

<https://doi.org/10.36425/rehab79386>

## Биомаркеры детского церебрального паралича

Т.А. Камилова<sup>1</sup>, А.С. Голота<sup>1</sup>, Д.А. Вологжанин<sup>1, 2</sup>, О.В. Шнейдер<sup>1</sup>, С.Г. Щербак<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Городская больница № 40 Курортного административного района, Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Детский церебральный паралич (ДЦП) — неврологическое расстройство, связанное с непрогрессирующим повреждением или пороком развития в развивающемся мозге плода или младенца. Двигательные расстройства при церебральном параличе часто сопровождаются нарушениями чувствительности, восприятия, когнитивных функций, поведения и эпилепсией. Церебральный паралич является сложным заболеванием, которое имеет многофакторное происхождение. Эпидемиологические исследования показали, что в большинстве случаев ДЦП развивается до родов. В литературе описан ряд клинических факторов риска развития церебрального паралича, в том числе преждевременные роды, низкая масса тела при рождении, воспаление, материнские инфекции во время беременности и патология плаценты. Гипоксия при рождении может быть первичной или вторичной по отношению к ранее существовавшей патологии, но известные в настоящее время клинические факторы риска не объясняют большинства случаев. Многие из этих факторов риска могут иметь генетический компонент. Некоторые однонуклеотидные полиморфизмы, варианты числа копий ДНК и эпигенетические паттерны повышают генетическую предрасположенность к церебральному параличу. Секвенирование генома и исследование экспрессии генов могут увеличить процент случаев с генетической этиологией. Клинические факторы риска могут выступать в качестве триггеров ДЦП в случаях генетической предрасположенности. Эти новые данные должны переориентировать исследования о причинах этих сложных и разнообразных нарушений развития нервной системы на поиск биомаркеров риска развития церебрального паралича. Геномика, протеомика и метаболомика обладают огромным потенциалом для выявления диагностических и прогностических панелей биомаркеров, особенно при различных неврологических расстройствах, в том числе ДЦП.

**Ключевые слова:** детский церебральный паралич; фактор риска ДЦП; воспаление; патология плаценты; гипоксия; однонуклеотидный полиморфизм; эпигенетические паттерны; генетическая предрасположенность; секвенирование генома; экспрессия генов; биомаркер ДЦП.

**Для цитирования:** Камилова Т.А., Голота А.С., Вологжанин Д.А., Шнейдер О.В., Щербак С.Г. Биомаркеры детского церебрального паралича. *Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация*. 2021;3(3):301–317. DOI: <https://doi.org/10.36425/rehab79386>

**Поступила:** 31.07.2021 **Принята:** 01.09.2021 **Опубликована:** 14.09.2021

### Введение

Детский церебральный паралич (ДЦП) является наиболее частой причиной тяжелой нейрогенной инвалидизации у детей. ДЦП — это хроническая непрогрессирующая энцефалопатия, возникающая до рождения или в течение одного месяца после рождения; характеризуется приобретенным повреждением головного мозга и вызванным им измененным нейropsychомоторным развитием с выраженной центральной дискинезией и неправильной осанкой, а также дисфункцией интеллекта и вербального поведения [1, 2]. Хотя основным этиологическим фактором считается повреждение развивающегося мозга до, во время или после рождения, патофизиология заболевания изучена недостаточно. Наиболее распространенная форма этого состояния — спастический ДЦП (77% случаев) [3], повреждения при котором обусловлены гипоксически-ишемической энцефалопатией (ГИЭ). Такой тип повреждения возникает в случаях, когда го-

### Список сокращений

ГИЭ — гипоксически-ишемическая энцефалопатия

Г-КСФ — гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

ДЦП — детский церебральный паралич

МРТ — магнитно-резонансная томография

ЦНС — центральная нервная система

ловный мозг не получает достаточного объема кислорода и крови [4, 5]. Помимо родовой асфиксии, к причинам ДЦП относятся тромботическая плацентарная васкулопатия, церебральная атрофия, врожденные нарушения свертывания крови, врожденные инфекции, вызванные герпесом, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, стрептококками группы В и *Bacillus cereus* [5].

## Cerebral Palsy Biomarker

T.A. Kamilova<sup>1</sup>, A.S. Golota<sup>1</sup>, D.A. Vologzhanin<sup>1, 2</sup>, O.V. Shneider<sup>1</sup>, S.G. Sherbak<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Saint Petersburg City Hospital No 40, Saint Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup> Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russian Federation

Cerebral palsy is a neurological disorder that is attributed to non-progressive injury or malformation that occurred in the developing fetal or infant brain. The motor disorders in cerebral palsy are often accompanied by disturbances of sensation, perception, cognition, communication, behaviour, and by epilepsy. Cerebral palsy is a complex disorder that is likely to be of multifactorial origin. Epidemiological studies have shown that the origins of most CP are prior to labor. A number of clinical risk factors for cerebral palsy have been described in the literature including preterm birth, low birth weight, inflammation, maternal infection during pregnancy and placenta pathology. Hypoxia at birth may be primary or secondary to preexisting pathology, but the currently known clinical risk factors do not explain the majority of cases. Many of these risk factors may have a genetic component. Several single nucleotide polymorphisms, DNA copy number variations and epigenetic patterns increase genetic susceptibility for cerebral palsy. Whole genome sequencing and gene expression studies may extend the percentage of cases with a genetic pathway. Clinical risk factors could act as triggers for CP where there is genetic susceptibility. These new findings should refocus research about the causes of these complex and varied neurodevelopmental disorders on the search for biomarkers of the risk of cerebral palsy. Genomics, proteomics and metabolomics have huge potential for deepening our understanding of many complex diseases by identifying diagnostic and prognostic panels of biomarkers, especially in various neurological disorders, including cerebral palsy.

**Keywords:** cerebral palsy; cerebral palsy risk factors; inflammation; placenta pathology; hypoxia; single nucleotide polymorphisms; epigenetic patterns; genetic susceptibility; whole genome sequencing; gene expression; cerebral palsy biomarker.

**For citation:** Kamilova TA, Golota AS, Vologzhanin DA, Shneider OV, Sherbak SG. Cerebral Palsy Biomarker. *Physical and rehabilitation medicine, medical rehabilitation*. 2021;3(3):301–317. DOI: <https://doi.org/10.36425/rehab79386>

**Received:** 31.07.2021 **Accepted:** 01.09.2021 **Published:** 14.09.2021

ДЦП — гетерогенное состояние с несколькими имиджинговыми паттернами нейропатологии при визуализации мозга, ассоциированными с такими патологиями развития, как умственная отсталость, аутизм, эпилепсия и нарушения зрения [6–8]. Многофакторное повреждение центральной нервной системы (ЦНС) связано с воздействием на плод или новорожденного инфекции/воспаления и/или перинатальной гипоксической ишемии [9]. Распространенные поражения головного мозга при ДЦП включают деструктивные повреждения в белом веществе преимущественно у недоношенных, а также в сером веществе и ядрах ствола мозга у доношенных новорожденных. Изменения морфологии или функции и гибель клеток, наблюдаемые при гипоксической ишемии и воспалительных состояниях, приводящие к избыточной продукции провоспалительных цитокинов, оксидантному стрессу, депривации плацентарных факторов роста, модификации внеклеточного матрикса и чрезмерной секреции глутамата, запускают эксайтотоксический каскад и predisполагают к развитию ДЦП [5, 10–12]. Этому способствует генетическая предрасположенность к воздействию факторов окружающей среды, обусловленная редкими патогенными генетическими мутациями [13–15] и эпигенетическими вариантами [3, 16].

Нарушение в мозге, из-за которого возникает ДЦП, в большинстве случаев происходит внутриутробно между 24-й неделей беременности и рождением [3]. Повреждения, характеризующиеся диффузным поражением белого вещества, влекут за собой потерю предшественников олигодендроцитов и последующую аксональную гипомиелинизацию по мере созревания мозга. Существующие варианты лечения недоношенных детей оказались неадекватными отчасти из-за недопонимания клеточных и молекулярных изменений, которые приводят к нарушениям развития нервной системы [17]. Вмешательство в ранние постнатальные фазы нейромоторного созревания может значительно снизить глубокие эффекты ДЦП, но, несмотря на достижения в области мониторинга развития, проблемой остается своевременная диагностика. Данные имиджинговой визуализации мозга плохо коррелируют с риском и тяжестью ДЦП и не являются надежным показателем ДЦП [3]. ДЦП в результате перинатальной черепно-мозговой травмы не диагностируется до 18–24 месяцев [18]. Из-за поздней диагностики ГИЭ дети с повреждением головного мозга пропускают лучшее время лечения и остаются с различной степенью неврологических осложнений [19]. Таким образом, поиск биомаркеров для точного прогнози-

рования патологии головного мозга новорожденных становится все более актуальным.

### Патофизиология ДЦП

#### Поражения плаценты

Перинатально приобретенные неврологические расстройства, включая ДЦП и другие хронические нарушения развития, в разной степени ассоциированы с рядом различных поражений плаценты. Некоторые из этих поражений приводят к дефектам плацентарной перфузии с полной или почти полной асфиксией. Клинически у таких детей развивается ГИЭ с последующей смертью или тяжелой инвалидностью, включая ДЦП и неонатальный инсульт. До 62% доношенных детей с ацидозом при рождении и/или нуждающихся в реанимации имели идентифицируемые гипоксически-ишемические повреждения, при этом у 45% из них были нормальные результаты по магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга. Тяжесть этой травмы возрастает при низком рН пуповины. Основными типами тяжелых повреждений плаценты являются разрыв матки, острая отслойка плаценты, травмы пуповины, приводящие к полной закупорке сосудов, и кровоизлияние в плод. Клинические результаты зависят от объема кровопотери у плода относительно общего объема крови, а также от скорости кровопотери. Младенцы с уровнем гемоглобина менее 4,5 г/дл обычно имеют худшие отдаленные результаты [20].

Недоношенные младенцы и/или младенцы с низкой (<1,5 кг) и очень низкой (<1,0 кг) массой тела при рождении имеют более высокий риск неврологического повреждения, чем доношенные дети. Преждевременные роды являются фактором риска в 35% случаев ДЦП, причем распространенность ДЦП снижается с увеличением гестационного возраста [14]. Незрелость ЦНС осложняет способность ребенка восстанавливаться после таких повреждений, как воспаление, инфекция и гипоксия-ишемия, которые могут поражать как доношенных, так и недоношенных детей и способствовать развитию ДЦП. В обеих популяциях патофизиологические процессы характеризуются сочетанием генетической предрасположенности с острыми и хроническими стрессами, возникающими внутриутробно, во время перинатального и раннего неонатального периода [20].

