

Алгоритм диагностического поиска при нарушении формирования познавательных функций у детей, родившихся недоношенными

Е.С. Кешишян¹, Г.А. Алямовская¹, Е.С. Сахарова¹, С.Г. Ворсанова¹, И.А. Демидова¹,
О.С. Куринная¹, М.А. Зеленова¹, И.Ю. Юров²

¹ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева» ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия

Algorithm of diagnostics of cognitive functions development violation in children born extremely premature

E.S. Keshishyan¹, G.A. Alyamovskaya¹, E.S. Sakharova¹, S.G. Vorsanova¹, I.A. Demidova¹,
O.S. Kurinnaya¹, M.A. Zelenova¹, I.Yu. Iourov²

¹Research and Clinical Institute for Pediatrics named after Academician Yu.E. Veltishev of the FSBEI of Higher Education Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia;

²Mental Health Science Center, Moscow, Russia

Качественные улучшения в тактике ведения беременности и родоразрешения, оптимизация общего ухода и оказания реанимационной помощи детям, родившимся недоношенными, в частности с низкой и экстремально низкой массой тела, значительно уменьшили риск поражения нервной системы перинатального гипоксически-ишемического генеза. Вместе с тем во всем мире отмечается значительное число детей, родившихся на ранних сроках гестации и имеющих выраженные нарушения интеллектуального, познавательного развития и изменение поведения. Одним из предположений о причине неправильного созревания мозга является предположение о роли несбалансированных хромосомных и геномных микроаномалий. Приведены данные обследования 22 детей с примерно одинаковой клинической картиной нарушения развития; у 19 из этих детей выявлены различные структурные микроразрушения генома, однако трактовка их в настоящее время затруднительна. Приведен алгоритм отбора детей для расширенного генетического обследования.

Ключевые слова: недоношенные дети, нарушение развития, генетическое обследование, микрохромосомные и геномные аномалии.

Для цитирования: Кешишян Е.С., Алямовская Г.А., Сахарова Е.С., Ворсанова С.Г., Демидова И.А., Куринная О.С., Зеленова М.А., Юров И.Ю. Алгоритм диагностического поиска при нарушении формирования познавательных функций у детей, родившихся недоношенными. Рос вестн перинатол и педиатр 2019; 64:(6): 39–44. DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-6-39-44

A qualitative improvement in the management of pregnancy and delivery, optimization of General care and provision of intensive care for children born prematurely, particularly with low and extremely low body weight, significantly reduced the risk of damage to the nervous system of perinatal hypoxic-ischemic genesis. At the same time, there is a significant number of children born at low gestational age, with a significant violation of intellectual, cognitive development and behavior change. One of the assumptions about cause of improper maturation of the brain is the role of unbalanced chromosomal and genomic micro anomalies. There is provided the data on the survey of 22 children with approximately the same clinic of developmental disorders, 19 of which revealed various structural micro-damages of genesis, but their interpretation is difficult today. The algorithm of selection of children for the extended genetic examination is given.

Key words: prematurely born babies, development disorders, genetic examination, microchromosomal and genetic abnormalities.

For citation: Keshishyan E.S., Alyamovskaya G.A., Sakharova E.S., Vorsanova S.G., Demidova I.A., Kurinnaya O.S., Zelenova M.A., Iourov I.Yu. Algorithm of diagnostic of reasons of intellectual, cognitive development violation in children born extremely premature. Ros Vestn Perinatol i PEDIATR 2019; 64:(6): 39–44 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-6-39-44

© Коллектив авторов, 2019

Адрес для корреспонденции: Кешишян Елена Соломоновна – д.м.н., проф., зав. отделом неонатологии и патологии детей раннего возраста Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID: 0000-0001-6268-7782
e-mail: ekeshishian@list.ru

Алямовская Галина Александровна – к.м.н., ст. науч. сотр. отдела неонатологии и патологии детей раннего возраста Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева
Сахарова Елена Станиславовна – д.м.н., вед. науч. сотр. отдела неонатологии и патологии детей раннего возраста Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева
Ворсанова Светлана Григорьевна – д.б.н., проф., засл. деятель науки РФ, академик РАЕН, зав. лабораторией молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID: 0000-0002-4869-536

Демидова Ирина Александровна – к.б.н., вед. науч. сотр. лаборатории молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева

Куринная Оксана Сергеевна – к.б.н., науч. сотр. лаборатории молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID: 0000-0002-7087-3929

