

На правах рукописи

**СОЗАЕВА ДИАНА ИЗМАИЛОВНА**

**РОЛЬ НЕЙРОИММУННЫХ ПРОЦЕССОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ  
ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА  
С ПОСЛЕДСТВИЯМИ ПЕРИНАТАЛЬНОГО  
ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ЦНС**

14.01.11- Нервные болезни

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Ростов-на-Дону

2016

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный консультант:**

доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Министерства здравоохранения Российской Федерации **Бережанская Софья Борисовна**

**Официальные оппоненты:**

**Скоромец Анна Петровна** - доктор медицинских наук, профессор кафедры неонатологии и неонатальной реанимации факультета послевузовского и дополнительного профессионального образования ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Скрипченко Наталья Викторовна** - доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе ФГБУ «Научно-исследовательский институт детских инфекций ФМБА» России, руководитель центра демиелинизирующих заболеваний и рассеянного склероза у детей, заслуженный деятель науки РФ

**Дьяконова Елена Николаевна** - доктор медицинских наук, профессор кафедры неврологии и нейрохирургии института последипломного образования ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова» Министерства обороны Российской Федерации.

Защита состоится " \_\_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 2016 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного Совета Д.208.090.06 при ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, дом 6-8. Тел.:8(812)338-71-04, e-mail: usovet@spbgmu.ru) в зале Ученого Совета.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, дом 6-8) и на сайте [www.1spbgmu.ru](http://www.1spbgmu.ru)

Автореферат разослан " \_\_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 2016 года

Учёный секретарь диссертационного совета доктор медицинских наук профессор

Матвеев Сергей Владимирович

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность проблемы

Несмотря на значительные успехи фундаментальной биологии и медицины, проблема перинатального поражения ЦНС у детей в современной педиатрии занимает одно из ведущих мест. Это обусловлено прогрессирующим ростом частоты и тяжести клинического течения церебральных нарушений у детей раннего возраста, нередко приводящих к формированию инвалидности с детства, при этом полученные в последние десятилетия данные не вызывают сомнений в том, что в основе подавляющего числа заболеваний нервной системы детского возраста лежат разнообразные морфофункциональные изменения головного мозга, возникающие в процессе индивидуального нейроонтогенеза.

В этих условиях, к одному из ведущих компонентов в числе патогенетических процессов формирования гипоксически-ишемического поражения головного мозга относят симптомокомплекс фетоплацентарной недостаточности с нарушением общей и церебральной гемодинамики и реологических свойств крови у плода и новорожденного, предопределяющих развитие энергетического дефицита и лактат-ацидоза, запускающих каскад патобиохимических реакций в условиях оксидантного стресса, фокальной ишемии, воспалительных, микроциркуляторных реакций и эйксатоксичности, ведущих к гибели клеток посредством некроза и апоптоза (Пальчик А.Б., 2013; Гусев Е.И. и соавт., 2015). Это приводит к развитию неврологического дефицита не только сразу после рождения, но и в отдаленные периоды постнатального онтогенеза, характер и степень выраженности которого определяется локализацией патологического процесса в мозговом веществе.

Результатами современных экспериментальных исследований показано, что при гипоксических повреждениях головного мозга патологический процесс не ограничивается первичным очагом поражения, а существует определенная динамика возникновения вторичных изменений с вовлечением ранее неповрежденных нейронов. В конечном итоге речь может идти о прогрессирующем течении энцефалопатии, при котором объем нейронов в стадиях деградации оказывается значительно больше первоначального (лизис нейронов, опустошение коры, вторичные дисциркуляторные расстройства).

В то же время в научных публикациях последних лет имеются указания на дестабилизацию не только церебральных клеточных мембран с постгипоксическими изменениями метаболизма в головном мозге, но и повреждение мембранных структур клеток ГЭБ в результате ишемии и последующей гипоксии, проявляющиеся расширением плотных эндотелиальных контактов, отеком и набуханием отростков астроцитов, с нарушением постоянства внутренней среды и процессов диффузии (Бредбери М., 1983; Гусев Е.И., 2011; Allans S., 2006). Указанные процессы

церебральной аутоагрессии охватывают различный возрастной отрезок: от периода новорожденности и первых месяцев жизни до 1,5-3 лет и могут быть рассмотрены и оценены только в процессе пролонгированного наблюдения.

С другой стороны, в условиях формирования устойчиво функционирующих нейрональных сетей в раннем онтогенезе имеют значение механизмы нейрональной пластичности, обеспечивающие, параллельно с демиелинизацией, обратный процесс ремиелинизации. Анатомической основой пластичности, является реорганизация кортикальных отделов, увеличение эффективности смежных мозговых структур и активное использование альтернативных связей. Непосредственная реализация этих изменений на клеточном (нейрональном) уровне заключается в синаптическом ремоделировании и неосинаптогенезе с участием нейротрофических факторов (Блум Ф. и соавт., 1988; Граф А.В. и соавт., 2008; Бархатов Д.Ю. и соавт., 2011; Карантыш Г.В., 2014; Усманова Д.Д., 2015; Aja S et al., 2011; Bakkali-Kassemi L. et al., 2011; Baltan S., 2012).

Таким образом, динамическое изучение популяционно-субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеточных элементов, медиаторов их взаимодействия, маркеров проницаемости ГЭБ, уровня органоспецифических аутоантител и нейротрофинов при гипоксически-ишемическом поражении ЦНС различной степени тяжести и его последствиями позволит осветить новые звенья нейроиммунного конфликта и репаративных процессов в патогенезе неврологических нарушений у новорожденных и детей раннего возраста, актуально и представляет несомненный интерес.

### **СТЕПЕНЬ РАЗРАБОТАННОСТИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Накопленные в последние десятилетия данные позволили существенно расширить представления о механизмах взаимодействия и способах регулирования физиологических и патологических процессов в условиях интеграции нервной и иммунной систем (Маркова Е.В., 2011; Кравченко П.Н, 2014; Iadecola C., Anrather J., 2011). Показана зависимость активности иммунологического надзора, величины, силы, направленности и способах регулирования иммунного ответа в условиях физиологических и патологических процессов в ЦНС от состояния гипоталамических и связанных с ним структур мозга (Черешнев В.А. и соавт., 2011; Абрамова А. Ю., 2013; Abbott N.J. et al., 2010; Barclay J.L. et al., 2012).

Определенные в ходе проведенного исследования данные о роли иммунных механизмов в развитии нейропатологических процессов при церебральной гипоксии-ишемии позволят заложить фундамент дальнейших научных разработок с целью установления конкретных иммунологических звеньев, определения лечебной тактики и стратегии их коррекции. Это поможет сформировать основание прикладного использования полученных результатов и создания максимально локальных-точечных способов диагностики и лечения церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Улучшить диагностику церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС и его последствий у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни из группы высокого перинатального риска путем уточнения патогенетических механизмов его развития и разработки новых критериев определения и прогноза происходящих нейроиммунных нарушений.

## ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Определить характер, структуру, динамику развития церебральных нарушений у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС и его последствиями и сопоставить их с данными клинико-инструментального и нейровизуализационного обследования в процессе формирования у них неврологического дефицита.

2. Изучить взаимосвязь нейроиммунных нарушений и неврологических расстройств в процессе их возникновения у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни, родившихся от матерей с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом, осложненным течением беременности и родов.

3. Исследовать популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни с церебральным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС различной степени тяжести и его последствиями.

4. Изучить роль процессов позитивной и негативной активации (апоптоз) клеток иммунной системы, молекул межклеточной адгезии на основании определения CD25+, CD31+, CD54+, CD95+ лимфоцитов в развитии неврологического дефицита у новорожденных с церебральной гипоксией-ишемией различной степени тяжести и детей первых 1,5 лет жизни с расстройством вегетативной (автономной) нервной системы, тяжелыми формами нарушений моторного развития, симптоматической эпилепсией и сообщающейся гидроцефалией.

5. Изучить эффекторные функции иммунной системы, включая определение баланса про- и противовоспалительных цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ ) сыворотки крови и рецепторов к IL-2, IL-4, IL-6 у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни с церебральным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС различной степени тяжести и его последствиями.

6. Изучить динамику содержания фенотипических маркеров проницаемости гемато-энцефалического барьера, мозгоспецифических и нейротрофических пептидов на основании определения содержания молекул межклеточной адгезии (sICAM-1), матриксной металлопротеиназы-3 (ММП-3), антител к основному белку миелина (ОБМ), антител к миелиноассоциированному гликопротеину (MAG) и мозгового нейротрофического фактора (BDNF) в сыворотке крови у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни с церебральным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС различной степени тяжести и его последствиями.

7. Выявить взаимосвязь и диагностическую ценность маркеров активации, межклеточного взаимодействия, нейротрофического обеспечения и аутоиммунных реакций в патогенетических механизмах формирования неврологических нарушений у обследованного контингента детей на основании результатов множественного корреляционно-регрессионного анализа.

8. Разработать алгоритмы диагностики и прогнозирования возникновения церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС и его последствий у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни из группы высокого перинатального риска на основании комплексного анализа маркеров активации клеток иммунной системы, факторов проницаемости гемато-энцефалического барьера, нейротрофинов, цитокинового профиля и показателей активности аутоиммунных процессов сыворотки крови.

### **НАУЧНАЯ НОВИЗНА РАБОТЫ**

В результате репрезентативного комплексного клиничко-инструментального и лабораторного исследования в аспекте изучения динамики параметров нейровизуализации, показателей иммунологического профиля, аутоиммунных реакций и нейротрофического обеспечения, установлены принципиально новые патогенетические модели формирования неврологических нарушений у новорожденных с церебральным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС и детей первых 1,5 лет жизни с расстройством вегетативной (автономной) нервной системы, тяжелыми формами нарушений моторного развития, симптоматической эпилепсией и сообщающейся гидроцефалией.

Получены новые данные об общих закономерностях функционирования иммунной системы у детей первых 1,5 лет жизни с церебральным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС и его последствиями, позволившие охарактеризовать это состояние как иммунологический дисбаланс дизрегуляторного геноза на фоне иммунного воспаления с элементами нейродегенерации и демиелинизации, приводящие к деструктивным процессам вещества головного мозга, прогрессивному их течению, хронизации и резистентности к терапии.

У новорожденных с церебральным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС различной степени тяжести в острой стадии патологического процесса имеют место признаки системной воспалительной реакции, верифицирующейся увеличением маркеров активации, апоптоза и молекул адгезии CD25+, CD31+, CD95+, CD54+ в общей популяции лимфоцитов периферической крови с усилением продукции в сыворотке крови провоспалительных цитокинов (IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ ), факторов проницаемости гемато-энцефалического барьера (sICAM-1, MMP-3) и показателей активации аутоиммунных процессов (АТ к ОБМ, АТ к МАG), определяющих тяжесть формирования неврологических нарушений.

У детей с последствиями церебральной гипоксии-ишемии I-II степени тяжести имеет место повышение активационных потенциалов и уровня адгезивных молекул лимфоцитов периферической крови (CD25+, CD31+, CD54+) в сочетании с увеличением количества провоспалительных цитокинов сыворотки крови (IL-2, TNF- $\alpha$ ), маркеров проницаемости гемато-энцефалического барьера (sICAM-1, MMP-3) и показателей активации аутоиммунных процессов (АТ к ОБМ, АТ к МАГ) на протяжении первых 6 месяцев жизни, что совпадает с компенсацией неврологического дефицита.

У детей первых 1,5 лет жизни с тяжелыми формами нарушений моторного развития, в том числе ДЦП, имеет место прогрессивное нарастание на 1-м году жизни уровня экспрессии активационных и адгезивных молекул лимфоцитами периферической крови (CD25+, CD31+, CD54+), провоспалительных цитокинов (IL-2, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ ), маркеров проницаемости ГЭБ (sICAM-1, MMP-3) и активации аутоиммунных процессов (АТ к ОБМ, АТ к МАГ) в сыворотке крови.

У детей с фармакологически неконтролируемой симптоматической эпилепсией имеет место прогрессивное нарастание уровня активационных маркеров и молекул межклеточной адгезии (CD25+, CD54+) на лимфоцитах периферической крови в сочетании с повышением уровня провоспалительных цитокинов (IL-2, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ ), маркеров проницаемости гемато-энцефалического барьера (sICAM-1, MMP-3) и аутоиммунных процессов (АТ к ОБМ, АТ к МАГ) в сыворотке крови в течение всего периода наблюдения за детьми до 1,5 лет жизни.

У детей с фармакологически контролируемой эпилепсией в дебюте заболевания имеет место увеличение уровня экспрессии маркера активации CD31+ на лимфоцитах периферической крови в сочетании с повышением уровня провоспалительных цитокинов (IL-2, TNF- $\alpha$ ) и факторов нарушения проницаемости гемато-энцефалического барьера (sICAM-1, MMP-3) на протяжении первых 6 месяцев жизни с дальнейшим увеличением пула противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10) и нейтрофического обеспечения (BDNF) в сыворотке крови, отражающих компенсаторный потенциал иммунного реагирования в условиях устойчивого фармакологического контроля течения заболевания.

У детей с сообщающейся гидроцефалией имеет место повышение уровня активационных маркеров и молекул межклеточной адгезии (CD25+, CD31+) лимфоцитами периферической крови, провоспалительной активности сыворотки крови (TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ ), факторов проницаемости гемато-энцефалического барьера (sICAM-1, MMP-3) в течение первых 6 месяцев жизни ребенка с дальнейшей стабилизацией этих показателей в сочетании с нарастанием уровня мозгового нейротрофического фактора, противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10), совпадающих с компенсацией неврологических нарушений.

Предложены новые подходы к диагностике и прогнозированию возникновения церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС и его последствий у новорожденных и

детей первых 1,5 лет жизни на основании определения маркеров активации иммунной системы, повышенной проницаемости гемато-энцефалического барьера, эффекторных функций иммунокомпетентных клеток, нейротрофического обеспечения и аутоиммунных реакций.

Разработан способ прогнозирования течения церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС у детей первых 1,5 лет жизни, в основу которого легло определение в сыворотке крови новорожденных уровня INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-10, BDNF, sICAM-1, АТ к MAG с проведением расчета прогностического коэффициента по предлагаемой формуле прогноза.

Установлено, что одним из значимых факторов возникновения тяжелых форм двигательных нарушений у детей первых 1,5 лет жизни является дисбаланс уровня про- и противовоспалительных цитокинов, определяющих тип поляризации иммунного ответа.

Выявленные статистически обоснованные корреляционно-регрессионные взаимосвязи клинико-неврологических и иммунологических параметров церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС и его последствий различной степени тяжести на системном уровне, позволили создать новую концепцию формирования неврологических нарушений у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни, родившихся при осложненном течении беременности и родов.

### **ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ**

1. Расширены представления о патогенетической роли изменений иммунной системы при гипоксически-ишемическом поражении головного мозга в возникновении церебральных нарушений у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни из группы высокого перинатального риска, обусловленные нарушением процессов дифференцировки, активации и эффекторных функций иммунокомпетентных клеток, что отражается изменением уровня экспрессии их маркеров, соотношением про- и противовоспалительных цитокинов и активации процессов межклеточного взаимодействия.

2. Усовершенствованы методы диагностики и прогноза гипоксически-ишемических церебральных нарушений, выявлены предикторы их формирования у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни, рожденных от матерей с осложненным течением беременности и родов, позволяющие на ранних этапах постнатального онтогенеза определять группы риска развития неврологических осложнений различной степени выраженности с целью проведения им своевременной рациональной терапии, способствующей профилактике формирования тяжелой инвалидизации и отдаленных неврологических расстройств.

3. Определение параметров иммунного профиля, цитокиновой активности, фенотипических маркеров проницаемости гемато-энцефалического барьера и нейротрофического обеспечения на фоне динамической оценки неврологического статуса новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни с церебральным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС и его последствиями



различной степени тяжести позволили расширить представления о патогенетической роли иммунных изменений в развитии церебрального дефицита и лучше понять неонатологам, педиатрам и неврологам последовательность формирования и восстановления неврологических нарушений у указанного контингента детей.

4. Предложены алгоритмы прогнозирования неврологических нарушений у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни с тяжелыми формами нарушений моторного развития и симптоматических форм эпилепсии, позволяющие повысить уровень лечебно-диагностического процесса, способствующего предотвращению формирования у них стойких инвалидизирующих расстройств.

### **ПОЛОЖЕНИЯ ДИССЕРТАЦИИ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ**

1. В основе церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни лежат вторично развивающиеся морфологические дефекты церебральных структур, главным образом гипоталамической области и гиппокампаально-амигдаллярного комплекса, с последующим, закономерно возникающим дисбалансом различных звеньев иммунной системы.

