

АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКОГО БЕЛКА S100 У ПАЦИЕНТОВ С ДЕТСКИМ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ

Никитина Е.А.

ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, e-mail: dr.nikitinaea@gmail.com

Среди биомаркеров ишемического и травматического повреждения головного мозга активно исследуют показатели нейроспецифических белков (НСБ). В литературе представлены данные, свидетельствующие о повышении содержания белка S100 в сыворотке крови у новорожденных детей с тяжелой гипоксически-ишемической энцефалопатией (ГИЭ). Однако некоторые работы указывают на возможную нейропротективную функцию данного белка при низких концентрациях. В работе представлена оценка содержания нейроспецифического белка S100 в сыворотке крови больных с детским церебральным параличом. Исследование было выполнено с участием 78 пациентов, страдающих детским церебральным параличом, и 15 практически здоровых детей, включенных в группу сравнения. Выявлено достоверно более низкое содержание нейроспецифического белка S100 в сыворотке крови у детей с детским церебральным параличом по сравнению с группой сравнения ($p=0,011$); при этом уровень белка S100 имел умеренную обратную корреляционную связь с возрастом пациентов ($r=-0,35$, $p<0,001$). Также показано, что у детей с тяжелыми двигательными нарушениями (степень V по шкале GMFCS) наблюдались статистически более низкие уровни белка S100, чем у пациентов с легкими нарушениями (степень I) ($p=0,004$).

Ключевые слова: пациент, детский церебральный паралич, нейроспецифический белок, S100, гипоксия.

ANALYSIS OF THE NEUROSPECIFIC PROTEIN S100 IN PATIENTS WITH CEREBRAL PALSY

Nikitina E.A.

Saint-Petersburg I.I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Medicine, Saint-Petersburg, e-mail: dr.nikitinaea@gmail.com

Among the biomarkers of ischemic and traumatic brain injury, the indicators of neurospecific proteins (NSPs) are being actively studied. The literature presents data indicating an increase in the content of S100 protein in the blood serum of newborns with severe hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE). On the other hand, some works indicate a possible neuroprotective function of this protein at low concentrations.

The paper presents an assessment of the content of the neurospecific protein S100 in the blood serum of patients with cerebral palsy. The study was performed with the participation of 78 patients suffering from cerebral palsy and 15 apparently healthy children included in the comparison group. Significantly lower levels of the neurospecific S100 protein in blood serum were found in children with cerebral palsy compared to the control group ($p=0.011$); at the same time, the level of s100 protein had a moderate inverse correlation with the age of patients ($r=-0.35$, $p<0.001$). It was also shown that children with severe motor impairment (GMFCS grade V) had statistically lower S100 protein levels than those with mild motor impairment (grade I) ($p=0.004$).

Keywords: patient, cerebral palsy, neurospecific protein, S100, hypoxia.

S100 является одним из наиболее распространенных нейроспецифических белков в центральной нервной системе (ЦНС). В настоящее время данный белок, высвобождаемый поврежденными астроцитами, в основном рассматривается как маркер повреждения нервной ткани. Повышение уровня S100 в периферической крови наблюдается в острую стадию различных неврологических заболеваний, таких как инсульт, черепно-мозговая травма, перинатальное гипоксически-ишемическое поражение и др. При этом существует взаимосвязь между уровнем белка и тяжестью повреждения [1]. Однако в низких концентрациях S100

может играть роль в регуляции глиальной пролиферации, дифференцировке и созревании различных нейронов во многих областях ЦНС, таких как кора, гиппокамп, гипоталамус и спинной мозг [2]. В литературе практически нет работ, описывающих изменение уровня данного белка со временем, после перенесенного повреждения нервной ткани. Детский церебральный паралич (ДЦП) как исход перинатального гипоксически-ишемического поражения остается одной из главных причин детской инвалидности. Изучение роли белка S100 как возможного нейропротективного фактора при данном заболевании является перспективным.

Целью исследования явился анализ содержания нейроспецифического белка S100 в сыворотке крови пациентов детского возраста, страдающих детским церебральным параличом.