Зеленова Мария Александровна – к.б.н., науч. сотр. лаборатории молекулярной цитогенетики нервно-психических заболеваний Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID: 0000-0001-7458-5396
125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

Юров Иван Юрьевич – д.б.н., проф. РАН, зав. лабораторией молекулярной генетики и цитогеномики мозга им. профессора Ю.Б. Юрова Научного центра психического здоровья, ORCID: 0000-0002-4134-8367
115522 Москва, Каширское шоссе, д. 34

Недоношенные дети составляют наиболее уязвимую группу в плане нарушений психомоторного и физического развития, причем степень нарушения напрямую коррелирует с массой тела при рождении и гестационным возрастом. Причинами отклонений развития у недоношенных детей на протяжении многих десятилетий было принято считать события перинатального периода – необратимые структурные изменения головного мозга (в частности, формирование перивентрикулярных кист белого вещества) вследствие воздействия гипоксии и ишемии на фоне незрелости и особенностей кровоснабжения головного мозга. В последние десятилетия на фоне совершенствования тактики родоразрешения и выхаживания недоношенных детей с введением щадящих режимов респираторной поддержки и в целом оптимизации ухода и интенсивной терапии частота тяжелых гипоксически-ишемических повреждений головного мозга (внутрижелудочковых кровоизлияний III степени, перивентрикулярной лейкомаляции) существенно уменьшилась, что привело к значительному сокращению числа случаев формирования тяжелых двигательных нарушений, в частности детского церебрального паралича – с 30 до 8% [1].

Однако среди выживших недоношенных, особенно с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении, появилось много детей с длительной мышечной гипотонией, у которых ведущими симптомами в динамике наблюдения в первые годы жизни являются значительный познавательный дефицит, моторные нарушения в виде атаксии, особенности поведения. Причины нарушений развития у детей этой группы недостаточно изучены, в основном высказывается предположение о морфофункциональной незрелости головного мозга вследствие недоношенности.

Часто употребляемое в практике неонатологов и педиатров, занимающихся детьми первых лет жизни, в частности рожденных недоношенными, понятие «морфофункциональная незрелость» – очень сложно определимо. Наши возможности обследования детей, особенно родившихся на ранних сроках гестации, с низкой и экстремально низкой массой, весьма ограничены, а стандартные параметры их гемодинамики, газообмена, основные биохимические характеристики к концу периода адаптации практически не отличаются от таковых у доношенных детей. Мы понимаем, что морфофункциональная незрелость влияет на досконально неизвестные нам процессы формирования взаимодействия между функциональными центрами в центральной нервной системе (ЦНС) и дальнейшее становление слаженных, координированных движений, без которых невозможен прирост навыков как моторных, так и познавательных. Мы знаем, что скорость прироста всех функций у недоно-

шенных детей значительно отличается от таковых у доношенных детей и примерно соответствует их скорректированному возрасту.

В связи с этим мы считаем крайне важным динамически оценивать прирост функций по различным линиям развития: познавательные процессы, микро- и макромоторика, взаимоотношение глаз–рука, слуховая и речевая функции, коммуникация. Эти данные могут значительно глубже, чем стандартная оценка неврологического статуса дать информацию о развитии ребенка и определить потребность в методах обследования для целенаправленного проведения коррекционных мероприятий.

В нашей работе мы использовали скрининговую шкалу КАТ / КЛАМС, которая позволяет за короткий период времени (от 2 до 7 мин, в зависимости от возраста ребенка и его реакции на осмотр) провести тестирование [2]. Оценка производится по формуле KP (коэффициент развития) = BP (возраст развития) / CB (скорректированный возраст). Показатель, равный 75% или менее, означает отставание в приросте навыков по данной линии развития. Скорректированный возраст – это возраст ребенка с учетом недостающих недель до его рождения в случае доношенной беременности. Например, если ребенок родился на 25–26-й неделе беременности, то в возрасте 3 мес фактического возраста его скорректированный возраст составляет 1 нед: 12 нед фактического возраста – 11 нед недостающих до 37 нед = 1 нед. Соответственно оценка и ожидание его развития пока невозможны и реально контроль прироста функций можно ожидать только с 5 мес фактического возраста, или 9 нед скорректированного возраста (20 нед фактического возраста – 11 нед недостающих до 37 нед гестации = 9 нед, или 2 мес скорректированного возраста).

