

КОРРИГИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ РАСТВОРИМЫХ ФАКТОРОВ МАКРОФАГОВ M2-ФЕНОТИПА У ДЕТЕЙ С НАРУШЕНИЕМ РЕЧИ

**Шевела Е.Я.¹, Дегтярева В.Г.², Сосновская А.В.², Воронова Е.В.²,
Кафанова М.Ю.³, Ращупкин И.М.¹, Останин А.А.¹, Черных Е.Р.¹**

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
г. Новосибирск, Россия

² ООО «Медицинский центр “Синеглазка”», г. Новосибирск, Россия

³ ГБУЗ Новосибирской области «Детская городская больница № 1», г. Новосибирск, Россия

Резюме. Целью исследования явилась оценка безопасности и клинической эффективности ингаляционной иммунотерапии на основе интраназального введения биоактивных факторов макрофагов M2-фенотипа у детей с нарушением речевого развития, а также исследование влияния ингаляционной иммунотерапии на профиль цитокинов в сыворотке крови пациентов. В исследование, которое проводили по протоколу NCT04689282 (www.ClinicalTrials.gov), были включены 14 детей (9 мальчиков / 5 девочек), в возрасте от 3 до 8 лет, с расстройствами речи, связанными с перинатальными или постнатальными поражениями ЦНС различного генеза. Оценку состояния детей неврологом и логопедом проводили до начала терапии, по завершении курса (1 мес.) и через 6 месяцев. Образцы сыворотки крови для анализа цитокинового профиля получали до и через 1 месяц после терапии. Курсовое лечение с использованием интраназальных ингаляций кондиционных сред M2-макрофагов (по 2 мл 1 раз в сутки в течение 28-30 дней) было безопасным и хорошо переносимым. Ни у одного из 14 пролеченных детей не было отмечено выраженных побочных реакций и тяжелых нежелательных явлений. Интраназальная иммунотерапия приводила к уменьшению выраженности речевых расстройств, что проявлялось улучшением понимания речи на 45%, сенсомоторного уровня речи – на 51%, навыков словообразования – на 72%, а также двукратному возрастанию общей и мелкой моторики. У детей с наличием признаков расстройств аутистического спектра наряду с улучшением речевой активности, регистрировалось уменьшение выраженности аутоподобной симптоматики, о чем свидетельствовало статистически достоверное снижение балла по шкале CARS с 42,5 до 38,5 через 1 месяц и 33 баллов через 6 месяцев ($p < 0,05$). Клинический эффект проявлялся достаточно быстро – уже через месяц после первой процедуры – и сохранялся или усиливался в течение 6-месячного наблюдения. При этом две трети детей продемонстрировали отчетливое клиническое улучшение, у остальных улучшение было незначительным. Сравнительный анализ сывороточного уровня цитокинов в этих подгруппах показал, что дети с выраженным положительным ответом на ингаляционную иммунотерапию отличались: 1) исходно более высоким уровнем VEGF и IGF-1; и 2) снижением уровня TNF α в ответ на ингаляционную иммунотерапию. В целом нами впервые апробирован принципиально новый

Адрес для переписки:

Шевела Екатерина Яковлевна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.
Тел.: 8 (383) 236-03-29.
Факс: 8 (383) 222-70-28.
E-mail: shevelak@mail.ru; ct_lab@mail.ru

Address for correspondence:

Shevela Ekaterina Ya.
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
630099, Russian Federation, Novosibirsk,
Yadrintsevskaya str., 14.
Phone: 7 (383) 236-03-29.
Fax: 7 (383) 222-70-28.
E-mail: shevelak@mail.ru; ct_lab@mail.ru

Образец цитирования:

Е.Я. Шевела, В.Г. Дегтярева, А.В. Сосновская,
Е.В. Воронова, М.Ю. Кафанова, И.М. Ращупкин,
А.А. Останин, Е.Р. Черных «Корректирующий эффект
растворимых факторов макрофагов M2-фенотипа
у детей с нарушением речи» // Медицинская
иммунология, 2021. Т. 23, № 5. С. 1137-1150.
doi: 10.15789/1563-0625-TEO-2224

© Шевела Е.Я. и соавт., 2021

For citation:

E.Ya. Shevela, V.G. Degtyareva, A.V. Sosnovskaya,
E.V. Voronova, M.Yu. Kafanova, I.M. Rashchupkin,
A.A. Ostanin, E.R. Chernykh “Therapeutic effect of soluble
factors of M2 phenotype macrophages in children with language
impairments”, Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya, 2021, Vol. 23, no. 5, pp. 1137-1150.
doi: 10.15789/1563-0625-TEO-2224

DOI: 10.15789/1563-0625-TEO-2224

подход, основанный на применении растворимых факторов М2-макрофагов и интраназального пути их введения для лечения детей с выраженными речевыми нарушениями, и продемонстрирована безопасность и, по предварительным данным, эффективность подобного подхода.

Ключевые слова: макрофаги, М2-фенотип, цитокины, интраназальные ингаляции, расстройства речевого развития, алалия

THERAPEUTIC EFFECT OF SOLUBLE FACTORS OF M2 PHENOTYPE MACROPHAGES IN CHILDREN WITH LANGUAGE IMPAIRMENTS

Shevela E.Ya.^a, Degtyareva V.G.^b, Sosnovskaya A.V.^b, Voronova E.V.^b, Kafanova M.Yu.^c, Rashchupkin I.M.^a, Ostanin A.A.^a, Chernykh E.R.^a

^a Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

^b Medical Center "Sineglazka", Novosibirsk, Russian Federation

^c Pediatric City Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. The aim of the present study was to assess safety and clinical efficacy of inhalation immunotherapy based on intranasal administration of bioactive factors produced by the M2 phenotype macrophages in children with language impairments, as well as to study the effect of inhalation immunotherapy on the cytokine profile in the patients' blood serum. The study was carried out according to the NCT04689282 protocol (www.ClinicalTrials.gov) and included 14 children (9 boys / 5 girls), aged 3 to 8 years, with language impairments associated with perinatal or postnatal CNS lesions of various origin. The children recruited into the study were assessed by a neurologist and speech therapist before the therapy, at the end of the course (1 month), and 6 months later. Serum samples for cytokine analysis were obtained before and 1 month after therapy. The course of intranasal inhalations by the conditioned M2 media (2 ml one time per day for 28–30 days) was safe and well tolerated. None of the 14 treated children had significant adverse reactions and severe undesirable events. Intranasal immunotherapy led to a decrease in the severity of language problems, which manifested by improved speech understanding by 45%; the sensorimotor level of speech, by 51%; word formation skills, by 72%, as well as a twofold increase in general and fine motor skills. In children with signs of autism spectrum disorders, along with a language improvement, a decrease in the severity of autistic symptoms was registered, as evidenced by statistically significant decrease in the CARS score from 42.5 to 38.5 after 1 month, and to 33 points after 6 months ($p < 0.05$). The clinical effect was revealed rather soon, i.e., within a month after the first procedure, being maintained or intensified during a follow-up for 6 months. At the same time, two-thirds of the children showed a clear clinical improvement, with insignificant effect in the rest of patients. Comparative analysis of the serum cytokine levels in these subgroups showed that children with a pronounced positive response to inhaled immunotherapy differed in the following parameters: (1) initially higher level of VEGF and IGF-1, and (2) decrease the level of TNF α in response to intranasal immunotherapy. In summary, we first tested a fundamentally new approach based on the use of soluble factors from M2-type macrophages and intranasal route of their administration in order to treat the children with severe language impairments, demonstrating safety and obtained preliminary data on effectiveness of such approach.

