

КЛИНИКО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ СОПОСТАВЛЕНИЕ ВЫРАЖЕННОСТИ  
КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ И УРОВНЯ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА У БОЛЬНЫХ  
ДЕТСКИМ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ*Дина Дамировна Гайнетдинова, Дина Вадимовна Айзатулина**Казанский государственный медицинский университет, кафедра неврологии, нейрохирургии и  
медицинской генетики, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49, e-mail: dina34@rambler.ru*

Реферат. Обследованы 71 больной детским церебральным параличом и 40 здоровых детей. Изучены выраженность клинических симптомов заболевания по балльной оценочной шкале и уровень цитогенетических нарушений в клетках периферической крови. Проведен корреляционный анализ уровня цитогенетических нарушений и тяжести клинических проявлений заболевания. Выявлена высокая корреляция между уровнем цитогенетических нарушений в эритроцитах периферической крови у больных ДЦП и выраженностью клинических проявлений заболевания.

Ключевые слова: детский церебральный паралич, цитогенетические нарушения, нестабильность генома.

БАЛАЛАР ЦЕРЕБРАЛЬ ПАРАЛИЧЫ БЕЛ•Н АВЫРГАН  
КЕШЕЛ•РД• ГЕНОМНЫ• ТОТРЫКСЫЗЛЫК  
Д•Р•••СЕ ••М АВЫРУ БИЛГЕЛ•РЕ ЧАГЫЛЫШЫН  
КЛИНИК-ЦИТОГЕНЕТИК ЧАГЫШТЫРУ

Дин• Дамир кызы Гайнетдинова,  
Дин• Вадим кызы Айзатулина

Казан д•ул•т медицина университеты, неврология,  
нейрохирургия һ•м медицина генетикасы кафедрасы  
420012, Казан ш•һ•ре, Бутлеров урамы, 49 нчы йорт,  
e-mail: dina34@rambler.ru

Балалар церебраль параличы бел•н чирл•г•н 71 авыру  
һ•м сау-с•лам•т 40 бала тикшерелг•н. Периферик кан  
куз•н•кл•ренд•ге цитогенетик бозылу д•р•••се, чирне•  
клиник симптомнарыны• баллар бел•н бял•нүче шкала  
чагылышы тикшерелде. Чирне• клиник билгел•рене•  
кыенлыгына һ•м цитогенетик бозылулар д•р•••сен•  
корреляцион анализ уздырылды. Балалар церебраль паралич  
бел•н авырган кешел•рд•ге периферик кан эритро-  
цитларында цитогенетик бозылулар д•р•••се бел•н чирне•  
клиник билгел•ре чагылышы арасында югары корреляция  
булуы ачыкланды.

Төп төшенч•л•р: балалар церебраль параличы,  
цитогенетик бозылулар, геномны• тотрыксызлыгы.

CLINICAL AND CYTOGENETIC COMPARISON OF  
CLINICAL MANIFESTATIONS EXPRESSIVENESS AND  
GENOME INSTABILITY LEVEL IN PATIENTS WITH  
CHILDISH CEREBRAL PALSY

Dina Damirovna Gainetdinova, Dina Vadimovna Aizatullina

The Kazan State Medical University, chair of neurology,  
neurosurgery and medical genetics, 420012, Kazan,  
Butlerov street, 49, e-mail: dina34@rambler.ru

There were investigated 71 patients with childish cerebral palsy and 40 healthy children. Expressiveness of the disease clinical symptoms and cytogenetic lesion level in peripheric blood

cells according to a ball evaluating scale were studied. Correlation analysis of cytogenetic lesion level and severity of the disease clinical manifestations was performed. It was revealed a high correlation between cytogenetic lesion level in peripheric blood erythrocytes in patients with childish cerebral palsy and expressiveness of the disease clinical manifestations.

Key words: childish cerebral palsy, cytogenetic lesions, genome instability.

