

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Ставропольский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

САЛЬНИКОВА ЕКАТЕРИНА СЕРГЕЕВНА

**ПРЕДИКТОРЫ ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ И НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ
ИСХОДОВ ПРИ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОЙ
ЭНЦЕФАЛОПАТИИ У ДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ**

3.1.21. – педиатрия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор,
Барычева Людмила Юрьевна

Ставрополь – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ЦИТОКИНЫ И ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ ПРИ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	14
1.1. Иммунные механизмы нейровоспаления при перинатальном гипоксически-ишемическом поражении центральной нервной системы.....	14
1.2. Клинико-лабораторные и инструментальные маркеры гипоксически-ишемической энцефалопатии.....	20
1.3. Диагностическая и прогностическая ценность интерлейкинов при гипоксически-ишемическом поражении центральной нервной системы.....	24
1.4. Иммуногенетические ассоциации при гипоксически-ишемическом поражении центральной нервной системы.....	32
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	39
ГЛАВА 3. МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ПРИ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ (СОБСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ).....	45
3.1. Клинические и лабораторные факторы риска гипоксически-ишемической энцефалопатии.....	45
3.2. Биомаркеры воспаления при гипоксически-ишемическом поражении центральной нервной системы.....	54
3.2.1. Экспрессия интерлейкина 1 β , фактора некроза опухолей α , интерлейкина 10 у новорожденных с гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы.....	54
3.2.2. Биохимические и гематологические показатели острой фазы воспаления у новорожденных с гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы.....	57

3.2.3. Прогностическая ценность биомаркеров воспаления при формировании резидуальных исходов гипоксически-ишемической энцефалопатии.....	62
3.3. Полиморфизм генов цитокинов у детей с гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы.....	64
3.3.1. Полиморфные варианты гена <i>IL1β</i> и экспрессия интерлейкина 1β.....	65
3.3.2. Полиморфные варианты гена <i>TNFα</i> и экспрессия фактора некроза опухолей α.....	69
3.3.3. Полиморфные варианты гена <i>IL10</i> и экспрессия интерлейкина 10.....	74
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	80
ВЫВОДЫ.....	100
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	102
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	103
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	104
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	107

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Гипоксически-ишемическая энцефалопатия (ГИЭ) новорожденных является одной из самых значимых причин неонатальной смертности и инвалидности детей раннего возраста [136, 153, 174, 188]. Летальность детей с ГИЭ остается высокой и достигает в развитых странах – 9-18% [86, 145, 174, 222, 254, 267], в развивающихся – 25-37,5% [136, 152, 195, 293]. У 24-40% выживших формируются серьезные аномалии развития нервной системы, такие как детский церебральный паралич, эпилепсия, нарушение слуха и зрения, умственная отсталость, когнитивные расстройства, дефицит IQ [98, 174].

В эпоху терапевтической гипотермии ведется поиск клинических и лабораторных маркеров ГИЭ, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью, легко доступных для выполнения во временном интервале терапевтических решений [28, 53, 83, 225, 227]. Большое внимание уделяется маркерам полиорганной дисфункции и повреждения клеток, являющихся следствием перераспределения кровотока при гипоксическом поражении центральной нервной системы [112, 177, 192, 245, 259]. Показано, что лактатдегидрогеназа, прокальцитонин и уровень нейтрофильных гранулоцитов являются предикторами ГИЭ в первые 24 часа после рождения [78, 112, 245].

В современных исследованиях установлено, что нейровоспаление относится к основным патофизиологическим факторам, инициирующим перинатальное гипоксически-ишемическое повреждение ЦНС [90, 191, 202, 218, 233, 284, 299]. Выявлено, что высокая экспрессия провоспалительных цитокинов напрямую связана с ГИЭ и неблагоприятными резидуальными исходами [78, 117, 215, 249], показано диагностическое и прогностическое значение TNF α , IL1 β , IL6, IL10 [58, 71, 87, 117, 128, 243].

Известно, что экспрессия цитокинов во многом зависит от генов, детерминирующих их активность, влияющих на развитие заболевания и формирование резидуальных исходов [138]. Генетически predetermined высокая продукция провоспалительных интерлейкинов может изменять иммунный ответ, способствовать повреждению олигодендроцитов, дегенерации нейронов и усугублению гипоксического повреждения ЦНС [5, 69, 280].

Поиск биомаркеров-кандидатов является чрезвычайно актуальным для прогнозирования резидуальных исходов гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных и назначения протективной терапии.

Степень разработанности темы исследования

Тяжесть гипоксически-ишемического поражения ЦНС может быть стратифицирована при рождении на основании клинических данных и лабораторных биомаркеров, коррелирующих с прогрессированием ГИЭ и неблагоприятными резидуальными исходами [64]. В качестве предикторов ГИЭ изучены анте- и пренатальные факторы, генетическая предрасположенность, биохимические и гематологические показатели, уровни нейромедиаторов и цитокинов в сыворотке крови [64, 177, 280].

У новорожденных с тяжелыми формами ГИЭ ведется поиск лабораторных маркеров повреждения клеток и системного воспаления, таких как СРБ [82, 124, 266], ЛДГ [78, 112, 245], прокальцитонин [78], количество нейтрофильных гранулоцитов [64, 169]. Однако их чувствительность, специфичность, прогностическая ценность при прогрессировании заболевания до конца не определены [85, 163].

До настоящего времени идентифицировано ограниченное число генов, потенциально связанных с ГИЭ, в числе доказанных – гены синтазы оксида азота NOS3 и интерлейкинов – IL1 β , IL6, TNF α , IL10 [92, 208, 265, 271, 276, 280, 297]. В структуре молекулярно-генетических маркеров, ответственных за

реализацию ГИЭ, установлены полиморфизмы *IL1β* rs16944 [69, 92, 272], *IL1β* rs1143627 [237], *IL1β* rs1143623, *IL1β* rs1071676 [92], *TNFα* rs1800629 [168, 269, 272, 291], *TNF-α* rs361525 и rs1799724 [291], *IL10* rs1800896 [102, 272], тогда как другие исследования не подтвердили значимой связи для *IL1β* rs1143627 и *TNFα* rs1143627 [74, 168].

Результаты определения ключевых интерлейкинов у новорожденных с ГИЭ свидетельствуют об увеличении *IL1β* [101, 103, 228], *TNFα* [84, 156, 234, 260], *IL10* [54, 128, 249], коррелирующих с тяжестью заболевания и неблагоприятными неврологическими последствиями [19, 97, 117, 228, 248, 295]. Однако существуют и противоположные данные [58, 107, 128, 221, 249, 277]. Весьма актуальным в неонатологии остается поиск надежных и легко воспроизводимых предикторов неблагоприятного прогноза при ГИЭ, что и явилось целью настоящего исследования.

Цель исследования

Определение прогностической ценности биомаркеров воспаления и полиморфизма генов цитокинов у доношенных новорожденных с перинатальной гипоксически-ишемической энцефалопатией

Задачи исследования:

1. Оценить маркеры системного воспаления (интерлейкин 1β, фактор некроза опухолей α, интерлейкин 10, С-реактивный белок, лактатдегидрогеназа, лактат, уровень нейтрофильных гранулоцитов) в зависимости от тяжести гипоксически-ишемической энцефалопатии и резидуальных исходов.

2. Выявить распространенность полиморфизмов генов *TNFα* (*G308A*), *IL1β* (*C2953T*), *IL10* (*G1082A*) у новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией русской национальности Юга России.

3. Установить молекулярно-генетические предикторы гипоксически-ишемической энцефалопатии при определении полиморфных маркеров *TNF α* (*G308A*), *IL1 β* (*C2953T*), *IL10* (*G1082A*) у новорожденных русской национальности Юга России.

4. Оценить вероятность прогрессирования заболевания и реализации неблагоприятных неврологических исходов в зависимости от полиморфизмов *TNF α* (*G308A*), *IL1 β* (*C2953T*), *IL10* (*G1082A*) при гипоксически-ишемической энцефалопатии.

5. Определить зависимость экспрессии интерлейкина 1 β , фактора некроза опухолей α , интерлейкина 10 у новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией русской национальности от генотипов *TNF α* (*G308A*), *IL1 β* (*C2953T*), *IL10* (*G1082A*).

Научная новизна исследования

Установлено, что у новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией тяжелой и среднетяжелой степени наблюдается увеличение биомаркеров воспаления (лактатдегидрогеназа, С-реактивный белок, показатели нейтрофильных гранулоцитов) и сывороточных цитокинов (интерлейкин 1 β , фактор некроза опухолей α).

Впервые показано, что показатели острой фазы воспаления (С-реактивный белок, лактатдегидрогеназа и нейтрофильные гранулоциты) у младенцев с гипоксически-ишемической энцефалопатией коррелируют с экспрессией провоспалительных интерлейкинов (интерлейкин 1 β , фактор некроза опухолей α).

Впервые установлено, что высокие уровни интерлейкина 1 β , фактора некроза опухолей α , С-реактивного белка, лактатдегидрогеназы, нейтрофильных гранулоцитов могут быть использованы в качестве предикторов инвалидизирующих неврологических исходов при гипоксически-ишемической энцефалопатии.

Впервые у детей русской национальности Юга России определено патогенетическое значение однонуклеотидных полиморфизмов *IL1 β 31 C>T* (rs1143627); *TNF α 308 G>A* (rs1800629) и *IL10 592 C>A* (rs1800872) при гипоксически-ишемическом поражении центральной нервной системы.

Впервые выявлено, что у новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией определяются высокая распространенность аллелей *IL1 β (-31)T*, *TNF α 308A* и генотипов *IL1 β (-31)T/T*, *TNF α 308A/A* и увеличение риска развития заболевания у их обладателей.

Впервые обнаружено, что факторами риска тяжелой формы гипоксического поражения центральной нервной системы являются полиморфные аллели *IL1 β (-31)T*, *TNF α 308A* и генотипы *IL1 β (-31)T/T*, *TNF α 308A/A*.

Впервые доказано, что формирование неблагоприятных резидуальных последствий гипоксически-ишемической энцефалопатии реализуется преимущественно у резидентов аллелей *IL1 β (-31)T*, *TNF α 308A*, *IL10 592A* и генотипов *IL1 β (-31)T/T*, *TNF α 308A/A* и *IL10 592A/A*, а носительство аллелей *IL1 β (-31)C*, *TNF α 308G*, *IL10 592C* и генотипа *TNF α 308G/G* обладает протективными свойствами. Впервые подтверждено, что высокая продукция интерлейкина 1 β наблюдается у респондентов аллеля *IL1 β (-31)T* и генотипа *IL1 β (-31)T/T*, фактора некроза опухолей α – аллеля 308A.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Изучение генетических механизмов и их участия в процессах нейровоспаления имеет важное значение для формирования современных знаний о патогенезе гипоксически-ишемической энцефалопатии у детей.

Увеличение таких биомаркеров как лактатдегидрогеназа, С-реактивный белок, число нейтрофильных гранулоцитов у новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией, коррелирующее с формированием неблагоприятных неврологических исходов, свидетельствует о важной роли

системного воспаления в развитии и прогрессировании гипоксического повреждения центральной нервной системы. Обнаруженные в исследовании взаимосвязи рутинных острофазовых показателей со степенью тяжести гипоксически-ишемической энцефалопатии и формированием резидуальных последствий могут применяться для оценки степени повреждения центральной нервной системы и риска неврологического дефицита.

Выявленные закономерности о предрасположенности к тяжелой форме заболевания и формированию инвалидизирующих исходов у респондентов аллелей *IL1 β* (-31)T, *TNF α* 308A и генотипов *IL1 β* (-31)T/T и *TNF α* 308A/A, ответственных за высокую экспрессию интерлейкина 1 β и фактора некроза опухолей α , свидетельствуют о значительной роли полиморфизма генов провоспалительных интерлейкинов и дефекта сигнальных путей в развитии гипоксически-ишемической энцефалопатии и могут рассматриваться в качестве теоретической платформы для развития инновационных методов генно-инженерной противовоспалительной терапии у младенцев с гипоксически-ишемической энцефалопатией.

Методология и методы исследования

Проведено когортное нерандомизированное продольное исследование с применением молекулярно-биологических, клинических, инструментальных, гематологических, биохимических и статистических методов.

Объектом исследования явились доношенные дети с гипоксически-ишемической энцефалопатии тяжелой и среднетяжелой степени, рожденные в ГБУЗ СК «Ставропольский краевой клинический перинатальный центр №1», госпитализированные в отделение патологии новорожденных и недоношенных детей, а также психоневрологическое отделение ГБУЗ СК «Краевая детская клиническая больница» г. Ставрополя.

Предмет исследования: воспалительные биомаркеры (СРБ, ЛДГ, лактат, уровень нейтрофильных гранулоцитов), интерлейкины сыворотки крови

(*IL1 β* , *TNF α* , *IL10*), однонуклеотидные полиморфизмы генов цитокинов *IL1 β* (rs1143627), *TNF α* (rs1800629), *IL10* (rs1800872).

Диссертационное исследование одобрено Локальным этическим комитетом Ставропольского государственного медицинского университета (протокол №70 от 27.12.2017 г.). Обследование новорожденных выполнялись на базе Ставропольского краевого клинического перинатального центра №1 и Краевой детской клинической больницы г. Ставрополя.

Определение цитокинов и полиморфизма генов *IL1 β* , *TNF α* , *IL10* выполнялось в лабораториях Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора».

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Высокие уровни интерлейкина 1 β и фактора некроза опухолей α у новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией являются маркерами тяжести повреждения центральной нервной системы и коррелируют с острофазовыми показателями (С-реактивный белок, лактатдегидрогеназа, уровень нейтрофильных гранулоцитов).

2. Увеличение интерлейкина 1 β >16,8 пг/мл (OR=29,0; 95% CI: 7,24-116,4), фактора некроза опухолей α >17,4 пг/мл (OR=11,33; 95% CI: 2,46-52,15), лактатдегидрогеназы >750 Ед/л мл (OR=5,09; 95% CI: 1,86-13,9), абсолютного содержания нейтрофильных гранулоцитов >6,9*10⁹/л (OR=16,98; 95% CI: 5,28-54,63) в первые 72 часа после рождения является предиктором инвалидизирующих неврологических исходов у детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией.

3. Генетическими маркерами тяжелой формы гипоксически-ишемической энцефалопатии у детей русской национальности Юга России являются полиморфные аллели *IL1 β* (-31)T, *TNF α* 308A и генотипы *IL1 β* (-31)T/T и *TNF α* 308A/A, факторами риска неблагоприятных неврологических

исходов – аллели *IL1 β* (-31)T, *TNF α* 308A, *IL10* 592A и генотипы *IL1 β* (-31)T/T, *TNF α* 308A/A и *IL10* 592A/A, ассоциированные с высокой экспрессией интерлейкина 1 β , фактора некроза опухоли α , интерлейкина 10.

Степень достоверности исследования

В диссертационной работе осуществлен анализ достаточного количества проспективных (96) клинических наблюдений. В работе использованы регламентированные клиничко-инструментальные, биохимические, гематологические, иммуноферментные и молекулярно-генетические методы. Для оценки статистической значимости различий данных использовались современные методы статистики. Исследование выполнено в соответствии с требованиями надлежащей клинической практики. Представленные в работе данные проанализированы и сопоставлены с результатами российских и зарубежных исследователей. Научные положения, выводы и практические рекомендации подтверждены достаточным объемом наблюдений, использованием современных молекулярно-генетических, биохимических и иммуноферментных методов, обсуждены и обоснованы.

Публикации и апробация результатов работы

По материалам диссертационного исследования опубликовано 16 работ, из них 5 статей опубликованы в журналах, входящих в перечень ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на межрегиональных научно-практических конференциях «Актуальные вопросы педиатрии, неонатологии и детской реаниматологии» (Ставрополь, 2019), «Детское здравоохранение: современность, инновации и перспективы» (Ставрополь, 2021), Межвузовском международном конгрессе «Высшая

школа: научные исследования» (Москва, 2022, 2023, 2024), 83-й Международной научной конференции Евразийского Научного Объединения (Москва, 2022), на XIX съезде педиатров России (Москва, 2022), межкафедральной конференции кафедр иммунологии с курсом ДПО, факультетской педиатрии, госпитальной педиатрии, детских инфекционных болезней, неврологии и нейрореабилитации ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России (Ставрополь, 2023).

Практическое использование результатов исследования

Результаты исследования внедрены в практическую деятельность ГБУЗ СК «Краевая детская клиническая больница», ГБУЗ СК «Ставропольский краевой клинический перинатальный центр №1» г. Ставрополя.

Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе у студентов и врачей в рамках образовательных программ специалитета, а также на циклах профессиональной переподготовки и повышения квалификации на кафедрах факультетской педиатрии, иммунологии с курсом ДПО Ставропольского государственного медицинского университета.

Личное участие автора в получении научных результатов, изложенных в диссертации

Автор принимал участие в определении темы и разработке концепции исследования, отборе новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией и их клиническом обследовании, заборе и транспортировке образцов крови, мониторинге клинических данных, оценке резидуальных исходов, статистическом анализе и интерпретации полученных результатов клинического, лабораторного и инструментального обследований. Автором

лично написан текст диссертационного исследования, включающего все необходимые разделы.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.1.21. – «Педиатрия». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования данной специальности, пунктам 1, 3.

ГЛАВА 1. ЦИТОКИНЫ И ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ ПРИ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Иммунные механизмы нейровоспаления при перинатальном гипоксически-ишемическом поражении центральной нервной системы

Перинатальное повреждение головного мозга, вызванное гипоксией-ишемией, является наиболее частой формой неонатального повреждения головного мозга, которое возникает у 3-5 на 1000 доношенных новорожденных (> 36 недель беременности). Более 25-35% младенцев с ГИЭ в развивающихся странах [136, 152, 195, 293] и около 18% в развитых [86, 145, 174, 222, 254, 267] погибают в периоде новорожденности, и еще у 30% развиваются серьезный неврологический дефицит в виде детского церебрального паралича, симптоматической эпилепсии, снижения интеллекта [98, 174].

В настоящее время хорошо известно, что повреждение головного мозга при ГИЭ – это процесс, который развивается в течение нескольких недель, даже месяцев. Человеческий мозг составляет 2% массы тела, но требует 20% общего потребления кислорода, что необходимо для выработки достаточного количества АТФ в митохондриях путем окислительного фосфорилирования для поддержания ионного баланса. Дефицит АТФ приводит к переходу на анаэробный гликолиз, основным недостатком которого является накопление молочной кислоты в клетке. Возникает лактатацидоз, который в свою очередь приводит к нарушению функционирования Na-K-насоса и электролитному дисбалансу: выход ионов K из клетки и перемещение ионов Na и воды в клетку (внутриклеточный отек). Следует отметить, что внутриклеточный (цитотоксический) отек на фоне нормализации гемодинамики и газового состава крови, адекватных реанимационных мероприятий разрешается

самостоятельно в первые часы жизни или приводит к гибели нейронов за счет некроза [187].

Вторая фаза, отсроченная гибель нейронов, возникает после «латентного периода» продолжительностью не менее шести часов и длится от нескольких часов до нескольких суток и характеризуется преобладанием апоптоза.

Нарастающая гипоксия, недостаток Na^{+} - и K^{+} -зависимой АТФазы ведет к деполяризации пресинаптических мембран и выбросу возбуждающих аминокислот (глутамат, аспартат, цитруллин) в постсинаптическую щель. Кроме того, нарастающий лактатацидоз блокирует обратный захват глутамата. Глутамат воздействует на 3 основные группы ионотропных рецепторов – это N-метил-D-аспартат (NMDA), α -амино-3-гидрокси-5-метилизазол-4-пропионовая кислота (AMPA) и каиновая кислота (КА), контролирующие кальциевые каналы. Их перевозбуждение приводит к избыточному притоку кальция внутрь нервной клетки (эксайтотоксичность). Одновременно с индукцией эксайтотоксичности перегрузка кальцием дополнительно усугубляется ацидозом. Кроме того, глутамат активирует metabotropic рецепторы (mGlu), известные как регуляторы внутриклеточных сигнальных каскадов G-белка. Блокировка связывания глутамата с рецепторами NMDA и AMPA в экспериментальных моделях неоднократно показывала, что это обеспечивает надежную нейрозащиту в моделях фокальной ишемии [68, 267].

Избыточные концентрации внутриклеточного кальция и натрия способствуют образованию свободных радикалов кислорода, которые вызывают значительные повреждения биологических макромолекул, таких как белки (дегенерация мембранного белка), липиды (окисление липидов) и нуклеиновые кислоты (дегенерация ДНК). В отличие от других органов, мозг особенно уязвим для свободных радикалов кислорода из-за того, что нейроны имеют относительно низкие уровни эндогенных антиоксидантов [43].

Ишемия активирует синтазу оксида азота (NOS) – семейство ферментов, производящих оксид азота (NO), который затем соединяясь с супероксидными радикалами образует пероксинитрит, мощный окислитель. Митохондрии

чувствительны к пероксинитриту, накапливаются сведения о том, что окислительный стресс способствует постишемическому нарушению митохондриального дыхания. Высвобождение цитохрома С из митохондрий служит важным путем для каскадов апоптотических событий. Высвобождение цитохрома С является двухэтапным процессом, включающим 1) окисление кардиолипина, высвобождая тем самым цитохром С в межмитохондриальное пространство, в сочетании с 2) образованием пор, за счет активации проапоптотических белков Bid, Bad, Bax, Bak, Bcl₂ и Bim во внешней митохондриальной мембране. Освобожденный в цитозоль цитохром С способствует образованию апоптосомы (комплекса, содержащего цитохром С, каспазу 9 и Араf-1), который активирует каспазу 3. Активация каспазы-3 приводит к протеолизу основных клеточных белков, включая цитоскелетные белки и киназы, и может вызывать в клетке морфологические изменения, характерные для апоптоза, включая конденсацию хроматина, сжатие и фрагментацию ядра. Этот путь, опосредованный цитохромом С, также называют внутренним путем [43, 68, 267].

