

© Г. П. Правдухина, А. П. Скоромец, 2012

ДИНАМИКА ПСИХОМОТОРНОГО РАЗВИТИЯ И УРОВНЯ АУТОАНТИТЕЛ К РЕЦЕПТОРАМ ГЛУТАМАТА У ДЕТЕЙ С ПЕРИНАТАЛЬНЫМ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ЦНС

Г. П. Правдухина, А. П. Скоромец

Городская детская клиническая больница № 2, Городской клинический перинатальный центр, Омск, Россия

Северо-Западный государственный медицинский университет им. М. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Полученные в ходе проспективного рандомизированного исследования (n = 60) данные свидетельствуют о возможности использования показателя изменения титра аутоантител к рецепторам глутамата (до и после лечения) в неонатальном периоде в качестве предиктора для прогнозирования степени восстановления психомоторного развития конкретных пациентов в отдаленном периоде.

Ключевые слова: перинатальная гипоксия-ишемия, аутоантитела, рецепторы глутамата.

Received in a course prospective randomized study (n = 60) data testify to possibility of use of an indicator of change autoantibody titer to glutamate receptors (before treatment) in the neonatal period in quality predictor for forecasting of degree of restoration of psychomotor development of concrete patients in the remote period.

Key words: perinatal hypoxic-ischemic, autoantibody, glutamate receptors.

Введение

Известно, что при ишемическом повреждении головного мозга в крови появляется большое количество антител к нейроспецифическим белкам [1, 2]. Это нашло практическое применение при оценке характера и степени повреждения компонентов глутаматергической нейромедиаторной системы головного мозга. В частности, в последнее время используется определение в периферической крови аутоантител к субъединицам AMPA и NMDA глутаматных рецепторов у пациентов, перенесших ишемический инсульт, тяжелую черепно-мозговую травму [3, 4, 5]. Данные, полученные с помощью этого метода, позволяют оценить выраженность эксайтотоксичности глутамат-кальциевого каскада, обусловленной значительным увеличением концентрации глутамата в межклеточном пространстве после ишемического воздействия. Существенно то, что уже через 10 мин после первичной тяжелой церебральной ишемии происходит значительное высвобождение глутамата с последующим прогрессивным увеличением его концентрации и сохранением на высоком уровне не менее 3 ч [6]. Этого времени

достаточно для необратимого (некроз, апоптоз) повреждения нейронов в зоне первичного очага и активации механизмов вторичной ишемии мозга в перифокальной зоне [7, 8].

Однако потенциальные возможности определения уровня аутоантител к рецепторам глутамата для прогноза психомоторного развития детей с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС не изучены.

Целью настоящего исследования было сопоставление уровня аутоантител к рецепторам глутамата в раннем постинфарктном периоде и психомоторного развития детей в течение 1-го года жизни для прогноза исхода перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС.

Материал и методы исследования

Доношенные новорожденные дети (n = 105), родившиеся с асфиксией средней тяжести и имеющие церебральную ишемию II степени, находились под наблюдением в течение 1 года. Основная группа (n = 55) — дети, в комплексное лечение которых был включен корковый пептидный биорегулятор кортексин. Группа

сравнения ($n = 50$) — дети, получавшие стандартную терапию. Группы до лечения были сопоставимы по полу, возрасту, неврологической симптоматике.

Для оценки неврологического статуса использовалась шкала оценки психомоторного развития детей 1-го года жизни Л. Т. Журбы и Е. М. Мастюковой [9], позволяющая определять уровень психомоторного развития детей в баллах. Применялась рабочая классификация РАСПМ перинатальных поражений ЦНС акад. Володина Н. Н. и соавторов (2000). Использовались стандартные нейросонографические методы обследования.