Детский церебральный паралич (ДЦП) во всех странах мира в структуре хронических заболеваний центральной нервной системы детей и детской инвалидности занимает одно из ведущих мест, являясь широко распространенным страданием [10]. Частота ДЦП относительно постоянна в последние десятилетия (от 1,7 до 3,1 на 1000 детского населения) и практически не зависит от качества родовспоможения, частоты перинатальной асфиксии и ухода за новорожденным и недоношенным ребенком [1]. Несмотря на стабильный интерес исследователей к проблеме ДЦП, на современном этапе развития медицины не представляются возможными ни его внутриутробное прогнозирование, ни этиотропная терапия, а также не существует достаточно эффективных методов восстановительного лечения, особенно в тех случаях, когда терапия начата несвоевременно и/или имеются диффузные и грубые поражения головного мозга. Поэтому в настоящее время наиболее актуально изучение этиологических и патогенетических механизмов реализации патогенных воздействий на нервную систему ребенка.

Необычные ответные реакции проявляются у индивидуумов, которые по своему генетическому статусу значительно отличаются от моды распределения в популяции [2]. Косвенным доказательством стойкости церебральной

патологии при ДЦП может быть регистрация у ребенка, больного ДЦП, нестабильности генома [6]. Феномен нестабильности генома рассматривается как постоянно действующий фактор, интегрированный в общую систему патогенеза при ДЦП. В то же время различные патогенетические звенья заболевания могут стать причиной повреждения генетического аппарата у больных с ДЦП, утяжеляя течение заболевания и снижая эффективность терапии [5, 11].

Установление взаимосвязи выраженности клинических проявлений заболевания с уровнем нестабильности генома у больных ДЦП может существенно расширить представление об этиологии и патогенезе этого заболевания, определить выбор объема и тактики медикаментозной и реабилитационной терапии.

Целью данного исследования было изучение взаимосвязи между уровнем цитогенетических нарушений в клетках периферической крови и выраженностью клинических проявлений заболевания у больных ДЦП.

Нами были обследованы 44 мальчика и 27 девочек (71 чел.) в возрасте от 7 до 17 лет, больных различными формами ДЦП и находившихся на регулярном комплексном лечении в школе-интернате для детей с нарушениями нервной системы и опорно-двигательного аппарата г. Казани. У всех детей был сохранен интеллект, позволяющий им получить среднее образование.

Больных распределили по формам заболевания согласно классификации К.А. Семеновой [7]: со спастической диплегией было 33 (47%) человека, с гемипаретической — 25 (35%), с гиперкинетической — 13 (18%). Мальчиков, больных спастической диплегией, оказалось в 2 раза больше, чем девочек. Группа контроля была сопоставима по полу и возрасту и состояла из 40 практически здоровых школьников (20 мальчиков и 20 девочек).

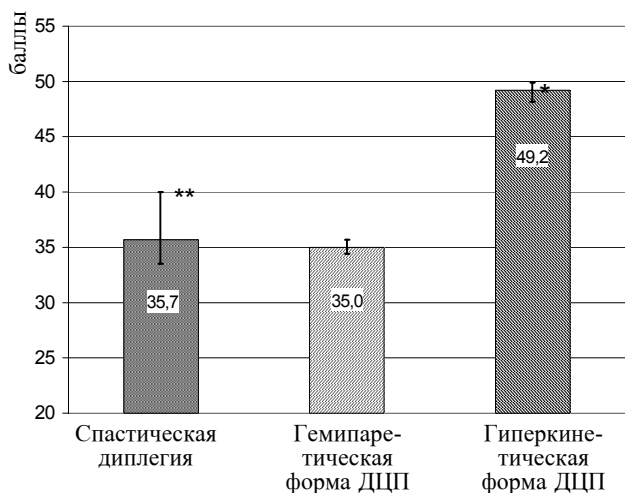
Каждого больного обследовали с использованием балльной шкалы оценки выраженности клинических симптомов [6]. Шкала включала в себя 22 клинических показателя, отражающих способности в сфере самообслуживания, степень двигательного дефицита, показатели психоэмоциональной сферы, сенсорных функций и иммунной системы. Каждый показатель оценивали от 0 до 5 баллов, и чем выраженнее были нарушения, тем более высоким становилось число баллов у больного. По сумме баллов оценивали выраженность клинических проявлений заболевания.

