

УДК 616.8-091.9:616.831-009.11-053.2

М. Г. Девялтовская, к.м.н.

Республиканский научно-практический центр

«Мать и дитя»

г. Минск, Республика Беларусь

АУТОИММУННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПРИ ДЕТСКОМ ЦЕРЕБРАЛЬНОМ ПАРАЛИЧЕ

АННОТАЦИЯ

Исследованы уровни антител к нейроспецифическим белкам у 56 детей с детским церебральным параличом (ДЦП) и высоким риском формирования ДЦП (основная группа) и 55 детей с отсутствием ожидаемого нормального физиологического развития (контрольная группа). Младенцы обследовались в возрасте 3 мес. Проведено определение идиотипических аутоантител и антиидиотипических аутоантител к следующим нейроспецифическим белкам: S100 – растворимый кальцийсвязывающий белок нервной ткани; глиофибриллярный кислый белок; основной белок миелина; фактор роста нервов. Для детей с ДЦП и высоким риском формирования ДЦП характерны высокие уровни нейроспецифических аутоантител в крови, что свидетельствует об активном аутоиммунном процессе и является основанием для применения гипербаротерапии в лечении и реабилитации детей с ДЦП.

Ключевые слова: аутоантитела, гипербаротерапия, глиофибриллярный кислый белок, детский церебральный паралич, нейроспецифические белки, основной белок миелина, растворимый кальцийсвязывающий белок нервной ткани, фактор роста нервов.

Введение. Разработка и внедрение в медицинскую практику новых немедикаментозных технологий терапии и реабилитации – стратегическое направление развития современной медицины [1,9,10]. К высокоэффективным методам устранения гипоксии, которая является ключевым звеном патогенеза многих тяжелых заболеваний, относится гипербаротерапия [1-3]. По результатам исследований установлено снижение активности аутоиммунного процесса под влиянием гипербаротерапии [4]. Изучение аутоиммунных механизмов при детском церебральном параличе (ДЦП) откроет перспективы применения гипербаротерапии в лечении и реабилитации детей с этим тяжелым заболеванием.

Цель исследования – установить содержание аутоантител к нейроспецифическим белкам у детей с церебральным параличом и высоким риском формирования ДЦП.

Пациенты и методы исследования. Исследованы уровни антител к нейроспецифическим белкам у 111 младенцев с последствиями пре- и перинатального поражения головного мозга. Дети разделены на две группы. Основная группа включила 56 детей с диагнозом G 80 Детский церебральный паралич (ДЦП) и высоким

риском формирования ДЦП. Контрольную группу составили 55 детей с диагнозом: R 62 Отсутствие ожидаемого нормального физиологического развития. Дети контрольной группы имели неврологические нарушения легкой и средней степени выраженности. Младенцы обследовались в возрасте 3 мес. на базе Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ГУ «РНПЦ «Мать и дитя»), учреждений здравоохранения педиатрического профиля Республики Беларусь.

Все стадии исследования одобрены Комитетом по этике ГУ «РНПЦ «Мать и дитя». Получено информированное согласие законных представителей ребенка на участие в исследовании.

Проведено определение идиотипических аутоантител (AT1) и антиидиотипических аутоантител (AT2) к следующим нейроспецифическим белкам: S100 – растворимый кальцийсвязывающий белок нервной ткани; GFAP- глиофибриллярный кислый белок; ОБМ – основной белок миелина; ФРН – фактор роста нервов.

Определение антител к белкам нервной ткани S100, GFAP, ОБМ и ФРН проводилось на иммуноферментном анализаторе «Тесап» (Швейцария) с использованием набора реагентов для

полуколичественного определения антител к нейроантигенам в сыворотке крови «ИФА-НЕЙРО-АТ» [5]. Набор «ИФА-НЕЙРО-АТ» предназначен для полуколичественного определения содержания в сыворотке крови идиотипических антител (АТ1) и антиидиотипических антител (АТ2) к белкам нервной ткани S100, GFAP, ОБМ, ФРН. Набор «ИФА-НЕЙРО-АТ» применяется для клинической диагностики в неврологии, психиатрии и педиатрии.