Определение уровня аутоантител к структурным компонентам глутаматовых рецепторов в сыворотке крови пациентов проводили по методу С. А. Дамбиновой (Институт мозга человека РАН, СПб). Использовался соответствующий диагностический набор ИФА-тестов [3, 4, 5]. У 60-ти детей (основная: $n = 32$, сравнения: $n = 28$), отобранных с помощью метода рандомизации (генератор случайных чисел) была исследована сыворотка крови на уровень аутоантител к структурным компонентам GluR1-AMPA- и NR2A-NMDA-рецепторов до лечения и через 5-7 дней после лечения. Статистическую обработку полученного материала осуществляли с помощью пакета прикладной программы MedCalc (версия 10.2.2.0) согласно современным требованиям к проведению анализа медицинских данных [10]. Для выявления различия между зависимыми выборками использовали *t*-критерий Стьюдента для зависимых выборок. Для определения специфичности и чувствительности диагностического теста, а также порога разделения и классификации признаков по уровню прогностической значимости строилась характеристическая кривая (ROC). Для определения предикторов качественных изменений неврологического состояния младенцев использовали логистический регрессионный и дискриминантный анализ. При всех видах статистического анализа нулевая гипотеза отвергалась, а альтернативная принималась при α -ошибке = 0,05 ($p = 0,05$) и β -ошибке = 0,25, при этом мощность исследования была на уровне 0,7–0,8.

Результаты исследования

Установлено, что после лечения в основной группе происходило статистически значимое снижение уровня антител к рецепторам GluR1 и NR2A, а в группе сравнения подобная закономерность не выявлялась (табл. 1).

При сравнении групп статистически значимых различий содержания антител к рецепторам GluR1 и NR2A до лечения выявлено не было, что свидетельствовало об их изначальной схожести (однородности) и, вероятно, одинаковой степени повреждения ткани головного мозга сравниваемых пациентов.

После лечения в сыворотке крови пациентов основной группы антител к GluR1 было на 30,3 % меньше ($p = 0,05$), чем у пациентов группы сравнения. Аналогичная зависимость была выявлена и для антител к рецепторам NR2A (26,6 %, $p = 0,05$).

Также нами было проведено сопоставление динамики неврологической симптоматики и уровня аутоантител к структурным компонентам GluR1-AMPA-, NR2A-NMDA-рецепторов.

В качестве возможного предиктора предсказания уровня психомоторного развития детей с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС средней тяжести в конце первого года жизни (исход) нами проанализирован показатель, характеризующий реакцию титров антител к рецепторам глутамата в ответ на проводимое лечение в остром периоде. Этот показатель представлял собой разность титра антител до и после лечения в остром периоде. Для GluR1 его значение варьировало от $-0,304$ до $+0,716$ нг/мл, для NR2A — более значительно — от $-0,80$ до $+1,01$ нг/мл. Отрицательное значение свидетельствовало о том, что после лечения уровень антител увеличивался, положительное — уменьшался. Результаты ROC-анализа и логистической регрессии представлены в табл. 2 и 3.

ROC-анализ свидетельствует о том, что с помощью определения титра антител к GluR1 и NR2A в сыворотке крови до и после лечения (реакция на лечение) в остром периоде возможно предсказание характера динамики неврологического статуса в отдаленном периоде (через 1 год). При увеличении или незначительном уменьшении титра антител после лечения

Таблица 1

Уровень аутоантител к субъединицам GluR1-AMPA- и NR2A-NMDA-рецепторов глутамата у детей с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС средней тяжести в остром периоде			
Рецептор	Основная группа (n = 32)		Параметры t-теста
	до лечения	после лечения	
GluR1	0,437±0,203	0,315±0,236	0,032*
NR2	0,570±0,235	0,447±0,210	0,048*
Группа сравнения (n = 28)			
GluR1	0,529±0,356	0,452±0,256	0,37
NR2	0,731±0,452	0,609±0,373	0,28

* Различия статистически значимы в сравнении с «до лечения» при $p < 0,05$ (t-критерий Стьюдента для зависимых выборок)

