



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **55468** (13) **U**  
(51) МПК (2009)  
G01N 27/26

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

**(54) СПОСІБ РАНЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ВНУТРІШНЬОШЛУНОЧКОВИХ КРОВОВИЛИВІВ В ПЕРШІ 72 ГОДИНИ ЖИТТЯ У НЕДОНОШЕНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ ДІТЕЙ**

1

2

(21) u201008163

(22) 30.06.2010

(24) 10.12.2010

(46) 10.12.2010, Бюл.№ 23, 2010 р.

(72) ЧУЙКО МАРІЯ МИКОЛАЇВНА

(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

(57) Спосіб ранньої діагностики внутрішньошлуночкових крововиливів (ВШК) у недоношених новонароджених дітей, що включає визначення концентрації протеїну S-100 у сироватці крові, який відрізняється тим, що в перші 72 години життя у

недоношених новонароджених дітей твердофазним імуноферментним методом проводять чотириразове визначення концентрації протеїну S-100 у сироватці крові, отриманої з вени пуповини та з периферичної вени у 1-й, 2-й, 3-й день життя, за результатами кількісного визначення сироваткового рівня протеїну S-100 діагностують наявність ВШК у недоношених новонароджених дітей, що виникли в перші 72 години життя, при цьому концентрація протеїну S-100 понад  $3,91 \pm 0,62 \text{ нг/л}$  свідчить про наявність ВШК у перші 72 години життя.

Корисна модель відноситься до медицини, зокрема, до неонатології, і може бути використана у щоденній практиці відділень новонароджених та інтенсивної терапії новонароджених пологових будинків та перинатальних центрів для ранньої діагностики ВШК в перші 72 год життя у недоношених новонароджених дітей з ризиком виникнення ВШК.

Найбільш відомим і близьким до способу, що заявляється, є спосіб, який включає визначення рівня кальцій зв'язуючого протеїну групи S-100, присутнього у високих концентраціях в клітинах нервової системи: S-100 (BB) - в гліальних і шваннівських клітинах, S-100 (aB) - в гліальних клітинах [Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г.И. Назаренко, А.А. Кишкун. - М.: Медицина, 2002. - С.191]. Протеїн метаболізується нирками, період його біологічного півжиття складає 2 год. В останні роки визначення цього протеїну все частіше використовується в клініці як маркер пошкодження мозкової тканини при порушеннях мозкового кровообігу у дорослих. Активізація постійної популяції мікроглії, завдяки експресії протеїнів S-100, є ранньою відповіддю мозкової тканини на крововилив і може бути використана як ранній маркер її пошкодження не тільки у дорослих, але й у передчасно народжених дітей. Однак цей спосіб не використовується для визначення пошкодження мозкової тканини при порушеннях мозкового кровообігу внаслідок ВШК у

недоношених новонароджених. Хоча існує нагальна потреба ранньої діагностики ВШК у недоношених новонароджених, що виникли в перші 72 год життя, в той час, коли нейросонографічні знахідки є недостатньо інформативними, а рання діагностика ВШК необхідна для вибору оптимальної тактики надання медичної допомоги надзвичайно вразливій категорії пацієнтів.

В основу корисної моделі поставлено завдання створити спосіб ранньої діагностики внутрішньошлуночкових крововиливів в перші 72 год життя у недоношених новонароджених дітей, який дозволить шляхом кількісного визначення концентрації протеїну S-100 в перші 72 год життя у недоношених дітей забезпечити ранню діагностику ВШК у вразливої категорії пацієнтів.

Поставлене завдання досягається тим, що у способі ранньої діагностики внутрішньошлуночкових крововиливів, який включає визначення концентрації протеїну S-100 у сироватці крові, згідно з корисною моделлю, в перші 72 год життя у недоношених новонароджених дітей твердофазним імуноферментним методом проводять чотириразове визначення концентрації протеїну S-100 у сироватці крові, отриманої з вени пуповини та з периферичної вени у 1-й, 2-й, 3-й день життя, за результатами кількісного визначення сироваткового рівня протеїну S-100 діагностують наявність ВШК у недоношених новонароджених дітей, що виникли в перші 72 год життя, при цьому концент-

(13) **U**

(11) **55468**

(19) **UA**

рація протеїну S-100 понад  $3,91 \pm 0,62$  нг/л свідчить про наявність ВШК у перші 72 год життя.

Значне збільшення концентрації протеїну S-100 в сироватці крові недоношених новонароджених дітей з ВШК, що виникли в перші 72 год життя, обумовлене активацією мікроглії. В ранній фазі церебрального інфаркту мікрогліальні клітини в перинфарктній зоні експресують протеїни сімейства S-100 й активно проліферують, що вказує на ранню відповідь мозкової тканини на крововилив і є раннім маркером її пошкодження у передчасно народжених дітей.

