

© Коллектив авторов, 2021
УДК 612.071.1:616.833-053.3
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2021.16083>
ISSN – 2073-8137

ПОЛИМОРФНЫЕ МАРКЕРЫ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА У НОВОРОЖДЕННЫХ С ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ЦНС

А. С. Идрисова¹, Л. Ю. Барычева², Е. С. Кузьмина³,
К. С. Межидов¹, О. В. Агранович², М. В. Голубева²

¹ Республиканская детская клиническая больница им. Е. П. Глинки, Грозный,
Российская Федерация

² Ставропольский государственный медицинский университет,
Российская Федерация

³ Краевая детская клиническая больница, Ставрополь, Российская Федерация

POLYMORPHIC MARKERS OF INNATE IMMUNITY RECEPTOR GENES IN NEWBORNS WITH HYPOXIC-ISCHEMIC CNS DAMAGE

Idrisova A. S.¹, Barycheva L. Yu.², Kuzmina E. S.²,
Mezhidov K. S.¹, Agranovich O. V.², Golubeva M. V.¹

¹ E. P. Glinka Republican Children's Clinical Hospital, Grozny, Russian Federation

² Stavropol State Medical University, Russian Federation

³ Children's Regional Clinical Hospital, Stavropol, Russian Federation

Обследованы 32 доношенных новорожденных с ГИЭ 2 степени и 13 – с ГИЭ 3 степени. Неблагоприятные неврологические последствия сформировались у 47,4 % детей. Вероятность тяжелой формы церебральной ишемии возрастала у резидентов гомозиготного генотипа по минорному аллелю *TLR6 T745T* (OR=4,60, CI: 0,82–70,16), неблагоприятных исходов ГИЭ – у обладателей мажорного аллеля *TLR2 2258G* (OR=6,50, CI: 0,746–56,64) и гомозиготных генотипов *TLR2 G2258G* (OR=7,60, CI: 0,82–70,16) и *TLR6 T745T* (OR=4,25; CI: 0,947–19,07). Высокие показатели сувороточных интерлейкинов IL-1 β , IL-6 у детей с ГИЭ ассоциированы с генотипами *G2258G* и *T745T*.

Ключевые слова: гипоксически-ишемическая энцефалопатия, рецепторы врожденного иммунитета, генный полиморфизм

We examined 32 full-term newborns with grade 2 HIE and 13 with grade 3 HIE. Adverse neurological consequences were formed in 47.4 % of children. The probability of severe cerebral ischemia increased in residents of the homozygous genotype for the minor allele *TLR6 T745T* (OR=4.60, CI: 0.82–70.16), unfavorable HIE outcomes – in owners of the major allele *TLR2 2258G* (OR=6.50, CI: 0.746–56.64) and homozygous genotypes *TLR2 G2258G* (OR=7.60, CI: 0.82–70.16) and *TLR6 T745T* (OR=4.25; CI: 0.947–19.07). High levels of serum interleukins IL-1 β , IL-6 in children with HIE are associated with genotypes *G2258G* and *T745T*.

Keywords: hypoxic-ischemic encephalopathy, innate immunity receptors, gene polymorphism

Для цитирования: Идрисова А. С., Барычева Л. Ю., Кузьмина Е. С., Межидов К. С., Агранович О. В., Голубева М. В. ПОЛИМОРФНЫЕ МАРКЕРЫ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА У НОВОРОЖДЕННЫХ С ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ЦНС. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2021;16(4):349-354. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2021.16083>

For citation: Idrisova A. S., Barycheva L. Yu., Kuzmina E. S., Mezhidov K. S., Agranovich O. V., Golubeva M. V. POLYMORPHIC MARKERS OF INNATE IMMUNITY RECEPTOR GENES IN NEWBORNS WITH HYPOXIC-ISCHEMIC CNS DAMAGE. *Medical News of North Caucasus*. 2021;16(4):349-354. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2021.16083> (In Russ.)

БИ – благоприятный исход
ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия
ЗПМР – задержка психомоторного развития
BE – дефицит оснований
DAMP – эндогенные молекулы, сигнализирующие о повреждении
DQ – коэффициент интеллектуального развития
IL – интерлейкин

MQ – коэффициент моторного развития
OR – анализ шансов
PAMP – патогенассоциированные молекулярные паттерны
pH – водородный показатель, кислотность
SNP – полиморфизм одиночных нуклеотидов
TLR – рецепторы врожденного иммунитета

