

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.4.3

Частота полиморфизма генов цитокинов у доношенных новорождённых детей с гипоксическими событиями

Панова М.С., Панченко А.С., Пушкарев Б.С.

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (672000, г. Чита, ул. Горького, 39а, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Панова Марина Сергеевна, e-mail: merik2002@mail.ru

Резюме

Обоснование. Гипоксическое поражение головного мозга у новорождённых является весьма актуальной проблемой, данная патология сложно поддаётся профилактике, а в будущем проявляется разнообразными неврологическими последствиями. В нейроразвитии участвуют различные механизмы, большой интерес на сегодняшний день представляют цитокины, а также гены, контролирующие их активность. Однако в литературе имеется мало данных о их роли в качестве предикторов поражения головного мозга у детей после перенесённой гипоксии.

Цель исследования. Выявить частоту полиморфизма генов цитокинов: интерлейкин (Ил)-1 β (C-511T), Ил-1 β (C3953T), Ил-4(C589T), Ил-6(C174G), Ил-10(C819T), Ил-10(G1082A) у новорождённых с гипоксическими событиями.

Материалы и методы. В исследование включены 128 доношенных новорождённых с гипоксическими событиями: первая группа (48 детей) – новорождённые, испытавшие хроническую внутриутробную гипоксию (ХВУГ), вторая группа (80 детей) – новорождённые, родившиеся в асфиксии. Контрольная группа (52 ребёнка) – дети, родившиеся без асфиксии и не страдавшие от ХВУГ. Проведён ретроспективный анализ историй болезни. Материал для молекулярно-генетического анализа – образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов пуповинной крови реагентами «ДНК-Экспресс-кровь» (НПФ «Литех», Москва).

Результаты. У детей, рождённых в асфиксии, преобладала аллель Т Ил-1 β (C-511T) по сравнению с контрольной группой ($p = 0,03$). В группе новорождённых, перенёвших ХВУГ, преобладали генотип ТТ ($p = 0,04$) и аллель Т Ил-1 β (C-511T) ($p = 0,01$) по сравнению с группой контроля. В этой же исследуемой группе при изучении полиморфизма гена Ил-1 β преобладала аллель Т ($p = 0,03$) в точке C3953T, в отличие от группы контроля.

Заключение. Вследствие того, что цитокины являются частью каскада реакций, приводящих к вторичному повреждению головного мозга, при воздействии гипоксии, выявленные повышенные частоты носительства генотипов Ил-1 β -511ТТ и Ил-1 β -3953ТТ, аллелей Ил-1 β -511Т и Ил-1 β -3953Т у новорождённых перенёвших асфиксию и хроническую внутриутробную гипоксию увеличивают риски возникновения нейроразвития.

Ключевые слова: генетический полиморфизм; интерлейкины; асфиксия; внутриутробная гипоксия

Для цитирования: Панова М.С., Панченко А.С., Пушкарев Б.С. Частота полиморфизма генов цитокинов у доношенных новорождённых детей с гипоксическими событиями. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(4): 21-27. doi: 10.29413/ABS.2020-5.4.3

Frequency of Cytokine Gene Polymorphism in Full-Term Newborns with Hypoxic Events

Panova M.S., Panchenko A.S., Pushkarev B.S.

Chita State Medical Academy (Gorkogo str. 39A, Chita 672000, Russian Federation)

Corresponding author: Marina S. Panova, e-mail: merik2002@mail.ru

Abstract

Background. An infant brain damage is an extremely urgent problem, this pathology is difficult to prevent, and subsequently it manifests itself with a variety of neurological consequences. Various mechanisms are involved in neurodamage; cytokines, as well as genes that control their activity, are under a great concern today. However, there is little data about their role as predictors of the brain damage among children after hypoxia.

Aim of the research. To identify the frequency of cytokine gene polymorphism: interleukin (IL)-1 β (C-511T), IL-1 β (C3953T), IL-4(C589T), IL-6(C174G), IL-10(C819T), IL-10(G1082A) among newborns with hypoxic events.

Materials and methods. The study involved 128 full-term newborn patients with hypoxic events: the first group ($n = 48$) included newborns who experienced chronic intrauterine hypoxia (CVH), the second group ($n = 80$) included newborns born in asphyxiation. Control group (52) included babies born without asphyxia and not suffering from CVH. A retrospective analysis of case-records was carried out. The material for molecular genetic analysis was DNA

samples isolated from umbilical cord blood leukocytes using DNA Express Blood reagents (Scientific and Production Company LITECH, Moscow).

Results. Compared to the control group ($p = 0.03$) children born in asphyxia had their T allele IL-1 β (C-511T) prevailed. The group of newborn who had CVH had their TT genotype ($p = 0.04$) and the T IL-1 β allele (C-511T) ($p = 0.01$) prevailed compared to the control group. In the same study group while studying the polymorphism of the IL-1 β gene, the T allele ($p = 0.03$) at the point C3953T prevailed, in contrast to the control group.

Conclusion. Due to the fact that cytokines are part of a reaction cascade leading to the secondary brain damage, under the action of hypoxia, it was found that among newborns undergoing asphyxia and chronic intrauterine hypoxia the increased frequencies of carriage of IL-1 β -511TT and IL-1 β -3953TT genotypes, and IL-1 β -511T and IL-1 β -3953T alleles increase the risk of neurodamage.