Внешний путь апоптоза активируется в ответ на внеклеточные сигналы, активируется в результате связывания рецептора гибели клетки (TNF-R1, DR4, DR5, Fas) и соответствующего лиганда, с участием сигнального комплекса DISC. Знания о физиологии митохондрий и ее роли в гибели клеток значительно расширились за последнее десятилетие [186]. Считается, что стрессовые или мертвые нейроны напрямую вызывают диффузную активацию нейроглиальных клеток после повреждения незрелого мозга [186].

Микроглия происходит из примитивных макрофагов желточного мешка плода, которые мигрируют в мозг, начиная с 5,5 недели эмбрионального развития и до того момента, пока не сформируется гематоэнцефалический барьер. В последующем, самообновление – единственный источник новой микроглии в головном мозге [183]. В здоровом зрелом мозге микроглиальные клетки находятся в состоянии покоя, в противоположность этому их подвижные отростки формируют трехмерную сеть, что позволяет микроглии

осуществлять мониторинг окружающей микросреды и очищать ее от накопленных продуктов метаболизма, поддерживать выживание клеток, синаптогенез. По сравнению со взрослой микроглией, неонатальная микроглия в нормальном состоянии немного более активна, с более высокими уровнями МНС-II и костимулирующих молекул, таких как CD86 и CD40. Недавние исследования показали, что микроглия оказывает широкий спектр эффектов на эмбриональное и постнатальное физиологическое развитие мозга, включая регуляцию эмбрионального васкулогенеза, секрецию трофических факторов, иммунный надзор, олигодендрогенез и нейрогенез [175].

В течение нескольких минут после повреждающего воздействия такого как гипоксия-ишемия, инфекция и травма, микроглия активируется, изменяя профиль экспрессии генов [171]. В ответ на гипоксически-ишемическое событие микроглия трансформируется в амебоидную форму, изменяя профиль экспрессии генов. Активированная микроглия уже через 24 часа способна преобразовываться в разные фенотипические категории. Микроглия M1, или классический фенотип активированной микроглии, связана с повышенной продукцией провоспалительных цитокинов и хемокинов. Альтернативный противовоспалительный фенотип M2 менее агрессивен к нейронной ткани, способствует репарации ткани и ремоделированию, фагоцитозу белковых агрегатов и клеточных остатков, секреции противовоспалительных цитокинов и нейротрофических факторов. В зависимости от изменяющихся условий микросреды микроглия способна быстро менять свой фенотип с M1 на M2, но механизмы, ответственные за эту регуляцию изучены недостаточно [7, 20, 143, 299].

Нуклеотид-связывающий домен NLRP3 инфламмосома активно участвует в неонатальной черепно-мозговой травме посредством образования ИЛ-18, ИЛ-1 β [205], что приводит к существенной активации микроглии. Несомненно, индукция и активация микроглии и астроцитов играет центральную роль в запуске нейровоспаления. Ассоциированные с опасностью молекулярные паттерны или DAMP активируют рецепторы

распознавания паттернов, такие как Toll-подобные рецепторы (TLR), на поверхности микроглии, астроцитов, эндотелиальных клеток головного мозга и периваскулярных макрофагов. DAMP представляют собой молекулярные паттерны, связанные со стерильным воспалением или воспалением, вызванным без введения патогенного микроба, как это бывает в случае некроза нейронов. Роль TLR в перинатальном повреждении головного мозга широко изучена. TLR1, 2 и 7 активируются через 24 ч после гипоксической ишемии у новорожденных. TLR5 подавляется, а TLR3, 4, 6, 8 и 9 не изменяют экспрессию [90].

Активированная микроглия M1 вырабатывает большое количество провоспалительных цитокинов, оксида азота и активных форм кислорода. Исследования продемонстрировали связь между более неблагоприятными исходами в результате перинатального повреждения мозга и провоспалительными цитокинами, такими как TNF α , IL1 β и IL6. Высокие уровни TNF α и IL1 β в периферической крови и спинномозговой жидкости коррелируют со степенью тяжести ГИЭ. IL6 способствует индуцированному гипоксией-ишемией апоптозу нейронов и подавляет нейрогенез, хотя несколько исследований указали его противовоспалительную роль (подавляет синтез TNF α и IL1 β и стимулирует выработку их эндогенных антагонистов) [131, 172, 287].

Кроме того, синтез и высвобождение хемокинов и матриксных металлопротеиназ (ММП) активированной микроглией и реактивными астроцитами увеличивают проницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), что способствует привлечению периферических иммунных клеток к поврежденному мозгу. Нейтрофилы способны уменьшать микроваскулярный кровоток и усугублять повреждение головного мозга за счет снижения потока эритроцитов и доставки кислорода. Исследования тучных клеток показали, что эти клетки чрезмерно экспрессируют трансформирующий фактор роста бета (TGF- β), что способствует возникновению эксайтотоксического повреждения мозга [61, 149, 169].

На сегодняшний день описаны три морфологически различных типа клеточной смерти нейронов: апоптоз (тип 1), некроз (тип 3) и аутофагия (тип 2), которые пересекаются и могут существовать как континуум в одной и той же клетке. Аутофагия считается гомеостатической нелетальной реакцией на стресс, защищающей клетку от недостатка питательных веществ, чтобы изолировать повреждение органелл. Если последующее повреждение не восстановлено, происходит гибель аутофагических клеток или инициация внутреннего пути апоптоза [241].

Способ гибели клеток зависит от тяжести поражения, подтипа рецептора глутамата, который был стимулирован, степени перегрузки клеток кальцием, зрелости пораженного типа клеток, а также от истощения клеточной энергии и митохондриальной дисфункции. Термин «апоптотико-некротический континуум» был введен как определение для клеток, демонстрирующих гибридный тип клеточной гибели, сочетающий как апоптотическую, так и некротическую морфологию после перинатальной асфиксии [241].

Таким образом, повреждение головного мозга у новорожденных с ГИЭ является этапным процессом, представленным эксайтотоксичностью, разрушением митохондрий, окислительный стрессом и воспалением, способствующим нарастающей дегенерации клеток ЦНС [115]. Нарушение кровотока в отдельных участках мозга в первые часы после рождения инициирует эксайтотоксичность, образование свободных радикалов и отек-набухание нервных клеток [111, 115].

Вторичная фаза повреждения головного мозга наступает в ближайшие часы и дни, приводит к стойкому нейровоспалению, потере митохондриальной проницаемости и нарушению церебральной ауторегуляторной функции [191].

На протяжении третьей фазы воспаление прогрессирует, способствуя дальнейшему повреждению ткани мозга [134, 191].

1.2. Клинико-лабораторные и инструментальной маркеры гипоксически-ишемической энцефалопатии

Гипоксически-ишемическая энцефалопатия (ГИЭ) – состояние, при котором недостаточная оксигенация и/или кровотока приводят к клиническим проявлениям дисфункции мозга, включая судороги и расстройства дыхания [68, 133]. Наиболее частые причины ГИЭ включают отслойку плаценты, выпадение пуповины, разрыв матки и тазовое предлежание [40]. В исследованиях последних десятилетий показано, что лишь 10-30% ГИЭ связаны с родами, в то время как у 70-90% детей эпизоды гипоксии и/или асфиксии возникают во время внутриутробного развития [40]. К максимально чувствительным к гипоксии структурам относят участки мозга с высокой плотностью NMDA-рецепторов – скорлупу, таламус, латеральное коленчатое тело [40]. Клинические проявления ГИЭ определяются локализацией и выраженностью поражения ЦНС [31].

Диагноз гипоксически-ишемической энцефалопатии устанавливается на основании акушерского анамнеза, данных объективного осмотра, анализа газов крови (кислотно-щелочное равновесие) и инструментального обследования [40]. У новорожденного присутствуют обычно один или несколько из следующих признаков: 10-минутная оценка по шкале Апгар менее 5 баллов, необходимость длительной реанимации (более 10 минут), наличие окрашенных меконием околоплодных вод, брадикардия, рН пуповинной крови < 7,0 и/или дефицит оснований (ВЕ) более 15 ммоль/л [40].

Для определения степени энцефалопатии широко используется шкала Sarnat N.B. и Sarnat M.S., которая учитывает уровень сознания, состояние мышечного тонуса и рефлексов, а также вегетативные функции [132]. Четких диагностических критериев для верификации гипоксически-ишемической энцефалопатии нет. В соответствии с зарубежными рекомендациями следует учитывать у новорожденного явления метаболического ацидоза (рН<7,00 и ВЕ<16 ммоль/л в пуповинной крови или крови, взятой не позже, чем через час

после рождения), низкую оценку по шкале Апгар (менее 5 баллов на 5-ой минуте), развитие судорог при исключении другой серьезной патологии, в том числе наследственного заболевания, внутриутробной инфекции, коагулопатии).

В качестве дополнительных критериев учитывают: событие гипоксии перед родами или во время них, внезапную и продолжающуюся брадикардию или отсутствие вариабельности ритма, признаки диффузного поражения головного мозга при нейровизуализации в первые двое суток, полиорганную недостаточность [26, 27, 28, 40].

Для определения состояния новорожденного используют оценку по шкале Апгар (ОША) на 1-й, 5-й и 10-й минутах [65]. Установлено, что 75% детей с тяжелой асфиксией и ОША менее 3-х баллов на 10-й минуте погибают или становятся инвалидами, тогда как в случае ОША более 3-х баллов – число неблагоприятных исходов уменьшается до 45% [119].

В соответствии с клиническими проявлениями выделяют лёгкую, среднетяжёлую и тяжёлую форму ГИЭ [282]. При легкой гипоксически-ишемической энцефалопатии наблюдаются симптомы раздражительности или угнетения длительностью до 24 часов, расширение зрачков, расстройство сна [282]. В течение нескольких дней может быть повышен мышечный тонус, оживлены сухожильные рефлексы, наблюдаются транзиторные поведенческие нарушения, такие как слабое сосание, беспокойство или сонливость [33]. Регистрируются нормальная электроэнцефалографическая картина (ЭЭГ), отсутствие судорог [282]. Через 3-4 дня неврологический статус, как правило, нормализуется [33].

Для гипоксически-ишемической энцефалопатии средней тяжести характерны угнетение сознания, судороги, патологические изменения на ЭЭГ (паттерн «вспышка-подавление») при умеренно сниженной фоновой активности [282]. Уже в первые часы жизни могут наблюдаться приступы брадипноэ или брадикардии, снижение двигательной активности. Новорожденный вял, сонлив, характерны симптомы мышечной гипотонии,

существенное снижение сухожильных рефлексов, а также рефлексов новорожденного (Моро, хватательный, сосательный) [33]. Позднее появляются судороги, срыгивания, тремор, пронзительный крик, через двое-трое суток нарастают признаки внутричерепной гипертензии, отека мозга, эпизоды апноэ [33]. Восстановление неврологических функций обычно наблюдается в течение 2-х недель. Однако вследствие реперфузионных нарушений после мнимого благополучия может наступить внезапное ухудшение в виде увеличения интенсивности судорожного синдрома [33].

При тяжелой гипоксически-ишемической энцефалопатии у младенца развивается кома, дыхательные расстройства вследствие паралича дыхательного центра или снижения его активности; судороги; непрерывные пики высоковольтажной активности на ЭЭГ (более 25 мкВ) или постоянный низковольтажный паттерн (менее 5 мкВ) [282]. Сознание отсутствует, как правило, в течение 2-3 суток после рождения, выражены симптомы предыдущей стадии, а также синдромы «слабости плеч», «головы, уходящей в плечи», «тюленьей лапки», свидетельствующие о некрозе ткани мозга или его цитотоксическом отеке [282]. Уровень сознания – ступор или кома, младенец не реагирует на физические раздражители и обычно нуждается в ИВЛ. В объективном статусе отмечается диффузная гипотония мышц, глубокое снижение сухожильных рефлексов, отсутствие рефлексов новорожденного (хватательный, Моро, сосательный, глотательный). При исследовании ЧМН определяются глазодвигательные нарушения – нистагм, экзофтальм, отсутствие содружественного движения глазных яблок. Зрачки не реагируют на свет, расширены. При тяжелой асфиксии судороги развиваются у 97% доношенных новорожденных, чаще через 12-24 ч. после рождения, носят генерализованный характер, резистентны к терапии [4, 282]. Раннее начало судорог, с первых часов жизни ребенка и их интенсивность ассоциированы с высоким риском летального исхода и инвалидизацией [292]. Постепенно интенсивность судорожного синдрома уменьшается и ЭЭГ может стать изоэлектрической [282].

Большая часть детей с ГИЭ 3-й степени нуждаются в гемодинамической и респираторной поддержке с помощью ИВЛ. Отсутствие спонтанного дыхания в первые минуты после рождения является предвестником летального исхода [292].

Чувствительность нейросонографии для диагностики ГИЭ у доношенных детей составляет 50%, у недоношенных – несколько выше, при ее выполнении визуализируются гиперэхогенные участки, перивентрикулярная лейкомаляция, ВЖК [40]. Более чувствительными методами для выявления постгипоксических изменений являются компьютерная томография и МРТ головного мозга, однако их выполнение в условиях реанимационного отделения не всегда возможно осуществить [40].

Согласно недавнему ретроспективному исследованию, компьютерная томография с меньшей вероятностью, чем МРТ обнаруживает ишемический инсульт, а также поражение базальных ганглиев, ствола мозга и мозжечка [198]. Наиболее эффективным средством визуализации считается взвешенная магнитно-резонансная томография с уровнем чувствительности – 0,98 (T1/T2-взвешенная), специфичности – 0,89 [42, 91, 227, 258].

В исследовании Miller S.J. у 52% детей с ГИЭ при использовании МРТ установлено поражение белого и серого вещества головного мозга, у 22% – базальных ганглиев и таламуса, у 26% – нормальные результаты МРТ [213]. Показано, что характер повреждения коррелирует с резидуальными исходами [89, 212, 227]. В частности, повреждение базальных ганглиев и областей таламуса головного мозга связано с неблагоприятными нейромоторными последствиями и церебральным параличом [89, 212], тогда как повреждения коры в пограничных зонах бассейна внутренней мозговой артерии – с когнитивными нарушениями в 30 месяцев [196], в 4 года [198] и 11 лет, а также с низкими языковыми способностями [198].

Церебральная ишемия (чаще в результате асфиксии) с выраженной гипоперфузией сопровождается развитием селективного некроза нервных клеток с повреждением латеральных ядер зрительного бугра, базальных

ганглиев, гиппокампа, ствола, червя мозжечка, перироландической области коры [212] с возможным исходом в мультикистозную энцефало- или лейкомаляцию [25, 212]. Менее выраженные повреждения в пограничных зонах бассейна внутренней мозговой артерии возникают при внутриутробной гипоксии, связанной с нарушением плацентарного кровотока и/или хориоамнионита [89, 212]. В остром периоде в клинической картине преобладает мышечная гипотония, в отдаленном – развивается когнитивный дефицит, реже – симптоматическая эпилепсия [196, 198].

В последние годы ведется изучение потенциальных предикторов неблагоприятного прогноза при гипоксически-ишемической неонатальной энцефалопатии [12], в роли которых предлагается использовать белок S100 [286, 294], IL6, IL8, IL1 β [71, 81, 87], нейронспецифическую энолазу, активин А, адреномедуллин [79, 228, 250, 252], однако следует учитывать, что многие из них неспецифичны и могут увеличиваться и при других патологических состояниях

1.3. Диагностическая и прогностическая ценность интерлейкинов при гипоксически-ишемическом поражении центральной нервной системы

Неонатальное гипоксически-ишемическое поражение центральной нервной системы возникает в результате нарушения кровотока и/или доставки кислорода к мозгу новорожденного и является одной из ведущих причин неврологической инвалидности у детей [111, 115].

Патофизиологические процессы после гипоксически-ишемического поражения ЦНС включают три стадии. Первая стадия характеризуется острой энергетической недостаточностью, вторая (латентная) – частичным восстановлением кровотока и вторичной энергетической недостаточностью. В третьей стадии отмечается нарастание воспалительного процесса, что в совокупности с окислительным стрессом и накоплением активных радикалов

кислорода приводит к прогрессирующему повреждению ЦНС [111, 189]. Деградация тканей сопровождается активацией инфламмосомы (NLRP3, CARD8, и каспаза-1), что сопровождается продукцией цитокинов раннего ответа, в первую очередь TNF α и IL1 β [247].

Развитие воспалительного ответа с участием цитокинов и хемокинов при гипоксически-ишемической энцефалопатии подтверждено в серии экспериментальных и клинических исследований [90, 191, 202, 218, 233, 284, 299]. Концепция цитокинов, предложенная более 2-х десятилетий назад, явилась фундаментом революционного теоретического объяснения ГИЭ [85]. Возможность их использования в качестве биомаркеров при неонатальной энцефалопатии у новорожденного остаются предметом изучения в течение многих лет [150].

Цитокины – небольшие полипептидные молекулы, действующие путем взаимодействия с рецепторами клеточной поверхности, инициирующие и регулирующие иммунные реакции [150]. Показано, что провоспалительные цитокины способны влиять на развивающийся мозг посредством ряда механизмов, включая проникновение через гематоэнцефалический барьер, активацию эндотелиальных клеток сосудов, клеточный транспорт через эндотелий [257] рекрутирование моноцитов в паренхиму мозга [203] стимуляцию афферентных нервных волокон на периферии [203, 257].

Развивающееся системное воспаление приводит к повреждению незрелого мозга, о чем свидетельствуют аномалии, регистрируемые при ультразвуковом и магнитно-резонансном томографическом исследовании головного мозга [127, 214]. Считается, что степень поражения ЦНС при ГИЭ зависит от интенсивности травмирующего фактора, его длительности, зрелости иммунной системы новорожденного и генетической предрасположенности [275]. Было установлено, что увеличение сывороточных интерлейкинов может играть двойную роль и нередко имеет индивидуальный характер [85].

Короткий период полураспада цитокинов существенно ограничивает возможность их определения в клинической практике. Кроме того, у плода и новорожденного иммунная система имеет различные характеристики и неравноценные возможности реализовать про- и противовоспалительный ответ [219]. Однако стойкое увеличение интерлейкинов, в течение первых двух недель после рождения, взаимосвязано с тяжелым течением ГИЭ и формированием неврологического дефицита – ДЦП и когнитивных расстройств [219, 244].

IL1 β и TNF α считаются основными цитокинами, участвующими в деструкции ткани ЦНС в очаге поражения [260], их концентрации предложены в качестве биомаркеров долгосрочного исхода после ГИЭ [114, 261]. IL1 β является одним из основных регуляторов как ранних, так и поздних стадий повреждения головного мозга, связанных с гипоксически-ишемической травмой [172, 206]. Основными источниками IL1 β являются моноциты и антигенпрезентирующие клетки, однако клетки микроглии и эндотелия также способны синтезировать IL1 β [206].

В ряде экспериментальных исследований показано, что неонатальная гипоксия-ишемия приводит к быстрому и устойчивому увеличению экспрессии мРНК IL1 β в поврежденном ипсилатеральном полушарии [281, 306]. Повышенный уровень IL1 β сохраняется и при реперфузии через 6 и 14 дней, что свидетельствует о пролонгированном воспалении, сопровождающемся необратимым повреждением нейронов [306].

Известно, что рецепторы к IL1 β экспрессируются на поверхности нервных клеток [52, 191], а увеличение его концентрации может вызвать повреждение нейронов с помощью различных механизмов, включая индукцию синтеза оксида азота, активацию путей некроза и апоптоза, модуляцию синаптической пластичности, воздействие на компоненты митоген-активируемого пути протеинкиназы, контролирующей нейродегенерацию [130].

Следует отметить, что IL1 β негативно влияет на пролиферацию олигодендроцитов и, как следствие, может задерживать развитие белого вещества головного мозга и его репарацию [306]. Показано, что введение антител, блокирующих IL1 β или антагониста рецептора ILR1 уменьшают повреждение, вызванное эксайтотоксичностью и/или ишемией [173, 306].

Положительный эффект, связанный с подавлением эффектов IL1 β , сопровождается уменьшением активации микроглии, ее инфильтрации нейтрофильными гранулоцитами, снижением уровня цитокинов [173, 306]. При этом нокдаун гена IL1 β с помощью лентивируса *in vivo* позволяет приостановить развитие отека мозга и нарушение неврологических функций, вызванных неонатальной гипоксически-ишемической травмой [164]. Имеются публикации о том, что IL1 β сегодня рассматривается в качестве мишени для генной биологической терапии у новорожденных с тяжелой формой гипоксически-ишемической энцефалопатии [306].

В исследовании Boskabadi H. показано, что содержание IL1 β в сыворотке крови у младенцев с гипоксически-ишемической энцефалопатией при рождении шестикратно превышало значения у здоровых детей [70]. В более поздних работах авторами установлено, что увеличение IL1 β более 4,7 пг/дл имеет чувствительность – 78% и специфичность – 83% при диагностике асфиксии новорожденных [101]. Определение IL1 β в пуповинной крови позволяет прогнозировать тяжелую ГИЭ и неблагоприятные исходы в возрасте от 6 до 12 месяцев [172].

Сывороточная концентрация IL1 β более 6,7 пг/мл имеет высокую чувствительность (85,7%) и специфичность (78%) в прогнозировании неблагоприятных неврологических исходов [70]. Высокие уровни IL1 β в сыворотке крови детей с ГИЭ установлены в работах других исследователей [120]. Показатели IL1 β коррелировали с аномалиями нейровизуализации при выполнении МРТ [58].

Уровни IL1 β и TNF α были существенно выше среди доношенных новорожденных, у которых в последующем формировались неврологические

расстройства [224]. Одновременная оценка IL1 β и IL6 оказалась лучшим индикатором перинатальной асфиксии [101]. Уровни IL1 β и IL6 были значительно выше у младенцев с перинатальной асфиксией, чем у здоровых новорожденных через 24 часа после рождения [120].