Нарушение перфузии плаценты может быть обусловлено дефектами инвазии и ремоделирования материнских спиральных артериол с помощью вневорсинчатых трофобластов. Сопутствующие клинические проявления у матери — хроническая и/или гестационная гипертензия, преэклампсия/эклампсия и синдром позднего токсикоза беременных (гемолиз, увеличение

активности печеночных ферментов и тромбоцитопения как следствие тяжелой формы преэклампсии). Полная окклюзия артериолы приводит к инфаркту ворсинки, а разрыв может привести к отслойке плаценты. Инфаркты ворсинок, выявленные при макроскопическом исследовании, ассоциированы с ДЦП у доношенных детей, особенно со спастическим, квадриплегическим и дискинетическим типами [20].

Фактором, способствующим плохой перфузии плаценты и ограничению внутриутробного развития и преэклампсии, является отсутствие инвазии вневорсинчатых трофобластов для ремоделирования маточных артерий матери в первом и втором триместрах беременности. Неинвазивная оценка вневорсинчатых трофобластов с извлечением трофобласта из шейки матки возможна при продолжающейся беременности, начиная с трех недель от зачатия. Во вневорсинчатых трофобластах, полученных между 6-й и 20-й неделями гестации, определены белки со значимыми различиями уровней экспрессии при беременности с нормальным исходом и беременности с внутриутробными ограничениями роста или преэклампсией: PAPPA (pregnancy-associated plasma protein-A), FLT1 (fms-like tyrosine kinase-1), ENG (endoglin), AFP (alpha-fetoprotein), PGF (placental growth factor) и индуктор апоптоза LGALS14 (lectin, galactoside-binding, soluble, 14). Эти данные дают прямое доказательство связанной с патологией дисрегуляции белков в вневорсинчатых трофобластах во время ранней плацентации и обеспечивают новый подход для получения молекулярных сигнатур вневорсинчатых трофобластов, коррелирующих с исходом беременности [21].

#### Биомаркеры воспаления

Результаты экспериментальных и клинических исследований показывают, что у детей с ДЦП постоянно активны механизмы, которые предотвращают регенерацию и/или усугубляют повреждение головного мозга и повышают чувствительность мозга пациента к дальнейшим травмам. Эти процессы и их последствия определяются как третичное повреждение головного мозга. В сочетании с острыми и вторичными клеточными реакциями, такими как гибель клеток и метаболические нарушения, фаза третичного повреждения может сохраняться в течение месяцев или лет после исходного повреждения. Эти активные процессы могут быть мишенью фармакологического лечения для улучшения долгосрочного неврологического исхода у пациентов с ДЦП. У 7-летних детей с ДЦП выявлено увеличение концентрации TNF-α и других провоспалительных цитокинов в плазме. Посколь-

ку повышение периферических уровней цитокинов является маркером церебрального воспаления, эти данные свидетельствуют о том, что измененный воспалительный ответ сохраняется в течение не менее 7 лет после повреждения головного мозга у пациентов с ДЦП. Он может способствовать усилению клинической симптоматики и прогрессированию заболевания; распознавание и блокирование такого стойкого воспаления может иметь терапевтическую ценность [22].

Постоянная активация или накопление воспалительных цитокинов может препятствовать восстановлению функции головного мозга после повреждения, нарушает созревание олигодендроцитов, ограничивает регенерацию нейронов, ухудшает образование синапсов и способствует развитию ДЦП. Плазменный уровень TNF- $\alpha$  измеряли у детей со спастическим ДЦП и сопоставимых по возрасту детей контрольной группы. Общую двигательную функцию и повседневную активность оценивали до и через 6 месяцев после реабилитации. Концентрация TNF- $\alpha$  в плазме крови у пациентов с ДЦП была выше, чем у детей контрольной группы ( $p < 0,001$ ), причем у младших пациентов (1–3 лет) уровни TNF- $\alpha$  были значительно выше, чем у старших (4–12 лет) ( $p < 0,001$ ). Следовательно, хотя воспалительный ответ ослабевает с возрастом, симптомы церебрального паралича не обязательно улучшаются. Уровни TNF- $\alpha$  до реабилитации коррелировали с увеличением повседневной активности после реабилитации ( $p < 0,001$ ) [23]. Это означает, что плазменная концентрация TNF- $\alpha$  является предиктивным фактором эффективности реабилитационной терапии у больных ДЦП.

У недоношенных новорожденных, подвергшихся внутриутробному воспалению, повышен риск развития неврологических расстройств. Концентрации семи связанных с воспалением белков измеряли в крови 763 детей, родившихся до 28 недель беременности, в 1-й, 7-й и 14-й постнатальные дни. Риск повреждения белого вещества мозга увеличивается, когда воспаление плаценты сопровождается стойким повышением уровня С-реактивного белка или ICAM1 (intercellular adhesion molecule 1). То же самое установлено для спастического ДЦП, когда воспаление плаценты сопровождалось повышением TNF- $\alpha$  или IL-8. Наличие плацентарного воспаления и повышенных уровней цитокинов IL-6, TNF- $\alpha$  или ICAM-1 связано с повышенным риском микроцефалии. Два воспалительных удара — дородовой и послеродовой — связаны с более высоким риском аномалий, выявляемых при ультразвуковом исследовании мозга, спастического ДЦП и микроцефалии

через 2 года после рождения. Эти наблюдения подтверждают гипотезу о том, что воспаление плаценты, сопровождаемое постнатальным системным воспалением, предрасполагает к повреждению белого вещества, выявляемому при ультразвуковом исследовании черепа, ДЦП, низким показателям развития и микроцефалии. Поскольку в перемежающемся или длительном системном воспалении, наблюдаемом у глубоко недоношенных новорожденных, участвует множество белков из многих функциональных категорий, авторы полагают, что отдельные цитокины являются лишь предвестниками этого воспаления, а не мишенью в патогенезе повреждения головного мозга. Детекция модуляторов воспаления плода и/или новорожденного имеет решающее значение для разработки профилактических и терапевтических вмешательств, направленных на снижение риска повреждения белого вещества недоношенных новорожденных и неблагоприятного исхода развития нервной системы [24].

Церебральная ишемия вызывает нейровоспаление, которое может вызвать гибель нервных клеток. Неблагоприятный неврологический исход в 18 месяцев определяли как индекс умственного развития  $< 85$ , глухоту, слепоту, ДЦП или эпилепсию. Уровни цитокинов FasL (Fas ligand), IL-6 и рецептора IL-6 (IL-6R) в спинномозговой жидкости после перинатальной асфиксии коррелируют с тяжестью ГИЭ, которая классифицируется как легкая (ГИЭ-I), умеренная (ГИЭ-II) или тяжелая (ГИЭ-III), и могут служить биомаркерами гипоксического повреждения головного мозга у новорожденных. Сыворточный IL-6 идентифицирован как независимый предиктор неблагоприятного исхода у выживших пациентов с ГИЭ. Тем не менее уровень IL-6 в спинномозговой жидкости может быть лучшим предиктором неблагоприятных результатов, так как локальные профили цитокинов могут формироваться вторичными реакциями на повреждение и часто слабо отражаются в плазме. Цитокин FasL, играющий ключевую роль в апоптозе, положительно коррелирует как со степенью ГИЭ, так и с ее неблагоприятными отдаленными исходами. Уровни медиаторов воспаления FasL, IL-6 и IL-6R повышены у пациентов с ГИЭ-III и ГИЭ-II по сравнению с уровнями у пациентов с ГИЭ-I ( $p < 0,0001$ ), тогда как у всех детей без ГИЭ — ниже предела обнаружения. Различий между группами ГИЭ-II и ГИЭ-III не было. Поскольку концентрации IL-6 и FasL в спинномозговой жидкости положительно коррелируют с плохими 18-месячными клиническими исходами ( $p < 0,0001$ ), они могут быть полезны в качестве биомаркеров тяжести гипоксического по-



вреждения головного мозга и для прогнозирования отдаленного исхода, в том числе риска ДЦП после перинатальной асфиксии. Комбинация этих маркеров повышает их прогностическую ценность [25].

В систематическом обзоре R. C. Magalhães и соавт. [2] тщательно проанализированы исследования, отобранные с помощью строгих критериев включения, о взаимосвязи между молекулами воспаления и развитием нервной системы у детей с ДЦП. Установлено, что высокие уровни провоспалительных факторов в крови связаны с аномальными неврологическими проявлениями у пациентов с церебральным параличом [2]. Острый воспалительный ответ приводит к гибели нейронов и, как следствие, к длительным двигательным, сенсорным и когнитивным нарушениям. Повреждения нейронов вызывают каскад иммунных реакций, включая ассоциированное с неблагоприятными неврологическими исходами повышение уровня циркулирующих цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  и хемокина IL-8/CXCL8. Важно подчеркнуть, что развитие мозга после повреждения, связанного с воспалением, является не статическим событием, а сложным и динамичным процессом, в котором на протяжении всей жизни участвуют несколько клеточных и молекулярных механизмов. Системный воспалительный ответ, характеризующийся повышенными уровнями цитокинов, может приводить к активации цереброваскулярного эндотелия и окружающих клеток, способствуя разрушению гематоэнцефалического барьера. Как следствие, происходит инфильтрация циркулирующих иммунных клеток и переполнение ткани мозга компонентами плазмы, что приводит к повреждению головного мозга. Нейровоспаление, которое играет центральную роль в патогенезе повреждения головного мозга, характеризуется инфильтрацией лейкоцитов в паренхиму головного мозга с активацией микроглии и астроцитов, гибелью нейронов и нарушением развития белого вещества.

Возможные механизмы, с помощью которых воспаление способствует раннему повреждению головного мозга:

- 1) снижение притока крови к ЦНС и доступности кислорода и глюкозы;
- 2) разрушение гематоэнцефалического барьера;
- 3) инфильтрация лейкоцитов в ЦНС;
- 4) повышенное выделение цитокинов и хемокинов в паренхиме головного мозга;
- 5) митохондриальная дисфункция;
- 6) увеличение притока кальция, высвобождение нейротоксинов, продукция активных форм кислорода и оксида азота;
- 7) отек головного мозга.

