. Kosareva, PhD Student, Hospital Pediatrics Department²;

T.A. Mishchenko, Junior Researcher, Molecular and Cell Technologies Department, Central Research Laboratory²; Junior Researcher, Laboratory for Pharmacological Properties of Neurotropic Drugs Research, Nizhny Novgorod Neuroscience Centre, Institute of Living Systems¹;

O.V. Khaletskaya, MD, DSc, Professor, Head of Hospital Pediatrics Department²;

I.V. Mukhina, DSc, Professor, Head of Central Research Laboratory²; Head of the Department Normal Physiology named after N.Y. Belenkov²; Professor, Neurodynamics and Neurobiology Department, Biological Faculty¹; Head of the Laboratory for Pharmacological Properties of Neurotropic Drugs Research, Nizhny Novgorod Neuroscience Centre, Institute of Living Systems¹

¹Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 23 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation;

²Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation

The aim of the investigation is to assess the quantity of brain-derived neurotrophic factor (BDNF), glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) and neuron specific enolase (NSE) in plasma of newborns with perinatal hypoxic damage of CNS.

Materials and Methods. Neurotrophic factors and NSE enzyme concentrations in plasma of newborns (gestation age 31–42 weeks) was studied. The main groups consisted of newborns with the symptoms of perinatal CNS damage (group 1 — with convulsive states, group 2 — with the signs of severe perinatal CNS damage), diagnosed according to physical examination, evaluation of the neurological status dynamics and neurosonographic studies. Control group included healthy neonates. Concentration of BDNF, GDNF (R&D Systems, USA) and NSE enzyme (Vector Best, Russia) was determined by ELISA kit during hospitalization and on day 10–14 after the rehabilitation therapy.

Results. Carried out experiments revealed the significant increase of NSE concentration in plasma of newborns with convulsive states. The higher levels of this enzyme were detected in infants with severe perinatal CNS damage. Moreover, BDNF concentration significantly increases in plasma of patients with the symptoms of severe CNS damage in the period following rehabilitation therapy. These experiments also demonstrate the inverse correlation between BDNF and GDNF levels. It was shown the important prognostic value of BDNF and NSE determination in plasma of newborns with CNS injury.

Conclusion. The most diagnostic value for assessing the severity of brain damage in early neonatal period is associated with measurements of NSE and BDNF concentrations in plasma, which allows to use these markers immediately after birth and before the development of neurological symptoms.

Key words: neuron specific enolase; brain-derived neurotrophic factor; glial cell-line derived neurotrophic factor; hypoxia; perinatal CNS damage.

Своевременная диагностика и лечение судорожных состояний остается важной проблемой перинатальной неврологии и неонатологии. Частота судорог в популяции новорожденных составляет 0,5–6%, у недоношенных — 8–12%, у детей с экстремально низкой массой тела — до 20% [1]. У новорожденных, особенно у недоношенных, отмечается достаточно ограниченный набор неврологической симптоматики, во многом клинические проявления при различных патологичес-

ких состояниях имеют схожие симптомы. При этом судороги — наиболее яркий, клинически очерченный и нередко определяющий симптом, указывающий на дисфункцию и поражение центральной нервной системы (ЦНС) ребенка [2]. Это обуславливает необходимость глубокого анализа клинических показателей у новорожденных с обязательной оценкой данных, полученных при использовании современных методов исследования ЦНС, включая видео-ЭЭГ-мониторинг,

нейросонографию (НСГ), компьютерную томографию (КТ) и магнитно-резонансную томографию (МРТ) головного мозга. Однако у этих детей не всегда возможно объективно оценить состояние ЦНС, так как тяжесть поражения часто не соответствует клинической симптоматике, особенно у недоношенных, а необходимость соблюдения щадящего режима делает невозможным проведение функциональной диагностики. Поэтому так важна разработка диагностических методов, основанных на результатах лабораторных исследований. Чрезвычайно перспективным направлением в ранней диагностике церебральных повреждений является иммунохимическое определение нейроспецифических белков в различных биологических жидкостях (кровь, ликвор). Эти белки тканеспецифичны для нервной системы и гистогенетически являются продуктами жизнедеятельности нейроэпителиальной ткани, т.е. нейронов и глиальных клеток. Любой патологический процесс в головном мозге неизбежно приводит к структурным повреждениям нервной ткани и нарушению функциональной целостности гематоэнцефалического барьера, что сопровождается выходом нейроспецифических белков в ликвор, а затем — в кровь. Наиболее существенное преимущество иммунохимического определения данных белков в биологических жидкостях — высокая чувствительность, диагностическая точность и малые количества (0,2–0,5 мкл) требуемого для исследований материала [3, 4].

