



ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ У ДЕТЕЙ С НАРУШЕНИЕМ РАЗВИТИЯ И ДЕТЕЙ С НОРМАЛЬНЫМ РАЗВИТИЕМ

В.Л. ЕФИМОВА*, Г.С. ГОЛОСНАЯ**, Е.И. НИКОЛАЕВА*, Н.В. КОНЬШИНА***, А.В. НОВОЖИЛОВ***

* ФГБОУ ВО Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, набережная реки Мойки, д.48, г. Санкт-Петербург, 191186, Россия, e-mail: prefish@yandex.ru

** ФГБОУ ВО Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н.Бурденко, ул. Студенческая, д. 10, г. Воронеж, 394036, Россия, e-mail: ggolosnaya@yandex.ru

*** Детская Неврологическая клиника "Прогноз", ул. Парадная, д. 3, к. 2, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: nata-konshina@yandex.ru

Аннотация. Изучение различных *нейроспецифических белков* в качестве маркеров нейродегенеративных и нейровоспалительных процессов вызывает большой интерес у исследователей. Эти белки являются весьма перспективными показателями работы нервной системы. При этом вопросы, касающиеся выполняемых ими в организме человека функций и их изменений в процессе онтогенеза, остаются недостаточно изученными. **Цель исследования** – изучить показатели *нейроспецифических белков* и их динамику в зависимости от возраста у детей с нормальным и нарушенным развитием. **Материалы и методы исследования:** Нами изучались образцы крови 48 детей и подростков в возрасте от 4 до 16 лет. Группы состояли из 24 ребенка с нарушениями развития и 24 с нормальным развитием. **Результаты и их обсуждение:** Статистический математический анализ полученных данных показал отсутствие связи между повышением концентрации *NSE* и нарушением развития детей. В группе детей с нормальным развитием показатели *NSE* значимо не отличаются от таких же показателей у детей с нарушенным развитием. При этом в обеих группах определяется взаимосвязь с возрастом: чем младше ребенок, тем более вероятны увеличенные показатели *NSE*. Результаты показателя коэффициента Пирсона в группах детей с нормальным и нарушенным развитием показывают слабую отрицательную корреляцию, что отражает достоверную взаимосвязь снижения показателей белков у детей с возрастом. **Заключение:** Полученные нами результаты говорят о неспецифичности увеличенных показателей *нейроспецифических белков* как маркера, характерного для детей с нарушением развития. Здоровые дети с нормальным развитием также имеют тенденцию к увеличению данных показателей в определенные периоды жизни.

Ключевые слова: нейровоспаление, расстройство аутистического спектра, *нейроспецифические белки*, белок *S100*, *нейронспецифическая енолаза*, дети.

AGE DYNAMICS OF NEURON-SPECIFIC PROTEINS INDICATORS IN CHILDREN WITH DEVELOPMENTAL DISORDERS AND IN CHILDREN WITH NORMAL DEVELOPMENT

V.L. EFIMOVA*, G.S. GOLOSNAYA**, E.I. NIKOLAYEVA*, N.V. KONSHINA***, A.V. NOVOZHILOV***

* Russian State Pedagogical University of A.I. Gercen, Moika River embankment, 48, St.-Petersburg, 191186, Russia, e-mail: prefish@yandex.ru

** Voronezh State Medical University of N.N. Burdenko,

Studencheskaya str., 10, Voronezh, 394036, Russia, e-mail: ggolosnaya@yandex.ru

*** Paediatric Neurologic Clinics "Prognost", Paradnaya str., 3, bld. 2, St.-Petersburg, Russia, e-mail: nata-konshina@yandex.ru