Key words: genetic polymorphism; interleukins; asphyxia; intrauterine hypoxia

For citation: Panova M.S., Panchenko A.S., Pushkarev B.S. Frequency of Cytokine Gene Polymorphism in Full-Term Newborns with Hypoxic Events. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(4): 21-27. doi: 10.29413/ABS.2020-5.4.3

ОБОСНОВАНИЕ

По данным ВОЗ, существенная часть случаев смерти в мире в период новорожденности имеет три причины: преждевременные роды (29 %), асфиксия (23 %) и тяжёлые инфекционные заболевания (пневмония и сепсис) в 25 % случаях [1]. Несмотря на совершенствование оказания медицинской помощи беременным женщинам и новорожденным, анте- и интранатальная гипоксия плода в Российской Федерации является одной из основных причин перинатальной заболеваемости и смертности [2]. Причин асфиксии новорожденного много: отягощённый акушерско-гинекологический анамнез, патологическое течение беременности, внутриутробные инфекции, осложнения во время родов и др. [2, 4]. Оценка 4–7 баллов через 1 минуту после рождения соответствует средней и умеренной асфиксии при рождении (P21.1), 0–3 балла через 1 минуту после рождения – тяжёлой асфиксии (P21.0) [2]. Патологическое течение беременности, родов и/или рождение ребёнка в асфиксии может привести к развитию гипоксически-ишемической энцефалопатии (ГИЭ). ГИЭ (P91.6) развивается в первые часы жизни и характеризуется комплексом неврологических нарушений различной степени тяжести, наступивших в результате асфиксии при рождении. Степень тяжести ГИЭ определяется по модифицированной шкале H. Sarnat, M. Sarnat (1976) в модификации B. Stoll, R. Kliegman (2004) [3, 5]. ГИЭ остаётся одной из самых актуальных проблем неонатологии и педиатрии ввиду высокого риска развития тяжёлых неврологических нарушений в будущем и летального исхода. По мировым статистическим данным, частота тяжёлой ГИЭ у новорожденных детей составляет от 0,37 до 3 на 1000 родившихся живыми [3, 6, 7]. Согласно другим литературным источникам, частота встречаемости ГИЭ среди доношенных новорожденных составляет от 2 до 9 случаев на 1000, ассоциируясь не только с высокой летальностью, но и с развитием в 25–30 % случаях таких последствий, как детский церебральный паралич (ДЦП), эпилепсия, поведенческие и речевые нарушения, синдром дефицита внимания, гиперреактивность [5, 6, 7]. Церебральная ишемия (P91.0) ставится по истечении раннего неонатального периода и в соответствии с «Классификацией перинатальных поражений нервной системы у новорожденных» степень церебральной ишемии определяется выраженностью неврологических нарушений, а также характером и распространённостью структурно-морфологических изменений вещества головного мозга [3, 5].

Возникшая гипоксия у новорожденных детей может инициировать воспалительную реакцию. Активирован-

ные микроглиальные клетки и астроциты продуцируют различные иммуноактивные молекулы. В иммунных реакциях основная роль принадлежит цитокинам, условно их можно подразделить на провоспалительные и противовоспалительные [8]. В настоящее время в науке много внимания уделяется изучению генов, которые контролируют активность цитокинов. Эти гены обладают высокой степенью полиморфизма [9]. Данные о полиморфизме генов цитокинов в настоящее время позволяют судить об их тесной ассоциации с различными заболеваниями нервной системы у новорожденных: церебральной ишемии, перивентрикулярной лейкомаляцией и т. п. У детей старшего возраста носительство полиморфизма генов цитокинов ассоциируется с риском возникновения ДЦП, синдрома дефицита внимания, спастической тетраплегии и других неврологических расстройств [9, 10, 11]. Однако полиморфизм генов цитокинов в группах доношенных новорожденных, которые перенесли гипоксию (как хроническую внутриутробную, так и острую в родах), практически не изучен. В большинстве случаев генетическое исследование проводилось у детей, уже имеющих неврологические диагнозы, поэтому важна ранняя лабораторная диагностика на предмет предрасположенности к патологии ЦНС.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить частоту генетического полиморфизма цитокинов *Ил-1 β (C-511T)*, *Ил-1 β (C3953T)*, *Ил-4(C589T)*, *Ил-6(C174G)*, *Ил-10(C819T)*, *Ил-10(G1082A)* у новорожденных с гипоксическими событиями и у детей, не испытывавших гипоксию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 128 доношенных новорожденных детей с гипоксическими событиями. Дети родились в Забайкальском крае (г. Чита) в Перинатальном центре краевой клинической больницы и Забайкальском краевом перинатальном центре. Ретроспективно проанализированы истории развития новорожденных детей.

Критериями включения в клиническое исследование являлись:

- доношенность;
- патогномоничные признаки хронической гипоксии плода и асфиксии при рождении;
- информированное добровольное согласие родителей на участие в исследовании. В соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2000), требованиями биомедицинской этики, для проведения исследования у законных пред-

ставителей детей было взято информированное согласие на анализ истории их болезни, забор и исследование пуповинной крови.

Критерии исключения:

- недоношенность;
- наличие генерализованных инфекций;
- наличие хромосомных и генетических заболеваний;
- отказ родителей от участия в исследовании.