Одновременная оценка IL1 β и IL6 улучшали чувствительность (93%) и специфичность (43,5%) ранней диагностики перинатальной асфиксии. Комбинация IL1 β и IL6 предложена в качестве эффективного предиктора ГИЭ [101].

В исследовании Salyman K. et al. не выявлено увеличение показателей IL1 β в спинномозговой жидкости новорожденных с ГИЭ, в то время как Aly K. et al. установлено его значительное увеличение в ликворе новорожденных с неонатальным гипоксическим поражением мозга [147] в первые сутки после рождения.

Высокие показатели IL1 β в ликворе получены также в работе Šumanović-Glamuzina D. et al. [52]. Повышенные уровни IL1 β , IL10, TNF α определялись в спинномозговой жидкости недоношенных детей [283]. Выявлено, что концентрации IL1 β в спинномозговой жидкости связаны с неблагоприятными неврологическими исходами после перинатальной асфиксии [147]. Дискутируется участие IL1 β в разрушении и восстановлении нейронов после ишемических повреждений головного мозга [147].

Ранее было показано, что IL1 β и TNF α обладают не только выраженной провоспалительной активностью, но и способностью к активации клеточного роста [260]. Было установлено, что увеличение концентрации IL1 β способствует как прогрессированию очага ишемической травмы, так и его репарации. Экспрессия матричной РНК для IL1 β достигает пика через 4 часа после инсульта и возвращается к норме через 24 часа после нее [260]. IL1 β и TNF α способны стимулировать микроглию, увеличивая синтез нейропротективных цитокинов [260]. Вероятно, кумулятивные эффекты плеiotропных цитокинов зависят от широкого спектра взаимодействующих факторов на ранних стадиях репарации [260].

Многогранную роль TNF α при гипоксически-ишемической неонатальной травме мозга еще предстоит установить. В физиологических условиях TNF α инициирует рост и пролиферацию нервных клеток благодаря взаимодействию с рецептором TNF-R2 и активации связанного с выживанием сигнального пути Akt [306]. Однако избыточная экспрессия TNF α при патологических состояниях может индуцировать апоптоз посредством связывания с рецептором TNF α -R1 и активации сигнальных путей каспаз [306].

Значительное увеличение содержания TNF α наблюдалось в ранние сроки восстановления после гипоксически-ишемического повреждения мозга, что свидетельствует о его роли в раннюю фазу после инсульта [281]. Повышенная экспрессия TNF-R1 на олигодендроцитах после гипоксически-ишемической травмы может указывать на индукцию апоптоза и задержку миелинизации [281].

Роль TNF α в развитии гипоксически-ишемической травмы была продемонстрирована в экспериментальных моделях на животных [56], а также в клинических исследованиях [255]. В модели внутримозгового кровоизлияния на крысах высокая экспрессия TNF α отмечена в нейтрофилах, макрофагах и микроглии, а ингибирование TNF α улучшало нейроповеденческий исход [255]. В модели инсульта на мышах дефицит или нейтрализация TNF α уменьшали степень повреждения мозга и смертность [56]. Установлено, что индуцированная TNF α активность микроглии приводит к апоптозу олигодендроцитов и предотвращает ремиелинизацию. На более поздних этапах увеличение синтеза TNF α способствует репарации ткани мозга, что зависит от типа взаимодействующих TNF-рецепторов (TNFr1 и TNFr2) [56].

В ряде клинических исследований показано увеличение TNF α в сыворотке [255, 260, 291] и спинномозговой жидкости новорожденных с неонатальной гипоксической энцефалопатией и формированием ДЦП [224]. В

работе Aly K. et al. продемонстрировано повышение TNF α одновременно в обеих средах [147].

В небольшом когортном исследовании было обнаружено, что повышенные уровни IL1 β , TNF α , IL6 у новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией связаны с последующим развитием эписиндрома, что позволяет использовать эти цитокины как прогностические биомаркеры эпилепсии у детей, перенесших ГИЭ [117, 248].

Высвобождение интерлейкинов после гипоксически-ишемической травмы у новорожденного, включая IL1 β , TNF α , IL6, прайминг микроглии и реактивность астроцитов относятся к механизмам, посредством которых иммунопатологические реакции в раннем возрасте оказывают долгосрочное влияние на снижение порога судорожных припадков [106, 117, 154, 248, 298]. В исследованиях O'Hare F.M. (2017, 2021 гг) уровни TNF α у детей с неонатальной энцефалопатией были ниже, чем в группе здоровых младенцев через 72-96 часов после рождения [58, 249].

В работе Pang R. et al. уровень TNF α также не был повышен у детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией [128]. По данным O'Dea M.I. et al. показано увеличение TNF α в зависимости от показателей шкалы Sarnat [58].

IL10 является важным цитокином с противовоспалительными и иммунорегуляторными функциями [76], а его уровень заметно возрастает у детей с неонатальной энцефалопатией. Под влиянием гипоксически-ишемической травмы астроциты и микроглия существенно увеличивают продукцию IL10 [204]. Показано, что эти клетки реагируют на повреждение, высвобождая как провоспалительные цитокины (TNF α , IL1 β , IL12), так и противовоспалительные медиаторы (IL4, IL13, IL10), последние из которых приводит к разрешению воспалительной реакции и восстановлению гомеостаза [184, 204].

Несколько фундаментальных исследований на животных и клеточных культурах показали, что IL10 проявляет нейропротективные свойства при гипоксически-ишемической гибели нейронов. Установлено, что уровни

секретируемого IL10 в мозге крыс, подвергшихся гипоксии-ишемии, тесно связаны с активацией TLR2 [159, 181].

В работе He M.L. et al. продемонстрировано, что скорость апоптоза нейронов отрицательно коррелирует с концентрацией IL10 у крыс с гипоксическим поражением мозга, что позволяет предполагать потенциальную нейропротективную роль при церебральной ишемии [159]. Предполагается, что IL10 может предотвратить повреждение, обусловленное IL1 β , TNF α и IL6 [182, 285]. Отмечена его способность снижать накопление макрофагов в поврежденном мозге [285].

Однако противовоспалительное и нейропротективное действие IL10 на экспериментальной модели гипоксии-ишемии было отмечено только в случае введения IL10 сразу после инсульта, тогда как лечение до или во время травмы оказалось неэффективным [285]. Кроме того, использование антител, блокирующих IL10 не продемонстрировало положительного эффекта [182].

В клинических исследованиях установлено, что уровни экспрессии IL10 и IL18 были значительно выше у детей с тяжелой формой гипоксически-ишемической энцефалопатии [122]. Предполагается, что показатели IL10 можно использовать в качестве индикаторов ранней клинической оценки тяжести ГИЭ [54, 128].

По данным O'Dea M.I. et al. снижение уровня IL10 коррелировало с увеличением тяжести неонатальной энцефалопатии [58]. Ранее было показано увеличение IL10 в первые 24-48 часов после рождения у младенцев с гипоксически-ишемической энцефалопатией, имевших аномальную картину нейровизуализации [249]. Значительное повышение IL10 было связано с высокой летальностью [249].

Pang R. et al. обнаружили увеличение IL10 у детей с неонатальной гипоксически-ишемической энцефалопатией по сравнению с группой здоровых младенцев, а также повышение IL10, предсказывающее летальный исход и неблагоприятные неврологические последствия в раннем детстве [128]. Авторами установлена высокая чувствительность – 88,8% и

отрицательная прогностическая ценность – 82,4% при пороговых значениях 0,225 пг/мл [128], что позволило уменьшить количество ложноотрицательных результатов и оптимизировать показания к назначению нейропротекторной терапии [232].

В предшествующих исследованиях было показано увеличение IL10 при гипоксически-ишемической энцефалопатии умеренной и тяжелой степени по сравнению с группой здоровых новорожденных и пациентами с легкой формой заболевания [122]. Установлена связь IL10 с неонатальной смертностью [71, 249] и неблагоприятными неврологическими исходами [251].

В исследовании Okazaki K. et al. сывороточные показатели IL6 и IL8 и IL10 превышали таковые у детей с неблагоприятным неврологическим исходом по сравнению с благоприятным [129]. Было установлено, что использование агонистов IL10 уменьшает повреждение белого вещества у новорожденных крыс с асфиксией, что свидетельствует о его нейропротективном эффекте.

Таким образом, ключевые воспалительные цитокины участвуют в биохимических путях, ведущих к ишемически-гипоксическому повреждению ЦНС, а их определение может быть целесообразным не только для ранней диагностики ГИЭ, но и для прогнозирования неблагоприятных неврологических последствий гипоксической травмы.

1.4. Иммуногенетические ассоциации при гипоксически-ишемическом поражении центральной нервной системы

Участие цитокинов в патогенезе гипоксического поражения мозга подтверждается экспериментальными и клиническими данными.

В неблагоприятных условиях астроглия и микроглия под действием провоспалительных цитокинов синтезирует оксид азота и аминокислоты, обладающие нейротоксическим эффектом [90, 191, 202, 218, 233, 284, 299].

Генетическая регуляция воспаления является важным фактором риска, который может способствовать развитию гипоксически-ишемического поражения ЦНС и детского церебрального паралича [273]. Полиморфизмы генов интерлейкинов могут изменять активность белка или экспрессию генов, влияя на фактор транскрипции или связывание микроРНК [138]. Увеличение интенсивности процессов воспаления и разрушения тканей под действием генетических факторов приводит к различным паттернам поражения головного мозга при гипоксической перинатальной травме [80, 268]. Большинство исследований генного полиморфизма сосредоточено на долгосрочных последствиях ГИЭ, особенно на предрасположенности к детскому церебральному параличу [62, 69, 137, 268, 297].

Концентрации $IL1\beta$ и $TNF\alpha$ были предложены в качестве биомаркеров долгосрочного исхода после ГИЭ [114, 261]. $TNF\alpha$ участвует в патогенезе ГИЭ посредством нескольких механизмов: путем активации процессов коагуляции и фактора активации тромбоцитов, прямой цитотоксичности в отношении олигодендроцитов, а также способности вызывать гипотензию плода с развитием ишемии ткани мозга [243].

Синтез $TNF\alpha$ регулируется высокополиморфным геном, локализованным на коротком плече 6-ой хромосомы. Генетически детерминированные полиморфизмы в области промотора гена $TNF\alpha$ могут сопровождаться его гиперпродукцией с усилением иммунного ответа и увеличения площади повреждения ткани мозга.

Мутация в области промотора гена $TNF\alpha$ в локусе -1031 с заменой нуклеотида $T \rightarrow C$ сопровождается существенным увеличением синтеза $TNF\alpha$ [155, 269, 273].

Adcock K. et al. выполнено исследование генного полиморфизма rs1800629 у 178 младенцев. У 30% детей установлено носительство аллеля A , при этом 5% оказались гомозиготами (AA), а 25% – гетерозиготами (AG). Гомозиготный вариант GG обнаружен у 70% новорожденных [289].

Установлено, что новорожденные, обладающие аллелем *A*, демонстрировали повышенный риск ВЖК I-IV степени [289].

Heer A. et al. провели ретроспективное исследование 27 детей, рожденных до 32 недель беременности, перенесших тяжелое ВЖК и 102 здоровых доношенных детей [74]. Различий в экспрессии *TNF α* при полиморфизме rs1800629 *G308A* получено не было [74]. При этом аллель *A* отвечал за сильную, а аллель *G* – за слабую экспрессию генов *in vitro* [243].

В исследовании Nelson K. B. et al. не выявлено статистически значимой связи по распределению аллелей и генотипов *TNF α* rs1800629 *G308A* у латиноамериканских детей с детским церебральным параличом по сравнению со здоровыми детьми [168]. По данным Южно-Австралийской группы по изучению детского церебрального паралича у детей, рожденных в срок, риск развития квадриплегии был связан с обладанием гетерозиготным генотипом *TNF α* *G308A* [269].

В работе Hou R. et al. показано, что полиморфизмы *TNF α* rs1799724 и *TNF α* rs361525 могут быть вовлечены в процесс развития детского церебрального паралича у китайских младенцев [291]. Содержание *TNF α* в сыворотке крови было значительно выше у пациентов с генотипом rs361525 *GG* по сравнению с контрольной группой. Наблюдалось существенное увеличение риска ДЦП в зависимости от полиморфных маркеров *TNF α* rs1799724 [291].

Статистически значимая ассоциация обнаружена между генотипом *TNF α* *1031T/C* (OR=2,45; 95% CI: 1,10-5,63, p=0,043), а также генотипами *TC+CC* (OR=2,47; 95% CI: 1,11-5,55, p=0,044) и риском развития перивентрикулярной лейкомаляции [272].

Ген, определяющий продукцию *IL1 β* , располагается на коротком плече 2-ой хромосомы и регулирует его продукцию на уровне транскрипции. Оказалось, что генный полиморфизм в промоторном регионе *IL1 β* *C(-511)T* существенно влияет на синтез *IL1 β* с увеличением риска развития

перивентрикулярной лейкомаляции и гипоксической неонатальной энцефалопатии [155, 269, 273].

$IL1\beta$ – классический провоспалительный цитокин ранней фазы, синтезируемый различными клетками головного мозга [69, 147]. Также, как $TNF\alpha$, стимулируют выработку других цитокинов, молекул эндотелиальной адгезии и оксида азота в коре головного мозга [69]. Фундаментальными исследованиями последних лет подтверждена его роль в нейровоспалении и нейродегенерации [69, 147]. Имеются убедительные доказательства того, что $IL1\beta$ участвует в патофизиологии перинатального повреждения головного мозга [147].

В предыдущих исследованиях установлено, что генный полиморфизм $IL1\beta$ rs16944 с.-598T >C был связан с повышенным риском формирования ДЦП [69], перивентрикулярной лейкомаляции [272], а также ассоциирован с другими заболеваниями ЦНС, такими как склероз гиппокампа [157], дефицит серого вещества при биполярном расстройстве.

Показано, что генный полиморфизм $IL1\beta$ rs1143623 влияет на связывание факторов транскрипции и способствует увеличению уровня $IL1\beta$ в сыворотке крови [270]. Обнаружено, что $IL1\beta$ rs1143623 увеличивает риск болезни Альцгеймера [148] определяет ответ на биологическую терапию при псориазе.

Механизм влияния генного полиморфизма $IL1\beta$ rs1071676 точно не установлен, существует мнение о его влиянии на связывание микро-РНК [279], а также ответ на биологическую терапию антителами к $TNF\alpha$ [162]. Повреждение серого вещества после гипоксически-ишемического поражения ЦНС приводит к двигательным нарушениям в последующем. Аномальная активность сигнала задней ножки внутренней капсулы ассоциируется с невозможностью самостоятельно ходить к 2-м годам, а повреждение базальных ганглиев является предиктором церебрального паралича [223].

Пока неизвестно, как и в какой степени полиморфизмы влияют на разные области мозга, поэтому невозможно объяснить, почему некоторые

полиморфизмы *IL1 β* оказывают регионально-специфическое действие. *IL1 β* высвобождается в результате активации инфламмосомы. В исследовании Esih K. et al. полиморфизм промотора *IL1 β* rs1143623 с.-1560 G>C был связан с умеренными и выраженными изменениями на МРТ [92], а новорожденные, по крайней мере с одним полиморфным аллелем оказались более склонными к повреждениям базальных ганглиев и задней ножки внутренней капсулы (posterior limb of internal capsule) [92].

Кроме того, полиморфизм промотора *IL1 β* rs16944 с.-598T>C коррелировал с большим количеством аномалий задней ножки внутренней капсулы, в то время как полиморфизм гена *IL1 β* rs1071676 с.505G>C, расположенный в 3' – нетранслируемой области, ассоциировался с минимальным количеством аномалий белого вещества [92].

Ранее было показано, что аллель *T IL1 β* rs16944 (*T/C*) взаимосвязан с повышенным риском ВЖК по сравнению с аллелем *C* (OR = 3,0; CI: 1,4–6,4, $p=0,003$). В исследовании Ruckman K.K. et al. установлено, что генный полиморфизм *IL1 β* *T-31C* rs1143627 увеличивает вероятность ВЖК у недоношенных младенцев с гипоксическим поражением ЦНС ($p=0,007$) [237]. Статистически значимые различия регистрировались как для ВЖК I-II степени, так и для III-IV степени [237].

Младенцы с генотипом *CT* (OR=3,0; 95% CI:1,1-7,9, $p=0,03$) или аллелем *C* (OR=1,7; 95% CI: 0,99-3,0, $p=0,05$) *IL1 β* rs1143627 подвергались повышенному риску ВЖК I-II степени, в то время как новорожденные с генотипом *CC* (OR=3,6; 95% CI: 1,1-11,1, $p=0,03$) или аллелем *C* (OR=2,0; 95% CI:1,1-3,8, $p=0,02$) – ВЖК III-IV степени [237]. При этом известно, что аллель *C* связан с увеличением синтеза *IL1 β* в естественных условиях.

IL6 является маркером острой фазы воспаления, достигающим высоких концентраций в течение нескольких часов после повреждения тканей [71]. Было показано, что полиморфизм промоторной области rs1800795 (*G-174C*) в гене *IL6* ассоциирован с формированием ДЦП в детских популяциях Австралии [139] и Калифорнии [161]. Оказалось, что аллель *C* rs1800795 (*G-*

174С) существенно увеличивает риск гемиплегического и квадриплегического ДЦП у младенцев [139], а генотип *CC* ассоциируется с более высокими уровнями *IL6* по сравнению с генотипом *GG* [105].

В работе Vi D. et al. изучены показатели *IL6* и полиморфизмы гена *IL6*, в том числе rs1800796, rs10242595, rs2069837, rs2069840, rs2066992 у 87 детей с детским церебральным параличом в возрасте от 5 до 36 мес. [274]. Установлено увеличение уровня *IL6* у доношенных детей со спастическими формами ДЦП по сравнению с группой здоровых детей. Выявлено, что обладание вариантом rs1800796 *CC* сопровождается существенным увеличением *IL6* в сравнении с генотипом rs1800796 *GG* [274]. Существует мнение, что аллель *G* rs1800796 может влиять на транскрипционную активность промотора гена rs1800796 *IL6*. Выявлены высокие концентрации *IL6* в плазме крови пациентов с ДЦП, носителей rs1800796 *CC*, rs2069837 *AA*, и rs2066992 *TT* [274].

Считается, что унаследованные генетические детерминанты способны увеличивать или уменьшать интенсивность воспалительной реакции в ответ на гипоксическую травму мозга или влиять на генотипически-фенотипические взаимодействия, опосредованные внешней средой.

Очевидно, что роль *IL10* при заболеваниях центральной нервной системы может быть, как нейропротективной, так и нейродеструктивной. *IL10* является антагонистом *IL1β*, блокируя секрецию интерлейкинов клетками нейроглии [165].

Продукция *IL10* контролируется полиморфизмами в промоторной области гена *IL10*, расположенного на коротком плече хромосомы 1. Мутация в локусе -1082 (*G* → *A*), существенно увеличивает синтез *IL10* и может способствовать развитию неблагоприятных резидуальных последствий гипоксической энцефалопатии [59, 146].

В исследовании Xia L. et al. изучены полиморфизмы *IL10* (rs1554286, rs1518111, rs3024490, rs1800896, rs1800871) у 95 детей с детским церебральным параличом и 93 здоровых пациентов [102]. Установлено, что

все 5 олигонуклеотидных SNP были связаны с тетраплегией у пациентов с ДЦП, а присутствие генотипов *TT* rs3024490 и *TT* rs1800871, по-видимому, определяло более высокие уровни IL10 в сыворотке крови. Полученные результаты позволяют предполагать, что генотип *TT* rs3024490, связанный с высокой экспрессией IL10, увеличивает чувствительность пациентов к факторам риска ДЦП [102].

В работе Gabriel M.L. et al. продемонстрировано снижение риска развития перивентрикулярной лейкомаляции у обладателей гомозиготного генотипа *GG IL10 1082G/A* (OR=0,07; 95% CI: 0,02-0,34 $p<0,0001$), а также аллеля высокой экспрессии *IL10 – 1082G* (OR=0,51; 95% CI: 0,29-0,91, $p=0,03$) [272].

Таким образом, в процессах нейровоспаления при гипоксически-ишемической травме мозга у новорожденного принимают участие не только ключевые интерлейкины, но и генетические изменения сигнальных путей [116, 280]. Белковая экспрессии цитокинов регулируется генетическими вариантами генов, определяющих их синтез, а наследственные однонуклеотидные полиморфизмы генов цитокинов (SNP) влияют на их продукцию, увеличивая риск устойчивого воспаления в ЦНС и формирования инвалидизирующих неврологических последствий [116, 280].

Дальнейшее изучение сигнальных путей и их влияния на уровень воспалительных цитокинов поможет не только в поиске надежных биомаркеров ГИЭ, но и разработке терапевтических стратегий у новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика клинических групп (субъекты исследования)

В исследовании представлены данные клинического и лабораторного обследования детей русской национальности с диагнозом Р 91.6 Гипоксическая ишемическая энцефалопатия новорожденного, рожденных в ГБУЗ СК «Ставропольский краевой клинический перинатальный центр №1», а также находившихся на госпитализации в ГБУЗ СК «Краевая детская клиническая больница» (Ставрополь). Для осуществления поставленной цели проведено проспективное продольное когортное нерандомизированное исследование.

Диагноз устанавливали в соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями при регистрации у новорожденного, как минимум, 3-х признаков, свидетельствующих о гипоксии плода – нарушение сердечного ритма при кардиотокографии, мутные околоплодные воды, потребность в ИВЛ в родильном зале более 5 минут, оценка по шкале Апгар – 0-3 балла на 1-й минуте, метаболические расстройства ($pH < 7,1$ и/или $BE < -16$), признаки энцефалопатии (судороги, нарушения сознания, рефлексов, мышечного тонуса), признаки полиорганной дисфункции [28, 48].

Критерии включения в опытную группу:

- признаки гипоксически-ишемической энцефалопатии 2-й и 3-й степени по шкале Sarnat;
- сроки гестации более 37 недель;
- вес более 2000 г;
- информированное согласие родителей пациента или опекунов на участие в исследовании.