Abstract. Studying various *neuron-specific proteins* as markers of neurodegenerative and neuroinflammatory processes is of great interest for researchers. These proteins are very prospective indicators of nervous system work. At the same time, the functions they perform in the human body and their changes during the ontogenesis have not been sufficiently studied. **Purpose** is to study the indicators of *neuron-specific proteins* and their dynamics depending on the age of children with normal and disordered development. **Materials and methods.** We studied blood samples of 48 children and adolescents aged 4 to 16. The groups consisted of 24 kids with developmental disorders and 24 kids with normal development. **Results and their discussion:** Statistical and mathematical analysis of the received data revealed the absence of correlation between *NSE* concentration increase and developmental disorders in children. In the group of children with normal development, *NSE* indicators are not significantly different from the ones in children with developmental disorders. At the same time, age correlation was revealed in both groups: the younger a child is, the higher is the probability of *NSE* indicators increasing. The results of Pearson coefficient calculation in groups of children with normal and disor-

dered development show a weak negative correlation, which reflects a significant correlation between the proteins indicators decrease and the age. **Conclusion:** The obtained results reveal that increased indicators of *neuron-specific proteins* are non-specific as markers typical for children with developmental disorders. Healthy children with normal development also showed a tendency to increase these indicators in certain life periods.

Key words: neuroinflammation, autism spectrum disorder (ASD), neuron-specific proteins, *S100* protein, neuron-specific enolase, children.

В последние годы изучение различных *нейроспецифических белков* (НСБ) в качестве маркеров нейродегенеративных и нейровоспалительных процессов вызывает большой интерес у исследователей. На настоящий момент таких белков идентифицировано более 30. НСБ – это тканеспецифические для нервной системы белки, гистогенетически относящиеся к нейроэпителиальной ткани, т. е. нейронам и глиальным компонентам нервной системы. Все НСБ находятся в сложном взаимодействии друг с другом. Наиболее изученными и адекватно характеризующими мембранные функции гематоэнцефалического барьера НСБ являются *NSE* (нейронспецифическая енолаза) и белок *S100* [6].

Многие вопросы, связанные с функциями и ролью НСБ в организме, до сих пор изучены недостаточно, так как посвященные этим темам исследования в основном проводились в случаях, когда очевидно присутствовало острое поражение ткани мозга: на недоношенных младенцах с гипоксическими ишемическими поражениями, взрослых с черепно-мозговыми травмами или нейродегенеративными заболеваниями, пациентах с острым воспалением тканей головного мозга. В настоящее время не хватает информации о роли НСБ у детей в процессе созревания мозга: во время тех критических периодов развития, когда корректировка состава мозгового вещества состоит именно в том, наряду с процессами создания новых связей и синапсов, активно действуют процессы уничтожения неэффективных связей и редко активирующихся синапсов – апоптоз и синаптический прунинг [4, 5].

Связь показателей НСБ с динамикой функционального созревания мозга у детей с нарушениями развития была показана еще в 1980 году и продолжает исследоваться по сегодняшний день [8].

Наиболее изучены показатели новорожденных младенцев с отягощенным акушерским анамнезом – недоношенных, новорожденных с гипоксическими-ишемическими поражениями нервной системы. Установлено, что у новорожденных с гипоксическим поражением мозга уровень *S100* значительно повышен в первые 72 часа жизни, затем концентрация начинает снижаться. После 14 суток жизни *S100* не имеет ценности как маркер острой фазы повреждения мозга. Концентрация НСБ обратно пропорциональна гестационному возрасту: чем менее доношен ребенок, тем выше уровень *S100* в первые 72 часа жизни [1, 2, 3].

В связи с тем, что изучение НСБ в детском возрасте в основном затрагивает группы детей с отягощенным перинатальным анамнезом либо другими острыми нарушениями нервной системы, а показатели НСБ у здоровых детей недостаточно изучены, нормальные референсные показатели НСБ у детей отличаются в разных исследованиях и являются спорным вопросом. По данным исследований показатели *NSE* у детей могут на 30-50% отличаться от показателей взрослых [10, 9]. В работе *Berthold* и соавторов, опубликованной еще в 1991 году, предлагаются следующие референсные значения для детей в зависимости от возраста: до 3 лет – 20,2 нг/мл, от 3 до 5 лет – 19,1 нг/мл, от 5 до 8 лет – 17,8 нг/мл [7]. Также пересматриваются референсные значения НСБ у детей в различных лабораториях. Например, референсные показатели *NSE* для младенцев в лаборатории «ИНВИТРО» составляют 50 нг/мл, тогда как нормой для взрослого человека считается концентрация до 17 нг/мл.