В то же время выжидательная тактика без учета прироста функций в соответствии со скорректированным возрастом может привести к запоздалой диагностике грубых мозговых нарушений. При этом если двигательные нарушения достаточно наглядны и потому более просто диагностируются, то нарушение интеллектуальных, познавательных и коммуникационных функций высшей нервной деятельности требуют очень внимательного и целенаправленного контроля и тестирования ребенка на первом году жизни. Вместе с тем клиническая картина преимущественно интеллектуальных и поведенческих нарушений развития может быть отражением врожденных аномалий развития головного мозга (в том числе генетической природы) у детей этой категории, выявляемых при магнитно-резонансной томографии (МРТ).

С появлением геномных технологий, включающих полногеномное сканирование несбалансированных хромосомных микроаномалий с использованием молекулярного кариотипирования на ДНК-микроматрицах, стало возможным выявление аномалий генома у недоношенных детей с нарушениями пси-

хомоторного и физического развития [3, 4]. К сожалению, в настоящее время отсутствуют статистические данные по заболеваемости, смертности и исходам развития у недоношенных детей с малыми аномалиями генома (микроделеционными, микродупликационными синдромами). Возможно, это связано, с одной стороны, с относительно малым числом экстремально недоношенных детей, с другой стороны – с высокой стоимостью обследования [3, 5]. Для объяснения значения выявляемых геномных нарушений как причины отставания когнитивного развития, так и преждевременных родов, требуются накопление материала и использование биоинформатических методов. Поскольку функциональные характеристики генов – относительно постоянные параметры, совокупность данных относительно изменений числа копий могла бы быть использована для оценки последствий генных и хромосомных (геномных) мутаций у недоношенных детей и прогнозирования их дальнейшего развития [3, 4, 6]

Цель исследования: разработка показаний к генетическому обследованию для выявления микроделений/микродупликаций генома у родившихся недоношенными детей с нарушением развития.

Характеристика детей и методы исследования

Проведено обследование 22 родившихся недоношенными детей с нарушениями развития методом молекулярного кариотипирования высокого разрешения SNP array (технология arrayCGH, или серийная сравнительная геномная гибридизация высокого разрешения) с биоинформатическим анализом на чипах Affymetrix (CytoScan HD) для SNP (single polymorphism)/олигонуклеотидного анализа вариации числа копий ДНК (CNV), хромосомных (геномных) аномалий, эпигенетических мутаций, потери гетерозиготности в соответствии с ранее описанными протоколами [5, 6]. Чипы содержат примерно 2,7 млн маркеров для оценки CNV и около 750 тыс. SNP-маркеров, что позволяет достичь разрешения более 1000 п.н.. Кроме того, для подтверждения результатов использовался метод флуоресцентной гибридизации *in situ* – FISH.

Так как указанный комплекс генетических исследований является дорогостоящим, требовался особый тщательный отбор пациентов. Оптимальным было бы проведение сплошного генетического обследования детей, родившихся на сроке менее 30 нед гестации, чтобы определить значение геномных нарушений в генезе преждевременных родов и последующего нарушения развития. Отбор пациентов осуществлялся по следующим параметрам:

- гестационный возраст менее 30 нед;
- отсутствие органического перинатального или пренатального поражения ЦНС (внутрижелудочковые кровоизлияния III–IV степени, перивентрикулярная лейкомаляция);

– отсутствие метаболического или инфекционного перинатального поражения ЦНС;

– нарушение развития в возрасте 4–9 мес скорригированного возраста.

Методика оценки прироста навыков ребенка и их оценка представлены выше.

Результаты и обсуждение

При анализе данных отмечено, что в неонатальном периоде адаптация новорожденных по тяжести их общего состояния, становления дыхания и гемодинамики не отличалась от таковых у сверстников соответствующего гестационного возраста. Дети выписывались домой в удовлетворительном состоянии, примерно в сроке 40–42 нед постконцептуального возраста, что соответствовало 3 мес фактического возраста. Однако в дальнейшем в неврологическом статусе детей начинали преобладать мышечная гипотония, снижение общей двигательной активности, в динамике отмечалось преимущественное отставание в приросте познавательных когнитивных навыков, отсутствие интереса к окружающему миру.