2. Нарушения нейроиммунного гомеостаза имеют важное патогенетическое значение в развитии неврологических расстройств, темпов становления, характере изменений двигательных функций, процессов демиелинизации, эпилептизации нейронов головного мозга, формировании церебральной атрофии и дилатации ликворных пространств у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни с церебральным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС различной степени тяжести и его последствиями.

3. Определены общность и отличительные особенности профиля иммунопатологических процессов при гипоксически-ишемических поражениях ЦНС и их последствиях у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни, в основе которых лежит повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера, антенатальная активация иммунных реакций и аутоиммунных процессов, способствующих прогрессированию и хронизации нейродегенеративных изменений в ЦНС, что определяет в возрастном аспекте тяжесть и характер формирования расстройств вегетативной (автономной) нервной системы, тяжелых форм нарушений моторного развития, симптоматической эпилепсии и сообщающейся гидроцефалии.

4. Уровень и динамика показателей системной воспалительной реакции, провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, маркеров проницаемости гемато-энцефалического барьера, а также показателей активации аутоиммунных процессов, демиелинизации и дефицита нейротрофического обеспечения позволяют не только определять тяжесть неврологического дефицита на момент обследования ребенка, но и строить прогноз в отношении дальнейшего развития патологического процесса в течение первых 1,5 лет жизни.

## **ВНЕДРЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ РАБОТЫ В ПРАКТИКУ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ**

Исследование выполнено в рамках приоритетных направлений развития науки, технологий и техники в РФ и перечня критических технологий РФ, утвержденных президентом РФ Д. Медведевым 7 июля 2011 г №899 «Науки о жизни» и «Биомедицинские и ветеринарные технологии».

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.01.11 Нервные болезни: 2. Детская неврология; 9. Неврология вегетативных и невротических расстройств; 13. Неврология эпилепсии и пароксизмальных нарушений сознания; 19. Нейровизуализационные и инструментальные методы исследования в неврологии; 21. Организация неврологической помощи.

Основные результаты исследования внедрены в практику и используются в лечебно-диагностической работе отделения патологии новорожденных и недоношенных детей, отделении детей грудного возраста, отделении реабилитации детей младшего возраста, консультативной поликлиники ФГБУ «РНИИАП» Минздрава России, психоневрологическом отделении, отделениях медицинской реабилитации и восстановительной медицины, поликлиническом отделении ГБУ Ростовской области «Областная детская клиническая больница», практической и теоретической работе учебного центра подготовки кадров высшей квалификации и симуляционно-аттестационного центра II уровня ФГБУ «РНИИАП» Минздрава России, в лекционных курсах и при проведении семинарских и практических занятий с клиническими ординаторами, интернами и врачами-неврологами Южного федерального округа на кафедре неврологии и нейрохирургии с курсами мануальной терапии и рефлексотерапии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов РостГМУ.

### **ЛИЧНОЕ УЧАСТИЕ АВТОРА**

Автором подготовлены план и комплексная программа диссертационной работы (идея исследования и актуальность проблемы). Полностью выполнен аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по теме научной работы.

Автор принимала непосредственное участие в клиническом обследовании и лечении пациентов, а также в организации и проведении лабораторного и инструментального исследований, мониторинга и катамнестического наблюдения за детьми в течение первых 1,5 лет жизни. Автор самостоятельно проанализировала первичную медицинскую документацию, разработала дизайн и протокол исследования, сформировала базу данных, составила программу математико-статистической обработки материала, провела статистическую обработку полученных данных, выполнила анализ и дала научную интерпретацию полученных результатов с формулировкой выводов и практических рекомендаций.

## АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ

Основные положения диссертации представлены на:

Первом Балтийском конгрессе по детской неврологии (Санкт-Петербург, 2007); XI Конгрессе педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии» (Москва, 2007); Седьмом Российском Конгрессе «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии» (Москва, 2008); XVI съезде педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии» (Москва, 2009); V Ежегодном Конгрессе специалистов перинатальной медицины «Современная перинатология: организация, технология и качество» (Москва, 2010); 2-й Российской научной конференции «Педиатрия их XIX в XXI век» (Санкт-Петербург, 2010); Девятом Российском Конгрессе «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии (Москва, 2010)»; I Международном Конгрессе по перинатальной медицине и IV Ежегодном Конгрессе специалистов перинатальной медицины, (Москва, 2011); Научно-практической конференции неврологов (Санкт-Петербург, 2011); Юбилейной научно-практической конференции детских врачей (Ростов-на-Дону, 2011); X Российском Конгрессе «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии»; II Конгрессе детских врачей союзного государства (Москва, 2011); XVI Конгрессе педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (Москва, 2012); XI Российский Конгресс «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии» (Москва, 2012); XVII съезда педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии» (Москва, 2013); XII Международном конгрессе «Современные проблемы иммунологии, аллергологии и иммунофармакологии» (Москва, 2013); Четвертом Балтийском Конгрессе по детской неврологии (Санкт-Петербург, 2013); Объединенном иммунологическом форуме «Иммунология раннего и позднего онтогенеза» (Нижний Новгород, 2013); XIW orld Congress of Perinatal Medicine (Moscow,2013); 27 Congress of the International Pediatric Associftion (Melborne, 2013); VIII Ежегодном Конгрессе специалистов перинатальной медицины «Современная перинатология: организация технология, качество» (Москва, 2013); Юбилейной научно-практической конференции «85 лет на страже здоровья матери и ребенка. История, настоящее и будущее» (Ростов-на-Дону, 2013); Royal College of Paediatrics and Child Health (Birmingham, 2014); 5 Congress of European Academy of Paediatrics Societies (Barcelona, 2014); Втором Конгрессе Российского комитета исследователей рассеянного склероза с международным участием «Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания. Вопросы патогенеза, диагностики и терапии» (Ярославль, 2015).

## ПУБЛИКАЦИИ

По материалам диссертации опубликовано 46 печатных работ, из них в изданиях, рекомендованных Перечнем ВАК при МО и науки России для опубликования материалов докторских и кандидатских диссертаций 17 публикаций, получено 4 патента на изобретение.

## СТРУКТУРА И ОБЪЕМ РАБОТЫ

Диссертация изложена на 304 страницах машинописного текста и содержит введение, обзор литературы, 4 главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, указатель литературы.

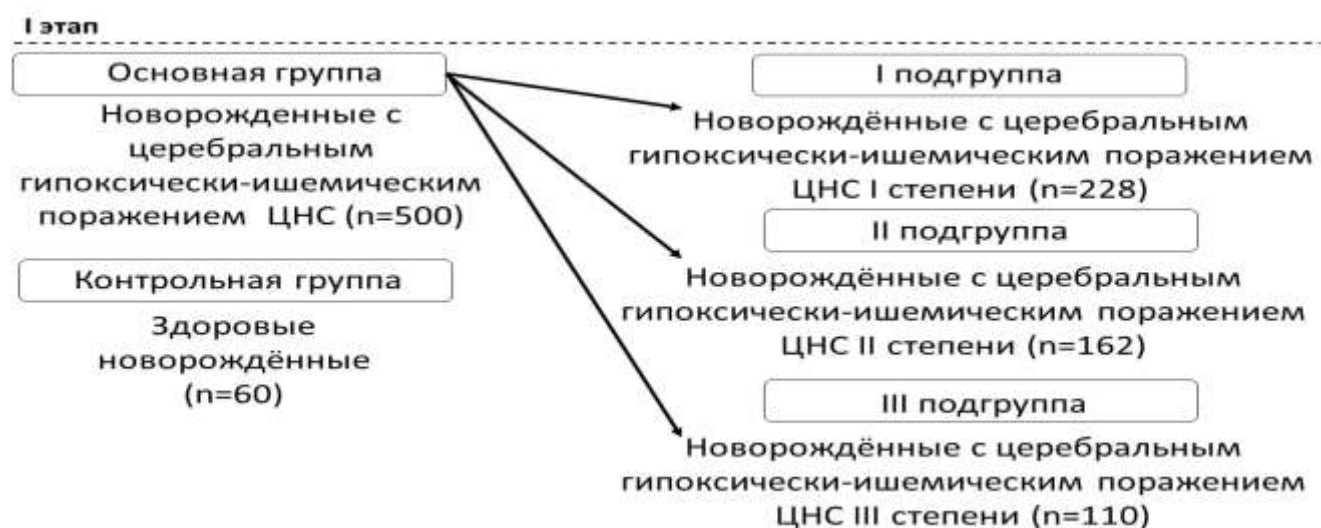
Библиографический указатель включает 241 отечественных и 119 иностранных источников литературы. Работа иллюстрирована 52 таблицами и 21 рисунком.

## СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

### Общая характеристика материалов и методов исследования

Для решения поставленных задач на базе ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Минздрава России проведено двухэтапное про- и ретроспективное, сравнительное, открытое исследование новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни, родившихся от матерей с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом, осложненным течением беременности и родов, с учетом максимального числа факторов, влияющих на репрезентативность и надежность получаемых результатов (Реброва О.Ю., 2006). Исследование состояло из 2-х этапов. На 1-м этапе работы выборку составили 500 доношенных новорожденных детей с церебральным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС (основная группа). Группу контроля составили 60 здоровых детей, родившихся от матерей с физиологически протекающей беременностью и родами.

При исследовании новорожденных проводили анализ комплекса факторов перинатального риска, клинко-лабораторных особенностей течения раннего и позднего неонатального периодов. В зависимости от тяжести церебральной гипоксии-ишемии новорожденные были разделены на 3 подгруппы (Рисунок 1).



**Рисунок 1 - Распределение новорождённых с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС на 1-м этапе исследования**

Тяжесть течения заболевания определялась в соответствии с «Классификацией перинатальных поражений нервной системы у новорожденных», разработанной группой ведущих ученых Российской ассоциации специалистов перинатальной медицины (Буркова А.С. и соавт., 2000) и диагностических критериев по Барашневу Ю.И. (2005).

Критериями исключения из исследования были: наличие синдромальной патологии или ВПР, в том числе множественные и ВПР головного и спинного мозга, врожденной эндокринной патологии, дети из двоен, недоношенные дети, новорожденные с внутриутробным инфицированием и гнойно-септическими заболеваниями, дети, которым проводили переливание крови, плановую или экстренную иммунизацию до забора крови на иммунологическое исследование, неполный объем запланированных диагностических исследований. В дальнейшем из исследования исключались часто болеющие дети и дети с признаками атопии, а также родившиеся от матерей с иммуноопосредованными заболеваниями.

При проведении наших исследований забор периферической крови осуществлялся при рождении (пуповинная кровь), а также на 15-28 сутки неонатального периода.

На 2-м этапе исследования проводилось катамнестическое наблюдение за детьми указанных групп на протяжении первых 1,5 лет жизни, находившиеся на лечении и реабилитации в отделении патологии новорожденных, детском реабилитационном отделении ФГБУ «РНИИАП» Минздрава России. Обследование осуществлялось в 3, 6, 12 и 18 месяцев или ежемесячно при наличии показаний, включало клиническую и инструментальную оценку неврологического статуса, уровня психомоторного и физического развития, характера сопутствующей соматической патологии. Исходы перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС оценивались к достижению ребенком 1 года жизни (Рисунок 2).

**II этап** (подгруппы формировались с учётом неврологических исходов по достижению ребёнком 1-го года жизни)



**Рисунок 2 - Распределение детей с последствиями гипоксически-ишемического поражения ЦНС на 2-м этапе исследования**

Распределение детей по подгруппам проводилось в соответствии с «Классификацией последствий перинатальных поражений нервной системы у детей первого года жизни», разработанной Российской ассоциацией специалистов перинатальной медицины под редакцией А.С. Бурковой и соавт., (2003). Объективизация психомоторного развития детей проводилось по шкале Н. Бейли. Стандартный неврологический осмотр осуществляли по методике Гузевой В.И. (2004). Форма ДЦП определялась согласно классификации А.Форда в модификации Семеновой К.А. (1972). Для классификации эпилепсии использована международная классификация эпилепсии и эпилептических синдромов ILAE (1989). Все случаи эпилепсии были квалифицированы по типу приступов (Международная классификация эпилептических приступов, Киото, 1981) и по форме заболевания (Международная классификация эпилепсий и эпилептических синдромов, Нью-Дели, 1989).

Всем наблюдавшимся детям осуществляли инструментальное обследование, включавшее в себя ультразвуковое динамическое исследование головного мозга (НСГ) через большой родничок по стандартным протоколам, обзорное ультразвуковое исследование внутренних органов, при необходимости с использованием нагрузочных тестов, функциональное исследование сердечно-сосудистой системы (ЭКГ), эхокардиографию, ультразвуковую доплерографию церебральной гемодинамики через большой родничок и методом спектральной транскраниальной доплерографии через акустическое «височное окно», электроэнцефалографическое (ЭЭГ) исследование в том числе компьютерное ЭЭГ- видеомониторирование по международной схеме «10-20» для моно- и биполярной записи с использованием электроэнцефалографа - анализатора ЭЭГА-21/26 «Энцефалан-131-03» (НПКФ «Медиком-МТД», г. Таганрог).

Нейровизуализацию осуществляли методом МРТ на аппарате «Magnetom Espree» (Siemens, Германия) с напряженностью магнитного поля 1,5 Тесла, оснащённым клиническими пакетами программ с мультипланарной реконструкцией и трёхмерным отображением поверхности предметов. При необходимости, по клиническим показаниям, проводилась бесконтрастная интракраниальная и экстракраниальная ангиография артерий и вен. В ряде случаев осуществлялась РКТ головного мозга на 2-х срезовом рентгеновском компьютерном томографе M8000-Dual («Филлипс», Голландия) в 3D реконструкциях, нативно и с в/в контрастным усилением.

Всем детям проводили иммунологическое обследование, включавшее в себя определение абсолютного и относительного (процентного) количества лейкоцитов, популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови (CD), естественных (натуральных) киллеров (NK) методом однопараметрического фенотипирования, используя реагенты фирмы Immunotex (Франция), Caltag (США): FITC (изотиоционат флуоресцеина) – меченые CD3+, CD4+, CD16+, CD19+, CD31+, CD54+ и PE (фикоэритрин) меченые CD25+, CD95+, CD122+,

CD124+, CD126+. Для удаления эритроцитов пробоподготовку проводили с использованием лизирующего раствора OptiLiseC фирмы Immunotex (Франция). Экспрессию мембранных маркеров иммунокомпетентных клеток учитывали на проточном цитофлюориметре BECKMAN COULTER EPICS XL-II (США), используя стандартные протоколы.

О состоянии гуморального иммунитета судили по содержанию иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgA) в сыворотке крови, определяемых методом ИФА с помощью антиглобулиновых сывороток производства фирмы ЗАО «Вектор-Бест». Количество ЦИК определяли методом преципитации сыворотки в полиэтиленгликоле (Haskova V. et.al.,1978).

Определение содержания цитокинов в сыворотке крови проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента. Реакцию проводили согласно рекомендациям производителя. IL- 2, IL- 4, IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  с использованием тест-систем фирмы ООО «Протеиновый контур» (СПб, Россия), IL-10 с использованием тест-систем eBiosource (США). Определение уровня антител к основному белку миелина (АТ к ОБМ) в сыворотке крови пациентов проводилось с помощью тест-систем фирмы «Навина», г.Москва, антител к миелинассоциированному гликопротеину (АТ к MAG) с использованием тест-систем Buhlmann (Германия), молекул межклеточной адгезии-1 (sICAM-1) с помощью тест-системы Bender MedSystems (Австрия), матриксной металлопротеиназы-3 (ММП-3) с помощью тест-систем eBioscience (США), уровень мозгового нейротрофического фактора (BDNF) с помощью тест-систем ChemiKineTM (Канада). Учет реакции проводили на многофункциональном программируемом счетчике для иммунологических исследований с компьютером и программным обеспечением 1420 Multilabel Counter Victor (Финляндия).

