

УДК 616-092

Оценка вероятности исхода перинатальных поражений нервной системы по иммунологическим показателям крови

Зозуля С.А.¹, Отман И.Н.¹, Аракелов С.Э.^{2,3}, Балашова Е.В.³, Морозов С.Г.⁴, Ключник Т.П.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр психического здоровья». 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 34

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов». 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

³ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница №13 Департамента здравоохранения города Москвы». 115280, Москва, ул. Велозаводская, д. 1/1

⁴ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Актуальность. Риск развития тяжёлых патологических состояний у детей раннего возраста с последствиями в виде перинатальных поражений (ПП) ЦНС определяет необходимость разработки прогностических моделей, позволяющих оценить вероятность благоприятного/неблагоприятного исхода этих состояний. Принимая во внимание вовлечённость иммунных механизмов в патогенез ПП ЦНС, решение этой задачи возможно на основе использования иммунологических показателей крови, отражающих особенности клинического состояния пациентов.

Цель исследования. Сопоставление уровня иммунологических маркёров, выявляемых на первом году жизни у детей с последствиями ПП ЦНС, с динамикой их клинического состояния через год, а также построение математической модели для вероятностной оценки исхода этих патологических состояний.

Материал и методы. 114 детей с последствиями ПП ЦНС гипоксического генеза обследованы в динамике методом клинического наблюдения. Первое обследование детей проведено в возрасте от 6 до 12 месяцев (средний возраст $8,6 \pm 2,7$ месяца), повторное – через 9-12 месяцев (средний возраст $18,5 \pm 3,5$ месяцев). Группу контроля составили 73 здоровых ребенка соответствующего возраста без признаков ПП ЦНС. Иммунологические показатели крови – активность лейкоцитарной эластазы (ЛЭ), $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора ($\alpha 1$ -ПИ) и уровень антител к белкам нервной ткани (S100B, ГФКП, ОБМ, ФРН) – определяли однократно при первом обследовании детей.

Результаты. На первом году жизни в общей группе пациентов выявлена активация воспалительных, а в 25% случаев – и аутоиммунных реакций в сыворотке крови по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Показано, что степень активации иммунной системы, выявляемой у обследованных детей при первичном клиническом исследовании, сопряжена с разной динамикой их нервно-психического развития в последующий год жизни. На основе полученных результатов построена модель бинарной логистической регрессии, позволяющая оценить вероятность дальнейшего исхода по индивидуальным иммунологическим показателям крови и возрасту ребёнка с последствиями ПП ЦНС. Диагностическая эффективность полученной регрессионной модели составила 79,8%, что указывает на её высокую прогностическую возможность.

Заключение. Полученные результаты подтверждают значимость таких иммунологических маркёров, как активность ЛЭ и уровень антител к белкам нервной ткани в качестве предикторов исхода перенесенных ПП ЦНС у детей первых лет жизни, и позволяют рекомендовать эти показатели для объективизации состояния пациентов на ранних доклинических этапах развития заболевания.

Ключевые слова: перинатальные поражения ЦНС; иммунологические маркёры; лейкоцитарная эластаза; антитела к белкам нервной ткани; логистическая регрессия.

Для цитирования: Зозуля С.А., Отман И.Н., Аракелов С.Э., Балашова Е.В., Морозов С.Г., Ключник Т.П. Оценка вероятности исхода перинатальных поражений нервной системы по иммунологическим показателям крови. *Патогенез*. 2021; 19(2): 58-66.

DOI: 10.25557/2310-0435.2021.02.58-66

Для корреспонденции: Зозуля Светлана Александровна, e-mail: s.ermakova@mail.ru

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 24.04.2021

Evaluation of outcome probability of perinatal brain damage using immunological parameters of blood

Zozulya S.A.¹, Otman I.N.¹, Arakelov S.E.^{2,3}, Balashova E.D.³, Morozov S.G.⁴, Klyushnik T.P.¹

¹ Mental Health Research Center,
Kashirskoye Shosse 34, Moscow 115522, Russian Federation

² Russian University of Peoples' Friendship,
Miklukho-Maklaya St. 6, Moscow 117198, Russian Federation

³ Municipal Clinical Hospital #13,
Velozaodskaya St. 1/1, Moscow 115280, Russian Federation

⁴ Institute of General Pathology and Pathophysiology,
Baltiyskaya St. 8, Moscow 125315, Russian Federation

Background. The risk of developing severe pathological conditions in young children with the consequences of perinatal brain damage (PBD) determines the need to create a prognostic model to assess the probability of a favorable/unfavorable outcome. Taking into account the involvement of immune mechanisms in the pathogenesis of PBD, the solution of this problem is possible based on the use of immunological blood indicators associated with the peculiarities of the clinical state of the patients.

Aim. To compare the level of immunological markers identified in the first year of life in PBD children with the dynamics of their clinical condition a year later, and to create a mathematical model for the prediction of the outcome of these pathological conditions.

Material and methods. 114 children with consequences of perinatal hypoxic-ischemic brain damage were examined in dynamics by the clinical observation. The first examination was carried out in children aged 6 to 12 mos (mean age 8.6 ± 2.7 mos), and the second examination after 9 - 12 mos (18.5 ± 3.5 mos). The control group consisted of 73 age-matched healthy children without signs of PBD. Immunological blood parameters, the activities of leukocyte elastase (LE) and a1-proteinase inhibitor (a1-PI), as well as the levels of antibodies to nervous tissue proteins (S100B, GFAP, MBP, NGF) were determined during the first examination.