Keywords: macrophages, M2 phenotype, cytokines, intranasal inhalations, specific language impairments, alalia

Работа выполнена за счет средств федерального бюджета на проведение фундаментальных научных исследований по теме «Обоснование и разработка новых технологий иммуномодуляции, стимуляции репаративных процессов и коррекции поведенческих и аддиктивных расстройств на основе использования миелоидных,

лимфоидных и стволовых клеток и/или продуктов их секрета».

Введение

Расстройства речевого развития являются одной из наиболее распространенных проблем психо-физического развития детей дошкольно-

го возраста, частота которой значительно увеличилась в последние годы. Нарушения развития речи, которые встречаются у 5-10% детей, негативно сказываются на общем формировании личности детей, их интеллектуальном развитии и поведении, затрудняя обучение и общение с окружающими [2, 8]. В большинстве случаев речевые расстройства связаны с гипоксическим ишемическим повреждением центральной нервной системы (ЦНС) в перинатальном периоде (ЦНС) [1]. Одной из наиболее тяжелых и стойких форм патологии речевой деятельности является алалия – отсутствие или недоразвитие речи при нормальном слухе и первично сохранном интеллекте, в результате поражения корковых речевых зон в доречевом периоде. Согласно МКБ-10, выделяют моторную алалию (F80.1) – расстройство развития экспрессивной речи, при котором способность ребенка использовать разговорную речь заметно ниже уровня возрастной нормы при сохранном понимании речи, и сенсорную алалию (F80.2) – расстройство развития рецептивной речи, при котором наблюдается непонимание речи при сохранном слухе.

Исследования последних двух десятилетий показали, что центральную роль в патогенезе повреждений ЦНС играет запуск нейровоспалительного процесса [27]. При этом образующиеся при воспалении продукты деградации миелина и протеогликаны являются ингибиторами нейрорепаративных процессов. Поэтому определенные перспективы в лечении различных повреждений ЦНС связывают с использованием клеточных технологий, в частности основанных на использовании прогениторных клеток и макрофагов, поскольку эти клетки продуцируют большое количество цитокинов и ростовых факторов, регулирующих выраженность воспалительной реакции с одной стороны, и участвующих в «запуске» репаративных процессов с другой [16, 29, 43]. Однако наличие гематоэнцефалического барьера существенно ограничивает попадание клеток и цитокинов в паренхиму мозговой ткани при их системном введении. В этой связи большой интерес в последние годы вызывает интраназальный путь доставки лекарственных препаратов, включая цитокины, в ткань мозга.

Интраназальный путь введения позволяет добиться быстрого и эффективного попадания различных субстанций в ткань головного и спинного мозга [11] и имеет ряд преимуществ, среди которых следует отметить простоту введения, возможность повторного введения, минимальное время доставки, отсутствие необходимости в модификации цитокинов для преодоления гематоэнцефалического барьера, отсутствие системных

побочных эффектов [5, 47]. В экспериментальных исследованиях было показано, что введенные интраназально нейротрофические факторы и эритропоэтин быстро проникают в ткани мозга через ольфакторный и тригеминальный пути, минуя гематоэнцефалический барьер [5, 40, 47]. Проникновение субстанций (например, инсулина) из носовой полости в ткани мозга продемонстрировано у человека [7, 14]. При этом демонстрация клинических эффектов интраназально введенных цитокинов в моделях различных нейропатологий открывает широкие перспективы для внедрения данного подхода в клиническую практику [15, 38].

Ранее нами был разработан новый метод получения макрофагов M2-фенотипа, кондиционные среды которых (КС-M2) содержат комплекс цитокинов, включая нейротрофические, проангиогенные и иммунорегуляторные факторы [4]. Клинические исследования, проведенные в группе 20 пациентов с органическими поражениями мозга различного генеза (NCT02957123, ClinicalTrials.gov), продемонстрировали хорошую переносимость и безопасность интраназальных ингаляций КС-M2. Более того, у пациентов регистрировалось статистически достоверное снижение уровня тревоги и депрессии, а также коррекция нарушений когнитивных функций. Достигнутый клинический эффект сохранялся в течение 6 месяцев наблюдения.

Исходя из вышеизложенного, **целью настоящего исследования** явилась оценка безопасности и клинической эффективности интраназального введения кондиционных сред макрофагов M2-фенотипа у детей с речевыми расстройствами, связанными с перинатальными или постнатальными поражениями ЦНС различного генеза. Кроме того, планировалось оценить влияние ингаляционной иммунотерапии на профиль цитокинов в сыворотке крови пациентов.

Материалы и методы

Представленная работа является частью клинического исследования по протоколу IFCI-20/06/2017, одобренному решением локального этического комитета НИИ фундаментальной и клинической иммунологии и зарегистрированному на сайте www.ClinicalTrials.gov (NCT04689282). В исследование были ретруированы 14 детей (9 мальчиков / 5 девочек), в возрасте от 3 до 8 лет, с расстройствами речи, связанными с перинатальными или постнатальными поражениями ЦНС различного генеза (гипоксия, травма, инфекция, интоксикация и др.), верифицированными логопедом и неврологом,

при наличии письменного информированного согласия родителей. В исследование не включали детей с острыми инфекционными заболеваниями, судорожным синдромом, непереносимостью гентамицина и/или множественной лекарственной аллергией. Из реkrутируемой группы также исключались дети, у которых отставание в развитии речи было обусловлено снижением слуха, умственной отсталостью, тяжелой соматической патологией, неполноценным питанием, а также влиянием неблагоприятных социальных факторов (недостаточным общением и воспитанием). Оценку состояния детей неврологом, логопедом и родителями проводили до начала терапии, по завершении курса (1 мес.) и через 6 месяцев. Получение образцов сыворотки крови для анализа цитокинового профиля осуществляли до и через 1 месяц после терапии. Первичной конечной точкой являлось изменение выраженности речевых расстройств по данным логопедического обследования, вторичной – оценка безопасности, включающая анализ побочных реакций (аллергические, токсические, воспалительные реакции; неврологическое ухудшение, судорожный синдром) на фоне ингаляционного применения цитокинов.

Уровень речевого развития оценивали по балльно-уровневой шкале (шкала развития речи, ШРР) в соответствии со стандартизированной методикой Т.А. Фотековой [3]. Шкала включает шесть серий тестов, направленных на исследование: I – понимания речи (максимальный балл 33), II – сенсомоторного уровня речи (максимум 38 баллов), III – сформированности грамматического строя речи (максимум 24 балла), IV – словаря и навыков словобразования (максимум 17 баллов), V – связной речи (максимум 25 баллов), VI – общей и мелкой моторики (максимум 23 баллов). На основании максимального количества баллов (160) вычисляли показатель эффективности тестирования (ПЭТ, син. процент успешности) как суммарный балл за весь тест / 160×100 . Выполнение заданий на 80-100% соответствует IV уровню успешности (что является нормой), на 65,0-79,9% – III уровню успешности (что свидетельствует о нарушении речевого развития легкой степени), на 50,0-64,9% – II уровню (задержка речевого развития средней степени), на 49,9% и менее – I уровню (задержка речевого развития тяжелой степени). ПЭТ вычисляли для каждой серии (начисленное за серию количество баллов $\times 100$ / максимально возможный балл для данной серии).

Для оценки выраженности симптоматических проявлений РАС использовали рейтинговую

шкалу аутизма и аутоподобных состояний у детей CARS.

Получение кондиционных сред макрофагов M2-фенотипа

Кондиционные среды макрофагов M2-фенотипа (KC-M2) получали в соответствии с [33]. Кратко: макрофаги генерировали из прилипающей фракции мононуклеарных клеток (МНК), которые выделяли стандартно из гепаринизированной венозной крови одного из родителей и инкубировали в присутствии рекомбинантного GM-CSF человека (rhGM-CSF, 50 нг/мл, Sigma-Aldrich, США) и 2% аутоплазмы при 37 °C и 5% CO₂. Через 7 суток культивирования KC-M2 собирали, подвергали стерилизующей фильтрации, аликвотировали (2,0 мл/флакон) и криоконсервировали (-20 °C).