Эти механизмы связаны с апоптозом нейронов и глиальных клеток с последующей потерей функций ЦНС. Таким образом, повреждение головного мозга и длительные функциональные нарушения являются результатом нарушения баланса между механизмами повреждения и эндогенной защитой. Кроме того, противовоспалительные и неадекватные регуляторные ответы, определяемые высокими уровнями цитотоксических метаболитов, могут повышать риск повреждения головного мозга. Окислительный стресс в результате перепроизводства активных форм кислорода и нарушения механизмов антиоксидантной защиты также ответственен за повреждение головного мозга. В исследованиях, в которых анализировали и молекулы воспаления, и данные МРТ, уровни периферических цитокинов не были связаны со структурными данными МРТ. Это говорит о том, что в развивающемся мозге могут происходить повреждения и ремоделирование, которые приводят к диффузному процессу, не выявляемому как поражение головного мозга при МРТ [2].

### Генетическая предрасположенность к ДЦП Генетика ДЦП

Почти половина случаев ДЦП диагностируется у недоношенных детей, в то время как у доношенных детей диагностируется 2–2,5 случая на 1000 живорождений; у близнецов это число в несколько раз выше. При исследовании генетического вклада в ДЦП идентифицированы несколько мутаций генов-кандидатов и редкие варианты числа копий при ДЦП [26]. Распространенность генетических вариантов, ассоциированных с ДЦП, составляет 2–14%, и до 31% имеют клинически значимые вариации числа копий ДНК [3, 14]. Высокая гетерогенность ограничивает эффективное использование геномных мутаций в качестве ранней диагностики ДЦП; различия в распространенности ДЦП у монозиготных близнецов могут быть связаны с изменениями метилирования ДНК, вызванными различными стрессовыми факторами, такими как гипоксия, инфекция и воспаление [3].

Нейрональные и глиальные переносчики возбуждающих аминокислот (excitatory amino acid transporter, EAAT) играют ключевую роль в поддержании количества внеклеточного глутамата в мозге ниже нейротоксического уровня. Астроглиальный высокоаффинный транспортер глутамата EAAT2, известный и как SLC1A2 (solute carrier family 1 member 2), экспрессируется в белом веществе развивающегося человеческого мозга. Его гиперактивация в реактивных астроцитах в посмертных тканях мозга недоношенных детей

с перивентрикулярной лейкомаляцией указывает либо на гипоксически-ишемическое повреждение, либо на воспаление и повреждение белого вещества мозга. Дисфункция белка-переносчика возбуждающих аминокислот EAAT2 и связанное с нею нарушение поглощения глутамата может привести к неврологическим расстройствам. Однонуклеотидные полиморфизмы (single nucleotide polymorphism, SNP) -200CA (rs111885243) и -181AC (rs4354668) в промоторе гена *EAAT2* являются фактором предрасположенности к повреждению головного мозга и развитию ДЦП у недоношенных детей. Эти SNP конкордантны у 89,4% младенцев и изменяют регуляцию промоторной активности гена *EAAT2* и гомеостаз глутамата. Каждый дополнительный А-аллель увеличивает риск развития ДЦП в 4 и 6 раз в -200-й и -181-й паре нуклеотидов соответственно. Это подчеркивает значение глутамата в патогенезе повреждений головного мозга, нарушении развития нервной системы и последующем развитии ДЦП при преждевременном рождении. Данные SNP *EAAT2* могут быть ранним биомаркером уязвимости к нейрогенной инвалидизации [27].

Чрезмерное повышение уровней цитокинов после инфекции генетически детерминировано. Аномальный воспалительный ответ у плода и новорожденного может вызвать аутоиммунный тип атаки на плод или неонатальные нервные клетки. Незрелый мозг недоношенного ребенка особенно уязвим к провоспалительным цитокинам. Некоторые цитокиновые полиморфизмы (IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ; mannose-binding lectin, MBL) ассоциированы с повышенным риском ДЦП. К известным в настоящее время моногенным причинам ДЦП относятся мутации генов *KANK1*, *AP4M1* и *GAD1*. Описаны аутосомно-рецессивные, редкие аутосомно-доминантные и X-сцепленные формы ДЦП. Потеря функции белка *ZC4H2* вследствие мутаций гена *ZC4H2* вызывает нарушение развития  $\alpha$ -мотонейронов, центральной и периферической синаптической пластичности. Клинические проявления этих аномалий широко варьируемы как внутри семей, так и между ними, включая фенотип спастического ДЦП, умственную отсталость и судороги [14].

Гетерозиготные делеции гена *KANK1* впервые описаны в одном большом израильском семействе с ДЦП. Этот ген кодирует белок, который взаимодействует с цитоскелетом, ограничивая рост актиновых филаментов для предотвращения неконтролируемой полимеризации актина. Мутация проявляется ранней нейромоторной задержкой и гипотонией, которая перерастает в спастическую квадриплегию. У некоторых пациентов развивает-

ся тяжелая умственная отсталость. МРТ головного мозга показала уменьшение объема коры без очаговой патологии [13].

Адаптерный белковый комплекс 4 (AP-4) играет ключевую роль в процессах, которые имеют решающее значение для развития и функционирования мозга. Нарушения AP-4-опосредованных путей внутриклеточного везикулярного транспорта участвуют в этиологии ДЦП. Например, нарушение трафика рецептора  $\alpha$ -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (AMPA) вызывает глутаматную эксайтотоксичность, ведущую к гипоксически-ишемическому повреждению белого вещества мозга и ДЦП. Комплекс AP-4 состоит из четырех субъединиц, кодируемых генами *AP4E1*, *AP4B1*, *AP4M1* и *AP4S1*. Мутации идентифицированы в каждом из генов AP-4 в разных семьях с ДЦП. Мутация в сайте rs1217401 *AP4B1* ассоциирована с ДЦП как следствие ГИЭ [28]. Мутации в генах субъединиц комплекса AP-4 независимо друг от друга вызывают спастическую параплегию-квадриплегию. Пациенты с мутациями субъединиц AP-4 проявляют характерные дисморфические признаки, гипотонию, которая развивается в спастическую диплегию или квадриплегию, умственную отсталость, задержку роста и микроцефалию. Типично отсутствие выразительной речи и приятный нрав. МРТ показала кольцецефалию, уменьшение количества белого вещества и потерю кортикального и/или мозжечкового объема. Снижение фракционной анизотропии наблюдалось у пациентов с мутациями гена *AP4M1* с помощью диффузионно-тензорной визуализации. Посмертные исследования пациента с мутациями *AP4M1* показали наличие морфологически аномальных клеток Пуркинье. Мутации в гене *AP4M1* — причина как ДЦП, так и наследственной спастической параплегии. Клинически трудно отличить ДЦП от наследственной спастической параплегии. Наследственная спастическая параплегия поражает нижние конечности и является семейной и прогрессирующей, в то время как ДЦП связан с квадриплегией и не прогрессирует [13].

Гомозиготная мутация c.1100G>A (p.G367D) в гене *ADD3* (adducin 3) описана как причина спастического ДЦП в одной семье. Среди больных членов семьи легкая микроцефалия и спастическая диплегия была у одной пациентки, и спастическая квадриплегия у трех других братьев и сестер. У женщины со спастической диплегией был пограничный интеллект, у остальных братьев и сестер — умственная отсталость. Гомозиготная мутация c.1100G>A (p.G367D) влияет на способность  $\gamma$ -аддуцина образовывать функциональный гете-

ротетрамер с  $\alpha$ -субъединицей и приводит к чрезмерному аномальному накоплению актиновых филаментов (подобно KANK1). Нейровизуализация у пораженных пациентов продемонстрировала уменьшение объема белого вещества и снижение фракционной анизотропии [13].

### Гены предрасположенности к ДЦП

Сильно повреждающая мутация может быть достаточной для того, чтобы вызвать ДЦП у некоторых индивидов, тогда как в других случаях аддитивные эффекты менее повреждающих мутаций в сочетании с воздействием окружающей среды, таким как ишемия окружающих эмбрион тканей материнского организма, могут пересекать порог, необходимый для возникновения нейромоторной инвалидности. К клиническому ДЦП может привести кумулятивный эффект нескольких менее вредных мутаций, действующих вместе полигенным образом, нарушая специфические молекулярные пути, особенно те, которые участвуют в синаптической функции, передаче сигналов нейрон-глия и нейровоспалении.

Многочисленные исследования по изучению влияния прокоагулянтных факторов на риск развития ДЦП дали противоречивые результаты. Мутации в генах фактора V (Лейден) *F5*, протромбина *F2* (G20210A), метилентетрагидрофолатредуктазы *MTHFR* (C677T и A1298C), белка C, белка S, антитромбина и липопротеина A могут привести к протромботическому состоянию, увеличивающему риск перинатального инсульта и, следовательно, ДЦП [13]. Наследственная тромбофилия (мутации генов *MTHFR* C677T и *F2* 20210G>A) ассоциирована с повышенным риском ДЦП [14].

Углеводсвязывающий белок типа I мембран эндоплазматического ретикулаума малектин участвует в поляризации макрофагов от M1 к M2. Анализ SNP гена *MLEC* (malectin) у 916 пациентов с ДЦП из китайской популяции показал их значимую ассоциацию с риском ДЦП. С-аллели полиморфных сайтов rs10431386 и rs7964786 ингибируют экспрессию *MLEC* в крови и способствуют развитию ДЦП, ингибируя поляризацию макрофагов. Эти данные указывают на вклад полиморфизмов гена *MLEC* в патогенез ДЦП [29].

Генотипирование полиморфизмов у 587 детей с ДЦП и 1154 детей без ДЦП, а также их матерей установило, что как материнское, так и внутриутробное носительство SNP в сайте rs1137933 гена *NOS2* индуцибельной нитрооксидсинтазы (iNOS) достоверно негативно ассоциировано с риском ДЦП у детей, родившихся менее чем через 32 недели беременности. Эта обратная связь не зависит от того, присутствует

SNP у матери или ребенка. Не выявлено статистически значимых взаимодействий SNP *NOS2* с другими SNP и с материнской инфекцией как модуляторами риска ДЦП. Известно, что SNP rs1137933 ассоциирован с болезнью Крона и рассеянным склерозом через механизмы воспаления. В контексте ДЦП активация или подавление иммунного ответа может сделать мозг плода восприимчивым к повреждению, вызванному либо непосредственно воспалительным ответом, либо нейротропными инфекционными агентами [30].