Results. The activation of inflammatory, and in 25% of cases, of autoimmune reactions was evident in blood of children with PBD in the first year of life as compared with control children ($p < 0.05$). The degree of immune system activation during the first clinical examination was associated with different dynamics of their mental development during the next year. Based on these findings, a binary logistic regression model was constructed. This model makes it possible to assess the PBD outcome based on the child's immunological blood parameters and age. The diagnostic efficiency of the regression model was 79.8%, which demonstrates its high predictive value. **Conclusion.** The results confirm the importance of immunological markers of LE activity and the level of antibodies to nervous tissue proteins as predictors of PBD consequences in children during the first year of life. The results allow us to recommend these indicators for objectifying the condition of patients at the early preclinical stages of PBD development.

Key words: perinatal brain damage; immunological markers; leukocyte elastase; antibodies to nerve tissue proteins; logistic regression.

For citation: Zozulya S.A., Otman I.N., Arakelov S.E., Balashova E.D., Morozov S.G., Klyushnik T.P. [Evaluation of outcome probability of perinatal brain damage using immunological parameters of blood]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2021; 19(2): 58-66 (in Russian).

DOI: 10.25557/2310-0435.2021.02.58-66

For correspondence: Zozulya Svetlana Aleksandrovna, e-mail: s.ermakova@mail.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflicts of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Received: 24.04.2021

Введение

Перинатальные поражения (ПП) центральной нервной системы (ЦНС) объединяют целый ряд состояний, вызываемых различными причинами, ведущей из которых является гипоксия-ишемия [1, 2]. Индуцированный перинатальным поражением патологический процесс может приводить к нарушению нервно-психического развития ребёнка в последующие месяцы и годы жизни. Незрелость нервной системы, а также неспецифичность клинической картины определяют сложности своевременного выявления этих расстройств у детей раннего возраста [3, 4].

Наиболее часто клинические проявления последствий ПП ЦНС сохраняются в виде относительно лёгких задержек психического, моторного и/или речевого развития, нарушений социальной адаптации и расстройств поведения, но могут приводить и к развитию более тяжёлых исходов в виде различных неврологиче-

ских и психических заболеваний (эпилепсия, детский церебральный паралич (ДЦП), умственная отсталость, расстройства аутического спектра (РАС), шизофрения) [5]. Немаловажными факторами в плане прогноза являются состояние иммунной системы ребёнка, а также компенсаторные возможности его ЦНС.

Трудности в диагностике, высокая частота встречаемости ПП ЦНС и риск развития тяжёлых нарушений определяют необходимость разработки прогностических моделей, позволяющих оценить вероятность благоприятного (компенсация нарушений) или неблагоприятного исхода (развитие заболевания) у детей раннего возраста после перенесенных ПП ЦНС.

Роль иммунной системы в нарушениях развития нервной системы, обусловленных ПП ЦНС, подтверждена в работах отечественных и зарубежных исследователей [6-9]. Количественные и качественные изменения в иммунной системе, связанные с непосредственным влиянием гипоксии, могут проявляться в ви-

де увеличения относительного содержания НК-клеток, активации нейтрофилов, цитотоксических и В-лимфоцитов, повышения адгезионных свойств лимфоцитов, а также могут быть обусловлены нарушением регуляции иммуногенеза вследствие незрелости нервной системы [6].

В крови детей с перинатальными поражениями ЦНС выявляют изменения содержания различных медиаторов воспаления – дисбаланс цитокинового профиля в сторону увеличения провоспалительных цитокинов, повышение концентрации белков острой фазы, свободных радикалов кислорода, компонентов системы комплемента, гиперпродукция глутамата [7, 8]. Более тяжёлые патологические состояния сопровождаются также повышением проницаемости сосудов и выходом в кровь забарьерных антигенов с последующим запуском аутоиммунных реакций [9, 10].

Результаты исследований, проведённых в ФГБНУ НЦПЗ, свидетельствуют о том, что в качестве показателей, отражающих особенности функционирования нервной системы, выступают маркёры воспаления: лейкоцитарная эластаза (ЛЭ) – секреторный белок нейтрофилов, а также её ингибитор – острофазный белок $\alpha 1$ -ПИ, синтезируемый в печени под действием интелейкина-6 [11, 12]. Их соотношение определяет направленность воспалительной реакции в плане разрешения воспалительного процесса [13]. В качестве аутоиммунных маркёров, усугубляющих течение патологического процесса, рассматривается уровень аутоантител к белкам нервной ткани: S100B (семейство растворимых Ca^{2+} -связывающих белков нервной ткани, участвующих в процессах деления и дифференцировки клеток), ГФКП (глиальный фибриллярный кислый протеин), ОБМ (основной белок миелина), ФРН (фактор роста нервов). Предыдущими исследованиями показана связь этих показателей с тяжестью клинических проявлений психического дизонтогенеза у детей раннего возраста, что позволило рассматривать их в качестве объективных маркеров для оценки состояния нервной системы [14-16].

В связи с вышесказанным, целью настоящего исследования было сопоставление уровня указанных выше иммунологических маркёров, выявляемых на первом году жизни у детей с последствиями ПП ЦНС, с динамикой их клинического состояния через год, а также построение математической модели для вероятностной оценки исхода этих патологических состояний.

Материалы и методы исследования

Обследовано 114 детей, из них 77 мальчиков и 37 девочек, с последствиями ПП ЦНС гипоксически-ишемического генеза, включённых в группу риска по развитию нервно-психической патологии. Оценка клинического состояния детей проведена врачами-неврологами городских поликлиник ЮВАО, ВАО, СВАО и САО г. Москвы.

Пациенты обследованы в динамике методом клинического наблюдения: первое обследование детей проведено в возрасте от 6 до 12 месяцев (средний возраст $8,6 \pm 2,7$ месяца), повторное – через 9-12 месяцев (средний возраст $18,5 \pm 3,5$ месяца). Диагноз устанавливали в соответствии с критериями МКБ-10.

Сыворотку капиллярной крови получали при первом клиническом обследовании детей и хранили не более 1 месяца при $t -20^{\circ}C$.