Цитогенетические нарушения исследовали в эритроцитах периферической крови микроядерным тестом [4]. Кровь брали до начала медицинского и реабилитационного лечения у детей, которые в течение 30 дней до исследования не использовали медикаментозные препараты и у них не отмечалось острой инфекции и обострений хронической патологии. У здоровых детей кровь брали при плановых диспансерных обследованиях. Свежие высушенные мазки фиксировали 90—70% этиловым спиртом 3 минуты. Сухие препараты окрашивали в растворе азур-эозинового красителя Романовского—Гимзы в соотношении 1:5 на дистиллированной воде pH 6,8 20 минут и хорошо промывали. От каждого человека изучалось 1-2 мазка, в каждой мазке просматривалось не менее 20 000 эритроцитов, среди которых подсчитывались эритроциты с микроядрами. Число эритроцитов с микроядрами (ЭМ)\* выражали в процентах от общего числа просмотренных эритроцитов.

Использовали параметрический t-критерий Стьюдента, корреляционный анализ (origin 6,0).

Оценка клинических показателей показала, что в группе больных спастической диплегией и гемипаретической формой выраженность клинических проявлений была практически одинаковой — соответственно 35,7 и 35,0 баллов (рис.1). Наиболее выраженные нарушения самообслуживания, двигательного дефицита, сенсорных функций достоверно преобладали у детей с гиперкинетической формой (49,2 балла) по сравнению с другими формами ДЦП ( $p < 0,05$ ). В группе больных спастической диплегией степень тяжести двигательных нарушений, задержка темпов мыслительных процессов достоверно преобладали у девочек по сравнению с мальчиками (соответственно 40,0 и 33,5;  $p < 0,05$ ). При других формах ДЦП половых различий в степени выраженности заболевания не обнаружено.

\*Микроядра — ядерные структуры, которые впервые были обнаружены в эритроцитах и в настоящее время обозначаются в этих клетках как тельца Жолли. Считается, что ЭМ формируются в цитоплазме эритронобластов на стадии ана-телофазы из ацентрической хромосомы как результат неверного расхождения хромосом после воздействия какого-либо мутагенного фактора. Установлена прямая корреляция между результатами, полученными с использованием цитологического теста и метода анализа хромосом в препаратах метафазных пластинок. При этом показано, что уровень клеток с мелкими микроядрами (размер — менее 1/10 диаметра эритроцита) коррелирует с частотой нарушений структуры хромосом, тогда как образование более крупных микроядер связано с геномными нарушениями хромосомного аппарата [2].



**Рис. 1. Выраженность клинических проявлений в баллах у обследованных больных, распределенных по формам ДЦП и полу.**

\* Различие по сравнению с другими формами ДЦП ( $p < 0,05$ ); \*\* различие числа баллов у девочек (40,0) по сравнению с мальчиками (33,5) в этой же группе ( $p < 0,05$ ).

*Таблица*  
**Распределение числа эритроцитов с микроядрами у больных ДЦП по клиническим формам заболевания и по полу**

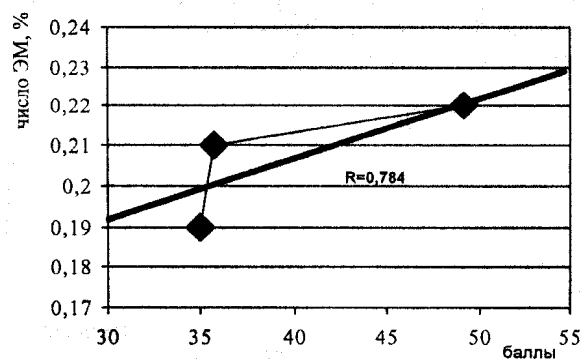
Формы ДЦП	Среднее число эритроцитов с микроядрами, %		
	мальчики	девочки	в группе
Спастическая диплегия	0,21	0,20	0,21
Гемипаретическая форма	0,19	0,20	0,19
Гиперкинетическая форма	0,18	0,25**	0,22*
Здоровые	0,08	0,07	0,08

\* Различие числа ЭМ в группе больных с гиперкинетической формой по сравнению с другими формами ( $p < 0,05$ ), \*\* различие числа ЭМ у девочек с гиперкинетической формой по сравнению с девочками, больными другими формами ( $p < 0,05$ ).

