

Особенности иммунологических показателей у детей раннего возраста, больных спастическими формами детского церебрального паралича

Д.Д. Гайнетдинова¹, Л.З. Афандиева², Р.Ф. Хакимова¹

¹ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Казань;

²ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница» Минздрава Республики Татарстан, Казань, Россия

Features of immunological status in young children, with spastic forms of infantile cerebral paralysis

D.D. Gainetdinova¹, L.Z. Afandieva², R.F. Hakimova¹

¹Kazan State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan;

²Children's Republican Clinical Hospital, Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, Kazan, Russia

С целью анализа клинико-иммунологических показателей у пациентов с последствиями поражения ЦНС в перинатальном периоде проведено комплексное обследование 135 детей с ранней резидуальной стадией детского церебрального паралича (ДЦП). У детей со спастическими формами ДЦП в исходе перивентрикулярной лейкомаляции выявлены статистически достоверно низкие показатели CD19+, CD3+CD4+ субпопуляций лимфоцитов с повышением функциональной фагоцитарной активности ($p < 0,05$). Получены достоверно высокие значения фактора некроза опухоли- α как в сыворотке крови, так и в ротовой жидкости ($p \leq 0,01$ и $p < 0,05$ соответственно). Нейроиммунологические параметры сыворотки крови и ротовой жидкости могут быть использованы в качестве оценки общего состояния и неврологического дефицита у детей с ДЦП.

Ключевые слова: дети, детский церебральный паралич, перивентрикулярная лейкомаляция, фактор некроза опухоли- α , иммунный статус.

Для цитирования: Гайнетдинова Д.Д., Афандиева Л.З., Хакимова Р.Ф. Особенности иммунологических показателей у детей раннего возраста, больных спастическими формами детского церебрального паралича. Рос вестн перинатол и педиатр 2017; 62:(5): 153–157. DOI: 10.21508/1027-4065-2017-62-5-153-157

Abstract. In order to analyze the prognostic significance of the clinical and immunologic indices of central nervous system (CNS) lesions of the perinatal period, 135 children with an early residual stage of infantile cerebral paralysis (cerebral paralysis) were examined. A statistically significant increase in functional phagocytic activity, tumor necrosis factor- α (TNF- α) level in blood serum and oral fluid ($p \leq 0.01$ and $p < 0.05$, respectively) in children with periventricular leukomalacia in spastic forms of infantile cerebral paralysis. Neuroimmunological parameters of blood serum and oral fluid can be used as criteria for diagnosing the severity of structural and morphological changes in the central nervous system and predicting cerebral disorders in children with an outcome in infantile cerebral paralysis.

Key words: children, infantile cerebral paralysis, leukomalacia, tumor necrosis factor- α , status.

For citation: Gainetdinova D.D., Afandieva L.Z., Hakimova R.F. Features of immunological status in young children, with spastic forms of infantile cerebral paralysis. Ros Vestn Perinatol i Peditr 2017; 62:(5): 153–157 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2017-62-5-153-157

Ведущими в структуре перинатальной заболеваемости, а также основной причиной инвалидизации и дезадаптации в более позднем периоде являются поражения головного мозга у детей раннего возраста. Внедрение высоких технологий в акушерстве, неонатологии, детской неврологии приводит к значительному снижению смертности новорожденных и одновременно к росту частоты

неврологических отклонений, основное место среди которых занимает детский церебральный паралич (ДЦП) [1–3]. Анализ результатов проведенных исследований свидетельствует о том, что среди множества патогенетических аспектов ДЦП важное значение отводится не только морфологическим нарушениям в головном мозге ребенка, лежащим в основе стойких расстройств движения и моторного развития, но и некоторым биохимическим процессам, таким как активное свободно-радикальное окисление, источники которого пока не известны [4–6].