Остеопонтин — растворимый иммунный фактор, который способствует росту аксонов и синаптогенезу после травмы. С ДЦП ассоциирован однонуклеотидный полиморфизм в сайте rs1126616 гена *OPN* [13, 31].

**Гены-кандидаты ДЦП:** *CTNND2*, *DAAM1*, *MCPH1* (двуаллельные мутации приводят к первичной микроцефалии), *SPG6/NIPA1* (приводят к спастической параплегии), *NIPA2* и *MC2R*. Идентифицированы гетерозиготные мутации в генах *TUBA1A*, *SCN8A*, *KDM5C*, *AGAP1*, *JHDM1D*, *MAST1*, *NAA35*, *RFX2* и *WIP12*. Кроме того, гемизиготные X-сцепленные варианты в генах *L1CAM*, *PAK3*, *CD99L2* и *TENM1* были унаследованы пациентами от здоровой матери. У больных ДЦП обнаружены мутации изменения дозы (числа копий) генов *SPG4/SPAST*, *WDR45*, *SPG34*, *FLNA*, *RAPGEF1*, *HSPA4*, *PARK2*, *PACRG*, *AGAP1* и *TENM1*. В генах *KCNC3*, *ITPR1* и *SPTBN2* идентифицированы точечные мутации, ассоциированные с атаксической формой ДЦП. Ген *KCNC3* кодирует калиевый канал, и мутация вызывает доминантно-негативную потерю функции [13].

Анализ мРНК периферической крови новорожденных детей, у которых впоследствии развился ДЦП, выявил аномальную экспрессию генов воспалительных, гипоксических, коагуляционных и тиреоидных путей. Экспрессия генов *SRSF3*, *ELF2*, *BCL2L11*, *BCL6* и *CSNK1A1* усилена, а генов *UQCRB*, *PFDN4*, *LSM3* и *CLEC2B* — подавлена по сравнению с нормой, что в совокупности может служить сигнатурой генной экспрессии для предсказания ДЦП. Наиболее активированный в образцах ДЦП ген *BCL6* (B-cell lymphoma 6) идентифицирован как биомаркер раннего прогноза ДЦП. Его продукт — хорошо известный антиапоптотический белок BCL6, активация которого защищает клетки от апоптоза, вызванного гипоксически-ишемическим повреждением головного мозга [4].

Провоспалительный ответ на гипоксически-ишемическое повреждение головного мозга и следующие за ним противовоспалительные и репаративные фазы имеют решающее значение для



восстановления тканей. Ключевую роль в уравнивании про- и противовоспалительных реакций иммунной системы играет регуляция поляризации макрофагов M1/M2. При ГИЭ образуются клетки M1, которые сохраняются в местах поражения в течение нескольких недель после повреждения; это происходит отчасти потому, что провоспалительные сигнальные механизмы сохраняются в очаге неопределенно долго. Макрофаги M1 нейротоксичны и могут оказывать только ограниченные, стимулирующие рост аксонов эффекты. Напротив, макрофаги M2 не являются нейротоксичными и способствуют восстановлению нейронов и росту аксонов на большие расстояния. Учитывая сильную противовоспалительную активность и высокий регенеративный потенциал макрофагов M2, эти клетки были использованы для трансплантации больным с тяжелой формой ДЦП. Интрадуральная инъекция аутологичных M2-подобных макрофагов в область поясничного отдела позвоночника успешно купировала множественные симптомы ДЦП. Наряду с усилением моторной функции отмечены улучшение когнитивной активности и снижение судорожного синдрома, которые сохранялись в течение 5-летнего периода наблюдения [32]. Однако необходимо найти менее инвазивные терапевтические подходы, такие как введение агента, стимулирующего дифференцировку M2-макрофагов. Например, продемонстрировано терапевтическое действие гастролина на двигательную активность у пациентов с ДЦП. Гастролин, биологически активный компонент китайского растительного лекарственного средства под названием Tianma (*Gastrodia elata* Blume), преодолевает гематоэнцефалический барьер, проникает в головной мозг и облегчает церебральное ишемическое повреждение, подавляя воспаление, вызванное ишемическим повреждением; уменьшает продукцию активных форм кислорода в макрофагах и защищает макрофаги от апоптоза, вызванного окислительным стрессом; способствует улучшению общей двигательной активности и тонкой моторики, усиливая экспрессию *BCL6* в макрофагах, а затем индуцирует их M2-поляризацию. Таким образом, понимание роли *BCL6* в восстановлении ткани мозга после ГИЭ имеет практическое значение. Ориентированные на *BCL6* терапевтические стратегии обещают улучшить двигательную активность у пациентов с ДЦП [4].

Избыточные уровни мочевины нейротоксичны. Показана связь между нарушениями цикла мочевины и ДЦП. Аргининемия, которая является редким нарушением цикла мочевины, присутствует у детей с прогрессирующей спастической тетраплегией, со-

провождающейся умственной отсталостью и/или слабым физическим ростом [10, 33]. В их крови повышен уровень аргинина (86,66–349,83 мкмоль/л при норме до 25 мкмоль/л). Почти у всех пациентов отмечена дисфункция печени и повышен уровень аммиака в крови. У большинства пациентов атрофия головного мозга наблюдалась с помощью МРТ. У всех пациентов выявлены какие-либо из 9 мутаций в гене *ARG1* (arginase 1): 703GA, 32TC, 34GT, 53GA, 67delG, 232dupG, 374CT, 539GC и 646–649delCTCA, что указывает на то, что на развитие патологии у плода повлияла аргининемия [33].

Существует большая вариабельность ответа на лечение у детей с ДЦП. Генетическое исследование детей (18–60 месяцев) с односторонним спастическим ДЦП показало, что нейротрансмиссия дофамина и BDNF-сигналинг участвуют в моторном обучении и пластичности, которые являются ключевыми факторами успешного лечения больных ДЦП. Все дети участвовали в программе тренировок, включающей в себя активные упражнения для пораженной руки в течение 2 часов ежедневно на протяжении 2 месяцев. Слюну собирали для генотипирования генов *COMT* (rs4680, Val158Met), *DAT* (rs28363170, 40 bp VNTR), *DRD1* (rs4532, A–48G), *DRD2* (rs1800497, Glu713Lys), *DRD3* (rs6280, Ser9Gly) и *BDNF* (rs6265, Val66Met). Выявлена значимая связь между полиморфизмом генов дофамина и результатами лечения. Дети с высоким уровнем полиморфизма по генам *COMT*, *DAT*, *DRD1*, *DRD2* и *DRD3* и более высокой эндогенной дофаминергической нейротрансмиссией имели наибольшие функциональные результаты реабилитации. Влияние пола и полиморфизма гена *BDNF* (brain-derived neurotrophic factor) на эффекты лечебной физкультуры в этом исследовании не выявлено. Таким образом, генетические изменения дофаминовой системы могут влиять на результаты лечения детей с ДЦП. Шкалу полиморфизма генов дофамина можно применять для прогнозирования результатов лечения и разработки индивидуально адаптированных программ для детей с ДЦП [34].

### Эпигенетика ДЦП

**Метилирование ДНК.** Анализ последовательности генов, сфокусированный исключительно на вариантах, имеет ограниченные возможности в диагностике ДЦП. Гипоксия, бактериальная инфекция, воспаление, травма и стресс в раннем возрасте связаны с изменениями в метилировании ДНК. Аберрантные паттерны метилирования ДНК, обнаруженные у больных ДЦП, нарушают фундаментальные процессы, включая транскрипцию, трансляцию, репли-



кацию и репарацию ДНК [3]. Хотя этиология ДЦП имеет сильные генетические и экологические компоненты, значительные различия в метиломе между монозиготными (МЗ) близнецами, дискордантными по ДЦП, указывают на вклад эпигенетики в его развитие. Метилирование цитозина в ДНК — ключевая эпигенетическая модификация, которая играет критическую роль в регуляции экспрессии генов во время развития эмбрионов и может наследоваться при делении клеток. Метилирование ДНК претерпевает динамические изменения во время многочисленных биологических процессов и патологических изменений. Нарушение регуляции метилирования ДНК может привести ко многим заболеваниям, включая различные виды рака. Специфические паттерны метилирования ДНК принципиально различны между ДЦП и не-ДЦП. Функциональная аннотация различных метиломов у дискордантных МЗ-близнецов важна для понимания роли метилирования ДНК в ДЦП. Метилон дискордантных по ДЦП МЗ-близнецов представляет собой ресурс для изучения эпигенетического механизма, лежащего в основе ДЦП. Каждая пара МЗ-близнецов демонстрировала сходные профили метилирования, что свидетельствует о высокой стабильности метилома МЗ-близнецов. Эпигеномный ландшафт у МЗ-близнецов, дискордантных по ДЦП, остается в значительной степени неизученным [26].

В мононуклеарах периферической крови [3] и клетках пуповинной крови [16] идентифицированы гипо- и гиперметилированные CpG-сайты, ассоциированные со спастическим ДЦП. Почти идеальной точности диагноза ДЦП в подростковых когортах ( $14,9 \pm 0,3$  года) пациентов достигли 252 «лучших» набора из 40 CpG-сайтов. Пилотный тест у младших детей ( $4,0 \pm 1,5$  года) выявил спастический ДЦП с точностью 73% и показал, что отличительные паттерны метилирования уже присутствуют на ранних этапах жизни. Лучшими считались те наборы метилированных сайтов, чувствительность и специфичность которых в 20 повторностях составляла >98% и >90% соответственно. Большинство изменений метилирования генов можно отнести к компонентам каскадов сигнальной трансдукции на клеточной поверхности. Анализ 100 дифференциально гипо- и гиперметилированных генов идентифицировал 6 клеточных сигнальных путей: связанные с G-белком рецепторы (G-protein-coupled receptors, GPCR), трансдукция сигналов с обонятельных рецепторов, PI3K-Akt и NOTCH1-сигналинг, частица распознавания сигнала (рибонуклеиновая частица, локализованная на мембране, обеспечивающая прохождение через мембрану секретируемых сигналь-

ных полипептидов, состоит из 6 белков и 7S-PHK) и экспорт белка. Предполагается, что измененные паттерны метилирования ДНК возникли в результате воспалительных явлений, связанных с началом ДЦП, и что паттерн ДНК-метилирования может представлять собой стойкий биомаркер для спастического ДЦП. Эти данные относятся к спастическому ДЦП, поэтому для оценки полезности данного подхода в клинических условиях необходим анализ спектра фенотипов ДЦП, а также других нейромоторных патологий [3]. В целом, результаты убедительно показывают, что изменения паттерна метилирования ДНК сохраняются вне зависимости от возраста пациента. Внедрение клинического анализа, способного определить высокий риск развития ДЦП в момент рождения, позволит осуществить более раннее вмешательство, чтобы предотвратить прогрессирование заболевания.