Дети были разделены на две группы: первая группа ($n = 48$) – новорождённые, испытавшие ХВУГ, вторая группа ($n = 80$) – новорождённые, родившиеся в асфиксии. Критериями включения в 1-ю группу исследования явились хроническая внутриутробная гипоксия плода, зафиксированная во время беременности, < 8 баллов по данным кардиоотографии (КТГ) (тахикардия плода, наличие децелераций, монотонный низковариабельный ритм, единичные акцелерации или их отсутствие), данные биофизического профиля плода (суммарная оценка < 8 баллов), ультразвуковой доплерографии (нарушение маточно-плацентарного кровотока 1В 2 ст.), средняя оценка по шкале Апгар $8,45 \pm 0,61$ балла. Критериями включения во 2-ю группу являлись оценка по шкале Апгар 7 баллов и ниже на первой минуте жизни (средняя оценка – $5,22 \pm 1,54$ балла), наличие ацидоза и дефицита оснований, отклонения в неврологическом статусе. Терапевтическая гипотермия детям не проводилась, на момент исследования оборудование для проведения данного лечения отсутствовало. Контрольную группу (третью) составили 52 доношенных новорождённых со средней оценкой по шкале Апгар $8,81 \pm 0,69$ и отсутствием данных о перенесённой внутриутробной гипоксии. Дети 1-й группы рождены на сроке гестации $38,77 \pm 1,16$ недели, с массой тела $3243,8 \pm 535,1$ г, длиной $51,1 \pm 2,9$ см, дети 2-й группы рождены на сроке гестации $39,5 \pm 2,14$ недели, с массой тела $3135,3 \pm 543,9$ г, длиной $50,9 \pm 2,79$ см, младенцы контрольной группы рождены на сроке гестации $39,6 \pm 0,84$ недели, с массой тела $3401,4 \pm 422,1$ г, длиной $51,87 \pm 1,94$ см.

Диагноз гипоксически-ишемической энцефалопатии (ГИЭ) установлен на основании комплекса анамнестических данных (особенностей течения беременности и родов, внутриутробного состояния плода, пособия в родах, медикаментозной терапии матери во время беременности и в родах, оценки состояния младенца по шкале Апгар при рождении) и анализа динамики клинических симптомов у ребёнка. Клиническая диагностика ГИЭ основана на использовании клинических классификаций и стандартных неврологических шкал, которые позволяют разграничить нормальный и девиантный неврологический статус. Диагноз был установлен согласно «Классификации перинатальных поражений нервной системы у новорождённых» (2000), степень тяжести ГИЭ определялась по модифицированной классификации Н. Sarnat и М. Sarnat (1976) в модификации В. Stoll и R. Kliegman (2004) [3, 5].

В первой группе диагноз ГИЭ II степени был выставлен в одном случае (2,08%), 12 детей (25%) не имели патологической неврологической симптоматики, остальные новорождённые имели клинические признаки I степени ГИЭ. Диагноз ГИЭ II степени был выставлен 18 детям (22,5%) 2-й группы, остальные дети имели клинические признаки ГИЭ I степени. В контрольной группе у 52% детей не было какой-либо неврологической симптоматики,

48% имели транзиторный характер отклонения в неврологическом статусе и к концу раннего неонатального периода имели физиологический неврологический статус.

Метод исследования – полимеразная цепная реакция с детекцией в режиме реального времени, а также с помощью электрофореза в агарозном геле с последующей визуализацией результата в ультрафиолетовом свете. Использовались комплекты SNP-наборов, соответствующих заявленному полиморфизму *Ил-1 β (C-511T)*, *Ил-1 β (C3953T)*, *Ил-4(C589T)*, *Ил-6(C174G)*, *Ил-10(C819T)*, *Ил-10(G1082A)* (НПФ «Литех», Москва).

Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи пакетов программ Microsoft Excel 2010, Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Риск развития событий оценивали по отношению шансов (odds ratio (OR)) с расчётом 95% доверительного интервала (ДИ), также использовался критерий χ^2 . Статистически значимые различия рассматривались при значении уровня $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При проведении генетического исследования обнаружены все искомые мутации как в гомо-, так и в гетерозиготном состоянии. У здоровых детей отклонение от закона Харди – Вайнберга выявлено для SNP *Ил-10(G1082A)* и *Ил-4(C589T)*.

У новорождённых, перенёвших ХВУГ, преобладали генотип ТТ ($p = 0,04$) и аллель Т *Ил-1 β (C-511T)* ($p = 0,01$) по сравнению с группой контроля (табл. 1). Относительная вероятность выявления аллеля *Ил-1 β -511T* и генотипа *Ил-1 β -511TT* у детей, перенёвших внутриутробную гипоксию, в сравнении со здоровыми детьми, была выше в 2 раза.

В этой же группе исследуемых при изучении полиморфизма гена *Ил-1 β* преобладал аллель Т ($p = 0,03$) в точке *C3953T*, в отличие от группы контроля. Относительная вероятность выявления аллеля *Ил-1 β -3953T* у детей, перенёвших ХВУГ, в сравнении со здоровыми, была выше в 2,33 раза.

У детей, рождённых в асфиксии преобладал аллель Т *Ил-1 β (C-511T)* по сравнению с контрольной группой ($p = 0,03$) (табл. 2). Относительная вероятность же выявления аллеля *Ил-1 β -31T* у детей, рождённых в асфиксии, в сравнении со здоровыми, была выше в 1,72 раза. Относительная вероятность выявления генотипа *Ил-1 β -511TT* у таких детей была в 1,69 раза выше.