Критерии исключения из исследования:

- сроки гестации менее 37 недель;
- врожденные пороки развития;
- ранний неонатальный сепсис;
- некротизирующий энтероколит;
- врожденные инфекции;
- внутричерепные кровоизлияния;
- отсутствие информированного согласия родителей или опекунов на проведение исследования.

Критерии включения в контрольную группу:

- сроки гестации более 37 недель;
- оценка по шкале Апгар 9-10 баллов;
- отсутствие перинатальной патологии;
- информированное согласие родителей пациента на участие в исследовании.

В период проведения исследования (2017-2021 гг) 96 детей соответствовало критериям включения. У 70 (72,9%) детей верифицирована ГИЭ 2 ст., у 26 (27,1%) – ГИЭ 3 ст. При постановке диагноза применяли клиническую классификацию по шкале Sarnat.

При оценке уровня сознания младенца использовали педиатрическую шкалу Глазго (GCS) [16].

В контрольную группу вошли 30 детей сопоставимых по возрасту и полу. С целью определения возрастных, социальных, акушерских и гинекологических факторов риска развития ГИЭ проводился анализ медицинской документации Ставропольского краевого клинического перинатального центра №1.

При визуальном осмотре новорожденного оценивали уровень сознания, признаки нарушения микроциркуляции, сердечной деятельности, ЦНС (рефлексы, мышечный тонус, тремор, судороги, реакция зрачков). Все дети после рождения находились в отделении реанимации и интенсивной терапии ГБУЗ СК «СККП №1», а также отделениях патологии новорожденных и недоношенных детей ГБУЗ СК «СККП №1» и ГБУЗ СК «КДКБ» под наблюдением реаниматолога, педиатра, детского невролога, где выполнялся мониторинг витальных функций (SpO_2 , АД, ЧД, ЧСС, диурез), клинических синдромов, данных инструментального и лабораторного обследований.

В комплекс лабораторных методов были включены исследование кислотно-основного состояния и газов крови в первые 60 минут после рождения (рН крови, pO_2 , pCO_2 , дефицит ВЕ, ионизированный кальций, лактат), общий анализ крови, определение глюкозы, электролитов (Na, K, Ca), ферментов (АСТ, АЛТ, ЩФ, КФК), белков острой фазы воспаления и повреждения клеток (СРБ, ЛДГ, прокальцитонин, ферритин, фибриноген), коагулограммы.

В динамике наблюдения назначались ультразвуковые исследования: транскраниально-чрезродничковая нейросонография, эхокардиография, УЗИ брюшной полости, почек и надпочечников [296]. УЗИ мозга проводилось в возрасте 14-21 день, учитывались перивентрикулярная лейкомаляция, очаги гиперэхогенности, интравентрикулярные и перивентрикулярные кровоизлияния [6, 258, 296]. При подозрении на субдуральные кровоизлияния на 10-21 день жизни выполнялись компьютерная томография или МРТ головного мозга [198].

Катамнестическое наблюдение детей осуществлялось неврологом детских поликлиник и при госпитализации в психоневрологическое отделение ГБУЗ СК «КДКБ» с кратностью 1 раз в 2-3 месяца. Медикаментозное лечение назначалось в соответствии с клиническими рекомендациями по ведению детей с последствиями перинатального поражения ЦНС.

Анализ психоневрологических исходов гипоксически-ишемического поражения ЦНС проводили в условиях психоневрологического отделения ГБУЗ СК «КДКБ» в возрасте 1 год 6 мес. В соответствии с существующими рекомендациями оценку психомоторного развития ребенка с ГИЭ выполняли с учетом коэффициентов интеллектуального – Developmental quotient (DQ) и моторного – Motor quotient (MQ) развития ребенка [48].

При расчете DQ и MQ использовали формулы: $DQ = \text{возраст психического и речевого развития} / \text{хронологический возраст ребенка} * 100$. Возраст психического и речевого развития определяли с помощью специализированных таблиц [26, 27, 48].

Уровень DQ выше 75% свидетельствовал о нормальном развитии ребенка, показатели $55\% < DQ < 75\%$ – задержке психического и речевого развития, а $DQ < 55\%$ – глубокой задержке речевого и психического развития.

$MQ = \text{возраст моторного развития} / \text{хронологический возраст ребенка} * 100$. Возраст моторного развития устанавливали, применяя стандартизированную шкалу. В случае $MQ > 70\%$ моторное развитие ребенка считали удовлетворительным, при $50\% < MQ < 70\%$ регистрировали задержку моторного развития, при $MQ < 50\%$ – грубую задержку моторного развития [26, 27, 48].

Иммунологические исследования проводились в лаборатории для диагностики особо опасных инфекций Ставропольского противочумного института.

Содержание интерлейкинов IL1 β , TNF α , IL10 в сыворотке крови определяли в течении 4-72 часа после рождения с помощью мультиплексного иммуноферментного анализа и коммерческих тест-систем «Вектор-Бест» в соответствии с инструкцией производителя в двух повторениях с вычислением среднего значения. Супернатанты сыворотки крови до выполнения исследования хранили в эппендорфах при температуре -70° С.

Иммуногенетические исследования выполнены у 96 детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией русской национальности с

дальней степенью родства, в том числе с ГИЭ 2-й степени (70 детей) и ГИЭ 3-й степени (26 детей). В контрольную группу включены 30 здоровых новорожденных русской национальности.

В пробирки с 0,5% ЭДТА забирали 1 мл периферической крови. Геномную ДНК экстрагировали из лейкоцитов крови с помощью реактивов ДНК-экспресс-кровь» (НПФ «Литех», Россия) и наборов «Quant-iT dsDNA assay kit».

Анализировали 3 SNP в промоторной области генов *TNF α* в положении 308G>A (rs1800629), *IL1 β* , (-31) T>C (rs1143627), *IL10* 592 C>A (rs1800872). Полиморфизм генов цитокинов определяли методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (Restriction Fragment Length Polymorphism) с помощью амплификатора «Терцик» (производитель ООО «ДНК-Технология», Россия) и тест-систем «SNP-экспресс» (НПФ «Литех», Россия).

С образцами полученной ДНК проводили две реакции амплификации с двумя парами аллель-специфичных праймеров. В постановке использовали стандартные наборы праймеров («SNP-экспресс-РВ, ООО НПФ «Литех», Россия). Разделение продуктов амплификации проводили в 3% агарозном геле методом горизонтального электрофореза с последующей электрофоретической детекцией на термоциклере C1000 CFX 96 REAL-TIME System («BioRad Laboratories», США). Результаты исследования образцов свидетельствовали о наличии или отсутствии аллеля.

Методы статистического анализа

Статистический анализ полученных результатов осуществляли с использованием статистических программ «Attestat 10.5.1.», «Statistica SPSS», «Primer of Biostat 4,0. Оценку распределения генотипов в соответствии с законом Харди-Вайнберга выполняли с помощью онлайн-калькулятора <http://www.cog-genomics.org/software/stats>.

Тестирование на нормальность распределения показателей осуществляли с помощью критериев Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении количественных данных их представляли в виде среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm SD$), при отличном от нормального, распределении – медианы (Me) и интерквартильного размаха ($Me (Q1-Q3)$). Для оценки различий в 2-х группах применяли критерий Манна-Уитни, для множественных сравнений – Краскела-Уоллиса, Данна, Даннета. Достоверность различий процентных долей определяли с помощью четырехпольных полей сопряженности и критерия χ^2 Пирсона. Пороговым уровнем статистической значимости различий считали значения $p < 0,05$. При корреляционном анализе признаков использовали коэффициент корреляции Пирсона. При определении диагностической значимости признаков рассчитывали их чувствительность, специфичность, положительную и отрицательную предсказательную ценность.

Построение прогностической модели риска формирования неблагоприятных неврологических исходов ГИЭ выполняли посредством метода логистической регрессии. Для оценки диагностической значимости построенной математической модели применяли анализ ROC-кривых.

ГЛАВА 3. МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ПРИ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ (СОБСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ)

3.1. Клинические и лабораторные факторы риска гипоксически-ишемической энцефалопатии

В исследование включены 96 новорожденных русской национальности с признаками гипоксически-ишемической энцефалопатии по шкале Сарнат 2 ст. – 70 (72,9%) и 3 ст. – 26 (27,1%). В контрольную группу вошли 30 детей сопоставимых по возрасту и полу.

Для определения возрастных, социальных, акушерских и гинекологических факторов риска развития ГИЭ проводился анализ медицинской документации Ставропольского краевого клинического перинатального центра №1, инфекционного отделения новорожденных и недоношенных детей, отделения психоневрологии детской краевой клинической больницы г. Ставрополя.

Таблица 1 – Возрастные факторы риска гипоксически-ишемической энцефалопатии

Возраст матери	ГИЭ (2-3 ст.) n=96	Контрольная группа n=30	χ^2
менее 25 лет, % (n)	63,5% (61)	36,7% (11)	p=0,01
25 лет - 29 лет 11 мес., % (n)	16,7% (16)	20% (6)	p=0,67
30 лет -34 года 11 мес., % (n)	6,3% (6)	16,7% (5)	p=0,078
35 и более лет, % (n)	13,5% (13)	26,6% (8)	p=0,093

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, p – статистическая значимость различий между группами (критерий χ^2 Пирсона).

В 63,5% случаев дети с гипоксически-ишемической энцефалопатией рождались от женщин в возрасте до 25 лет ($p=0,01$) (табл. 1), в 64,6% – от первых родов (табл. 2).

Планировали беременность 66,7% женщин в группе ГИЭ, что было сопоставимо с показателями в контрольной группе – 70%.

Таблица 2 – Влияние паритета родов на развитие гипоксически-ишемической энцефалопатии

Паритет родов	ГИЭ (2-3 ст.) n=96	Контрольная группа n=30	χ^2
Первые роды, % (n)	64,6% (62)	33,3% (10)	$p=0,003$
Повторные роды, % (n)	35,4% (34)	66,7% (20)	$p=0,003$

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, p – статистическая значимость различий между группами (критерий χ^2 Пирсона).

При оценке социальных факторов риска развития ГИЭ статистически значимых различий по сравнению с контрольной группой установлено не было (табл. 3).

Таблица 3 – Социальные факторы риска гипоксически-ишемической энцефалопатии

Факторы риска	ГИЭ (2-3 ст.) n=45	Контрольная группа n=30	χ^2
Незапланированная беременность, % (n)	33,3% (32)	30% (9)	$p=0,734$
Неудовлетворительный микроклимат в семье, % (n)	13,5% (13)	13,3% (4)	$p=0,977$
Курение во время беременности, % (n)	3,1% (3)	3,3% (1)	$p=0,955$
Употребление алкоголя во время беременности, % (n)	1,04% (1)	–	$p=0,575$

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, p – статистическая значимость различий между группами (критерий χ^2 Пирсона).

В структуре соматической патологии матерей опухолевые и аутоиммунные заболевания наблюдались редко (табл. 4). Достаточно распространенными были ожирение и гестационный сахарный диабет, однако статистически значимых различий по сравнению с контрольной группой получено не было.

Таблица 4 – Сопутствующая экстрагенитальная патология матерей

Факторы риска	ГИЭ (2-3 ст.) n=96	Контрольная группа n=30	χ^2
Сахарный диабет 1-2 типа, % (n)	6,3% (6)	–	p=0,161
Гестационный сахарный диабет, % (n)	16,7 (16)	3,3 % (1)	p=0,063
Аутоиммунные заболевания, % (n)	4,2% (4)	3,3% (1)	p=0,839
Опухоли, % (n)	2,1% (2)	–	p=0,426
Ожирение, % (n)	20,8% (20)	13,3% (4)	P=0,362

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, p – статистическая значимость различий между группами (критерий χ^2 Пирсона).

40,6% женщин во время беременности переносили инфекционные заболевания, что было существенно чаще, у здоровых детей (табл. 5).

Таблица 5 – Гестационные факторы риска гипоксически-ишемической энцефалопатии

Факторы риска	ГИЭ (2-3 ст.) n=96	Контрольная группа, n=30	χ^2
Инфекции во время беременности, % (n)	40,6% (39)	20% (6)	p=0,04
Хориоамнионит в родах, % (n)	8,3% (8)	-	p=0,103
Железодефицитная анемия, % (n)	35,4% (34)	23,3% (7)	p=0,218
Материнская тромбофилия, % (n)	16,7% (16)	10% (3)	p=0,374
Преэклампсия/эклампсия, % (n)	10,4% (10)	-	p=0,066
Угроза прерывания беременности, % (n)	57,3% (55)	16,7% (5)	p=0,001
Плацентарная недостаточность (хроническая), % (n)	20,8% (20)	3,3% (1)	p=0,04
Артериальная гипертензия, % (n)	14,6% (14)	10% (3)	p=0,522

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, p – статистическая значимость различий между группами (критерий χ^2 Пирсона).

Клинические и лабораторные признаки железодефицитной анемии отмечались в 35,4%, тромбофилии – в 16,7%. В 10,4% случаях развились преэклампсия, 14,6% – артериальная гипертензия, 8,3% – хориоамнионит, однако статистически значимых различий по сравнению с контрольной группой получено не было.

У матерей детей с ГИЭ существенно чаще, чем в группе женщин, родивших здоровых детей, диагностировались плацентарная недостаточность – 21,9% ($p=0,02$) и угроза прерывания беременности – 57,3% ($p=0,001$).

77,7% детей с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС 2 и 3 ст., рождались самостоятельно, через естественные родовые пути, что было сопоставимо с показателями в контрольной группе (80%) (табл. 6).

Таблица 6 – Акушерские и интранатальные факторы риска гипоксически-ишемической энцефалопатии

Факторы риска	ГИЭ (2-3 ст.) n=96	Контрольная группа n=30	χ^2
Естественные роды, % (n)	77,1% (74)	80% (24)	$p=0,738$
Плановое кесарево сечение, % (n)	3,1% (3)	10% (3)	$p=0,123$
Экстренное кесарево сечение, % (n)	15,6% (15)	-	$p=0,022$
Тазовое предлежание плода, % (n)	14,6% (14)	3,3% (1)	$p=0,097$
Вакуум-экстракция плода, % (n)	14,6% (14)	-	$p=0,027$
Слабость родовой деятельности, % (n)	36,4% (35)	6,7% (2)	$p=0,002$
Обвитие пуповиной, % (n)	17,7% (17)	6,7% (2)	$p=0,141$
Преждевременная отслойка нормально сформированной плаценты, % (n)	12,5% (12)	-	$p=0,042$
Мутные околоплодные воды, % (n)	17,7% (8)	3,3% (1)	$p=0,049$
Преждевременное излитие околоплодных вод, % (n)	8,9% (4)	-	$p=0,256$
Внутриутробная гипотрофия, % (n)	33,3% (32)	-	$p=0,001$

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, p – статистическая значимость различий между группами (критерий χ^2 Пирсона).

18 (18,8%) детей с ГИЭ рождены путем операции кесарева сечения, при этом плановая ОКС выполнялась только в 3-х (3,1%) случаях. В экстренной ОКС нуждались 15,6% матерей ($p=0,022$), вакуум-экстракция плода применялась у 16,7% женщин ($p=0,027$). В значительном количестве наблюдений регистрировалось осложненное течение родов: аномалия родовой деятельности (36,4%, $p=0,002$), преждевременная отслойка нормально сформированной плаценты (18,8%, $p=0,04$), мутные околоплодные воды с примесью мекония (17,7%, $p=0,049$). В 14,6% случаев отмечалось тазовое предлежание плода, 17,7% – обвитие пуповиной, 8,9% – преждевременное излитие околоплодных вод, однако статистически значимых различий по сравнению с группой здоровых новорожденных получено не было.

При анализе отношения шансов в качестве потенциальных факторов риска гипоксически-ишемической энцефалопатии установлены первые роды, инфекционные заболевания во время беременности, хроническая плацентарная недостаточность, слабость родовой деятельности, мутные околоплодные воды с примесью мекония (табл. 7).

Таблица 7 – Вероятность развития ГИЭ в зависимости от акушерских и интранатальных факторов риска

Показатель	Отношение шансов (95% ДИ)
Первые роды	3,65 (1,53-8,68)
Инфекции во время беременности	2,74 (1,02-7,31)
Плацентарная недостаточность	8,12 (1,05-63,16)
Слабая родовая деятельность	8,03 (1,80-35,77)

Примечание: OR – отношение шансов, CI – 95% доверительный интервал.

Клинические особенности и показатели крови новорожденных с неонатальной ГИЭ проанализированы в таблице 8.

При гендерном анализе детей с ГИЭ отмечено преобладание мальчиков (60,4%), однако отличия от контрольной группы (56,7%) были статистически не значимы. Медиана массы детей с ГИЭ при рождении составляла 3120 г., что было сопоставимо с массой здоровых детей – 3290 г. При этом

внутриутробная гипотрофия в группе больных детей, встречалась существенно чаще – 33,3%, $p < 0,001$. Число крупных плодов составило 11,5% и 10,0% соответственно. Новорожденные с ГИЭ имели низкие показатели по шкале Апгар на первой – 5 [4; 6], $p = 0,008$ и пятой – 6 [5; 6], $p = 0,0009$ минутах.

Таблица 8 – Клинические и лабораторные показатели у новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией

Показатели	ГИЭ (2-3 ст.) n=96	Контрольная группа n=30	χ^2
Клинико-антропометрические показатели			
Мальчики, % (n)	60,4% (58)	56,7% (17)	$p = 0,715$
Девочки, % (n)	39,6% (38)	43,3% (13)	$p = 0,715$
Масса при рождении, г	3120 [2400; 3535]	3290 [2980; 3700]	$p = 0,082$
Внутриутробная гипотрофия, % (n)	33,3% (32)	-	$p < 0,001$
Крупный плод, % (n)	11,5% (11)	3 (10%)	$p = 0,053$
ОША 1 минута, баллы	5 [4; 6]	9 [8; 9]	$p = 0,008$
ОША 5 минута, баллы	6 [5; 6]	9 [9; 9]	$p = 0,0009$
Угнетение, % (n)	92,7% (89)	-	$p < 0,001$
Сопор, кома, % (n)	19,8% (19)	-	$p = 0,009$
Судороги в первые 24 ч.	57,3 (55)	-	$p < 0,001$
Брадикардия, % (n)	33,3% (32)	-	$p < 0,001$
Бульбарные и псевдобульбарные нарушения, % (n)	3,1% (3)	-	$p = 0,328$
ИВЛ, % (n)	46,9% (45)	-	$p < 0,001$
Длительность ИВЛ > 10 дней, % (n)	12,5% (12)	-	$p < 0,042$
Биохимические и гематологические показатели			
Кислотность крови (pH), Ед	7,08 [6,99; 7,17]	7,39 [7,35; 7,42]	$p = 0,0004$
Парциальное давление pCO_2 крови, мм. рт. ст.	59,2 [49; 64,4]	39,0 [36,0; 42,0]	$p = 0,0001$
Дефицит оснований (BE) крови, ммоль/л	-11,6 [-14,0; -9,1]	-2,2 [-4,2; 1,4]	$p = 0,0003$
Лактат крови, ммоль/л	4,6 [3,8; 5,5]	1,44 [0,98; 2,05]	$p = 0,0001$
Глюкоза крови, ммоль/л	2,9 [2,40; 3,3]	3,16 [2,48; 3,75]	$p = 0,07$
СРБ, мг/л	5,0 [2,0; 13,0]	2,0 [1,0; 2,3]	$p = 0,04$
Лактатдегидрогеназа, Ед/л	770 [505; 965]	440 [320; 630]	$p = 0,008$
Количество нейтрофилов, $\cdot 10^9/л$	7,45 [3,65; 9,80]	3,95 [3,1; 5,0]	$p = 0,002$

Примечание: p – достоверность различий между группами (критерий χ^2 , Пирсона, Манна-Уитни).

При биохимическом исследовании крови в группе ГИЭ отмечались признаки декомпенсированного метаболического ацидоза: снижение медианы рН крови 7,08 [6,99; 7,17], $p=0,0004$, высокие показатели pCO_2 – 59,2 [49; 64,4] мм. рт. ст., $p=0,0001$, статистически значимый дефицит оснований – -11,6 [-14,0; -9,1] ммоль/л, $p=0,0003$, увеличение уровня лактата 4,6 [3,8; 5,5] ммоль/л, $p=0,0001$. Определялось увеличение показателей острофазовых белков: С-реактивного белка – 5,0 [2,0; 13,0] мг/л, $p = 0,04$, лактатдегидрогеназы – 770 [505; 965] Ед/л, $p<0,001$.

В гемограмме имело место увеличение абсолютного количества нейтрофильных гранулоцитов – 6,3 [3,2; 9,45] * 10^9 /л, $p<0,05$. Новорожденные с ГИЭ имели низкие показатели по шкале Апгар на первой – 5 [4; 6], $p=0,008$ и пятой – 6 [5; 6] баллов, $p= 0,0009$ минутах.

В клинической картине в первые 48 часов после рождения отмечались брадикардия – 33,3%, нарушение сознания в виде сопора (комы) – 19,8%, судорожный синдром – 57,3%, бульбарные нарушения – 3,1%, дыхательные расстройства – 52 (54,2%). В 35,4% случаев новорожденные нуждались в ИВЛ в связи с дыхательной недостаточностью и угнетением ЦНС, в 28 (29,2%) случаях использовалась вазопрессорная поддержка.

У 16 (16,7%) детей неонатальная энцефалопатия осложнилась присоединением интеркуррентных инфекций, у 9 (9,4%) – диагностировалась неонатальная пневмония, у 5 (5,2%) – неонатальный сепсис, у 2 (2,1%) – некротический энтероколит, что совпадало с данными других исследований [38].

Нейросонографическое исследование выполнялось на 14-21 день. Ультразвуковые изменения выявлены у 85,4% больных. В структуре нарушений отмечались отек мозга (71,8%), гиперэхогенность паренхимы (51,0%) мозга и перивентрикулярных областей (9,7%), расширение межполушарной борозды (30,2%), субэпендимальные кисты (15,6%). В 6,3% случаях формировалась перивентрикулярная лейкомаляция, 9% – поликистозная энцефаломалация, 2,1% – порэнцефалия (табл. 9).