Перинатальная гипоксически-ишемическая энцефалопатия (ГИЭ) является одной из самых актуальных причин инвалидности и смертности среди новорожденных и серьезным бременем для общества [1–3]. Около 40 % детей, перенесших ГИЭ, не выживают в неонатальном периоде, у 30 % – развиваются стойкие неврологические расстройства, такие как церебральный паралич, нарушение зрения, судороги, эпилепсия, умственная отсталость и неспособность к обучению [1–4]. Существенную роль в патогенезе гипоксически-ишемической травмы играет вторичное повреждение головного мозга, обусловленное воспалением и иммунными реакциями [2–5]. Значительный интерес в связи с этим представляет функциональный полиморфизм генов рецепторов врожденного иммунитета (TLR) [6]. Генетически детерминированные различия сигнальных каскадов TLR приводят к увеличению продукции интерлейкинов и могут модифицировать иммунный ответ, способствовать апоптозу олигодендроцитов, дегенерации нейронов и прогрессированию заболевания [6, 7].

Цель исследования – определение патогенетического значения генного полиморфизма рецепторов врожденного иммунитета у детей с перинатальной гипоксически-ишемической энцефалопатией.

Материал и методы. Обследованы 45 детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией 2 и 3 степени, рожденных в ГБУ «Республиканский перинатальный центр», г. Грозный, в 2019–2020 гг. Проведен проспективный когортный анализ однонуклеотидных полиморфизмов (SPN) *TLR2 G2258A* и *TLR6 C745T* и уровней провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у новорожденных. В исследование включены дети с умеренной и тяжелой гипоксически-ишемической энцефалопатией, гестационным возрастом более 36 недель, весом более 2000 г. Из исследования исключены новорожденные с признаками внутриутробной инфекции, внутричерепными кровоизлияниями, пороками развития, ранним неонатальным сепсисом, некротизирующим энтероколитом.

При установлении диагноза ГИЭ учитывали наличие у новорожденного как минимум трех признаков: симптомы дистресса плода, респираторную поддержку методом ИВЛ не менее 5 минут, оценку по шкале Апгар 0–3 балла на 1-й минуте, показатели $pH < 7,1$ и/или $BE < -16$ – при первом анализе КОС в артериальной крови, а также клинические симптомы неонатальной энцефалопатии и признаки полиорганной недостаточности [8]. В соответствии с критериями шкалы Н. В. Sarnat и М. S. Sarnat [9] в группу ГИЭ 2 ст. вошли 32 ребенка, ГИЭ 3 ст. – 13. В качестве контрольной группы обследованы 50 новорожденных, сопоставимых с большими детьми по массе тела и гестационному возрасту. Работа одобрена локальным этическим комитетом. Родители детей подписывали информированное согласие на исследование.

Дети наблюдались неврологом в неонатальном и младенческом периодах, в дальнейшем – в амбулаторно-поликлинических условиях и стационаре с периодичностью 1 раз в 1–3 месяца в зависимости от степени тяжести ГИЭ. Оценку резидуальных неврологических исходов проводили в возрасте 18 месяцев на базе неврологического отделения младшего возраста Республиканской детской клинической больницы им. Е. П. Глинки. Динамику психомоторного развития оценивали с помощью коэффициентов моторного развития – MQ (Motor quotient) и интеллектуального

развития ребенка – DQ (Developmental quotient) [9]. Из 45 новорожденных, включенных в исследование, резидуальные исходы удалось оценить у 38 детей. Трое детей умерли, четверо оказались недоступными для наблюдения. В зависимости от клинического исхода пациенты были разделены на группы: БИ – благоприятный исход, НИ – неблагоприятный неврологический исход или смерть. Под неблагоприятным неврологическим исходом понимали задержку психомоторного развития с показателями $DQ < 75$ %, $MQ < 70$ %, развитие микро- или гидроцефалии, глухоты, слепоты, эпилепсии, детского церебрального паралича.

Исследование полиморфизма генов TLR выполняли в Ставропольском противочумном институте. Кровь транспортировали в течение 24–36 ч. Выделение геномной ДНК и получение ее оптимальной концентрации осуществляли с помощью реагентов «ДНК-экспресс-кровь» и наборов «Quant-iT dsDNA assay kit». Генотипирование SNP – *TLR2 2258 G>A* и *TLR6 745 C>T* проводили методом Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP analysis) в 96-луночном формате с использованием многоканального амплификатора «Терцик» (ООО «ДНК-Технология», Россия) и диагностических тест-систем «SNP-экспресс» ООО НПФ «Литех» (Москва). Для разделения продуктов амплификации использовали метод горизонтального электрофореза в 3 % агарозном геле, с электрофоретической детекцией («BioRad Laboratories», США).

Количественное определение цитокинов IL1 β , IL8, IL17, IL10 в сыворотке крови осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем «Вектор-Бест» в соответствии с инструкцией производителя. Образцы крови собирали в течение 4–96 часов после рождения, центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин. Супернатанты хранили при –20 °С.