Статистическая обработка, создание базы полученных данных, построение графиков и диаграмм проводилась на персональном компьютере с помощью пакета прикладных программ Statistica for Windows версии 8,0 (StatSoft, USA), Microsoft Office Excell 2007, Biostat (Гланц С.,1999), SPSS 13.0. Проводилось оценка исходных данных по виду распределения по критерию Колмогорова-Смирнова. Взаимосвязь двух признаков анализировалась при помощи корреляционного анализа с определением коэффициента корреляции Пирсона ( $r$ ) при нормальном распределении показателей и вычислением рангового коэффициента корреляции по Спирмену ( $R$ ) при отклонении от нормального распределения. Доверительную значимость коэффициентов корреляции проверяли с учетом критического значения  $p \leq 0,05$ . При сравнении качественных показателей использовался критерий  $\chi^2$  Пирсона с коррекцией на непрерывность по Йетсу и коэффициент ранговой корреляции Спирмена, двусторонний точный критерий Фишера ( $F$ ) при уровне значимости  $\alpha = 0,05$  и известном числе степеней свободы. Для оценки диагностической ценности исследованных в работе маркеров патологического процесса использовали метод ROC-анализа (Receiver Operator Characteristic) с построением характеристической ROC- кривой (ROC-Lines),

составлялись таблицы чувствительности и специфичности, анализ которых способствовал определению дифференциальной точки разделения cutoff frequency (CutOff) показателей.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

При углубленном изучении анамнеза матерей, их соматического статуса, заболеваемости и особенностей течения беременности и родов определено большое число отягощающих факторов, свидетельствовавшее о том, что дети, включенные в данное исследование, относились к группе высокого риска по возникновению патологии, ассоциированной с перинатальным периодом. При этом выявлены обстоятельства, свидетельствующие в пользу отсутствия четких взаимосвязей между возрастом и соматической отягощенностью матерей у детей с различной степенью ЦГИП. Обращала на себя внимание более высокая заболеваемость матерей у новорожденных II и III подгрупп, обусловленная как экстра- так и генитальной патологией при отсутствии острых воспалительных заболеваний женской половой сферы. В структуре осложнений беременности имела место высокая частота анемии (11,1%, 19,1%), ранних и поздних гестозов (6,8%;33,6%) у матерей II и III подгрупп. У матерей III подгруппы отмечена также наиболее высокая частота угрозы прерывания беременности (55,5%). Большинство рожениц имели осложнения родового акта, как правило, сочетавшиеся между собой, что в совокупности привело к высокой частоте пособий и осложнений в родах в обследованных подгруппах, что определяло среднетяжелое состояние при рождении у 9,2% детей I подгруппы, средне-тяжелому и тяжелому у 82,7%, 3,1% детей II подгруппы и 77,4%, 17,3% пациентов III подгруппы соответственно.

При изучении структурных изменений головного мозга у обследованных новорожденных частота ишемических изменений у детей II и III подгруппы была выше, чем в I подгруппе. Изолированные ПИВК I степени, имели место во II подгруппе и у 3,7% и у 24,5% детей III подгруппы. Отмечена также тенденция к большей частоте встречаемости ПИВК II и III степени у детей III подгруппы (24,5%, 18,2%), ПИВК IV степени были диагностированы у 1,2% детей II подгруппы и у 9,1% детей III подгруппы. У пациентов III подгруппы выявляемые изменения были двусторонними в 31,8% наблюдениях и встречались с большей частотой по сравнению с детьми I и II подгрупп, где таковая составила 52,8%, 40,5% от числа детей с ПИВК, соответственно. Сочетанные изменения отмечены у 41,8% детей III подгруппы.

Анализ параметров церебральной гемодинамики у новорожденных с ЦГИП различной степени тяжести выявил, что значение IR у детей обследованных подгрупп в раннем неонатальном периоде не отличалось от аналогичных показателей контрольной группы с тенденцией к стойкому повышению указанного показателя, сопоставимое с тяжестью ЦГИП в динамике клинического наблюдения. Указанные изменения свидетельствовали в пользу вазоконстрикции резистивных сосудов мозга, способствующей развитию артериальной мозговой гипоперфузии и,



как следствие, ишемическом характере гемодинамических расстройств у наблюдаемого контингента детей.

При проведении ЭЭГ- исследования по мере нарастания тяжести ЦГИП увеличивалось число детей, имевших выраженные изменения корковой биоритмики с формированием стволовой пароксизмальной, генерализованной и фокальной активности. Интересен тот факт, что у новорожденных II подгруппы отмечена сопоставимая, а в ряде случаев, и более высокая частота дисфункционально-пароксизмальных изменений по сравнению с детьми III подгруппы, что свидетельствовало в пользу нестойкого характера обнаруженных нарушений в условиях склонности к повышенной эпилептизации головного мозга. Нейровизуализация церебральных структур выявила превалирование МРТ-признаков ограниченных анатомических дефектов церебральных структур, внутричерепных кровоизлияний и очагов демиелинизации у детей II и III подгрупп по сравнению с детьми I подгруппы.

Указанные инструментальные и морфологические изменения подтверждали несоответствие клинических проявлений церебральных расстройств их степени выраженности, диктуя целесообразность дальнейшего катамнестического наблюдения обследованного контингента детей.

С учетом широко изучаемой роли иммунной системы и активности иммунокомпетентных клеток в патогенезе нейродеструктивных процессов при гипоксически-ишемических поражениях ЦНС у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни проведено определение ряда иммунных изменений на системном уровне. При анализе популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови установлено статистически значимое увеличение относительного и абсолютного количества CD4+T-лимфоцитов в позднем неонатальном периоде у новорожденных с ЦГИП по сравнению с контрольной группой на фоне возрастания абсолютного и относительного количества CD8+ T-лимфоцитов периферической крови, достигающее статистически значимых отличий по абсолютным значениям в раннем и позднем неонатальном периодах у новорожденных с тяжелым ЦГИП по сравнению со здоровыми новорожденными в сочетании со снижением индекса иммунорегуляции (ИРИ) у указанного контингента детей. Выявлено повышение относительного и абсолютного количества CD19+ B-лимфоцитов и IgG у детей с ЦГИП различной степени тяжести по сравнению со здоровыми новорожденными, свидетельствовавшее в пользу активации гуморального звена иммунной системы у указанного контингента детей. При анализе функционального состояния клеток иммунной системы имело место однонаправленное статистически значимое увеличение количества активационных маркеров CD25+ и CD31+-лимфоцитов у новорожденных с ЦГИП различной степени тяжести. Таким образом, уже в периоде новорожденности у детей с тяжелыми неврологическими расстройствами выявлены тенденции преобладания цитотоксического звена иммунной системы, что может быть обусловлено тя-

жестью акушерской патологии у матерей обследованных детей. Так, известно, что тяжесть гестоза существенно влияет на субпопуляционный состав иммунокомпетентных клеток лимфоидного происхождения у новорожденных (Рогалева Т.Е., 2006).

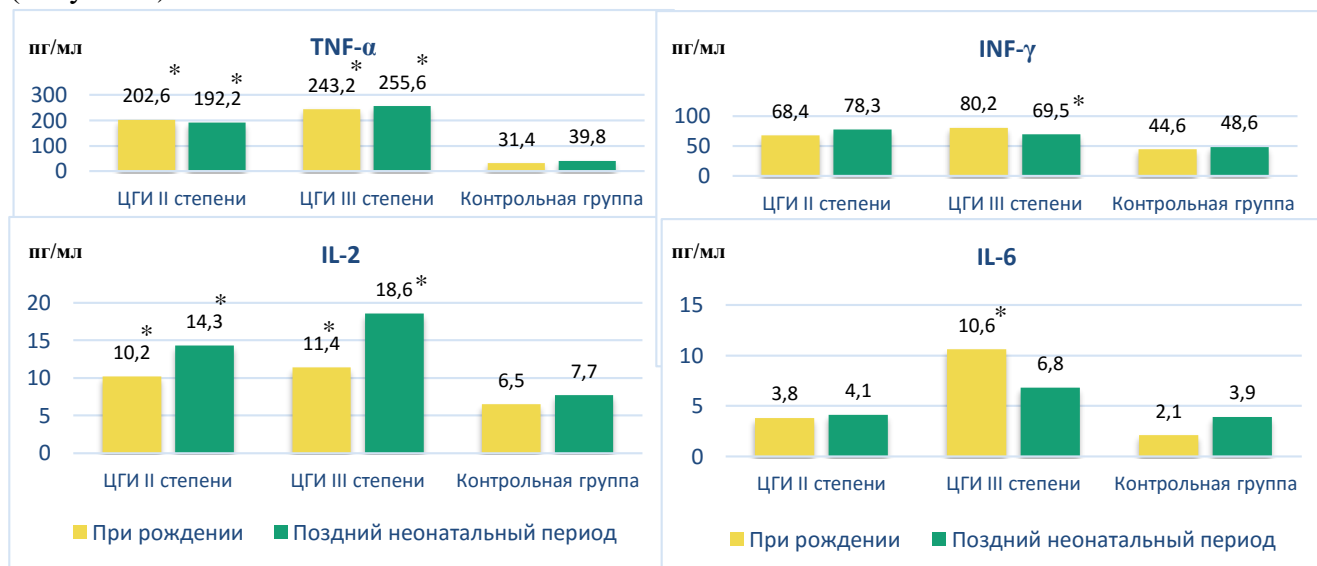
В этих условиях одним из важнейших свойств клеток иммунной системы является способность их к миграции, что позволяет им осуществлять функции иммунного надзора и иммунного повреждения. Основная роль в процессах миграции принадлежит молекулам адгезии, обеспечивающим механическое взаимодействие клеток друг с другом и «подтягивающим» их при движении к другим клеткам или по внеклеточному матриксу.

У новорожденных с ЦГИП II степени тяжести имело место статистически значимое повышение в позднем неонатальном периоде относительного количества CD54<sup>+</sup>-лимфоцитов ( $p=0,036$ ), в то время как у детей с ЦГИП III степени тяжести отмечены статистически значимые отличия абсолютных и относительных значений изучаемого параметра как при рождении, так и в позднем неонатальном периоде. При проведении корреляционного анализа в позднем неонатальном периоде выявлена прямая умеренная связь между уровнем экспрессии CD54<sup>+</sup> лимфоцитов периферической крови и интегральной оценкой тяжести неврологических нарушений у детей с ЦГИП II степени ( $R=0,69$ ,  $p=0,039$ ) и прямая тесная связь у детей с ЦГИП III степени ( $R=0,71$ ,  $p=0,028$ ), что отражало процессы нарушения целостности клеточных структур, формирующих ГЭБ уже в самые ранние этапы постнатального онтогенеза в сочетании с появлением неврологической симптоматики в этот период.

Учитывая важное значение процессов программируемой клеточной гибели в условиях активации иммунных реакций на фоне перинатальной патологии, определяющих течение и исход ЦГИП было проанализировано количество CD95<sup>+</sup> лимфоцитов у обследованного контингента детей, выявившее статистически значимое повышение их относительных и абсолютных значений в группе детей с ЦГИП II степени как при рождении, так и в позднем неонатальном периоде ( $p=0,024$ ,  $p=0,032$ ;  $p=0,039$ ,  $p=0,027$  соответственно) по сравнению с контрольной группой, что с одной стороны могло способствовать формированию очагов некроза мозговой ткани, но не исключало активацию механизмов сохранения клеточного баланса, сдерживания избыточного иммунного ответа, предупреждающих возникновение и ограничение церебральных дисфункций у новорожденных с церебральной гипоксией-ишемией различной степени тяжести (Албагачиева Д.Т., 2010).

Анализ содержания провоспалительных цитокинов сыворотки крови выявил повышение уровня TNF- $\alpha$ , IL-2 и INF- $\gamma$  как при рождении, так и в позднем неонатальном периоде у новорожденных с ЦГИП различной степени тяжести по сравнению с детьми контрольной группы, опре-

деляющее поляризацию иммунных реакций в сторону Th1 типа с избыточно выраженными системными и местными воспалительными реакциями в организме плода и новорожденного (Рисунок 3).



Примечание: \* -  $p < 0,05$ , достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой

### Рисунок 3 - Содержание провоспалительных цитокинов сыворотки крови у новорожденных с церебральной гипоксией-ишемией различной степени тяжести

При исследовании уровня противовоспалительных цитокинов отмечено статистически значимое снижение их сывороточных значений у новорожденных с ЦГИП различной степени тяжести по сравнению с контрольной группой, что свидетельствовало в пользу снижения протективно-компенсаторных иммунных реакций в механизмах формирования неврологических нарушений у новорожденных обследуемых групп.

Не исключено, что в совокупности выявленные изменения приводят к усилению клеточно-опосредованных иммунных реакций, предопределяющих повышение иммуноагрессивных и снижение протективного действия биологических медиаторов у новорожденных с ЦГИП.

При анализе уровня экспрессии рецепторов к цитокинам в периоде новорожденности выявлены разнонаправленные показатели в виде статистически значимого повышения относительного количества CD122+ и CD124+ лимфоцитов периферической крови в различные периоды постнатального онтогенеза у детей с ЦГИП II степени по сравнению с группой контроля, в то время как абсолютное и относительное количество CD 126+ лимфоцитов статистически значимо повышалось во все сроки наблюдений у детей с тяжелым ЦГИП, позволяя предположить, что в механизмах инициации неврологических нарушений уже в периоде новорожденности имеет место не только дисбаланс в системе цитокинов, но и изменение синтеза рецепторов к ним.

При оценке сывороточных значений различных маркеров повышенной проницаемости ГЭБ у детей с ЦГИП средней степени тяжести выявлено статистически значимое повышение

уровня ММП-3 при рождении и в позднем неонатальном периоде ( $p=0,031$ ,  $p=0,027$ ), в то время как при ЦГИП тяжелой степени имело место статистически значимое повышение уровня sICAM-1 в пуповинной крови и в позднем неонатальном периоде ( $p=0,027$ ,  $p=0,031$ ) по сравнению со здоровыми новорожденными, свидетельствующее в пользу сохранения нарушения проницаемости клеточных и стромальных структур, формирующих ГЭБ уже на самых ранних этапах постнатального онтогенеза в условиях церебральной гипоксии-ишемии, предопределяющие возникновение и поддержание активации иммунных реакций в ЦНС.

В настоящее время большой научно-практический интерес представляет изучение компенсаторных механизмов, влияющих на течение и исходы гипоксии мозга у детей, в частности определение состояния системы трофической его защиты при гипоксических поражениях в неонатальном периоде. В экспериментальных работах показано, что именно баланс в системе трофических и ростовых факторов обеспечивает сохранение ткани мозга в критические периоды, предохраняя ее от повреждающего действия деструктивных агентов (Котий С.В., 2006; Berton O. et al., 2006; Adachi M. et al., 2008).

Снижение уровня BDNF в динамике клинического наблюдения у новорожденных с ЦГИ различной степени тяжести по сравнению с контрольной группой и установленная корреляционным анализом обратная заметная достоверная связь между уровнем BDNF и ММП-3 ( $R=-0,51$ ,  $p=0,039$ ;  $R=-0,54$ ,  $p=0,041$  соответственно) свидетельствовали в пользу зависимости дефицита нейротрофического обеспечения от нарушений целостности ГЭБ с самых ранних этапов постнатального онтогенеза у обследованного контингента детей.

Анализ уровня антител к изучаемым антигенам миелиновой оболочки (ОБМ и MAG) выявил статистически значимое ( $p=0,034$ ) повышение количества АТ к ОБМ на фоне тенденции к повышению АТ к MAG у детей с ЦГИП тяжелой степени как при рождении, так и в более поздний период постнатального онтогенеза по сравнению с контрольной группой.

Результаты корреляционного анализа в позднем неонатальном периоде выявившие прямую заметную достоверную связь между сывороточными значениями TNF- $\alpha$  и уровнем sICAM-1 ( $R=0,61$ ,  $p=0,034$ ), обратную заметную достоверную связь между TNF- $\alpha$  уровнем BDNF и АТ к MAG и ( $R=-0,51$ ,  $p=0,023$ ;  $R=-0,53$ ,  $p=0,022$  соответственно) у новорожденных с церебральной гипоксией-ишемией различной степени тяжести позволили предположить активацию различных звеньев иммунной системы с превалированием клеточно-опосредованных и аутоиммунных реакций, маркеров повышенной проницаемости ГЭБ, мессенджеров межклеточного иммунного реагирования провоспалительной направленности и дефицита нейротрофического обеспечения уже при рождении и в ранние периоды постнатального онтогенеза с запуском механизмов хро-

нического прогрессирующего патологического процесса в ЦНС в условиях предшествующей активации клеток иммунной системы материнского и плодового происхождения и сенсibilизации иммунной системы к нейроспецифическим белкам еще антенатально.