Принцип работы набора состоит в следующем. В лунках планшета, на поверхности которого сорбированы соответствующие антигены, после добавления разведённых контрольной сыворотки и анализируемых проб сыворотки крови и их инкубации устанавливалось равновесие между связанными и свободными антителами к соответствующим антигенам. После удаления содержимого лунок и внесения в них раствора конъюгата кроличьих антител к IgG человека с пероксидазой хрена на связанных антителах происходила сорбция молекул конъюгата в количестве, прямо пропорциональном количеству связавшихся антител. После удаления избытка несвязанного конъюгата проводилась ферментативная реакция для определения активности пероксидазы, входящей в состав конъюгата. Оценка проводилась фотометрически при длине волны 450 нм. Затем рассчитывалась относительная иммунореактивность определяемых антител в анализируемых пробах, выраженная в условных единицах (усл. ед.) от иммунореактивности контрольной сыворотки, принятой за 100 усл. ед. Содержание антител определялось в диапазоне 10-400 у.е. от значений контрольной сыворотки [5].

Границы физиологического (нормального) уровня определяемых АТ1 и АТ2 в усл. ед. для

Физиологические уровни АТ1 и АТ2 в зависимости от возраста	
Возраст, мес.	Нормальный уровень антител, усл.ед.
До 2	55-105
3-6	70-135
7-11	80-145
1-2 года	105-155

Таблица 1

детей до 2 лет представлены в табл. 1. Соотношение АТ1/АТ2 для антител с направленностью к каждому из перечисленных выше белков в норме находится в диапазоне 0,8-1,2 [5].

Если относительные значения показателя иммунореактивности анализируемого

образца сыворотки крови с любым из антигенов набора лежат в диапазоне значений, указанных в табл. 1, сыворотка крови не содержит повышенных или пониженных количеств, определяемых АТ1 и АТ2. Если соотношения АТ1/АТ2 к антигенам S100, GFAP, ОБМ и ФРН находятся в диапазоне 0,8-1,2, предполагается, что идиотип-антиидиотипические соотношения сбалансированы. Если относительные значения показателя иммунореактивности анализируемого образца сыворотки крови с любым из компонентов набора выходят за пределы диапазонов, указанных в табл. 1, сыворотка крови содержит повышенное или пониженное количество, определяемых АТ1 и/или АТ2. Если соотношение АТ1/АТ2 к антигенам S100, GFAP, ОБМ и ФРН выходит за пределы диапазона 0,8-1,2, идиотип-антиидиотипические соотношения разбалансированы [5].

Результаты исследований обработаны параметрическими и непараметрическими методами вариационной статистики с применением пакета прикладной программы «Statistica 6.1». Для проверки нормальности распределения величин применялся критерий Шапиро-Уилка. Для величин, имеющих нормальное распределение, рассчитывались средняя арифметическая М, стандартное отклонение SD. Для определения статистически значимых количественных различий между группами использовали критерий Стьюдента t. Группы считались различными при достоверности различий p меньше уровня значимости, принятого равным 0,05 ($p < 0,05$) [6-9].

Результаты исследования и их обсуждение. Результаты определения содержания нейроспецифических антител у трехмесячных младенцев с последствиями пре- и перинатального поражения головного мозга представлены в табл. 2.

У младенцев основной группы сравнительно с младенцами контрольной группы в крови наблюдалась достоверно более высокая концентрация идиотипических (АТ1) и антиидиотипических (АТ2) антител к белкам S100: $t=9,06$, $p=0,000000$ и $t=9,08$, $p=0,000000$ соответственно. У пациентов с ДЦП и высоким риском формирования ДЦП по сравнению с пациентами, у которых отсутствовало ожидаемое нормальное физиологическое развитие, уровень идиотипических аутоантител к глиофибрилярному белку был выше в 2,5 раза, а уровень антиидиотипических аутоантител – в 2,3 раза. Мла-

Таблица 2

Содержание нейроспецифических аутоантител (усл. ед.) в сыворотке крови исследуемых детей в возрасте 3 мес. (M+SD)