Анализ результатов выполняли с помощью программ Attestat 10.5.1, Statistica SPSS. Количественные значения данных представляли в виде медианы и интерквартильного (25 и 75 процентиля) размаха (Me (Q1-Q)). Для оценки межгрупповых различий количественных признаков применяли критерий Манна – Уитни. Статистическую значимость различий в частотах аллельных вариантов и генотипов определяли с помощью критерия χ^2 Пирсона. Степень риска развития событий оценивали по величине отношения шансов (OR) с расчетом доверительного интервала CI. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. У 39,3 % детей с ГИЭ 2 ст. и у 70 % с ГИЭ 3 ст. отмечалась задержка психомоторного и речевого развития. У 3,6 % детей с ГИЭ 2 ст. сформировалась гидроцефалия, у 3,6 % микроцефалия, у 13,6 % – эписиндром. В группе ГИЭ 3 ст. распространенность неблагоприятных неврологических исходов была выше – число больных с гидроцефалией составило 20,0 %, судорожным синдромом – 30,0 %, потерей слуха – 20,0 %, зрения – 10,0 %, однако статистически значимых различий по сравнению с группой ГИЭ 2 ст. выявлено не было. Детский церебральный паралич диагностирован у 3 (30,0 %) детей с ГИЭ 3 ст. и у одного пациента (3,6 %) с ГИЭ 2 ст.

При сравнении аллельных и генотипических частот *TLR2* в зависимости от степени тяжести ГИЭ выявлено увеличение риска развития ГИЭ 3 ст. у резидентов мажорного аллеля *2258G* (OR=2,17; 95 % CI: 0,26–18,2, $p=0,46$) и носителей генотипа *G2258G* (OR=1,64; 95 % CI: 0,18–14,9, $p=0,66$). Однако связь была статистически незначимой (табл. 1).

Таблица 1

Распределение частот аллелей и генотипов для полиморфных локусов генов *TLR2* (rs5743708) и *TLR6* (rs5743810) в зависимости от степени тяжести гипоксически-ишемической энцефалопатии

Аллели/генотип	ГИЭ 2 ст. n=32 (I)	ГИЭ 3ст. n=13 (II)	Контрольная группа n=50 (III)	χ^2	OR (95 % CI)
TLR2 G2258A					
GG	26/32 (81,2 %)	12/13 (92,3 %)	44/50 (88 %)	$p_{I-II}=0,35$ $p_{I-III}=0,40$ $p_{II-III}=0,66$	0,49 (0,15–1,61) ^I 1,64 (0,18–14,9) ^{II}
GA	6/32 (18,8 %)	1/13 (7,7 %)	4/50 (8 %)	$p_{I-II}=0,35$ $p_{I-III}=0,15$ $p_{II-III}=0,97$	2,65 (0,69–10,27) ^I 0,96 (0,09–9,38) ^{II}
AA	0/32 (0 %)	0/13 (0 %)	2/50 (4 %)	$p_{I-II}=0,10$ $p_{I-III}=0,25$ $p_{II-III}=0,46$	0,000 ^I 0,000 ^{II}
G	58/64 (90,6 %)	25/26 (96,2 %)	92/100 (92 %)	$p_{I-II}=0,38$ $p_{I-III}=0,76$ $p_{II-III}=0,46$	0,84 (0,28–2,55) ^I 2,17 (0,26–18,2) ^{II}
A	6/64 (9,4 %)	1/26 (3,8 %)	8/100 (8 %)	$p_{I-II}=0,38$ $p_{I-III}=0,76$ $p_{II-III}=0,46$	1,19 (0,39–3,66) ^I 0,46 (0,06–3,85) ^{II}
TLR6 C745T					
CC	1/32 (3,1 %)	1/13 (7,7 %)	4/50 (8 %)	$p_{I-II}=0,50$ $p_{I-III}=0,37$ $p_{II-III}=0,97$	0,37 (0,04–3,48) ^I 0,96 (0,098–9,38) ^{II}
CT	11/32 (34,4 %)	1/13 (7,7 %)	19/50 (38 %)	$p_{I-II}=0,06$ $p_{I-III}=0,82$ $p_{II-III}=0,037$	0,89 (0,35–2,28) ^I 0,136 (0,016–1,13) ^{II}
TT	20/32 (62,5 %)	11/13 (84,6 %)	27/50 (54 %)	$p_{I-II}=0,147$ $p_{I-III}=0,448$ $p_{II-III}=0,045$	1,42 (0,57–3,51) ^I 4,69 (0,94–23,35) ^{II}
C	13/64 (20,3 %)	3/26 (11,5 %)	27/100 (27 %)	$p_{I-II}=0,324$ $p_{I-III}=0,331$ $p_{II-III}=0,100$	0,69 (0,33–1,46) ^I 0,35 (0,09–1,27) ^{II}
T	51/64 (79,7 %)	23/26 (88,5 %)	73/100 (73 %)	$p_{I-II}=0,323$ $p_{I-III}=0,331$ $p_{II-III}=0,100$	1,51 (0,71–3,18) ^I 2,84 (0,78–10,21) ^{II}

Примечание: p – значимость различий между группами (критерий χ^2), OR – отношение шансов, CI – 95 % доверительный интервал.