Ингаляционная иммунотерапия (ИИТ)

Перед применением KC-M2 размораживали при комнатной температуре и использовали в виде мелкодисперсного аэрозоля интраназально с помощью компрессорного ингалятора 1 раз в сутки курсом в течение 28-30 дней. Первые 2-3 ингаляции проводили под контролем врача, последующее лечение проходило в амбулаторном режиме. ИИТ проводилась после окончания очередного курса базовой медикаментозной и немедикаментозной терапии, включавшей ноотропные и сосудистые препараты, витамины, дегидратационную и противосудорожную терапию, массаж, лазеротерапию по речевым точкам и др.

Оценка цитокинового профиля в сыворотке крови

Концентрацию цитокинов в образцах сыворотки крови определяли до и по окончании ИИТ методом проточной флюориметрии на 2-лучевом лазерном автоматизированном анализаторе (Bio-Plex Protein Assay System, Bio-Rad, США) с использованием коммерческих Human Cytokine 8-plex тест-систем в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. Панель 8-plex включала IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN γ , TNF α . Дополнительно в исследуемых образцах сыворотки методом иммуоферментного анализа определяли концентрацию VEGF (Vascular endothelial growth factor; R&D Systems) и общего IGF-1 (Insulin-like growth factor-1; R&D Systems).

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0. Данные представлены в виде медианных (Me) значений и интерквартильного диапазона (Q_{0,25}-Q_{0,75}) %. Для оценки достоверности различий использовали непараметрический критерий Манна-Уитни (p_U для непрерывных

переменных) и критерий Вилкоксона для связанных пар (p_w). Корреляционный анализ проводили методом ранговой корреляции по Спирману. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

В исследование были включены 14 детей (9 мальчиков / 5 девочек), в возрасте от 3 лет 8 месяцев до 8 лет – 5,4 (4,3–5,9). У всех детей недоразвитие/нарушение речи проявлялось в виде специфического расстройства развития речи (код по МКБ-10 F80), в том числе в виде моторной (F80.1, $n = 9$) и сенсомоторной алалии (F80.2; $n = 5$). У подавляющего большинства детей (13/14) регистрировался I уровень речевого развития (отсутствие общеупотребительной речи), у одного ребенка – II уровень (начальные проявления общеупотребительной речи, характеризующиеся бедностью словарного запаса и явлениями аграмматизма). У 9 детей (64%) задержка речевого развития ассоциировалась с наличием аутоподобной симптоматики. У двух детей (14%) задержка речевого развития сочеталась с синдромом гиперактивности и дефицита внимания (СДВГ). Для всей выборки были характерны нарушения поведения (двигательные стереотипии, эмоциональная лабильность с аффективностью реакций и неадекватностью степени выраженности эмоционального ответа, недостаточная сформированность либо отсутствие навыков самообслуживания, в том числе неумение одеться, есть самостоятельно) и внимания (быстрая пресыщаемость, повышенная отвлекаемость, нарушение слухового внимания).

Анализ данных акушерско-гинекологического анамнеза выявил патологическое течение беременности в 86% случаев, в том числе внутриматочные инфекции (7/14), внутриутробную гипоксию плода (12/14), слабость родовой деятельности (2/14), угрозу прерывания беременности (2/14), оперативное родоразрешение (5/14), асфиксию плода (6/14), реанимационные мероприятия после родов (2/14). В ряде случаев ранний детский период осложнялся инфекционными заболеваниями (поствакцинальный менингоэнцефалит, 3/14; кишечные инфекции, 1/14) и травмами головного мозга (2/14).

Оценка уровня речевого развития выявила выраженные нарушения всех компонентов речи (рис. 1). Дети успешно выполняли только пятую часть заданий (31,4 балла при максимально возможных 160 баллах). Практически у всех детей (13/14) эффективность выполнения тестов (показатель эффективности тестирования, ПЭТ) не превышала 38%, что соответствовало низкому

уровню успешности (I уровень). Тестирование по шкале CARS продемонстрировало наличие признаков умеренных (30–36,5 баллов) и выраженных (37–60 баллов) расстройств аутистического спектра у 2 (14%) и 7 (50%) детей соответственно.

Все дети, рекрутированные в исследование, получили 28–30-дневный курс ингаляционной иммунотерапии (ИИТ) в виде ежедневных интраназальных ингаляций кондиционными средами M2 (КС-M2). ИИТ хорошо переносилась детьми и не вызывала каких-либо нежелательных побочных реакций (включая аллергические, токсические и воспалительные реакции), а также неврологического ухудшения. В двух случаях родители отметили кратковременную заложенность носа и появление слизистых выделений, которые купировались самостоятельно и не потребовали медикаментозного лечения. В двух других случаях интраназальное введение сопровождалось чиханием. У одного ребенка родители заметили ухудшение сна при проведении ингаляций в вечернее время, однако перенос сеансов на утро способствовал нормализации засыпания.

Проведение ИИТ сопровождалось снижением выраженности речевых расстройств у всех детей,

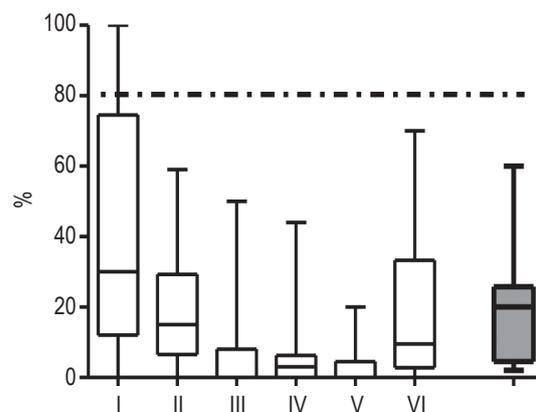


Рисунок 1. Исходная характеристика речевого развития детей

Примечание. Представлены показатели эффективности тестирования (ПЭТ) по шкале речевого развития: по отдельным сериям (римские цифры) и суммарный ПЭТ (серый бокс). Данные представлены в виде медианных значений, интерквартильного диапазона и диапазона минимальных-максимальных значений. Пунктирной линией обозначен нижний уровень нормативного диапазона.

Figure 1. Baseline characteristics of children's language development

Note. Test efficiency indicators (TEI) on the language development scale are presented: individual series (Roman numerals) and total TEI (gray box). Data are presented as median values, interquartile range and the range of minimum-maximum values. The dashed line indicates the lower level of the normative range.

что было зафиксировано через 1 месяц неврологом, логопедом и родителями (рис. 2). В целом по группе положительная динамика проявлялась в улучшении понимания речи на 45%; сенсомоторного уровня речи – на 51%; навыков словообразования – на 72%; общей и мелкой моторики – более чем в 2 раза ($p < 0,05$). Наиболее сложными для коррекции оказались способности к формированию связной речи (серия V), изменения которых были минимальными или отсутствовали. В целом дети стали спокойнее, повысился уровень и устойчивость внимания, начали формироваться или улучшились навыки самообслуживания (способность самостоятельно есть, одеваться и т.д.), появились звуки/слова/фразовая речь, увеличилось количество слов в предложениях. У детей с наличием признаков РАС наряду с улучшением речевой активности, регистрировалось уменьшение выраженности аутоподобного поведения, о чем свидетельствовало снижение балла по шкале CARS с 42,5 до 38,5 ($p = 0,015$) через 1 месяц и 33 ($p = 0,002$) через 6 месяцев.

