



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **77779** (13) **U**  
(51) МПК (2013.01)  
**A61B 10/00**

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	<b>u 2012 10167</b>	(72) Винахідник(и):	<b>Знаменська Тетяна Костянтинівна (UA), Кирилова Людмила Григорівна (UA), Швейкіна Вікторія Борисівна (UA)</b>
(22) Дата подання заявки:	<b>27.08.2012</b>	(73) Власник(и):	<b>ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ПЕДІАТРІЇ, АКУШЕРСТВА І ГІНЕКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ", вул. П. Майбороди, 8, м. Київ, 04050 (UA)</b>
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	<b>25.02.2013</b>		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	<b>25.02.2013, Бюл.№ 4</b>		

## (54) СПОСІБ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ГІПОКСИЧНО-ІШЕМІЧНОГО УШКОДЖЕННЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ У НЕДОНОШЕНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ

### (57) Реферат:

Спосіб ранньої діагностики гіпоксично-ішемічного ушкодження головного мозку у недоношених новонароджених шляхом дослідження сироватки крові. Досліджується рівень мозкового нейротрофічного фактору та співставлення рівня змін мозкового нейротрофічного фактору на 3-5 та 26-28 добу життя. Кількісний рівень мозкового нейротрофічного фактору в сироватці крові недоношених новонароджених без гіпоксично-ішемічного ушкодження головного мозку наприкінці першого тижня життя, використовується як референтний показник, який визначає нормальний рівень даного білка у морфофункційно незрілих дітей, а саме  $8,35 \pm 2,74$  нг/мл.

UA 77779 U



Корисна модель належить до галузі медицини, педіатрії, неврології, перинатальної неврології і може бути застосована для удосконалення діагностики гіпоксично-ішемічного ушкодження головного мозку у недоношених дітей різного за характером та ступеню тяжкості.

Існує достатня кількість досліджень, присвячених діагностиці гіпоксично-ішемічного ушкодження головного мозку у новонароджених дітей. 1. Пат. 41508 А. Спосіб діагностики ступеня тяжкості гіпоксично-ішемічних уражень ЦНС у новонароджених. 2. Пат. 47135 А. Спосіб діагностики ступеню тяжкості перинатального ураження ЦНС. Однак, зазначені способи високоінформативні для діагностики субепендимальних та внутрішньошлуночкових крововиливів. Зв'язок даних НСГ та клініки не завжди закономірний: при наявних змінах на НСГ ознаки крововиливу, можливі нормальні неврологічні наслідки та навпаки. Тому нейросонографія дає недостатньо даних для визначення довгострокового прогнозу і вірогідності органічного ураження окремих структур мозку, здатних стати основою інвалідизації.

Відомий спосіб діагностики лікворо-динамічних порушень у дітей трьох місяців життя з перинатальним постгіпоксичним ураженням центральної нервової системи. (Заявка № 20040503704 UA Дніпропетровська державна медична академія). Який включає ультразвукове сканування головного мозку з додатковою доплерографією судин. Даний спосіб дозволяє визначити показники гемоліквородинаміки згідно формул. Недоліками корисної моделі є достатньо складна інтерпретація виявлених гемоліквородинамічних змін.

Найбільш близьким за технічною суттю є спосіб прогнозування порушення моторного розвитку у дітей першого року життя з перинатальними гіпоксичними ураженнями головного мозку. (Пат. 2319154 РФ С1). Суть способу у визначенні кількісного рівня мозкового нейротрофічного фактору (BDNF) в сироватці венозної крові дитини віком трьох місяців життя. При його значенні 15 нг/мл або менше прогнозують порушення моторного розвитку дитини в віці 6-ти місяців життя. Недоліком способу є - відсутність даних про можливість використання у недоношеній дитини, а також динаміки його змін в залежності від ступеня важкості та характеру ушкодження.

В основу запропонованого способу діагностики гіпоксично-ішемічного ушкодження головного мозку у недоношених новонароджених покладена задача дослідження та оцінки динаміки змін кількісного рівня нейронспецифічних білків, а саме мозкового нейротрофічного фактору (BDNF) в сироватці крові, в залежності від характеру ушкодження головного мозку, враховуючи ступень важкості, в гострому періоді, що забезпечить, з найбільшою серед існуючих методів точністю, достовірність результатів ранньої діагностики уражень головного мозку у недоношених новонароджених та надасть можливість своєчасно розпочати лікування з метою попередження ускладнень.