Группу контроля составили 73 здоровых ребенка, соответствующего возраста ($5,7 \pm 3,4$ месяца) без признаков ПП ЦНС, проходивших плановую диспансеризацию в детских поликлиниках г. Москвы.

В сыворотке крови пациентов и здоровых детей определяли энзиматическую активность ЛЭ, характеризующую функциональную активность нейтрофилов – главных клеток воспаления, а также активность $\alpha 1$ -ПИ, выполняющего функцию основного регулятора активности ЛЭ. Активность ЛЭ, находящейся в сыворотке крови в комплексе с $\alpha 1$ -ПИ, определяли спектрофотометрическим методом с использованием наборов «ЭЛАСТАЗА» (ООО «Биофарм-тест», Россия) согласно инструкции фирмы производителя. Хромогенным субстратом являлся N-терт-бутокси-карбонил-аланин-p-нитрофенилового эфира (BOC-Ala-ONp) в присутствии ацетонитрила.

Активность $\alpha 1$ -ПИ определяли по степени торможения расщепления трипсином низкомолекулярного субстрата с помощью наборов «АЛЬФА-1-ПИ» (ООО «Биофарм-тест», Россия) согласно инструкции фирмы производителя. Спектрофотометрический метод определения активности $\alpha 1$ -ПИ в сыворотке крови основан на взаимодействии этого ингибитора с трипсином, при использовании в качестве субстрата N- α -бензил-L-аргинин-этилового эфира (БАЭЭ). Определение активности ферментов проводили на спектрофотометре Ultrospec 1100 (Amersham) с использованием программы SWIFT 1000 Reaction Kinetics (версия 2.03, Biochrom Ltd).

Уровень сывороточных аутоантител (ААТ) к белкам S100B, ГФКП, ОБМ и ФРН определяли с использованием наборов «ИФА-НЕЙРО-АТ» (ООО «Биофарм-тест», Россия) и оценивали в процентах относительно реакции сыворотки-эталоны (входящей в состав набора), выраженной в единицах оптической плотности, по формуле:

$$M = \frac{I(a) \times 100}{I(k)},$$

где M – иммунореактивность анализируемого образца сыворотки крови с каждым из антигенов; $I(a_1, 2, 3, 4)$ – величина оптической плотности анализируемого образца сыворотки крови в лунках, содержащих антиген 1, 2, 3, 4 соответственно; $I(k_1, 2, 3, 4)$ – величина оптической плотности контрольной сыворотки в лунках, содержащих антиген 1, 2, 3, 4 соответственно [14].

По уровню исследуемых антител все образцы сыворотки были разделены на три категории. Нормореактив-

ные – образцы сыворотки, в которых уровень всех исследуемых ААТ не выходил за пределы 75-130% относительно реакции сыворотки-эталона. Гиперреактивные – сыворотки, где уровни ААТ хотя бы к двум определяемым белкам превышали 130% относительно реакции сыворотки-эталона, и при этом ни один из определяемых показателей не был ниже 75%. Гипореактивные – сыворотки, где уровни минимум к двум определяемым белкам были ниже 75% относительно реакции сыворотки-эталона, и при этом ни один из определяемых показателей не был выше 130%. Дети, в сыворотке которых уровни ААТ не соответствовали приведенным критериям, были исключены из данного исследования.

Основным критерием включения пациентов в исследование было наличие у них клинических признаков последствий ПП ЦНС. Критериями не включения в исследование являлись тяжёлые органические поражения ЦНС, требующие стационарного лечения, а также наличие острых инфекционно-воспалительных и аутоиммунных заболеваний, выявляемых в течение месяца до начала обследования.

Работа соответствует этическим стандартам Хельсинкской декларации ВМА и утверждена на заседании локального этического комитета ФГБНУ НЦПЗ (протокол №189 от 18.12.2013 г.).

Статистическая обработка результатов исследования выполнена с использованием пакетов программ Statistica-10 (для Windows, StatSoft, Inc., USA) и IBM SPSS Statistics 23. Применяли непараметрические статистические методы. Результаты представлены в виде медианы Me и интерквартильных размахов [Q1; Q3]. Для сравнения групп использованы критерии Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни с поправкой на множественность сравнений. Уровень достоверности составил $p < 0,05$. Оценка сопряжённости показателей проведена с помощью критерия χ^2 -Пирсона, а при анализе малых выборок ($n < 5$) – критерия Фишера. Для построения математической модели использовали бинарную логистическую регрессию, для оценки эффективности модели – ROC-анализ.

Результаты исследования и обсуждение

При первичном клиническом обследовании, проведённом на первом году жизни, у всех обследованных

детей наблюдались проявления последствий ПП ЦНС в виде различных неспецифических синдромов: гипервозбудимости, задержки психомоторного развития, вегето-висцеральных, ликвородинамических и двигательных нарушений.

В табл. 1 приведены результаты, полученные при определении исследуемых воспалительных маркёров в крови пациентов с последствиями ПП ЦНС на первом году жизни, а также в группе контроля.

В общей группе пациентов наблюдается статистически значимое повышение активности маркёров воспаления ЛЭ и $\alpha 1$ -ПИ ($p < 0,01$), и не отличающийся от контроля уровень антител ко всем исследуемым белкам – S100В, ГФКП, ОБМ и ФРН ($p > 0,05$).

У 29 обследованных детей (25,4%) наблюдалось повышение в сыворотке уровня ААТ минимум к двум белкам, в то время как в группе контроля это повышение наблюдалось лишь у 3 человек (4,1%) ($p < 0,001$). Полученные результаты свидетельствуют об активации воспалительных, а в ряде случаев и аутоиммунных реакций у детей первого года жизни после перенесенных ПП ЦНС.