Дети были неоднократно обследованы для исключения нейросенсорных периферических повреждений (осмотр офтальмолога, аудиотестирование, исследование зрительных и слуховых вызванных потенциалов, электроэнцефалография – ЭЭГ, электрокардиография). Необходимо отметить, что у 17 из 22 детей была выявлена ретинопатия II степени и лишь у 1 ребенка – III степени и ему осуществлялась лазерокоагуляция. У этих пациентов к сроку 44 нед постконцептуального возраста произошел регресс ретинопатии, т.е. нарушения периферического зрения не было ни у одного ребенка в обследуемой группе. При этом у детей 4 и 6 мес скорригированного возраста была слабая, неэмоциональная фиксация взгляда, что в большей степени свидетельствовало о центральном характере повреждения. Зрительные вызванные потенциалы отражали нормальную или замедленную проводимость сигнала по зрительному нерву.

Аналогичные данные были получены при аудиотестировании. К 4 мес скорригированного возраста у всех детей данной группы сигнал был проходим, но слуховая реакция в виде многозвучного гуления, эмоционального слухового сосредоточения не отмечалась.

У 8 (36%)* детей на электроэнцефалограмме определялась патологическая активность, отсутствовало формирование ритмики, но судороги были зарегистрированы лишь в 4 случаях.

Особенности лицевого фенотипа, микроаномалии развития у этих детей не были выявлены.

У 19 (83%) родившихся недоношенными детей с нарушениями развития были диагностированы

* Здесь и далее процент вычислен условно, так как число пациентов меньше 100.

различные структурные хромосомные микроаномалии. Среди них делеции и дупликации размером более 5 млн п.н., микроделеции и микродупликации размером 0,5–3 млн п.н., CNV и интрагенные перестройки, связанные с фенотипическими проявлениями. Трактовка полученных результатов оказалась неоднозначной, потому что не во всех случаях можно было констатировать патогенный характер выявленных нарушений и значение приоритетного гена.

Приводим характерный клинический пример. Ребенок от третьей беременности; матери 30 лет. Первая беременность у женщины закончилась

медицинским абортom, от второй беременности в возрасте 25 лет родился здоровый доношенный ребенок. Настоящая беременность в том же браке, желанная (вредные привычки мать отрицает), протекала с умеренным гестозом в первые 12 нед, с 20-й недели повышалось артериальное давление, наблюдалась протеинурия. По данным кардиотокографии отмечена брадиаритмия, и в сроке 27 нед после проведения гормональной профилактики незрелости легких у плода выполнена операция кесарева сечения под эпидуральной анестезией. Ребенок родился с массой 960 г, длиной 37 см. Оценка