В ряде случаев позитивные изменения отмечались родителями еще до завершения курса ИИТ (уже через 7-10 дней ингаляций). Следует отметить, что статистически значимые улучшения, регистрируемые через 1 месяц после начала ИИТ,

продолжали нарастать при дальнейшем наблюдении до 6 месяцев, причем в некоторых случаях изменения через 6 месяцев превышали уровень ранних изменений (например динамика сенсомоторного уровня речи или балла по CARS).

Анализ клинической эффективности позволил выделить две подгруппы – с выраженным (подгруппа 1) и умеренным (подгруппа 2) клиническим ответом (табл. 1). Критерием выраженного улучшения являлось увеличение суммарного ПЭТ не менее чем на 30% через 1 месяц после начала терапии. В подгруппу 1 вошли 9 детей (6 мальчиков и 3 девочки) со значительными клиническими улучшениями, подгруппу 2 составили 5 пациентов (3 мальчика и 2 девочки) с увеличением ПЭТ менее чем на 30%. Обе подгруппы не различались по возрасту, тяжести речевых нарушений и проявлений РАС ($p > 0,05$). В первой подгруппе ПЭТ через 1 месяц составлял 48%, к 6 месяцам возрастал еще на 33% и значительно превышал аналогичные показатели в оппозитной группе ($p = 0,03$). Наряду с этим, на обоих сроках наблюдения регистрировалось достоверное снижение балла по шкале CARS. Во второй подгруппе увеличение ПЭТ через 1 месяц было незначительным (в среднем на 8%), а к 6 месяцам – двукратным ($p_w = 0,067$ по сравнению с

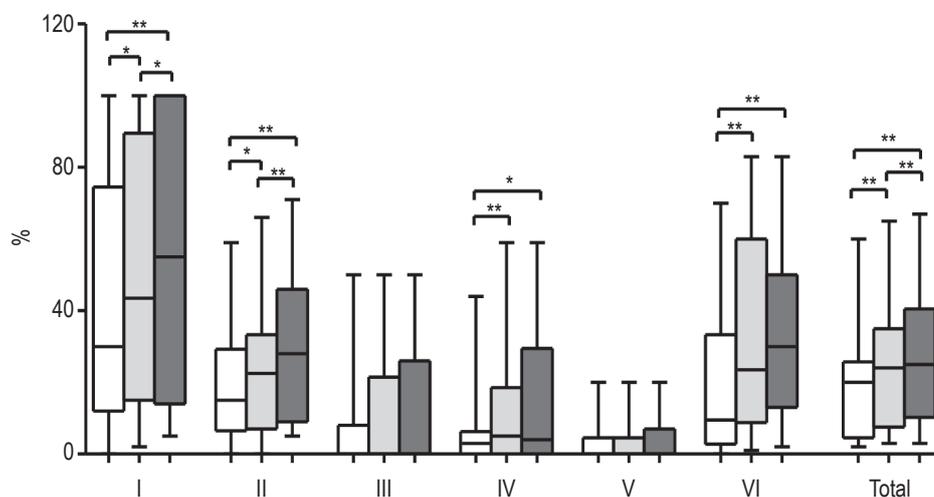


Рисунок 2. Динамика выраженности речевых нарушений через 1 месяц (светло-серые) и 6 месяцев (темно-серые боксы) после курса ИИТ по сравнению с исходным уровнем (белые боксы)

Примечание. Представлены показатели эффективности тестирования (ПЭТ) по шкале речевого развития: по отдельным сериям (римские цифры) и суммарный ПЭТ (Total). Данные представлены в виде медианных значений, интерквартильного диапазона и диапазона «минимум-максимум». *, ** – достоверность различий ($p < 0,05$ и $p < 0,01$, соответственно) по критерию Вилкоксона для связанных пар.

Figure 2. Dynamics of language impairments 1 month (light gray boxes) and 6 months (dark gray boxes) after the course of inhaled immunotherapy (IIT) compared with the initial level (white boxes)

Note. Test efficiency indicators (TEI) on the language development scale are presented: individual series (Roman numerals) and total TEI (Total). Data are presented as median values, interquartile range and the range of minimum-maximum values. *, **, significance of differences ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively; Wilcoxon matched pairs test).

ТАБЛИЦА 1. ДИНАМИКА ВЫРАЖЕННОСТИ РЕЧЕВЫХ РАССТРОЙСТВ И ПРИЗНАКОВ РАС В ПОДГРУППАХ С РАЗЛИЧНЫМ КЛИНИЧЕСКИМ ОТВЕТом НА ТЕРАПИЮ

TABLE 1. DYNAMICS OF LANGUAGE IMPAIRMENTS AND SIGNS OF ASD IN CHILDREN WITH DIFFERENT CLINICAL RESPONSES TO IIT

	Выраженный ответ Pronounced response (n = 9)			Умеренный ответ Moderate response (n = 5)		
	До Before	1 мес. 1 month	6 мес. 6 month	До Before	1 мес. 1 month	6 мес. 6 month
	1	2	3	4	5	6
Серия I Series I	33 (23-74)	47,7 (25,8-86,4)*	55 (34-91)* [§]	21,2 (13,6-63,6)	15,9 (12,1-86,4)	19,5 (16-100) [§]
Серия II Series II	19,7 (13,8-32,9)	28,9 (23,7-36,6)* [#]	39,5 (27,6-50,0)* ^{§#}	7,2 (6,6-10,5)	7,2 (6,6-7,9)	10,5 (5,3-24)
Серия III Series III	0 (0,0-8,3)	8,3 (0,0-22,9) 2-1: p _w = 0,09	2,1 (0,0-29,2) 3-1: p _w = 0,067	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)
Серия IV Series IV	4,4 (2,9-7,4) [#]	10,3 (5,6-26,5)* [#]	16,2 (2,9-41,2)* [§] 3-1: p _w = 0,067	0 (0-0)	0 (0-2,9)	0 (0-4,1)
Серия V Series V	2 (0-6) 1-4: p _w = 0,09	4 (0-6) 2-1: p _w = 0,09	0 (0-10)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)
Серия VI Series VI	21,7 (7,6-43,5)	43,5 (21,7-63,0)* [#]	43,5 (30,4-52,2)* [#]	4,3 (3,3-4,3)	8,7 (7,6-22,8) 5-4: p _w = 0,067	7,7 (4,2-25,2) 6-4: p _w = 0,07
Суммарный ПЭТ (по шести сериям тестов) Total test efficiency indicator (for six series)	20,2 (10-28) 1-4: p _w > 0,05	26,3 (10,3-41,4) 2-1: p _w = 0,07 2-5: p _u = 0,07	35 (21-48)* ^{§#}	7,5 (4,7-19,5)	8,1 (6,1-22,8) 5-4: p _w = 0,07	16,7 (6,5-25,2) 6-4: p _w = 0,1 6-5: p _w = 0,067
CARS	36,5 (27,0-44,5)	29,5 (23,0-38,5)*	26,8 (21,5-34,5)* ^{§#}	37 (33,0-42,5)	32 (29,5-45,0)	33 (24,5-40,0) 6-4: p _w = 0,06 6-5: p _w = 0,1

Примечание. Выраженность речевых расстройств оценивали по шкале речевого развития (шесть серий тестов и суммарный балл) и выражали в процентном отношении от нормы (показатель эффективности тестирования, ПЭТ), признаков РАС – по шкале CARS (баллы). * – достоверность различий по сравнению с исходными значениями, [§] – между значениями через 1 и 6 мес. (p_w < 0,05, критерий Вилкоксона для связанных пар), [#] – достоверность различий по сравнению с соответствующим параметром в оппозитной группе (p_u < 0,05, критерий Манна–Уитни). РАС – расстройства аутистического спектра.