Таблица 9 – Данные неросонографии у детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией

Признаки	ГИЭ n=96
Гиперэхогенность паренхимы головного мозга, % (n)	51,0% (49)
Гиперэхогенность перивентрикулярных областей, % (n)	9,7% (9)
Отек головного мозга, % (n)	71,8% (69)
Внутрижелудочковые кровоизлияния, % (n)	6,3% (6)
Расширение межполушарной борозды, % (n)	30,2% (29)
Субэпендимальные кисты, % (n)	15,6% (15)
Перивентрикулярная лейкомаляция, % (n)	6,3% (6)
Кистозная энцефаломалация, % (n)	4,2% (4)
Порэнцефалия, % (n)	2,1% (2)
Отсутствие патологии, % (n)	14,6% (14)

Из 96 детей, отобранных для исследования, катамнестическое наблюдение удалось выполнить у 67 детей. Пять детей с ГИЭ 3 ст. умерли в первые 2 месяца после рождения, 24 – потеряны для наблюдения. Причинами смерти были цереброваскулярная недостаточность и присоединившиеся инфекции неонатального периода с развитием сердечно-легочной и полиорганной недостаточности (табл. 10).

Таблица 10 – Неврологические исходы у детей с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС в возрасте 18 мес.

Исход	ГИЭ (n=67)
Благоприятный, % (n)	49,3% (33)
Неблагоприятный, % (n)	50,7% (34)
Задержка ПМР, % (n)	49,3% (33)
Микроцефалия, % (n)	2,9% (2)
Гидроцефалия, % (n)	11,9% (8)
Нейросенсорная тугоухость, % (n)	5,9% (4)
Нарушения зрения, % (n)	2,9% (2)
Судорожный синдром, % (n)	14,9% (10)
Детский церебральный паралич, % (n)	17,9% (12)
Смерть ребенка	5,2% (5)
Потерян для наблюдения	25% (24)

В структуре резидуальных неврологических последствий к 18 месяцам развились гидроцефалия (11,9%), микроцефалия (2,9%), эписиндром (14,9%), нейросенсорная тугоухость (5,9%), потеря зрения (2,9%). Детский церебральный паралич сформировался у 12 (17,9%) детей, в 4-х случаях – спастический тетрапарез, в 3-х – гемипарез, в 5 – атонически-астатическая форма ДЦП (табл. 10).

При мониторинге двигательного, речевого и психического развития ребенка определяли моторный коэффициент (MQ) и коэффициент развития (DQ).

У 50,7% детей определялись низкие показатели речевого и психомоторного развития, в том числе умеренная (26,9%) и выраженная (22,4%) ЗПМР, а также ЗПМР с элементами аутизма (4,5%) (рис. 1).

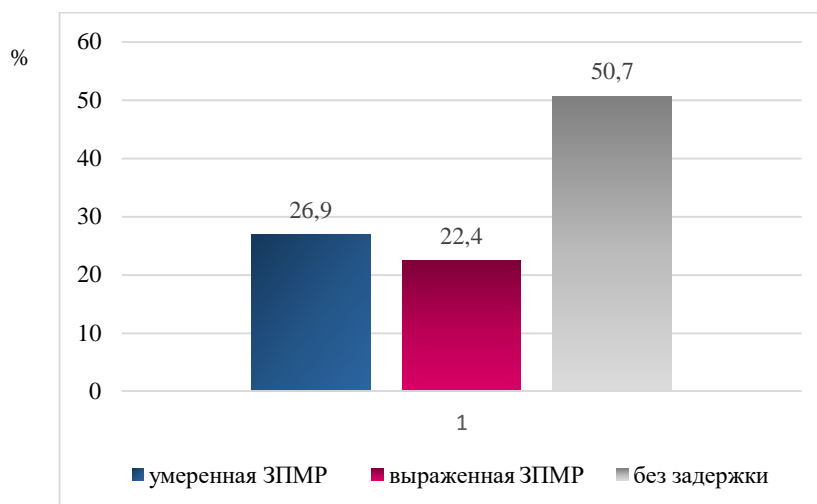


Рис. 1 – Задержка психомоторного развития у детей с ГИЭ в возрасте 18 мес.

Таким образом, к анте- и интранатальных факторам риска развития ГИЭ относятся первые роды (OR=3,65; 95% CI: 1,53-8,68), инфекции во время беременности (OR=2,74; 95% CI: 1,02-7,31), плацентарная недостаточность (OR=8,12; 95% CI: 1,05-63,16), слабая родовая деятельность (OR=8,03; 95% CI: 1,80-35,77).

В клинико-лабораторной картине ГИЭ среднетяжелой и тяжелой степени определяются низкие показатели по шкале Апгар, брадикардия (33,3%), угнетение (92,7%), нарушение сознания в виде сопора или комы (19,8%), судорожный синдром (57,3%), дыхательные расстройства (54,2%), снижение показателей кислотности крови 7,08 [6,99; 7,17] ЕД, дефицит оснований – -11,6 [-14,0; -9,1] ммоль/л, повышение парциального давления углекислого газа – 59,2 [49,0; 64,4] мм. рт. ст., лактата – 4,6 [3,8; 5,5] Ед/л, СРБ – 13,0 [8,0; 17,5] мг/л. В структуре резидуальных неврологических последствий к 18 месяцам формируются гидроцефалия (11,9%), микроцефалия (2,9%), эписиндром (14,9%), нейросенсорная тугоухость (5,9%), потеря зрения (2,9%), задержка психомоторного развития (50,7%).

3.2. Биомаркеры воспаления при гипоксически-ишемическом поражении центральной нервной системы

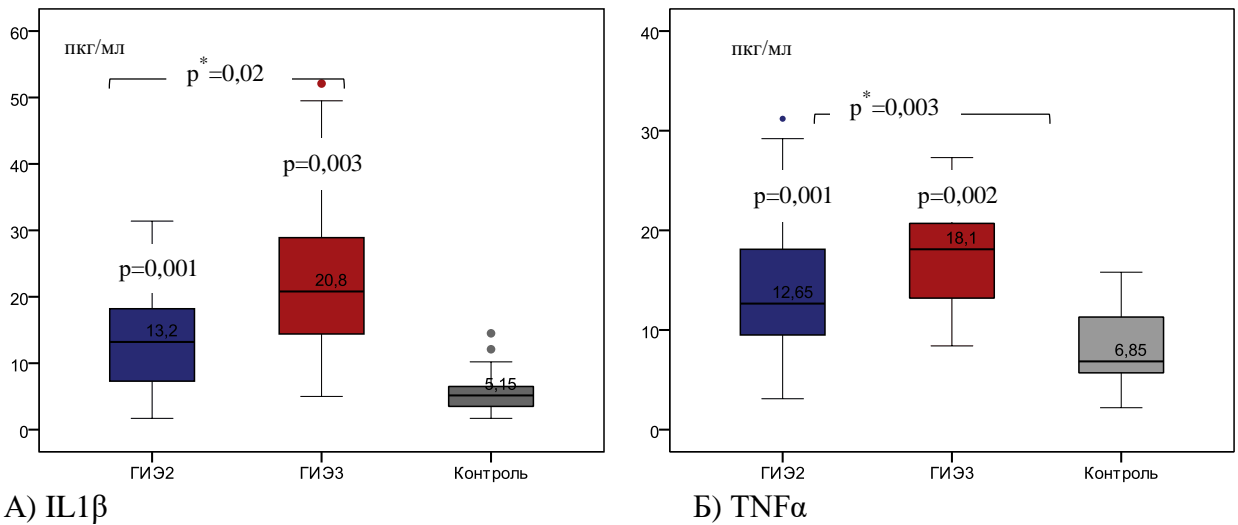
3.2.1. Экспрессия интерлейкина 1 β , фактора некроза опухолей α , интерлейкина 10 у новорожденных с гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы

У младенцев с гипоксически-ишемической энцефалопатией определялось статистически значимое увеличение уровня IL1 β в сыворотке крови по сравнению со здоровыми новорожденными. (рис. 2А). Показатели IL1 β у пациентов с ГИЭ 2 ст. составили 13,2 [7,30; 18,2] пкг/мл, ГИЭ 3 ст. – 20,8 [14,4-28,9] пкг/мл, в контрольной группе – 5,15 [3,50; 6,50] пкг/мл.

Наиболее высокие показатели IL1 β выявлены у новорожденных с тяжелой степенью гипоксически-ишемической энцефалопатии, $p=0,02$.

Уровень TFN α повышался у детей обеих групп (рис. 2Б), статистически значимые отличия от группы здоровых детей (6,85 [5,70-11,3] пкг/л) регистрировались, как у детей с ГИЭ 2 ст. (12,65 [11,3-13,7] пкг/мл), так и ГИЭ 3 ст. [18,10 (13,2-20,7) пкг/мл]. Показатели TFN α были выше у

новорожденных с тяжелой формой поражения ЦНС, установлены межгрупповые различия по сравнению с ГИЭ 2 ст. (рис. 2Б).



А) IL1β

Б) TNFα

Рис. 2 – Провоспалительные интерлейкины у новорожденных в зависимости от степени тяжести ГИЭ

Примечание: p – различия по сравнению с контрольной группой, p^* – различия между ГИЭ2 и ГИЭ3 (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана).

При определении IL10 в сыворотке крови выявлено некоторое повышение его показателей у больных обеих групп (рис. 3). Уровень IL10 в контрольной группе составил – 4,50 [3,40; 7,40] пг/мл, при гипоксически-ишемическом поражении ЦНС среднетяжелой степени показатели достигали 6,65 [4,10; 11,0] пг/мл, при гипоксически-ишемической энцефалопатии тяжелой степени – 6,20 [3,50; 10,4] пг/мл (рис. 3). Однако статистически значимых межгрупповых различий получено не было.

Данные о неврологических последствиях ГИЭ в возрасте 18 мес. были доступны для 67 детей. В группу пациентов с неблагоприятными неврологическими исходами были включены умершие дети, а также дети с церебральным параличом, эпилепсией, микро- и гидроцефалией, дефектами зрения и слуха, умеренной и выраженной задержкой психомоторного развития.

У детей, реализовавших неблагоприятные исходы, определялись максимальные уровни IL1β при рождении – 22,70 [16,8; 28,1] пг/мл по

сравнению с детьми с благоприятными исходами – 7,30 [5,2; 12,75] пг/мл ($p=0,04$) и здоровыми детьми – 5,15 [3,50; 6,50] пг/мл ($P=0,003$) (рис. 4А).

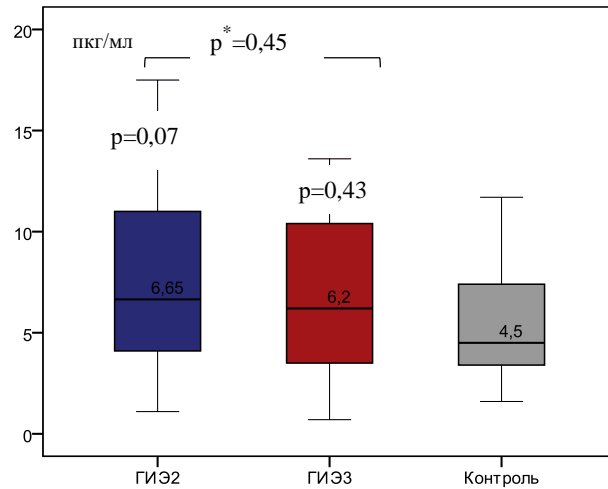
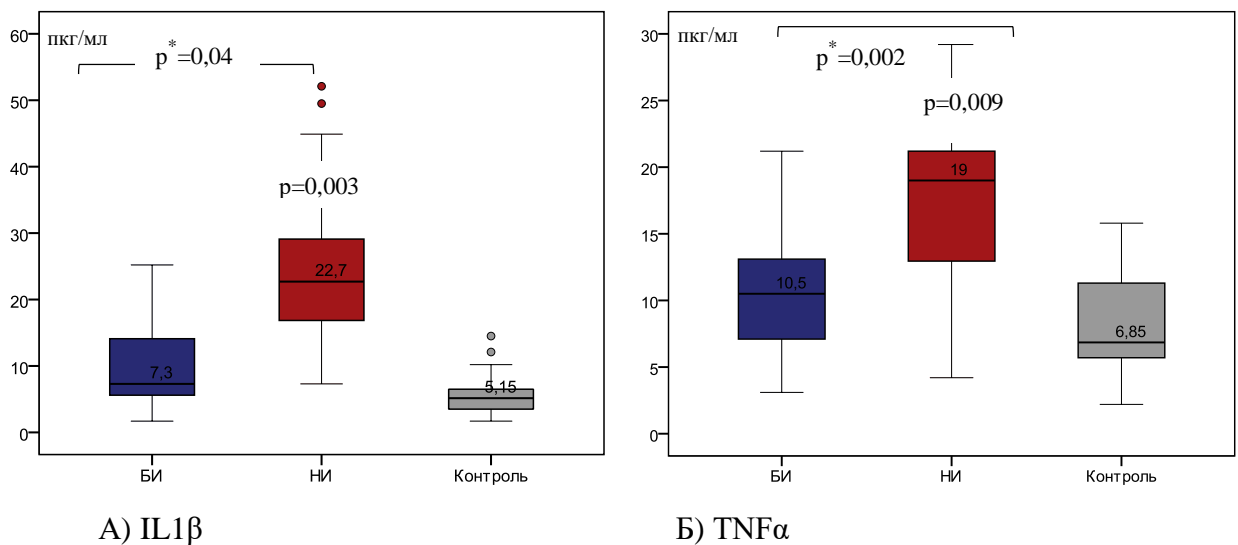


Рис. 3 – Уровень IL10 у новорожденных в зависимости от степени тяжести ГИЭ

Примечание: p – различия по сравнению с контрольной группой, p^* – различия между ГИЭ2 и ГИЭ3 (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана).



А) IL1 β

Б) TNF α

Рис. 4 – Провоспалительные интерлейкины у новорожденных и неблагоприятные неврологические исходы в 18 мес.

Примечание: БИ – благоприятный неврологический исход, НИ – неблагоприятный исход, p – различия по сравнению с контрольной группой, p^* – различия между БИ и НИ (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана).

Такие же закономерности получены для показателей сывороточного TNF α . Значения TNF α у детей с неблагоприятными исходами составили –

19,00 [12,70; 21,20] пг/мл, благоприятными – 10,50 [7,00; 12,65] пг/мл, ($p=0,002$), у здоровых детей – 6,85 [5,70; 11,30] пг/мл ($P=0,009$) (рис. 4Б).

Не получено достоверных различий IL10 в группах с БИ – 4,50 [3,05; 9,45] пг/мл и НИ – 7,60 [4,20; 10,60] пг/мл исходами, показатели были сопоставимы с группой здоровых детей – 4,50 [3,40; 7,40] пг/мл (рис. 5).

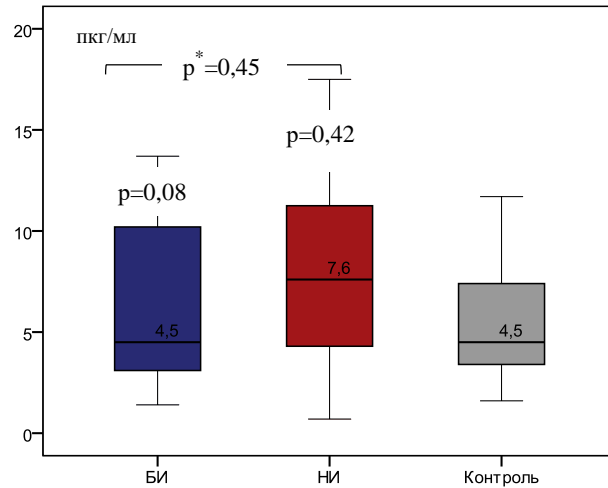
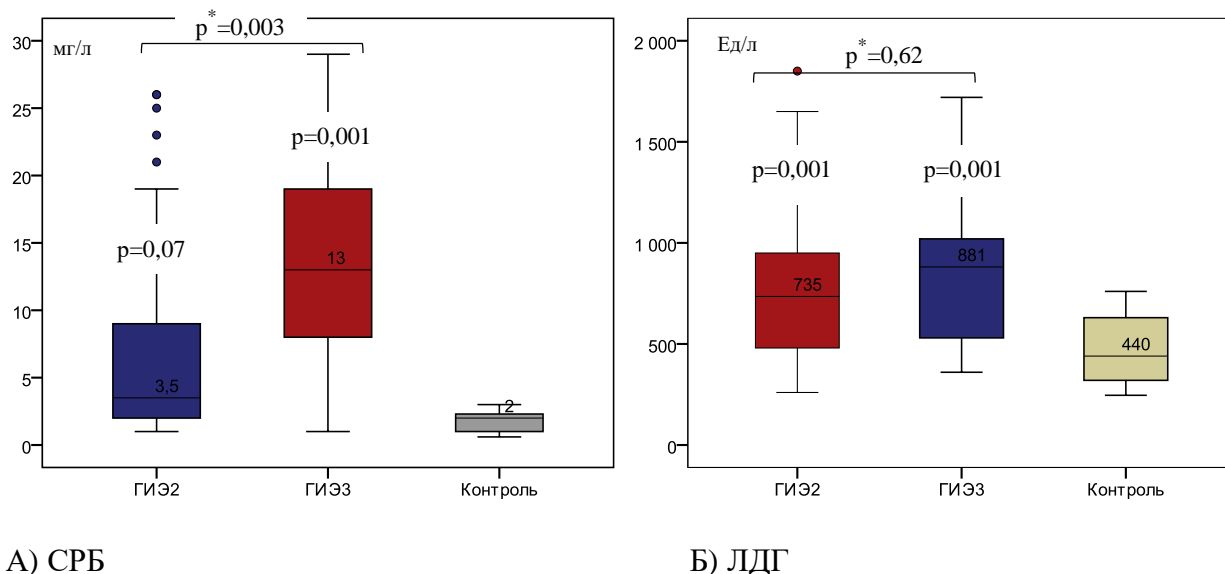


Рис. 5 – Уровень IL10 у новорожденных и неблагоприятные неврологические исходы в 18 мес.

Примечание: БИ – благоприятный неврологический исход, НИ – неблагоприятный исход, p – различия по сравнению с контрольной группой, p^* – различия между БИ и НИ (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана).

3.2.2. Биохимические и гематологические показатели острой фазы воспаления у новорожденных с гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы

У 27 (28%) младенцев с ГИЭ определялось увеличение уровня СРБ более 10 мг/л, в том числе у 13 (18,6%) – с ГИЭ 2 ст. и 14 (53,8%) – ГИЭ 3 ст. Средние значения в группе ГИЭ 2 составили 3,50 [2,0; 9,0] мг/л и не отличались от контрольной группы – 2,0 [1,0; 2,3] мг/л, $P=0,07$. Показатели СРБ в группе ГИЭ 3 были существенно выше – 13,0 [8,0; 19,0] мг/л и имели статистически значимые отличия от младенцев со среднетяжелой формой заболевания ($p=0,003$) и здоровых детей ($P=0,001$) (рис. 6А).



А) СРБ

Б) ЛДГ

Рис. 6 – Показатели С-реактивного белка и лактатдегидрогеназы у новорожденных в зависимости от степени тяжести ГИЭ

Примечание: p – различия по сравнению с контрольной группой, p^* – различия между ГИЭ2 и ГИЭ3 (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана).

Значения ЛДГ превышали верхнюю границу нормальных значений (500 Ед/л) у 77 (80,2%) детей. Высокие показатели регистрировались у 56 (80,0%) детей со среднетяжелой и у 21 (80,7%) детей – тяжелой формой гипоксического поражения ЦНС. Медиана ЛДГ в группе ГИЭ 2 составила 735 [480; 950] Ед/л, ГИЭ 3 – 881 [530; 1020] Ед/л. Получены статистически значимые различия по сравнению со здоровыми новорожденными – 440 [320; 630] Ед/л, но не в зависимости от степени тяжести ($p = 0,62$) (рис. 6Б).

Отмечено, что у младенцев с церебральной ишемией в первые дни после рождения увеличивается абсолютное содержание нейтрофильных гранулоцитов (рис. 7А). Статистически значимые отличия от группы здоровых младенцев ($3,95 [3,10; 5,0] \cdot 10^9/\text{л}$) определялись у младенцев с ГИЭ 2 ($6,75 [3,60; 9,66] \cdot 10^9/\text{л}$) и ГИЭ 3 ($8,95 [5,40; 9,20] \cdot 10^9/\text{л}$). Различий в подгруппах получено не было ($p = 0,55$) (рис 7А). У большей части детей увеличивался уровень лактата. Средние значения в группе ГИЭ 2 составили $4,70 [3,90; 6,10]$ ммоль/л, в группе ГИЭ 3 – $4,35 [3,60; 5,50]$ ммоль/л, что было выше, чем в

группе сравнения – 1,44 [0,98; 2,05] ммоль/л. Однако статистически значимых межгрупповых различий получено не было ($p=0,37$) (рис. 7Б).