В контрольной группе здоровых школьников среднее число ЭМ составляло 0,08%. Число ЭМ в периферической крови больных ДЦП достоверно превышало уровень спонтанного мутагенеза (в группе контроля) — соответственно 0,21% и 0,08% ( $p < 0,001$ ). Показатель варьировал в пределах от минимальных (0,19%) при гемипаретической форме до максимальных (0,22%) при гиперкинетической (см. табл.). Статистически достоверные различия были получены при сравнении значений числа ЭМ у больных с гиперкинетической формой по сравнению с другими формами ДЦП ( $p < 0,05$ ). Достоверных половых различий в группах спастической

диплегии с гемипаретической и гиперкинетической формами установить не удалось ( $p > 0,05$ ), вероятно, вследствие небольшой выборки. Однако выявлено достоверное преобладание уровня цитогенетических нарушений в эритроцитах у девочек, больных гиперкинетической формой, по сравнению с показателями у девочек, больных спастической диплегией и гемипаретической формой (соответственно 0,25% и по 0,20%;  $p < 0,05$ ).

Изучение корреляции между тяжестью клинических проявлений заболевания и уровнем цитогенетических изменений у больных с различными формами ДЦП обнаружило прямую корреляцию между количеством баллов и числом ЭМ ( $r = 0,784$ ) (рис. 2), т.е. чем выше уровень цитогенетических нарушений в периферической крови больного ДЦП, тем резче клинические проявления заболевания.



**Рис.2. Корреляция между уровнем цитогенетических нарушений и выраженностью клинических проявлений у больных ДЦП.**

Таким образом, настоящее исследование показало, что из всех клинических форм ДЦП наиболее тяжелая клиническая картина наблюдается у детей с гиперкинетической формой, что согласуется с данными литературы [7]. Однако небольшая выборка этой группы больных требует уточнения полученных предварительных данных.

Выраженность клинических нарушений в сфере самообслуживания, уровень двигательного дефицита, задержка темпов мыслительных процессов достоверно преобладали у девочек, больных спастической диплегией, по сравнению с выраженностью клинических симптомов у мальчиков, больных этой же формой. Известно, что в популяции мальчики страдают спастической диплегией чаще, чем девочки, т.е. являются чаще поражаемым полом при этой форме ДЦП [3]. По результатам данного исследования оказалось, что спастическая диплегия проявляется более

выраженной симптоматикой у девочек, чем у мальчиков, т.е. редко поражаемый пол страдает тяжелее. Такие половые различия прослеживаются при заболеваниях с наследственным предрасположением или при полигенных заболеваниях [2].

Высокий уровень ЭМ периферической крови свидетельствует о дестабилизации генетического аппарата (генома) у больных ДЦП, причем у каждого обследуемого. Как было изложено выше, тяжесть клинических симптомов при гиперкинетической форме более выражена, чем при других формах ДЦП. Цитогенетический анализ показал, что именно при этой форме анеугенный эффект достоверно выше. Эти данные могут свидетельствовать о существовании более интенсивных процессов кластогенеза при гиперкинетической форме. Кроме того, дефекты веретена деления, возникающие в процессе созревания эритроцитов в костном мозге, проявляются интенсивнее у девочек, чем у мальчиков, больных гиперкинетической формой. Данный факт не исключает, что в этиологии и патогенезе гиперкинетической формы именно у девочек генетическая детерминированность имеет немаловажное значение. В ходе данного исследования выявлена высокая корреляция между уровнем цитогенетических нарушений в эритроцитах периферической крови у больных ДЦП и выраженностью клинических проявлений заболевания. Данная взаимосвязь позволяет предположить существование в патогенезе ДЦП активных процессов эндомутагенеза, утяжеляющих течение заболевания и препятствующих успешной терапии и реабилитации. Однако процессы, провоцирующие и поддерживающие нестабильность генома у детей с ДЦП, остаются неизвестными.