Материал и методы исследования

Для достижения поставленной цели выделена основная группа пациентов с детским церебральным параличом, 78 детей, средний возраст $M (SD) = 90 (57,6)$ месяцев, из них мальчиков – 55 человек (71%), девочек – 23 ребенка (29%). Группа сравнения сформирована из контингента условно здоровых детей в количестве 15 человек, сопоставимых по возрасту ($M (SD) = 94 (61,2)$ месяца) и полу (мальчиков – 9 (60%); девочек – 6 (40%)).

Критериями включения в основную группу были: установленный диагноз ДЦП; возраст до 17 лет включительно; наличие подписанного представителями пациента информированного согласия на участие в исследовании.

Критериями включения в группу сравнения являлись: отсутствие данных за неврологическую патологию; возраст до 17 лет включительно; наличие подписанного представителями пациента информированного согласия на участие в исследовании.

Общими критериями исключения для обеих групп были: отказ от подписания информированного согласия; острое инфекционное заболевание или обострение хронического инфекционного заболевания; тяжелые кардиологические, гематологические, дизиммунные, бронхолегочные, желудочно-кишечные, психические, дисметаболические заболевания; заболевания, диагностированные анамнестически, при клиническом и/или лабораторно-инструментальном обследовании, которые могли препятствовать участию пациентов в исследовании и оказать влияние на его результаты; семейные и индивидуальные случаи нарушения процессов свертывания крови.

У пациентов с детским церебральным параличом проводили сбор анамнестических данных (беременность и роды по счету у матери; наличие угрозы прерывания во время беременности; наличие внутриутробной инфекции, подтвержденной лабораторно; срок гестации при рождении; данные нейросонографии, проведенной в периоде новорожденности),

также оценивались данные магнитно-резонансной томографии головного мозга; данные электроэнцефалографии.

Клинические формы ДЦП определялись согласно Международной Классификации Болезней 10-го пересмотра. Преобладающей формой ДЦП являлась спастическая диплегия G80.1 – 74% (58 пациентов), гемипаретическая форма G80.2 и другой вид ДЦП G80.8 составили 18% и 7% соответственно (14 и 5 детей). 1 пациент имел атаксический церебральный паралич – G80.4 (1%).

Оценка неврологического статуса проводилась по общепринятой методике. Спастические синдромы, нарушения мышечной силы и двигательной активности оценивались дополнительно с помощью специальных шкал.

Для оценки состояния мышечного тонуса у пациентов с ДЦП применялась модифицированная шкала спастичности Ашфорта (modified Ashworth scale) [3]. Средняя оценка спастичности у детей с ДЦП составила $M(SD) = 3,325(0,96)$ балла.

Для оценки степени тяжести двигательных нарушений у детей с ДЦП применялась система классификации больших моторных функций (Gross Motor Function Classification System – GMFCS) [4]. У большинства пациентов наблюдались II и III уровни – по 25%, I и IV уровни – по 19% , V уровень имели 12% детей.

Взятие крови производили у детей натощак, в утренние часы из кубитальной вены. Содержание в сыворотке крови белка S100 исследовали с помощью иммуноферментного анализа (ИФА): S100 – ООО «ХЕМА», Россия. Учет результатов производили на автоматическом спектрофотометре «BioTek ELx-800» (США) при длине волны 450 нм.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных статистических программ R (R Core Team (2018)). Данные в таблицах представлены в виде медианы (Me), первого и третьего квартилей (Q25–Q75). Для определения вида распределения данных в выборках применялись критерии Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. В связи с тем, что распределение значений в выборках по данным перечисленных критериев отличалось от нормального, в процессе статистической обработки использовали методы непараметрического анализа. В качестве критерия достоверности отличий между двумя независимыми группами применяли непараметрический критерий (U) Манна–Уитни. Для установления различий между тремя и более группами параметров использовали непараметрический критерий Краскела–Уоллиса (Kruskal–Wallis). Если результаты теста Краскела–Уоллиса были статистически значимы, проводили тест Данна для определения, какие группы отличались. Корреляционный анализ проводили с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Для оценки тесноты связи между признаками

применяли шкалу Чеддока. Для оценки влияния категориальных переменных на количественную переменную использовали регрессионный анализ.