При анализе аллелей и генотипов *TLR2* в зависимости от неврологических исходов установлена высокая распространенность мажорного аллеля *G2258G* (97,5 % и 85,7 %, $p=0,049$), низкая – минорного *G2258A* (2,5 % и 14,3 %, $p=0,049$) у детей с неблагоприятными неврологическими последствиями ГИЭ (табл. 2). Показатель отношения шансов для обладателей дикого аллеля составил OR=6,50, CI: 0,746–56,64. Установлено преобладание гомозиготного генотипа по дикому аллелю *GG* (92,3 % и 71,4 %, $p=0,045$), с уве-

личением риска развития неблагоприятного исхода более чем в 7 раз (OR=7,60, CI: 0,82–70,16). Носительство мутантного аллеля *G2258A* и гетерозиготного генотипа *GA*, напротив, ассоциировалось с низким риском неблагоприятного исхода. При сравнении показателя интерлейкинов в зависимости от генотипов выявлено увеличение IL-1 β и IL-6 у пациентов с гомозиготным генотипом по доминантному аллелю *G2258G* по сравнению с генотипами *G2258A+ A2258A* (рис. а, б).

Таблица 2

Распределение частот аллелей и генотипов для полиморфных локусов генов *TLR2* (rs5743708) и *TLR6* (rs5743810) в зависимости от исходов гипоксически-ишемической энцефалопатии

Аллели/генотип	Благоприятный исход n=21 (I)	Неблагоприятный исход n= 20 (II)	χ^2	OR (95 % CI)
TLR2 G2258A				
GG	15/21 (71,4 %)	19/20 (92,3 %)	$p=0,045$	7,60 (0,82-70,16)
GA	6/32 (18,8 %)	1/20 (7,7 %)	$p=0,045$	0,132 (0,01-1,22)
AA	0/32 (0 %)	0/20 (0 %)	$p_I=1,00$	0,000
G	36/42 (85,7 %)	39/40 (97,5 %)	$p=0,049$	6,50 (0,746-56,64)
A	6/42 (14,3 %)	1/40 (2,5 %)	$p=0,049$	0,154 (0,018-1,341)
TLR6 C745T				
CC	1/21 (4,8 %)	1/20 (5,0 %)	$p=0,097$	1,05 (0,06-18,05)
CT	8/21 (38,1 %)	2/20 (10,0 %)	$p=0,037$	0,181 (0,947-19,07)
TT	12/21 (57,1 %)	17/20 (85,0 %)	$p_I=0,049$	4,250 (0,947-19,07)
C	10/42 (23,8 %)	4/40 (10,0 %)	$p=0,097$	0,356 (0,102-1,245)
T	32/42 (76,2 %)	1/40 (90,0 %)	$p=0,097$	2,813 (0,803-9,851)

Примечание: p – значимость различий между группами (критерий χ^2), OR – отношение шансов, CI – 95 % доверительный интервал.