При повторном клиническом обследовании детей, проведенном через 9-12 месяцев, все пациенты были разделены на подгруппы в зависимости от динамики их состояния:

– 1-я подгруппа – 47 детей (41,2% от общего числа больных), у большинства из которых ($n = 34$, 72%) наблюдалась относительная компенсация выявленных на первом году нарушений, а у 13 человек (28%) сохранялась неврологическая симптоматика в виде темповой задержки развития;

– 2-я подгруппа – 67 детей (58,8%) с отрицательной динамикой клинического состояния, из которых у 23 пациентов (34%) было выявлено дальнейшее усугубление имеющихся нарушений преимущественно неврологического характера с формированием минимальной мозговой дисфункции, задержки психо-речевого развития на органическом фоне, органических синдромов с грубой задержкой психомоторного развития; у 44 человек (66%) выявлялись симптомы психического дизонтогенеза в виде диссоциации и дезинтеграции развития, задержки психо-речевого развития, когнитивных нарушений и поведенческих расстройств.

Таблица 1

Активность маркёров воспаления (ЛЭ, $\alpha 1$ -ПИ) в общей группе детей с последствиями ПП ЦНС на первом году жизни и в контрольной группе (Me [Q1; Q3])

Группы	Иммунологические показатели	
	Активность ЛЭ (нмоль/мин·мл)	Активность $\alpha 1$ -ПИ (ИЕ/мл)
Контроль, $n = 73$	203 [194; 212]	33,2 [28,2; 35,4]
Последствия ПП ЦНС, $n = 114$	252 [202; 282] * $p < 0,001$	42,5 [25,2; 45,5] * $p = 0,002$

Примечание: * – статистически значимые различия между пациентами и контрольной группой, уровень значимости приведён в строке ниже.

Далее в каждой выделенной подгруппе было проведено сопоставление значений иммунологических показателей, выявляемых на первом году жизни, с дальнейшей динамикой клинического состояния обследованных детей. Результаты проведенного сопоставления приведены в **табл. 2**.

Из представленных данных можно видеть, что 1-я подгруппа пациентов (с положительной динамикой клинической симптоматики) характеризовалась умеренным повышением активности ЛЭ по сравнению с контролем ($p < 0,05$), и не отличающейся от контрольных значений активностью $\alpha 1$ -ПИ ($p > 0,05$). Для 2-й подгруппы (с отрицательной динамикой/отсутствием изменений) был характерен более высокий уровень активации ЛЭ и $\alpha 1$ -ПИ: выраженное по отношению к контролю повышение активности ЛЭ ($p < 0,001$) сопровождалось высокой активностью $\alpha 1$ -ПИ ($p < 0,01$). При межгрупповом сравнении выявлены значимые различия по активности ЛЭ ($p < 0,01$), а также тенденция к повышению функциональной ак-

тивности $\alpha 1$ -ПИ ($p = 0,0686$). Парное сопоставление значений активности изучаемых маркеров воспаления в подгруппах пациентов с неврологическими (2^a) и психическими (2^b) нарушениями значимых различий не выявило ($p > 0,05$).

Анализ уровня аутоиммунных реакций к белкам нервной ткани у пациентов с разной клинической динамикой показал, что понижение уровня исследуемых антител у них встречалось чаще по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$). Сравнение групп показало, что наиболее низкие значения антител ко всем антигенам, за исключением ФРН, были характерны для пациентов 1-й подгруппы ($p < 0,05$ по сравнению со 2-й подгруппой). Менее выраженное снижение уровня антител к ФРН выявлено в подгруппе детей с развитием психических нарушений ($p < 0,05$ по сравнению с 1-й подгруппой). Количество образцов сыворотки, где уровни определяемых антител выходили за границы нормы, у исследуемых групп детей с ПП ЦНС значительно отличалось от контрольной группы $p < 0,001$ (**табл. 3**).

Таблица 2

Активность маркёров воспаления (ЛЭ, $\alpha 1$ -ПИ) в крови детей первого года жизни с последствиями ПП ЦНС, имеющих разнонаправленную динамику клинической симптоматики, и в контрольной группе (Ме [Q1-Q3])

Группы	Иммунологические показатели	
	Активность ЛЭ (нмоль/мин·мл)	Активность $\alpha 1$ -ПИ (ИЕ/мл)
Контроль, $n = 73$	203 [194-212]	33,2 [28,2-35,4]
Пациенты с последствиями ПП ЦНС, $n = 114$		
1-я подгруппа (1), $n = 47$	242 [224; 250] * $p = 0,002$	35,2 [30,6-37,0]
2-я подгруппа (2), $n = 67$		
неврологические нарушения (2^a), $n = 23$	265 [227; 270] * $p < 0,001$	39,9 [34,1; 46,2] * $p = 0,020$
психические нарушения (2^b), $n = 44$	270 [229; 282] * $p < 0,001$	45,2 [35,7; 51,6] * $p < 0,001$
Уровни статистической значимости межгрупповых различий среди пациентов с последствиями ПП ЦНС		
p^{1-2a}	0,020	0,090
p^{1-2b}	0,003	0,020
p^{2a-2b}	0,250	0,340

Примечание: * – статистически значимые различия между пациентами и контрольной группой, уровень значимости приведён в строке ниже; статистически значимые различия между подгруппами пациентов выделены жирным шрифтом.