Таблица 2

Результаты ROC-анализа подгрупп «Незначительное улучшение», «Улучшение» и «Выраженное улучшение» в отдаленном периоде				
Показатель	Точки разделения подгрупп	AUC (95 % ДИ)	P	Чувствительность, % Специфичность, %
«Незначительное улучшение» / «Улучшение»				
Разность титров антител к GluR1 до и после лечения	$> -0,155$ нг/мл	0,86 (0,73–0,95)	$< 0,0001^*$	96,0 (79,6–99,9) 61,1 (35,7–82,7)
Разность титров антител к NR2A до и после лечения	$> 0,04$ нг/мл	0,86 (0,72–0,95)	$< 0,0001^*$	82,4 (56,6–96,2) 76,9 (56,4–91,0)
«Улучшение» / «Выраженное улучшение»				
Разность титров антител к GluR1 до и после лечения	$> 0,30$ нг/мл	0,83 (0,67–0,93)	$< 0,0001^*$	81,3 (54,4–96,0) 85,7 (63,7–97,0)
Разность титров антител к NR2A до и после лечения	$> 0,34$ нг/мл	0,90 (0,75–0,98)	$< 0,0001^*$	88,2 (63,6–98,5) 71,3 (76,2–99,9)

* Различия при сравнении ROC с диагональю статистически значимы (z-критерий). Площадь под ROC (AUC), чувствительность и специфичность имеют в основном средние значения

(точка разделения для GluR1 $> -0,155$ нг/мл, NR2A $> 0,04$ нг/мл) в большей степени вероятно развитие «Незначительного улучшения». Переход указанных точек разделения увеличивает вероятность «Улучшения», а при изменении титров антител к GluR1 и NR2A

соответственно $> 0,30$ и $> 0,34$ нг/мл увеличивается вероятность «Значительного улучшения». По величине AUC (95 % ДИ) тест имеет среднюю прогностическую ценность, высокую чувствительность и умеренную специфичность (табл. 2).

Таблица 3

Результаты применения логистической регрессии для выявления возможности долгосрочного прогноза динамики неврологического статуса по изменению содержания антител к рецепторам глутамата в остром периоде					
Переменная (предиктор)/ модель	Коэффициенты	Константа	AUC	Корректное предсказание	P
GluR1 (незначительное улучшение или улучшение)	12,46	0,37	0,86 (0,73–95,0)	81,4 %	0,001*
NR2A	8,1	-0,48	0,86 (0,72–0,94)	76,7 %	0,007*
GluR1 (улучшение или значительное улучшение)	8,85	-2,73	0,83 (0,67–0,93)	81,1 %	0,005*
NR2A	17,7	-6,56	0,98 (0,87–0,99)	94,1 %	0,015*

* Предсказание статистически значимое. Уравнение модели: $P = 1/(1 + e^{-A})$, где P – вероятность изменения неврологического статуса; A = константа + коэффициент

Результаты логистической регрессии позволили выявить взаимосвязь между изменением титра антител в ответ на лечение в остром периоде и динамикой неврологического статуса в отдаленном периоде. Модели, включающие в качестве предиктора титр антител к GluR1, достоверно предсказали 81,4 и 81,1 % исходов. Площади под кривой составили 0,86 и 0,83, что указывало на высокую точность модели. Модели, включающие в качестве предиктора титр антител к NR2A, корректно предсказали 76,7 и 94,1 % (табл. 3).

Таким образом, определение антител к глутаматовым рецепторам до и после лечения в остром периоде (тест реакции на лечение) обладает достаточно высокой чувствительностью и специфичностью и является полезным предиктором для практического использования в педиатрической неврологии. Рассчитанные нами точки разделения (пороги отсечения) в остром периоде с высокой долей вероятности позволяют прогнозировать «Незначительное улучшение», «Улучшение» или «Выраженное улучшение» психомоторного развития в отдаленном периоде (через 1 год).