ОБСУЖДЕНИЕ

В развитии ГИЭ выделены две фазы: первичного и вторичного нейрорповреждения. Развивающееся в момент воздействия асфиксии первичное повреждение характеризуется необратимой гибелью клеток головного мозга, а его объём зависит от того, как долго было действие гипоксии. Повреждение вторичное возникает в фазу реоксигенации – реперфузии через 2–12 часов после первичного повреждения нервной ткани. В эту фазу активизируется ряд патогенетических механизмов с выбросом свободных радикалов, возникновением кальциевого и глутаматного стресса, асептического воспаления, активацией апоптоза, что приводит к увеличению объёма повреждения нейронов ЦНС и ухудшению прогноза для жизни и здоровья [3–5]. Исследования показывают, что цитокины – неотделимая часть потока реакций, которые входят в состав многообразной биосистемы – цитокиновой сети, которая представляет собой

Таблица 1

Частота встречаемости аллелей и генотипов изучаемых полиморфизмов у детей, испытавших хроническую внутриутробную гипоксию, и детей контрольной группы

Table 1

The frequency of alleles and genotypes of the studied polymorphisms in children who have experienced chronic intrauterine hypoxia and children in the control group

Полиморфизм	Генотип, аллель	Частота аллеля, генотипа		P	χ ²	OR [95% ДИ]
		ХВУГ (n = 48)	Контрольная группа (n = 52)			
<i>Ил-1β(C-511T)</i>	C/C	6 (12,5 %)	17 (32,6 %)	0,04	6,33	0,29 [0,1–0,82]
	C/T	24 (50,0 %)	23 (44,2 %)			1,26 [0,57–2,77]
	T/T	18 (37,5 %)	12 (23,0 %)			2,0 [0,83–4,77]
	C	36 (0,375)	57 (0,548)			0,49 [0,28–0,87]
<i>Ил-1β(C3953T)</i>	T	60 (0,625)	47 (0,451)	0,01	6,01	2,02 [1,14–3,55]
	C/C	27 (56,2 %)	31 (59,6 %)			0,87 [0,39–1,92]
	C/T	14 (29,16 %)	16 (30,7 %)			0,74 [0,41–2,32]
	T/T	7 (14,58 %)	5 (9,6 %)			1,6 [0,47–5,55]
<i>Ил-4(C589T)</i>	C	68 (0,708)	78 (0,75)	0,03	4,28	0,81 [0,43–1,51]
	T	42 (0,292)	26 (0,25)			2,33 [1,28–4,25]
	C/C	5 (10,4 %)	9 (17,3 %)			0,55 [0,17–1,79]
	C/T	40 (83,3 %)	37 (71,1 %)			0,35 [0,77–5,33]
<i>Ил-6(C174G)</i>	T/T	3 (6,2 %)	6 (11,5 %)	0,91	0,01	0,51 [0,12–2,16]
	C	50 (0,520)	55 (0,529)			0,96 [0,55–1,68]
	T	46 (0,480)	49 (0,471)			1,03 [0,59–1,80]
	C/C	6 (12,5 %)	11 (21,1 %)			0,53 [0,39–2,93]
<i>Ил-10(C819T)</i>	C/G	25 (52,0 %)	23 (44,2 %)	0,49	1,42	1,37 [0,62–3,01]
	G/G	17 (35,4 %)	18 (34,6 %)			1,03 [0,45–2,35]
	C	37 (0,385)	45 (0,433)			0,82 [0,46–1,44]
	G	59 (0,615)	59 (0,567)			1,21 [0,69–2,14]
<i>Ил-10(G1082A)</i>	C/C	22 (45,8 %)	27 (51,9 %)	0,48	1,44	0,78 [0,35–1,72]
	C/T	20 (41,6 %)	22 (42,3 %)			0,97 [0,44–2,15]
	T/T	6 (12,5 %)	3 (5,7 %)			2,33 [0,55–9,90]
	C	64 (0,667)	76 (0,730)			0,73 [0,40–1,35]
<i>Ил-10(G1082A)</i>	T	32 (0,333)	28 (0,270)	0,32	0,97	1,35 [0,74–2,48]
	G/G	22 (45,8 %)	21 (40,3 %)			1,24 [0,56–2,76]
	G/A	22 (45,8 %)	21 (40,3 %)			1,24 [0,56–2,76]
	A/A	4 (8,3 %)	10 (19,2 %)			0,38 [0,11–1,31]
<i>Ил-10(G1082A)</i>	G	66 (0,688)	63 (0,606)	0,22	1,45	1,43 [0,79–2,56]
	A	30 (0,312)	41 (0,394)			0,69 [0,39–1,25]

Примечание. Курсивом помечена статистически значимая вариабельность носительства аллелей в группах.