К нейроспецифическим белкам, имеющим ключевое значение для функционирования головного мозга, относят нейронспецифическую енолазу (NSE), нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) и глиальный нейротрофический фактор (GDNF).

BDNF — это важная сигнальная молекула, участвующая в регуляции нейрогенеза, роста и выживаемости нейронов в ЦНС. Этот фактор играет важную роль при ишемических и нейродегенеративных заболеваниях, а также принимает участие в защитных механизмах нервной ткани при ишемическом повреждении [5].

Представитель семейства трансформирующего фактора роста бета нейротрофический фактор GDNF секретируется клетками глии (астроциты, шванновские клетки) и способствует сохранению, пролиферации и дифференцировке различных популяций клеток центральной и периферической нервной системы [6, 7]. Выявлено, что при повреждении нервной системы уровень мРНК GDNF быстро возрастает и остается повышенным в течение недели после травмы [8].

NSE — изоформа фермента енолазы, необходимо для осуществления гликолиза. В настоящее время NSE рассматривается как один из наиболее специфичных маркеров повреждения нейронов и служит индикатором для выявления степени дифференцированности ЦНС (NSE обнаруживается на относительно поздних стадиях нейрональной дифференцировки, с началом синаптогенеза, т.е. после 22-й недели беременности). Это специфический сывороточный маркер нейроэндокринных опухолей и разрушения нервной ткани [9]. Уровень NSE повышен при ишемическом повреждении и травме мозга, эпилепсии, субарахноид-

альном кровоизлиянии и является неблагоприятным прогностическим фактором неврологического дефицита [10].

Цель исследования — оценить диагностическое значение содержания нейротрофического фактора мозга, глиального нейротрофического фактора и нейронспецифической енолазы в сыворотке крови у новорожденных с перинатальным гипоксическим поражением центральной нервной системы.

Материалы и методы. Обследовано 17 новорожденных с гестационным возрастом от 31 до 42 нед. В основную группу вошли 10 детей (мальчиков — 7, девочек — 3) с минимальной массой тела при рождении — 1290 г, находившихся на стационарном лечении в Детской городской клинической больнице №1 Нижнего Новгорода. Все новорожденные имели признаки тяжелого перинатального поражения ЦНС, которое было диагностировано на основании осмотра, оценки динамики неврологического статуса и данных нейросонографического обследования.

В ходе наблюдения дети были разделены на две группы: в 1-ю включены дети с неонатальными судорогами гипоксического генеза (n=5), во 2-ю — с тяжелым постгипоксическим поражением нервной системы с формированием атрофических процессов в головном мозге без судорожных проявлений (n=5).

Пробы крови для определения сывороточной концентрации BDNF, GDNF и фермента NSE брали не позднее 72 ч после возникновения судорог и через 10–14 дней от начала лечения. Полученную плазму в объеме 0,5 мл замораживали и хранили при температуре –20°C не более 2 мес. Содержание белков BDNF, GDNF определяли методом иммуноферментного анализа с использованием реактивов ф. R&D Systems (США), детектирование фермента NSE проводили с использованием реактивов ф. «Вектор Бест» (Россия).