Показатель	Группа и численность детей		t	p
	основная (n=56)	контрольная (n=55)		
S100 (AT1)***	161,24+74,32	68,57+15,17	9,06	0,000000
S100 (AT2)***	170,37+76,68	73,50+19,64	9,08	0,000000
GFAP (AT1)***	191,39+82,77	76,74+20,06	9,99	0,000000
GFAP (AT2)***	178,53+89,67	77,25+20,80	8,16	0,000000
ОБМ (AT1)***	198,98+92,45	74,26+20,11	9,78	0,000000
ОБМ (AT2)***	183,94+82,23	77,07+21,25	9,34	0,000000
ФРН (AT1)***	169,96+101,80	70,71+17,40	7,13	0,000000
ФРН (AT2)***	175,96+96,84	75,17+18,75	7,58	0,000000

*** Различия между группами достоверны при $p < 0,001$.

денцы основной группы относительно младенцев контрольной группы имели более высокое содержание AT1 и AT2 к основному белку миелина: $t=9,78$, $p=0,000000$ и $t=9,34$, $p=0,000000$ соответственно. Наблюдалась статистически значимая разница между младенцами основной и контрольной группы в содержании AT1 и AT2 к фактору роста нервов. Установлено, что содержание идиотипических и антиидиотипических аутоантител к ФРН в крови пациентов основной группы существенно превышало таковое у пациентов контрольной группы: $t=7,13$, $p=0,000000$ и $t=7,58$, $p=0,000000$ соответственно.

Повышение уровня аутоантител к нейроспецифическим белкам S100, GFAP, ОБМ и ФРН у младенцев с ДЦП и формирующимся ДЦП относительно пациентов с отсутствием ожидаемого нормального физиологического развития

объясняется нейродеструктивными процессами в тканях мозга, вызванными повреждающим действием гипоксии на вещество мозга, стенки мозговых капилляров и гематоэнцефалический барьер [10, 11]. Повышенная проницаемость стенок мозговых сосудов и гематоэнцефалического барьера приводит к увеличению содержания нейроспецифических белков в крови, что вызывает выработку аутоантител к ним [10-12]. При поступлении большого количества нейроспецифических белков в кровь патологический иммунный процесс избыточного образования аутоантител приобретает хронический характер [12]. Нарастание уровня аутоантител к глиофибрилярному кислому белку можно объяснить повышением актив-

ности астроцитов и формированием участков глиоза в веществе мозга. В работах А. Б. Полетаева (2007) показано, что повышение уровня аутоантител фиксируется задолго до того, как при помощи нейровизуализирующих методов будет выявлен уже сформировавшийся глиоз. Определение уровня аутоантител позволяет выявить изменения в веществе мозга на самых ранних этапах патологического процесса [12].

Заключение

Для детей с детским церебральным параличом и высоким риском формирования ДЦП характерны высокие уровни нейроспецифических аутоантител в крови, что свидетельствует об активном аутоиммунном процессе и является основанием для применения гипербаротерапии в лечении и реабилитации детей с ДЦП.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Белокуров Ю. Н., Рыбачков В. В., Громеницкий А. Б. О механизмах действия гипербарической оксигенации // Бюллетень гипербарической биологии и медицины. – 2002. – № 1. – С. 128-129.
- 2 Киселев С. О. Клинико-биологические аспекты ГБО (адаптационно-физиологическая концепция) // Гипербарическая физиология и медицина. – 2006. – № 1. – С. 4-28.
- 3 Кулешов В. И. Общефизиологическое действие гипербарического кислорода // Гипербарическая физиология и медицина. – 2006. – № 3. – С. 21.
- 4 Воробьев К. П. Индивидуальная тактика применения гипербарической оксигенации при расseyанном склерозе // Гипербарическая физиология и медицина. – 2000. – № 4. – С. 8-15.
- 5 Морозов С. Г., Гнеденко Б. Б. Инструкция по применению набора реагентов для полуколичественного определения идиотипических и антиидиотипических антител к нейроантигенам в сыворотке крови (ИФА-НЕЙРО-АТ). – М., 2004. – 10 с.
- 6 Боровиков В. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. – СПб.: Питер, 2001. – 656 с.