На основании метода логистической регрессии была рассчитана чувствительность и специфичность для иммунологических маркеров, имеющих достоверные различия в нашем исследовании. Была установлена оптимальная точка CutOff, которая позволила рассчитать ПЦП и ПЦО для каждого теста. Для проведения контроля полученных результатов использовался метод ROC-Lines. Таким образом, используя полученные данные, можно прогнозировать возникновение церебральных нарушений у новорожденных из группы высокого перинатального риска с достаточно высокой степенью вероятности (Рисунок 4).

### Новорождённые от женщин с отягощённым акушерско-гинекологическим анамнезом



**Рисунок 4 - Алгоритм прогнозирования возникновения неврологических нарушений у новорожденных обследованных групп**

По результатам проведенных исследований нами были получены несколько патентов на изобретения: «Способ прогнозирования нарушений ЦНС у новорожденных из группы перинатального риска (Патент №2276365)», «Способ прогнозирования церебральных нарушений у новорожденных от матерей из группы высокого перинатального риска» и «Способ прогнозирования течения церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС у детей раннего возраста» (Патент №2487360).

При проспективном динамическом контроле у детей раннего возраста в зависимости от различной степени тяжести выявлено, что у детей с ПЦГИ I-II степени тяжести чаще отмечены

симптомы гипервозбудимости и недостаточности вегетативного обеспечения (56,7% и 66,7% соответственно), а у детей с ПЦГИ II-III степени тяжести, наряду с высокой частотой встречаемости указанных церебральных нарушений (76,8% и 79,7%) регистрировались высокие показатели тяжелых форм нарушения моторного развития и симптоматической эпилепсии (35,4% и 45,5% соответственно).

Выявлено, что при изучении особенностей НСГ у детей с ПЦГИ различной степени тяжести характер выявляемых структурных изменений значимо ассоциировался с тяжестью перенесенной ЦГИ. Морфология структурно-ишемических изменений головного мозга ассоциировалась с интегральной тяжестью перенесенной ЦГИ ( $R=0,69$ ,  $p=0,037$ ). Двухсторонний характер и частота встречаемости ишемически-геморрагических (нетравматических) и псевдокистозных изменений церебральных структур чаще наблюдались в группе детей с ПЦГИ II-III степени тяжести ( $p=0,029$ ).

Интересен анализ взаимосвязи динамической трансформации НСГ-картины и степени тяжести церебрального поражения (по данным комплексного обследования). Выявлено, что у детей с ПЦГИ I-II степени тяжести в 90,1% наблюдений НСГ-картина на протяжении всего периода наблюдения была стабильна. У 1,9% детей в динамике отмечено появление ПИВК I степени или начальной/умеренной вентрикуломегалии. Отрицательная динамика НСГ картины отмечалась у 68,9% детей с ПЦГИ II-III степени. При ишемических и смешанных поражениях указанные изменения характеризовались образованием кист перивентрикулярной области и/или развитием сообщающейся гидроцефалии с расширением субарахноидальных пространств за счет атрофических процессов. Частота формирования постишемических кист также была сопоставима с интегральной тяжестью церебрального поражения ( $R=0,72$ ,  $p=0,035$ ).

Исследование паттернов ЭЭГ-кривой установило, что по мере возрастания степени тяжести церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС возрастало число детей со значительно выраженными диффузными изменениями биоэлектрической активности головного мозга с превалированием резидуально-органического характера нарушений. Анализ результатов РКТ и МРТ головного мозга у детей с ПЦГИ различной степени тяжести в 70,8% случаев выявил грубые структурные нарушения в виде мультикистозной лейко-и /или перивентрикулярной лейкомаляции, глиоза и атрофических изменений коры головного мозга, что соответствовало тяжести клинической картины поражения ЦНС.

При анализе клинических проявлений неврологических расстройств у детей обследованных групп за пределами неонатального периода имело место нарастание степени тяжести формирования двигательных нарушений, вплоть до формирования ДЦП с подавляющим преобладанием спастической диплегии (56,2%) и гемипаретических форм (20,2%) в его структуре. Аналогичные тенденции отмечены и при оценке параметров ментального и моторного развития по

шкале Н. Бейли, выявившие их существенную взаимосвязь с тяжестью перенесенной ЦГИ. Количество детей с соответствующим возрасту уровнем психомоторного и речевого развития отмечалась с большей частотой среди пациентов с ПЦГИ I-II степени ( $p=0,038$ ), а задержка психо-речевого и стато-моторного развития была закономерно выше у детей с ПЦГИ II-III степени ( $p=0,029$ ).

При учете характера и формы припадков в зависимости от возраста их дебюта имело место более позднее возникновение фокальных приступов по сравнению с генерализованными, преобладание сложных парциальных приступов и приступов с вторичной генерализацией на фоне высокой частоты тонико-клонических и сочетанных типов судорожных приступов.

Анализ клинических симптомов у детей с сообщающейся гидроцефалией выявил очаговые неврологические нарушения различной степени тяжести, встречавшиеся в определенных сочетаниях, зависящих от степени выраженности дилатации ликворных пространств. Отмечено превалирование частоты встречаемости признаков стато-моторной дисфункции над нарушением функции глазодвигательных нервов и специфическим изменениями глазного дна.

**При изучении иммунологических параметров у детей с ПЦГИ I-II степени тяжести (I подгруппа)** выявлено прогрессивное повышение относительного количества CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов в 1-м полугодии 1-го года жизни у детей с ЦГИП и достоверное повышение относительного количества натуральных киллеров (CD16+) в 1-3 и 3-6 месяцев жизни ( $p=0,024$ ,  $p=0,037$ ) у детей I подгруппы по сравнению с контрольной. При изучении показателей В-клеточного звена иммунной системы со 2-го полугодия 1-го года жизни имело место статистически значимое повышение относительного количества CD19+-лимфоцитов, сочетавшиеся с тенденцией к увеличению IgG у детей с I подгруппы по сравнению с контрольной группой.

Анализ функционального состояния клеток иммунной системы установил статистически значимое повышение у детей I подгруппы по сравнению с контрольной в возрасте 1-3 и 3-6 месяцев жизни ( $p=0,039$ ,  $p=0,044$ ) относительного количества CD25+ маркеров ранней активации лимфоцитов. Анализ количества лимфоцитов, экспрессирующих молекулу CD31+, участвующую в активации Т-клеточного звена иммунных реакций, позволил установить статистически значимое повышение их относительного количества у детей I подгруппы по сравнению с группой контроля в 1-м полугодии жизни 1-го года жизни, что могло свидетельствовать не только в пользу сохранения альтернативного пути дифференцировки Т-лимфоцитов, но и нарушения механизмов поддержания целостности ГЭБ у детей обследованных групп.

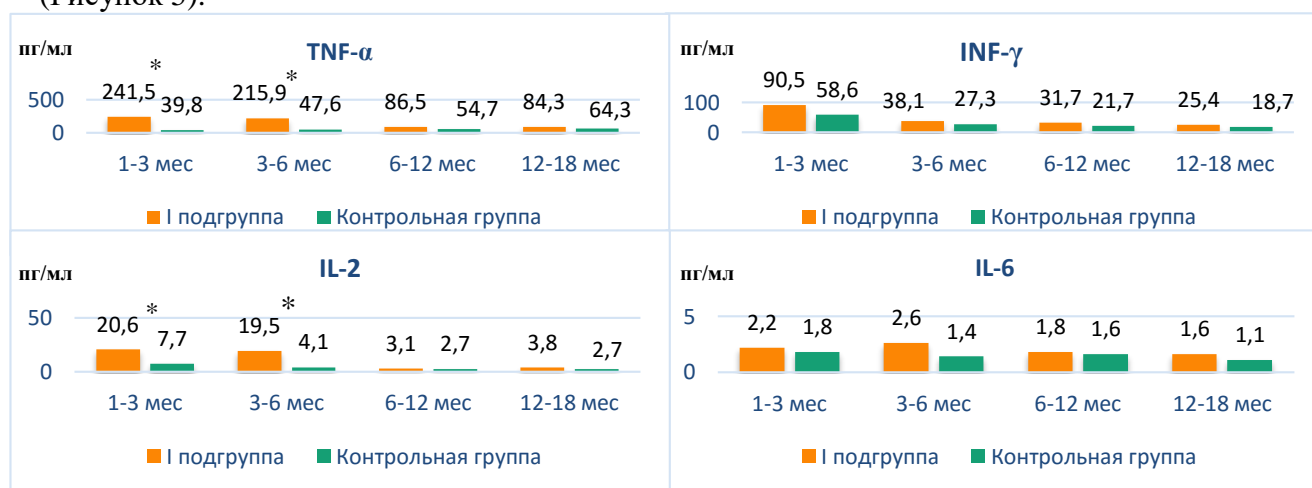
При изучении нейрохимических аспектов патогенеза гипоксического поражения головного мозга у детей раннего возраста определено, что перинатальная гипоксия инициирует процессы, приводящие к повышению проницаемости клеточных мембран, гибели нейронов и гли-

альных клеток, при этом одними из индуцирующих факторов этих изменений являются молекулы клеточной адгезии (Медведев М.И. и соавт., 2011; Тумаева Т.С. и соавт., 2014; Kaijser M., 2008).

В пользу вероятности нарушения целостности ГЭБ у детей данной подгруппы свидетельствовало статистически значимое увеличение относительного и абсолютного количества лимфоцитов, экспрессирующих молекулу межклеточной адгезии CD54+ (ICAM-1) в 1-3 месяца ( $p=0,025$ ,  $p=0,041$ ) и относительного их количества в возрасте 3-6 месяцев жизни ( $p=0,028$ ) с последующим снижением к 1,5 годам жизни по сравнению с детьми контрольной группы, что подтверждало процессы нарушения проницаемости ГЭБ, определяющего степень неврологического дефицита и динамику клинической симптоматики у наблюдаемого контингента детей в эти периоды. Не исключено, что сочетанная повышенной экспрессия CD31+ и молекул межклеточной адгезии CD54+ происходит под влиянием активации цитокинов провоспалительной направленности (IL-2, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ ), влияющих на появление и тяжесть неврологических нарушений у обследованных детей.

При анализе содержания медиаторов межклеточного взаимодействия у детей с ПЦГИ I-II степени выявлено статистически значимое повышение уровня цитокинов провоспалительной направленности TNF- $\alpha$ , IL-2 сыворотки крови в 1-3 месяцев ( $p=0,024$ ,  $p=0,035$ ) и 3-6 месяцев жизни ( $p=0,025$ ,  $p=0,033$ ) по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы, в то время как при исследовании уровня INF- $\gamma$  и IL-6 отмечена тенденция к повышению их сывороточных значений во все периоды наблюдения с максимальными показателями в 1-м полугодии 1-го года жизни, что отражало активацию иммунной системы в условиях перенесенной церебральной гипоксии-ишемии, имеющие свою пролонгацию в постнатальном онтогенезе.

(Рисунок 5).



Примечание: \* -  $p < 0,05$ , достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой

**Рисунок 5 - Уровень провоспалительных цитокинов сыворотки крови у детей с последствиями церебральной гипоксии-ишемии I-II степени тяжести**

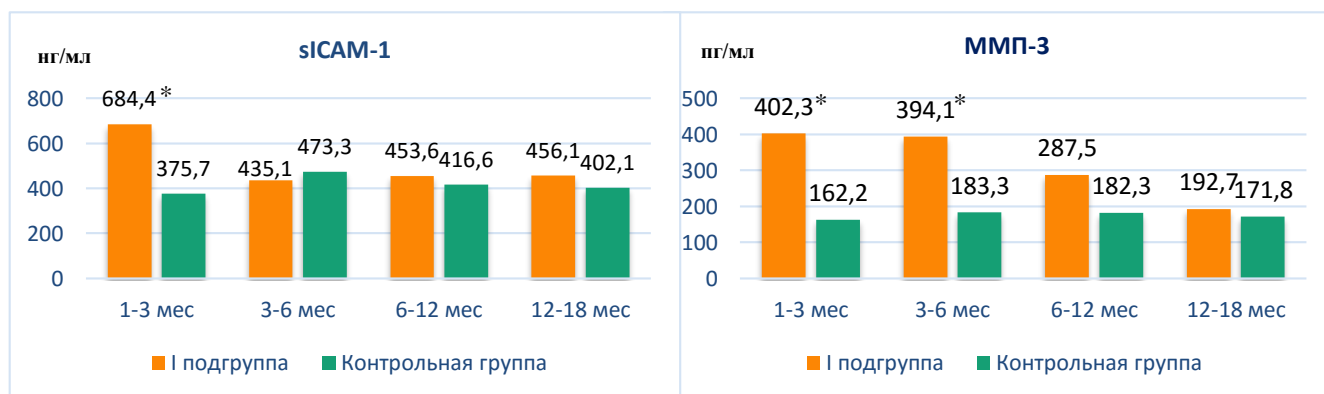


При изучении количества цитокинов противовоспалительной направленности отмечено статистически значимое повышение уровня IL-4 сыворотки крови в 3-6 и 6-12 месяцев жизни ( $p=0,023$ ,  $p=0,042$ ) и IL-10 в 3-6 месяцев ( $p=0,033$ ) у детей I подгруппы по сравнению с контрольной группой. Указанное обстоятельство позволяет предположить ослабление противовоспалительной активности клеток иммунной системы в дебюте неврологических нарушений в 1-м триместре жизни у указанного контингента детей.

При изучении уровня экспрессии рецепторов к IL-2 (CD122+) на поверхности лимфоцитов выявлено статистически значимое повышение их относительного количества в 1-3 и 3-6 месяцев жизни у детей I подгруппы по сравнению с контрольной ( $p=0,042$ ,  $p=0,022$ ) на фоне разнонаправленного характера колебаний количества лимфоцитов, экспрессирующих CD124+ и CD126+ рецепторы по сравнению с группой контроля.

В результате проведенных исследований установлено, что уровень сывороточных значений sICAM-1 у детей I подгруппы статистически значимо превышал аналогичные значения контрольной группы лишь в возрасте 1-3 месяцев жизни ( $p=0,022$ ). При дальнейшем динамическом клиническом контроле со 2-го триместра 1-го года жизни происходило снижение уровня указанного параметра в декретированные сроки наблюдения.

При исследовании других растворимых маркеров повышенной проницаемости ГЭБ уже на первом году жизни сохраняются высокие показатели сывороточных значений ММП-3, достигающие статистически значимых отличий в возрасте 1-3 и 3-6 месяцев жизни ( $p=0,022$ ,  $p=0,036$ ) у детей I подгруппы по сравнению с контрольной (Рисунок 6).



Примечание: \* -  $p < 0,05$ , достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой

#### Рисунок 6 - Уровень маркеров проницаемости гемато-энцефалического барьера у детей с последствиями церебральной гипоксии-ишемии I-II степени тяжести

При изучении уровня нейротрофического обеспечения (BDNF) сыворотки крови выявлена устойчивая тенденция к его нарастанию с достоверными отличиями в возрасте 3-6 и 6-12 месяцев жизни у детей I подгруппы по сравнению с контрольной ( $p=0,041$ ,  $p=0,029$  соответственно).

Известно, что у детей, перенесших перинатальное поражение ЦНС, развиваются аутоиммунные реакции с образованием аутоантител к различным структурам головного мозга и антигенам миелиновой оболочки, сопровождающиеся более выраженной задержкой всех видов развития ребенка.

При исследовании уровня нейроспецифических аутоантител различной антигенной направленности выявлено прогрессивное нарастание их значений со статистически значимыми отличиями у детей I подгруппы по сравнению с группой контроля в 6-12 месяцев и к 1,5 годам жизни. Анализ корреляционных зависимостей позволил установить наличие прямой заметной связи в возрасте 6-12 месяцев и 1,5 лет жизни между уровнем АТ к ОБМ и АТ к МАG ( $R=0,51$ ,  $p=0,048$ ,  $R=0,53$ ,  $p=0,042$  соответственно), что свидетельствовало об однонаправленности аутоиммунных реакций к основным антигенным детерминантам миелина у детей обследуемых групп. Также выявлена прямая заметная достоверная связь между относительным количеством CD19+ В-лимфоцитов периферической крови и уровнем АТ к МАG на 1-м году жизни, свидетельствовавшая в пользу активации гуморальных иммунных реакций демиелинизирующей направленности в обследованной подгруппе детей.

Результаты исследований последних лет показали существенную роль в патогенезе ДЦП нейроиммунного конфликта в системе мать-плод, приводящего к нарушению развития как ЦНС, так и иммунокомпетентной системы плода, основополагающим звеном которых являются процессы демиелинизации нервных волокон и иммунного цитолитического эффекта в нейрональных структурах головного мозга (Кафанова М.Ю., 2006). Отмечено, что у детей, страдающих ДЦП, выявляются все компоненты иммунного воспаления, вероятно начавшиеся анте- и продолжающиеся постнатально в течение месяцев и лет, обладая свойствами саморазвития (Савельева Н.Н., 2011).