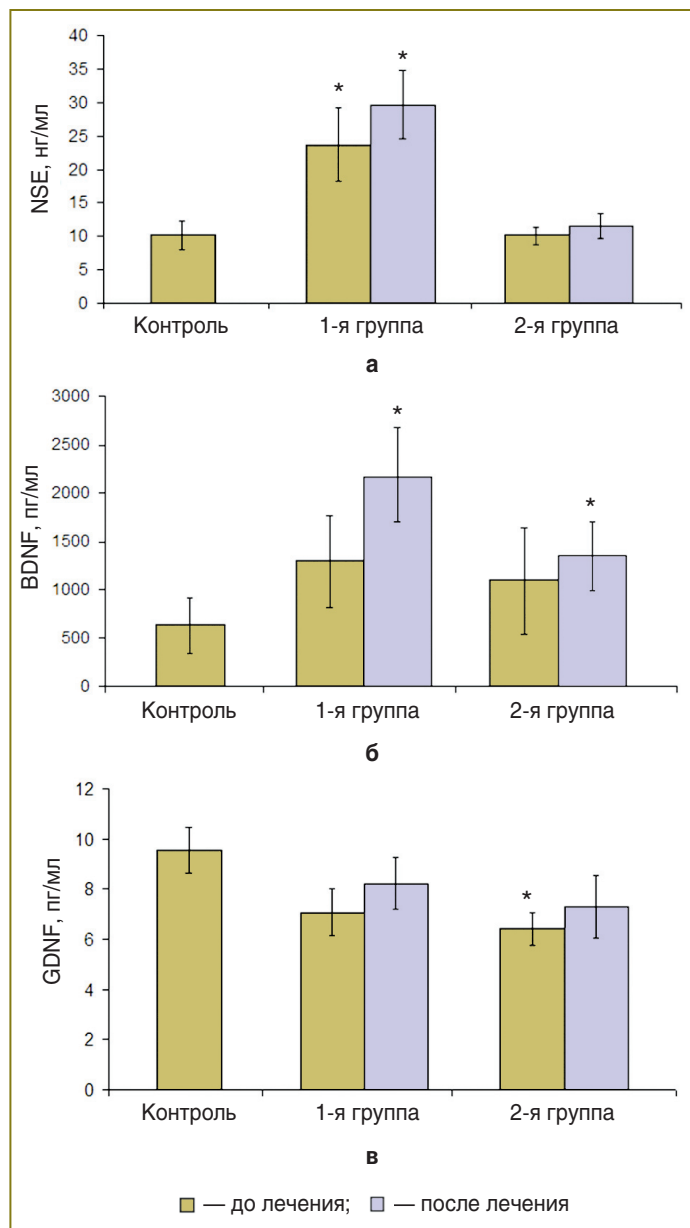
Оценку нервно-психического статуса новорожденных выполняли по шкале NACS, включающей определение 5 областей: способность к адаптации, пассивный тонус, активный тонус, безусловные рефлексy и общее состояние. Тест состоит из 20 пунктов, каждый из которых оценивается от 0 до 2 баллов. Значение 35–40 баллов присуще типичному соматически здоровому новорожденному.

Из данных анамнеза известно, что все дети были рождены матерями с отягощенным течением беременности и родов. Чаще всего встречались следующие факторы риска: угроза выкидыша на ранних сроках беременности, признаки гестоза и недостаточности маточно-плацентарного кровообращения, длительный безводный период, стимуляция родовой деятельности. При рождении состояние всех детей расценивалось как тяжелое или средней тяжести. Оценка по шкале Апгар на первой минуте жизни составляла 1–3 балла у 10% новорожденных, 4–7 баллов — у 70%, 7–9 баллов — у 20%. Всем детям, родившимся в тяжелом состоянии, проводился комплекс первичных реанимационных мероприятий в условиях родильного дома.

Контрольная группа была представлена 7 доношенными детьми без поражения ЦНС. Взятие проб крови

у детей контрольной группы осуществляли при проведении необходимых анализов в стационаре по показаниям.

Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией (принятой в июне 1964 г. (Хельсинки, Финляндия) и пересмотренной в октябре 2000 г. (Эдинбург, Шотландия)) и одобрено Этическим комитетом НижГМА. От родителей пациентов получено информированное согласие.



Динамика концентрации нейротрофических факторов BDNF и GDNF и нейронспецифической енолазы NSE в плазме крови новорожденных детей с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС: а — NSE, * — статистическая значимость различий значений с контрольной группой ($p < 0,01$), ANOVA; б — BDNF (разведение плазмы крови 1:10), * — статистическая значимость различий значений с контрольной группой ($p < 0,05$), ANOVA; в — GDNF, * — статистическая значимость различий значений с контрольной группой ($p < 0,01$), ANOVA

Достоверность различий между экспериментальными группами определяли с помощью пакета программ ANOVA. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. При первичной оценке нервно-психического статуса новорожденного по шкале NACS у большинства зарегистрированы достаточно низкие показатели (в среднем 23,2 балла). Однако на фоне лечения и адаптации ребенка данный показатель увеличился до 30,125 балла.