Поставлена задача способу діагностики гіпоксично-ішемічного ушкодження головного мозку у недоношених новонароджених вирішується шляхом визначення рівня мозкового нейротрофічного фактору (BDNF) в сироватці крові, згідно корисній моделі додатково, послідовно досліджуються наступні кількісні показники: 1) рівень мозкового нейротрофічного фактору (BDNF) в сироватці крові - кров недоношених новонароджених без ушкодження головного мозку (морфофункційно незрілі) - як референтні показники; 2) співставлення рівня змін мозкового нейротрофічного фактору (BDNF) в сироватці крові на 3-5 та 26-28 доби життя недоношених новонароджених з гіпоксично-ішемічного ушкодженням головного мозку в залежності від характеру та ступеня важкості ушкодження головного мозку між собою, а також рівнями змін BDNF в сироватці крові морфофункційно незрілих новонароджених, причому кількісний рівень BDNF в сироватці недоношених новонароджених без гіпоксично-ішемічного ушкодження наприкінці першого тижня життя, використовується в якості референтного показника, який визначає нормальний рівень білка у морфофункційно незрілих дітей, а саме  $8,35 \pm 2,74$  нг/мл.

Причинно-наслідковий зв'язок заявлених маркерних показників зумовлений тим що перинатальна гіпоксія ініціює процеси, які приводять до збільшення проникності клітинних мембран, загибелі нейронів та гліальних клітин внаслідок некрозу та апоптозу, порушенню цілісності гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ), попаданню у системний кровообіг мозкових антигенів, стимулюючи імунну систему на виробку аутомозкових антитіл. Будь-який патологічний процес в головному мозку призводить до структурних ушкоджень нервової тканини та порушень функціональної цілісності ГЕБ, що супроводжується виходом нейронспецифічних білків (НСБ) в інтерстиціальний простір з наступним поширенням з током ліквору. В результаті процесів резорбції спинномозкової рідини частина НСБ потрапляє у венозну кров, що дозволяє проводити динамічне визначення їх рівня в сироватці крові та отримати інформацію про стан нервової тканини. Зміни значення НСБ в сироватці крові можна виявити раніше ніж структурні зміни мозку, які дозволяють виявити сучасні методи нейровізуалізації.

Гіпоксія є пусковим фактором каскаду патологічних реакцій, розвиток яких призводить до загибелі нервових клітин з формуванням ушкодження головного мозку. У недоношених новонароджених після дії гіпоксії відбувається селективна загибель нейронів шляхом некрозу та апоптозу. Одночасно індукується вихід в позаклітинний простір нейротрофічних та ростових факторів, які пригнічують каскад апоптозних механізмів. Поява в сироватці крові нейротрофічного фактору головного мозку (BDNF) свідчить про відновні механізми та навпаки низькі значення рівня нейротрофічного фактору головного мозку в сироватці крові, що свідчить про виснаження або гальмування репараційних можливостей мозку.

Більш високий рівень сироваткової концентрації BDNF у недоношених новонароджених з геморагічним ураженням головного мозку (ВШК різних ступенів) вірогідно обумовлено тим що, мозковий нейротрофічний фактор широко розповсюджений не тільки в нейронах, а також в глії головного мозку. В свою чергу клітини астроцитарної глії є одним з компонентів ГЕБ та інтимно взаємодіють з ендотеліоцитами церебральних капілярів та епендімальним епітелієм, який вимощує, шлуночкову систему. В зв'язку з цим, будь які ушкодження судин головного мозку супроводжуються значним підвищенням концентрації BDNF у крові, що обумовлено деструкцією нейронів та клітин астроцитарної глії.

Сучасні методи імунологічної діагностики, базуються на використанні високо специфічних моноклональних антитіл, які дозволяють визначати дуже малу кількість НСБ, які вимірюють у нанограмах.

Для визначення в сироватці крові рівня нейротрофічного фактору головного мозку (BDNF) застосовується твердофазний імуоферментний метод з використанням реактивів фірми R&D (Великобританія).

Методика заснована на принципі кількісного імуоферментного аналізу сендвичового типу (ELISA-Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay).

Спосіб здійснюється наступним чином:

Зразки крові відбирають з пупкової вени усіх недоношених новонароджених відповідно (пологовий зал, 3-5, 26-28 доба життя) шляхом аспірації з центрального (пупковий, підключичний), або периферійного катетерів, обсягом 0,5-1,0 мл. Кров центрифугують протягом 5 хвилин при 2000g. Одержану сироватку аліквотують, заморожують та зберігають при температурі «-20 °С» не більше 2 місяців.