систему полипептидных молекул, регулирующих многие жизненно важные процессы в организме, защитные реакции против патогенов и восстановление гомеостаза [12]. Астроциты и активированные микроглиальные клетки выделяют различные иммуноактивные молекулы, такие как цитокины, факторы роста и хемоаттрактанты. *Ил-1β* синтезируется дендритными клетками, макрофагами, моноцитами, В-лимфоцитами эпителиальными, эндотелиальными, гладкомышечными клетками сосудов, НК-клетками. Сосудистые эндотелиальные клетки под влиянием данного цитокина высвобождают полипептиды, стимулирующие пролиферацию, клеточную миграцию и вызывающие освобождение медиаторов воспаления сосудов. В условиях повышенного уровня

цитокинов, данный механизм очень часто приводит к диссеминированной внутрисосудистой коагуляции. После первичного гипоксического повреждения *Ил-1β*, высвобождаясь в головном мозге, играет весомую роль в повреждении мозга, способствует выработке оксида азота (одного из основных регуляторов тонуса сосудов мозга) [12–14]. *Ил-6* – провоспалительный цитокин, основными биологическими действиями которого являются индукция восстановительных механизмов и активация иммунной защиты. Его продуцируют клетки эндотелия, а также Т-лимфоциты, микроглия, астроциты и макрофаги. Установлена связь между повышенным уровнем *Ил-6* у новорождённых после перенесённой асфиксии в родах и тяжёлым поражением ЦНС с судорожным синдромом

Таблица 2
Частота встречаемости аллелей и генотипов изучаемых полиморфизмов у детей, рождённых в асфиксии, и детей контрольной группы

Table 2
The frequency of alleles and genotypes of the studied polymorphisms in children born in asphyxia and children in the control group

Полиморфизм	Генотип, аллель	Частота аллеля, генотипа		P	χ ²	OR [95% ДИ]
		Асфиксия (n = 80)	Контрольная группа (n = 52)			
Ил-1β(C-511T)	C/C	13 (16,2 %)	17 (32,6 %)	0,07	5,1	0,37 [0,16–0,86]
	C/T	40 (50,0 %)	23 (44,2 %)			1,26 [0,62–2,54]
	T/T	27 (33,7 %)	12 (23,0 %)			1,69 [0,76–3,75]
	C	66 (0,413)	57 (0,548)			0,57 [0,35–0,95]
Ил-1β(C3953T)	T	94 (0,587)	47 (0,452)	0,03	4,65	1,72 [1,05–2,83]
	C/C	49 (61,2 %)	31 (59,6 %)			1,07 [0,52–2,18]
	C/T	21 (26,2 %)	16 (30,7 %)			0,78 [0,37–1,73]
	T/T	10 (12,5 %)	5 (9,6 %)			1,34 [0,43–4,17]
Ил-4(C589T)	C	119 (0,743)	78 (0,75)	0,91	0,01	0,96 [0,54–1,70]
	T	41 (0,257)	26 (0,25)			0,51 [0,26–1,00]
	C/C	22 (10,2 %)	9 (17,3 %)			1,81 [0,75–4,32]
	C/T	56 (87,3 %)	37 (71,1 %)			0,06 [0,43–2,03]
Ил-6(C174G)	T/T	2 (2,5 %)	6 (11,5 %)	0,12	2,4	0,19 [0,03–1,01]
	C	100 (0,625)	55 (0,528)			1,48 [0,90–2,45]
	T	60 (0,375)	49 (0,472)			0,67 [0,40–1,11]
	C/C	13 (16,2 %)	11 (21,1 %)			0,72 [0,29–1,76]
Ил-10(C819T)	C/G	45 (56,2 %)	23 (44,2 %)	0,40	1,82	1,62 [0,80–3,27]
	G/G	22 (27,5 %)	18 (34,6 %)			0,71 [0,33–1,52]
	C	71 (0,443)	45 (0,432)			1,04 [0,63–1,72]
	G	89 (0,557)	59 (0,568)			0,95 [0,58–1,57]
Ил-10(G1082A)	C/C	39 (48,7 %)	27 (51,9 %)	0,68	0,74	0,88 [0,43–1,77]
	C/T	33 (41,25 %)	22 (42,3 %)			0,95 [0,47–1,94]
	T/T	8 (10 %)	3 (5,7 %)			1,81 [0,45–7,18]
	C	111 (0,693)	76 (0,730)			0,83 [0,48–1,44]
Ил-10(G1082A)	T	49 (0,307)	28 (0,270)	0,51	0,41	1,19 [0,69–2,07]
	G/G	26 (32,5 %)	21 (40,3 %)			0,71 [0,34–1,46]
	G/A	39 (48,7 %)	21 (40,3 %)			1,40 [0,69–2,84]
	A/A	15 (18,7 %)	10 (19,2 %)			0,96 [0,39–2,35]
Ил-10(G1082A)	G	91 (0,568)	63 (0,606)	0,55	0,35	0,85 [0,51–1,41]
	A	69 (0,432)	41 (0,394)			1,16 [0,70–1,92]

Примечание. Курсивом помечена статистически значимая варибельность носительства аллелей в группах.

[14]. Совокупность многих литературных источников говорит о том, что уровни Ил-1β и Ил-6 в мозге отражают его степень гипоксически-ишемического поражения [12, 14, 15]. Ил-4 подавляет активность макрофагов в процессе биосинтеза ими цитокинов – Ил-1β, ФНО-α, Ил-6, т. е. оказывает противовоспалительный эффект [12]. Ил-10 представляет собой противовоспалительный цитокин, экспрессия к рецепторам которого в клетках головного мозга способствует сохранению нейронов путём препятствия апоптозу этих клеток, низкому уровню провоспалительных цитокинов и оксида азота. При нейродегенеративных заболеваниях он снижает выраженность деструктивного процесса [16, 17].