У детей 1-й группы судороги возникли в первые двое суток жизни. По своему характеру это были фокальные клонические или генерализованные тонические судороги. Продолжение судорог отмечено у 60% детей. Для быстрого купирования судорожного приступа применялось парентеральное введение диазепама из расчета 0,25–0,5 мг/кг массы тела. В дальнейшем при повторном возникновении судорог назначался фенобарбитал для перорального применения в начальной дозе 10 мг/кг в сутки в два приема и поддерживающей дозе 5 мг/кг в сутки (также двукратный прием). На фоне лечения судороги купировались у всех пациентов. Кроме того, проводили необходимую симптоматическую терапию и лечение, направленное на улучшение обменных процессов в головном мозге.

По результатам НСГ у всех детей 1-й группы диагностированы постгипоксические изменения. При записи ЭЭГ эпилептиформная активность не регистрировалась.

Все дети из 2-й группы были рождены в тяжелом состоянии, потребовавшем проведения реанимационных мероприятий и в дальнейшем — искусственной вентиляции легких. По результатам НСГ и КТ головного мозга были диагностированы признаки развития атрофических процессов в головном мозге: перивентрикулярная лейкомаляция, увеличение размеров желудочков и субарахноидального пространства. Тяжелый неврологический дефицит в ходе наблюдения сформировался у 40% детей из этой группы, у остальных — умеренная задержка нервно-психического развития.

При изучении концентрации нейротрофических факторов BDNF, GDNF и фермента NSE в плазме крови новорожденных с неонатальными судорогами через 10–14 дней от начала лечения получены следующие результаты. Отмечено статистически значимое ($p < 0,01$) увеличение концентрации NSE: по сравнению с контрольной группой данный показатель превышал свои значения практически в 2 раза ($23,75 \pm 5,49$ и $10,12 \pm 1,27$ нг/мл соответственно) (см. рисунок). Во 2-й группе наблюдалась тенденция к увеличению концентрации плазматической фракции фермента.

При оценке неврологического статуса по шкале NACS установлено, что значениям менее 20 баллов соответствуют высокие показатели NSE (27–37 нг/мл), а при оценке более 20 баллов концентрация NSE была статистически значимо ($p < 0,05$)

снижена (11–20 нг/л). Эти результаты свидетельствуют о повреждении большого числа нейронов при тяжелой гипоксии.

В 1-й группе больных отмечена прямая корреляция между концентрацией NSE и сроком гестации ($r=0,58$). Поскольку значение концентрации в плазме крови связано со степенью повреждения ткани мозга, можно предположить, что большее количество поврежденных клеток головного мозга при гипоксических нарушениях будет наблюдаться у детей на более поздних сроках гестации. В последние недели беременности идет дифференцировка и активное развитие головного мозга, формируется большое количество нейронных связей, масса мозга увеличивается, закладываются извилины. Однако известно, что дифференцированные нейроны со сформированными контактами более подвержены действию стресс-факторов [11]. В связи с этим гипоксические состояния на более поздних сроках гестации затрагивают большее число нейронов. При этом необходимо учитывать, что головной мозг новорожденных более позднего срока развития имеет огромный репарационный запас и возможности к адаптации организма.

После проведенного курса лечения средний уровень NSE в основных группах статистически значимо не изменился (концентрация NSE в плазме крови после лечения в 1-й группе — $29,75 \pm 5,15$ нг/мл, во 2-й группе — $11,56 \pm 1,83$ нг/мл). Полученные данные свидетельствуют о длительном и глубоком повреждающем действии неонатальных судорог и гипоксии на нервную систему новорожденного ребенка. Кроме того, увеличение NSE через 10–14 дней от начала курса лечения говорит о том, что гипоксия и судорожные состояния запускают необратимые процессы в клетках нервной системы, провоцирующие гибель нейронов в отдаленном периоде.

Исследование концентрации нейротрофического фактора BDNF в плазме крови показало, что в обеих группах больных через 10–14 дней от начала лечения наблюдается выраженная тенденция к увеличению данного показателя ($p < 0,05$): в 1-й группе оно составило 36,87%, во 2-й — 22,01%.