Таблица 3

Распределение пациентов выделенных групп по уровню антител к белкам нервной ткани (n – количество образцов сыворотки)

Группы и подгруппы	Гипореактивные $n = 60$		Нормореактивные $n = 108$		Гиперреактивные $n = 19$		χ^2 (в сравнении с контролем)
	n	%	n	%	n	%	
Контроль ($n = 73$)	9	12,3	61	83,6	3	4,1	
Пациенты							
1 ($n = 47$)	25	53,2	20	42,6	2	4,3	23,98; $p < 0,001$
2^a ($n = 44$)	20	45,5	18	40,9	6	13,6	22,79; $p < 0,001$
2^b ($n = 23$)	6	26,1	9	39,1	8	34,8	21,21; $p < 0,001$

У детей с положительной клинической динамикой доля гипериммунных сывороток составила 4,3%, у детей с неврологическими нарушениями – 13,6%, у детей с психическими нарушениями – 34,8%. В группе пациентов с психическими нарушениями преобладали дети, имеющие высокий уровень антител к ФРН (62,5%). У 27,7% детей этой группы наблюдалось повышение антител только к ФРН. Как было показано ранее, наличие антител к этому белку на ранних этапах развития нервной системы является неблагоприятным фактором, нарушающим нейронтогенез и способствующим формированию нарушений неврологических и психических функций [17, 18]. Полученные результаты подкрепляются также более низким процентом гипоиммунных сывороток к данному нейроантигену у этих детей (6 человек, 26,1 %) в сравнении с другими группами (1 подгруппа – 9 человек, 39,1%; подгруппа 2^а – 8 человек, 34,8%), что может косвенно свидетельствовать о связывании антител и последующем их выведении в составе иммунных комплексов. Проведенное сопоставление с использованием критерия χ^2 -Пирсона показало высокую статистическую значимость ($p < 0,01$).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что уровень активации иммунной системы, выявляемый у детей первого года жизни с последствиями перинатальных поражений ЦНС, сопряжён с разной динамикой их нервно-психического развития в последующий год. Умеренная активация иммунной системы, наблюдаемая при обследовании до года и проявляющаяся в виде незначительного повышения активности воспалительных маркеров ЛЭ и $\alpha 1$ -ПИ, в последующем определяет положительную динамику клинического состояния, и, вероятно, носит защитный (санационный) характер, отражая ответ иммунной системы на нарушение гомеостаза, вызванное перинатальным поражением ЦНС. Выраженная активация иммунной системы, сопровождающаяся запуском воспалительных, а у части обследованных – и аутоиммунных реакций, ассоциирована с отрицательной динамикой клинического состояния и является отражением ответа иммунной системы на продолжающийся патологический процесс в мозге. Недостаточная активность $\alpha 1$ -ПИ, а также наличие аутоиммунного компонента являются неблагоприятными факторами, усугубляющими компенсацию нарушений. Наиболее высокий уровень активации иммунной системы наблюдается у детей с психическими нарушениями и ассоциирован преимущественно с повышением

уровня аутоантител к ФРН – нейротрофическому фактору, выполняющему ключевую роль в процессе созревания и дифференцировки ряда клеточных элементов нервной ткани, что согласуется с полученными ранее данными [14-16, 18].

На основе полученных результатов и в соответствии с целью настоящего исследования нами была построена модель бинарной логистической регрессии, учитывающая связь уровня активации иммунной системы, а также возраста ребенка с вероятностью того или иного исхода и позволяющая оценить вероятность дальнейшего исхода по индивидуальным иммунологическим показателям, выявляемым на 1-м году жизни:

$$p = 1 / (1 + e^{-z}) \cdot 100\%,$$

$$z = -10,07 + 0,254 \cdot X_1 + 0,028 \cdot X_2 + 1,824 \cdot X_3 \quad (1)$$

где p – вероятность исхода перинатальных поражений ЦНС (%); X_1 – возраст ребенка в месяцах; X_2 – активность ЛЭ, нмоль/мин·мл; X_3 – наличие повышенного уровня антител как минимум к двум из четырех белков нервной ткани (1 – наличие, 0 – отсутствие); e – основание натурального логарифма; 10,07 – регрессионная константа; 0,254 – коэффициент при показателе возраста ребенка; 0,028 – коэффициент при показателе энзиматической активности ЛЭ; 1,824 – коэффициент при наличии повышенного содержания антител минимум к двум определяемым белкам.

Исходя из полученных коэффициентов регрессии, риск неблагоприятного исхода у ребёнка первого года жизни с ПП ЦНС увеличивается при повышении в крови активности ЛЭ, уровня ААТ и возраста на момент обследования.

Значения отношения шансов для каждого из факторов в модели (1) представлены в табл. 4.

Шансы неблагоприятного исхода ПП ЦНС у детей первого года жизни при увеличении возраста ребенка возрастали в 1,29 раз, или на 29%, при повышении сывороточной активности ЛЭ – в 1,028 раз, или на 2,8%, при наличии повышении уровня антител как минимум к двум белкам – в 1,1 раза, или на 10%.

Полученная регрессионная модель была статистически значимой ($p < 0,001$), характеризовалась коэффициентом R^2 Найджелкерка, равным 0,563, что свидетельствовало об учете 56,3% факторов, и оказывающих влияние на исход перинатальных поражений ЦНС.

Для определения разделяющего значения логистической функции использовался метод анализа

Таблица 4

Оценка шансов неблагоприятного исхода ПП ЦНС у детей первого года жизни при увеличении значений факторов в прогностической модели (1) на 1

Фактор	ОШ	95% ДИ	Изменение шансов исхода ПП ЦНС
Возраст, месяцев	1,29	1,149 – 1,447	+29,0%
Активность ЛЭ, нмоль/мин мл	1,028	1,006 – 1,051	+2,8%
Наличие аутоиммунного компонента к белкам нервной ткани	1,1	1,091 – 35,19	+10%

ROC-кривых. В результате был получен следующий график (рис. 1).

Площадь под ROC-кривой составила $0,885 \pm 0,031$ (95% ДИ: 0,825 – 0,949). Разделяющее значение функции p (1) составило 46,5%: при значениях $p \geq 46,5\%$ прогнозировался неблагоприятный исход, а при $p < 46,5\%$ – благоприятный исход развития ребенка, перенесшего ПП ЦНС. Чувствительность модели составила 78,7% (37 верных положительных прогнозов среди 47 с развитием тяжелых нарушений ЦНС), специфичность модели – 77,6% (52 верных отрицательных прогноза среди 67 детей с компенсацией имеющихся нарушений). Диагностическая эффективность модели составила 78,1% (89 верно предсказанных случаев благоприятного или неблагоприятного исхода в изучаемой совокупности).