**При исследовании параметров иммунного статуса у детей с тяжелыми формами нарушений моторного развития (IIa подгруппа)** выявлено статистически значимое нарастание абсолютного и относительного количества CD4+ и CD16+ Т-лимфоцитов в 3-6 и 6-12 месяцев жизни по сравнению со здоровыми детьми аналогичного возраста. Вместе с тем, относительное количество CD8+ Т-лимфоцитов превышало аналогичные показатели контрольной группы в 1-м полугодии жизни 1-го года жизни с последующим их снижением по сравнению с группой контроля до конца периода наблюдения. Выявленные количественные изменения отражали дисбаланс иммунорегуляторных субпопуляций в сторону увеличения CD4+ лимфоцитов у детей с двигательными расстройствами на фоне наиболее интенсивного формирования неврологического дефицита. Анализ гуморального звена иммунной системы выявил отчетливую тенденцию к повышению относительного и абсолютного содержания CD19+В- клеток у детей IIa подгруппы по сравнению с контрольной на фоне статистически значимого нарастания IgG сыворотки крови в

возрасте 3-6 и 6-12 месяцев жизни ( $p=0,025$ ,  $p=0,029$ ). По нашему мнению, указанные обстоятельства могут отражать процессы активации гуморального звена иммунной системы в указанной подгруппе.

При оценке функционального состояния клеток иммунной системы выявлено, что у детей с тяжелыми формами нарушений моторного развития по сравнению с контрольной группой в течении всего периода наблюдения отмечалось устойчивое статистически значимое повышение относительного и абсолютного содержания лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности маркеры активации CD25+ и CD54+ ( $R=0,68$ ,  $p=0,044$ ). Определение количества лимфоцитов, экспрессирующих CD31+ маркер клеточной дифференцировки, позволил установить аналогичные тенденции в виде статистически значимого повышения их абсолютного и относительного количества у детей IIa подгруппы по сравнению с показателями контрольной группы в возрасте 1-3 и 3-6 месяцев жизни с последующим статистически достоверным их снижением по относительным значениям к 1,5 годам жизни.

При проведении корреляционного анализа у детей IIa подгруппы в 1-3 месяца жизни выявлена однонаправленная достоверная заметная связь между CD31+ и CD54+ (ICAM-1) ( $R=0,61$ ,  $p=0,037$ ), аналогичные данные были получены в возрасте 3-6 месяцев между уровнем экспрессии CD25+ и CD54+ лимфоцитов ( $R=0,68$ ,  $p=0,044$ ), а также между уровнем экспрессии CD25+ в возрасте 3-6 месяцев ( $R=0,55$ ,  $p=0,033$ ) и CD54+ в 6-12 месяцев жизни ( $R=0,58$ ,  $p=0,041$ ) и тяжестью неврологического дефицита. Вероятно, что однонаправленность действия указанных параметров поддерживает определенную активность иммунных реакций и иммунноопосредованного воспаления, совпадающих со сроками формирования и степенью выраженности неврологического дефицита в обследованных группах детей.

Анализ количества лимфоцитов, экспрессирующих CD95+ маркер поздней активации выявил статистически значимое его повышение в возрасте 12-18 месяцев жизни ( $p=0,039$ ) у детей с тяжелыми формами нарушений моторного развития по сравнению с контрольной группой. Возможно, что снижение процессов элиминации аутореактивных клонов Т-лимфоцитов ведет к пролонгированному течению вторичных иммунных реакций, обеспечивая лонгитудинальную иммунную агрессию, приводящую к формированию органических церебральных расстройств.

Отмечено статистически значимое увеличение TNF- $\alpha$  и IL-2 у детей IIa подгруппы по сравнению с контрольной во все периоды наблюдения. При этом уровень INF- $\gamma$  статистически значимо превышал аналогичные параметры контрольной группы в возрасте 6-12 и 12-18 месяцев жизни ( $p=0,024$ ,  $p=0,041$ ) (Рисунок 7).



Примечание: \* -  $p < 0,05$ , достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой

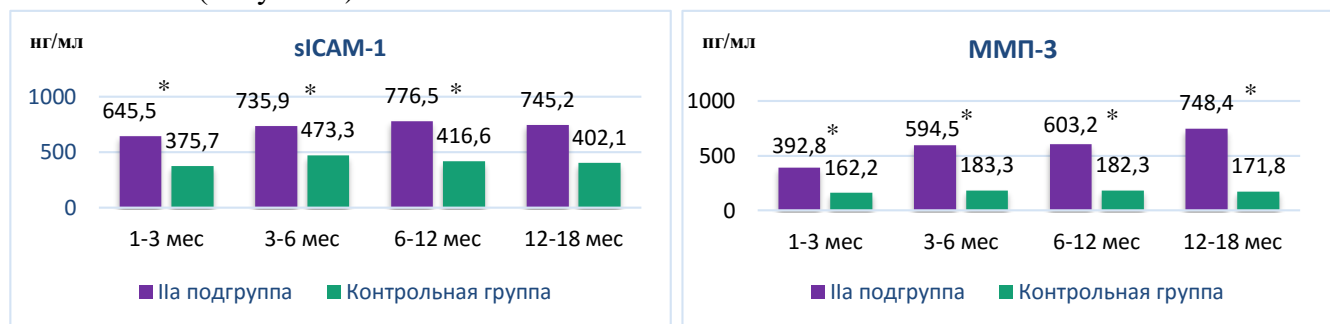
### Рисунок 7- Уровень противовоспалительных цитокинов у детей с тяжелыми формами нарушений моторного развития

Исследование содержания IL-4 и IL-10 сыворотки крови выявил существенное снижение их количества у детей IIa подгруппы по сравнению с контрольной, достигающее статистически значимых отличий в течении всего периода наблюдения.

По результатам проведенных исследований впервые было установлено, что определение в сыворотке крови у новорожденных и детей первых 3 месяцев жизни уровня интерлейкинов (IL-2, IL-4, IL-6, TNF-α, INF-γ), как маркеров поляризации иммунного ответа по Th-1 или Th-2 иммуноопосредованному типу может служить надежным диагностическим способом прогнозирования ДЦП к 1-му году жизни ребенка (Патент №2540514). Применение предлагаемого способа в клинической практике позволит своевременно определить группы риска по формированию инвалидизирующих нарушений у указанного контингента детей с целью проведения им своевременных лечебно-реабилитационных мероприятий.

Известно, что в механизмах формирования различного рода двигательных расстройств ведущая роль отводится запуску пролонгированной аутоиммунной агрессии в условиях нарушения целостности ГЭБ за счет экспрессии на его поверхности молекул межклеточной адгезии CD 54+ (ICAM-1) и активного проникновения в ткань мозга Т-лимфоцитов, сенсibilизированных к антигенам миелина. Т-лимфоциты прикрепляются к эндотелиальной выстилке сосудов, формирующих ГЭБ, и секретируют ферменты, в частности ММП-3, обеспечивающую их дальнейшее проникновение в ЦНС, конечным итогом которой является иммуновоспалительная демиелинизация с олигодендропатией. При проведении наших исследований выявлено статистически значимое повышение уровня сывороточных значений sICAM-1 у детей IIa подгруппы по сравнению с кон-

тролем ( $p=0,035$ ,  $p=0,031$ ,  $p=0,026$  соответственно) на 1-м году жизни с аналогичными тенденциями и при анализе количества ММП-3 у детей с различными формами двигательных нарушений по сравнению с контрольной группой в декретированные сроки наблюдения. Данное обстоятельство могло способствовать длительному нарушению целостности соединительнотканых структур, формирующих ГЭБ, поддерживая активации иммунной системы и нейроиммунного воспаления. (Рисунок 8).



Примечание: \* -  $p < 0,05$ , достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой

### Рисунок 8 - Уровень маркеров проницаемости гематоэнцефалического барьера у детей с тяжелыми формами нарушений моторного развития

Оценка нейротрофического обеспечения у детей с двигательными расстройствами выявила статистически значимое повышение уровня BDNF в возрасте 1,5 лет жизни у детей IIa подгруппы по сравнению с контрольной ( $p=0,038$ ). При этом при анализе корреляционных зависимостей обнаружена обратная заметная достоверная связь между интегральной степенью выраженности нарушений моторного развития и уровнем BDNF ( $R=-0,68$ ,  $p=0,033$ ). Полученные результаты свидетельствовали в пользу развертывания компенсаторных иммунотрофических реакций, не достигавших, однако, необходимого уровня, позволяющего предотвратить формирование устойчивой инвалидизации двигательных функций у указанного контингента детей.

Изучение специфических маркеров аутоиммунного процесса (АТ к ОБМ и АТ к МАГ) выявило отчетливую тенденцию к прогрессивному нарастанию указанных параметров у детей IIa подгруппы по сравнению с контрольной. При этом наиболее высокие значения АТ к ОБМ отмечались со 2-го полугодия жизни и до конца периода наблюдений. Обнаруженное обстоятельство свидетельствует не только в пользу нарастающего течения аутоиммунного процесса, но и о демиелинизирующей его направленности.

Корреляционный анализ обнаружил у детей с тяжелыми формами нарушений моторного развития в 3-6 и 6-12 месяцев жизни прямые заметные достоверные связи между относительным содержанием CD19+ лимфоцитов и уровнем АТ к МАГ сыворотки крови ( $R=0,56$ ,  $p=0,041$ ,  $R=0,62$ ,  $p=0,024$ ), позволяющие предположить сохранение активности гуморальных иммунных

реакций с хронизацией нейродегенеративного процесса с элементами демиелинизации и иммунного воспаления.

На основании метода логистической регрессии была рассчитана чувствительность и специфичность для иммунологических маркеров, имеющих достоверные различия в нашем исследовании. Наиболее высокая чувствительность и специфичность выявлена для TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  и АТ к МАG. Были определены точки CutOff, позволяющие прогнозировать высокий риск развития тяжелых форм нарушений моторного развития у детей раннего возраста и предложить алгоритм диагностики указанных нарушений (Рисунок 9).

### Дети 1-3 месяцев жизни от женщин с отягощённым акушерско-гинекологическим анамнезом



**Рисунок 9 - Алгоритм прогнозирования возникновения тяжелых форм нарушения моторного развития**

За последние десятилетия накоплены многочисленные данные, свидетельствующие о взаимосвязи эпилепсии с иммунологической дезорганизацией. Изучение иммунного статуса больных эпилепсией выявило наличие изменений в различных звеньях иммунной системы, что позволило отнести этот вид патологии в группу иммунозависимых заболеваний, для которых характерно прогрессирующее течение. Существует мнение о возможной взаимосвязи органических изменений головного мозга и нарушением иммунного гомеостаза, дисбаланс которого причастен к интимным процессам эпилептогенеза (Сепиашвили Р.И., 2003, Липатова Л.В., 2010, Крыжановская С.В. и соавт., 2014).

При оценке параметров иммунного статуса у детей с фармакологически неконтролируемой симптоматической эпилепсией (Пб-1 подгруппа) отмечено прогрессирующее повышение на 1-м году жизни относительного и абсолютного количества лимфоцитов, обладающих

хелперно-индукторными свойствами и снижение абсолютного и относительного количества цитотоксических лимфоцитов CD8+ на 1-м году жизни у детей Пб-1 подгруппы по сравнению с контрольной. Указанные изменения сопровождались повышением ИРИ в группе детей с симптоматической эпилепсией по сравнению со здоровыми детьми за весь период наблюдения, что явилось отражением не только дисбаланса субпопуляционного состава Т-лимфоцитов в сторону преобладания хелперно-индукторного потенциала над цитотоксическим, но и активацией процесса «антиген-антитело». При оценке уровня натуральных киллеров CD16+ отмечено статистически значимое нарастание относительного их количества у детей Пб-1 подгруппы по сравнению с контрольной в возрасте 6-12 ( $p=0,029$ ) и 12-18 ( $p=0,035$ ) месяцев жизни, что могло подтверждать активацию аутоиммунных реакций у указанного контингента детей. Также имело место статистически значимое повышение абсолютного и относительного количества В-лимфоцитов ( $p=0,034$ ,  $p=0,029$ ) в возрасте 1,5 лет жизни и уровня IgG в 6-12 и 12-18 месяцев жизни ( $p=0,041$ ,  $p=0,039$ ) у детей Пб-1 подгруппы по сравнению с контрольной, что свидетельствовало в пользу активации гуморального звена иммунной системы и аутоиммунных реакций при рецидивирующем характере судорожных приступов в условиях длительной нейроантигенной стимуляции у указанного контингента детей.

При исследовании **параметров иммунного статуса у детей с фармакологически контролируемой симптоматической эпилепсией (Пб-2 подгруппа)** имело место прогрессивное снижение на 1-м году жизни относительного и абсолютного количества лимфоцитов, обладающих хелперно-индукторными свойствами и относительного количества цитотоксических лимфоцитов CD8+ у детей Пб-2 подгруппы по сравнению с контрольной. Изучение уровня натуральных киллеров CD16+ обнаружило статистически значимое снижение их относительных показателей в возрасте 6-12 ( $p=0,039$ ) и 12-18 месяцев жизни ( $p=0,029$ ) у детей Пб-2 подгруппы по сравнению с контрольной, что не исключало сохранения цитолитического потенциала иммунокомпетентных клеток у изучаемого контингента детей. Аналогичные тенденции выявлены со 2-го полугодия 1-го года жизни и при оценке относительного и абсолютного количества В-лимфоцитов и сывороточных значений IgG у детей основной группы, свидетельствовавшее в пользу сохранения активации гуморального звена иммунной системы и процессов антителогенеза при успешном фармакологическом контроле эпилептических пароксизмов.

При изучении функциональной активности лимфоцитов периферической крови у **детей с фармакологически неконтролируемой симптоматической эпилепсией (Пб-1 подгруппа)** выявлена отчетливая тенденция к прогрессивному повышению относительного количества CD25+ CD54+ лимфоцитов у детей Пб-1 подгруппы по сравнению с контрольной, достигающая статистически значимых отличий во все сроки наблюдений. Анализ корреляционных зависимостей позволил установить прямую тесную достоверную связь между уровнем экспрессии CD25+ и

CD54+лимфоцитов в возрасте 3-6 и 6-12 месяцев жизни ( $R=0,75$ ,  $p=0,029$ ,  $R=0,72$ ,  $p=0,039$  соответственно), что свидетельствовало в пользу устойчиво сохраняющегося повышения проницаемости ГЭБ в условиях массивной забарьерной антигенной стимуляции и активации иммунных реакций что, возможно, являлось предиктором учащения или фармакорезистентности судорожных приступов у изучаемого контингента детей.

При изучении функциональной активности лимфоцитов периферической крови у **детей с фармакологически контролируемой симптоматической эпилепсией (Пб-2 подгруппа)** выявлено статистически значимое ( $p=0,041$ ,  $p=0,034$ ) повышение относительного и абсолютного количества CD25+лимфоцитов в возрасте 1,5 лет жизни по сравнению с контрольной и статистически значимое повышение относительных и абсолютных значений CD31+ лимфоцитов в 1-м триместре 1-го года жизни ( $p=0,034$ ,  $p=0,026$ ) с последующим постепенным их снижением к концу периода наблюдения. При анализе экспрессии CD54+лимфоцитов периферической крови обнаружено статистически значимое их повышение в возрасте 1,5 лет жизни по относительным и абсолютным значениям ( $p=0,029$ ,  $p=0,045$ ) у детей Пб-2 подгруппы по сравнению с контрольной, что свидетельствовало в пользу повышенной проницаемости ГЭБ в условиях забарьерной антигенной стимуляции и активации иммунных реакций, даже при устойчивом фармакологическом контроле судорожных приступов у изучаемого контингента детей. Уровень экспрессии лимфоцитами маркера готовности к апоптозу CD95+ имел тенденцию к росту с достоверным отличием к концу 1-го года жизни у детей Пб-2 подгруппы, свидетельствующее в пользу активного регулирования элиминационных процессов аутореактивных Т-лимфоцитов на фоне терапии антиконвульсантами.