Данный эффект на фоне применения противосудорожных препаратов может рассматриваться как приспособительная реакция организма на действие стресса. Поскольку основной фармакологической мишенью противосудорожных препаратов является увеличение активности GABA-сигнальной системы (ГАМК-системы), повышение показателей BDNF говорит о компенсаторной реакции организма на введение веществ, регулирующих активность GABA-рецепторов. Согласно данным литературы [11, 12], BDNF опосредованно, через тирозинкиназный рецептор В-типа способен влиять на эндоцитоз GABA-рецепторов, тем самым контролируя количество данного типа рецептора на плазматической мембране клетки.

Особый интерес представляет обнаруженная взаимосвязь между концентрацией BDNF в плазме крови и неврологическим статусом больного после курса лечения ($r=-0,81$). Она свидетельствует о прогностическом

значении данного показателя. При этом концентрация NSE (основного биохимического показателя нарушений ЦНС) в начале терапии никак не связана с успешностью лечебных мероприятий и изменением неврологического статуса больных. Обнаруженная зависимость указывает на диагностическое значение определения концентрации BDNF у детей с тяжелыми нарушениями ЦНС. Неблагоприятным прогностическим признаком является исходное повышение BDNF до уровня свыше 4000 пг/мл (разведение плазмы крови — 1:10 при определении концентрации BDNF). Подобное увеличение может рассматриваться как декомпенсаторная реакция. Именно у таких больных установлена неэффективность применяемой терапии и фиксируется нарастание неврологических нарушений.

Концентрация GDNF в плазме крови у детей обеих основных групп до лечения, напротив, была несколько ниже, чем у детей контрольной группы, что может быть обусловлено угнетением процессов роста нервной ткани после перенесенной тяжелой гипоксии: в контрольной группе она составила $9,55 \pm 0,66$ пг/мл, в группе с судорогами — $7,09 \pm 0,70$ пг/мл, во 2-й группе — $6,43 \pm 0,63$ пг/мл.

Проведенное исследование позволило обнаружить достоверную корреляционную зависимость между концентрациями нейротрофических факторов ($r=-0,65$) в плазме крови новорожденных контрольной группы (см. таблицу). В 1-й и 2-й основных группах отмечена более высокая корреляционная связь нейротрофических факторов (в 1-й группе $r=-0,91$, во 2-й $r=-0,90$), которая после проведения курса лечения снижалась за счет увеличения концентрации BDNF (в 1-й группе $r=-0,52$, во 2-й корреляционная связь теряется, $r=-0,07$). Полученные данные полностью подтверждаются экспериментальными работами по исследованию роли нейротрофических факторов BDNF и GDNF в защите нейронных сетей диссоциированных культур клеток гиппокампа от гипоксического повреждения [13]. Каждый из нейротрофических факторов обладает выраженным нейропротективным эффектом, однако совместное их применение, напротив, снижает положительную роль каждого из нейротрофинов.

Усиление отрицательной корреляционной зависимости между концентрациями нейротрофических факторов при развитии судорожных состояний свидетельствует о том, что в условиях стресса внутриклеточные метаболические каскады, активируемые BDNF и GDNF,

Коэффициент корреляции между концентрациями нейротрофических факторов BDNF, GDNF в плазме крови новорожденных

Группы	До лечения	После лечения
Контроль (здоровые дети)	-0,65	—
1-я опытная группа	-0,91	-0,52
2-я опытная группа	-0,90	-0,07

разнонаправлены. Снижение коэффициента корреляции после применения терапии, вероятнее всего, обусловлено активацией синтеза BDNF при использовании противосудорожных препаратов.

Обсуждение. Исследования последних лет доказали исключительную роль нейротрофических факторов не только в процессе пренатального нейрогенеза, но и в постнатальный период. Сигнальные пути, активируемые нейротрофическим фактором головного мозга и глиальным нейротрофическим фактором, различны, но направлены на повышение выживаемости нейронов при стрессе и снижении воспалительных реакций.