При корректировке порога классификации с учетом результатов ROC-анализа диагностическая ценность модели незначительно увеличилась и составила 79,8% (чувствительность – 78,7%, специфичность – 80,6%). Полученные результаты указывают на высокую предсказательную способность данной математической модели.

Далее рассмотрены два клинических примера, иллюстрирующие прогностическую эффективность полученной модели (1).

Клинический пример №1. Пациентка К. – девочка, возраст 6 месяцев. Основной диагноз: последствия перинатального поражения ЦНС гипоксически-ишемического генеза. Умеренная задержка психомоторного развития. Синдром мышечной дистонии по гипертоническому типу. Расстройства вегетативной автоном-

ной нервной системы (срыгивания, дискинезия желудочно-кишечного тракта).

Результаты иммунологического исследования: энзиматическая активность ЛЭ: 220 нмоль/мин·мл (норма 150–200 нмоль/мин·мл); ААТ к S-100B: 44; ААТ к ГФКП: 47; ААТ к ОБМ: 27; ААТ к ФРН: 74 (норма 75–130).

По результатам иммунологического обследования показано, что практически все анализируемые иммунные показатели находятся в «нормальном» диапазоне. Выявлено лишь умеренное повышение энзиматической активности ЛЭ.

Вероятность благоприятного/неблагоприятного исхода, рассчитанная в соответствии с приведенной формулой (1), составила: $p = 8,0\%$. Вычисленное значение вероятности меньше 46,5%, т.е. для данной пациентки прогнозируется *благоприятный исход* перинатального поражения ЦНС.

При обследовании, проведенном через 9 месяцев, у пациентки выявлена относительная компенсация выявленных на первом году жизни нарушений, что свидетельствует о благоприятном исходе перенесенного ПП ЦНС. Диагноз: легкая темповая задержка моторного развития.

Клинические данные пациентки находятся в хорошем соответствии с прогнозом, вычисленным по приведенной формуле.

Клинический пример №2. Пациент Н. мальчик – возраст 11 месяцев. Основной диагноз: последствия перинатального поражения ЦНС гипоксически-ишемического генеза. Задержка темпов психомоторного развития. Синдром мышечной дистонии по гипотоническому типу. Синдром повышенной нервно-рефлекторной возбудимости.

Результаты иммунологического исследования: энзиматическая активность ЛЭ: 272,0 нмоль/мин·мл (норма 150–200 нмоль/мин·мл); ААТ к S100B: 77; ААТ к ГФКП: 83; ААТ к ОБМ: 139; ААТ к ФРН: 147 (норма 75–130).

Выявлено значительное повышение активности ЛЭ и уровня ААТ к двум из четырех белков нервной ткани: ОБМ и ФРН, что свидетельствует об активации иммунной системы (воспалительного и аутоиммунного звеньев иммунитета). Вероятность благоприятного/неблагоприятного исхода, рассчитанная в соответствии с приведенной формулой, составила $p = 89,7\%$, т.е. для данного пациента прогнозируется *неблагоприятный исход* перинатального поражения ЦНС.

При обследовании пациента, проведенном через 9 месяцев, выявлено ухудшение клинического состояния с нарастанием тяжести психопатологической симптоматики в виде нарушений социальной адаптации, появления когнитивных расстройств, нарушений в эмоциональной сфере, что соответствует неблагоприятному исходу ПП ЦНС. Диагноз: расстройства аутистического спектра (?). Рекомендована консультация врача-психиатра.

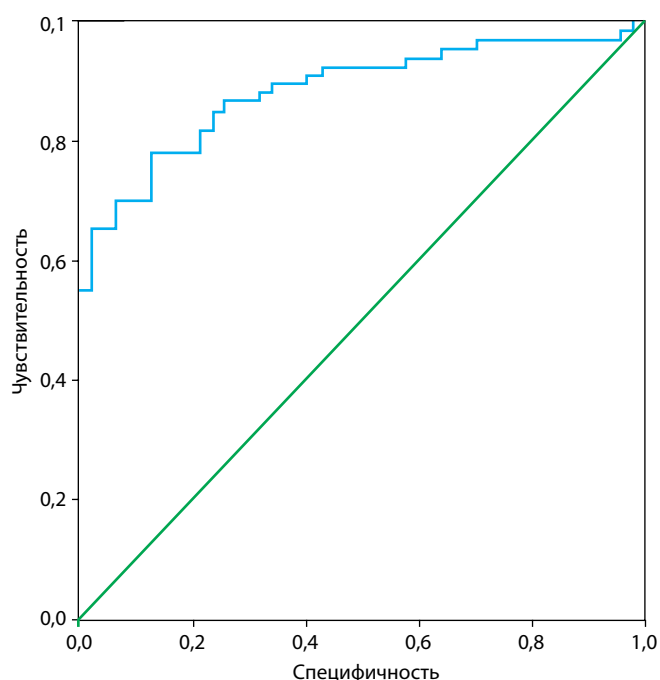


Рис. 1. ROC-кривая, характеризующая зависимость исхода последствий ПП ЦНС от значения логистической функции (1).

Клинические данные пациента находятся в хорошем соответствии с прогнозом, вычисленным по приведенной формуле.

Заключение

Таким образом, в ходе настоящего исследования проведено сопоставление уровня активации иммунной системы у детей с последствиями ПП ЦНС, выявляемого на первом году жизни, с динамикой их клинического состояния через год, а также построена регрессионная модель для вероятностной оценки исхода этих патологических состояний. С помощью математического анализа подтверждено, что исследуемые иммунологические показатели (активность ЛЭ и уровень антител к белкам нервной ткани), а также возраст ребенка с последствиями перенесенного повреждения нервной системы определяют динамику дальнейшего развития и являются предикторами исхода этих состояний.