НСБ, безусловно, являются весьма перспективными показателями работы нервной системы. При этом вопросы, касающиеся выполняемых НСБ в организме человека функций и их изменений в процессе онтогенеза, остаются недостаточно изученными.

Цель исследования – изучить показатели *NSE* и их динамику в зависимости от возраста у детей с нормальным и нарушенным развитием.

Материалы и методы исследования: на базе медицинского центра «Прогноз» (Санкт-Петербург) нами обследованы 48 детей и подростков. В экспериментальную группу вошли 24 ребенка с нарушением развития в возрасте от 4 до 15 лет (средний возраст по группе составил -8,0 лет), из них 12 мальчиков и 12 девочек. Группа сравнения состояла из 24 детей с нормальным развитием в возрасте от 4 до 16 лет (средний возраст по группе -8,9 лет), из них 12 мальчиков и 13 девочек. Критерием включения в экспериментальную группу являлось наличие одного из диагнозов, установленных психиатром по МКБ-10: *F.80* (специфическое расстройство языкового развития) или *F.84* (детский аутизм). В исследование не включались дети с соматическими заболеваниями, с клиническими проявлениями инфекционных и хронических воспалительных заболеваний.

Анализ венозной крови для определения концентрации *NSE* проводился по назначению врача, использовался стандартный протокол. Забор крови для исследования производили утром натощак. Анализ *NSE* в сыворотке крови осуществлялся методом электрохемилюминесцентного иммуноанализа, *Cobas e601* (*Roche*). Нормальными показателями значений *NSE* считались значения ниже 17,0 нг/мл (согласно референсным значениям лаборатории «ИНВИТРО»).

Родители подписывали информированное согласие на участие в исследовании. Работа одобрена этическим комитетом. Статистическая обработка данных была выполнена при помощи языка программирования *Python* с использованием библиотек «*Matplotlib*», «*Pandas*», «*Scipy*» (модуль *Stats*).

Результаты и их обсуждение. Корреляционная связь между возрастом детей и показателям *NSE* оценивалась по коэффициенту Пирсона. В таблице 1 приведены результаты показателя коэффициента Пирсона в группах детей с нормальным и нарушенным развитием. Для обеих групп выявлена слабая отрицательная корреляция, что отражает достоверную взаимосвязь снижения показателей *NSE* у детей с возрастом.

Таблица 1

Показатели коэффициента Пирсона в группах детей с нарушенным и нормальным развитием

Показатель	Дети с нарушением развития	Дети с нормальным развитием
Коэффициент Пирсона	-0.531	-0.652

Примечание. *Коэффициент корреляции находится в интервале от -1 до 1 , где -1 означает отрицательную зависимость, 1 — положительную, а 0 говорит о том, что линейной зависимости нет. Чем ближе коэффициент к нулю, тем меньше зависимость; чем ближе к модулю единицы, тем больше зависимость. Слабая корреляция начинается с $0,5$, сильная — с $0,7$, высокая — с $0,9$

На рис. 1 и 2 изображены графики изменения показателей *NSE* у детей с нарушенным развитием (рис.1) и нормальным развитием (рис.2) относительно возраста. На графиках видно снижение показателей *NSE* с увеличением возраста в обеих группах.