При оценке параметров иммунного статуса у **детей с фармакологически неконтролируемой симптоматической эпилепсией (Пб-1 подгруппа)** выявлено статистически значимое одностороннее повышение уровня TNF- $\alpha$  и IL-6 по сравнению с группой контроля в динамике клинического наблюдения. Обращало на себя внимание статистически значимое увеличение сывороточных концентраций INF- $\gamma$  в возрасте 6-12 и 12-18 месяцев жизни ( $p=0,0035$ ,  $p=0,041$  соответственно) в обследованной группе детей. Анализ уровня IL-4, IL-10 сыворотки крови со 2-го полугодия 1-го года жизни и до конца периода наблюдения выявил статистически значимое снижение изучаемых параметров у детей Пб-1 подгруппы по сравнению с контрольной.

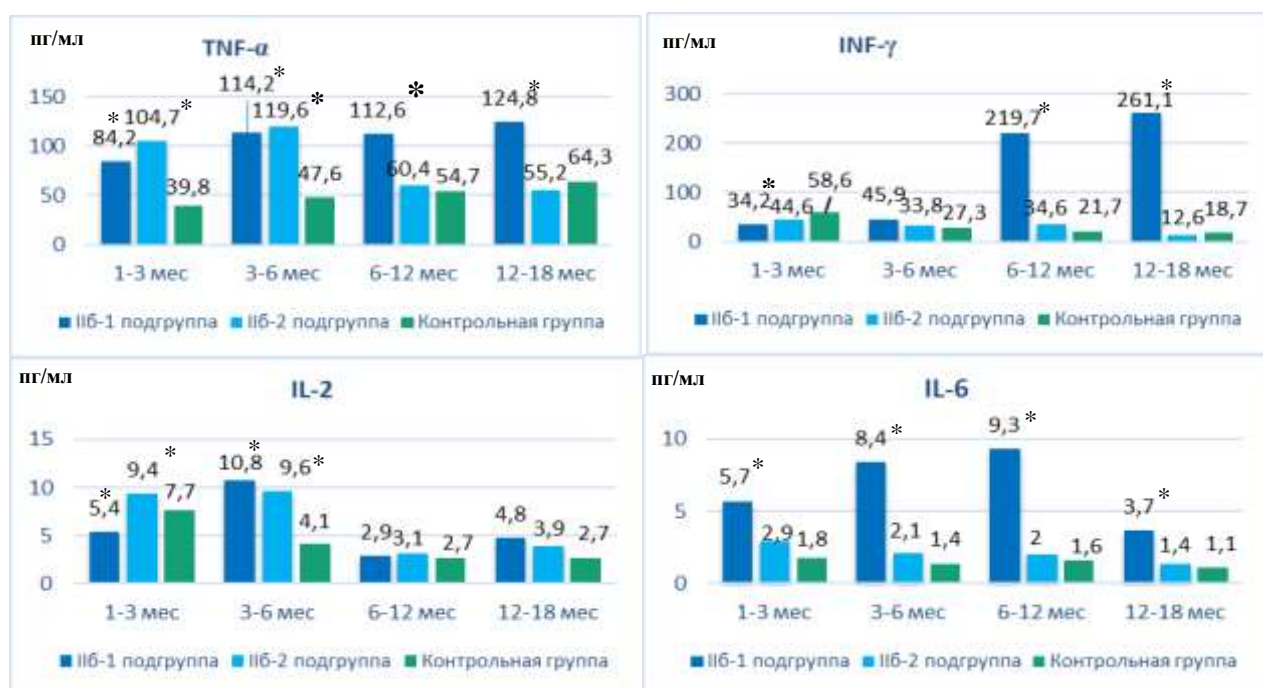
Можно предположить, что пароксизмальные расстройства различного генеза у изучаемого контингента детей обусловлены не только цитотоксической активностью аутореактивных клонов Т-лимфоцитов, но и прямым повреждающим действием провоспалительных мессенжеров иммунных реакций. В этих условиях анализ корреляционных зависимостей выявил в возрасте 3-6 и 6-12 месяцев жизни обратную тесную достоверную связь между TNF- $\alpha$  и IL-4 сыворотки



крови ( $R=0,72$ ,  $p=0,039$ ,  $R=-0,54$ ,  $p=0,035$ ) и обратную заметную достоверную связь между TNF- $\alpha$  и IL-10 в возрасте 6-12 месяцев жизни ( $R=-0,64$ ,  $p=0,025$ ).

Обнаруженная динамика сывороточных значений цитокинов противовоспалительной направленности у детей Пб-1 подгруппы на фоне неполного фармакологического контроля над частотой судорожных приступов свидетельствует об изменении супрессорной реанжировки со снижением их функции и сдвигом цитокинового баланса в сторону Th1 типа иммунного ответа, приводящего к пролонгации неврологических нарушений и возникновению сопутствующих физических и интеллектуально-мнестических расстройств у указанного контингента детей

Вместе с тем, при исследовании **параметров иммунного статуса у детей с фармакологически контролируемой симптоматической эпилепсией (Пб-2 подгруппа)** анализ содержания провоспалительных цитокинов выявил статистически значимое однонаправленное повышение уровня IL-2 и TNF- $\alpha$  в 1-м полугодии 1-го года жизни по сравнению с группой контроля на фоне аналогичных изменений уровня цитокинов сыворотки крови противовоспалительной направленности у детей с симптоматической эпилепсией по сравнению с контрольной группой в течении всего периода наблюдения (Рисунок 10).



Примечание: \* -  $p < 0,05$ , достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой

**Рисунок 10 - Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у детей с симптоматической эпилепсией**

Выявленная динамика сывороточных значений указанных медиаторов межклеточного взаимодействия свидетельствовала в пользу нарастания оппозитных пулов и сдвига цитокинового баланса в сторону Th2 типа иммунного ответа в условиях успешного фармакологического

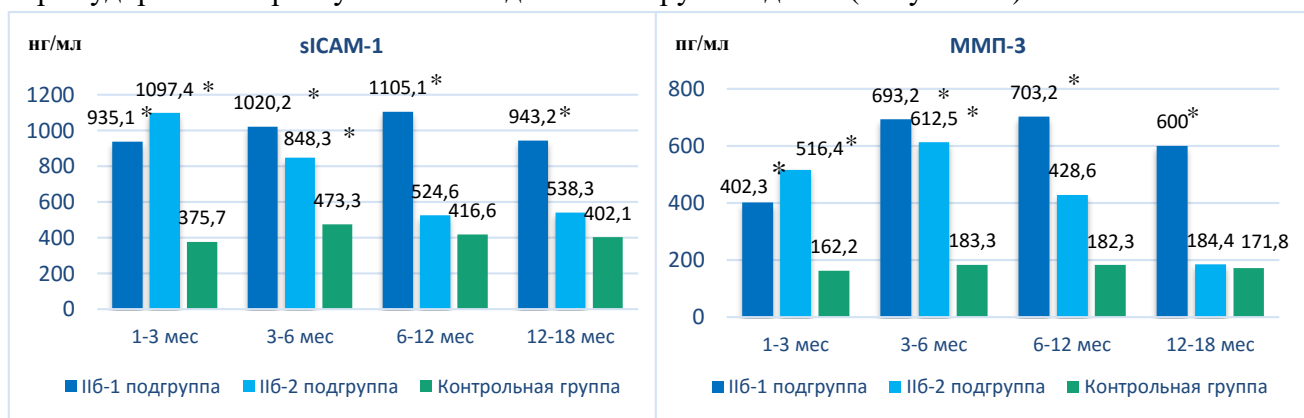
контроля эпилептических приступов.

Известно, что в процессах эпилептизации нейронов головного мозга важная роль принадлежит нарушению нейроиммунного гомеостаза с полисенсбилизацией к нейроантигенам в условиях повышенной проницаемости ГЭБ. С целью уточнения патогенетических механизмов формирования судорожных (эпилептических) приступов у детей обследуемых групп нами были изучены сывороточные маркеры нарушения целостности ГЭБ (sICAM-1 и ММП-3) у детей с симптоматической эпилепсией.

Анализ уровня указанных параметров сыворотки крови у детей с рецидивирующим характером судорожных приступов (Пб-1 подгруппа) позволил установить статистически значимое прогрессивное их увеличение на 1-м году жизни, свидетельствующее в пользу сохраняющегося нарушения проницаемости ГЭБ в условиях активации процессов межклеточного взаимодействия и дисфункции формирующих его соединительнотканых структур

При анализе уровня BDNF сыворотки крови в обследуемой группе детей выявлено снижение его количественных параметров в динамике клинического наблюдения по сравнению со здоровыми детьми аналогичного возраста, что свидетельствовало в пользу дефицита нейротрофического обеспечения в условиях неудовлетворительного фармакологического контроля основного заболевания.

При исследовании параметров иммунного статуса у детей с фармакологически контролируемой симптоматической эпилепсией (Пб-2 подгруппа) установлено статистически значимое увеличение уровня sICAM-1 и ММП-3 сыворотки крови у детей Пб-2 подгруппы на 1-м году жизни по сравнению с контрольной группой, что отражало существование более тонких механизмов нарушения целостности межклеточного матрикса ГЭБ и свидетельствовало в пользу сохраняющегося нарушения его проницаемости в условиях дебюта и рецидивирующего характера судорожных приступов в обследованных группах детей (Рисунок 11).

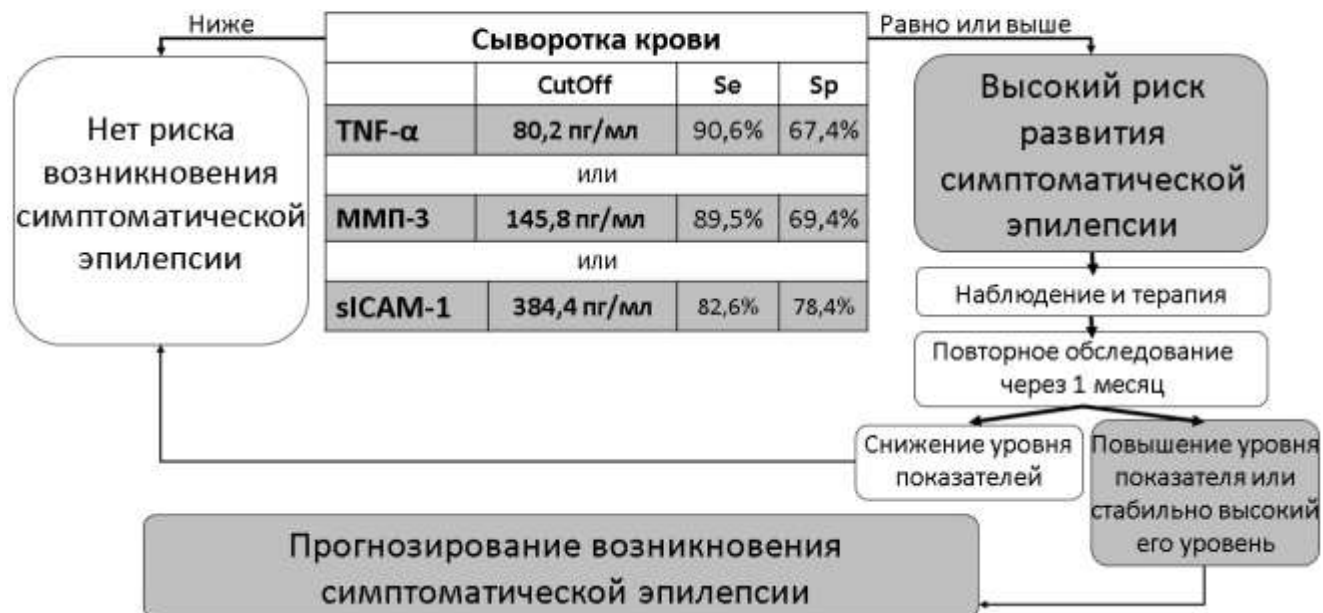


Примечание: \* -  $p < 0,05$ , достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой

**Рисунок 11 - Уровень маркеров проницаемости ГЭБ сыворотки крови у детей с симптоматической эпилепсией**

На основании метода логистической регрессии была рассчитана чувствительность и специфичность для иммунологических маркеров, имеющих достоверные различия в нашем исследовании. Наиболее высокая чувствительность и специфичность выявлена для sICAM-1, ММП-3 и TNF- $\alpha$  были определены точки CutOff, позволяющие прогнозировать высокий риск развития симптоматической эпилепсии у детей раннего возраста (Рисунок 12).

### Дети 1-3 месяцев жизни от женщин с отягощённым акушерско-гинекологическим анамнезом



**Рисунок 12 - Алгоритм прогнозирования возникновения симптоматической эпилепсии**

Сравнительное изучение уровня BDNF сыворотки крови у детей с **фармакологически контролируемой симптоматической эпилепсией (Пб-2 подгруппа)** выявило повышение его количественных параметров на 1-м году жизни по сравнению с группой контроля, что свидетельствовало в пользу достаточного восстановительного нейротрофического резерва нервной ткани и пластичности синапсов в условиях успешного фармакологического контроля и урежения частоты судорожных приступов.

Вместе с тем оценка уровня нейроспецифических антител различной антигенной направленности у детей с **фармакологически неконтролируемой симптоматической эпилепсией (Пб-1 подгруппа)** позволила установить статистически значимое увеличение количества АТ к ОБМ в возрасте 6-12 месяцев жизни, сочетавшиеся с прогрессивным статистически значимым нарастанием количества АТ к МАГ по сравнению с контрольной группой в течение всего периода наблюдения, что согласуется с данными Никитиной О.А. (2007), выявившей существенную роль аутоиммунных нарушений в патогенезе симптоматической эпилепсии в виде повышения

антител к ОБМ у пациентов с частыми приступами, длительным анамнезом по эпилепсии и прогрессирующим типом течения болезни.

При исследовании **параметров иммунного статуса у детей с фармакологически контролируемой симптоматической эпилепсией (Шб-2 подгруппа)** обнаружена устойчивая тенденция к нарастанию АТ к МАG в течении всего периода наблюдения у детей Шб-2 подгруппы по сравнению с контрольной.

Можно констатировать, что результаты проведенных исследований отражают фазовую динамику нейроиммунологических процессов у детей раннего возраста с симптоматической эпилепсией, являются свидетельством перестройки различных звеньев иммунной системы под влиянием ряда факторов в роли которых могут выступать антигены, антитела, иммунные комплексы, продукты нарушения клеточного метаболизма и обменных процессов. В этих условиях запускаемые процессы активации иммунной системы, свою очередь, способны изменять функциональную активность Т- и В-лимфоцитов, приводить к рассогласованности в работе компонентов системы иммунитета и нарушению механизмов иммунного ответа, определяя характер и тип течения эпилепсии у изучаемого контингента детей. Поэтому поиск новых патогенетических подходов к пониманию проблемы «пароксизмального мозга» и новых возможностей патогенетически обоснованного лечения больных эпилепсией являются важной злободневной проблемой и современной научной мотивацией.

Известно, что нейро-эндокринно-иммунный дисбаланс является неотъемлемой составляющей внутричерепной гипертензии любой этиологии и поддерживается за счет нарушений кровообращения непосредственно в ядрах подбугорья и гипофиза с затруднением ликвороциркуляции, нередко определяя дальнейшее течение и исход заболевания (Ремизова Н.В., 2007, Семенков О.Г., 2010). Вместе с тем, конкретные иммунологические нарушения являются одними из малоисследованных аспектов гидроцефального синдрома, поскольку длительное существование гемоликвородинамических нарушений, в том числе за счет нарушений кровообращения непосредственно в ядрах гипоталамической области и гипофиза, приводит, в конечном итоге, к перенапряжению и истощению регуляторных физиологических систем организма, в том числе и иммунной (Файзуллин А.Р., 2004).

При изучении **параметров иммунной системы у детей с сообщающейся гидроцефалией (Шв подгруппа)** абсолютное и относительное количество периферической крови и лимфоцитов, обладающих хелперно-индукторными и цитотоксическими потенциалами не отличалось от аналогичных значений детей контрольной группы во все сроки наблюдений.

При исследовании CD19+ В-лимфоцитов имела место тенденция к их повышению, достигающая статистически значимых отличий по относительным и абсолютным их значениям в 6-12

( $p=0,043$ ,  $p=0,029$ ) и 12-18 месяцев жизни ( $p=0,038$ ,  $p=0,041$ ) по сравнению с контрольной группой. При оценке сывороточных значений иммуноглобулинов основных классов выявлено статистически значимое повышение уровня IgG со 2-го полугодия 1-го года жизни и до конца наблюдения ( $p=0,041$ ,  $p=0,039$ ), что свидетельствовало в пользу преобладания гуморального звена иммунных реакций в патогенезе формирования ликвородинамических нарушений у указанного контингента детей.