Современные данные свидетельствуют об участии иммунных механизмов в патогенезе многих заболеваний. Показано значение клеточных и гуморальных факторов иммунной системы у пациентов с гипоксически-ишемическими поражениями ЦНС и их последствиями, в том числе и ДЦП. При этом особое внимание уделяется отдельным цитокинам как маркерам нейродеструктивных и нейрорепаративных процессов, основную роль

© Коллектив авторов, 2017

Адрес для корреспонденции: Гайнетдинова Дина Дамировна — д.м.н., проф. кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики Казанского государственного медицинского университета, ORCID iD 0000-0002-4255-9107

Афандиева Лейсан Закиевна — к.м.н., зав. отделением медицинской реабилитации пациентов с нарушением функции центральной нервной системы Детской республиканской клинической больницы, ORCID iD 0000-0002-8752-4071

420138 Казань, ул. Оренбургский тракт, д. 140

Хакимова Резеда Фидайловна — д.м.н., проф. кафедры клинической иммунологии с аллергологией Казанского государственного медицинского университета

420012 Казань, ул. Бутлерова, д. 49

среди которых многие исследователи отводят фактору некроза опухоли- α (TNF- α). Так, известно, что этот цитокин может индуцировать апоптоз олигодендроцитов, установлено увеличение экспрессии TNF- α в реактивных очагах воспаления в ЦНС. Получены данные, демонстрирующие связь степени нарушений в иммунной системе с тяжестью инсульта, степенью восстановления нарушенных неврологических функций и исходом заболевания [7–10]. Учитывая вышеизложенное, поиск комплекса маркеров диагностики, оценки тяжести общего состояния и неврологического дефицита у детей с ранней резидуальной стадией ДЦП является актуальным. Вместе с тем разработка новых критериев прогнозирования и оценки эффективности лечения может явиться значимым фактором, влияющим на снижение частоты и тяжести резидуальной неврологической патологии, а также инвалидизации детей.

Цель работы: оценить состояние иммунной системы у детей со спастическими формами ДЦП в ранней резидуальной стадии.

Характеристика детей и методы исследования

На условиях добровольного информированного согласия родителей обследованы 155 детей (98 мальчиков и 57 девочек) 1–4 лет. Основная группа – 135 детей со спастическими формами ДЦП ранней резидуальной стадии. Из исследования исключались дети с клиническими и лабораторными признаками внутриутробного инфицирования в неонатальном периоде и инфекционными процессами в течение 30 дней до и в момент включения в исследование. Распределение пациентов в основной группе: 22 ребенка – с двойной гемиплегией, 63 – со спастической диплегией, 50 – с гемипаретической формой. В соответствии с целью и задачами исследования дети основной группы в зависимости от структурно-морфологических изменений перивентрикулярной области, выяв-

ленных при нейровизуализации, были разделены следующим образом: 48 детей с перенесенной перивентрикулярной лейкомаляцией, 32 ребенка – с перивентрикулярными кистами на противоположной гемипарезу стороне, 55 – со спастическими формами ДЦП без каких-либо нейровизуализационных находок в головном мозге. Изменения в перивентрикулярной области верифицировались на основании полученных данных нейросонографии (выполненной до возраста 12 мес) и по результатам компьютерной или магнитно-резонансной томографии после установления диагноза ДЦП (в возрасте старше 1 года). Группу сравнения составили 20 здоровых детей.

Проведен анализ анамнестических данных пациентов (сведений генеалогического и акушерского анамнеза, периода новорожденности, первого года жизни и всех этапов онтогенеза), результатов клинико-инструментального обследования. Тяжесть нейрофункционального дефицита выявляли по сумме баллов, набранных при оценке по модифицированной шкале спастичности Ashworth, Rivermead mobility index, Motor Club Assessment [11], адаптированным к детскому возрасту.

Иммунологическое обследование включало тесты I уровня: метод проточной цитофлуориметрии (фенотипирование популяций и субпопуляций лимфоцитов); метод радиальной диффузии по Манчини [11] (исследование сывороточных иммуноглобулинов А, М, G); тест фагоцитоза и НСТ-тест (изучение фагоцитарной и окислительно-восстановительной активности нейтрофилов). Наряду с этим методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием реактива «а-ФНО-ИФА-Бест», определялось содержание TNF- α в сыворотке крови и ротовой жидкости.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета StatSoft Statistica 10. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Таблица 1. Распределение обследованных детей по тяжести нейрофункционального дефицита, оцененной Rivermead mobility index [11]

Table 1. The distribution of the children examined by the severity of the neurofunctional shortfall, estimated by Rivermead mobility index [11]

Форма ДЦП	Тяжесть нейрофункционального дефицита					
	легкая (27–35 баллов)		средняя (13–26 баллов)		тяжелая (0–12 баллов)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Двойная гемиплегия (n=26)	0		8	11*	18	100
Спастическая диплегия (n=62)	8	17**	54	78*	0	
Гемипаретическая (n=47)	39	83**	8	11*	0	
Всего (n=135)	47	100	70	100	18	100