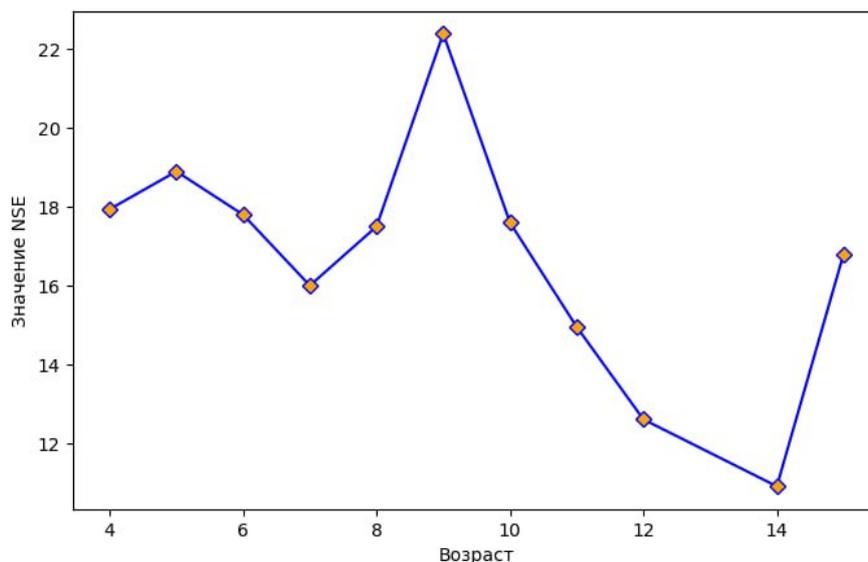


Рис.1. Распределение показателей *NSE* в зависимости от возраста у детей с нарушенным развитием

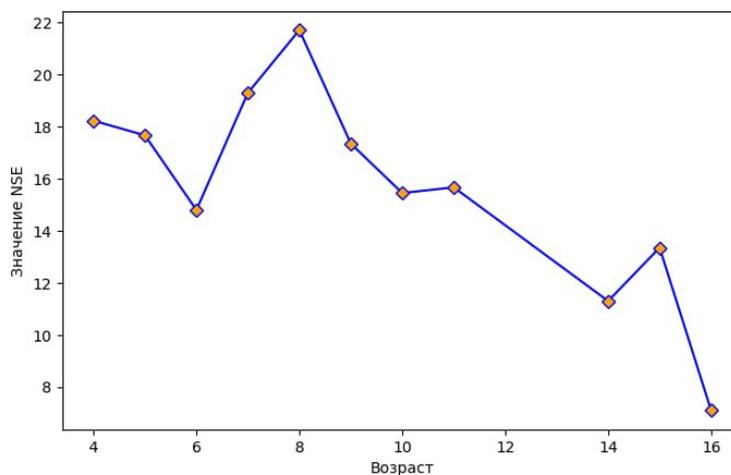


Рис.2. Распределение показателей *NSE* в зависимости от возраста в группе детей с нормальным развитием

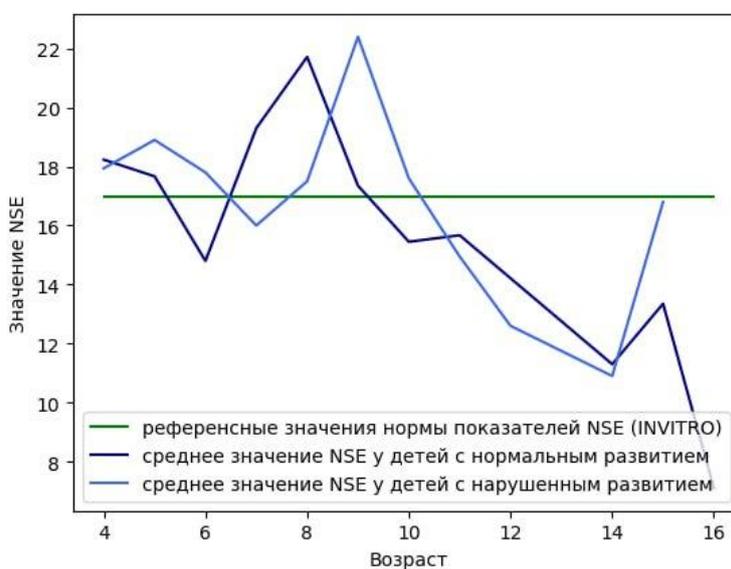


Рис.3. Распределение показателей *NSE* в группе с нарушенным развитием и в группе с нормальным развитием в зависимости от возраста относительно референсным значением нормы (17 нг/мл) лаборатории «INVITRO»

Нормальность распределения показателей между группами оценивалось при помощи теста Шапиро — Уилка. Показатели теста в группе детей с нарушенным развитием составили: 0.95, значение $p = 0.71$ (распределение нормальное), в группе детей с нормальным развитием: 0.95, значение $p = 0.337$ (распределение нормальное). Проверка равенства дисперсий проводилась тестом Левена. Полученные результаты говорят о сопоставимой дисперсии между группами: 0.737, значение $p = 0.395$.