Точність визначення вмісту мозкового нейротрофічного фактору BDNF у середині серії визначають шляхом 20-кратного тестування трьох зразків з відомою концентрацією у одному мікропланшеті, а між серіями - трьох зразків з відомою концентрацією у сорока різних ставленнях.

Концентрацію BDNF в зразках крові рахують за калібровочною кривою.

Спосіб діагностики демонструється наступними прикладами. Приклад 1. Хвора Ліна А., дата народження 6.03.10 рік. Знаходилась в реанімаційному відділенні, відділенні інтенсивного виходжування та ранньої реабілітації недоношених дітей НДСЛ "ОХМАТДИТ" з 10.03.10. по 07.05.10 рік.

Діагноз при вступі: Внутрішньоутробна інфекція. Вроджена пневмонія. Дихальна недостатність III ступеню. Гіпоксично-ішемічне ураження ЦНС. Набряк головного мозку. Внутрішньошлуночковий крововилив III ступеню. НЕК I ступеню, змішаного генезу. Недоношена дитина (гестаційний вік 29-30 тижнів). Друга із двійні.

Дівчина народилась від жінки 38 років, з обтяженим акушерсько-гінекологічним анамнезом: хронічний аднексит, хронічний пієлонефрит, ерозія шийки матки, істміко-цервікальна недостатність (шов на шийці матки з 22 тижня), носій HBSAg. IV вагітність проходила на фоні загострення хронічного пієлонефриту (бактеріурія - E.Coli), істміко-цервікальної недостатності. Перша вагітність завершилась терміновими фізіологічними пологамі в 1992 році, II-III вагітності - мед. аборти. Пологи - II, дострокові (на 30 тижні), шляхом операції кесарського розтину. Народилась двійня (біхоріальна, біамніотична). Сідничне передлежання I плоду. Навколоплідні води світлі. Оцінка по Апгар 6-6 балів. Маса тіла 1380 грам, зріст 37 см, обвід голови 29 см, обвід грудей 25 см. Стан при народженні тяжкий за рахунок прогресуючої дихальної недостатності, церебральної ішемії. З перших хвилин життя знаходиться на респіраторній підтримці - ШВЛ. Перші добі життя в неврологічному статусі привалює синдром церебрального пригнічення. З кінця другого тижня життя починають зростати признаки гіпертензійного синдрому, судомного синдрому.

За даними НСГ 3 доба - паренхіма головного мозку дифузно підвищеної ехогенності. 5 доба життя - паренхіма мозку дифузно підвищеної ехогенності. Правий боковий шлуночок на 1/2 заповнений гіперехогенною масою (тромб), лівий - на 2/3. 16 доба - залишаються явища перівентрикулярної ехогенності, тромби в стадії лізису (розсмоктування). 24 доба - розширення

бокових шлуночків з правої та лівої сторін до II ступеня (ПЗР на рівні тіл шлуночків D=10,5 см, S=12,9 см, на рівні передніх рогів D=7,9 см, S=8,7 см), тромби в стадії лізису.

Дані нейроімунології - BDNF - пологовий зал - 25,48 нг/мл, 3 доба - 35,18 нг/мл, 28 доба - 15,34 нг/мл.

5 Висновок: достатньо високий рівень BDNF в пологовому залі, який на протязі першого тижня життя продовжує швидко зростати, що може бути обумовлене ВШК на фоні дифузного набряку головного мозку, які підтверджуються даними нейровізуалізації (НСГ) - ВШК III ступеня в подальшому з розширенням бокових шлуночків з правої та лівої сторін до II ступеня, в поєднанні з стійким перивентрикулярним набряком головного мозку, патологічною  
10 неврологічною симптоматикою, в вигляді стійкого синдрому церебрального пригнічення з ознаками гіпертензійного та судомного синдромів наприкінці другого тижня життя, тривалої відсутності смоктального рефлексу, в поєднанні з тяжкими соматичними ускладненнями, а саме - дихальною недостатністю III ступеню (ШВЛ 5 днів), НЕК I ступеню - визначає несприятливий прогноз. В подальшому катамнестично дитина сформувала грубі моторні порушення, затримку  
15 психомовного розвитку.