При анализе активационных потенциалов лимфоцитов отмечено статистически значимое увеличение относительного количества CD25+ лимфоцитов в возрасте 1-3 месяцев ( $p=0,037$ ) и 3-6 месяцев жизни ( $p=0,025$ ) у детей Пв подгруппы по сравнению с контрольной. Аналогичные тенденции в 1-3 и 3-6 месяцев жизни имели место при анализе относительного и абсолютного содержания лимфоцитов, экспрессирующих молекулу CD31+, отражающего сохранение на достаточно высоком уровне активность экстралимфоцитарной пролиферации Т-лимфоцитов у детей с сообщающейся гидроцефалией.

Анализ количества лимфоцитов, экспрессирующих CD54+ молекулу адгезии выявил тенденцию к повышению абсолютных и относительных их значений, достигающих статистически значимых отличий со 2-го полугодия 1-го года жизни у детей Пв подгруппы по сравнению с контрольной, свидетельствующих в пользу формирования повышенной проницаемости ГЭБ в условиях вентрикулоделетации в указанные периоды наблюдения.

Известно, что ряд биорегуляторных молекул определяет тип и длительность иммунного ответа при различных патологических состояниях в ЦНС, в том числе и сопровождающихся расширением ликворных пространств головного мозга. В этих условиях нами были изучены сывороточные значения оппозитных пулов цитокинов, регулирующих направленность иммунного ответа у изучаемого контингента детей.

Анализ полученных результатов позволил установить статистически значимое нарастание уровня TNF- $\alpha$  на 1-м году и INF- $\gamma$  в первом полугодии 1-го года жизни и в возрасте 1,5 лет ( $p=0,036$ ) у детей Пв подгруппы по сравнению с детьми контрольной группы, что подтверждало ключевую роль TNF- $\alpha$  в воспалительных реакциях иммунного происхождения и иммунорегулирующее влияние INF- $\gamma$  на основные клетки иммунной системы (Рисунок 13).

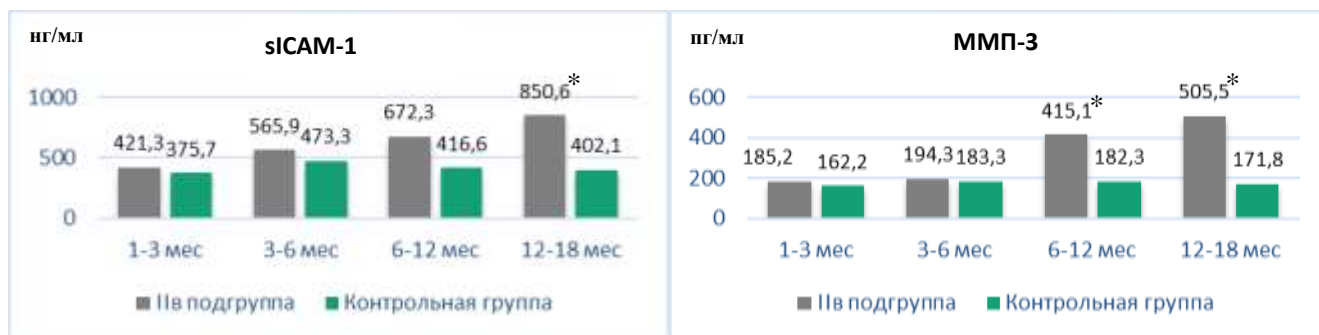
При исследовании уровня противовоспалительных цитокинов сыворотки крови выявлено достоверное однонаправленное повышение их значений со 2-го полугодия 1-го года жизни у детей Пв подгруппы по сравнению с контрольной.



Примечание: \* -  $p < 0,05$ , достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой

### Рисунок 13 - Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у детей с сообщающейся гидроцефалией

Известно, что в генезе ликвородинамических нарушений существенная роль принадлежит внутричерепной гипертензии, приводящей к расширению ликворных пространств, активации различных компонентов иммунной системы с развитием вторичных атрофических процессов и формированием вентрикуломегалии. В этих условиях нами изучены уровни растворимых маркеров повышенной проницаемости ГЭБ у детей обследованной подгруппы (Рисунок 14).



Примечание: \* -  $p < 0,05$ , достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой

### Рисунок 14 - Уровень маркеров проницаемости ГЭБ сыворотки крови у детей с сообщающейся гидроцефалией

При оценке показателей BDNF у детей с сообщающейся гидроцефалией зарегистрирована отчетливая тенденция к нарастанию его сывороточных значений по сравнению с детьми контрольной группы в 1-м полугодии 1-го года жизни с последующим незначительным снижением исследуемого параметра по сравнению с группой здоровых детей до окончания периода наблюдения, сопоставимая с активацией компенсаторных нейротрофических процессов в условиях формирования вентрикулодилатации в указанной подгруппе.

Анализ уровня нейроспецифических аутоантител выявил достоверное повышение АТ к MAG в возрасте 6-12 и 12-18 месяцев, отражающие процессы задержки миелинизации у детей с вентрикуломегалией.

Таким образом, проведенные исследования позволили проследить общность ряда нейробиологических процессов при наиболее распространенных поражениях ЦНС гипоксически-ишемического генеза и ее последствиях, с учетом активации иммунных реакций и включения аутоиммунных механизмов нередко приводящий к развитию иммунного воспаления и хронизации нейродегенеративного процесса. Воспалительный ответ является универсальной адаптивной реакцией нервной ткани на повреждение, гипоксию и/или метаболический стресс. Функция нейровоспаления состоит в адаптации к травме или нарушению гомеостаза и стимуляции регенераторных процессов. Однако, будучи неконтролируемой, это исходно защитная реакция сама может приводить к повреждению мозга.

Результатом нашего исследования явилась определение принципиально новой концептуальной модели, отражающей патогенетические механизмы формирования церебральных нарушений у новорожденных и детей раннего возраста. Предложены новые подходы к ранней диагностике и прогнозированию степени тяжести ЦГИП и ее последствий, основанные на определении клинко-иммунологических признаков, совокупность которых позволит определить группы риска по возникновению неврологических расстройств у указанного контингента детей с последующим проведением им диагностических и лечебно-реабилитационных мероприятий, позволяющих снизить частоту формирования ранней детской инвалидизации (Рисунок 15).

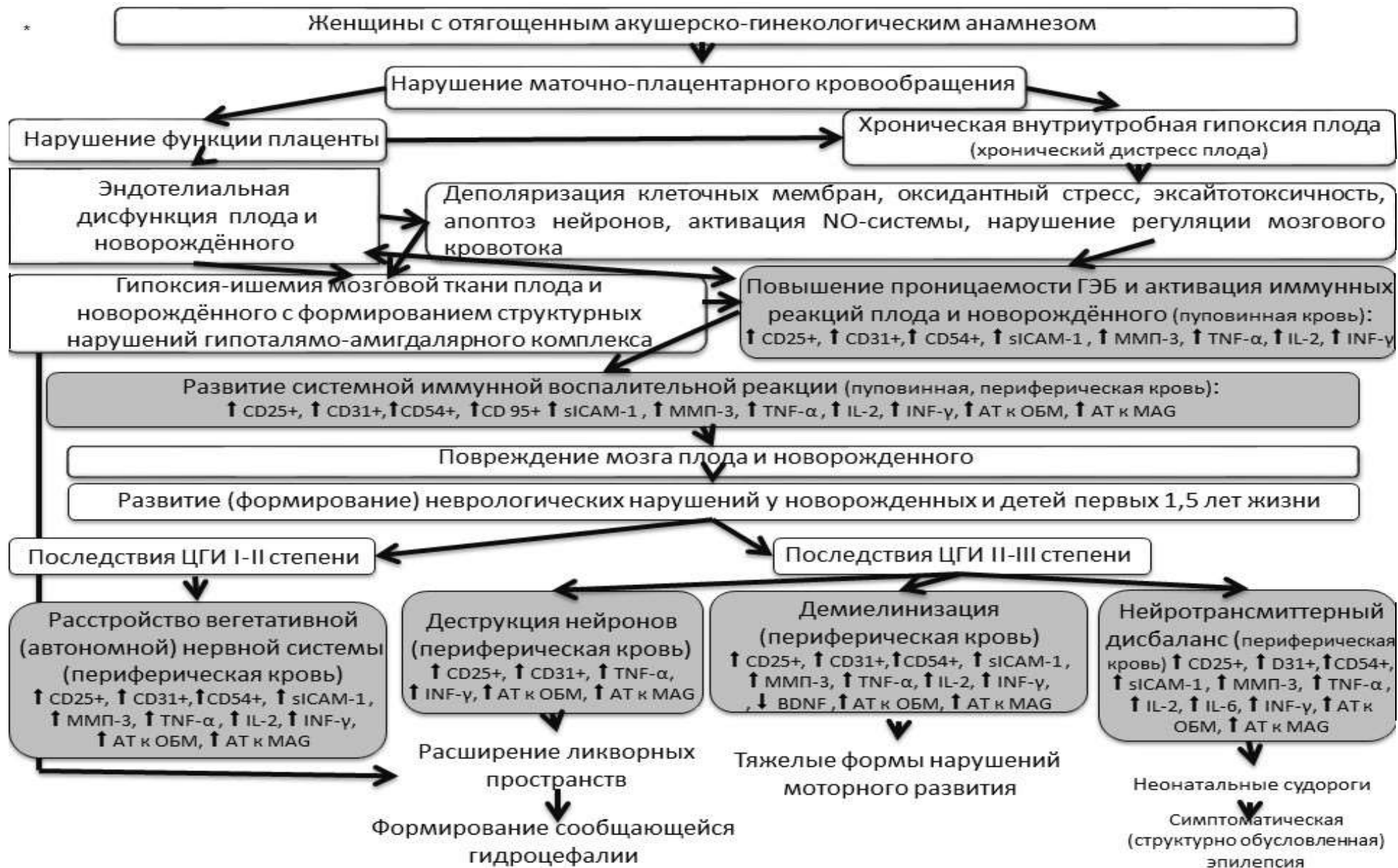


Рисунок 15 - Патогенетические механизмы формирования церебральных нарушений у новорождённых и детей первых 1,5 лет жизни из группы высокого перинатального риска (серым цветом выделены собственные исследования)



## ВЫВОДЫ

1. У новорожденных с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС неврологические синдромы определялись тяжестью церебрального поражения, характеризуясь различной их структурой и соотношением: при тяжелой степени – ведущими были синдром угнетения ЦНС (61,8%), пирамидной недостаточности (80,9%) и мышечной гипотонии (76,4%); при средней степени тяжести – синдром возбуждения (43,8%), пирамидной недостаточности (56,2%) и синдром мышечной гипертонии (51,2%); при легкой – синдром возбуждения (53,1%) и пирамидной недостаточности (24,6%). У детей первых 1,5 лет жизни с последствиями церебрального гипоксически-ишемического поражения II-III степени тяжести установлен неоднородный характер структуры неврологических синдромов с превалированием нарушений двигательной сферы (35,4%) и симптоматической эпилепсии (45,5%), а у детей с последствиями церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС I-II степени тяжести – нарушений вегетативного обеспечения (66,7%) и гиперактивности (56,5%).

2. При нейровизуализационных и инструментальных исследованиях выявлено, что у всех новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС различной степени тяжести отмечались устойчивые признаки нарушения динамики становления мозгового кровотока с явлениями ликворо-сосудистой дистензии, на фоне увеличения ликворосодержащих пространств и церебральной атрофии, структурных изменений перивентрикулярной области и корково-подкорковых структур с последующей трансформацией их в ишемически-геморрагические (нетравматические) и псевдокистозные изменения, что совпадало с формированием неврологического дефицита в процессе роста и развития этих детей.

3. Установлено, что перинатальная гипоксия у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни, родившихся от матерей с экстрагенитальной патологией и отягощенным акушерским анамнезом способствует инициации нейроиммунных процессов путем нарушения целостности гемато-энцефалического барьера и активации цитотоксических реакций с формированием пролонгированной иммунной агрессии и аутоиммунных процессов, сопровождающихся дисбалансом субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови в сторону увеличения числа клеток с супрессорно-цитотоксической активностью CD8+, CD16+ и В-лимфоцитов (CD19+) во все периоды катamnестического наблюдения, что способствует прогрессированию и хронизации нейродегенеративных изменений в ЦНС.

4. У новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни с церебральным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС и его последствиями различной степени тяжести выявлено нарушение этапов активации, дифференцировки, процессов межклеточного взаимодействия и апоптоза клеток иммунной системы, что при сопоставлении нозологических форм заболевания в разные сроки

катамнестического наблюдения верифицируется статистически достоверным повышением активационных маркеров CD25+, CD31+, CD54+, CD95+ на поверхности лимфоцитов периферической крови.

5. У новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни с последствиями церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС различной степени тяжести отмечено однонаправленное смещение цитокинового баланса в сторону продукции провоспалительных цитокинов при расстройствах вегетативной (автономной) нервной системы, тяжелых форм нарушений моторного развития, симптоматической эпилепсии и сообщающейся гидроцефалии, сочетавшиеся с повышением экспрессии рецепторов к IL-2, IL-4, IL-6, свидетельствующие о существенной роли иммунологических изменений на системном уровне и нарушениях эффекторных функций иммунокомпетентных клеток.

6. Динамика, характер течения и возрастной этап формирования неврологических нарушений у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни с церебральным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС и его последствиями коррелировали с повышением уровня активационных маркеров лимфоцитами периферической крови, молекул межклеточной адгезии, матриксной металлопротеиназы-3 на фоне снижения содержания мозгового нейротрофического фактора, увеличения нейроспецифических антител в сыворотке крови и были сопоставимы с нозологической формой заболевания и декретированными сроками наблюдения.

7. Выявленные статистически обоснованные регрессионно-корреляционные зависимости различной силы и направленности между интегральной оценкой тяжести церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС и изучаемыми иммунологическими параметрами, уровнем нейроспецифических антител и маркеров нейротрофического обеспечения позволили разработать алгоритмы диагностики и прогнозирования возникновения церебральных нарушений у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни из группы высокого перинатального риска, способствующие своевременному проведению лечебно-профилактических и реабилитационных мероприятий, снижающих риск формирования у них инвалидизирующих расстройств.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Для прогноза возникновения гипоксически-ишемических неврологических расстройств у новорожденных и детей первых 1,5 лет жизни из группы высокого перинатального риска необходимо осуществлять анализ клинико-инструментальных данных и тяжести анте-интранатальных предикторов развития церебральных нарушений с учетом определения параметров иммунного статуса, уровня молекул межклеточного взаимодействия, эффекторных функций иммунокомпетентных клеток, маркеров нейротрофического обеспечения и антител специфической антигенной направленности в динамике заболевания.

2. Разработанные алгоритмы прогнозирования возникновения церебральных нарушений у новорожденных и детей раннего возраста, рожденных от матерей с осложненным течением беременности и родов, можно использовать для своевременного дифференцированного выделения групп риска развития гипоксически-ишемического поражения ЦНС и проведения соответствующих лечебно-диагностических мероприятий.

3. Для диагностики возникновения церебральных нарушений ЦНС у новорожденных из группы высокого перинатального риска следует рекомендовать использовать определение TNF- $\alpha$  в сыворотке пуповинной крови, и при его значениях 50 пг/мл и выше диагностировать церебральное гипоксически-ишемическое поражение ЦНС.

4. Предикторами угрозы возникновения неврологических нарушений у новорожденных из группы высокого перинатального риска может служить определение уровня в сыворотке крови TNF- $\alpha$  >65,6 пг/мл, INF- $\gamma$  >59,6 пг/мл и CD54+>5,9%; у детей первых 3 месяцев жизни с тяжелыми формами нарушений моторного развития определение в сыворотке крови TNF- $\alpha$  >43,5 пг/мл, INF- $\gamma$  >30,6, BDNF>11945 пг/мл и АТ к MAG>235,6 ВТУ/мл; при прогнозировании возникновения симптоматической эпилепсии – определение уровня в сыворотке крови TNF- $\alpha$  >80,2 пг/мл, ММП-3>145,8 пг/мл; и sICAM-1>384,4 нг/мл.