Note. The severity of language impairments was assessed on the speech development scale (six series of tests and a total score) and expressed as a percentage of the norm (test efficiency indicator, TEI), signs of ASD – on the CARS scale (points). *, significance of differences compared with the initial values; [§], between 1 and 6 month values (p_w < 0.05, Wilcoxon matched pairs test); [#], compared with the corresponding parameter in the opposite group (p_u < 0.05, Mann–Whitney test). ASD, Autism Spectrum Disorder.

исходным уровнем). Снижение выраженности аутоподобного поведения (балл по CARS) у детей этой подгруппы также выявлялось только через 6 месяцев после терапии (p_w = 0,06).

Исследование исходного уровня цитокинов в сыворотке крови детей показало, что IL-4 и IL-10 детектировались на уровне нижней границы порога чувствительности, что послужило основани-

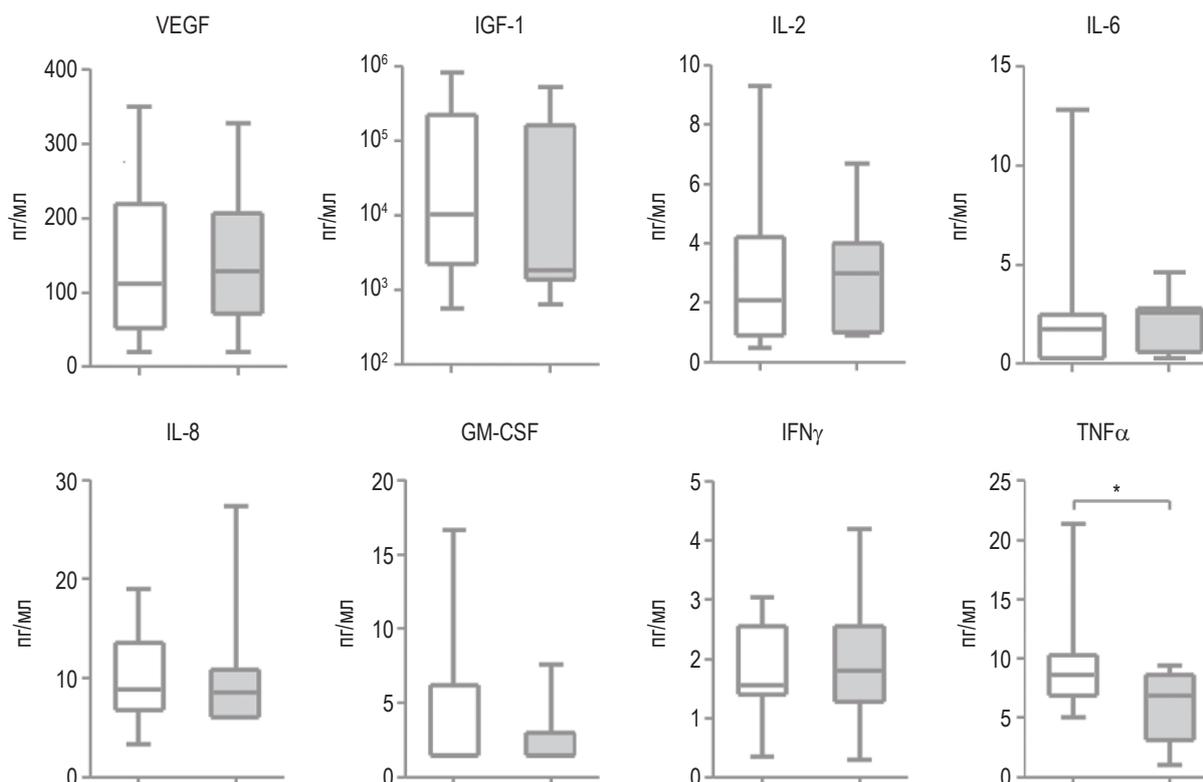


Рисунок 3. Концентрация цитокинов в сыворотке крови детей до (белые боксы) и после (серые боксы) курса ИИТ
Примечание. * – достоверность различий по критерию Вилкоксона для связанных пар.

Figure 3. Cytokine concentrations in blood serum samples receiving before (white boxes) and after (gray boxes) IIT course
Note. *, significance of differences (p_w – Wilcoxon matched pairs test).

ем для их исключения из дальнейшего анализа. В то же время образцы содержали значительные количества ростовых факторов (VEGF и, особенно, IGF-1), концентрация которых варьировала в диапазоне 10^2 - 10^4 пг/мл (рис. 3). Наряду с этим, в сыворотке присутствовал TNF α , уровень которого прямо коррелировал с IL-6 ($r_s = 0,66$; $p = 0,009$; $n = 14$) и IL-8 ($r_s = 0,59$; $p = 0,026$; $n = 14$). Уровень исследуемых цитокинов в сыворотке крови детей с наличием признаков РАС достоверно не отличался от такового в оппозитной группе (данные не представлены). Сравнительный анализ цитокинового «профиля» в подгруппах детей с выраженным и умеренным ответом на терапию показал, что дети с выраженным клиническим ответом (подгруппа 1) исходно отличались достоверно более высоким уровнем VEGF и IGF-1 ($p = 0,037$ и $p = 0,028$ соответственно), а также IL-6 (в виде тренда, $p = 0,058$) (табл. 2).

Проведение терапии сопровождалось статистически значимым снижением уровня TNF α в сыворотке, что наблюдалось в целом по группе (рис. 3) и у детей с выраженным клиническим ответом (табл. 2). При этом в подгруппе 1 уровень

TNF α снижался в большинстве случаев (67%), сохраняясь на исходном уровне в остальных 33%. Наряду с этим, в этой подгруппе наблюдалось двукратное снижение уровня GM-CSF ($p > 0,05$). При этом ИИТ значимо не влияла на уровень VEGF и IGF-1.

В оппозитной подгруппе 2 после терапии уровень TNF α также снижался у большинства детей (3/5, 60%), однако в остальных случаях содержание цитокина в сыворотке возрастало (в среднем в 1,5 раза). Кроме того, наблюдалось более чем 8-кратное увеличение исходно сниженного уровня IL-6 ($p = 0,047$), а также повышение концентрации IFN γ ($p = 0,057$). При этом содержание VEGF незначительно возрастало, а IGF-1 снижалось, однако эти изменения не были достоверными ($p > 0,05$).

Корреляционный анализ показал, что после ИИТ сывороточный уровень TNF α обратно коррелировал с содержанием IGF-1 ($r_s = -0,71$; $p = 0,015$; $n = 11$). Выявленная сильная взаимосвязь свидетельствует об изменении цитокинового баланса у детей с речевыми расстройствами, которое проявляется ослаблением провоспалитель-

ТАБЛИЦА 2. ДИНАМИКА СЫВОРОТОЧНОГО УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КЛИНИЧЕСКОГО ОТВЕТА НА ТЕРАПИЮ

TABLE 2. DYNAMIC CHANGES IN SERUM CYTOKINE LEVELS DEPENDING ON THE CLINICAL RESPONSE TO THERAPY

Цитокины, пг/мл Cytokines, pg/ml	Выраженный ответ (подгруппа 1, n = 6) Pronounced response (subgroup 1, n = 6)		Умеренный ответ (подгруппа 2, n = 5) Moderate response (subgroup 2, n = 5)	
	До ИИТ Before IIT	Через 1 мес. 1 month after IIT	До ИИТ Before IIT	Через 1 мес. 1 month after IIT
VEGF	214# (150-230)	178# (129-264)	53 (37-101)	77 (21-102)
IGF-1	70 816# (6612-366136)	85 194# (1808-402 030)	2494 (2048-3285)	1740 (1396-1842)
IL-2	1,0 (0,9-3,5)	3,0 (1,01-4,90)	2,1 (1,0-4,9)	3,0 (1,00-3,99)
IL-6	2,3# (1,3-2,6)	0,95# (0,6-2,8)	0,31 (0,3-0,6)	2,6* (2,6-2,8)
IL-8	11,2 (8,6-14,8)	6,14 (6,14-7,40)	8,6 (6,8-9,8)	10,4 (9,8-10,9)
GM-CSF	2,9 (1,5-7,1)	1,5 (1,5-1,5)	1,5 (1,5-1,5)	3,0 (1,5-5,2)
IFN γ	1,7 (1,55-2,60)	1,42 (0,36-1,60)	1,6 (0,99-1,60)	2,1* (1,8-2,6)
TNF α	8,6 (6,9-10,3)	5,0* (1,04-6,90)	8,6 (8,6-8,6)	6,9 (6,9-8,6)