По данным дискриминантного анализа, определение разницы титра антител к рецепторам глутамата до и после лечения в остром периоде позволило в популяции детей с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС средней тяжести (обучающая выборка) прогнозировать уровень психомоторного развития каждого конкретного ребенка в отдаленном периоде (в нашем исследовании – через 1 год). При этом показатель изменения титра антител к GluR1 позволял корректно дискриминировать подгруппу с «Незначительным улучшением» (у 61,1 % пациентов), «Улучшением» (92,0 %) и подгруппу со «Значительным улучшением» (94,1 %), при корректной тотальной дискриминации пациентов всей популяции в 83,3 % случаях (F-критерий = 85,6, $p = 0,0001$). Изменение титра антител к NR2A в ответ на лечение в 69,2 % случаев позволяло корректно дискриминировать подгруппу пациентов с «Незначительным улучшением», в 83,3 % случаев – с «Улучшением» и в 81,3 % – подгруппу со «Значительным улучшением», при корректной тотальной дискриминации всей популяции в 76,7 % случаев (F-критерий = 64,9, $p = 0,0001$).

Таким образом, полученные на обучающей выборке данные свидетельствуют о возможности использования показателя изменения титра аутоантител к рецепторам глутамата (до и после лечения) в остром периоде в качестве предиктора при прогнозировании степени восстановления психомоторного развития конкретных пациентов в отдаленном периоде.

У детей, рожденных с асфиксией средней тяжести и церебральной ишемией II степени, для прогнозирования исхода неврологического статуса к концу первого года жизни и выработки тактики нейропротективной терапии целесообразно определение в остром периоде уровня титра антител в сыворотке крови к субъединицам рецепторов глутамата GluR1 и NR2A. Своевременная оценка тяжести постишемических изменений и их адекватная патогенетическая коррекция позволит уменьшить степень выраженности неврологических отклонений у детей к концу первого года жизни.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Dambinova S.A., Izykenova G.A., Burov S.V. et al. The presence of autoantibodies to N-terminus domain of GluR1 subunit of AMPA receptor in the blood serum of patients with epilepsy // *J. Neurol. Sci.* — 1997. — Vol. 152. — P. 93–97.
2. Vincent A., Lily O., Palace J. Pathogenic autoantibodies to neuronal proteins in neurological disorders // *J. Neuroimmunol.* — 1999. — Vol. 100, № 1–2. — P. 169–180.
3. Скоромец А.А., Дамбинова С.А., Дьяконов М.М. и др. Биохимические маркеры в диагностике ишемии головного мозга // *Международ. неврол. журн. (Украина)*. — 2009. — Т. 5, № 27. — С. 15–20.
4. Dambinova S.A., Khounteev G.A., Skorometz A.A. Multiple panel of biomarkers for TIA/stroke evaluation // *Stroke*. — 2002. — Vol. 33, № 5. — P. 1181–1182.
5. Dambinova S.A., Khounteev G.A., Izykenova G.A. et al. Blood test detecting autoantibodies to NMDA neuroreceptors for evaluation of patients with transient ischemic attack and stroke // *Clinical Chemistry*. — 2003. — Vol. 49. — P. 1752–1762.
6. Obrenovitch T.P., Urenjak J., Zilkha E., Jay T.M. Excitotoxicity in neurological disorders — the glutamate paradox // *J. Dev. Neurosci.* — 2000. — Vol. 18, № 2–3. — P. 281–287.
7. Guidetti P., Charles V., Chen E.Y. et al. Early degenerative changes in transgenic mice expressing mutant huntingtin involve dendritic abnormalities but no impairment of mitochondrial energy production // *Exp. Neurol.* — 2001. — Vol. 169. — P. 340–350.
8. McLaughlin B. The kinder side of killer proteases: caspase activation contributes to neuroprotection and CNS remodeling // *Apoptosis*. — 2004. — Vol. 9, № 2. — P. 111–121.
9. Журба Л.Т., Мастюкова Е.М. Нарушение психомоторного развития детей первого года жизни. — М., 1981. — 272 с.
10. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. — М.: МедиаСфера, 2002. — 305 с.