Z. Jiao и колл. [26] идентифицировали 190 дифференциально метилированных генов при ДЦП по сравнению с нормой (37 гиперметилированных и 153 гипометилированных). Эти гены относятся в основном к процессам созревания 5.8S рРНК, регуляции сигнальной трансдукции медиатором p53 и базовым биологическим процессам, таким как метаболизм и репарация ДНК. Некоторые дифференциально метилированные гены, такие как *NEDD4* (neural precursor cell expressed developmentally downregulated protein 4); *CDC37* (cell division cycle protein); *EIF2AK2* (eukaryotic translation initiation factor 2 $\alpha$  kinase 2); *XRN1* (5'-3' exoribonuclease 1); *SUPT5H* (SPT5 homolog), *DSIF* (elongation factor subunit); *BECN1* (beclin 1); *BRE* (brain and reproductive organ-expressed); *IKBKAP* (inhibitor of  $\kappa$  light polypeptide gene enhancer in B-cells, kinase complex-associated protein); *ZSCAN1* (zinc finger and SCAN domain containing 1); *DNAJA3* (dnaj heat shock protein family member A3), в сети белковых взаимодействий являются центральными генами, связанными с большинством других дифференциально метилированных генов, и выполняют важные (регуляторные) функции, в частности, контролируют клеточный ответ на фактор роста нервов. Изменения их метилирования могут прямо или опосредованно приводить к развитию ДЦП. Анализ представленности генов обнаружил участие дифференциально метилированных генов в развитии церебральных аномалий. Выявленные дифференциально метилированные гены соответствуют генной сигнатуре нескольких церебральных нарушений, включая атрофию коры головного мозга и церебральную атрофию, что позволяет предположить, что разная распространенность ДЦП у иден-

тичных близнецов может быть связана с изменениями метилирования ДНК [26].

**МикроРНК.** В литературе обсуждается связь некоторых микроРНК (miR) — класса малых некодирующих РНК — с развитием головного мозга, их дисрегуляция, функции и роли после повреждения головного мозга, а также возможность использовать их в качестве биомаркера повреждения или нейропротекторных агентов. Имеются убедительные доказательства участия микроРНК в патогенезе ДЦП в качестве посттранскрипционных регуляторов экспрессии генов, определяющих судьбу клеток и пластичность синаптических связей. МикроРНК дифференциально экспрессируются после повреждения головного мозга и могут быть упакованы в экзосомы/внеклеточные везикулы, которые обеспечивают их межклеточную коммуникацию и прохождение через гематоэнцефалический барьер. Среди микроРНК, которые регулируют олигодендроглиальную дифференцировку, наибольшее кратное изменение экспрессии при внутрижелудочковом кровоизлиянии наблюдалось у miR-548d-5p (повышение в 4,2 раза), miR-9 (снижение в 2 раза) и miR-210-3p (снижение в 1,5 раза). Наиболее значительное изменение экспрессии при сравнении аномального тонуса с нормальным тонусом наблюдалось у miR-654-3p (повышение в 2,5 раза) и miR-26a-2-3p (повышение в 15,6 раза). Наиболее значительное изменение экспрессии при внутрижелудочковом кровоизлиянии и аномальном тонусе наблюдается у miR-300 (снижение в 5,8 раз) и miR-210-3p (снижение в 1,7 раза) по сравнению с отсутствием внутрижелудочкового кровоизлияния и нормальным тонусом [18].

Посттрансляционная регуляция экспрессии участвует в патогенезе двигательной дисфункции после повреждения головного мозга. Исследование S.D. Chapman и соавт. [18] предоставляет основу для использования уровней отдельных микроРНК в сыворотке крови в качестве предиктора ранних стадий заболевания, чтобы обеспечить возможность проведения более ранних вмешательств, таких как физиотерапия или даже экспериментальная терапия. Надежная панель таких биомаркеров позволила бы опробовать экспериментальную терапию у пациентов с самым высоким риском, прежде чем проявится симптоматика ДЦП. МикроРНК (miR-9, miR-138, miR-219 и miR-338), которые играют роль в олигодендроглиальной дифференцировке, обнаруживаются в плазме периферической крови. Из них при внутрижелудочковом кровоизлиянии дифференциально экспрессируется только miR-9. Вероятно, микроРНК, которая экспрессируется исключительно в ЦНС, может попасть в пе-

риферическое кровообращение при разрушении гематоэнцефалического барьера после травмы. Однако многие из 752 микроРНК в исследовании S.D. Chapman и соавт. экспрессируются как в мозге, так и вне ЦНС. Например, miR-138 и miR-338 экспрессируются в периферической нервной системе. Нарушения экспрессии микроРНК, которые приводят к ДЦП, могут воздействовать только на ЦНС, только на периферическую нервную систему, только на костно-мышечную систему, на любую другую систему органов или любую их комбинацию. Таким образом, сигнал из периферической крови не указывает орган происхождения какой-либо микроРНК. МикроРНК могут быть обнаружены в периферическом кровообращении как прямой результат черепно-мозговой травмы или косвенного процесса, который по какой-либо причине коррелирует с двигательной дисфункцией. Иначе говоря, если дифференциальная экспрессия определенной микроРНК или набора микроРНК сильно коррелирует с моторной дисфункцией, даже если механизм вовлечения не определен, она имеет значение в качестве биомаркера [18].

Более раннее значительное снижение экспрессии miR-374a обнаружено в пуповинной крови у детей с перинатальной асфиксией и последующей ГИЭ [35].

МикроРНК, циркулирующие в материнской крови, могут быть полезны для выявления дородовой гипоксии [19]. Шесть микроРНК (miR-210, miR-21, miR-424, miR-199a, miR-20b, miR-373) дифференциально экспрессируются при беременности, осложненных гипоксией плода. При здоровых сроках беременности miR-210 увеличена в 4,2 раза, miR-424 — в 2,7 раза, miR-199a — в 2,6 раза, miR-20b — в 2,3 раза от схваток до родов. Комбинированная экспрессия miR-21 и miR-20b коррелирует со степенью перинатальной гипоксии плода, определяемой уровнем лактата в пуповине. Во время беременности, осложненной серьезным отставанием роста плода (severe preterm fetal growth restriction), наблюдалась повышенная экспрессия miR, регулируемых гипоксией: miR-210 — в 3,6 раза, miR-424 — в 3,6 раза, miR-21 — в 5,9 раза, miR-199a — 3,8 раза, miR-20b — в 3,7 раза [36]. MiR-210, по-видимому, функционирует как основная микроРНК, релевантная для контроля разнообразных функций в гипоксическом состоянии [17]. Количественное определение микроРНК, регулируемых гипоксией, в материнской крови может идентифицировать беременность с риском развития гипоксии плода, что позволяет проводить раннее вмешательство для улучшения перинатальных исходов.

### Метабомика ДЦП

Метабомика обладает огромным потенциалом для углубления нашего понимания неврологических расстройств. В качестве прогностических моделей предложены такие биомаркеры, как соотношение метаболитов в мозге и маркеры воспаления, однако клинически утвержденные биомаркеры ДЦП отсутствуют [10]. Хотя ни один биомаркер крови еще не рекомендован к рутинному клиническому использованию для прогнозирования тяжести повреждения при ГИЭ и его исхода, показаны значительные изменения в метаболическом профиле детей с ГИЭ и перспективность некоторых белковых маркеров крови [19].

Уровни 27 метаболитов значительно различаются при ДЦП и в здоровом мозге, наиболее значительно — глутамат. Глутаминовая кислота, известная как наиболее распространенный быстрый возбуждающий нейромедиатор в нервной системе, участвует в когнитивных функциях, таких как обучение и память, благодаря ее нейротрансмиттерной функции в синапсах. При повреждении или заболевании головного мозга избыток глутамата может накапливаться вне клеток, что приводит к повреждению и возможной гибели нейронов, известному как часть ишемического каскада под названием «эксайтотоксичность». Эксайтотоксичность, вызванная глутаматом, приводит к перинатальному повреждению головного мозга при гипоксически-ишемическом повреждении. Ишемическое выделение глутамата из астроцитов ассоциировано с хронической неврологической заболеваемостью, особенно ДЦП у недоношенных новорожденных [10].

Глицерофосфолипиды, или фосфолипиды, являются наиболее значимыми метаболитами при ДЦП. Глицерофосфолипиды выполняют функцию индукции и транспорта сигналов как предшественники простагландинов и лейкотриенов. Они также участвуют в апоптозе, модуляции активности транспортеров и мембраносвязанных ферментов. Изменения в составе глицерофосфолипидов клеточной мембраны приводят к изменению текучести и проницаемости мембраны и наряду с накоплением перекисей липидов и нарушенным энергетическим обменом могут быть причиной нейродегенерации, наблюдаемой при ДЦП. Метаболические профили пуповины у новорожденных с перинатальной асфиксией характеризуются изменениями уровней глицерофосфолипидов, аминокислот и ацилкарнитинов, сходными с изменениями в ткани мозга пациентов с ДЦП [10]. При нормальном функционировании ацилкарнитины транспортируют длинноцепочечные жирные кислоты в митохондрии. Повышенные

уровни ацилкарнитина у новорожденных с перинатальной асфиксией и ГИЭ свидетельствуют о дефекте окисления жирных кислот, который приводит к их накоплению и выбросу в кровоток. Эта метаболическая модель может различить новорожденных с ГИЭ и контрольную группу, а также тяжесть повреждения [37].