Запропонований спосіб ранньої діагностики внутрішньошлункових крововиливів в перші 72 год життя у недоношених новонароджених дітей здійснюють таким чином.

Визначення концентрації протеїну S-100 у сироватці крові, отриманої з вени пуповини та з периферичної вени у 1-й, 2-й, 3-й день життя, здійснюють твердофазним імуоферментним методом з використанням реактивів фірми CanAg (Швеція). Для дослідження забирають 1,5 мл крові. Для проведення визначення протеїну S-100 використовують 0,5 мл сироватки. За отриманими результатами кількісного визначення сироваткового рівня протеїну S-100 діагностують наявність ВШК у недоношених новонароджених, що виникли в перші 72 год життя. Нормальною вважають концентрацію протеїну S-100  $0,9-2,0$  нг/л. Концентрація протеїну S-100 понад  $3,91 \pm 0,62$  нг/л свідчить про наявність ВШК у перші 72 год життя.

У ретроспективне поперечне дослідження залучили 87 недоношених новонароджених дітей, середній гестаційний вік яких становив (тут і далі стандартне відхилення  $\pm SD$ )  $31,575 \pm 2,53$  тиж., маса тіла при народженні  $1600,947 \pm 458,963$  г. Серед новонароджених дітей було 38 (43,67%) дівчаток і 49 (56,32%) хлопчиків. Сформована група немовлят характеризувалась наявністю низки материнських факторів, що вказували на патологічний перебіг вагітності. Медичні, соціальні та інші фактори мали місце в анамнезі 72 (82,8%) матерів, а обтяжений перебіг вагітності спостерігався в усіх випадках, тобто у всіх дітей, залучених у дослідження, були ті або інші фактори ризику виникнення ранніх ВШК. Загальний стан дітей, які перебували під спостереженням після народження, був важким. Оцінка новонароджених за шкалою Апгар на 1-й, 5-й, 10-й хв не перевищувала 7 балів.

Усім новонародженим проводили необхідні реанімаційні заходи, посиндромну терапію у відділенні реанімації та інтенсивної терапії новонароджених Львівського обласного державного перинатального центру.

Діти знаходились у відділенні не менше трьох діб життя. Порушення загального стану новонароджених були спричинені комплексом різних патологічних процесів - метаболічними відхиленнями, пригніченням або помірним збудженням центральної нервової системи (ЦНС), внутрішньоутробною пневмонією, респіраторним дистрес синдромом, дихальними розладами іншого походження, гемолітичною хворобою новонароджених, затримкою внутрішньоутробного розвитку. Наявність ознак важкого дихального дистресу обумовила необхідність призначення штучної вентиляції легенів (ШВЛ) через інтубаційну трубку у 22 (25,3%) дітей з першої години життя. Тривалість ШВЛ у цих дітей перевищувала 3 доби.

Усім новонародженим проводили нейросонографію (НСГ) в перші 3 доби життя, далі - в наступні години першої доби, на другу та третю доби життя за умови будь-яких ознак погіршення загального стану. Нейросонографію виконували за допомогою ультразвукового апарату RADMIR - TI - 628A.

Відповідно до наявності або відсутності ВШК новонароджених поділили на три групи. Основна група - діти з ВШК ( $n=49$ ; 56%), перша група порівняння - новонароджені, у яких не виявили сонографічних, клінічних чи лабораторних ознак ВШК ( $n=38$ ; 45%). Серед новонароджених було 14 дітей, у яких не розвинулись ні ВШК, ні гіпоксично-ішемічне ураження центральної нервової системи (ГІУ ЦНС). Ці діти утворили другу групу порівняння.

Визначення концентрації протеїну S-100 у сироватці крові, отриманої з вени пуповини та з периферичної вени у 1-й, 2-й, 3-й день життя, здійснювали твердофазним імуоферментним методом з використанням реактивів фірми CanAg (Швеція). Для отримання нормативних показників протеїну S-100 використані проби сироватки 14 недоношених новонароджених без клінічних і сонографічних ознак ураження ЦНС. Нормальною вважали концентрацію протеїну S-100  $0,9-2,0$  нг/л. Для дослідження забирали 1,5 мл крові. Для проведення визначення протеїну S-100 використовували 0,5 мл сироватки. За отриманими результатами кількісного визначення сироваткового рівня протеїну S-100 діагностували наявність ВШК у недоношених новонароджених, що виникли в перші 72 год життя. Концентрація протеїну S-100 понад  $3,91 \pm 0,62$  нг/л свідчила про наявність ВШК у перші 72 год життя.