Результаты исследования и их обсуждение

Пациенты с детским церебральным параличом имели статистически более низкие показатели содержания белка S100 в сыворотке крови по сравнению с практически здоровыми детьми – Me ($Q_{(25-75)}$) – 32,75 (19,52 – 42,34) нг/мл против 38,90 (32,30 – 64,90) нг/мл ($p = 0,011$) (рис. 1).

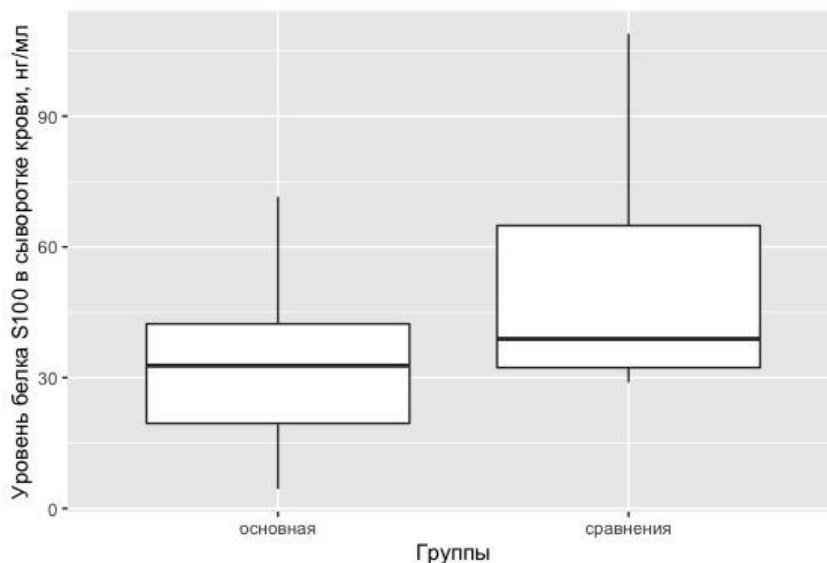


Рис. 1. Содержание белка S100 в сыворотке крови пациентов с ДЦП и детей группы сравнения

Средний возраст пациентов с ДЦП составил $M (SD) = 90 (57,6)$ месяцев, группы сравнения – $M (SD) = 94 (61,2)$ месяцев. Обнаружена умеренная обратная корреляционная связь между возрастом пациентов и уровнем белка S100 в сыворотке крови – $r = -0,35, p < 0,001$ (рис. 2). При этом никакой связи между возрастом детей группы сравнения и содержанием S100 обнаружено не было ($r = -0,06, p = 0,86$).

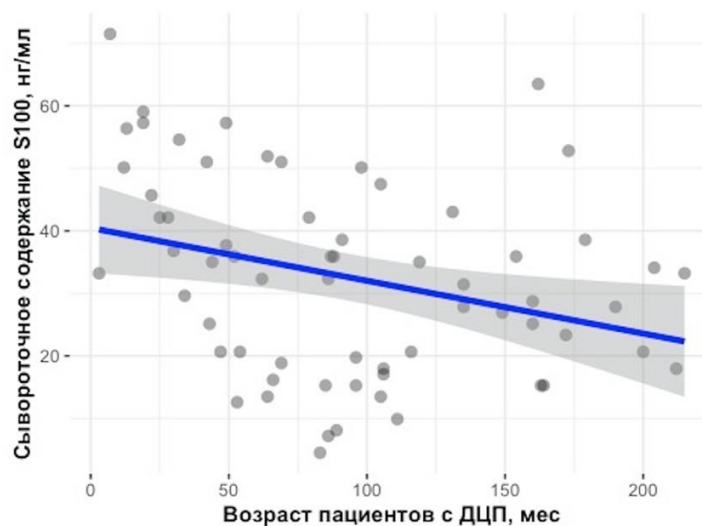


Рис. 2. Возрастная динамика содержания белка S100 в сыворотке крови пациентов с ДЦП

Различий в содержании белка S100 в зависимости от пола ребенка в сыворотке крови как пациентов с ДЦП, так и детей группы сравнения обнаружено не было.

Регрессионный анализ показал, что изучаемые факторы анамнеза (такие как количество беременностей и роды по счету у матери; наличие угрозы прерывания во время беременности; наличие внутриутробной инфекции, подтвержденной лабораторно; срок гестации при рождении) не оказывали влияния на сывороточное содержание белка S100 у пациентов с ДЦП.