Метаболизм фолиевой кислоты также нарушен при ДЦП. Метаболиты фолата играют критическую роль в когнитивной функции и нервно-мышечной стабильности. У детей с ДЦП наблюдается нарушение регуляции метаболизма фолата, несмотря на адекватные уровни фолата и витамина В<sub>12</sub>. У детей с синдромом дефицита фолата в головном мозге наблюдается задержка психомоторного развития и гипотония. У 1/3 этих детей развиваются атаксия, спастичность, дискинезия, проблемы с речью и судороги, как у детей с ДЦП [10]. Пренатальные добавки фолиевой кислоты оказывают защитный эффект на риск развития ДЦП [38].

Основной механизм повреждения нервов при церебральной ишемии — апоптоз нейронов, который является ключевым моментом для лечения церебрального паралича. Витамины В<sub>1</sub> и В<sub>12</sub>, чья роль в нейропротекции и улучшении симптомов ДЦП известна, ингибируют апоптоз нейронов, повышая активность фактора BDNF (brain-derived neurotrophic factor). Длинная некодирующая РНК MALAT1 (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1) обычно регулирует пролиферацию, миграцию и инвазию опухолевых клеток, выполняет антиапоптотическую и противовоспалительную функции для уменьшения ишемических повреждений сосудов и паренхимы головного мозга при ишемическом инсульте, а также стимулирует рост нейронов и синаптогенез. МикроРНК miR-1 идентифицирована как регулятор-репрессор экспрессии BDNF в периферической нервной системе. Взаимодействие miR-1 и MALAT1 указывает на существование конкурентной эндогенной регулирующей сети РНК в нервных клетках. Е. Y. Li и соавт. [1] установили, что нейропротективные эффекты витаминов В<sub>1</sub> и В<sub>12</sub> при церебральном параличе осуществляются путем регуляции экспрессии BDNF, усиливая экспрессию MALAT1 и ингибируя miR-1.

Кроме того, при ДЦП в мозге нарушен метаболизм пропионата. Пропионат и другие короткоцепочечные жирные кислоты вырабатываются в организме во время нормального клеточного метаболизма после энтеральной бактериальной ферментации пищевых углеводов и белков. В норме эти жирные кислоты в основном метаболизируются в печени. Однако при наличии генетических



и/или приобретенных нарушений метаболизма в циркулирующей крови могут присутствовать более высокие, чем обычно, уровни короткоцепочечных жирных кислот, способных пересекать гематоэнцефалический барьер и нарушать развитие и функционирование мозга, клеточный сигналинг, синтез и секрецию нейротрансмиттеров, функцию митохондрий, липидный обмен, иммунную функцию, модуляцию щелевых контактов и экспрессию генов, вовлеченных в неврологические расстройства [10].

Незрелый мозг особенно уязвим для метаболического инсульта, в том числе окислительного стресса. Образование свободных радикалов может происходить в результате эксайтотоксических процессов, вызванных выделением глутамата, нарушением митохондрий, активацией ферментов, таких как нитрооксидсинтаза, и слабой антиоксидантной способностью незрелого мозга. Биохимическая оценка окислительного стресса основана главным образом на измерении в различных биологических жидкостях и/или тканях ряда биомаркеров, которые отражают индуцированное перекисное окисление липидов, белков и ДНК. Среди различных биохимических маркеров, предложенных для оценки окислительного стресса, лишь немногие можно считать действительно специфичными и надежными: к ним относятся изопростаны, нейропростаны, несвязанное железо и белковые аддукты 4-HNE (4-Hydroxy-2-nonenal). Значение изофуранов и нейрофуранов (окислительных продуктов жирных кислот, отличных от изопростанов и нейропростанов) исследуется. Однако сегодня мало информации об их применении у людей, что связано в основном с отсутствием эталонных стандартов. Окислительный стресс участвует в патогенных механизмах многих заболеваний человека и часто наблюдается у недоношенных и/или гипоксических новорожденных. Новорожденные чрезвычайно подвержены окислительному повреждению активных форм кислорода. Окислительное повреждение считается причиной ряда осложнений у новорожденных, которые определены термином «свободнорадикальная болезнь новорожденных». Перинатальная асфиксия является основной причиной немедленного и отсроченного повреждения головного мозга у новорожденного, частой причиной пожизненного неврологического расстройства. Прерывание доступности кислорода при рождении подразумевает радикальный переход от аэробного метаболизма к менее эффективному анаэробному. Неправильная реоксигенация может привести к стойкой избыточной экспрессии альтернативных метаболических

путей, продлевая, таким образом, дефицит энергии и генерируя окислительный стресс [5].

Кальцийзависимый актирегулирующий белок плазмы гельсолин (pGSN) секвестрирует плазматический амилоид, связывая  $\beta$ -амилоид ( $A\beta$ -40 и  $A\beta$ -42), и может уменьшать или предотвращать амилоидоз мозга. Повышенная экспрессия гельсолина ассоциирована с нейропротекцией после ишемической травмы головного мозга. Низкие уровни pGSN связаны с худшими прогностическими показателями у пациентов с черепно-мозговой травмой, и pGSN предложен в качестве прогностического маркера смертности после черепно-мозговой травмы. Принимая во внимание эти факты, проведено исследование по оценке клинической полезности pGSN в качестве прогностического биомаркера ГИЭ и ДЦП, в котором анализировали плазменные уровни pGSN у новорожденных при рождении, в течение 72 часов терапевтической гипотермии (золотого стандарта лечения ГИЭ) и через 24 часа после гипотермии. Уровни pGSN постепенно снижались у пациентов с ГИЭ легкой и средней степени тяжести, что указывает на прогностическое значение pGSN у этих пациентов. Корреляция уровней pGSN, измеренных через 24 и 72 часа от начала гипотермии, с задержкой начала гипотермии свидетельствует о том, что плазменный уровень pGSN может прогнозировать тяжесть ГИЭ и что задержка начала гипотермии снижает эффективность лечения для восстановления экспрессии pGSN. Авторы исследования считают, что pGSN не только является прогностическим маркером, но и потенциальной терапевтической мишенью для лечения ГИЭ [39].

Потеря костной массы является серьезной клинической проблемой у пациентов с ДЦП. Белок склеростин привлек к себе интерес как ключевой механосенсор остецитов, регулирующий баланс кости в ответ на весовую нагрузку под действием силы тяжести, что привело к идее терапевтического использования антисклеростиновых препаратов. Склеростин эффективно ингибирует образование костей, конкурируя с сигнальными каскадами рецепторов Wnt и LRP5 (low density lipoprotein receptor related protein 5) или LRP6, связанных с остеогенезом. На этих молекулярных путях склеростин ингибирует дифференцировку и пролиферацию остеобластов, что в конечном итоге приводит к потере костной массы. Высокие уровни склеростина негативно ассоциированы с маркерами костеобразования и позитивно — с маркерами костной резорбции у пациентов, прикованных к кровати или инвалидным коляскам после инсульта. Уровни склеростина повышаются в ответ на длительное неиспользование

скелета в течение 90 дней у неврологически здоровых взрослых. Увеличение концентрации сывороточного склеростина сопровождается снижением сывороточного уровня паратиреоидного гормона, повышением уровня маркеров резорбции кости и кальция в моче, а также снижением минеральной плотности кости. Склеростин остецитов негативно коррелирует с маркером образования кости — щелочной фосфатазой при скелетно-мышечных заболеваниях, таких как остеоартрит и перелом шейки бедренной кости. Уровни циркулирующего склеростина ниже у пациентов с полным повреждением спинного мозга, чем у пациентов с неполной травмой, которым не требовалось использование инвалидной коляски. Эти данные указывают на связь между склеростином и дисбалансом кости при тяжелых заболеваниях, которые влияют на нормальный вес, переносимый через нижние конечности. У пациентов со спастическим ДЦП наблюдались значительно более низкие z-индексы минеральной плотности кости в поясничном отделе позвоночника и шейке бедренной кости, чем у пациентов с дискинетическим ДЦП. Неходячие пациенты с ДЦП имели значительно более низкий z-индекс минеральной плотности кости в поясничных отделах позвоночника и бедренной кости, более низкие уровни гормона паращитовидной железы (паратиреоидный гормон) и креатинина и более высокие уровни склеростина в плазме, чем ходячие пациенты с ДЦП. Амбулаторный статус пациента (ходячий/неходячий) является существенным фактором, определяющим уровень склеростина в плазме [40].

Уровни UCH-L1 (ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1), IL-6, IL-16 и активина-A (член семейства трансформирующих факторов роста TGF- $\beta$ ) значительно изменяются в пуповинной крови, взятой при рождении у детей с ГИЭ. Немного позднее повышаются уровни GFAP (glial fibrillar acidic protein) и S100B, достигая пика через 24 часа. Концентрации нейронспецифической энолазы и IL-1 $\beta$  в спинномозговой жидкости являются потенциальными маркерами неблагоприятного исхода у новорожденных, выживших после ГИЭ [19]. Лучшими биомаркерами в ранней диагностике ГИЭ новорожденных являются, по-видимому, белки S-100 и активин-A. Активин-A — белок, гиперэкспрессируемый и секретируемый в мозге после разрушения нейронов. Повышение уровня этого белка высокодостоверно коррелирует с тяжестью ГИЭ. Биомаркеры с наибольшим потенциалом для прогнозирования долгосрочного неврологического нарушения у новорожденных с ГИЭ — GFAP и UCH-L1 — в сочетании с другими маркерами или

визуализацией головного мозга могут увеличивать частоту выявления ГИЭ [41].

Нейротрофический фактор BDNF является медиатором физической активности и нейронной пластичности, ответственным за развитие когнитивных функций, вызванное физической нагрузкой. Неврологическое развитие мозга зависит от фактора BDNF из-за его жизненно важной роли в выживании и пролиферации нейронов в ЦНС. На продукцию BDNF и когнитивное развитие влияет потребление энергии и пищевых волокон. Аэробные и силовые упражнения повышают концентрацию BDNF в сыворотке крови у взрослых. У детей с тяжелым ДЦП и низким ежедневным уровнем физической активности концентрация BDNF в плазме на 40% ниже, чем у детей с ДЦП легкой степени тяжести, масса тела на 33% меньше по сравнению с детьми с ДЦП легкой степени и здоровыми детьми, а ежедневное потребление энергии, омега-3 жирных кислот и пищевых волокон — 50% нормы, несмотря на добавки омега-3 жирных кислот во многие продукты для этих пациентов. У детей с тяжелым ДЦП имеются трудности с питанием: более 60% детей едят с помощью трубки для кормления, в то время как у детей с легкой степенью ДЦП и здоровых детей нет таких проблем. Таким образом, низкая масса тела у детей с тяжелым ДЦП может быть связана, скорее, с низким потреблением, нежели с высоким расходом энергии. Сочетание низкой физической активности, низкого потребления энергии и недоедания у детей с ДЦП приводит к недостаточной продукции BDNF и, следовательно, неоптимальным условиям для неврологического развития. Докозагексаеновая кислота, содержащая омега-3 жирные кислоты, — один из важнейших компонентов клеточной мембраны нейронов ЦНС, где она обеспечивает текучесть мембраны и синаптическую пластичность, способствует синаптогенезу и улучшает способность к обучению и память, увеличивая продукцию BDNF. Добавление докозагексаеновой кислоты и физическая нагрузка оказывают синергический эффект на продукцию BDNF и, соответственно, способность к обучению и память [42]. Эти данные предлагают оптимизировать рацион больных детей стимулирующими продукцию BDNF питательными веществами и их физическую активность для развития мозга.

Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) и его рецептор экспрессируются нейронами ЦНС, и их экспрессия индуцируется ишемией, что указывает на аутокринный защитный сигнальный механизм. Г-КСФ является эндогенным лигандом в ЦНС с двойной активно-

стью, противодействующей острой нейрональной дегенерации и способствующей длительной пластичности после церебральной ишемии. Г-КСФ играет нейропротекторную роль благодаря поляризации дифференцировки Т-клеток (Th2-переключению) и образованию регуляторных Т-клеток, оказывает глубокое иммунорегуляторное действие вследствие продукции цитокинов Th2-типа IL-4 и IL-10, что сопровождается снижением продукции цитокинов Th1-типа — интерферона- $\gamma$  и IL-2. IL-4 важен для выживания лицевых двигательных нейронов после повреждения нерва, а IL-10, продуцируемый CD4+ Т-клетками, играет роль в нейропротекции. Цитокин IL-6 также признан трофическим фактором в выживании нейронов и ангиогенезе. Г-КСФ увеличивает число циркулирующих нейтрофилов и секрецию ими фактора VEGF (vascular endothelial growth factor) в плазму. Доказательства этиологической роли VEGF при некоторых типах нейродегенерации дают основание для рассмотрения терапевтического потенциала VEGF при неизлечимых нейродегенеративных расстройствах. В исследовании Н. Кох и соавт. [43] образцы периферической крови анализировали у детей с ДЦП до, через 1; 7 и 13 месяцев после инфузии Г-КСФ. Клинические ответы оценивал специалист по реабилитационной медицине в баллах с помощью различных инструментов оценки, таких как шкала общей двигательной функции (Gross Motor Function Measure, GMFM), система классификации общей двигательной функции (Gross Motor Function Classification System, GMFCS), система классификации мануальных способностей (Manual Ability Classification System, MACS), Денверский тест на развитие (Denver Developmental Screening Test, DDST) и шкала детской инвалидности (Pediatric Evaluation of Disability Inventory, PEDI). Пациенты были классифицированы как отвечающие (респондеры) и не отвечающие (нереспондеры), согласно их клиническим результатам. Клинические респондеры определены как имеющие изменения оценки GMFM >4 баллов и PEDI >7 баллов в 3 пунктах [43].

У клинических респондеров продукция VEGF, IL-6 и IL-10 увеличилась в первый месяц после инфузии Г-КСФ и уменьшилась через 7 месяцев. Через 1 месяц их уровни были выше, а уровни фактора BDNF и инсулиноподобного фактора роста (IGF)-1 ниже у клинических респондеров, чем у нереспондеров. Уровень BDNF до инфузии Г-КСФ был выше у респондеров, чем у нереспондеров. Изменения уровней самого Г-КСФ и Г-КСФ-индуцированных цитокинов, таких как IL-6, связаны с клиническим улучшением неврологических функций. Уровни

BDNF до лечения, а также индуцированные Г-КСФ изменения уровней IL-6, BDNF и IGF-1 можно использовать в качестве прогностических факторов эффективности лечения с помощью Г-КСФ у детей с ДЦП. Эти данные позволяют предположить, что клинические реакции на инфузию Г-КСФ у пациентов с ДЦП могут быть предсказаны с помощью измерения BDNF до лечения и последовательных изменений IL-6, BDNF и IGF-1 после лечения. На основании результатов этого исследования выясняется, что Г-КСФ-индуцированные цитокины, а также сам Г-КСФ могут стимулировать регенеративные процессы, противодействуя развитию нейродисфункции [43].

Нейрореабилитация при ДЦП включает в себя улучшение двигательной функции, основанное на нейропластичности. Важным терапевтическим механизмом у детей с ДЦП является нейроразвивающее лечение — терапевтический нейрофизиологический подход, способствующий притоку проприоцептивных импульсов и направленный на снижение спастичности, улучшение двигательной функции и предотвращение скелетно-мышечных осложнений. Хотя нейроразвивающее лечение широко признано, биологические механизмы, лежащие в основе его эффектов, не совсем понятны. Фактор TGF- $\beta$ 1 (transforming growth factor- $\beta$ 1) оказывает нейропротективное действие против воспаления и гипоксически-ишемического повреждения головного мозга новорожденных благодаря противовоспалительному, антиоксидантному, антиапоптозному и нейротрофическому действию, стимуляции ангиогенеза, антагонизму токсичности возбуждающих аминокислот, а также содействует восстановлению нервов после повреждения. Циркулирующий TGF- $\beta$ 1 не пересекает интактный гематоэнцефалический барьер, но может преодолевать нарушенный гематоэнцефалический барьер у пациентов с ДЦП и оказывать нейропротекторное воздействие на мозг. Нейрореабилитация способствует функциональному ремоделированию и восстановлению нервной ткани, стимулируя синтез и секрецию TGF- $\beta$ 1. Уровни цитокина TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови и показатель общей двигательной функции по шкале GMFM значительно выше у детей с ДЦП, которым физиотерапевт проводил нейроразвивающую терапию в течение 1 часа в день 5 дней в неделю на протяжении 3 месяцев, по сравнению с нелеченными пациентами, особенно у детей в возрасте до 3 лет по сравнению с детьми старше 3 лет, вероятно, в связи с большей пластичностью мозга в этом возрасте. Интеграция уровней TGF- $\beta$ 1 и индекса GMFM может быть использована в качестве биологического индикатора



эффективности нейроразвивающего лечения. Когнитивные способности детей с ДЦП также демонстрировали различную степень улучшения.

Полученные данные обеспечивают дополнительную научную поддержку ранней неврологической реабилитации маленьких детей с церебральным параличом [44].

### Заключение

Церебральный паралич является наиболее распространенной во всем мире детской инвалидностью сложной этиологии, однако официально рекомендованные биомаркеры для классификации и прогнозирования ДЦП отсутствуют. Лекарства от ДЦП не существует. Разнообразные методы лечения могут помочь пациентам с ДЦП максимально увеличить свои способности и физическую силу, предотвратить осложнения и улучшить качество жизни. Анализ молекулярно-генетических и эпигенетических биомаркеров способен идентифицировать образцы ДЦП на основе уровней экспрессии генов и белков, а также паттернов метилирования ДНК крови. Выявлена сильная дискриминация между образцами ДЦП и не-ДЦП, которая указывает на то, что паттерны экспрессии генетических и метаболических биомаркеров принципиально различны. Ввиду сложности распутывания пренатальных и перинатальных влияний и установления подтипов расстройства с целью ускорения перевода накопленных фактических данных в разработку стратегий по профилактике и лечению ДЦП предстоит большая работа по идентификации надежных диагностических моделей и терапевтических мишеней. В будущем биомолекулярный скрининг-анализ, основанный на биомаркерах крови, предпочтительно собранной во время рождения, а не во время типичного диагноза, позволит провести более раннюю диагностику и вмешательство, чем это возможно в настоящее время.

### Список литературы / References

1. Li EY, Zhao PJ, Jian J, et al. Vitamin B1 and B12 mitigates neuron apoptosis in cerebral palsy by augmenting BDNF expression through MALAT1/miR-1 axis. *Cell Cycle*. 2019;18(21):2849–2859. doi: 10.1080/15384101.2019.1638190
2. Magalhães RC, Moreira JM, Lauer AO, et al. Inflammatory biomarkers in children with cerebral palsy: A systematic review. *Res Dev Disabil*. 2019;95:103508. doi: 10.1016/j.ridd.2019.103508
3. Crowgey EL, Marsh AG, Robinson KG, et al. Epigenetic machine learning: utilizing DNA methylation patterns to

### Дополнительная информация

#### Источник финансирования

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

#### Funding source

This study was not supported by any external sources of funding.

#### Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

#### Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

#### Вклад авторов

Щербак С.Г., Голота А.С. — написание текста статьи; Шнейдер О.В., Вологжанин Д.А. — написание и редактирование текста статьи; Камиллова Т.А. — поисково-аналитическая работа, обсуждение и редактирование текста статьи. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

#### Author contribution

Shcherbak S. G., Golota A. S. — writing of the article; Shneider O. V., Vologzhanin D. A. — revision and writing of the article; Kamilova T. A. — search and analytical work, revision of the article. The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

predict spastic cerebral palsy. *BMC Bioinformatics*. 2018; 19(1):225. doi: 10.1186/s12859-018-2224-0

4. Jia J, Shi X, Jing X, et al. BCL6 mediates the effects of gas-trocin on promoting M2-like macrophage polarization and protecting against oxidative stress-induced apoptosis and cell death in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;486(2):458–464. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.03.062
5. Tonni G, Leoncini S, Signorini C, et al. Pathology of perinatal brain damage: Background and oxidative stress markers. *Arch Gynecol Obstet*. 2014;290(1):13–20. doi: 10.1007/s00404-014-3208-6