Примечание. * $p < 0,005$; ** $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Изучение анамнеза, особенностей течения беременности и родов у матерей 113 (84%) обследованных детей выявило ведущий фактор риска ДЦП — гипоксические нарушения. Количество преждевременно родившихся детей составило 77%. Большинство детей, родившихся на сроке гестации до 37 нед, страдали двойной гемиплегией (88%) и спастической диплегией (97%), тогда как среди детей, родившихся в срок, доминировала гемипаретическая форма заболевания (66%). При спастической диплегии и двойной гемиплегии достоверно преобладало число детей, родившихся с массой ниже 2500 г. ($p<0,05$). Низкая масса тела в сочетании со спастической диплегией и особенно двойной гемиплегией подтверждает, что дети, страдающие этими формами ДЦП, в основном рождаются незрелыми. Это в совокупности с внутриутробной гипоксией является высоким фактором риска формирования перивентрикулярной лейкомаляции.

Анализ степени тяжести клинической картины ДЦП по использованным шкалам позволил заключить, что тяжесть нейрофункционального дефицита у детей основной группы достоверно различалась при разных формах (табл.1). При гемипаретической форме преобладала легкая степень двигательных нарушений. У пациентов со спастической диплегией чаще выявлялась средняя тяжесть дефицита. Анализ тяжести нейрофункционального дефицита, оцененной по модифицированной шкале спастичности Ashworth ($p\leq 0,05$), Rivermead mobility index и Motor

Club Assessment ($p\leq 0,001$), показал достоверное преобладание тяжелых проявлений у детей с патологией перивентрикулярной области с исходом в ДЦП. Оценка неврологического дефицита по шкалам Rivermead mobility index продемонстрировала наибольшую чувствительность: тяжесть клинических проявлений достоверно различалась у детей без патологии в перивентрикулярной области ($p\leq 0,001$).

Изучение состояния иммунной системы выявило у обследованных детей значимые различия. Так, у детей со спастической диплегией отмечалось достоверное снижение содержания лимфоцитов по сравнению с контрольной группой ($p\leq 0,01$). У детей с изменениями в перивентрикулярной области (с перивентрикулярной лейкомаляцией) установлены достоверно низкие показатели CD19+ лимфоцитов и CD3+CD4+ лимфоцитов ($0,91\cdot 10^9$ /л и $0,72\cdot 10^9$ /л); аналогичные показатели в контрольной группе составили $1,21\cdot 10^9$ /л и $1,87\cdot 10^9$ /л соответственно ($p<0,05$).

Достоверно ниже ($p\leq 0,01$; $p\leq 0,05$) контрольных значений оказалось содержание лимфоцитов (CD3+; CD19+; CD3+CD8+) у обследованных детей со спастической диплегией (табл. 2). Выявлено статистически достоверное снижение количества субпопуляций лимфоцитов у детей со среднетяжелой и тяжелой степенью клинических проявлений (по шкалам Ashworth, Rivermead mobility index и Motor Club Assessment) по сравнению с показателями контрольной группы ($p\leq 0,01$; $p\leq 0,05$).

Напротив, анализ результатов изучения фагоцитарного звена показал высокую функциональную

Таблица 2. Иммунофенотипирование лимфоцитов в зависимости от формы ДЦП

Table 2. Immunophenotyping of lymphocytes depending on the form of cerebral palsy

Форма ДЦП	Популяции и субпопуляции лимфоцитов $\cdot 10^9$ /л			
	лимфоциты	CD3+	CD19+	CD3+CD+
Спастическая диплегия ($n=62$)	$2,58\pm 1,14^*$	$1,24\pm 0,34^{**}$	$0,57\pm 0,21^*$	$0,56\pm 0,21^*$
Гемипаретическая форма ($n=47$)	$3,97\pm 0,91$	$2,12\pm 0,40$	$0,70\pm 0,29^*$	$1,48\pm 0,25^*$
Контроль ($n=20$)	$4,67\pm 1,71^*$	$2,91\pm 1,21^{**}$	$1,29\pm 0,31^*$	$1,91\pm 0,78^*$

Примечание. * $p\leq 0,01$; ** $p\leq 0,05$.