Зміни концентрації протеїну S-100 суттєво відрізнялись у новонароджених з ВШК, порівняно з дітьми без них (Табл.1).

Таблиця 1

Динаміка концентрації протеїну S-100 у недоношених новонароджених дітей з ранніми ВШК та без них

Доба життя	Концентрація протеїну S-100 (нг/л)			
	Новонароджені з ранніми ВШК (n=49)	Новонароджені без ВШК (n=38)	t-критерій	Вірогідність відмінності (p)
1	2	3	4	5
Кров з вени пуповини	$3,91 \pm 0,62$	$2,13 \pm 0,86$	3,51	0,000724

Продовження таблиці 1

Перша*	4,12±1,96	1,68±0,84	7,056	0,000001
Друга*	4,84±1,69	1,83±0,75	10,025	0,000002
Третя*	4,65±1,59	1,76±0,76	10,161	0,000015

\* венозна кров з периферичної вени.

Для дітей основної групи було характерне підвищення рівня протейну S-100 вже в крові з вени пуповини (Табл.1). В подальшому спостерігали неухильне збільшення рівня протейну S-100 в периферичній крові, що супроводжувалось розвитком ВШК у 17 дітей з 6 по 24год життя, у 19 - з 24 по 48год, у 13 - з 48 по 72год. Про це свідчили дані НСГ. Підвищення рівня протейну S-100 співпадало з появою різних неврологічних та системних відхилень. Зокрема, у цих дітей відмічався періодичний неспокій на тлі загального пригнічення ЦНС, тактильна гіперестезія, посіпування м'язів, підсилення м'язової дистонії або гіпотонії. З'являлись блідість шкіри, підсилення дихальних розладів (апное, та-

хіпное, ретракції), «безпричинні» епізоди десатурації, потреба у зміні виду дихальної терапії або підвищення параметрів ШВЛ. Сонографічні ознаки ВШК у новонароджених, в яких разом з неврологічними й системними відхиленнями визначався підвищений рівень протейну S-100 у пуповинній крові, з'явилися тільки після 6год життя. За допомогою НСГ у цих дітей виявили ВШК І, Іст. 3 6 по 72год життя підвищення рівня протейну S-100 в сироватці венозної крові позитивно корелювало з ультразвуковими знахідками.

Показники протейну S-100 обернено пропорційно залежали від ступеня тяжкості ВШК (Табл.2).

Таблиця 2

Динаміка концентрації протейну S-100 у недоношених новонароджених дітей з ранніми ВШК різних ступенів тяжкості

Доба життя	Концентрація протейну S-100 (нг/л)						Вірогідність відмінності (p)
	ВШК Іст. (n=15)	ВШК Іст. (n=25)	t-критерій	Вірогідність відмінності (p)	ВШК III-IVст.** (n=9)	t-критерій	
Кров з вени пуповини	2,32±0,65	2,73±1,10	-1,271	0,2	2,64±0,11	0,22	0,82
Перша*	3,28±1,29	4,23±1,41	-2,12	0,04	5,86±1,01	-2,12	0,42
Друга*	3,79±0,84	5,01±2,34	-3,25	0,0024	6,88±1,53	-3,44	0,0016
Третя*	3,58±0,75	4,74±1,64	-3,96	0,0003	6,98±1,24	-5,37	0,00001

\* венозна кров з периферичної вени;

\*\* концентрація протейну S-100 у дітей з ВШК III-IVст. порівнюється із показниками протейну S-100 у дітей з ВШК Іст.

Чим вищий ступінь ВШК, тим більшою була концентрація протейну S-100 у крові недоношених новонароджених, забраної у першу, другу та третю доби життя.

У недоношених новонароджених дітей з ВШК значно частіше спостерігалась гіпоксично-ішемічна енцефалопатія - 48 (55,81%) проти 24 (27,91%) у першій групі порівняння (Pearson  $\chi^2=16,94$ ;  $p=0,00004$ , M-L  $\chi^2=18,67$ ;  $p=0,00002$ ). Серед новонароджених основної групи померли 7 (14,28%) дітей, у яких на автопсії підтвердили ВШК III-IVст. У першій групі порівняння померло 3 (8,1%) дітей, у яких основними причинами смерті були важка асфіксія при народженні (гіпоксично-ішемічна енцефалопатія), респіраторний дистрес синдром III-IVст., генералізована внутрішньоутробна інфекція. У другій групі порівняння летальних випадків не було. У 46 дітей з ознаками ГІУ ЦНС, виявленими у перші 6год життя, концентрація протейну S-100 у