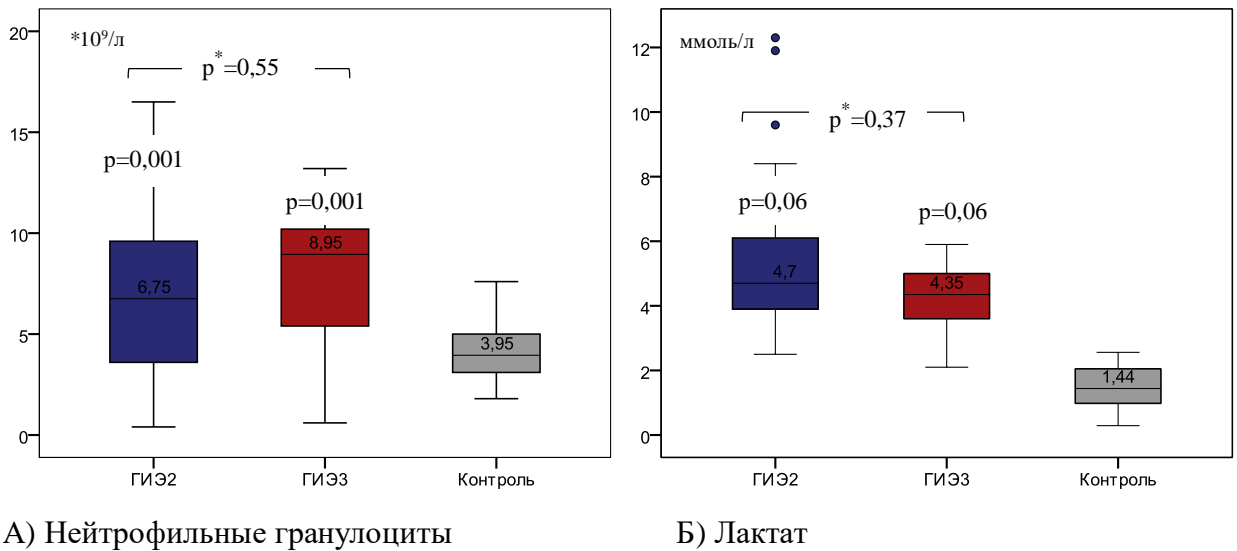


Рис. 7 – Показатели нейтрофильных гранулоцитов и лактата у новорожденных в зависимости от степени тяжести ГИЭ

Примечание: p – различия по сравнению с контрольной группой, p^* – различия между ГИЭ2 и ГИЭ3 (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана).

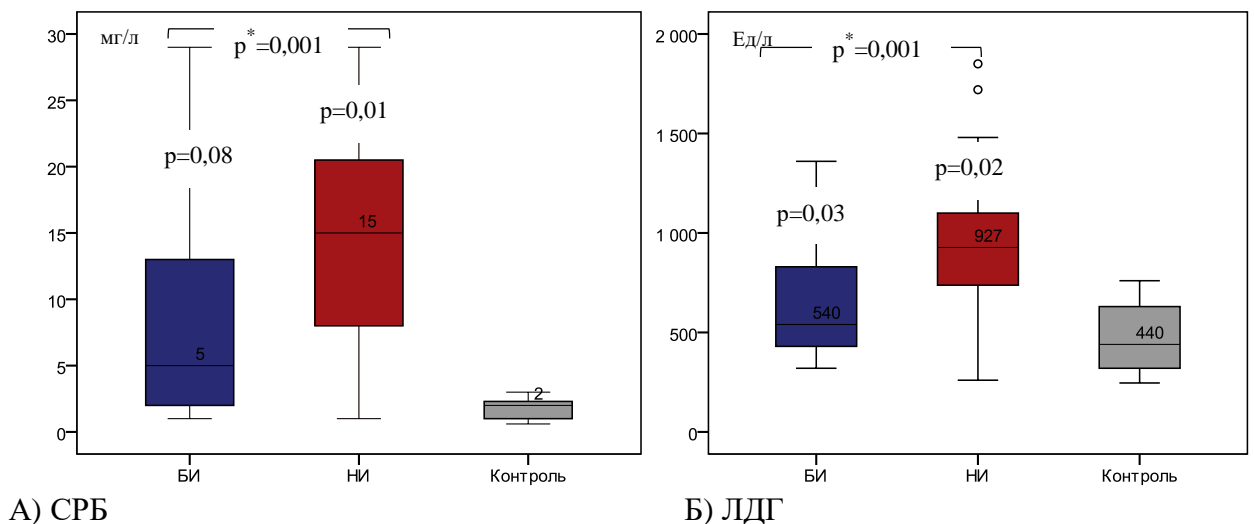


Рис. 8 – Показатели С-реактивного белка и лактатдегидрогеназы у новорожденных и неблагоприятные неврологические исходы в 18 мес.

Примечание: БИ – благоприятный неврологический исход, НИ – неблагоприятный исход, p – различия по сравнению с контрольной группой, p^* – различия между БИ и НИ (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана).

В динамике наблюдения было установлено, что дети, реализовавшие неблагоприятные неврологические исходы, имели более высокие показатели СРБ при рождении – 15,0 [8,0; 20,5] пг/мл по сравнению с детьми с благоприятными исходами – 5,0 [2,0; 13,0] пг/мл ($p=0,001$) и здоровыми новорожденными – 2,0 [1,0; 2,30] пг/мл ($p=0,01$) (рис. 8А).

Средние значения ЛДГ у новорожденных, сформировавших серьезные резидуальные последствия ГИЭ, составили 927 [725; 1025] Ед/л и были выше, чем у детей с благоприятным исходом – 540 [430; 800] Ед/л и в группе здоровых новорожденных – 440 [320; 630] Ед/л (рис. 8Б).

Аналогичные закономерности установлены для показателей нейтрофильных гранулоцитов периферической крови. Медиана НГ у детей с неблагоприятными исходами составили – 9,70 [7,70; 10,40]* $10^9/л$, благоприятными – 5,60 [2,00; 6,50] * $10^9/л$, ($p=0,001$), здоровых детей – 3,95 [3,10; 5,00]* $10^9/л$ ($P=0,003$) (рис. 9А).

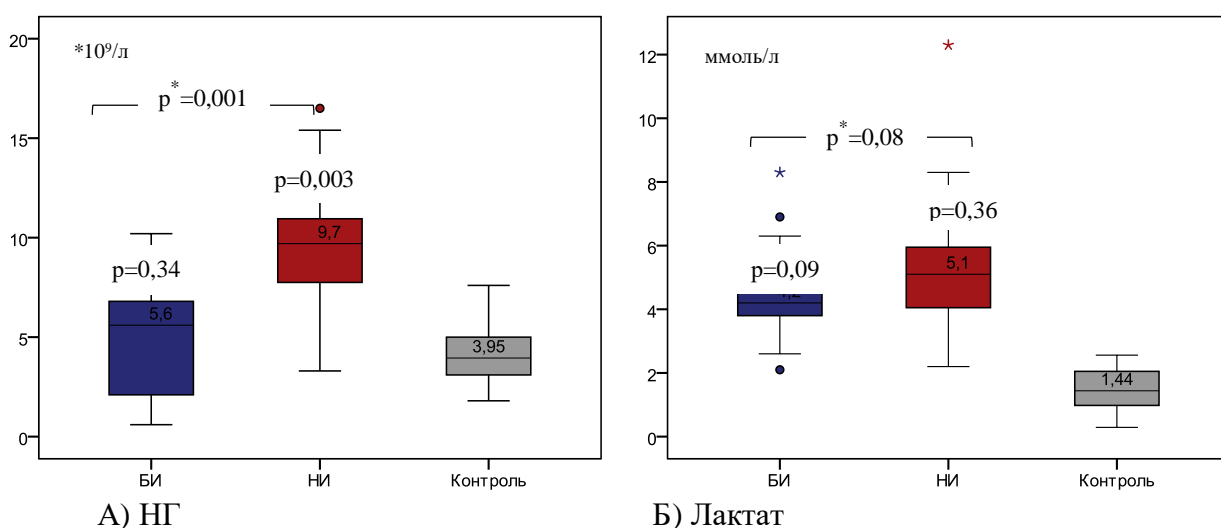


Рис. 9 – Показатели нейтрофильных гранулоцитов и лактата у новорожденных и неблагоприятные неврологические исходы в 18 мес.

Примечание: БИ – благоприятный неврологический исход, НИ – неблагоприятный исход, p – различия по сравнению с контрольной группой, p^* – различия между БИ и НИ (критерий Крускала-Уоллиса, Дана, Дункана).

Показатели лактата были выше у детей с НИ, однако статистически значимых различий не получено (рис. 9Б).

Учитывая влияние провоспалительных интерлейкинов на экспрессию биомаркеров воспаления, была исследована корреляция сывороточных ИЛ β , TNF α , ИЛ10 и показателей нейтрофильных гранулоцитов, СРБ, ЛДГ, лактата.

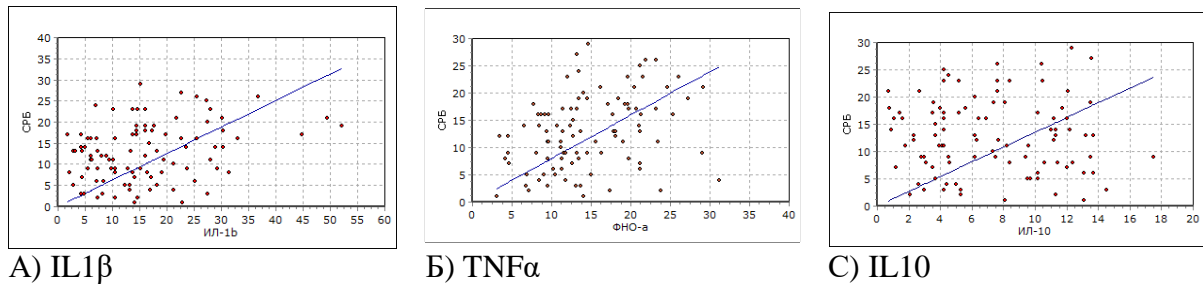


Рис. 10 – Корреляционные взаимосвязи между уровнем С-реактивного белка и интерлейкинами сыворотки новорожденных с ГИЭ

Установлена зависимость средней силы уровней СРБ от ИЛ β ($r_s = 0,28$, $p=0,01$) (рис. 10А) и TNF α ($r_s = 0,35$, $p=0,001$) (рис. 10Б). Показатели лактатдегидрогеназы коррелировали с экспрессией ИЛ β ($r_s = 0,27$, $p=0,008$) (рис. 11А) и TNF α ($r_s = 0,34$, $p=0,007$) (рис. 11Б).

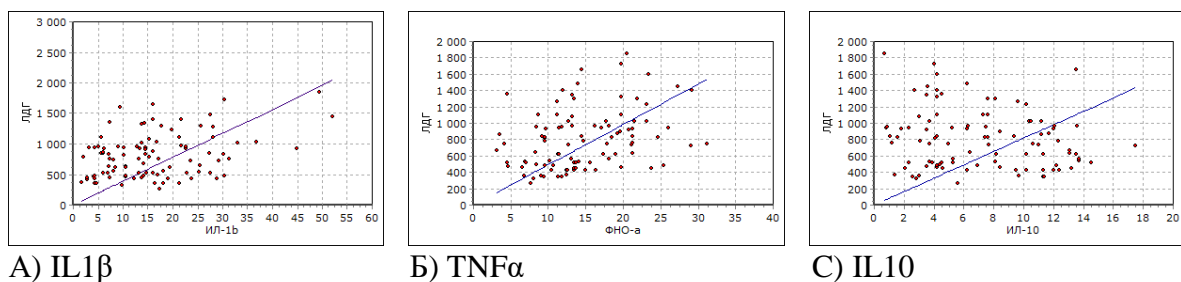


Рис. 11 – Корреляционные взаимосвязи между уровнем лактатдегидрогеназы и интерлейкинами сыворотки новорожденных с ГИЭ

Количество нейтрофилов в гемограмме зависело от концентрации ИЛ1 β ($r_s = 0,42$ $p=0,001$) (рис. 12А) и TNF α ($r_s = 0,30$ $p=0,0001$) (рис. 12Б), в то время как показатели лактата – только от уровня ИЛ1 β ($r_s = 0,27$, $p=0,007$) (рис. 13А).

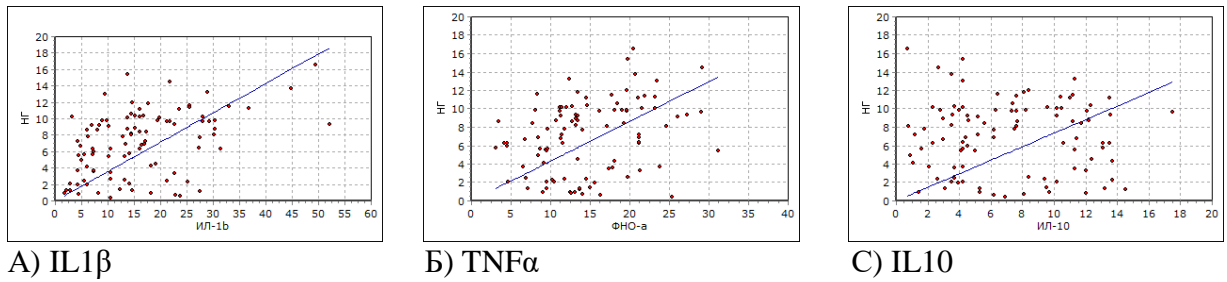


Рис. 12 – Корреляционные взаимосвязи между уровнем нейтрофильных гранулоцитов и интерлейкинами сыворотки новорожденных с ГИЭ

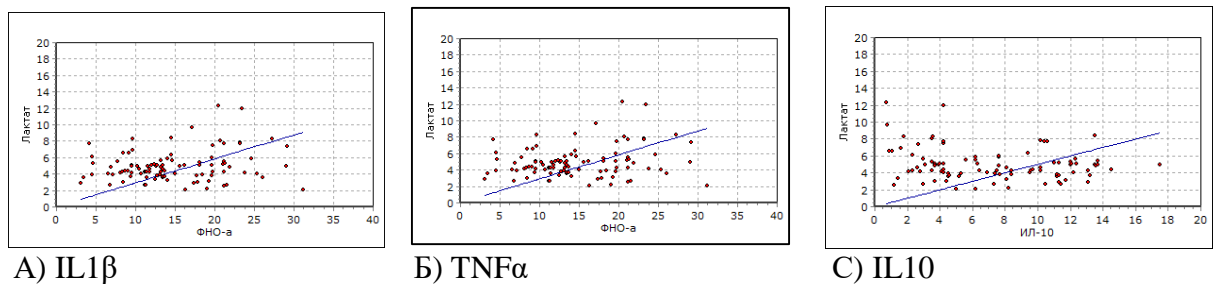


Рис. 13 – Корреляционные взаимосвязи между уровнем лактата и интерлейкинами сыворотки новорожденных с ГИЭ

Не получено корреляционных взаимосвязей между показателями IL10 и СРБ (рис. 10С), ЛДГ (рис. 11С), нейтрофилов (рис. 12 С) и лактата (рис. 13 С).

3.2.3. Прогностическая ценность биомаркеров воспаления при формировании резидуальных исходов гипоксически-ишемической энцефалопатии

Для определения диагностической ценности острофазовых показателей у новорожденных с ГИЭ, включая С-реактивный белок, лактатдегидрогеназу, лактат, абсолютное содержание нейтрофильных гранулоцитов, а также IL1β, TNFα, IL10 анализировали их чувствительность, специфичность, положительную и отрицательную предсказательную ценность. Установлена положительная предсказательная ценность для лактатдегидрогеназы,

нейтрофильных гранулоцитов, IL1 β и TNF α (табл. 11, 12, рис. 14), но не для показателей СРБ, лактата и IL10.

Таблица 11 – Вероятность неблагоприятных неврологических исходов у младенцев с ГИЭ в зависимости от биомаркеров воспаления

Показатель	Отношение шансов (95% ДИ)	AUC
ЛДГ >750 Ед/л	5,09 (1,86-13,9) (p<0,001)	0,76
Абсолютное содержание нейтрофильных гранулоцитов в ОАК > 6,9*10 ⁹ /л	16,98 (5,28-54,63) (p<0,001)	0,86
IL1 β > 16,8 пг/мл	29 (7,24-116,4) (p<0,001)	0,91
TNF α > 17,4 пг/мл	11,33 (2,46-52,15) (p<0,001)	0,83

Примечание: AUC – численный показатель площади под кривой логистической регрессии.

Таблица 12 – Диагностическая значимость биомаркеров воспаления в прогнозировании неблагоприятного неврологического исхода при ГИЭ

Показатель	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)
Лактатдегидрогеназа	0,72	0,67	0,72	0,67
Нейтрофильные гранулоциты	0,82	0,79	0,83	0,79
IL1 β	0,74	0,91	0,91	0,75
TNF α	0,62	0,91	0,89	0,67

Примечание: Se – чувствительность, Sp – специфичность, PPV – положительная предсказательная ценность, NPV – отрицательная предсказательная ценность.

Таким образом, у новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией определяется высокая экспрессия провоспалительных интерлейкинов – IL1 β и TNF α , зависящая от степени тяжести ГИЭ. Уровень С-реактивного белка увеличивается только при тяжелом поражении ЦНС, в то время как показатели лактатдегидрогеназы и нейтрофильных гранулоцитов возрастают у детей с тяжелой и среднетяжелой ГИЭ и не зависят от степени тяжести заболевания. Установлена корреляция средней силы СРБ, ЛДГ и содержания нейтрофилов от IL1 β и TNF α , лактата – только от IL1 β .

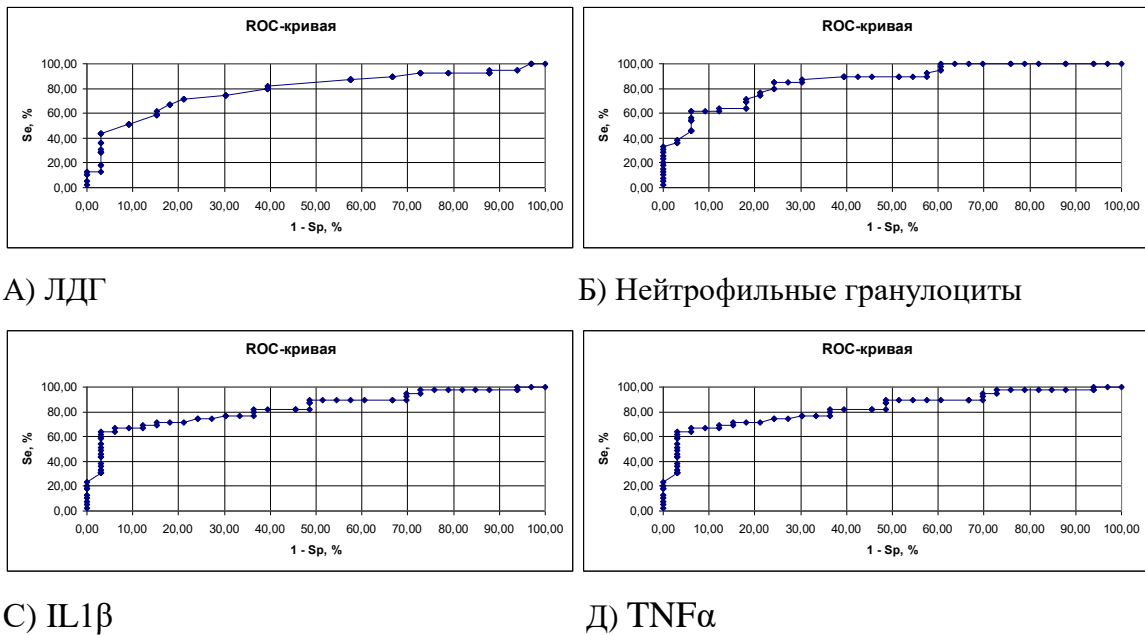


Рис. 14 – ROC-кривые показателей острой фазы воспаления и провоспалительных интерлейкинов как предикторов резидуальных исходов при ГИЭ

У детей с резидуальными последствиями ГИЭ в периоде новорожденности выявлено существенное увеличение IL1 β и TNF α , СРБ, ЛДГ в сыворотке крови, а также абсолютного содержания НГ в гемограмме. В качестве факторов риска формирования инвалидизирующих исходов ГИЭ могут быть использованы значения IL1 β >16,8 пг/мл (OR=29,0; 95% CI: 7,24-116,4), TNF α >17,4 пг/мл (OR=11,33; 95% CI: 2,46-52,15), а также показатели ЛДГ >750 Ед/л мл (OR=5,09; 95% CI: 1,86-13,9) и абсолютного содержания нейтрофильных гранулоцитов >6,9*10⁹/л (OR=16,98; 95% CI: 5,28-54,63).

3.3. Полиморфизм генов цитокинов у детей с гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы

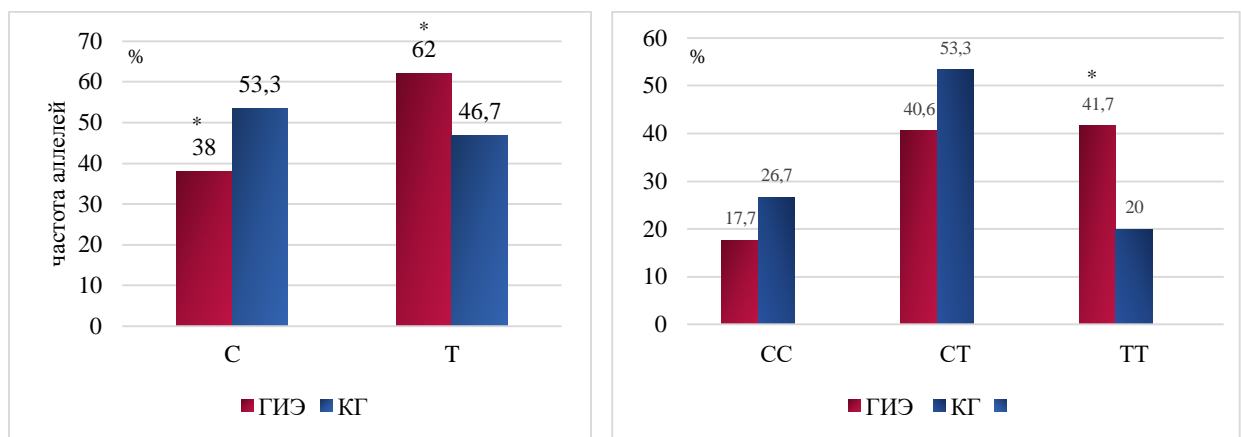
В работе были изучены полиморфные варианты генов *IL1 β 31 C>T* (rs1143627); *TNF α 308 G>A* (rs1800629) и *IL10 592 C>A* (rs1800872) при гипоксически-ишемическом поражении ЦНС. Выбор данных SNP был обусловлен современными исследованиями, подтверждающими участие IL1 β ,

TNF α и IL10 в развитии ГИЭ и наличие взаимосвязи полиморфизма генов провоспалительных цитокинов с развитием тяжелых форм заболевания и формированием неблагоприятных исходов [92, 237, 272].