Исходя из полученных данных, для оценки гипотезы о разнице показателей *NSE* в группах детей с нарушенным развитием и детей с нормальным развитием, нами выбран t тест Стьюдента: где нулевая гипотеза – разницы в значении *NSE* между детьми с нормальным развитием и детьми с нарушенным развитием – нет, альтернативная гипотеза - разница в значении *NSE* между детьми с нормальным развитием и детьми с нарушенным развитием - есть. Значение t тест Стьюдента составило: 0,737, значение $p = 0.464$.

В результате полученных данных нельзя исключить нулевую гипотезу. Гипотеза «разницы в значении *NSE* между детьми с нормальным развитием и детьми с нарушенным развитием – нет» - с высокой вероятностью верна.

Обсуждение. Полученные нами результаты говорят о неспецифичности увеличенных показателей *NSE* как маркера, характерного для детей с нарушением развития. Здоровые дети с нормальным развитием также имеют тенденцию к увеличению данных показателей в определенные периоды жизни. Отсюда

возникает вопрос: только ли острые нарушения в работе нервной системы, воспалительные изменения, ранние последствия травм и пр. могут быть причиной повышения НСБ в детском возрасте, или же увеличение этих маркеров возможно в нормально развивающемся мозге ребенка?

В процессе онтогенеза одни и те же биохимические механизмы отвечают как за гибель нервных клеток, так и за их защиту. Различные функции актуальны для определенных периодов развития нервной системы. Процессы апоптоза и синаптического прунинга в организме человека пока изучены недостаточно, поэтому их сложно привязать к определенному возрасту ребенка. Известно, что в первые годы жизни апоптоз и синаптический прунинг происходят наиболее интенсивно, так как при рождении в мозге ребенка имеется избыточное количество нейронов и неактивных связей между ними. Однако процессы гибели и появления новых нейронов не завершаются в детстве, а продолжают всю жизнь. Известно, что для детей с нарушением развития процессы прунинга, миелинизации и плановой гибели нейронов могут быть сдвинуты во времени [11].

Можно предположить, что повышение уровня НСБ у детей связано с этими процессами и не является признаком нейровоспаления.

В настоящее время показатели НСБ у здоровых детей недостаточно изучены, нормальные референсные показатели НСБ у детей отличаются от взрослых, но все-таки не имеют выраженных количественных отличий в зависимости от возраста ребенка. Так, референсные значения нормы в лабораториях «Хеликс» и «KDL» - 0 - 16,3 нг/мл, в лаборатории «Гемотест» - 17,0 нг/мл, в лаборатории «INVITRO» имеются отличия в зависимости от возраста детей, но только до 3 месяцев жизни ребенка (<1 месяца <59,8 нг/мл; 1 - 3 месяца <21,4 нг/мл; старше 3 месяцев < 17,0 нг/мл).

Заключение. Полученные результаты показывают отсутствие связи между повышением концентрации *NSE* и нарушением развития детей. В группе детей с нормальным развитием показатели *NSE* значимо не отличаются от показателей *NSE* детей с нарушенным развитием. При этом, определяется взаимосвязь с возрастом исследуемых детей в обеих группах. Чем младше дети – тем выше показатели *NSE*. Видимые отличия от референсных значений показателей нормы, лаборатории в которой проводилось исследование, имеются в обеих исследовательских группах. В настоящее время, нет достоверных данных о том, какой уровень концентрации НСБ считается оптимальным для детей дошкольного и школьного возраста с учетом возможных сдвигов критических периодов. Зависимость показателей НСБ от возраста нуждается в дальнейшем изучении и, возможно, в будущем повлияет на коррекцию референсных значений у детей разных возрастных групп.