Примечание. Анализ влияния ингаляционной иммунотерапии (ИИТ) на уровень цитокинов в сыворотке был проведен в группе 11 детей, у которых образцы сыворотки крови были получены до начала и по окончании терапии. * – достоверность различий по сравнению с исходными значениями ($p_w < 0,05$, критерий Вилкоксона для связанных пар), # – достоверность различий по сравнению с соответствующим параметром в оппозитной группе ($p_u < 0,05$, критерий Манна–Уитни).

Note. Inhaled immunotherapy (IIT) influence on serum cytokine levels was analyzed in 11 children, whom serum samples were obtained before and at the end of therapy. *, significance of differences compared with the initial values ($p_w < 0.05$, Wilcoxon matched pairs test); #, significance of differences compared with the corresponding parameter in the opposite group ($p_u < 0.05$, Mann–Whitney test).

тельного вектора (например TNF α) и усилением регенераторного потенциала сывороточных факторов (например IGF-1) в результате проводимой иммунотерапии.

Обсуждение

Проведенное клиническое исследование показало, что использование растворимых факторов М2-макрофагов в виде интраназальных ингаляций является безопасным, хорошо переносимым и клинически эффективным в лечении детей с тяжелыми нарушениями речи. Интраназальная иммунотерапия приводит к 1) уменьшению выраженности речевых расстройств (что проявляется улучшением понимания речи на 45%, сенсомоторного уровня речи – на 51%, на-

выков словообразования – на 72%), 2) двукратному возрастанию общей и мелкой моторики и 3) уменьшению аутоподобной симптоматики. Клинический эффект проявляется достаточно быстро – уже через месяц после первой процедуры – и сохраняется или усиливается в течение 6-месячного наблюдения. При этом две трети детей продемонстрировали отчетливое клиническое улучшение, у остальных улучшение было незначительным. Сравнительный анализ сывороточного уровня цитокинов в этих подгруппах показал, что дети с выраженным положительным ответом на ингаляционную иммунотерапию отличаются 1) исходно более высоким уровнем VEGF и IGF-1 и 2) снижением уровня TNF α в ответ на ИИТ.

Наблюдаемое снижение уровня TNF α в сыворотке крови в целом по группе и особенно в подгруппе с хорошим ответом свидетельствует о выраженном противовоспалительном эффекте макрофагов M2-фенотипа. Известно, что нейровоспаление играет центральную роль в патогенезе самых разнообразных повреждений центральной нервной системы [37], в том числе расстройств аутистического спектра (РАС), умственной отсталости, детского церебрального паралича [10, 18, 32, 35]. Соответственно, подавление воспалительного ответа рассматривается как необходимый компонент комплексного лечения патологии ЦНС.

TNF α играет критическую роль в функционировании ЦНС, регулируя процессы синаптической пластичности, обучения, памяти и сна [30]. Повышенная продукция TNF α микроглией и астроцитами является важным компонентом нейровоспаления, особенно при хронических нейрпатологических процессах [6]. Так, высокий уровень TNF α , а также IL-1 в плазме и спинномозговой жидкости у доношенных новорожденных с перинатальной гипоксически/ишемической энцефалопатией ассоциируется с более выраженными неврологическими расстройствами к 12 месяцам и более высокой частотой церебрального паралича [35]. При этом блокирование TNF α , например, конкурентным ингибитором пентоксифиллином, улучшает неврологический исход [34].

Роль TNF α продемонстрирована также в патогенезе расстройств аутистического спектра, о чем свидетельствует повышенный уровень цитокина в сыворотке крови и спинномозговой жидкости [13, 44], а также взаимосвязь уровня TNF с тяжестью аутизма [42]. Однако в нашем исследовании дети с аутоподобным поведением достоверно не отличались от детей без признаков РАС по исходному уровню TNF α в сыворотке крови, а снижение уровня TNF α после ингаляционной терапии наблюдалось в равной степени у детей обеих групп.

Одним из значимых результатов настоящего исследования является тот факт, что дети с хорошим и умеренным ответом на терапию различались по уровню проангиогенных факторов. Известно, что VEGF играет ключевую роль не только в процессах васкуло/ангиогенеза, но также участвует в регуляции нейрогенеза, стимулируя пролиферацию нейрональных предшественников [17, 46]. Эффекты VEGF могут также опосредоваться через стимуляцию продукции эндотелиальными клетками нейротрофического фактора головного мозга (BDNF) [23]. Нейро-

протетивные свойства VEGF продемонстрированы *in vitro* и при различных повреждениях ЦНС *in vivo* [19, 20, 28]. Примечательно, что интрацеребровентрикулярное введение VEGF уменьшает размер инфаркта, в том числе, за счет стимуляции нейрогенеза и ангиогенеза [39].

Роль VEGF в развитии психомоторных нарушений у детей неоднозначна. С одной стороны, имеются данные о повышенном уровне VEGF у детей с РАС [21], что не характерно для детей с синдромом гиперактивности и дефицита внимания [41]. В то же время показана негативная взаимосвязь уровня циркулирующего VEGF с тяжестью РАС [12, 25].

Низкий уровень VEGF, ассоциированный с нарушением ангиогенеза и перфузии нервной ткани, может индуцировать нейродегенерацию [31]. Снижение уровня VEGF по мере утяжеления когнитивных нарушений продемонстрировано также при шизофрении [45].

Что касается различий в уровне IGF-1, который у детей с выраженным клиническим ответом (подгруппа 1) был существенно выше, чем у детей с незначительным ответом (подгруппа 2), следует отметить, что IGF-1 играет ключевую роль в ремоделировании сосудов, а также стимулирует рост и обеспечивает выживание нейронов [24]. Кроме того, IGF-1 способствует созреванию олигодендроцитов и их миелинизации [26]. В моделях ишемического поражения мозга показано, что введение IGF-1 снижает гибель нервных клеток и стимулирует пролиферацию глиальных клеток [22]. В то же время Simsek с соавт. сообщают о повышенном уровне IGF-1 в сыворотке крови пациентов с РАС (по сравнению с контрольной группой) и обсуждают возможную патогенетическую роль IGF-1 в развитии РАС [36].

Ранее нами было показано, что M2-макрофаги активно секретируют целый комплекс различных нейротрофических, нейропротективных и ангиогенных факторов, включая VEGF и IGF-1 [9, 33]. Возможно, у пациентов с умеренным ответом эти факторы в составе кондиционных сред восполняют имеющийся дефицит, что способствует развитию позитивного ответа в отсроченном периоде.

Заключение

Нами впервые апробирован принципиально новый подход, основанный на применении растворимых факторов M2-макрофагов и интраназального пути их введения для лечения детей с выраженными речевыми нарушениями, и продемонстрирована безопасность и, по предварительным данным, эффективность подобного подхода.