- 7 *Иванов О. В.* Описательная статистика. Теоретико-вероятностные основания статистического вывода. – М., 2005. – 187 с.
- 8 *Крамер Д.* Математическая обработка данных в социальных науках. Современные методы: учеб. пособие для студ. высш.учеб. заведений / пер. с англ. И.В. Тимофеева, Я. И. Киселевой. – М.: Изд. центр «Академия», 2007. – 288 с.
- 9 *Реброва О. Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2006. – 312 с.
- 10 *Дидманидзе Т. Д.* Динамика показателей нейроспецифической енолазы и миелин основного белка у детей с перинатальным поражением ЦНС: автореф. дис. ... канд. мед.наук : 14.00.09, 2003. – 20 с.
- 11 *Мордовина Т. Г.* Особенности показателей иммунитета у детей первых двух лет жизни с неврологической патологией вследствие перинатальной гипоксии-ишемии: дис. ... канд. мед.наук: 14.00.09. – Минск, 2009. – 95 с.
- 12 *Полетаев А. Б.* Клиническая и лабораторная иммунология. – М., 2007. – 180 с.
- 13 *Mayrer U.* Etiologies of cerebral palsy and classical treatment possibilities. Wien. Med. Wochensh. 2002; 152 (1):14-18.
- 14 *Msall M. E., Limperopoulos C., Park J. J.* Neuroimaging and cerebral palsy in children // Minerva Pediatr. 2009 Aug; 61 (4):415-24. – 2012. – № 3. – С. 42-44.

ТҮЙІН

Балалар милық салдану (БМС) сырқаты бар және БМС қалыптасу қаупі жоғары (негізгі топ) 56 балаларда және қалыпты физиологиялық дамымаған (бақылау тобы) 55 балаларда нейроспецификалық нәруыздарға қарсы денелер деңгейі зерттелді. 3 айлық сәбилер тексерілді. Келесі нейроспецификалық нәруыздарға идиотиптікаутоантиденелерді және антиидиотиптікаутоантиденелерді анықтау жүргізілген: S100 – жүйке тінінің ерігіш кальций байланыстырушы нәруызы; миелинаның негізгі нәруызы; жүйкелердің өсу факторы. БМС бар және БМС қалыптасу қаупі жоғары балалар үшін қандағы нейроспецификалық аутоантиденелер деңгейінің жоғары болуы тән, ол белсенді аутоиммундық үдерісті білдіреді және БМС бар балаларды емдеу мен оңалтуда гипербаротерпияны қолдану үшін негіздеме болып табылады.

Түйінді сөздер: аутоантидене, гипербаротерапия, лиофибриллярлық қышқыл нәруыз, балалардың милық салдануы, нейроспецификалық нәруыздар, миелинаның негізгі нәруызы, жүйке тіндерінің ерігіш кальций байланыстырушы нәруызы, жүйкенің өсу факторы.

SUMMARY

The levels of antibodies to neurospecific proteins were investigated in 56 children with cerebral palsy (CP) and high risk of the formation of cerebral palsy (study group) and 55 children with a lack of expected normal physiological development (control group). Infants were examined at the age of 3 months. The definition of idiotype autoantibodies and anti-idiotype antibodies was held to the following proteins neurospecific: S100 – soluble calcium binding protein of the nervous tissue; gliofibrillis acidic protein; myelin basic protein; nerve growth factor. Children with cerebral palsy and a high risk of the formation of cerebral palsy are characterized by the high levels of neurospecific autoantibodies in the blood, which indicates the activity of the autoimmune process and is the basis for applying hyperbarotherapy in the treatment and rehabilitation of children with cerebral palsy.

Key words: autoantibodies, hyperbarotherapy, gliofibrillis acidic protein, cerebral palsy, neurospecific proteins, myelin basic protein, soluble calcium binding protein of the nervous tissue, nerve growth factor.