Анализировались данные инструментальных исследований (нейросонографии и магнитно-резонансной томографии головного мозга), проводимых в периоде новорожденности. Показано, что уровень белка S100 не зависел от изменений, таких как перивентрикулярная лейкомаляция и внутрижелудочковые кровоизлияния.

Наличие эпилепсии у пациентов с ДЦП также не влияло на показатели белка S100.

При оценке влияния форм детского церебрального паралича на содержание нейроспецифического белка установлено, что при всех видах ДЦП сывороточное содержание S100 было сопоставимо.

Не выявлено никакой корреляционной связи между оценкой состояния мышечного тонуса по шкале Ашфорта и содержанием белка S100.

Анализ содержания белка S100 в сыворотке крови пациентов с ДЦП в зависимости от оценки по шкале GMFCS представлен на рисунке 3. У детей с тяжелыми двигательными нарушениями (степень V по шкале GMFCS) имелись статистически более низкие уровни белка S100, чем у пациентов с легкими нарушениями (степень I) – 50,13 (33,65–55,46) нг/мл против 17,94 (13,46–31,41) нг/мл, $p=0,004$.

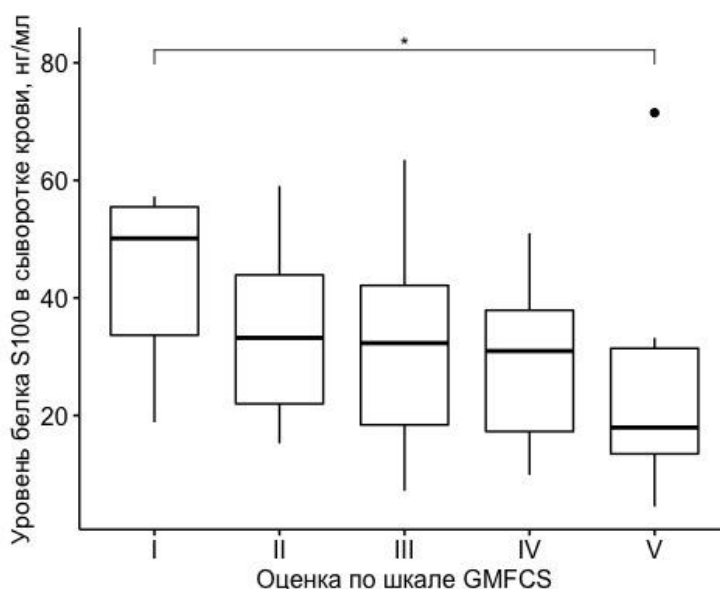


Рис. 3. Содержание белка S100 в сыворотке крови пациентов с ДЦП в зависимости от оценки по шкале GMFCS

*Прим.: * – статистический уровень значимости p меньше 0,05*

Впервые белок S100 был выделен В.В. Мооге в 1965 г. из мозга быка с помощью хроматографии. Свое название он получил из-за способности полностью растворяться в насыщенном растворе сульфата аммония в нейтральной среде [5].

У людей белок S100 впервые был выявлен в спинномозговой жидкости у больных рассеянным склерозом в фазе обострения. За этим открытием последовал целый ряд исследований содержания этого нейроспецифического протеина при различных нейродегенеративных и воспалительных заболеваниях, таких как боковой амиотрофический склероз, энцефаломиелит, шизофрения, инсульт, внутричерепные опухоли и пр. Все это утвердило S100 в качестве одного из маркеров поражения ЦНС.

В невропедиатрии белок S100 изучался в свете острого гипоксического повреждения мозговой ткани. Ряд авторов [6, 7] показали, что у новорожденных детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией (ГИЭ) значительно повышается уровень этого белка в сыворотке периферической и пуповинной крови. При этом большинство исследователей сходятся во мнении, что уровень белка S100 прямо коррелирует со степенью тяжести ГИЭ в острой фазе повреждения.

Показано, что в высоких концентрациях S100 действует синергично с провоспалительными цитокинами и ведет себя как цитокин, усиливающий и сохраняющий воспаление и приводящий к повреждению нейронов [8].