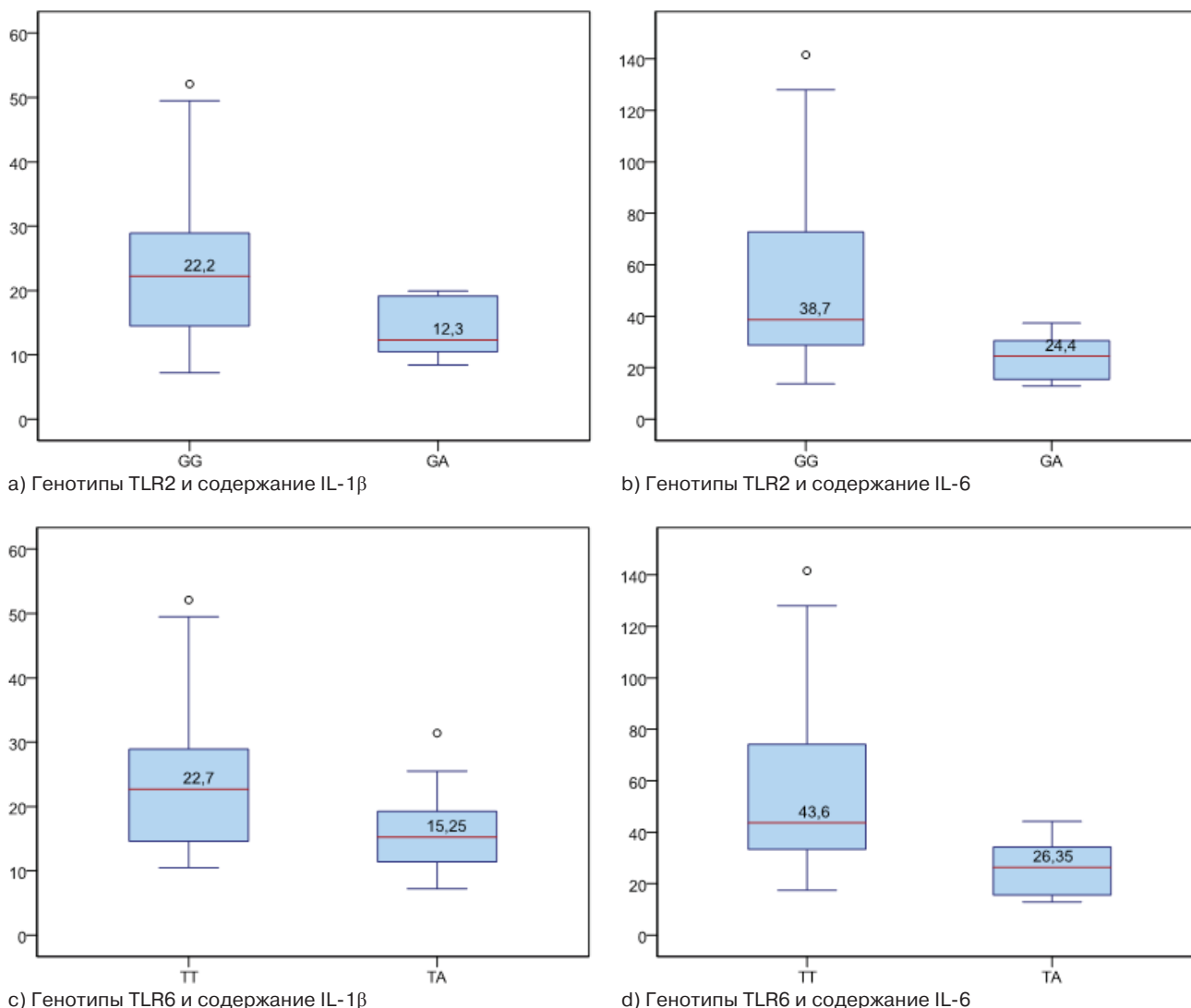


Рис. Содержание провоспалительных интерлейкинов у детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией в зависимости от полиморфизма генов *TLR*.

Примечание: p – различия между группами (критерий Манна – Уитни)

Гипоксически-ишемическое воспаление нередко связывают с активацией рецепторов врожденного иммунитета [6, 7]. Стимуляция TLR2 в результате гибели нейронов и образования эндогенных лигандов (фибриноген, ядерные и цитозольные белки, белки теплового шока, митохондриальная РНК) приводит к активации сигнальных путей с последующей индукцией мРНК и высвобождением провоспалительных цитокинов [10–12], способных привлечь в очаг повреждения клетки врожденного и адаптивного иммунитета – нейтрофилы, макрофаги, дендритные клетки, Т- и В-лимфоциты. В клинических и экспериментальных исследованиях ранее показана роль провоспалительных интерлейкинов в повреждении головного мозга новорожденных [4, 5, 13–15].

Важно отметить, что микроглия имеет широкий репертуар TLR, при этом TLR2 экспрессируется наиболее интенсивно. Внутриклеточный цитозольный фрагмент *TLR2* ответственен за включение адаптерного белка MyD88 и ядерного фактора транскрипции NF- κ B, что приводит к увеличению синтеза IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, TNF α и движению иммунных клеток

в очаг повреждения [10–12]. При однонуклеотидном полиморфизме гена *TLR2* в локусе rs5743708 в положении 2257 наблюдается замена G \rightarrow A (гуанин \rightarrow аденин) и конформационные изменения цитоплазматической части *TLR2* рецептора вследствие замещения Arg \rightarrow Gln (аргинин \rightarrow глутамин) [16]. Известно, что мутация сопровождается нарушением активации клеток и снижением продукции интерлейкинов [16]. Принято считать, что дикий аллель ассоциируется с более высокой продукцией интерлейкинов по сравнению с мутантным [17, 18], а блокирование *TLR2* может предотвращать спонтанное высвобождение цитокинов [10, 11].