Таблица 3. Показатели функциональной активности нейтрофилов в зависимости от изменений в перивентрикулярной области

Table 3. The values of the functional activity of neutrophils as a function of changes in the periventricular region

Изменения в перивентрикулярной области (данные НСГ и КТ/МРТ)	Спонтанный тест с НСТ, %	Спонтанный индекс активности нейтрофилов, усл. ед.
Перивентрикулярная лейкомаляция ($n=48$)	$32,8\pm 18,5^*$	$0,40\pm 0,31^{**}$
Кисты ($n=32$)	$26,8\pm 10,7$	$0,51\pm 0,39$
Без изменений ($n=55$)	$19\pm 13,1$	$0,27\pm 0,14$
Группа сравнения ($n=20$)	$11,0\pm 9,5^*$	$0,10\pm 0,08^{**}$

Примечание. * $p<0,05$; ** $p\leq 0,01$. НСГ — нейросонография; КТ — компьютерная томография; МРТ — магнитно-резонансная томография.

активность нейтрофилов у детей с ДЦП по сравнению со здоровыми: спонтанный тест с НСТ у детей с ДЦП составил $29,7 \pm 15,6\%$, в то время как у здоровых — $10,3 \pm 9,5\%$ ($p < 0,05$); спонтанный индекс активности нейтрофилов — $0,45 \pm 0,21$ и $0,08 \pm 0,05$ усл. ед. соответственно ($p < 0,05$). Следует отметить, что окислительно-восстановительная активность нейтрофилов у пациентов с верифицированной перивентрикулярной лейкомаляцией была выше ($p \leq 0,01$) уровня у здоровых детей (табл.3).

Учитывая полученные результаты НСТ-теста, отражающего окислительно-восстановительную активность нейтрофилов, можно предположить наличие у детей с ДЦП и перивентрикулярной лейкомаляцией факторов, запускающих активацию нейтрофилов. Результаты, полученные в ходе исследования, выявили, что у детей с перивентрикулярной лейкомаляцией с исходом в тяжелые спастические формы ДЦП сниженные количественные значения лимфоцитов и их субпопуляций сопровождаются достоверно высокими показателями функциональной активности фагоцитарного звена иммунной системы.

У детей со спастическими формами ДЦП уровень TNF- α в сыворотке крови составил $9,23 \pm 6,89$ пг/мл, в ротовой жидкости — $28,5 \pm 16,32$ пг/мл, что достоверно выше контрольных значений ($0,7 \pm 0,57$ и $1,69 \pm 0,9$ пг/мл соответственно; $p \leq 0,05$). При этом у детей со спастической диплегией получены наиболее высокие показатели TNF- α : в сыворотке крови — $12,7 \pm 5,54$ пг/мл, в ротовой жидкости — $29,4 \pm 16,4$ пг/мл ($p \leq 0,01$).

Изучение содержания TNF- α в зависимости от выраженности нейрофункционального дефицита, оцененного по шкалам Ashworth, Rivermead

mobility index и Motor Club Assessment, выявило достоверно высокие значения данного цитокина у детей с тяжелыми формами ДЦП: сывороточный уровень TNF- α составил $12,2 \pm 5,56$ пг/мл, в ротовой жидкости — $26,3 \pm 14,22$ пг/мл против $6,7 \pm 4,71$ и $20,1 \pm 10,09$ пг/мл соответственно у детей без признаков перивентрикулярной лейкомаляции.