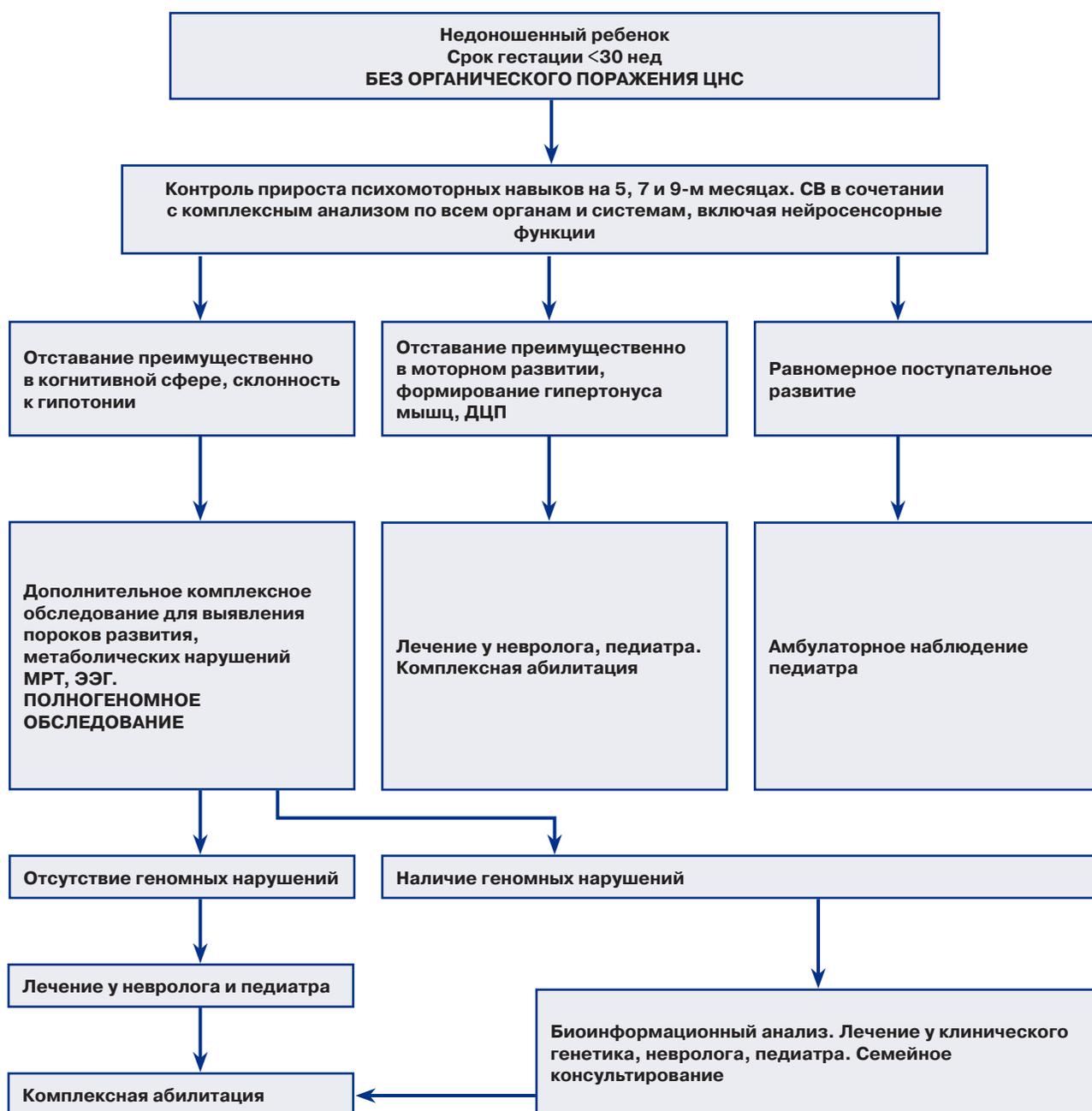


Рисунок. Протокол – алгоритм геномной диагностики нарушений развития у детей, родившихся недоношенными. ДЦП – детский церебральный паралич; СВ – скорректированный возраст; МРТ – магнитно-резонансная томография; ЭЭГ – электроэнцефалография.

по шкале Апгар составила 6/6 баллов, в родильном зале начата поддерживающая неинвазивная вентиляция легких – СРАР, введен сурфактант. На поддерживающей вентиляции ребенок находился 14 дней, в дальнейшем дышал самостоятельно с поддерживающим дополнительным кислородом через маску до 30 дней. Сосательный рефлекс стал активным с 34-го дня жизни. Ретинопатия купировалась на I стадии. По данным нейросонографии выявлены признаки незрелости мозга и мелкие единичные субэпидимальные эхо-плотные тени в области герминального матрикса.

В динамике наблюдения в неонатальном стационаре отмечались признаки улучшения в виде более четкой дифференциации мозговых структур, в дальнейшем умеренная вентрикуломегалия. Выписан в возрасте 2,5 мес (постконцептуальный возраст 36–37 нед). Таким образом, период адаптации с учетом гестационного возраста и выраженности гестоза протекал достаточно легко – все указывало на возможность благоприятного прогноза развития.

В дальнейшем ребенок наблюдался в Центре коррекции развития детей раннего возраста НИКИ педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева. В процессе обследования и тестирования по шкале КАТ / КЛАМС была выявлена задержка формирования когнитивной функции, причем в первые месяцы отставание было неявным, но после 6 мес скорректированного возраста отмечено постоянное снижение коэффициента развития. При этом в двигательной функции после некоторого плато по коэффициенту развития отмечался скачок прироста навыков после 12 мес жизни. Ребенок начал ходить в возрасте 1,5 года по скорректированному возрасту, но выявлялись симптомы аутистического поведения, агрессии, отсутствовало формирование речи. Пороков развития и нарушений органов и систем по данным лабораторной диагностики к возрасту 2 лет не установлено.

При генетическом обследовании были обнаружены делеции в участках 14q32.2q32.33 и 14q31.31q32.33, затрагивающие 6,25 млн п.н. и 4,83 млн п.н. соответственно, мозаичная дупликация 14q32.13q32.2 (4,53 млн п.н.), затрагивающая 38 генов, и регулярная дупликация 14q32.2 (1,87 млн п.н.) с вовлечением 24 генов.