Список литературы / References

1. Бадалян Л.О. Детская неврология. 5-е изд. М.: МЕДпресс-информ, 2019. 608 с. [Badalyan L.O. Pediatric neurology]. Moscow: MEDpress-inform, 2019, 608 p.
2. Корнев А.Н. Основы логопатологии детского возраста: клинические и психологические аспекты. СПб.: Речь, 2006. 380 с. [Kornev A.N. Fundamentals of childhood speech pathology: clinical and psychological aspects]. St. Petersburg: Rech, 2006. 380 p.
3. Фотекова Т.А. Тестовая методика диагностики устной речи младших школьников. М.: АРКТМ, 2000. 55 с. [Fotekova T.A. Test method for the diagnosis of oral speech in primary schoolchildren]. Moscow: ARKTM, 2000. 55 p.
4. Шевела Е.Я., Сахно Л.В., Кафанова М.Ю., Давыдова М.Н., Андрушкевич М.М., Останин А.А., Черных Е.Р. Способ получения кондиционной среды, обладающей регенераторным потенциалом для интраназального введения при лечении заболеваний центральной нервной системы / Патент РФ. № 2016121776, заявл. 01.06.2016. [Shevela E.Ya., Sakhno L.V., Kafanova M.Yu., Davydova M.N., Andrushkevich M.M., Ostanin A.A., Chernykh E.R. A method of obtaining a conditioned medium with a regenerative potential for intranasal administration in the treatment of diseases of the central nervous system / Patent RF, no. 2016121776, app. 01.06.2016.
5. Alcalá-Barraza S.R., Lee M.S., Hanson L.R., McDonald A.A., Frey W.H. 2nd, McLoon L.K. Intranasal delivery of neurotrophic factors BDNF, CNTF, EPO, and NT-4 to the CNS. *J. Drug Target.*, 2010, Vol. 18, no. 3, pp. 179-190.
6. Bajnok A., Berta L., Orbán C., Veres G., Zádori D., Barta H., Méder Ü., Vécsei L., Tulassay T., Szabó M., Toldi G. Distinct cytokine patterns may regulate the severity of neonatal asphyxia-an observational study. *J. Neuroinflammation*, 2017, Vol. 14, no. 1, 244. doi:10.1186/s12974-017-1023-2.
7. Benedict C., Kern W., Schultes B., Born J., Hallschmid M. Differential sensitivity of men and women to anorexigenic and memory-improving effects of intranasal insulin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2008, Vol. 93, pp. 1339-1344.
8. Bonneau D., Verny C., Uze J. Genetics of specific language impairments. *Arch. Pediatr.*, 2004, Vol. 11, no. 10, pp. 1213-1216. (In French)
9. Chernykh E.R., Shevela E.Y., Sakhno L.V., Tikhonova M.A., Petrovsky Y.L., Ostanin A.A. The generation and properties of human M2-like macrophages: potential candidates for CNS repair? *Cell. Therapy Transpl.*, 2010, Vol. 2, no 6, pp. 1-7.
10. di Marco B., Bonaccorso C.M., Aloisi E., d'Antoni S., Catania M.V. Neuro-inflammatory mechanisms in developmental disorders associated with intellectual disability and autism spectrum disorder: a neuro-immune perspective. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*, 2016, Vol. 15, no. 4, pp. 448-463.
11. Dhuria S.V., Hanson L.R., Frey W.H. 2nd. Intranasal delivery to the central nervous system: mechanisms and experimental considerations. *J. Pharm. Sci.*, 2010, Vol. 99, no. 4, pp. 1654-1673.
12. Emanuele E., Orsi P., Barale F., diNemi S.U., Bertona M., Politi P. Serum levels of vascular endothelial growth factor and its receptors in patients with severe autism. *Clin. Biochem.*, 2010, Vol. 43, pp. 317-319.
13. Ferguson B.J., Marler S., Altstein L.L., Lee E.B., Mazurek M.O., McLaughlin A., Macklin E.A., McDonnell E., Davis D.J., Belenchia A.M., Gillespie C.H., Peterson C.A., Bauman M.L., Margolis K.G., Veenstra-VanderWeele J., Beversdorf D.Q. Associations between cytokines, endocrine stress response, and gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorder. *Brain Behav. Immun.*, 2016, Vol. 58, pp. 57-62.
14. Hallschmid M., Benedict C., Schultes B., Born J., Kern W. Obese men respond to cognitive but not to catabolic brain insulin signaling. *Int. J. Obes. (Lond.)*, 2008, Vol. 32, pp. 275-282.
15. Hanson L.R., Frey W.H. 2nd. Intranasal delivery bypasses the blood-brain barrier to target therapeutic agents to the central nervous system and treat neurodegenerative disease. *BMC Neurosci.*, 2008, Vol. 9, Suppl. 3, S5. doi:10.1186/1471-2202-9-S3-S5.
16. Jin K., Wang X., Xie L., Mao X.O., Zhu W., Wang Y., Shen J., Mao Y., Banwait S., Greenberg D.A. Evidence for stroke-induced neurogenesis in the human brain. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2006, Vol. 103, pp. 13198-13202.
17. Jin K., Zhu Y., Sun Y., Mao X.O., Xie L., Greenberg D.A. Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis *in vitro* and *in vivo*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2002, Vol. 99, pp. 11946-11950.
18. Kempuraj D., Thangavel R., Natteru P.A., Selvakumar G.P., Saeed D., Zahoor H., Zaheer S., Iyer S.S., Zaheer A. Neuroinflammation induces neurodegeneration. *J. Neurol. Neurosurg. Spine*, 2016, Vol. 1, no. 1, 1003.
19. Lambrechts D., Carmeliet P. VEGF at the neurovascular interface: therapeutic implications for motor neuron disease. *Biochim. Biophys. Acta*, 2006, Vol. 1762, pp. 1109-1121.
20. Lange C., Storkebaum E., de Almodóvar C.R., Dewerchin M., Carmeliet P. Vascular endothelial growth factor: a neurovascular target in neurological diseases. *Nat. Rev. Neurol.*, 2016, Vol. 12, pp. 439-454.
21. Liu S.H., Shi X.J., Fan F.C., Cheng Y. Peripheral blood neurotrophic factor levels in children with autism spectrum disorder: a meta-analysis. *Sci. Rep.*, 2021, Vol. 11, no. 1, 15. doi: 10.1038/s41598-020-79080-w.