Таким образом, у детей с односторонними и двусторонними спастическими формами ДЦП, сформировавшегося на фоне патологии перивентрикулярной области, обнаружены изменения ряда количественных параметров иммунного статуса. На основании полученных результатов можно заключить, что ДЦП на фоне патологии перивентрикулярной области сопровождается рядом иммунных нарушений, таких как лимфопения (в том числе со снижением количества отдельных субпопуляций лимфоцитов) при активации клеточных факторов врожденного иммунитета и усилении секреции TNF- α . Обнаружение данного механизма патогенеза ДЦП диктует необходимость дальнейших исследований в этом направлении с целью разработки фармакологической коррекции и подходов к последующей эффективной реабилитации группы пациентов с измененными иммунными показателями. Своевременная диагностика и раннее комплексное вмешательство с первых месяцев жизни могут позволить не только корригировать уже имеющиеся нарушения, но и предупредить возникновения сопутствующих расстройств (например, иммунопатологических). Это будет способствовать уменьшению степени социальной дезадаптации детей и достижению уровня общего развития и степени интеграции в общество, максимально возможного для ребенка с ДЦП.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Гузева В.И., Артемьева С.Б., Батышева Т.Т. Детская неврология. Клинические рекомендации. М: ООО «МК» 2014; 328. [Guzeva V.I., Artem'eva S.B., Batsheva T.T. Pediatric Neurology. Clinical recommendations. Moscow: ООО «МК» 2014; 328. (in Russ)]
2. Бугрым Н.В., Логвинова И.И. Связь иммунного статуса и заболеваемости к году у детей, перенесших тяжелую асфиксию. Вестник новых медицинских технологий 2010; 18 (3): 13–15. [Bugrym N.V., Logvinova I.I. Relationship of the immune status and morbidity per year in children who underwent severe asphyxiation. Vestnik novykh medicinskih tekhnologij 2010; 18 (3): 13–15. (in Russ)]
3. Сухова А.А. Медико-социальная экспертиза в России: этапы становления и развития. Вестник Поволжья 2011; 1: 22–31. [Suhova A. A. Medico-social examination in Russia: stages of formation and development. Vestnik Povolzhya 2011; 1: 22–31. (in Russ)]
4. Гайнетдинова Д.Д., Айзатулина Д.В., Юсупова Э.Ф. «Способ определения нестабильности генома у детей, больных детским церебральным параличом с перивентрикулярной лейкомаляцией (патент №2413226)». Бюллетень Изобретения полезные модели 2011; 6. [Gajnetdinova D.D., Ajzatulina D.V., Jusupova Je.F. «A method for determining genome instability in children with cerebral palsy with periventricular leukomalacia (patent No. 2413226)». Bjulleten' Izobretenija poleznyye modeli 2011; 6. (in Russ)]
5. Гайсина Л.З., Гайнетдинова Д.Д., Хакимова Р.Ф. Клинико-иммунологические и цитогенетические аспекты патогенеза спастических форм детского церебрального паралича. Медицинская иммунология 2012; 14 (6): 507–512. [Gaysina L.Z., Gainetdinova D.D., Khakimova R.F. Clinical, immunological and cytogenetic aspects of the pathogenesis of the spastic forms of cerebral palsy. Meditsinskaya immunologiya 2012; 14 (6): 507–512. (in Russ)]
6. Громада Н.Е. Ультраструктурные морфологические изменения митохондрий в плаценте матери и пуповине недоношенных новорожденных с очень низкой массой тела. Уральский медицинский журнал 2015; 4: 123–126. [Gromada N.E. Ultrastructural morphological changes of mitochondria in the placenta of the mother and the umbilical cord of preterm infants with very low body

- weight. Ural'skij medicinskij zhurnal 2015; 4: 123–126. (in Russ)]
7. Volpe J.J. Systemic inflammation, oligodendroglial maturation, and the encephalopathy of prematurity. Ann Neurol 2011; 4: 50–65. DOI: 10.1002/ana.22533
 8. Amato M., Donati F. Update on perinatal hypoxic insult: mechanism, diagnosis and interventions. Paediatr Neurol 2010; 4 (5): 203–209. DOI: 10.1053/ejpn.2000.0307
 9. Folkerth R.D. Germinal matrix haemorrhage: destroying the brain's building blocks. Brain 2011; 5: 44–61. DOI:10.1093/brain/awr078
 10. Семенов А.С., Скальный А.В. Иммунопатологические и патобиохимические аспекты патогенеза перинатального поражения мозга. СПб: Наука 2009; 368. [Semenov A.S., Skal'nyj A.V. Immunopathological and pathobiochemical aspects of the pathogenesis of perinatal brain damage. SPb: Nauka 2009; 368. (in Russ)]
 11. Белова А.Н. Нейрореабилитация. Руководство для врачей. М: Антидор 2003; 736. [Belova A.N. Neurorehabilitation. A guide for doctors. Moscow: Antidor 2003; 736. (in Russ)]
 12. Manchini G., Nash D.R., Heremans J.F. Furtherer studies on single radial immunodiffusion. III Quantitative analysis of related and unrelated antigens. Immunochem 1970; 7: 261–264.

Поступила 15.08.17

Received on 2017.08.15

Конфликт интересов:

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, финансовой или какой-либо иной поддержки, о которых необходимо сообщить.

Conflict of interest:

The authors of this article confirmed the absence conflict of interests, financial or any other support which should be reported