Гены, контролирующие активность цитокинов, представляют большой интерес для изучения. Они могут быть

использованы в качестве дополнительных параметров для диагностирования (уточнения) заболеваний, поскольку последние полученные данные предполагают тесную связь полиморфизмов генов и разнообразной патологией (в том числе поражение ЦНС). Так, у новорождённых с ГИЭ была отмечена мутация Ил1β-C511T, C3954T [10]. M.L. Gabriel et al. в 2016 г. обнаружил взаимосвязь между SNP Ил1β – Ил-1β-C-511T и развитием у младенцев перивентрикулярной лейкомаляции [10]. Соответственно, можно предположить, что у детей с гипоксическим повреждением головного мозга, которые являются носителем полиморфизма гена Ил-1β, имеет место повышенная экспрессия, что приводит к усугублению повреждения ЦНС и возникновению более тяжёлых неврологических расстройств.

Полиморфные варианты генов *Ил-4(C589T)*, *Ил-6(C174G)*, *Ил-10(C819T)*, *Ил-10(G1082A)* статистически значимо не различались в нашем исследовании, однако по данным литературы они также могут влиять на возникновение и течение патологических процессов. Так, у недоношенных детей с гипоксическим поражением головного мозга выявлено преобладание аллельного варианта *Ил-6-C-174G*. У носителей генетических полиморфизмов гена *Ил-6* были отмечены наличие когнитивных нарушений и слабоумия [18]. Наличие SNP гена *Ил-6* у детей предрасполагает к развитию ДЦП [19]. В исследовании M.L. Gabriel et al. (2016) выявлена ассоциация между полиморфизмом *Ил-10 – 1082G/A* и риском развития перивентрикулярной лейкомаляции [10]. В другом исследовании выявлена связь между носительством полиморфизма *Ил-10* и риском развития ДЦП [20]. Роль полиморфизма *Ил-4* у детей с гипоксическим поражением головного мозга не была изучена. Есть ряд исследований, проведённых во взрослой популяции. Так, наличие полиморфизма гена *Ил-4* по аллелям *-590C* и *-1098G* повышает риск развития такого нейродегенеративного заболевания, как болезнь Альцгеймера [21], а наличие генотипов *CC* и *CT* повышает вероятность возникновения инфаркта головного мозга [22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У детей с гипоксическими событиями выявлены все вариации генетического полиморфизма цитокинов, большая часть которых в носительстве подчинено равновесию Харди – Вайнберга. Повышенные частоты носительства генотипов *Ил-1β-511TT* и *Ил-1β-3953TT*, аллелей *Ил-1β-511T* и *Ил-1β-3953T*, обнаруженные в нашем исследовании у новорождённых перенёвших асфиксию и хроническую внутриутробную гипоксию, указывают на возможное их участие в активировании воспаления в головном мозге, ведущее к нейроповреждению, прогнозируя течение заболевания. Всё вышесказанное позволяет сделать вывод, что формирование исходов поражения головного мозга и его прогрессирование зависит не только от выраженности нарушения мозгового кровотока, процессов анаэробного гликолиза и гемостатических изменений, но и от усиленной выработки провоспалительных интерлейкинов, в том числе и генетически обусловленной.

Таким образом, исследование частоты аллелей и генотипов генетического полиморфизма цитокинов у детей с гипоксическими событиями позволит выявить вероятную предрасположенность к развитию патологии со стороны нервной системы.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Еремина О.В., Долгушина Н.В., Баев О.Р. Клинико-экономическая эффективность прямой электрокардиографии с st-анализом в оценке состояния плода. *Акушерство и гинекология*. 2016; (4): 49-55. doi: 10.18565/aig.2016.4.49-55
2. Байбарина Е.Н. (ред.) *Реанимация и стабилизация состояния новорожденных детей в родильном зале*. М.: Министерство здравоохранения РФ; 2020. Режим доступа: <https://mz19.ru/upload/iblock/e29/Methodicheskoe-pismo-Reanimatsiya-i-stabilizatsiya-sostoyaniya-novorozhdennykh-detey-v-rodilnom-zale.pdf>
3. Буров А.А., Горев В.В., Горелик К.Д., Дегтярева М.Г., Ионов О.В., Карпова А.Л., и др. Терапевтическая гипотермия

у новорожденных детей (клинические рекомендации 2019). В: Иванов Д.О. (ред.) *Руководство по перинатологии*. Т. 2. М.: Информ-Навигатор; 2019. 103-111.