Проведенные нами исследования показали, что как противосудорожная, так и нейрометаболическая терапия приводят к повышению концентрации BDNF в плазме крови. Этот фактор играет важную роль в формировании адаптивных реакций организма при действии тяжелой перинатальной гипоксии. Основной молекулярной мишенью BDNF является тирозинкиназный рецептор В-типа (TrkB). В результате взаимодействия зрелой молекулы BDNF и рецептора запускаются внутриклеточные сигнальные механизмы, приводящие к росту аксонов и дендритов, повышению выживаемости клеток, пластичности нейронов, транскрипции самого нейротрофического фактора. В соответствии с локализацией TrkB-рецептора в аксональных терминалах и дендритных шипиках BDNF влияет на пресинаптическую и постсинаптическую передачи сигнала [14]. Недавние исследования [11, 15] показали, что существует положительная обратная связь между GABA-ергической системой и уровнем синтеза BDNF. Вход Ca^{2+} в клетку после активации GABA-рецепторов стимулирует высвобождение BDNF и его связывание с TrkB-рецептором с последующим запуском фосфоинозитол-3 и протеинкиназа-С сигнальных путей, в результате которых уровень экспрессии GABAA-рецепторов заметно повышается. При запуске сигнальных каскадов BDNF снижает эндцитоз GABAA-рецепторов, тем самым повышая их количество на поверхности клетки, что приводит к увеличению чувствительности развивающихся нейронов к GABA [11, 15].

Таким образом, повышение концентрации BDNF может рассматриваться, с одной стороны, как компенсаторная реакция организма на действие тяжелой хронической гипоксии, а с другой стороны, может служить одним из звеньев метаболического ответа на применение препаратов, влияющих на синаптическую передачу. Особый интерес представляют данные о корреляционной зависимости между концентрацией BDNF и GDNF. Согласно устоявшейся концепции [11, 15], оба нейротрофических фактора играют ключевую роль в дифференцировке нейронов и развитии полноценных синаптических контактов. Методически данный фундаментальный подход реализуется в методах дифференцировки и пролиферации нейрональных прогенеторов, в том числе индуцированных плюрипотентных клеток [16]. Однако экспериментальные исследования [17] показали, что

эффекты, оказываемые BDNF и GDNF, носят разнонаправленный характер, а совместное использование нейротрофических факторов снижает эффективность их применения.

Заключение. Нейронспецифическая енолаза является наиболее ярким маркером повреждения нервной ткани. Высокий уровень данного фермента отмечается у детей, перенесших неонатальные судороги, что свидетельствует о выраженном повреждающем действии судорог на нервную систему новорожденного. Концентрация NSE коррелирует с неврологическим статусом больных и у 62,5% пациентов продолжает нарастать даже после курса лечения, что может свидетельствовать о продолжающемся разрушении нейронов. Концентрация BDNF в плазме крови новорожденных с тяжелыми нарушениями ЦНС после терапии также достоверно увеличивается. Доказательством диагностической роли определения BDNF служит обнаруженная корреляция между исходным уровнем данного нейротрофина и состоянием больного (оценка неврологического статуса) после лечения. Достоверных изменений в концентрации GDNF в плазме крови новорожденных с тяжелыми нарушениями ЦНС не установлено.

Таким образом, наибольшей диагностической значимостью для оценки тяжести поражения головного мозга на этапе раннего неонатального периода обладают концентрации NSE и BDNF, что позволяет использовать данные маркеры сразу после рождения, еще до развития неврологической симптоматики.

Финансирование исследования. Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках проекта Федеральной целевой программы «Уникальная научная установка для исследования информационных процессов в головном мозге с использованием методов оптогенетики»; уникальный идентификатор проекта RFMEFI59114X0004, соглашение о предоставлении субсидии от 01.12.2014 №14.591.21.0004 между Министерством образования и науки РФ и ННГУ с использованием оборудования — уникальной научной установки.

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов.

Литература

1. Tharp B.R. Neonatal seizures and syndromes. *Epilepsia* 2002; 43(Suppl 3): 2–10, <http://dx.doi.org/10.1046/j.1528-1157.43.s.3.11.x>.
2. Volpe Y. *Neurology of newborn*. N.Y.; 2002.
3. Володин Н.Н., Дегтярев Д.Н., Хачатрян А.В., Хохлов А.П., Навасардянц Д.Г. Изменение содержания нейроспецифических белков — нейроспецифической енолазы, лейцин-аминопептидазы, цитокина фактора некроза опухоли α у детей с перинатальным поражением ЦНС. *Педиатрия* 1998; 5: 15–20.
4. Турина О.И., Рябухин И.А., Рогаткин С.О., Шепелева И.И., Дегтярев Д.Н., Анин А.Н., Чехонин В.П., Володин Н.Н. Иммуноферментный анализ уровня глиофибрилярного кислого протеина и антител к нему в оценке

перинатальных поражений ЦНС у недоношенных детей. Педиатрия 1995; 3: 15–19.