Выводы:

1. Результаты нашего исследования показали, что увеличенные показатели *NSE* встречаются как в группе детей с нарушенным развитием, так и в группе детей с нормальным развитием; достоверно значимой разницы между этими группами не обнаружено.

2. Повышенные показатели *NSE* у детей с нормальным и нарушенным развитием имеют достоверно значимую взаимосвязь с возрастом ребенка: чем младше ребенок, тем более вероятны увеличенные показатели *NSE*.

Литература

1. Голосная Г.С. Роль нейроспецифических белков в диагностике тяжелых поражений мозга у новорожденных детей. Актуальные вопросы диагностики и фармакотерапии в педиатрии). Лекции для практикующих врачей: X конгресс «Человек и лекарство» М. 2004. С. 189-207.

2. Голосная Г.С., Маркевич К.А. Диагностические возможности иммуоферментного метода определения нейроспецифических белков у новорожденных детей с перинатальным поражением ЦНС. [тезис]. Тезисы IX Всероссийской научно-практической конференции «Молодые ученые в медицине» Казань. 2004. С. 61.

3. Голосная Г.С., Петрухин А.С., Маркевич К.А., Трифонова О.Е. Изменение уровня белка *S100* у новорожденных с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС // Педиатрия. 2004. Т. 83. № 1. С. 10–15.

4. Николаева Е.И. Функциональные роли нейронных сетей в раннем детском возрасте // Вопросы психологии. 2021. Т. 67. № 5. С. 15–29.

5. Разумникова О.М., Николаева Е.И. Онтогенез тормозного контроля когнитивных функций и поведения: монография. Новосибирск: изд-во НГТУ, 2021. 159 с.

6. Ayaydin H., Kirmir A., Çelik H., Akaltun İ., Koyuncu İ. Bilgen Ulgar Ş. High Serum Levels of Serum 100 Beta Protein, Neuron-specific Enolase, Tau, Active Caspase-3, M30 and M65 in Children with Autism Spectrum Disorders. Clinical psychopharmacology and neuroscience: the official scientific journal of the Korean College of Neuropsychopharmacology, 2020. 123 p.

7. Berthold F., Engelhardt-Fahrner U., Schneider A., Schumacher R., Zieschang J. Age dependence and prognostic impact of neuron specific enolase (NSE) in children with neuroblastoma // In Vivo. 1991. №5(3). P. 245–247.
8. Developmental profile of neuron-specific (NSE) and non-neuronal (NNE) enolase / Marangos P. J., Schmechel D. E., Parma A. M., Goodwin F.K. P., 1980.
9. Ferraro S., Braga F., Luksch R., Terenziani M., Caruso S., Panteghini M. Measurement of Serum Neuron-Specific Enolase in Neuroblastoma: Is There a Clinical Role? // Clin Chem. 2020. №66(5). P. 667–675. doi: 10.1093/clinchem/hvaa073.
10. Ishiguro Y., Kato K., Shimizu A., Ito T., Nagaya M. High levels of immunoreactive nervous system-specific enolase in sera of patients with neuroblastoma // Clin Chim Acta 1982. № 121. P. 173–180.
11. Nikolaeva E.I., Efimova V.L., Vergunov E.G. Integration of Vestibular and Auditory Information in Ontogenesis // Children. 2022. №9. P. 401.