Исследования полиморфизма *TLR2* rs5743708 убедительно показали, что гомозиготный генотип *TLR2* по мажорному аллелю G2258G способствует выработке высоких уровней провоспалительных цитокинов и формированию неблагоприятных исходов, в то время как мутантный генотип имеет противоположный эффект. Известно, что провоспалительные цитокины имеют большое значение в иммунопатологии ГИЭ, и уменьшение их производства при гомозиготных мутациях может играть защитную роль при

гипоксически-ишемическом поражении ЦНС [13–15, 19].

Вероятность тяжелой формы ГИЭ возрастала у резидентов гомозиготного генотипа по минорному аллелю *T745T* (OR=4,60, CI: 0,82–70,16), частота встречаемости которого была существенно выше у детей с ГИЭ 3 ст. по сравнению со здоровыми детьми (84,6 % и 54 %, $p=0,045$) (табл. 1). У младенцев с инвалидирующими неврологическими последствиями ГИЭ редким оказался гетерозиготный генотип *TLR6 C745T* (10 % и 38,7 %, $p=0,037$). При этом частота гомозиготного варианта по рецессивному генотипу *T745T* была существенно выше (85 % и 57,1 %, $p=0,049$), что сопровождалось увеличением риска неблагоприятных исходов (OR=4,25; CI: 0,947–19,07) (табл. 2).

Таким образом, наличие гомозиготного генотипа по мутантному аллелю *T745T* можно рассматривать в качестве одного из факторов, предрасполагающих к развитию тяжелой формы заболевания и инвалидирующих неврологических последствий. Кроме того, нами установлено, что пациенты с генотипом *T745T* имеют более высокие концентрации интерлейкинов IL-1 β и IL-6 по сравнению с генотипами *C745C+ C745T*.

Известно, что ген *TLR6* локализован на 4-й хромосоме (4p13), определяет формирование рецептора *TLR6* (796 аминокислот), образующего гетеродимер с *TLR2* и участвующего в активации ядерного фактора транскрипции NF- κ B после взаимодействия с PAMP и DAMP [20]. При олигонуклеотидной мутации гена *TLR6* 745C/T в локусе 5743810 формируется замена нуклеиновой кислоты C \rightarrow T (цитозин \rightarrow тимин), что влечет за собой изменение аминокислотной последовательности рецептора с замещением серина (Ser) на пролин (Pro) в позиции 249 с трансформацией сигнальной активности ядерного фактора активации NF- κ B [21]. В ряде исследований продемонстрировано, что SNP *TL6249 Ser/Pro* (rs5743810) стимулирует высвобождение провоспалительных цитокинов, в том числе IL-2, IL-13, IL-6 и IF- γ [18, 21].

Установлено, что *TLR6* участвует в усилении воспалительного ответа, связанного с повреждением ткани [20, 21]. Генотип *Ser/Ser* уменьшает активацию фактора транскрипции NF- κ B и синтез IL-6 [18, 21]. На моделях цереброваскулярных заболеваний установлено, что *TLR6* может способствовать воспалению и нейродегенерации с помощью лиганда CD36, образуя димер с *TLR4*, что связано с окислительным повреждением и геморрагическими расстройствами.

В клинических исследованиях показано, что носительство генотипа *Pro/Pro* выполняет протективную функцию при ишемическом инсульте у взрослых, а аллеля *Ser* и генотипов *Ser/Ser* – протективную [18, 21]. Показано, что другие полиморфизмы гена *TLR6*

также могут вносить свой вклад в продукцию IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α при ишемическом инсульте у взрослых [22]. Молекулярный механизм, связывающий ассоциацию *Ser/249 TLR6* с низким синтезом провоспалительных цитокинов не до конца понятен. Существует мнение, что мутантный аллель увеличивает количество функциональных участков в LRR-фрагменте *TLR6*, обеспечивая взаимодействие с большим числом лигандов и более высокую продукцию провоспалительных интерлейкинов [21, 23].

Таким образом, *TLR2* и *TLR6* являются клеточными «сенсорами», способными активироваться под действием продуктов распада, а их генетические вариации могут заметно влиять на продукцию провоспалительных цитокинов, а следовательно – на тяжесть и исход гипоксии-ишемии. Чрезмерная активация *TLR* с помощью DAMP вызывает хроническое воспаление и необратимое повреждение тканей, что рассматривается сегодня в рамках «гомеостатического воспаления» [19, 20, 24]. Нами было показано, что гомозиготные генотипы дикого типа *TLR2 G2258G* и *TLR6 T745T* определяют выработку высоких концентраций провоспалительных цитокинов и неблагоприятные неврологические исходы, в то время как мутантные генотипы обуславливают противоположный эффект. Полученные данные имеют предварительный характер, необходимы дальнейшие исследования в различных этнических группах для подтверждения роли данных SNP в развитии гипоксически-ишемического поражения ЦНС.