22. Liu X.F., Fawcett J.R., Thorne R.G., DeFor T.A., Frey W.H. 2nd. Intranasal administration of insulin-like growth factor-I bypasses the blood-brain barrier and protects against focal cerebral ischemic damage. *J. Neurol. Sci.*, 2001, Vol. 187, no. 1-2, pp. 91-97.
23. Louissaint A.Jr., Rao S., Leventhal C., Goldman S.A. Coordinated interaction of neurogenesis and angiogenesis in the adult songbird brain. *Neuron*, 2002, Vol. 34, no. 6, pp. 945-960.
24. Madathil S.K., Evans H.N., Saatman K.E. Temporal and regional changes in IGF-1/IGF-1R signaling in the mouse brain after traumatic brain injury. *J. Neurotrauma*, 2010, Vol. 27, pp. 95-107.
25. Masi A., Breen E.J., Alvares G.A., Glozier N., Hickie I.B., Hunt A., Hui J., Beilby J., Ravine D., Wray J., Whitehouse A.J.O., Guastella A.J. Cytokine levels and associations with symptom severity in male and female children with autism spectrum disorder. *Mol. Autism*, 2017, Vol. 8, 63. doi: 10.1186/s13229-017-0176-2.
26. Mason J.L., Xuan S., Dragatsis I., Efstratiadis A., Goldman J.E. Insulin-like growth factor (IGF) signaling through type 1 IGF receptor plays an important role in remyelination. *J. Neurosci.*, 2003, Vol. 23, no. 20, pp. 7710-7718.
27. McAdams R.M., Juul S.E. The role of cytokines and inflammatory cells in perinatal brain injury. *Neurol. Res. Int.*, 2012, Vol. 2012, 561494. doi:10.1155/2012/561494.
28. Nicoletti J.N., Shah S.K., McCloskey D.P., Goodman J.H., Elkady A., Atassi H., Hylton D., Rudge J.S., Scharfman H.E., Croll S.D. Vascular endothelial growth factor is up-regulated after status epilepticus and protects against seizure-induced neuronal loss in hippocampus. *Neuroscience*, 2008, Vol. 151, no. 1, pp. 232-241.
29. Nishibe M., Barbay S., Guggenmos D., Nudo R.J. Reorganization of motor cortex after controlled cortical impact in rats and implications for functional recovery. *J. Neurotrauma*, 2010, Vol. 27, no. 12, pp. 2221-2232.
30. Olmos G., Llado J. Tumour necrosis factor alpha: A link between neuroinflammation and excitotoxicity. *Mediators Inflamm.*, 2014, Vol. 2014, 861231. doi: 10.1155/2014/861231
31. Oosthuysen B., Moons L., Storkebaum E., Beck H., Nuyens D., Brusselmans K., van Dorpe J., Hellings P., Gorselink M., Heymans S., Theilmeier G., Dewerchin M., Laudénbach V., Vermylen P., Raat H., Acker T., Vlemminckx V., van den Bosch L., Cashman N., Fujisawa H., Drost M.R., Sciot R., Bruyninckx F., Hicklin D.J., Ince C., Gressens P., Lupu F., Plate K.H., Robberecht W., Herbert J.M., Collen D., Carmeliet P. Deletion of the hypoxia-response element in the vascular endothelial growth factor promoter causes motor neuron degeneration. *Nat. Genet.*, 2001, Vol. 28, no. 2, pp. 131-138.
32. Pasqualetti G., Brooks D.J., Edison P. The role of neuroinflammation in dementias. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*, 2015, Vol. 15, no. 4, 17. doi: 10.1007/s11910-015-0531-7.
33. Sakhno L.V., Shevela E.Y., Tikhonova M.A., Ostanin A.A., Chernykh E.R. The phenotypic and functional features of human M2 macrophages generated under low serum conditions. *Scand. J. Immunol.*, 2016, Vol. 83, no. 2, pp. 151-159.
34. Shohami E., Bass R., Wallach D., Yamin A., Gallily R. Inhibition of tumor necrosis factor alpha (TNFalpha) activity in rat brain is associated with cerebroprotection after closed head injury. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 1996, Vol. 16, no. 3, pp. 378-384.
35. Silveira R.C., Procianny R.S. Interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels in plasma and cerebrospinal fluid of term newborn infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *J. Pediatr.*, 2003, Vol. 143, no. 5, pp. 625-629.
36. Şimşek F., Işık Ü., Aktepe E., Kılıç F., Şirin F.B., Bozkurt M. Comparison of serum VEGF, IGF-1, and HIF-1 α levels in children with autism spectrum disorder and healthy controls. *J. Autism Dev. Disord.*, 2021. doi: 10.1007/s10803-020-04820-w.
37. Skaper S.D., Facci L., Giusti P. Neuroinflammation, microglia and mast cells in the pathophysiology of neurocognitive disorders: a review. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*, 2014, Vol. 13, no. 10, pp. 1654-1066.
38. Spetter M.S., Hallschmid M. Intranasal neuropeptide administration to target the human brain in health and disease. *Mol. Pharm.*, 2015, Vol. 12, no. 8, pp. 2767-2780.
39. Sun Y., Jin K., Xie L., Childs J., Mao X.O., Logvinova A., Greenberg D.A. VEGF-induced neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis after focal cerebral ischemia. *J. Clin. Invest.*, 2003, Vol. 111, no. 12, pp. 1843-1851.
40. Thorne R.G., Pronk G.J., Padmanabhan V., Frey W.H. 2nd. Delivery of IGF-I to the rat brain and spinal cord along olfactory and trigeminal pathways following intranasal administration. *Neuroscience*, 2004, Vol. 127, pp. 481-496.
41. Torun Y.T., Güney E., Aral A., Büyüktaşkin D., Tunca H., Taner Y.I., İşeri E. Determination of serum vascular endothelial growth factor levels in attention deficit hyperactivity disorder: A case control study. *Clin. Psychopharmacol. Neurosci.*, 2019, Vol. 17, no. 4, pp. 517-522.
42. Xie J., Huang L., Li X., Li H., Zhou Y., Zhu H., Pan T., Kendrick K.M., Xu W. Immunological cytokine profiling identifies TNF- α as a key molecule dysregulated in autistic children. *Oncotarget*, 2017, Vol. 8, no. 47, pp. 82390-82398.

43. Xiong Y., Mahmood A., Chopp M. Angiogenesis, neurogenesis and brain recovery of function following injury. *Curr. Opin. Investig. Drugs*, 2010, Vol. 11, no. 3, pp. 298-308.
44. Xu N., Li X., Zhong Y. Inflammatory cytokines: potential biomarkers of immunologic dysfunction in autism spectrum disorders. *Mediators Inflamm.*, 2015, Vol. 2015, 531518. doi: 10.1155/2015/531518.
45. Zhao Y., Xiao W., Chen K., Zhan Q., Ye F., Tang X., Zhang X. Neurocognition and social cognition in remitted first-episode schizophrenia: correlation with VEGF serum levels. *BMC Psychiatry*, 2019, Vol. 19, no. 1, 403. doi: 10.1186/s12888-019-2397-8.
46. Zhu Y., Jin K., Mao X.O., Greenberg D.A. Vascular endothelial growth factor promotes proliferation of cortical neuron precursors by regulating E2F expression. *FASEB J.*, 2003, Vol. 17, no. 2, pp. 186-193.
47. Zhu J., Jiang Y., Xu G., Liu X. Intranasal administration: a potential solution for cross-BBB delivering neurotrophic factors. *Histol. Histopathol.*, 2012, Vol. 27, no. 5, pp. 537-548.

Авторы:

Шевела Е.Я. — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Дегтярева В.Г. — к.м.н., врач-невролог высшей категории, заслуженный врач России, руководитель ООО «Медицинский центр «Синеглазка»», г. Новосибирск, Россия

Сосновская А.В. — логопед, ООО «Медицинский центр «Синеглазка»», г. Новосибирск, Россия

Воронова Е.В. — врач функциональной диагностики, ООО Медицинский центр «Синеглазка», Новосибирск, Россия

Кафанова М.Ю. — к.м.н., врач-нейрохирург высшей категории, ГБУЗ Новосибирской области «Детская городская больница № 1», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Shevela E.Ya., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Degtyareva V.G., PhD (Medicine), Clinical Neurologist, Honored Doctor of Russian Federation, Head, Medical Center «Sineglazka», Novosibirsk, Russian Federation

Sosnovskaya A.V., Speech Therapist, Medical Center «Sineglazka», Novosibirsk, Russian Federation

Voronova E.V., Functional Diagnostics Physician, Medical Center «Sineglazka», Novosibirsk, Russian Federation

Kafanova M.Yu., PhD (Medicine), Neurosurgeon, Pediatric City Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russian Federation

Ращупкин И.М. — аспирант лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Останин А.А. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Черных Е.Р. — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Rashchupkin I.M., Postgraduate Student, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Ostanin A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Chernykh E.R., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 04.03.2021
Отправлена на доработку 26.04.2021
Принята к печати 27.04.2021

Received 04.03.2021
Revision received 26.04.2021
Accepted 27.04.2021