5. Fantacci C., Capozzi D., Ferrara P., Chiaretti A. Neuroprotective role of nerve growth factor in hypoxic-ischemic brain injury. *Brain Sci* 2013; 3(3): 1013–1022, <http://dx.doi.org/10.3390/brainsci3031013>.

6. Chen Y. Effects of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) on stem/progenitor cell proliferation and differentiation. Abstract of dissertation. Lexington, Kentucky; 2005.

7. Airaksinen M.S., Saarma M. The GDNF family: signalling, biological functions and therapeutic value. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3(5): 383–394, <http://dx.doi.org/10.1038/nrn812>.

8. Ahmed F., Gyorgy A., Kamnaksh A., Ling G., Tong L., Parks S., Agoston D. Time-dependent changes of protein biomarker levels in the cerebrospinal fluid after blast traumatic brain injury. *Electrophoresis* 2012; 33(24): 3705–3711, <http://dx.doi.org/10.1002/elps.201200299>.

9. Singh H.V., Pandey A., Shrivastava A.K., Raizada A., Singh S.K., Singh N. Prognostic value of neuron specific enolase and IL-10 in ischemic stroke and its correlation with degree of neurological deficit. *Clin Chim Acta* 2013; 419: 136–138, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2013.02.014>.

10. Оленев С.Н., Оленев А.С., Неронова Ю.И. Эволюция мозга человека. СПб: Нестор; 2000.

11. Sakharnova T.A., Vedunova M.V., Mukhina I.V. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its role in the functioning of the central nervous system. *Neurochemical Journal* 2012; 6(4): 251–259, <http://dx.doi.org/10.1134/s1819712412030129>.

12. Ведунова М.В., Сахарнова Т.А., Митрошина Е.В., Мухина И.В. Изучение роли тирозинкиназного рецептора (TrkB) в реализации нейропротективного и антигипоксического действия нейротрофического фактора головного мозга (BDNF) при моделировании нормобарической гипоксии *in vitro*. Биомедицинская радиоэлектроника 2014; 4: 13–14.

13. Lu B. Pro-region of neurotrophins: role in synaptic modulation. *Neuron* 2003; 39(5): 735–738, [http://dx.doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00538-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00538-5).

14. Song D.K., Choe B., Bae J.H., Park W.K., Han I.S., Ho W.K., Earm Y.E. Brain-derived neurotrophic factor rapidly potentiates synaptic transmission through NMDA, but suppresses it through non-NMDA receptors in rat hippocampal neuron. *Brain Res* 1998; 799(1): 176–179, [http://dx.doi.org/10.1016/s0006-8993\(98\)00474-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0006-8993(98)00474-0).

15. Tanaka T., Saito H., Matsuki N. Inhibition of GABA_A synaptic responses by brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in rat hippocampus. *J Neurosci* 1997; 17(9): 2959–2966.

16. Porcher C., Hatchett C., Longbottom R.E., McAinch K., Sihra T.S., Moss S.J., Thomson A.M., Jovanovic J.N. Positive feedback regulation between gamma-aminobutyric acid type A (GABA_A) receptor signaling and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) release in developing neurons. *J Biol Chem* 2011; 286(24): 21667–21677, <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m110.201582>.

17. Lebedeva O.S., Lagarkova M.A., Kiselev S.L., Mukhina I.V., Vedunova M.V., Usova O.V., Stavrovskaya A.V., Yamshchikova N.G., Fedotova E.Y., Grivennikov I.A., Khaspekov L.G., Illarionov S.N. The morphofunctional properties of induced pluripotent stem cells derived from human skin fibroblasts and differentiated to dopaminergic neurons. *Neurochemical Journal* 2013; 7(3): 207–214, <http://dx.doi.org/10.1134/s1819712413030082>.

References

1. Tharp B.R. Neonatal seizures and syndromes. *Epilepsia* 2002; 43(Suppl 3): 2–10, <http://dx.doi.org/10.1046/j.1528-1157.43.s.3.11.x>.

2. Volpe Y. *Neurology of newborn*. N.Y.; 2002.

3. Volodin N.N., Degtyarev D.N., Khachatryan A.V., Khokhlov A.P., Navasardiyants D.G. Change of neuron specific protein content — neuron specific enolase, leucine aminopeptidase, cytokine tumor necrosis factor α in infants with perinatal CNS damage. *Pediatrics* 1998; 5: 15–20.