Заключение. Полиморфизмы гена *TLR2 G2258A* (rs5743708) не влияют на развитие тяжелой формы гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных чеченской национальности. Фактором риска развития ГИЭ 3 ст. является гомозиготный по мутантному аллелю генотип *TLR6 T745T*. Молекулярно-генетическими маркерами неблагоприятных неврологических исходов у детей с ГИЭ являются дикий аллель *TLR2 2258G* и гомозиготные по дикому (*TLR2 G2258G*) и мутантному (*TLR6 T745T*) аллелям генотипы. К протективным маркерам относятся рецессивный аллель *TLR2 2258A* и гетерозиготный генотип *TLR2 G2258A*.

Высокие показатели сывороточных интерлейкинов IL-1 β , IL-6 у детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией 2 и 3 степени ассоциированы с генотипами *G2258G* и *T745T*.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторы выражают благодарность директору Ставропольского научно-исследовательского противочумного института чл.-кор. РАН, доктору медицинских наук, профессору А. Н. Куличенко за помощь в организации исследования.

Литература/References

1. Каркашадзе Г. А., Аникин А. В., Зимина Е. П., Давыдова И. В., Каримова Х. М. [и др.]. Современные данные о патогенезе и лечении гипоксически-ишемических поражений головного мозга у новорожденных. *Педиатрическая фармакология*. 2016;13(5):452-467. [Karkashadze G. A., Anikin A. V., Zimina E. P., Davydova I. V., Karimova Kh. M. [et al.]. Recent Information on the Pathogenesis and Treatment of Hypoxic-Ischemic Brain Lesions in Newborns. *Pediatricskaya farmakologiya*. – *Pediatric pharmacology*. 2016;13(5):452-467. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.15690/pf.v13i5.1641>
2. Boskabadi H., Moradi A., Zakerihamidi M. Interleukins in diagnosis of perinatal asphyxia: A systematic review. *Int. J. Reprod. Biomed. (Yazd)*. 2018;17(5):303-314. <https://doi.org/10.18502/ijrm.v17i5.4598>
3. Jiang L. J., Xu Z. X., Wu M. F., Dong G. Q., Zhang L. L. [et al.]. Resatorvid protects against hypoxic-ischemic brain damage in neonatal rats. *Neural Regen. Res*. 2020;15(7):1316-1325. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.272615>
4. Xiong L. L., Xue L. L., Al-Hawwas M., Huang J., Niu R. Z. [et al.]. Single-nucleotide polymorphism screening and RNA sequencing of key messenger RNAs associated with neonatal hypoxic-ischemia brain damage. *Neural Regen. Res*. 2020;15:86-95. Available at: <https://www.nrnonline.org/text.asp?2020/15/1/86/264469>
5. Chang Y., Kong R. Ganoderic acid A alleviates hypoxia-induced apoptosis, autophagy, and inflammation in rat neural stem cells through the PI3K/AKT/mTOR pathways. *Phytother. Res*. 2019;33:1448-1456. <https://doi.org/10.1002/ptr.6336>