6. Wimalasundera N, Stevenson VL. Cerebral palsy. *Pract Neurol*. 2016;16(3):184–194. doi: 10.1136/practneurol-2015-001184
7. Novak CM, Ozen M, Burd I. Perinatal brain injury: mechanisms, prevention, and outcomes. *Clin Perinatol*. 2018;45(2):357–375. doi: 10.1016/j.clp.2018.01.015
8. Pascal A, Govaert P, Oostra A, et al. Neurodevelopmental outcome in very preterm and very-low-birthweight infants born over the past decade: a meta-analytic review. *Dev Med Child Neurol*. 2018;60(4):342–355. doi: 10.1111/dmcn.13675
9. Bennet L, Dhillon S, Lear CA, et al. Chronic inflammation and impairment development of the preterm brain. *J Reprod Immunol*. 2018;125:45–55. doi: 10.1016/j.jri.2017.11.003
10. Alpay Savasan Z, Yilmaz A, Ugur Z, et al. Metabolomic profiling of cerebral palsy brain tissue reveals novel central biomarkers and biochemical pathways associated with the disease: a pilot study. *Metabolites*. 2019;9(2):E27. doi: 10.3390/metabo9020027
11. Korzeniewski SJ, Slaughter J, Lenski M, et al. The complex aetiology of cerebral palsy. *Nat Rev Neurol*. 2018;14(9):528–543. doi: 10.1038/s41582-018-0043-6
12. Yli BM, Kjellmer I. Pathophysiology of foetal oxygenation and cell damage during labour. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2016;30:9–21. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2015.05.004
13. Fahey MC, MacLennan AH, Kretschmar D, et al. The genetic basis of cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol*. 2017;59(5):462–469. doi: 10.1111/dmcn.13363
14. MacLennan AH, Thompson SC, Gecz J. Cerebral palsy: causes, pathways, and the role of genetic variants. *Am J Obstet Gynecol*. 2015;213(6):779–788. doi: 10.1016/j.ajog.2015.05.034
15. McMichael G, Bainbridge MN, Haan E, et al. Whole-exome sequencing points to considerable genetic heterogeneity of cerebral palsy. *Mol Psychiatry*. 2015;20(2):176–182. doi: 10.1038/mp.2014.189
16. Mohandas N, Bass-Stringer S, Maksimovic J, et al. Epigenome-wide analysis in newborn blood spots from monozygotic twins discordant for cerebral palsy reveals consistent regional differences in DNA methylation. *Clin Epigenetics*. 2018;10:25. doi: 10.1186/s13148-018-0457-4
17. Cho KH, Xu B, Blenkiron C, Fraser M. Emerging roles of miRNAs in brain development and perinatal brain injury. *Front Physiol*. 2019;10:227. doi: 10.3389/fphys.2019.00227
18. Chapman SD, Farina L, Kronforst K, Dizon M. MicroRNA profile differences in neonates at risk for cerebral palsy. *Phys Med Rehabil Int*. 2018;5(3):1148.
19. Ahearne CE, Boylan GB, Murray DM. Short and long term prognosis in perinatal asphyxia: an update. *World J Clin Pediatr*. 2016;5(1):67–74. doi: 10.5409/wjcp.v5.i1.67
20. Ravishankar S, Redline RW. The placenta. *Handb Clin Neurol*. 2019;162:57–66. doi: 10.1016/B978-0-444-64029-1.00003-5
21. Bolnick JM, Kohan-Ghadr HR, Fritz R, et al. Altered biomarkers in trophoblast cells obtained noninvasively prior to clinical manifestation of perinatal disease. *Sci Rep*. 2016;6:32382. doi: 10.1038/srep32382
22. Fleiss B, Gressens P. Tertiary mechanisms of brain damage: a new hope for treatment of cerebral palsy? *Lancet Neurol*. 2012;11(6):556–566. doi: 10.1016/S1474-4422(12)70058-3
23. Wu J, Li X. Plasma tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) levels correlate with disease severity in spastic diplegia, triplegia, and quadriplegia in children with cerebral palsy. *Med Sci Monit*. 2015;21:3868–3874. doi: 10.12659/msm.895400
24. Yanni D, Korzeniewski SJ, Allred EN, et al. Both antenatal and postnatal inflammation contribute information about the risk of brain damage in extremely preterm newborns. *Pediatr Res*. 2017;82(4):691–696. doi: 10.1038/pr.2017.128
25. Leifsdottir K, Mehmet H, Eksborg S, Herlenius E. Fas-ligand and interleukin-6 in the cerebrospinal fluid are early predictors of hypoxic-ischemic encephalopathy and long-term outcomes after birth asphyxia in term infants. *J Neuroinflammation*. 2018;15(1):223. doi: 10.1186/s12974-018-1253-y
26. Jiao Z, Jiang Z, Wang J, et al. Whole-genome scale identification of methylation markers specific for cerebral palsy in monozygotic discordant twins. *Mol Med Rep*. 2017;16(6):9423–9430. doi: 10.3892/mmr.2017.7800
27. Rajatileka S, Odd D, Robinson M, et al. Variants of the EAAT2 glutamate transporter gene promoter are associated with cerebral palsy in preterm infants. *Mol Neurobiol*. 2018;55(3):2013–2024. doi: 10.1007/s12035-017-0462-1
28. Wang H, Xu Y, Chen M, et al. Genetic association study of adaptor protein complex 4 with cerebral palsy in a Han Chinese population. *Mol Biol Rep*. 2013;40(11):6459–6467. doi: 10.1007/s11033-013-2761-6
29. Shi W, Zhu Y, Zhou M, et al. Malectin gene polymorphisms promote cerebral palsy via M2-like macrophage polarization. *Clin Genet*. 2018;93(4):794–799. doi: 10.1111/cge.13149
30. O'Callaghan ME, MacLennan AH, Gibson CS, et al.; Australian Collaborative Cerebral Palsy Research Group. Genetic and clinical contributions to cerebral palsy: a multi-variable analysis. *J Paediatr Child Health*. 2013;49(7):575–581. doi: 10.1111/jpc.12279
31. Shang Q, Zhou C, Liu D, et al. Association between osteopontin gene polymorphisms and cerebral palsy in a Chinese population. *Neuromolecular Med*. 2016;18(2):232–238. doi: 10.1007/s12017-016-8397-7
32. Chernykh ER, Kafanova MY, Shevela EY, et al. Clinical experience with autologous M2 macrophages in children with severe cerebral palsy. *Cell Transplant*. 2014;23(Suppl 1):S97–104. doi: 10.3727/096368914X684925
33. Wu T, Li X, Ding Y, et al. Seven patients of argininemia with spastic tetraplegia as the first and major symptom and prenatal diagnosis of two fetuses with high risk. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2015;53(6):425–430.
34. Diaz Heijtz R, Almeida R, Eliasson AC, Forssberg H. Genetic variation in the dopamine system influences intervention outcome in children with cerebral palsy. *EBioMedicine*. 2018;28:162–167. doi: 10.1016/j.ebiom.2017.12.028
35. Looney AM, Walsh BH, Moloney G, et al. Downregulation of umbilical cord blood levels of miR-374a in neonatal hypoxic ischemic encephalopathy. *J Pediatr*. 2015;167(2):269–273.e2. doi: 10.1016/j.jpeds.2015.04.060

36. Whitehead CL, Teh WT, Walker SP, et al. Circulating microRNAs in maternal blood as potential biomarkers for fetal hypoxia in-utero. *PLoS One*. 2013;8(11):e78487. doi: 10.1371/journal.pone.0078487
37. Denihan NM, Boylan GB, Murray DM. Metabolomic profiling in perinatal asphyxia: a promising new field. *Biomed Res Int*. 2015;2015:254076. doi: 10.1155/2015/254076
38. Gao J, Zhao B, He L, et al. Risk of cerebral palsy in chinese children: A matched case control study. *J Paediatr Child Health*. 2017;53:464–469. doi: 10.1111/jpc.13479
39. Benavente-Fernandez I, Ramos-Rodriguez JJ, Infante-Garcia C, et al. Altered plasma-type gelsolin and amyloid- $\beta$  in neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy under therapeutic hypothermia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2019;39(7):1349–1354. doi: 10.1177/0271678X18757419
40. Shin YK, Yoon YK, Chung KB, et al. Patients with non-ambulatory cerebral palsy have higher sclerostin levels and lower bone mineral density than patients with ambulatory cerebral palsy. *Bone*. 2017;103:302–307. doi: 10.1016/j.bone.2017.07.015
41. Lv H, Wang Q, Wu S, et al. Neonatal hypoxic ischemic encephalopathy-related biomarkers in serum and cerebrospinal fluid. *Clin Chim Acta*. 2015;450:282–297. doi: 10.1016/j.cca.2015.08.021
42. Hansen SL, Lorentzen J, Pedersen LT, et al. Suboptimal nutrition and low physical activity are observed together with reduced plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) concentration in children with severe cerebral palsy (CP). *Nutrients*. 2019;11(3):E620. doi: 10.3390/nu11030620
43. Koh H, Rah WJ, Kim YJ, et al. Serial changes of cytokines in children with cerebral palsy who received intravenous granulocyte-colony stimulating factor followed by autologous mobilized peripheral blood mononuclear cells. *J Korean Med Sci*. 2018;33(21):e102. doi: 10.3346/jkms.2018.33.e102
44. Tao W, Lu Z, Wen F. The influence of neurodevelopmental treatment on transforming growth factor- $\beta$ 1 levels and neurological remodeling in children with cerebral palsy. *J Child Neurol*. 2016;31(13):1464–1467. doi: 10.1177/0883073816656402

## Информация об авторах

**Голота Александр Сергеевич**, к.м.н., доцент [Aleksandr S. Golota, MD, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor]; адрес: Россия, 197706, Санкт-Петербург, Сестрорецк, ул. Борисова, д. 9, лит. Б [address: 9B Borisova st., 197706, Saint Petersburg, Sestroretsk, Russia]; e-mail: golotaa@yahoo.com; eLibrary SPIN: 7234-7870

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5632-3963>

**Вологжанин Дмитрий Александрович**, д.м.н. [Dmitry A. Vologzhanin, MD, Dr. Sci. (Med.)]; e-mail: volog@bk.ru; eLibrary SPIN: 7922-7302

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1176-794X>

**Камилова Татьяна Аскарровна**, к.б.н. [Tatyana A. Kamilova, Cand. Sci. (Biol.)]; e-mail: kamilovaspb@mail.ru; eLibrary SPIN: 2922-4404  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6360-132X>

**Шнейдер Ольга Вадимовна**, к.м.н. [Olga V. Shneider, MD, Cand. Sci. (Med.)]; e-mail: o.shneider@gb40.ru; eLibrary SPIN: 8405-1051

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8341-2454>

**Щербак Сергей Григорьевич**, д.м.н., профессор [Sergey G. Scherbak, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor]; e-mail: b40@zdrav.spb.ru; eLibrary SPIN: 1537-9822

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5047-2792>