3.3.1. Полиморфные варианты гена *IL1 β* и экспрессия интерлейкина 1 β

Аллельные варианты и генотипы *IL1 β* -31 C>T (rs1143627); TNF α 308 G>A (rs1800629) и *IL10* 592 C>A (rs1800872) в контрольной группе находились в равновесии Харди-Вайнберга. Редкий аллель – *IL1 β* -31T определялся у младенцев с ГИЭ в 62% случаев, в то время как у здоровых детей – в 46,7%, $p=0,04$ (OR=1,86; 95% CI: 1,03–3,34).

Более распространенным оказался гомозиготный генотип по редкому аллелю – -31T/T (41,7% и 20%, $p=0,03$) с увеличением риска развития заболевания до 2,86 (1,07-7,63) (табл. 14, рис. 15Б).



А) Аллели

Б) Генотипы

Рис. 15 – Частота аллелей и генотипов *IL1 β* (-31) C/T у детей с ГИЭ

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия КГ – контрольная группа, по оси абсцисс: аллели; по оси ординат: частота (%), * – $p<0,05$, значимость различий между группами (критерий χ^2 Пирсона).

Распространенность гетерозиготного генотипа $-31C/T$ у пациентов с ГИЭ (40,6%) и в группе здоровых младенцев (53,3%) не имела достоверных различий ($p=0,22$). Увеличение риска развития ГИЭ установлено для обладателей генотипов, ассоциированных с высокой экспрессии $IL1\beta - TT+CT$ ($OR=3,09$; 95% CI: 1,26–7,61; $p=0,01$) (табл. 13).

Таблица 13 – Распространенность аллелей и генотипов $IL1\beta$ у детей с ГИЭ

Ген	Аллели/ Генотип	ГИЭ (n=96)	КГ (n=30)	χ^2	OR (95% CI)
$IL1\beta$ (-31) $C>T$	CC, n (%)	17/96 (17,7%)	8/30 (26,7%)	$p=0,37$	0,73 (0,28-1,87)
	CT, n (%)	39/96 (40,6%)	16/30 (53,3%)	$p=0,22$	1,14 (0,26-1,37)
	TT, n (%)	40/96 (41,7%)	6/30 (20%)	$p=0,03$	2,86 (1,07-7,63)
	CT+TT, n (%)	79/96 (82,3%)	18/30 (60%)	$p=0,01$	3,09 (1,26-7,61)
	C, n (%)	73/192 (38%)	32/60 (53,3%)	$p=0,04$	0,54 (0,30-0,96)
	T, n (%)	119/192 (62%)	28/60 (46,7%)	$p=0,04$	1,86 (1,03-3,34)

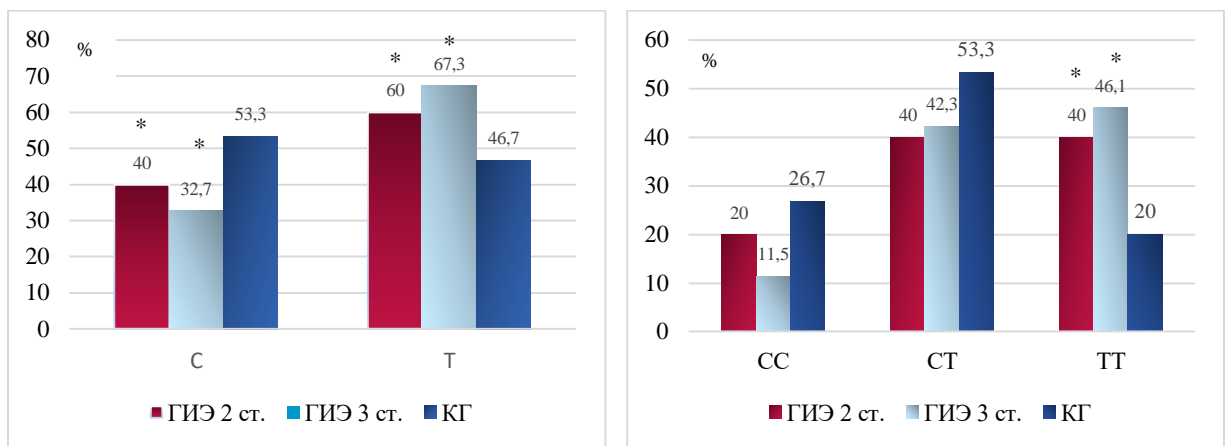
Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, КГ – контрольная группа, n – число детей, p – значимость различий между группами новорожденных (критерий χ^2 Пирсона), OR – отношение шансов, CI – 95% доверительный интервал.

Таблица 14 – Распространенность аллелей и генотипов у детей с ГИЭ в зависимости от шкалы Sarnat

Ген	Аллели/ генотип	ГИЭ 2 (I) (n=70)	ГИЭ 3 (II) (n=26)	КГ (III) (n=30)	χ^2	OR (95% CI)
$IL1\beta$ (-31) $C>T$	CC, n (%)	14/70 (20,0%)	3/26 (11,5%)	8/30 (26,7%)	$p_{I-II}=0,34$ $p_{I-III}=0,46$ $p_{II-III}=0,16$	0,68 (0,25-1,87) ^I 0,37 (0,09-1,60) ^{II}
	CT, n (%)	28/70 (40,0%)	11/26 (42,3%)	16/30 (53,3%)	$p_{I-II}=0,84$ $p_{I-III}=0,22$ $p_{II-III}=0,41$	0,58 (0,25-1,38) ^I 0,64 (0,22-1,85) ^{II}
	TT, n (%)	28/70 (40,0%)	12/26 (46,1%)	6/30 (20%)	$p_{I-II}=0,56$ $p_{I-III}=0,049$ $p_{II-III}=0,037$	2,67 (1,07-7,35) ^I 3,43 (1,05-11,17) ^{II}
	CT+TT, n (%)	56/70 (80,0%)	23/26 (88,5%)	18/30 (60%)	$p_{I-II}=0,33$ $p_{I-III}=0,037$ $p_{II-III}=0,017$	2,67 (1,05-6,80) ^I 5,11 (1,25-20,9) ^{II}
	C, n (%)	56/140 (40,0%)	17/52 (30,3%)	32/60 (53,3%)	$p_{I-II}=0,35$ $p_{I-III}=0,049$ $p_{II-III}=0,03$	0,58 (0,32-1,07) ^I 0,42 (0,20-0,92) ^{II}
	T, n (%)	84/140 (60,0%)	35/52 (67,3%)	28/60 (46,7%)	$p_{I-II}=0,35$ $p_{I-III}=0,049$ $p_{II-III}=0,03$	1,71 (1,03-3,15) ^I 2,35 (1,09-5,08) ^{II}

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, КГ – контрольная группа, n – число детей, p – значимость различий между группами новорожденных (критерий χ^2 Пирсона), OR – отношение шансов, CI – 95% доверительный интервал.

При оценке влияния полиморфизма гена *IL1 β* (-31)C/T на степень тяжести гипоксически-ишемического поражения ЦНС выявлено увеличение вероятности развития ГИЭ у обладателей редкого аллеля -31T. Показатели отношения шансов при ГИЭ 2 ст. составили – OR=1,71; 95% CI: 1,03–3,15; p=0,0049, при ГИЭ 3 ст. – OR=2,35; 95% CI:1,09–5,08; p=0,03) (табл. 14, рис. 16А). У новорожденных обеих групп установлена высокая распространенность гомозиготных вариантов по редкому аллелю – -31T/T (OR=2,67; 95% CI: 1,07–7,35; p=0,049 и OR=3,43; 95% CI: 1,05–11,17; p=0,037 соответственно) (рис. 16Б).



А) Аллели

Б) Генотипы

Рис. 16 – Частота аллелей и генотипов *IL1 β* (-31) C/T у детей с ГИЭ в зависимости от степени тяжести (шкала Sarnat)

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, КГ – контрольная группа, по оси абсцисс: аллели; по оси ординат: частота (%), * – p<0,05, значимость различий по сравнению с КГ (критерий χ^2 Пирсона).

Существенное увеличение риска реализации процесса сохранялось у обладателей аллеля (-31) T и генотипов TT+CT. Однако распространенность редкого аллеля (-31)T и гомозиготного по редкому аллелю генотипа – (-31)T/T не зависела от степени тяжести ГИЭ.

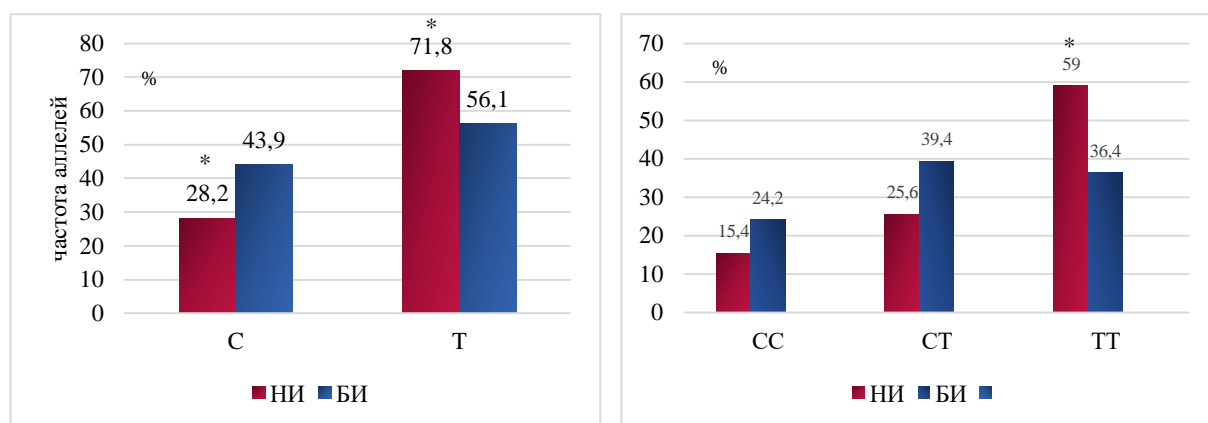
У детей с неблагоприятным исходом чаще встречались аллель (-31)T (71,8%) и генотип (-31)T/T (59,0%) с увеличением риска неврологического

дефицита (OR=2,52; 95% CI: 1,01–6,53; p=0,049 и OR=1,99; 95% CI: 1,01–3,99; p=0,049 соответственно) (табл. 15, рис. 17А, 17Б).

Таблица 15 – Распространенность аллелей и генотипов у детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией в зависимости от исхода заболевания

Ген	Аллели/ Генотип	НИ (I) (n=39)	БИ (II) (n=33)	χ^2	OR (95% CI)
<i>IL1β</i> (-31) C>T	CC, n (%)	6/39 (15,4%)	8/33 (24,2%)	p _{I-II} =0,35	0,57 (0,18-1,85)
	CT, n (%)	10/39 (25,6%)	13/33 (39,4%)	p _{I-II} =0,21	0,53 (0,19-1,45)
	TT, n (%)	23/39 (59,0%)	12/33 (36,4%)	p _{I-II} =0,049	2,52 (1,01-6,53)
	CT+TT, n (%)	33/39 (84,6%)	25/33 (75,8%)	p _{I-II} =0,34	1,76 (0,54-5,72)
	C, n (%)	22/78 (28,2%)	29/66 (43,9%)	p _{I-II} =0,049	0,50 (0,25-1,00)
	T, n (%)	56/78 (71,8%)	37/66 (56,1%)	p _{I-II} =0,049	1,99 (1,01-3,99)

Примечание: НИ – неблагоприятный исход, БИ – благоприятный исход, n – число детей, p – значимость различий между группами новорожденных (критерий χ^2 Пирсона), OR – отношение шансов, CI – 95% доверительный интервал.



А) Аллели

Б) Генотипы

Рис. 17 – Частота аллелей и генотипов *IL1 β* (-31)C/T у детей с ГИЭ в зависимости от исхода

Примечание: НИ – неблагоприятный исход, БИ – благоприятный исход, по оси абсцисс: аллели; по оси ординат: частота (%), * – p<0,05, значимость различий по сравнению с БИ (критерий χ^2 Пирсона).

Максимальная экспрессия $IL1\beta$ определялась у обладателей генотипа $IL1\beta$ (-31) T/T (18,15 [11,85; 24,0] пкг/мл), статистически значимые различия установлены по сравнению с респондентами C/C (8,40 [5,0; 12,30] пкг/мл, $p=0,03$, но не C/T (14,10 [8,10; 17,40] пкг/мл, $p=0,06$ (рис. 18).

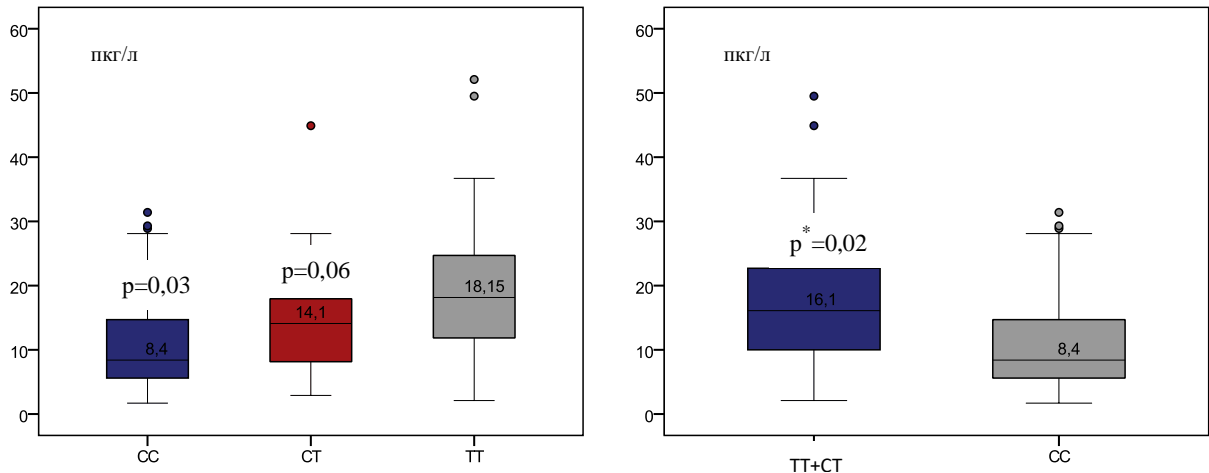


Рис. 18 – Показатели $IL1\beta$ в зависимости от генотипов $IL1\beta$ у новорожденных с ГИЭ

Примечание: p – различия по сравнению с группой TT (критерии Краскела-Уоллиса, Данетта, Данна), p^* – различия между группами с генотипами $TT+CT$ и CC (критерий Манна – Уитни).

Показатели $IL1\beta$ у резидентов аллеля $-31T$ и генотипов $-31T/T+31C/T$ достигли 16,1 [9,90; 21,70] пкг/мл, что было значительно выше, чем у респондентов $-31C/C$ – 8,40 [5,0; 12,30] пкг/мл, $p=0,02$ (рис. 18).

3.3.2. Полиморфные варианты гена $TNF\alpha$ и экспрессия фактора некроза опухолей α

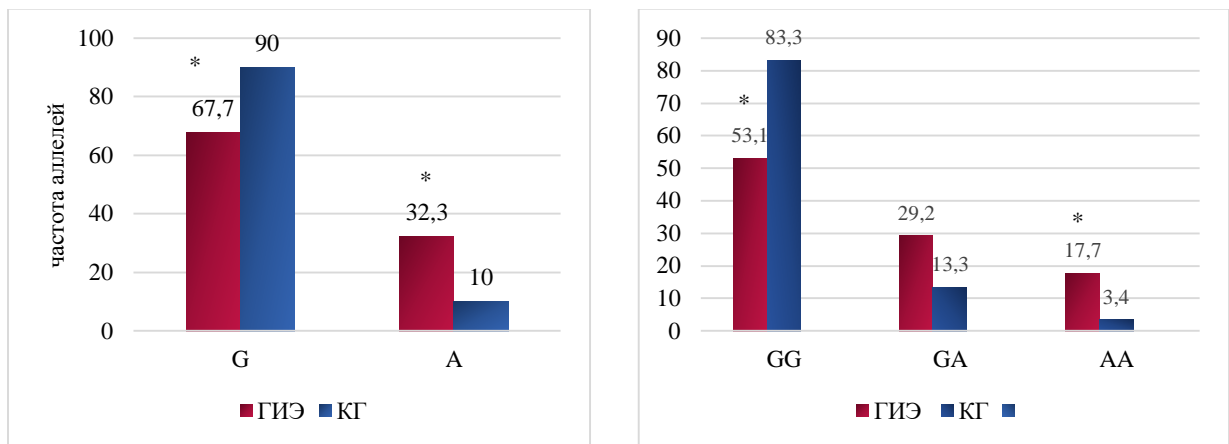
При распределении аллелей полиморфизма $308 G/A$ (rs1800629) гена $TNF\alpha$ отмечалась высокая распространенности аллеля $308A$ у младенцев с гипоксически-ишемической энцефалопатией (32,3%) по сравнению со здоровыми детьми (10,0%), $p<0,001$ с увеличением риска заболевания – 4,29 (95% CI: 1,75-10,52) (табл. 17, рис. 19А). Генотип $TNF\alpha G308G$ был преобладающим как в группе ГИЭ, так и у здоровых детей. Однако у

пациентов с ГИЭ он встречался реже, чем в контрольной группе (53,1% и 83,3%, $p=0,004$) в отличие от генотипа *A308A*, увеличение риска заболевания у обладателей которого достигало 6,24 (95% CI: 0,79-49,02) (табл. 16, рис. 19 Б) без статистически значимых различий.

Таблица 16 – Распространенность аллелей и генотипов *TNF α* у детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией

Ген	Аллели/ генотип	ГИЭ (n=96)	КГ (n=30)	χ^2	OR (95% CI)
TNF α (308) G>A	GG, n (%)	51/96 (53,1%)	25/30 (83,3%)	$p=0,004$	0,23 (0,08-0,64)
	GA, n (%)	28/96 (29,2%)	4/30 (13,3%)	$p=0,083$	2,68 (0,86-8,38)
	AA, n (%)	17/96 (17,7%)	1/30 (3,4%)	$p=0,05$	6,24 (0,79-49,02)
	GA+AA, n (%)	45/96 (46,9%)	5/30 (16,7%)	$p=0,004$	4,41 (1,56-12,49)
	G, n (%)	130/192 (67,7%)	54/60 (90,0%)	$p<0,001$	0,23 (0,09-0,57)
	A, n (%)	62/192 (32,3%)	6/60 (10,0%)	$p<0,001$	4,29 (1,75-10,52)

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



А) Аллели

Б) Генотипы

Рис. 19 – Частота аллелей и генотипов *TNF α* (308) *G>A* у детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией и здоровых новорожденных

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, КГ – контрольная группа; по оси абсцисс: аллели; по оси ординат: частота (%), * – $p<0,05$, значимость различий между группами (критерий χ^2 Пирсона).

В группе ГИЭ отмечалось увеличение распространенности гетерозиготного генотипа *G308A* (29,2% $p=0,083$), однако различия были статистически не значимы (рис. 19 Б).

Таблица 17 – Распространенность аллелей и генотипов *TNF α* у детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией в зависимости от шкалы Sarnat

Ген	Аллели/ генотип	ГИЭ 2 ст. (n=70) (I)	ГИЭ 3 ст. (n=26) (II)	КГ (n=30) (III)	χ^2	OR (95% CI)
TNF α (308) G>A	GG, n (%)	38/70 (54,3%)	13/26 (50,0%)	25/30 (83,3%)	$p_{I-II}=0,709$ $p_{I-III}=0,006$ $p_{II-III}=0,008$	0,24 (0,08-0,69) ^I 0,20 (0,06-0,68) ^{II}
	GA, n (%)	22/70 (31,4%)	6/26 (23,1%)	4/30 (13,3%)	$p_{I-II}=0,424$ $p_{I-III}=0,059$ $p_{II-III}=0,343$	2,97 (0,93-9,57) ^I 1,95 (0,48-7,85) ^{II}
	AA, n (%)	10/70 (14,3%)	7/26 (26,9%)	1/30 (3,4%)	$p_{I-II}=0,150$ $p_{I-III}=0,109$ $p_{II-III}=0,012$	4,83 (0,59-39,6) ^I 5,0 (1,46-17,1) ^{II}
	GA+AA, n (%)	32/70 (45,7%)	13/26 (50,0%)	5/30 (16,7%)	$p_{I-II}=0,71$ $p_{I-III}=0,006$ $p_{II-III}=0,008$	4,21 (1,45-12,3) ^I 5,0 (1,46-17,1) ^{II}
	G, n (%)	98/140 (69,3%)	32/52 (61,5%)	54/60 (90,0%)	$p_{I-II}=0,266$ $p_{I-III}=0,003$ $p_{II-III}=0,001$	0,26 (0,10-0,65) ^I 0,52 (0,06-0,49) ^{II}
	A, n (%)	42/140 (30,7%)	20/52 (38,5%)	6/60 (10,0%)	$p_{I-II}=0,266$ $p_{I-III}=0,003$ $p_{II-III}=0,001$	3,86 (1,54-9,66) ^I 5,63 (2,05-15,5) ^{II}

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, КГ – контрольная группа; n – число детей, p – значимость различий между группами новорожденных (критерий χ^2 Пирсона), OR – отношение шансов, CI – 95% доверительный интервал.