References

1. Golosnaja GS. Rol' nejospecificheskikh belkov v diagnostike tjazhelyh porazhenij mozga u novorozhdennyh detej. Aktual'nye voprosy diagnostiki i farmakoterapii v pediatrii» [The role of neurospecific proteins in the diagnosis of severe brain lesions in newborn children. Topical issues of diagnostics and pharmacotherapy in pediatrics]. Lekcii dlja praktikujushchih vrachej: H kongress «Chelovek i lekarstvo» M; 2004. Russian.
2. Golosnaja GS, Markevich KA. Diagnosticheskie vozmozhnosti immunofermentnogo metoda opredelenija nejospecificheskikh belkov u novorozhdennyh detej s perinatal'nym porazheniem CNS [Diagnostic capabilities of the enzyme immunoassay method for the determination of neurospecific proteins in newborns with perinatal CNS lesion]. [tezis]. Tezisy IX Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii «Molodye uchenye v medicine» Kazan'; 2004. Russian.
3. Golosnaja GS, Petruhin AS, Markevich KA, Trifonova OE. Izmenenie urovnja belka S100 u novorozhdennyh s perinatal'nym gipoksicheskim porazheniem CNS [Changes in the level of S100 protein in newborns with perinatal hypoxic CNS lesion]. Pediatrija. 2004;83(1):10-5. Russian.
4. Nikolaeva EI. Funkcional'nye roli nejronnyh setej v rannem detskom vozraste [Functional roles of neural networks in early childhood]. Voprosy psihologii. 2021;67(5):15-29. Russian.
5. Razumnikova OM, Nikolaeva EI. Ontogenez tormoznogo kontrolja kognitivnyh funkcij i povedenija: monografija [Ontogenesis of inhibitory control of cognitive functions and behavior: monograph]. Novosibirsk: izd-vo NGTU; 2021. Russian.
6. Ayaydin H, Kirmit A, Çelik H, Akaltun İ, Koyuncu İ. Bilgen Ulgar Ş. High Serum Levels of Se-rum 100 Beta Protein, Neuron-specific Enolase, Tau, Active Caspase-3, M30 and M65 in Children with Autism Spectrum Disorders. Clinical psychopharmacology and neuroscience: the official scientific journal of the Korean College of Neuropsychopharmacology, 2020.
7. Berthold F, Engelhardt-Fahrner U, Schneider A, Schumacher R, Zieschang J. Age dependence and prognostic impact of neuron specific enolase (NSE) in children with neuroblastoma. In Vivo. 1991;5(3):245-7.
8. Marangos PJ, Schmechel DE, Parma AM, Goodwin FK. Developmental profile of neuron-specific (NSE) and non-neuronal (NNE) enolase P.; 1980.
9. Ferraro S, Braga F, Luksch R, Terenziani M, Caruso S, Panteghini M. Measurement of Serum Neuron-Specific Enolase in Neuroblastoma: Is There a Clinical Role? Clin Chem. 2020;66(5):667-75. DOI: 10.1093/clinchem/hvaa073.
10. Ishiguro Y, Kato K, Shimizu A, Ito T, Nagaya M. High levels of immunoreactive nervous system-specific enolase in sera of patients with neuroblastoma. Clin Chim Acta 1982;121:173-80.
11. Nikolaeva EI, Efimova VL, Vergunov EG. Integration of Vestibular and Auditory Information in Ontogenesis. Children. 2022;9:401.

Библиографическая ссылка:

Ефимова В.Л., Голосная Г.С., Николаева Е.И., Коньшина Н.В., Новожилов А.В. Возрастная динамика показателей нейроспецифических белков у детей с нарушением развития и детей с нормальным развитием // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2023. №6. Публикация 1-1. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2023-6/1-1.pdf> (дата обращения: 07.11.2023). DOI: 10.24412/2075-4094-2023-6-1-1. EDN LQQIGW*

Bibliographic reference:

Efimova VL, Golosnaja GS, Nikolayeva EI, Konshina NV, Novozhilov AV. Vozrastnaja dinamika pokazatelej nejospecificheskikh belkov u detej s narusheniem razvitiya i deiej s normal'nym razvitiem [Age dynamics of neuron-specific proteins indicators in children with developmental disorders and in children with normal development]. Journal of New Medical Technologies, e-edition. 2023 [cited 2023 Nov 07];6 [about 6 p.]. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2023-6/1-1.pdf>. DOI: 10.24412/2075-4094-2023-6-1-1. EDN LQQIGW
* номера страниц смотреть после выхода полной версии журнала: URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2023-6/e2023-6.pdf>

**идентификатор для научных публикаций EDN (eLIBRARY Document Number) будет активен после загрузки полной версии журнала в eLIBRARY