5. Для прогнозирования возникновения тяжёлых двигательных нарушений у детей 1-го года жизни, рожденных от матерей с осложненным акушерско-гинекологическим анамнезом, неблагоприятным течением беременности и родов, можно рекомендовать использовать определение IL-2, IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  сыворотки крови с последующим определением вектора поляризации иммунного ответа по Th1 или Th2 иммуноопосредованному типу и в случае направления иммунного ответа по Th1 клеточному типу прогнозировать высокий риск формирования ДЦП.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:**

#### **Публикации в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России**

1. Созаева, Д.И. Опыт использования новых методологических подходов наблюдения за детьми первого года жизни / Д.И. Созаева // Известия высших учебных заведений Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – 2005. – Спец. вып. Актуальные проблемы акушерства и педиатрии. – С. 74-76.
2. Созаева, Д.И. Патогенетические механизмы формирования церебральных нарушений у детей раннего возраста, перенесших гипоксию в перинатальном периоде / Д.И. Созаева // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – 2006. – Спец. вып. Вопросы клинической медицины. – С. 76-81.
3. Созаева, Д.И. Роль аутоиммунных процессов в механизмах формирования церебральных нарушений у новорожденных, родившихся при осложненном течении беременности и родов

- / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Вопросы практической педиатрии. – 2010. – Т. 5, № 1. Прил. – С. 78.
4. Созаева, Д.И. Роль цитокиновой активности сыворотки крови в патогенезе тяжелой церебральной ишемии у новорожденных / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Вопросы практической педиатрии. – 2010. – Т. 5, № 1. Прил. – С. 78.
  5. Созаева, Д.И. Клинико-эпидемиологические особенности рассеянного склероза у детей Ростовской области / З.А. Гончарова, В.А. Балязин, С.М. Сехвейл, Д.И. Созаева // Вопросы практической педиатрии. – 2011. – Т. 6, № 6. – С. 47-50.
  6. Созаева, Д.И. Роль иммуноцитокинов в генезе церебральной ишемии у новорожденных из группы высокого перинатального риска / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Кубанский научный медицинский вестник. – 2011. – № 2 (125). – С. 151-155.
  7. Созаева, Д.И. Роль процессов демиелинизации в формировании двигательных нарушений у детей раннего возраста, рожденных от матерей с осложненным течением беременности и родов / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Кубанский научный медицинский вестник. – 2012. – № 2 (131). – С. 163-167.
  8. Созаева, Д.И. Иммунопатогенетические механизмы формирования двигательных нарушений у детей грудного возраста, родившихся от матерей с осложненным течением беременности и родов [Электронный ресурс] / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 5.– Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=10439>.– 23.12.15.
  9. Созаева, Д.И. Оценка состояния иммунного ответа у беременных с плацентарной недостаточностью с учетом тяжести церебральной патологии у их новорожденных / Т.Г. Плахотя, В.А. Линде, М.А. Левкович, И.И. Крукиер, Д.И. Созаева // Медицинский вестник Юга России. – 2013. – № 4. – С. 122-125.
  10. Созаева, Д.И. Прогнозирование течения церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС у детей раннего возраста / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Кубанский научный медицинский вестник. – 2013. – № 1 (136). – С. 162-166.
  11. Созаева, Д.И. Роль ишемических процессов в патогенезе пароксизмальных расстройств у детей раннего возраста с церебральным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Российский иммунологический журнал. – 2013. – Т. 7 (16), № 2-3. – С. 319.
  12. Созаева, Д.И. Роль процессов демиелинизации в патогенезе церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС у новорожденных из группы высокого перинатального риска / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Российский аллергологический журнал. – 2013. – № 2. – С. 274-276.
  13. Созаева, Д.И. Факторы нейротрофического обеспечения в генезе двигательных расстройств у детей раннего возраста, рожденных от матерей высокого перинатального риска / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Российский иммунологический журнал. – 2013. – Т.7 (16), № 2-3. – С. 319.

14. Созаева, Д.И. Нейроэндокринная реактивность в генезе функциональных расстройств у новорожденных с церебральной ишемией [Электронный ресурс] / Е.А. Лукьянова, С.Б. Бережанская, Е.Я., Каушанская А.С. Тодорова, Д.И. Созаева //Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=12132>. – 23.12.15.
15. Созаева, Д.И. Основные механизмы взаимодействия нервной и иммунной систем. Клинико-экспериментальные данные / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская //Кубанский научный медицинский вестник. – 2014. – № 3 (145). – С. 145-150.
16. Созаева, Д.И. Патогенетические механизмы формирования церебральных нарушений у детей раннего возраста, перенесших гипоксию в перинатальном периоде [Электронный ресурс] / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская //Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 4. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=14340>. – 23.12.15.
17. Созаева, Д.И. Роль аутоиммунных и демиелинизирующих процессов в механизмах формирования двигательных нарушений у детей из группы высокого перинатального риска / Д.И. Созаева, З.А. Гончарова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2015. – Т. 115, № 8. – С. 83.

#### **Монографии и публикации в рецензируемых журналах, научных сборниках**

18. Созаева, Д.И. Использование новых организационно-методологических технологий оказания медицинской помощи детям раннего возраста, рожденными от матерей высоко акушерского риска / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская, А.А. Афонин, М.И. Денисова, О.А. Постельная, А.А. Писарева, Е.В. Ищенко, Н.Н. Лагодина // Современные проблемы диагностики и лечения нарушений репродуктивного здоровья женщин: сб. тр. Ростовского НИИ акушерства и педиатрии. – Ростов-на-Дону, 2005. – С. 287-289.
19. Созаева, Д.И. Новые организационно-методические подходы оказания медицинской помощи детям раннего возраста, рожденным от матерей высоко акушерского риска / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская, А.А. Афонин, О.А. Постельная, М.И. Денисова, Н.Н. Лагодина, В.В. Строгулин // Оптимизация деятельности детских стационаров в условиях реформирования здравоохранения: тез. докл. Всерос. совещания главных врачей республиканских, краевых, областных, городских детских больниц. – Ростов-на-Дону, 2005. – С.46-47.
20. Созаева, Д.И. Особенности цитокинового статуса у новорожденных с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская, М.И. Денисова, Е.И. Ищенко, В.В. Крайнева // Пути повышения эффективности медицинской помощи детям: X съезд педиатров России. – М., 2005. – С. 495.
21. Созаева, Д.И. Особенности диспансерного наблюдения за новорожденными из группы высокого перинатального риска / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Материалы I Балтийского конгр. по детской неврологии, посвящ. 75-летию кафедры нервных болезней СПб ГПМА. – СПб., 2007. – С. 156-157.

22. Созаева, Д.И. Прогнозирование церебральных нарушений у новорожденных, перенесших гипоксию в перинатальном периоде / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Актуальные проблемы педиатрии: сб. матер. XI конгр. педиатров России. – М., 2007. – С. 628-629.
23. Созаева, Д.И. Роль нейроиммунных процессов в патогенезе поражения ЦНС у детей 1-го года жизни из группы высокого перинатального риска / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Актуальные проблемы педиатрии: сб. матер. XI конгр. педиатров России. – М., 2007. – С. 629.
24. Созаева, Д.И. Роль нейроиммунных процессов в патогенезе перинатального поражения нервной системы у детей раннего возраста из группы перинатального риска / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Современные технологии в педиатрии и детской хирургии: матер. VII Рос. конгр. – М., 2008. – С. 164.
25. Созаева, Д.И. Иммунологические маркеры формирования двигательных нарушений у детей первого года жизни с последствиями церебральной гипоксии-ишемии различной степени тяжести / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Актуальные проблемы педиатрии: сб. матер. XVI съезда педиатров России. – М., 2009. – С. 366.
26. Созаева, Д.И. Нейроиммунные механизмы формирования двигательных нарушений у детей раннего возраста из группы высокого перинатального риска тяжести / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Актуальные проблемы педиатрии: сб. матер. XVI съезда педиатров России. – М., 2009. – С. 366-367.
27. Созаева, Д.И. Уровень нейротрофического обеспечения у новорожденных с церебральной ишемией / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии: IX Рос. конгр. – М., 2010. – С. 209.
28. Созаева, Д.И. Роль адгезивных молекул в патогенезе церебральной ишемии III степени и ее последствий у детей раннего возраста из группы высокого перинатального риска / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Педиатрия из XIX в XXI век: 2-я Рос. науч. конф. – СПб., 2010. – С. 60.
29. Созаева, Д.И. Демиелинизирующие заболевания нервной системы у детей: метод. рекомендации / Д.И. Созаева, И.В. Черникова, И.А. Сафонова. – Ростов-на-Дону, 2011. – 150 с.
30. Созаева, Д.И. Минимальная мозговая дисфункция и синдром дефицита внимания с гиперактивностью. Критерии диагноза и принципы терапии: метод. рекомендации / Д.И. Созаева, И.В. Черникова, И.А. Сафонова. – Ростов-на-Дону, 2011. – 32 с.
31. Созаева, Д.И. Некоторые аспекты формирования церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС у новорожденных из группы высокого перинатального риска / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Нейроиммунология. – 2011. – Т. IX, № 3-4. – С. 141.
32. Созаева, Д.И. Патогенетические механизмы формирования неврологических нарушений у детей раннего возраста, перенесших церебральную гипоксию-ишемию II-III степени / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии: X Рос. конгр. – М., 2011. – С. 155.

33. Созаева, Д.И. Роль аутоантител к белкам нервной ткани в механизмах формирования судорожного синдрома у новорожденных / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Материалы I Международн. конгр. по перинатальной медицине. – М., 2011. – С. 149.
34. Созаева, Д.И. Роль аутоантител к белкам нервной ткани в патогенезе судорожного синдрома у детей с церебральной гипоксией-ишемией II-III степени / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Материалы I Международн. конгр. по перинатальной медицине. – М., 2011. – С. 150.
35. Созаева, Д.И. Роль демиелинизирующих процессов в механизмах формирования церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС у новорожденных из группы высокого перинатального риска / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Медицинский вестник юга России. – 2011. – Прил. – С. 61-63.
36. Созаева, Д.И. Роль аутоантител к белкам нервной ткани в патогенезе формирования двигательных нарушений у детей раннего возраста из группы высокого перинатального риска / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Актуальные проблемы педиатрии: сб. матер. XVI конгр. педиатров России с междунар. участием. – М., 2012. – С. 698.
37. Созаева, Д.И. Роль иммунной системы в формировании двигательных нарушений у детей грудного возраста, родившихся от матерей с осложненным течением беременности и родов / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии: XI Рос. конгр. – М., 2012. – С. 144-145.
38. Созаева, Д.И. Особенности иммунного реагирования при плацентарной недостаточности, риск развития церебральных нарушений новорожденных / М.А. Левкович, В.А. Линде, Т.Г. Плахотя, Д.И. Созаева // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16, № 2. – С. 54-56.
39. Созаева, Д.И. Роль аутоиммунных процессов и факторов роста нервной ткани в механизмах формирования двигательных нарушений у детей 1-го года жизни, рожденных при осложненном течении беременности и родов / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Современная перинатология: организация, технологии, качество: матер. VIII Ежегодного конгр. специалистов перинатальной медицины: матер. конгр. – М., 2013. – С. 35.
40. Созаева, Д.И. Роль нейротрофинов при формировании двигательных нарушений у детей раннего возраста, рожденных при осложненном течении беременности и родов / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская, А.С. Тодорова // IV Балтийский конгр. по детской неврологии: сб. тез. – СПб., 2013. – С. 279-280.
41. Созаева, Д.И. Уровень адгезивных молекул в механизмах формирования пароксизмальных нарушений у детей раннего возраста из группы высокого перинатального риска / Д.И. Созаева, С.Б. Бережанская // Актуальные проблемы педиатрии: сб. матер. XVII с-да педиатров России. – М., 2013. – С. 586.
42. Созаева Д.И., Бережанская С.Б., Тодорова А.С. Уровень адгезивных молекул и эндогенных протеаз в генезе судорожного синдрома у детей раннего возраста с церебральной гипоксией-ишемией и ее последствиями // IV Балтийский конгр. по детской неврологии: сб. тез. – СПб., 2013. – С. 326-327.

43. Sozaeva, D.I The role blood-brain barrier of permeability factors in genesis of convulsive disorder in newborns with cerebral hypoxia-ischaemia of different severity / M. Levkovich, D.I. Sozaeva, S.B. Berezhanskaya, A.A. Afonin // XI World Congress of Perinatal Medicine. – Moscow, 2013 (постерный доклад).
44. Sozaeva, D.I. The role of nerve growth factors in motor disturbance formation mechanisms in children of the 1-st year of life born with hypoxic-ischemic central system injury / D.I. Sozaeva, S.B. Berezhanskaya, A.A. Afonin //International Congress of Pediatrics 2013 (ICP): Proceedings 37-th Congress of the International Pediatric Association 2013. – Melbourne, 2013. – P. 1072.
45. Sozaeva, D.I. Evaluation of the condition of immune response in children of an early age with paroxysmal disorders / D.I. Sozaeva, S.B. Berezhanskaya, A.A. Afonin //Archives of disease in childhood. – Royal College of Paediatrics and Child Health. – Birmingham, 2014. – P.1 86.
46. Sozaeva, D.I. The role of permeability factors of blood-brain barrier in the genesis of recurrent paroxysmal disorders in newborns with consequences of cerebral hypoxic-ischaemic injury of CNS / D.I. Sozaeva, S.B. Berezhanskaya, A.A. Afonin // Archives of disease in childhood.The 5-th Congress of the European Academy of Paediatric Societies. – Barcelona, Spain, 2014. – P. 338.

#### **Патенты на изобретение**

1. Пат. 2276365 Рос. Федерация: МПК<sup>8</sup>: 51 GO1N 33/68 C1 Способ прогнозирования нарушений ЦНС у новорожденных из группы высокого перинатального риска / Созаева Д.И., Бережанская С.Б., Афонин А.А., Левкович М.А. (РФ). – № 2004126065/15; заявл. 25.08.04; опубл. 10.05.06, Бюл. № 13. – 6 с.
2. Пат. 2290644Рос. Федерация: МПК<sup>8</sup>: 51 GO1N 33/68, GO1N 33/53C1 Способ прогнозирования церебральных нарушений у новорожденных от матерей из группы высокого перинатального риска / Левкович М.А., Орлов В.И., Плахотя Т.Г., Афонин А.А., Созаева Д.И. (РФ). – № 2005124792/15; заявл. 03.08.05; опубл. 27.12.06, Бюл. № 36. – 10 с.
3. Пат. 2487360Рос. Федерация: МПК<sup>8</sup>: 51 GO1N 33/53 Способ прогнозирования течения церебрального гипоксически-ишемического поражения ЦНС у детей раннего возраста / Созаева Д.И., Бережанская С.Б., Каушанская Е.Я., Лукьянова Е.А. (РФ). – № 2012111559/15; заявл. 26.03.12; опубл. 10.07.13, Бюл. № 19. – 11 с.
4. Пат. 2540514Рос. Федерация: МПК<sup>8</sup>:51 GO1N 33/53 Способ прогнозирования детского церебрального паралича у детей 1-го года жизни / Созаева Д.И., Бережанская С.Б., Каушанская Е.Я., Лукьянова Е.А., Тодорова А.С. (РФ). – № 2013135527/15; заявл. 29.07.13; опубл. 10.02.15, Бюл. № 4.- 17 с.



**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АТ к МАG	антитела к миелинассоциированному гликопротеину
АТ к ОБМ	антитела к основному белку миелина
ВПР	врожденные пороки развития
ГЭБ	гематоэнцефалический барьер
ДЦП	детский церебральный паралич
ИФА	иммуноферментный анализ
ММП-3	матриксная металлопротеиназа-3
МРТ	магнитно-резонансная томография
НСГ	нейросонография
ПИВК	пери-интравентрикулярные кровоизлияния
ПЦГИ	последствия церебральной гипоксии-ишемии
ПЦО	предсказательная ценность отрицательного результата
ПЦП	предсказательная ценность положительного результата
РКТ	рентгенкомпьютерная томография
ЦГИ	церебральная гипоксия-ишемия
ЦГИП	церебральное гипоксически-ишемическое поражение ЦНС
ЦИК	циркулирующие иммунные комплексы
ЭКГ	электрокардиография
ЭЭГ	электроэнцефалография
BDNF	мозговой нейротрофический фактор
CD	кластер дифференцировки
CutOff	дифференциальная точка разделения
Ig	иммуноглобулины
IL	интерлейкин
INF- $\gamma$	интерферон- $\gamma$
IR	индекс резистентности
NK	натуральные киллеры
sICAM-1	растворимая молекула межклеточной адгезии-1
TNF- $\alpha$	фактор некроза опухоли- $\alpha$

---

Подписано в печать 9.06.2016

Печать цифровая. Бумага офсетная. Гарнитура «Таймс».

Формат 60x84/16. Объем 2.0 уч.-изд.-л.

Заказ №4386 . Тираж 100 экз.

Отпечатано в КМЦ «КОПИЦЕНТР»

344006, г. Ростов-на-Дону, ул. Суворова, 19, тел. 247-34-88

---