4. Шабалов Н.П. *Неонатология*. Т.1. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016.
5. Барышева А.Ю. (ред.) *Неотложные состояния у новорожденных детей. руководство для врачей*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2020.
6. Placha K, Luptakova D, Baciak L, Ujhazy E, Juranek I. Neonatal brain injury as a consequence of insufficient cerebral oxygenation. *Neuro Endocrinol Lett*. 2016; 37(2): 79-96.
7. Петренкова Н.С., Сергеева В.А., Пахомов Д.А. Гемодинамические паттерны у новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией при проведении терапевтической гипотермии. *Забайкальский медицинский вестник*. 2017; (2): 72-77.
8. Perrone S, Weiss MD, Proietti F, Rossignol C, Cornacchione S, Bazzini F, et al. Identification of a panel of cytokines in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy treated with hypothermia. *Cytokine*. 2018; 111: 119-124. doi: 10.1016/j.cyt.2018.08.011
9. Пузырева Л.В., Сафонов А.Д. Генетический полиморфизм цитокинов: прошлое и будущее. *Инфекция и иммунитет*. 2016; 6(2): 103-108. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-103-108
10. Gabriel ML, Braga FB, Cardoso MR, Lopes AC, Piatto VB, Douza AS. The association between pro- and anti-inflammatory cytokine polymorphisms and periventricular leukomalacia in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Inflamm Res*. 2016; 9: 59-67. doi: 10.2147/JIR.S103697
11. Merino ST, Bonilla MRT, Chavez BAL, Fong DM, Barrios JAG. Functional polymorphism of the interleukin1-beta gene promoter is associated with increased risk for cerebral palsy in Mexican children with perinatal hypoxia-ischemia antecedents. *J Neonatal Biol*. 2015; 4(1): 166. doi: 10.4172/2167-0897.1000167
12. Симбирцев А.С. *Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека*. СПб.: Фолиант; 2018.
13. Murray KN, Parry-Jones AR, Allan SM. Interleukin-1 and acute brain injury. *Front Cell Neurosci*. 2015; 9: 18. doi: 10.3389/fncel.2015.00018
14. Massaro AN, Wu YW, Bammler TK, Comstock B, Mathur A, McKinstry RC, et al. Plasma biomarkers of brain injury in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Pediatr*. 2018; 194: 67-75. doi: 10.1016/j.jpeds.2017.10.060
15. Якорнова Г.В., Ремизова И.И., Чистякова Г.Н., Устьянцева Л.С. Динамика провоспалительных цитокинов у детей, родившихся у женщин с осложненной беременностью, в зависимости от течения раннего периода адаптации. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2015; 60(4): 50-56.
16. Belisário AR, Sales RR, Toledo NE, Velloso-Rodrigues C, Silva CM, Viana MB. Interleukin-10 haplotypes are not associated with acute cerebral ischemia or high-risk transcranial Doppler in a newborn cohort of 395 children with sickle cell anemia. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2017; 39(2):108-114. doi: 10.1016/j.bjhh.2016.09.017
17. Cruz Y, García EE, Gálvez JV, Arias-Santiago SV, Carvajal HG, Silva-García R, et al. Release of interleukin-10 and neurotrophic factors in the choroid plexus: possible inducers of neurogenesis following copolymer-1 immunization after cerebral ischemia. *Neural Regen Res*. 2018; 13(10):1743-1752. doi: 10.4103/1673-5374.238615
18. Chae JW, Ng T, Yeo HL, Shwe M, Gan YX, Ho HK, et al. Impact of TNF-α(rs1800629) and IL-6 (rs1800795) polymorphisms on cognitive impairment in Asian breast cancer patients. *PLoS One*. 2016; 11(10): e0164204. doi: 10.1371/journal.pone.0164204
19. Bi D, Chen M, Zhang X, Wang H, Xia L, Shang Q, et al. The association between sex-related interleukin-6 gene polymorphisms and the risk for cerebral palsy. *J Neuroinflammation*. 2014; 11: 100. doi: 10.1186/1742-2094-11-100
20. Xia L, Chen M, Bi D, Song J, Zhang X, Wang Y, et al. Combined analysis of interleukin-10 gene polymorphisms and protein expression in children with cerebral palsy. *Front Neurol*. 2018; 9: 182. doi: 10.3389/fneur.2018.00182
21. Li W, Qian X, Teng H, Ding Y, Zhang L. Association of interleukin-4 genetic polymorphisms with sporadic Alzheimer's

disease in Chinese Han population. *Neurosci Lett*. 2014; 563: 17-21. doi: 10.1016/j.neulet.2014.01.019

22. Hu W, Gao F, Wang P, Wang G, Zhang Y. Association between interleukin-4 genetic polymorphisms and the risk of cerebral infarction in a population of China. *Biomedical Research*. 2017; 28(21): 9198-9203.

REFERENCES

1. Eremina OV, Dolgushina NV, Baev OR. Clinical and economic efficiency of direct electrocardiography with st-analysis in fetal assessment. *Obstetrics and gynecology (Moscow)*. 2016; (4): 49-55. doi: 10.18565/aig.2016.4.49-55 (In Russ.)

2. Baybarina EN (ed.) *Resuscitation and stabilization of the condition of newborn children in the maternity ward*. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2020. URL: <https://mz19.ru/upload/iblock/e29/Metodicheskoe-pismo-Reanimatsiya-i-stabilizatsiya-sostoyaniya-novorozhdennykh-detey-v-rodilnom-zale.pdf> (In Russ.)

3. Burov AA, Gorev VV, Gorelik KD, Degtyareva MG, Ionov OV, Karpova AL, et al. Therapeutic hypothermia in newborns (clinical recommendations 2019). In: Ivanov DO (ed.) *Perinatology Guidelines*. Vol. 2. Moscow: Inform-Navigator; 2019. 103-111. (In Russ.)

4. Shabalov NP. *Neonatology*. Vol. 1. Moscow: GEOTAR-Media; 2016. (In Russ.)

5. Barysheva AYU (ed.) *Emergency conditions in newborns: a guide for doctors*. Moscow: GEOTAR-Media; 2020. (In Russ.)

6. Placha K, Luptakova D, Baciak L, Ujhazy E, Juranek I. Neonatal brain injury as a consequence of insufficient cerebral oxygenation. *Neuro Endocrinol Lett*. 2016; 37(2): 79-96.

7. Petrenkova NS, Sergeeva VA, Pakhomov DA. Hemodynamic patterns in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy during therapeutic hypothermia. *The Transbaikalian Medical Bulletin*. 2017; (2): 72-77. (In Russ.)