6. Mottahedin A., Svedin P., Nair S., Mohn C. J., Wang X. [et al.]. Systemic activation of Toll-like receptor 2 suppresses mitochondrial respiration and exacerbates hypoxic-ischemic injury in the developing brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2017;37(4):1192-1198. <https://doi.org/10.1177/0271678X17691292>
7. Dallas M. L., Widera D. TLR2 and TLR4-mediated inflammation in Alzheimer's disease: self-defense or sabotage? *Neural Regen. Res.* 2021;16:1552-1553. Available at: <http://www.nrroonline.org/text.asp?2021/16/8/1552/303016>
8. Федеральное руководство по детской неврологии. Под редакцией Гузевой В. И. М.: ООО "МК", 2016. [Federal'noe rukovodstvo po detskoj neurologii. Pod redaktsiey Guzevoy V. I. M.: ООО "МК", 2016. (In Russ.)].
9. Sarnat H. B., Sarnat M. S. Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch. Neurol.* 1976;33(10):696-705.
10. El-Zayat S. R., Sibaii H., Mannaa F. A. Toll-like receptors activation, signaling, and targeting: an overview. *Bull. Natl. Res. Cent.* 2019;43:187. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0227-2>
11. Grassin-Delyle S., Abrial C., Salvator H., Brollo M., Naline E., Devillier P. The Role of Toll-Like Receptors in the Production of Cytokines by Human Lung Macrophages. *J. Innate. Immun.* 2020;12(1):63-73. <https://doi.org/10.1159/000494463>
12. Zhang Y., Liu J., Wang C., Liu J., Lu W. Toll-Like Receptors Gene Polymorphisms in Autoimmune Disease. *Front. Immunol.* 2021;12:672346. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.672346>
13. Orrock J. E., Panchapakesan K., Vezina G., Chang T., Harris K. [et al.]. Association of brain injury and neonatal cytokine response during therapeutic hypothermia in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatr Res.* 2016;79:742-747.
14. Numis A. L., Foster-Barber A., Deng X., Rogers E. E., Barkovich A. J. [et al.]. Early changes in pro-inflammatory cytokine levels in neonates with encephalopathy are associated with remote epilepsy. *Pediatr. Res.* 2019;86:616-621. <https://doi.org/10.1038/s41390-019-0473-x>
15. Барычева Л. Ю., Идрисова А. С., Кузьмина Е. С., Агранович О. В. Клиническое значение провоспалительных интерлейкинов у новорожденных с гипоксическим-ишемическим поражением ЦНС. *Медицинский вестник Северного Кавказа.* 2021;16(3):310-312. [Barycheva L. Yu., Idrisova A. S., Kuzmina E. S., Agranovich O. V. Clinical significance of proinflammatory interleukins in newborns with hypoxic-ischemic CNS damage. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza.* – *Medical News of North Caucasus.* 2021;16(3):310-312. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2021.16074>
16. Mukherjee S., Karmakar S., Prasad S., Babu S. TLR2 and TLR4 mediated host immune responses in major infectious diseases: a review. *Braz. J. Infect. Dis.* 2016;20(2):193-204. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2015.10.011>
17. Christodoulides A., Boyadjian A., Kelesidis T. Spirochetal Lipoproteins and Immune Evasion. *Front. Immunol.* 2017;29(8):364. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00364>
18. Крохалева Ю. А., Страмбовская Н. Н., Алферова А. Е. Генетический полиморфизм toll-рецепторов у больных ишемическим инсультом в Забайкальском крае. *Забайкальский медицинский вестник* 2014;4:62-67. [Krokhaleva Yu. A., Strambovskaya N. N., Alferova A. E. Genetic polymorphism of toll-receptors at patients with ischemic stroke in Zabaykalsky Krai. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik.* – *Transbaikalian Medical Bulletin.* 2014;4:62-67. (In Russ.)].
19. Goulopoulou S., McCarthy C. G., Webb R. C. Toll-like Receptors in the Vascular System: Sensing the Dangers Within. *Pharmacol. Rev.* 2016;68(1):142-167. <https://doi.org/10.1124/pr.114.010090>
20. Fukui R., Murakami Y., Miyake K. New application of anti-TLR monoclonal antibodies: detection, inhibition and protection. *Inflamm. Regener.* 2018;38:11. <https://doi.org/10.1186/s41232-018-0068-7>
21. Hamann L., Koch A., Sur S., Hoefer N., Glaeser C. [et al.]. Association of a common TLR-6 polymorphism with coronary artery disease – implications for healthy ageing? *Immun. Ageing.* 2013;10(1):43. <https://doi.org/10.1186/1742-4933-10-43>
22. Frazão J. B., Errante P. R., Condino-Neto A. Toll-like receptors' pathway disturbances are associated with increased susceptibility to infections in humans. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)* 2013;61(6):427-443. <https://doi.org/10.1007/s00005-013-0243-0>
23. Semlali A., Almutairi M., Rouabhia M., Reddy Parine N., Al Amri A. [et al.]. Novel sequence variants in the TLR6 gene associated with advanced breast cancer risk in the Saudi Arabian population. *PLoS One.* 2018;13(11):e0203376. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203376>
24. Langan D., Rose N. R., Moudgil K. D. Common innate pathways to autoimmune disease. *Clin. Immunol.* 2020;212:108361. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108361>

Сведения об авторах:

Идрисова Аминат Султановна, заместитель главного врача по лечебной работе;
тел.: 89205411111; e-mail: aminat.idrisova.78@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5161-3470>

Барычева Людмила Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой иммунологии;
тел.: 89187405484; e-mail: for_ludmila@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4069-0566>

Кузьмина Екатерина Сергеевна, врач-невролог;
тел.: 89620104810; e-mail: aminat.idrisova.78@mail.ru

Межидов Казбек Султанович, кандидат медицинских наук, главный врач;
тел.: 89280214343; kmezhidov@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6032-6286>

Агранович Олег Виленович, доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой неврологии и нейрореабилитации,
тел.: 89624548452; e-mail: oagranovich@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0261-612X>

Голубева Марина Викторовна, доктор медицинских наук, профессор,
заведующая кафедрой детских инфекционных болезней;
тел.: (8652)264312; e-mail: mmvg@rambler.ru