Список литературы

1. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Яцык Г.В., Турти Т.В., Беляева И.А., Зимина Е.П., Сергиенко Н.С., Мамедбяргов А.М., Баклович Е.А., Черников В.В., Зокирова З.Ф. *Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с последствиями перинатального поражения центральной нервной системы с атонически-астатическим синдромом*. Актуальные проблемы педиатрии. Материалы XVIII Конгресса педиатров России с международным участием, Москва, 13-15 февраля 2015 г. 13 с.
2. Berger R., Garnier Y. Perinatal brain injury. *J. Perinat. Med.* 2000; 28(4): 261-285. DOI: 10.1515/JPM.2000.034
3. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Каркашадзе Г.А. *Новые нейробиологические подходы к профилактике и лечению перинатальных поражений ЦНС*. М.: Российская академия наук, 2017. 106 с.
4. Kurinczuk J, White-Koning M., Badawi N. Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Early Hum. Dev.* 2010; 86(6): 329-338. DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2010.05.010
5. Немкова С.А., Заваденко Н.Н., Медведев М.И. *Современные принципы ранней диагностики комплексного лечения перинатальных поражений центральной нервной системы и детского церебрального паралича*. Методическое пособие, ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 2013. 76 с.
6. Ларионова А.В. *Нарушения иммунного статуса у новорожденных с перинатальными поражениями ЦНС, их немедикаментозная коррекция*. Автореф. дис. ... к.м.н. Иваново, 2006. 18 с. Режим доступа: https://rusneb.ru/catalog/000200_000018_RU_NLR_bibl_1033111/ (дата обращения 19.02.2021)
7. Li B., Concepcion K., Meng X., Zhang L. Brain-immune interactions in perinatal hypoxic-ischemic brain injury. *Prog. Neurobiol.* 2017; 159: 50-68. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2017.10.006
8. Hagberg H., Mallard C., Ferriero D.M., Vannucci S.J., Levison S.W., Vexler Z.S., Gressens P. The role of inflammation in perinatal brain injury. *Nat. Rev. Neurol.* 2015; 11(4): 192-208. DOI: 10.1038/nrneuro.2015.13
9. Панченко А.С., Панова М.С. Биохимические маркеры гипоксического поражения головного мозга у доношенных новорожденных. *Доктор.Ру*. 2020; 19(3): 12-16. DOI: 10.31550/1727-2378-2020-19-3-12-16
10. Leavy A., Mateos M.J. Perinatal brain injury and inflammation: lessons from experimental murine models. *Cells.* 2020; 9(12): 2640. DOI: 10.3390/cells9122640
11. Yang H., Kimberly E.H., Doré S., Candelario-Jalil X.E. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain barrier damage in ischemic stroke. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2019; 316(2): 135-153. DOI: 10.1152/ajpcell.00136.2018
12. Groutas W.C., Dou D., Alliston K.R. Neutrophil elastase inhibitors. *Expert. Opin. Ther. Pat.* 2011; 21(3): 339-354. DOI: 10.1517/13543776.2011.551115

13. Парамонова Н.С., Гурина Л.Н., Волкова О.А., Карчевский А.А., Сеница Л.Н. *Состояние эластаза-ингибиторной системы у детей в норме и при отдельных патологических состояниях*. Гродно: Издательство ГрГМУ, 2017. 132 с.
14. Ключник Т.П., Морозов С.Г., Отман И.Н., Сарманова З.В., Беседина М.В., Рыбаков А.С., Аникина О.М., Камплицкая О.В. *Лабораторная диагностика последствий перинатальных поражений ЦНС у детей («Нейро-тест»)*. Медицинская технология. М.; 2011. 28 с.
15. Морозов С.Г., Кожевникова Е.Н., Петкевич Н.П., Иншакова В.М., Ключник Т.П., Сидякин А.А. Нейроиммунный статус детей с перинатальной патологией нервной системы. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2014; 13(5): 33-39.
16. Батышева Т.Т., Ключник Т.П., Грибова И.Е., Ожегова И.Ю., Яковлева Ю.К., Зозуля С.А., Морозов С.Г., Кулагина Ю.М. Лейкоцитарная эластаза, альфа1-протеиназный ингибитор и антитела к белкам нервной ткани в мониторинге терапии детей с органическими поражениями нервной системы. *Детская и подростковая реабилитация*. 2019; 3(39): 16-21.
17. Guney E., Ceylan M.F., Kara M., Tekin N., Goker Z., Dinc G.S., Ozturk O., Eker S., Kizilgun M. Serum nerve growth factor (NGF) levels in children with attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD). *Neurosci. Lett.* 2014; 560: 107-111. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.12.026
18. Ключник Т.П., Краснолобова С.А., Сарманова З.В., Шербакова И.В., Морозов С.Г., Грибова И.Е. Влияние антител к фактору роста нервов и сывороточному альбумину на развитие и поведенческие реакции мышей. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2004; 137(7): 98-106.