8. Perrone S, Weiss MD, Proietti F, Rossignol C, Cornacchione S, Bazzini F, et al. Identification of a panel of cytokines in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy treated with hypothermia. *Cytokine*. 2018; 111: 119-124. doi: 10.1016/j.cyt.2018.08.011

9. Puzyreva LV, Safonov AD. Genetic polymorphism of cytokines: past and future. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2016; 6(2): 103-108. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-103-108 (In Russ.)

10. Gabriel ML, Braga FB, Cardoso MR, Lopes AC, Piatto VB, Douza AS. The association between pro- and anti-inflammatory cytokine polymorphisms and periventricular leukomalacia in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Inflamm Res*. 2016; 9: 59-67. doi: 10.2147/JIR.S103697

11. Merino ST, Bonilla MRT, Chavez BAL, Fong DM, Barrios JAG. Functional polymorphism of the interleukin1beta gene

promoter is associated with increased risk for cerebral palsy in Mexican children with perinatal hypoxia-ischemia antecedents. *J Neonatal Biol*. 2015; 4(1): 166. doi: 10.4172/2167-0897.1000167

12. Simbirtsev AS. *Cytokines in the pathogenesis and treatment of human diseases*. Saint Petersburg: Doliant; 2018. (In Russ.)

13. Murray KN, Parry-Jones AR, Allan SM. Interleukin-1 and acute brain injury. *Front Cell Neurosci*. 2015; 9: 18. doi: 10.3389/fncel.2015.00018

14. Massaro AN, Wu YW, Bammler TK, Comstock B, Mathur A, McKinstry RC, et al. Plasma biomarkers of brain injury in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Pediatr*. 2018; 194: 67-75. doi: 10.1016/j.jpeds.2017.10.060

15. Yakornova GV, Remizova II, Chistyakova GN, Ustyantseva LS. Time course of changes in proinflammatory cytokines in infants born to women with complicated pregnancy in relation to the course of an early adaptation period. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics)*. 2015; 60(4): 50-56. (In Russ.)

16. Belisário AR, Sales RR, Toledo NE, Velloso-Rodrigues C, Silva CM, Viana MB. Interleukin-10 haplotypes are not associated with acute cerebral ischemia or high-risk transcranial Doppler in a newborn cohort of 395 children with sickle cell anemia. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2017; 39(2): 108-114. doi: 10.1016/j.bjhh.2016.09.017

17. Cruz Y, García EE, Gálvez JV, Arias-Santiago SV, Carvajal HG, Silva-García R, et al. Release of interleukin-10 and neurotrophic factors in the choroid plexus: possible inductors of neurogenesis following copolymer-1 immunization after cerebral ischemia. *Neural Regen Res*. 2018; 13(10): 1743-1752. doi: 10.4103/1673-5374.238615

18. Chae JW, Ng T, Yeo HL, Shwe M, Gan YX, Ho HK, et al. Impact of TNF- α (rs1800629) and IL-6 (rs1800795) polymorphisms on cognitive impairment in Asian breast cancer patients. *PLoS One*. 2016; 11(10): e0164204. doi: 10.1371/journal.pone.0164204

19. Bi D, Chen M, Zhang X, Wang H, Xia L, Shang Q, et al. The association between sex-related interleukin-6 gene polymorphisms and the risk for cerebral palsy. *J Neuroinflammation*. 2014; 11: 100. doi: 10.1186/1742-2094-11-100

20. Xia L, Chen M, Bi D, Song J, Zhang X, Wang Y, et al. Combined analysis of interleukin-10 gene polymorphisms and protein expression in children with cerebral palsy. *Front Neurol*. 2018; 9: 182. doi: 10.3389/fneur.2018.00182

21. Li W, Qian X, Teng H, Ding Y, Zhang L. Association of interleukin-4 genetic polymorphisms with sporadic Alzheimer's disease in Chinese Han population. *Neurosci Lett*. 2014; 563: 17-21. doi: 10.1016/j.neulet.2014.01.019

22. Hu W, Gao F, Wang P, Wang G, Zhang Y. Association between interleukin-4 genetic polymorphisms and the risk of cerebral infarction in a population of China. *Biomedical Research*. 2017; 28(21): 9198-9203.

Сведения об авторах

Панова Марина Сергеевна – ассистент кафедры прпедевтики детских болезней, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: merik2002@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3144-4889>.

Панченко Александра Сергеевна – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой прпедевтики детских болезней, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: sashawomen@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2313-3941>

Пушкарев Борис Сергеевич – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики НИИ молекулярной медицины, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: Pushkarevboris@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7285-8925>

Information about the authors:

Marina S. Panova – Assistant Professor, Department of Propaedeutics of Children's Diseases, Chita State Medical Academy, e-mail: merik2002@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3144-4889>

Aleksandra S. Panchenko – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of Department of Propaedeutics of Children's Diseases, Chita State Medical Academy, e-mail: sashawomen@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2313-3941>

Boris S. Pushkarev – Junior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics, Research Institute of Molecular Medicine, Chita State Medical Academy, e-mail: Pushkarevboris@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7285-8925>

Статья получена: 19.02.2020. Статья принята: 24.07.2020. Статья опубликована: 26.08.2020.

Received: 19.02.2020. Accepted: 24.07.2020. Published: 26.08.2020.