Приклад 2. Хворий Кирило К., дата народження 3.02.10 рік. Знаходився в реанімаційному відділенні, відділенні патології новонароджених ДКЛ № 2 з 03.02.10. по 10.02.10 рік.

Діагноз при вступі: Респіраторний дистрес синдром I типу. Вроджена пневмонія. Дихальна недостатність III ступеню, Гіпоксично-ішемічне ушкодження ЦНС. набряк головного мозку. НЕК II ступеню, змішаного ґенезу. Недоношена дитина (гестаційний вік 32-33 тижня).

20 Хлопець народився від жінки 29 років, з обтяженим акушерсько-гінекологічним анамнезом: гіперплазія щитовидної залози, еутиреоз, носій TORCH інфекції (HSV 1/2 тип, CMV), 30.01.10 рік (за місяць до пологів) - Ig M к CMV. 2004 рік оперована з приводу дисплазії шийки матки. I вагітність завмерла в 11 тижнів (1999 рік). II вагітність теперішня, проходила на фоні загрози зриву 7-8 тижнів, анемії вагітних I ступеня, низького закріплення плаценти, загрози передчасних пологів. Пологи I, дострокові (32 тижні), відшарування плаценти, шляхом операції кесарського розтину. Дитина народилась з масою тіла 2230 грам, зріст 44 см, обвід голови 30 см, обвід  
25 грудей 29 см. Стан при народженні тяжкий за рахунок прогресуючої дихальної недостатності, церебральної ішемії. З перших хвилин життя знаходиться на респіраторній підтримці - ШВЛ. На протязі першого місяця життя привалює синдром церебрального пригнічення.

30 За даними НСГ: 2 доба - паренхіма головного мозку різко підвищеної ехогенності, 7 доба життя - паренхіма мозку дифузно підвищеної ехогенності, перивентрикулярно зони різко підвищеної ехогенності, 15 доба життя - паренхіма мозку дифузно підвищеної ехогенності, перивентрикулярно множинні ділянки підвищеної ехогенності, 28 доба - паренхіма мозку помірно дифузно підвищеної ехогенності, перивентрикулярно множинні, зливні між собою, вогнища 6-7 мм, за діаметром.

35 Дані нейроімунології - BDNF - пологовий зал - 14,52 нг/мл, 4 доба - 0,04 нг/мл, 28 доба - 1,88 нг/мл.

Висновок: бачимо достатньо високий рівень BDNF в пологовому залі, в подальшому різке  
40 зниження рівня BDNF до слідових цифр (0,04 нг/мл) та дуже низький рівень на протязі першого місяця життя, в поєднанні з стійким дифузним набряком головного мозку з формуванням на третім тижні життя перивентрикулярно множинних кіст, патологічною неврологічною симптоматикою, в вигляді тривалого та стійкого синдрому церебрального пригнічення, тривалої відсутності смоктального рефлексу, значно дифузно зниженого м'язового тону в поєднанні з  
45 тяжкими соматичними ускладненнями, а саме дихальною недостатністю III ступеню III (ШВЛ 7 днів), тяжкого НЕК II ступеню - визначає несприятливий прогноз. В подальшому катамнестично дитина мала грубі моторні порушення, в вигляді спастичного тетрапарезу, затримку психомовного розвитку.

50 Таким чином вищевикладені дані свідчать про застосування даного способу з великою серед існуючих способів об'єктивністю в якості маркерів ушкодження головного мозку різних за характером та ступенем важкості у недоношених новонароджених в гострому періоді, та може використовуватися в спеціалізованих відділеннях дитячих лікарень III рівня з метою поліпшення ранньої діагностики та диференційної діагностики ураження головного мозку та підвищення ефективності лікувально-профілактичних заходів.

55

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб ранньої діагностики гіпоксично-ішемічного ушкодження головного мозку у недоношених новонароджених шляхом дослідження сироватки крові, який **відрізняється** тим, що  
60 досліджується рівень мозкового нейротрофічного фактору та співставлення рівня змін

- 5 мозкового нейротрофічного фактору на 3-5 та 26-28 добу життя, причому кількісний рівень мозкового нейротрофічного фактору в сироватці крові недоношених новонароджених без гіпоксично-ішемічного ушкодження головного мозку наприкінці першого тижня життя, використовується як референтний показник, який визначає нормальний рівень даного білка у морфофункційно незрілих дітей, а саме  $8,35 \pm 2,74$  нг/мл.

---

Комп'ютерна верстка Л. Купенко

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601