4. Turina O.I., Ryabukhin I.A., Rogatkin S.O., Shepeleva I.I., Degtyarev D.N., Anin A.N., Chekhonin V.P., Volodin H.H. Enzyme immunodetection of the level of gliofibrillar acid protein and antibodies against it in the assessment of perinatal CNS damages in preterm infants. *Pediatrics* 1995; 3: 15–19.

5. Fantacci C., Capozzi D., Ferrara P., Chiaretti A. Neuroprotective role of nerve growth factor in hypoxic-ischemic brain injury. *Brain Sci* 2013; 3(3): 1013–1022, <http://dx.doi.org/10.3390/brainsci3031013>.

6. Chen Y. *Effects of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) on stem/progenitor cell proliferation and differentiation*. Abstract of dissertation. Lexington, Kentucky; 2005.

7. Airaksinen M.S., Saarma M. The GDNF family: signalling, biological functions and therapeutic value. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3(5): 383–394, <http://dx.doi.org/10.1038/nrn812>.

8. Ahmed F., Gyorgy A., Kamnaksh A., Ling G., Tong L., Parks S., Agoston D. Time-dependent changes of protein biomarker levels in the cerebrospinal fluid after blast traumatic brain injury. *Electrophoresis* 2012; 33(24): 3705–3711, <http://dx.doi.org/10.1002/elps.201200299>.

9. Singh H.V., Pandey A., Shrivastava A.K., Raizada A., Singh S.K., Singh N. Prognostic value of neuron specific enolase and IL-10 in ischemic stroke and its correlation with degree of neurological deficit. *Clin Chim Acta* 2013; 419: 136–138, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2013.02.014>.

10. Оленев С.Н., Оленев А.С., Неронова Ю.И. *Evolutsiya mozga cheloveka* [Evolution of the human brain]. Saint Petersburg: Nestor; 2000.

11. Sakharnova T.A., Vedunova M.V., Mukhina I.V. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its role in the functioning of the central nervous system. *Neurochemical Journal* 2012; 6(4): 251–259, <http://dx.doi.org/10.1134/s1819712412030129>.

12. Vedunova M.V., Sakharnova T.A., Mitroshina E.V., Mukhina I.V. The role of the tropomyosin-related kinase B (TrkB) receptor in realization of neuroprotective and antihypoxic properties of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) during normobaric hypoxia *in vitro*. *Biomeditsinskaya radioelektronika* 2014; 4: 13–14.

13. Lu B. Pro-region of neurotrophins: role in synaptic modulation. *Neuron* 2003; 39(5): 735–738, [http://dx.doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00538-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00538-5).

14. Song D.K., Choe B., Bae J.H., Park W.K., Han I.S., Ho W.K., Earm Y.E. Brain-derived neurotrophic factor rapidly potentiates synaptic transmission through NMDA, but suppresses it through non-NMDA receptors in rat hippocampal neuron. *Brain Res* 1998; 799(1): 176–179, [http://dx.doi.org/10.1016/s0006-8993\(98\)00474-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0006-8993(98)00474-0).

15. Tanaka T., Saito H., Matsuki N. Inhibition of GABA_A synaptic responses by brain-derived neurotrophic factor

(BDNF) in rat hippocampus. *J Neurosci* 1997; 17(9): 2959–2966.

16. Porcher C., Hatchett C., Longbottom R.E., McAinch K., Sihra T.S., Moss S.J., Thomson A.M., Jovanovic J.N. Positive feedback regulation between gamma-aminobutyric acid type A (GABA_A) receptor signaling and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) release in developing neurons. *J Biol Chem* 2011; 286(24): 21667–21677, <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m110.201582>.

17. Lebedeva O.S., Lagar'kova M.A., Kiselev S.L., Mukhina I.V., Vedunova M.V., Usova O.V., Stavrovskaya A.V., Yamshchikova N.G., Fedotova E.Y., Grivennikov I.A., Khaspekov L.G., Illarionov S.N. The morphofunctional properties of induced pluripotent stem cells derived from human skin fibroblasts and differentiated to dopaminergic neurons. *Neurochemical Journal* 2013; 7(3): 207–214, <http://dx.doi.org/10.1134/s1819712413030082>.