Но, как и у большинства биологически активных молекул, эффекты белка S100 дозозависимы. В низких, наномолярных концентрациях S100 белок может проявлять нейропротективную активность, защищая нейроны от нейротоксических стимулов [9].

В литературе нет ни одного исследования, посвященного изучению концентрации данного белка у детей старшего возраста с последствиями перенесенной ГИЭ. Детский церебральный паралич – это один из самых частых исходов перинатальной гипоксически-ишемической энцефалопатии. Общепринято, что это непрогрессирующее заболевание, однако в контексте возможной нейротрофической роли белка S100 изучение изменения его концентрации с возрастом детей может быть перспективно.

В настоящем исследовании сывороточная концентрация данного белка была значительно ниже у пациентов с ДЦП, чем у здоровых детей. При этом она уменьшалась с возрастом пациентов, и более низкий уровень белка соответствовал более тяжелым двигательным нарушениям. Возможно, сниженное содержание S100 в сыворотке крови пациентов с ДЦП отражает возможности нейропластичности нервной ткани у детей.

Дальнейшее изучение роли нейроспецифических белков при перинатальной патологии ЦНС и ДЦП как ее основном осложнении может помочь при разработке новых подходов к терапии и реабилитации данных состояний.

Заключение Представленные в работе данные показали содержание нейроспецифического белка S100 в сыворотке крови у пациентов с детским церебральным параличом по сравнению с практически здоровыми детьми. Основным результатом стало обнаружение статистически более низких сывороточных концентраций данного белка у детей с ДЦП. Также было установлено, что уровень белка S100 имел умеренную обратную корреляционную связь с возрастом пациентов. Кроме того, у детей с тяжелыми двигательными нарушениями (степень V по шкале GMFCS) наблюдались статистически более низкие уровни белка S100, чем у пациентов с легкими нарушениями (степень I по шкале GMFCS).

Список литературы

1. Heizmann C.W. S100 proteins: Diagnostic and prognostic biomarkers in laboratory medicine. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res.* 2019. V. 1866 (7). P. 1197-1206. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2018.10.015.
2. Kleindienst A., Grünbeck F., Buslei R., Emtmann I., Buchfelder M. Intraperitoneal treatment with S100B enhances hippocampal neurogenesis in juvenile mice and after experimental brain injury. *Acta Neurochir (Wien).* 2013. V. 155 (7). P. 1351-1360. DOI: 10.1007/s00701-013-1720-2.

3. Bohannon R.W., Smith M.B. Interrater reliability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity. *Phys Ther.* 1987. V. 67 (2). P. 206-207. DOI: 10.1093/ptj/67.2.206.
4. Palisano R., Rosenbaum P., Walter S., Russell D., Wood E., Galuppi B. Development and reliability of a system to classify gross motor function in children with cerebral palsy. *Dev. Med. Child Neurol.* 1997. V. 39 (4). P. 214-223. DOI: 10.1111/j.1469-8749.1997.tb07414.x.
5. Donato R., Cannon B.R., Sorci G. et al. Functions of S100 proteins. *Curr. Mol. Med.* 2013. V. 13 (1). P. 24-57.
6. Liu F., Yang S., Du Z., Guo Z. Dynamic changes of cerebral-specific proteins in full-term newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Cell Biochem Biophys.* 2013. V. 66 (2). P. 389-396. DOI: 10.1007/s12013-012-9478-3.
7. Zaigham M., Lundberg F., Olofsson P. Protein S100B in umbilical cord blood as a potential biomarker of hypoxic-ischemic encephalopathy in asphyxiated newborns. *Early Hum Dev.* 2017. V. 112. P. 48-53. DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2017.07.015.
8. Kozlyuk N., Monteith A.J., Garcia V., Damo S.M., Skaar E.P., Chazin W.J. S100 Proteins in the Innate Immune Response to Pathogens. *Methods Mol Biol.* 2019. V. 1929. P. 275-290. DOI: 10.1007/978-1-4939-9030-6_18.
9. Baecker J., Wartchow K., Sehm T., Ghoochani A., Buchfelder M., Kleindienst A. Treatment with the Neurotrophic Protein S100B Increases Synaptogenesis after Traumatic Brain Injury. *J. Neurotrauma.* 2020. V. 37 (8). P. 1097-1107. DOI: 10.1089/neu.2019.6475.