Существует мнение, что наиболее частой причиной двигательных нарушений при ДЦП, особенно при спастической диплегии, является патология перивентрикулярной области [8]. Патологические изменения в структурах перивентрикулярной области могут быть инициированы во внутриутробном периоде, во время родов и продолжаться на протяжении всего детства. С этих позиций патология перивентрикулярной области может рассматриваться как текущий, возможно, иммунопатологический процесс, в условиях которого запускаются механизмы типового патологического процесса — гипоксии [9]. Последняя приводит к формированию оксидантного стресса в тканях организма, в том числе в ЦНС. Основными участниками свободно-радикальных процессов

являются свободные формы кислорода [5]. В условиях напряженности антиоксидантной и антимуtagenной защиты процессы эндомутагенеза нарастают и могут приводить к дестабилизации генома. В литературе имеются данные о наличии напряженности антиоксидантной системы защиты у больных с ДЦП [7]. Возможно, именно свободно-радикальные процессы служат “поставщиками” токсических химических соединений эндогенной природы, обладающих мутагенными свойствами. Такие эндомутагены, патологически воздействуя на красный костный мозг, могут приводить к формированию цитогенетических нарушений в клетках периферической крови у больных ДЦП. Безусловно, эти предположения требуют дальнейшего изучения патогенеза ДЦП, механизмов, приводящих к дестабилизации генома у больных этим инвалидизирующим заболеванием.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Барашинёв Ю.И. Перинатальная неврология. — М.: Триада-Х, 2001. — 640 с.
2. Бочков Н.П. Клиническая генетика. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. — 448 с.
3. Гайнетдинова, Д.Д. Клинико-томографическое и иммуногенетическое исследование больных детским церебральным параличом / Д.Д. Гайнетдинова, М.Ф. Исмагилов, В.В. Семенов, И.А. Пахалина // Журнал неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. — 2005. — № 2. — С. 55—58.
4. Козинец, Г.И. Клетки крови — современные технологии их анализа / Г.И. Козинец, В.М. Погорелов, Д.А. Шмаров, С.Ф. Боев, В.В. Сазонов — М.: Триада-Фарм, 2002. — 536 с.
5. Кржановский Г.Н. (Под ред.). Дизрегуляторная патология. — М.: Медицина, 2001. — 632с.
6. Методические рекомендации Минздрав СССР “Организация центров воспитания детей”. — М., 1990. — 24с.
7. Семенова К.А. Восстановительное лечение детей с перинатальным поражением нервной системы и детским церебральным параличом. — М.: Закон и порядок, серия “Великая Россия. Наследие”, 2007. — 616 с.
8. KuE, W., Sobaniec W., GoE M., OleE J., Okurowska-Zawada B. Clinical and neuroimaging profile of congenital brain malformations in children with spastic cerebral palsy / W. KuE, W. Sobaniec, E M Go., E. J. Ole, B. Okurowska-Zawada // Adv. Med. Sci. — 2008. - Vol. 18. — P. 1—7.
9. Lamnica, D.A., Ferraz P.M. Periventricular leukomalacia and spastic diplegia: implications in the psycholinguistic / D.A. Lamnica, P.M. Ferraz // Pro Fono. — 2007. — Vol. 19, №4. — P. 357—362.
10. Maurer U. Etiologies of cerebral palsy and classical treatment possibilities // Wien. Med. Wochensh. — 2002. — Vol.152, №.1-2. — P.14—18.
11. Schaefer G.H. Genetics considerations in cerebral palsy / Semin Pediatr Neurol. — 2008. — Vol. 15, №.1 — P. 21—26.

Поступила 22.05.08.