Однако в ситуации, когда у ребенка отсутствуют микроаномалии развития, как в представленном наблюдении, а выявленные нарушения в геноме трактуются как изменения с неясной клинической

значимостью, скорее всего, полученные нами результаты при небольшой выборке могут лишь указывать на предполагаемую роль геномных нарушений в преждевременном рождении и задержке развития детей. Поэтому требуется длительное динамическое клиническое наблюдение за дальнейшим состоянием этих пациентов и продолжение накопления данных по особенностям генома в сопоставлении с клиническими проявлениями. Это даст возможность охарактеризовать механизм заболевания в каждом отдельном случае (персонифицированная геномика).

Полученные данные позволили сформулировать диагностический алгоритм или план отбора кандидатов для молекулярно-цитогенетических исследований у родившихся недоношенными детей с низкой массой тела (см. рисунок). В эту группу, кроме пациентов, которые имеют стандартные показания к осуществлению генетического обследования (множественные пороки развития, системные нарушения, имеющие в своей основе предполагаемый генетический дефект), должны войти дети, у которых выявляется задержка прироста показателей психомоторного развития с учетом скорректированного возраста, в основном за счет когнитивной составляющей, в отсутствие другого неврологического дефицита и микроаномалий развития. Это определяется при динамическом тестировании ребенка по специальным шкалам.

Таким детям показаны не только стандартное кариотипирование, но и цитогенетическое исследование (FISH/array CGH); анализ экспрессии генов (эпигенетические базы данных); изучение межбелковых взаимодействий (интерактомный анализ); идентификация процессов-кандидатов путем объединения данных, полученных в результате эпигенетического, интерактомного и метаболомного анализов *in silico*, определение генофенотипических корреляций для выявления патофизиологических механизмов заболевания [7, 8].

Таким образом, в результате проведенного исследования получены данные о наличии нарушений в геноме у большинства обследованных недоношенных детей с нарушением развития. Наибольшая практическая сложность заключается в том, что в настоящее время мы можем говорить лишь о периоде научного накопления материала, поскольку для формулировки диагноза, прогноза развития ребенка, объяснения ситуации родителям, проведения семейного консультирования значение получаемых результатов пока недостаточно.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Байбарина Е.Н. Служба родовспоможения в Российской Федерации: достигнутые результаты и перспективы развития. Заместитель главного врача 2014; 5: 6–14. [Baybarina E.N. Service of obstetric clinic in the Russian Federation: the results and the prospect of development. Zamestitel' glavnogo vracha 2014; 5: 6–14 (in Russ.)]
2. Монтгомери Т. Катамнестическое наблюдение за новорожденными высокого риска с оценкой их неврологического статуса. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского

- ro 1995; 10: 73–76. [Montgomery T. Neurodevelopmental outcomes of high risk preterm babies *Pediatrics*. *Pediatrics*. Zhurnal im. G.N. Speranskogo (*Pediatrics*. Journal named after G.N. Speransky) 1995; 10: 73–76 (in Russ.)]
3. *Nosarti C., Murray R.M., Hack M.* Neurodevelopmental outcomes of preterm birth from childhood to adult life. Cambridge University Press, 2010; 277.
 4. *Carvill G.L., Mefford H.C.* Microdeletion syndromes. *Curr Opin Genet* 2013; 23(3): 232–239. DOI: 10.1016/j.gde.2013.03.004
 5. *Kloosterman W.P., Hochstenbach R.* Deciphering the pathogenic consequences of chromosomal aberrations in human genetic disease. *Mol Cytogenet* 2014; 7(1):100. DOI: 10.1186/s13039-014-0100-9
 6. *Riegel M.* Human molecular cytogenetics: From cells to nucleotides. *Genet Mol Biol* 2014; 37(1): 194–209.
 7. *Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Yu.B.* Somatic cell genomics of brain disorders: a new opportunity to clarify genetic-environmental interactions. *Cytogen Gen Res* 2013; 139(3): 181–188. DOI: 10.1159/000347053.
 8. *Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Yu.B.* *In silico* molecular cytogenetics: a bioinformatic approach to prioritization of candidate genes and copy number variations for basic and clinical genome research. *Mol Cytogenet* 2014; 7(1): 98. DOI: 10.1186/s13039-014-0098-z

Поступила: 27.08.19

Received on: 2019.08.27

Исследование проведено в рамках финансирования Госзадания «Персонализированная геномика недифференцированных форм умственной отсталости у детей» № АААА-А18-118051590122-7

The study was carried out within the framework of state Funding «Personified genomics of undifferentiated forms of mental retardation in children» № АААА-А18-118051590122-7

Конфликт интересов:

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Conflict of interest:

The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest, which should be reported.