References

1. Baranov A.A., Namazova-Baranova L.S., Jacyk G.V., Turti T.V., Beljaeva I.A., Zimina E.P., Sergienko N.S., Mamedbjarov A.M., Bakovich E.A., Chernikov V.V., Zokirova Z.F. [Federal'nye klinicheskie rekomendacii po okazaniju medicinskoj pomoshhi detjam s posledstvijami perinatal'nogo porazhenija central'noj nervnoj sistemy s atonicheski-astaticheskim sindromom]. Actual problems of pediatrics. Materials of the XVIII Congress of Russian Pediatricians with International Participation, Moscow, February 13-15, 2015. 13 p. (in Russian)
2. Berger R., Garnier Y. Perinatal brain injury. *J. Perinat. Med.* 2000; 28(4): 261-285. DOI: 10.1515/JPM.2000.034
3. Baranov A.A., Namazova-Baranova L.S., Karkashadze G.A. [New neurobiological approaches to the prevention and treatment of perinatal CNS lesions]. Moscow: Russian Academy of Sciences, 2017. 106 p. (in Russian)
4. Kurinczuk J, White-Koning M., Badawi N. Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Early Hum. Dev.* 2010; 86(6): 329-338. DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2010.05.010
5. Nemkova S.A., Zavadenko N.N., Medvedev M.I. [Modern principles of early diagnosis of complex treatment of perinatal lesions of the central nervous system and infantile cerebral palsy]. Toolkit, N.I.Pirogov Russian National Research Medical University, 2013. 76 p. (in Russian)
6. Lariionova A.V. [Immune disorders in newborns with perinatal CNS lesions, their non-drug correction]. Avtoref. dis. ... candidate of medical sciences. Ivanovo, 2006. 18 p. Available at: https://rusneb.ru/catalog/000200_000018_RU_NLR_bibl_1033111/ Retrieved: 19.02.2021 (in Russian)
7. Li B., Concepcion K., Meng X., Zhang L. Brain-immune interactions in perinatal hypoxic-ischemic brain injury. *Prog. Neurobiol.* 2017; 159: 50-68. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2017.10.006
8. Hagberg H., Mallard C., Ferriero D.M., Vannucci S.J., Levison S.W., Vexler Z.S., Gressens P. The role of inflammation in perinatal brain injury. *Nat. Rev. Neurol.* 2015; 11(4): 192-208. DOI: 10.1038/nrneuro.2015.13
9. Panchenko A.S., Panova M.S. [Biochemical markers of hypoxic brain damage in full-term newborns]. *Doktor.Ru [Doctor.Ru]*. 2020; 19(3): 12-16. DOI: 10.31550/1727-2378-2020-19-3-12-16 (in Russian)
10. Leavy A., Mateos M.J. Perinatal brain injury and inflammation: lessons from experimental murine models. *Cells.* 2020; 9(12): 2640. DOI: 10.3390/cells9122640
11. Yang H., Kimberly E.H., Doré S., Candelario-Jalil X.E. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain barrier damage in ischemic stroke. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2019; 316(2): 135-153. DOI: 10.1152/ajpcell.00136.2018
12. Groutas W.C., Dou D., Alliston K.R. Neutrophil elastase inhibitors. *Expert. Opin. Ther. Pat.* 2011; 21(3): 339-354. DOI: 10.1517/13543776.2011.551115

13. Paramonova N.S., Gurina L.N., Volkova O.A., Karchevsky A.A., Sinita L.N. [The state of the elastase-inhibitory system in children is normal and in certain pathological conditions.]. Grodno: Izdatel'stvo GrGMU, 2017. 132 p. (in Russian)
14. Klyushnik T.P., Morozov S.G., Otman I.N., Sarmanova Z.V., Besedina M.V., Rybakov A.S., Anikina O.M., Kampl'kaja O.V. [Laboratory diagnostics of the consequences of perinatal CNS lesions in children ("Neuro-test")]. Medical technology. Moscow, 2011. 28 p. (in Russian)
15. Morozov S.G., Kozhevnikova E.N., Petkevich N.P., Inshakova V.M., Kljushnik T.P., Sidjakin A.A. [Neuroimmune status of children with perinatal pathology of the nervous system]. *Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii* [Problems of Gynecology, Obstetrics and Perinatology]. 2014; 13(5): 33-9. (in Russian)
16. Batysheva T.T., Klyushnik T.P., Gribova I.E., Ozhegova I.Yu., Yakovleva Yu.K., Zozulya S.A., Morozov S.G., Kulagina Yu.M. [Leukocyte elastase, alpha1-proteinase inhibitor and antibodies to proteins of the nervous tissue in monitoring therapy of children with organic lesions of the nervous system]. *Detskaya i podrostkovaya rehabilitatsiya* [Child and Adolescent Rehabilitation]. 2019; 3(39): 16-21. (in Russian)
17. Guney E., Ceylan M.F., Kara M., Tekin N., Goker Z., Dinc G.S., Oz-turk O., Eker S., Kizilgun M. Serum nerve growth factor (NGF) levels in children with attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD). *Neurosci. Lett.* 2014; 560: 107-111. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.12.026
18. Klyushnik T.P., Krasnolobova S.A., Sarmanova Z.V., Shcherbakova I.V., Morozov S.G., Gribova I.E. [The effect of antibodies to nerve growth factor and serum albumin on the development and behavioral responses of mice]. *Byulleten' ehksperimental'noi biologii i meditsiny* [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]. 2004; 137(7): 98-106. (in Russian)

Сведения об авторах:

Зозуля Светлана Александровна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории нейроиммунологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр психического здоровья»; <https://orcid.org/0000-0001-5390-6007>

Отман Ирина Николаевна — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории нейроиммунологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр психического здоровья»; <https://orcid.org/0000-0003-3745-8413>

Аракелов Сергей Эрнестович — доктор медицинских наук, заведующий кафедрой семейной медицины с курсом паллиативной медицинской помощи Медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов»; главный врач Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница №13 Департамента здравоохранения города Москвы»; <https://orcid.org/0000-0003-3911-8543>

Балашова Елена Демьяновна — кандидат медицинских наук, руководитель Центра восстановительного лечения для детей до 3 лет Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница №13 Департамента здравоохранения города Москвы»

Морозов Сергей Георгиевич — доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0001-5822-5729>

Клюшник Татьяна Павловна — доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории нейроиммунологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр психического здоровья»; <https://orcid.org/0000-0001-5148-3864>