сироватці пуповинної крові не перевищувала 2,45±0,89нг/л. Натомість, у 38 передчасно народжених дітей, у яких в перші 6год життя клініко-сонографічні ознаки ГІУ ЦНС не визначались, концентрація протейну S-100 в крові з вени пуповини становила 1,75±0,66нг/л (t-критерій = 2,78;  $p=0,007$ ). Клінічні та НСГ ознаки гіпоксично-ішемічного ураження ЦНС у перші 72год життя спостерігались у 72 новонароджених. У групі дітей з ранніми ВШК ознаки ГІУ ЦНС мали 48 (97,9%) новонароджених, тобто фоном для виникнення ВШК у цих дітей були гіпоксія та ішемія, що підтверджує існуючі дані про гіпоксію та ішемію як основні патогенетичні передумови виникнення ВШК у передчасно народжених немовлят. У новонароджених з ГІУ ЦНС без ВШК (n=24) також відмічали значно більшу концентрацію протейну S-100, ніж у дітей другої групи порівняння, у яких не було ознак ВШК, так і ознак ГІУ ЦНС ((n=14) (Табл.3).

Таблиця 3

Динаміка концентрації протеїну S-100 у недоношених новонароджених дітей з гіпоксично-ішемічним ураженням ЦНС без ВШК та у недоношених новонароджених дітей без ознак ГІУ ЦНС та ВШК

Доба життя	Концентрація протеїну S-100 (нг/л)			
	Новонароджені з ГІУ ЦНС без ВШК (n=24)	Новонароджені без ГІУ ЦНС і ВШК (n=14)	t-критерій	Вірогідність відмінності (p)
Кров з вени пуповини	2,09±0,46	1,17±0,56	5,47	p=0,00001
Перша *	2,07±0,73	0,95±0,49	5,073	p=0,000012
Друга*	2,18±0,63	1,17±0,63	4,945	p=0,000018
Третя*	2,12±0,66	1,13±0,51	4,73	p=0,000035

\* венозна кров з периферичної вени.

Значне підвищення концентрації протеїну S-100 спостерігалось у новонароджених як з ВШК, що обернено пропорційно залежала від ступеня ВШК, так і в дітей з ГІУ ЦНС. Підвищені рівні протеїну S-100 визначаються не тільки у недоношених новонароджених з ранніми ВШК, а й у дітей з ГІУ ЦНС, однак показники протеїну S-100 у новонароджених з ВШК значно вищі, порівняно з дітьми з ГІУ ЦНС. При порівнянні показників протеїну S-100 у новонароджених з ВШК та ГІУ ЦНС рівень протеїну S-100 у всіх чотирьох дослідженнях був значно

вищим у дітей із сонографічно підтвердженими ВШК (p<0,05).

Визначення протеїну S-100 для діагностики ранніх ВШК у передчасно народжених дітей на першу-третю доби життя характеризується високою чутливістю та помірною специфічністю, оскільки концентрація протеїну S-100 підвищується не тільки у новонароджених з ВШК, а й у дітей з гіпоксично-ішемічним ураженням головного мозку (Табл.4).

Таблиця 4

Чутливість та специфічність визначення концентрації протеїну S-100 у сироватці крові недоношених новонароджених дітей з високим ризиком виникнення ранніх ВШК

Дні визначення (доба життя)	Чутливість (Se), %	Специфічність (Sp), %
Перші хвилини життя дитини	100	76,92
Перша	89,79	69,23
Друга	97,95	46,93
Третя	97,95	69,23

Після визначення співвідношення правдоподібності підвищеного рівня концентрації протеїну S-100 у першу, другу та третю доби життя у новонароджених з високим ризиком ранніх ВШК можна стверджувати, що при наявності ранніх ВШК ймовірність підвищеного рівня протеїну S-100 є в 1,5-2 рази більшою, ніж у недоношених новонароджених без внутрішньошлуночкових крововиливів.

Отже, у недоношених новонароджених дітей з ризиком виникнення ранніх ВШК спостерігається суттєве збільшення концентрації протеїну S-100 при появі ВШК у перші 72 год життя, що обернено пропорційно залежить від ступеня ВШК. Чим ви-

щий ступінь ВШК, тим більшим є рівень протеїну S-100.

Рівень протеїну S-100 більший, ніж 3,91±0,62нг/л, може використовуватись як ранній діагностичний маркер ВШК у перші 72 год життя, що характеризується високою чутливістю та помірною специфічністю і вказує на те, що при наявності ранніх ВШК ймовірність підвищеного рівня протеїну S-100 є в 1,5-2 рази більшою, порівняно з показниками протеїну S-100 недоношених новонароджених без внутрішньошлуночкових крововиливів.