При оценке полиморфизмов гена *TNF α* в зависимости от степени тяжести по шкале Sarnat выявлено уменьшение частоты распространенного аллеля *308G*, у новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией, как средней (69,3%), так и тяжелой степени (61,5%) (табл. 17, рис. 20А). Распространенность редкого аллеля *308A*, напротив, увеличивалась и достигала в группе с ГИЭ 2 ст. – 30,7%, $p<0,003$, ГИЭ 3 ст. – 38,5%, ($p<0,001$). Показатель отношения шансов при ГИЭ 2 ст. у обладателей редкого аллеля *308A* был равен – 3,86 (95% CI: 1,54-9,6), ГИЭ 3 ст. – 5,63 (95% CI: 2,05-15,5). У пациентов с ГИЭ 3 ст. чаще, чем у здоровых детей, выявлялся генотип

TNFα 308A/A (26,9% и 3,4% соответственно, $p = 0,012$). Частота генотипов *TNFα 308G/A* у новорожденных с ГИЭ средней и тяжелой степени была сопоставимой, статистически значимые различия не установлены (рис. 20 Б).

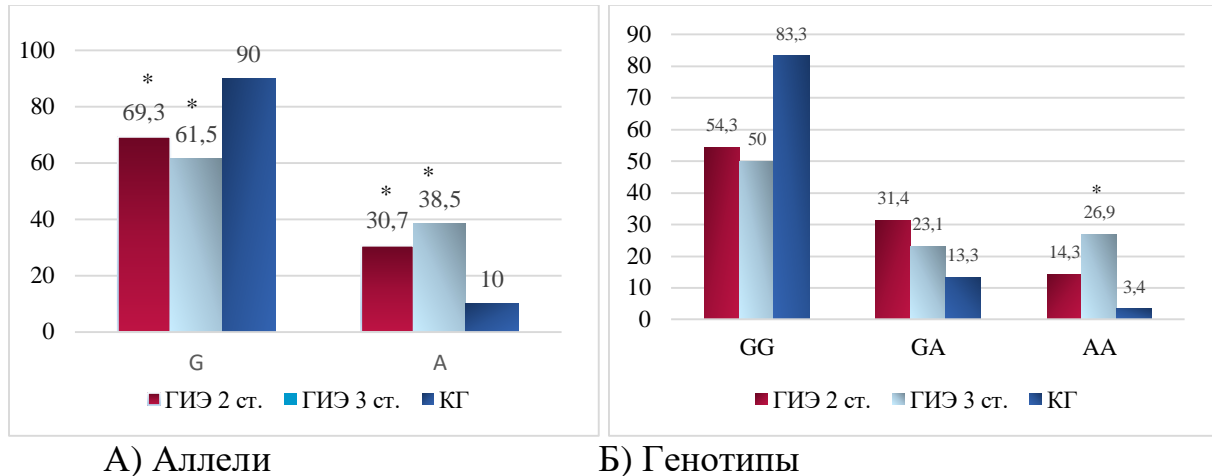


Рис. 20 – Частота аллелей и генотипов *TNFα (308) G>A* у детей с ГИЭ в зависимости от степени тяжести

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, КГ – контрольная группа; по оси абсцисс: аллели; по оси ординат: частота (%), * – $p < 0,05$, значимость различий по сравнению с КГ (критерий χ^2 Пирсона).

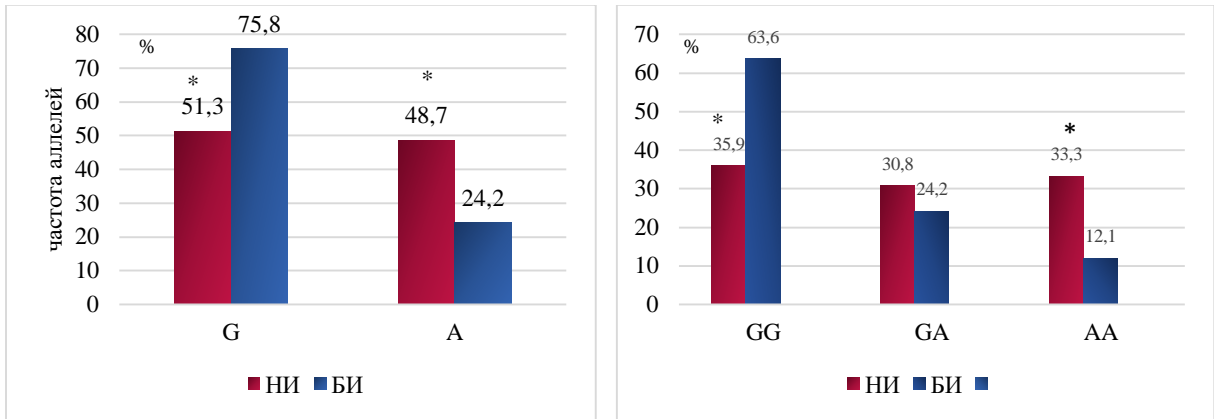
Таблица 18 – Распространенность аллелей и генотипов *TNFα* у детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией в зависимости от исхода

Ген	Аллели/ Генотип	НИ (I) (n=39)	БИ (II) (n=33)	χ^2	OR (95% CI)
<i>TNFα</i> (308) G>A	GG, n (%)	14/39 (35,9%)	21/33 (63,6%)	$p_{I-II}=0,02$	0,32 (0,12-0,84)
	GA, n (%)	12/39 (30,8%)	8/33 (24,2%)	$p_{I-II}=0,538$	1,38 (0,49-3,96)
	AA, n (%)	13/39 (33,3%)	4/33 (12,1%)	$p_{I-II}=0,035$	3,63 (1,05-12,52)
	GA+AA, n (%)	25/39 (64,1%)	12/33 (36,4%)	$p_{I-II}=0,019$	3,12 (1,19-8,20)
	G, n (%)	40/78 (51,3%)	50/66 (75,8%)	$p_{I-II}=0,003$	0,34 (0,16-0,69)
	A, n (%)	38/78 (48,7%)	16/66 (24,2%)	$p_{I-II}=0,003$	2,97 (1,45-6,08)

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

Неблагоприятные неврологические последствия чаще реализовались у резидентов аллеля *308A* (OR=2,97; CI: 1,45-6,08) и генотипа *A308A* (OR=3,63; CI: 1,05-12,52), распространенность которых в группах с НИ и БИ составила

48,7% и 24,2%, $p=0,003$; 33,3% и 12,1%, $p=0,035$ соответственно (табл. 18, рис. 21А, 21Б).



А) Аллели

Б) Генотипы

Рис. 21 – Частота аллелей и генотипов *TNFα* (308) *G>A* у детей с ГИЭ в зависимости от исхода

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, по оси абсцисс: аллели; по оси ординат: частота (%), * – $p < 0,05$, значимость различий между группами (критерий χ^2 Пирсона).

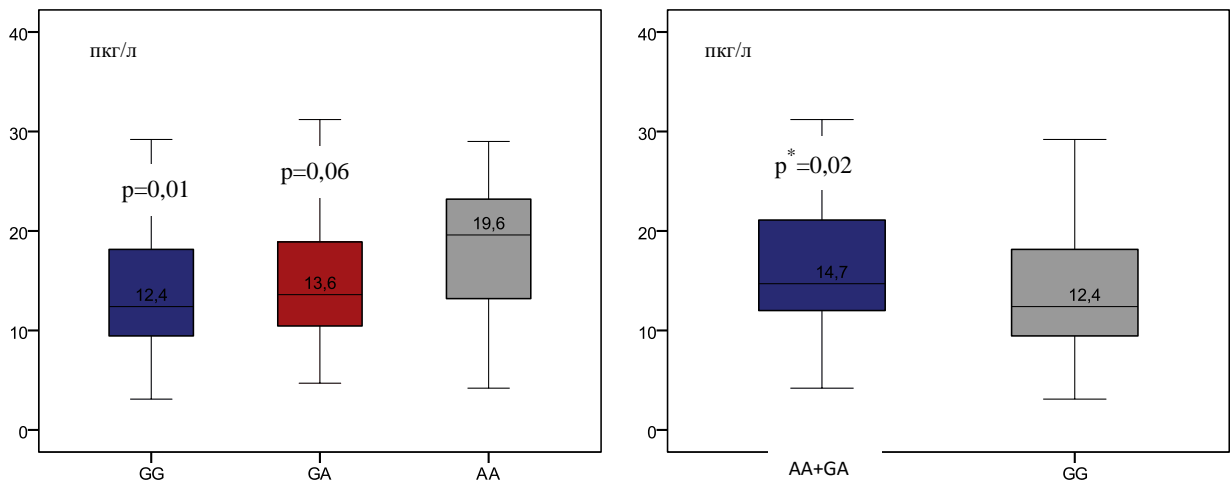


Рис. 22 – Показатели *TNFα* в зависимости от генотипов *TNFα* 308 *G/A* у новорожденных с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС

Примечание: p – различия по сравнению с группой AA (критерии Краскела-Уоллиса, Данетта, Данна), p^* – различия между группами с генотипами AA+GA и AA (критерий Манна – Уитни).

Увеличение экспрессии TNF α установлено у младенцев с генотипом TNF α 308 A/A – 19,6 [13,5; 21,5] пкг/мл. В группе 308 G/A показатели TNF α достигали 13,6 [10,45; 18,0] пкг/мл, однако статистически значимые различия выявлены только по отношению к группе 308 G/G – 12,4 [9,40; 17, 10] пкг/мл. Показатели TNF α были выше у обладателей гена 308A (308 A/A + 308 G/A) – 14,70 [11,60; 20,60] пкг/мл, чем у респондентов 308 G/G, $p=0,02$ (рис. 22).

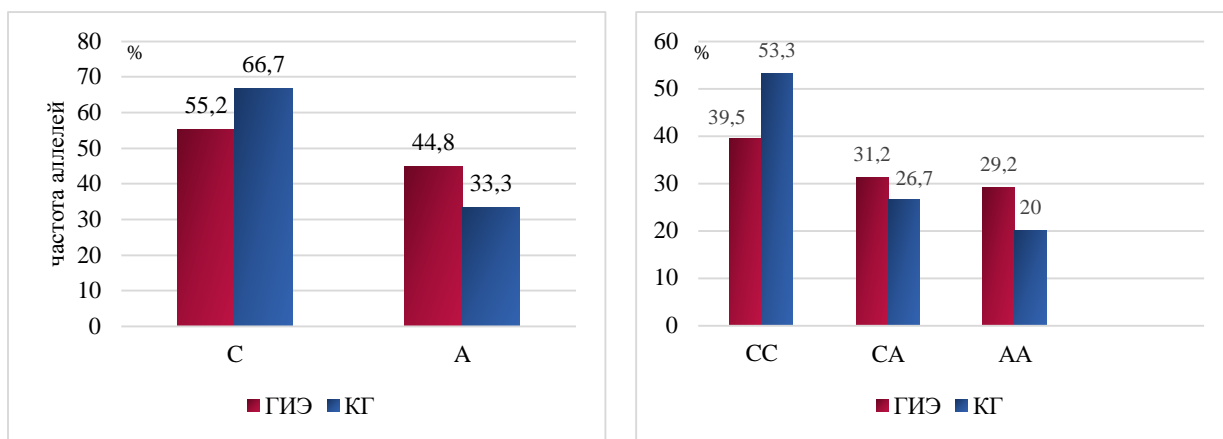
3.3.3. Полиморфные варианты гена *IL10* и экспрессия интерлейкина 10

В работе проведено исследование полиморфизма гена *IL10* C592A (rs1800872) у младенцев с гипоксически-ишемической энцефалопатией и здоровых детей. Распространенность мажорного аллеля 592C в группе ГИЭ составила 55,2%, в контрольной группе – 66,7% ($p=0,117$). В группе детей с церебральной ишемией чаще, чем у здоровых детей встречался редкий аллель A (44,8%), однако различия оказались статистически не значимы ($p=0,117$) (табл. 19, рис. 23 A).

Таблица 19 – Распространенность аллелей и генотипов *IL10* у детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией

Ген	Аллели/ генотип	ГИЭ (n=96)	Контрольная группа (n=30)	χ^2	OR (95% CI)
IL10 (592) C>A	CC, n (%)	38/96 (39,5%)	16/30 (53,3%)	$p=0,19$	0,57 (0,25-1,31)
	CA, n (%)	30/96 (31,2%)	8/30 (26,7%)	$p=0,63$	1,25 (0,50-3,13)
	AA, n (%)	28/96 (29,2%)	6/30 (20%)	$p=0,324$	1,65 (0,61-4,46)
	CA+AA, n (%)	58/96 (60,4%)	14/30 (46,7%)	$p=0,19$	1,74 (0,76-3,98)
	C, n (%)	106/192 (55,2%)	40/60 (66,7%)	$p=0,117$	0,62 (0,34-1,13)
	A, n (%)	86/192 (44,8%)	20/60 (33,3%)	$p=0,117$	1,62 (0,88-2,98)

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



А) Аллели

Б) Генотипы

Рис. 23 – Частота аллелей и генотипов *IL10* (592) C>A у детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией и здоровых новорожденных

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, по оси абсцисс: аллели; по оси ординат: частота (%).

Встречаемость гомозиготного по редкому аллелю (592 AA) и гетерозиготного (592 CA) генотипов у детей с ГИЭ была сопоставимой с группой здоровых детей. В целом число детей, являющихся обладателями редкого аллеля (генотипы AA+CA) составило 60,4%, что было больше, чем в группе здоровых младенцев (46,7%). Однако различия не были статистически значимы (рис. 23 Б).

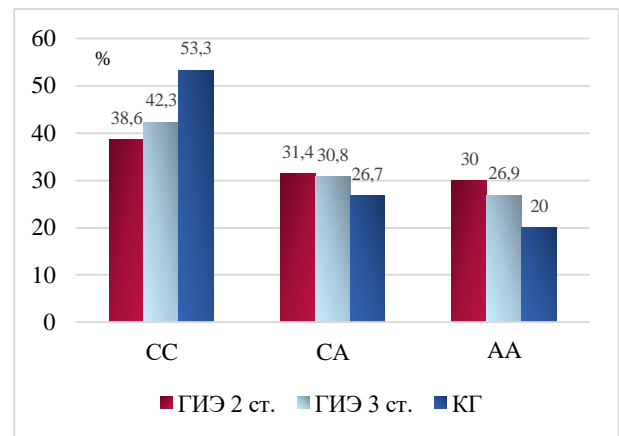
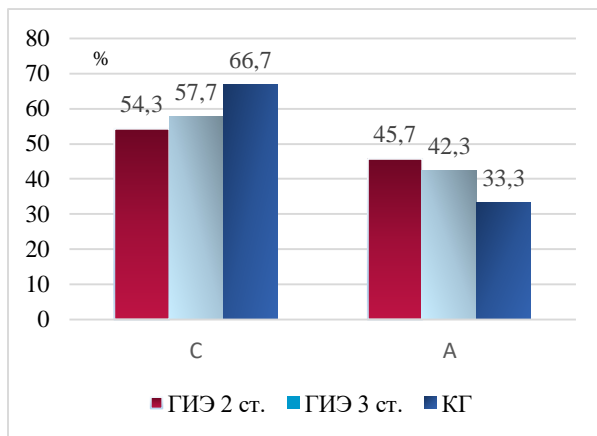
При сравнительном анализе полиморфных вариантов гена *IL10* 592 C>A у пациентов с различной степенью тяжести ГИЭ в обеих подгруппах установлено частотное преобладание редкого аллеля A *IL10* 592A, а также генотипов 592AA и 592 CA с увеличением риска развития заболевания у их обладателей, однако ассоциации были статистически не значимы (табл. 20, рис. 24 А, 24 Б).

Распространенность резидентов аллеля 592A в составе гомо- и гетерозиготного генотипов (592AA + 592CA) в группе ГИЭ 2 составила 61,4%, ГИЭ 3 – 57,7%, что было выше, чем у здоровых детей – 46,7%, при этом различия не были статистически значимыми (табл. 20).

Таблица 20 – Распространенность аллелей и генотипов *IL10* у детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией

Ген	Аллели/ генотип	ГИЭ 2 ст. (n=70) (I)	ГИЭ 3 ст. (n=26) (II)	КГ (n=30) (III)	χ^2	OR (95% CI)
IL10 (592) C>A	CC, n (%)	27/70 (38,6%)	11/26 (42,3%)	16/30 (53,3%)	$p_{I-II}=0,74$ $p_{I-III}=0,17$ $p_{II-III}=0,41$	0,55 (0,23-1,30) ^I 0,64 (0,22-1,85) ^{II}
	CA, n (%)	22/70 (31,4%)	8/26 (30,8%)	8/30 (26,7%)	$p_{I-II}=0,95$ $p_{I-III}=0,63$ $p_{II-III}=0,74$	1,26 (0,49-3,27) ^I 1,22 (0,38-3,90) ^{II}
	AA, n (%)	21/70 (30,0%)	7/26 (26,9%)	6/30 (20%)	$p_{I-II}=0,77$ $p_{I-III}=0,30$ $p_{II-III}=0,54$	1,71 (0,61-4,80) ^I 1,47 (0,42-5,12) ^{II}
	CA+AA n (%)	43/70 (61,4%)	15/26 (57,7%)	14/30 (46,7%)	$p_{I-II}=0,17$ $p_{I-III}=0,41$ $p_{II-III}=0,74$	1,82 (0,77-4,32) ^I 1,56 (0,54-4,49) ^{II}
	C, n (%)	76/140 (54,3%)	30/52 (57,7%)	40/60 (66,7%)	$p_{I-II}=0,67$ $p_{I-III}=0,105$ $p_{II-III}=0,328$	0,59 (0,32-1,12) ^I 0,68 (0,32-1,47) ^{II}
	A, n (%)	64/140 (45,7%)	22/52 (42,3%)	20/60 (33,3%)	$p_{I-II}=0,67$ $p_{I-III}=0,105$ $p_{II-III}=0,328$	1,68 (0,90-3,17) ^I 1,47 (0,68-3,16) ^{II}

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, КГ – контрольная группа; n – число детей, p – значимость различий между группами новорожденных (критерий χ^2 Пирсона), OR – отношение шансов, CI – 95% доверительный интервал.



А) Аллели

Б) Генотипы

Рис. 24 – Частота аллелей и генотипов *IL10* 592 C>A у детей с ГИЭ в зависимости от степени тяжести

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, по оси абсцисс: аллели; по оси ординат: частота (%).

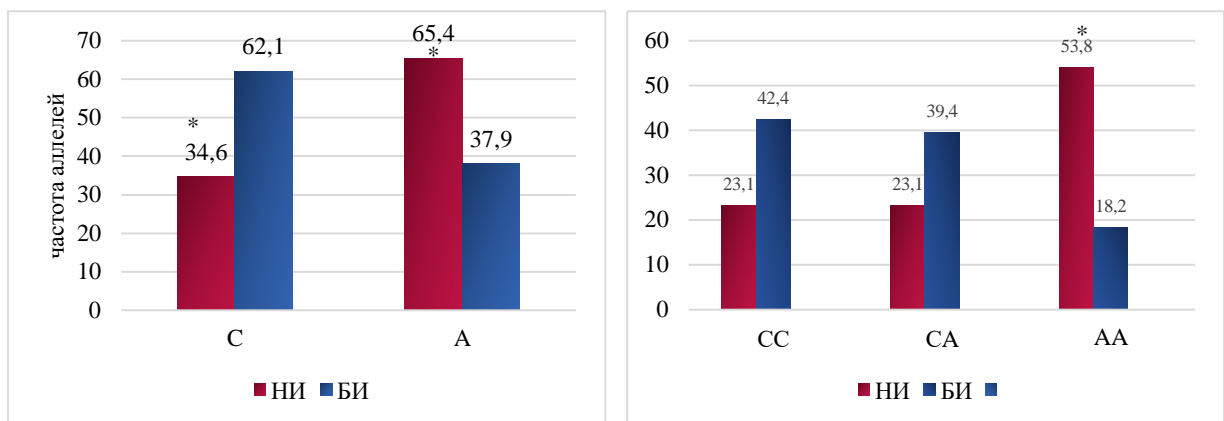
У детей с резидуальными последствиями ГИЭ и умерших детей чаще, чем в группе с благоприятным исходом выявлялся редкий аллель 592A с увеличением вероятности неблагоприятного исхода у его обладателей – (OR=3,1; 95% CI: 1,57-6,13) (табл. 21, рис. 25А).

Таблица 21 – Распространенность аллелей и генотипов *IL10* у детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией в зависимости от исхода

Ген	Аллели/ генотип	НИ (I) (n=39)	БИ (II) (n=33)	χ^2	OR (95% CI)
IL10 (592) C>A	CC, n (%)	9/39 (23,1%)	14/33 (42,4%)	$p_{I-II}=0,08$	0,4 (0,15-1,12)
	CA, n (%)	9/39 (23,1%)	13/33 (39,4%)	$p_{I-II}=0,13$	0,5 (0,17-1,28)
	AA, n (%)	21/39 (53,8%)	6/33 (18,2%)	$p_{I-II}=0,002$	5,25 (1,77-15,5)
	CA+AA, n (%)	30/39 (76,9%)	19/33 (57,6%)	$p_{I-II}=0,008$	2,46 (0,89-6,78)
	C, n (%)	27/78 (34,6%)	41/66 (62,1%)	$p_{I-II}=0,001$	0,32 (0,16-0,64)
	A, n (%)	51/78 (65,4%)	25/66 (37,9%)	$p_{I-II}=0,001$	3,1 (1,57-6,13)

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

У 53,8% детей с инвалидизирующими исходами ГИЭ определялся гомозиготный генотип 592 A/A и только у 18,2% – в группе с БИ, $p=0,002$. Установлено увеличение вероятности развития НИ у респондентов 592 A/A OR=5,25; 95% CI: 1,77-15,5 (табл. 22, рис. 25 Б).



А) Аллели

Б) Генотипы

Рис. 25 – Частота аллелей и генотипов *IL10* 592 C>A у детей с ГИЭ в зависимости от исхода

Примечание: ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия, по оси абсцисс: аллели; по оси ординат: частота (%), * – $p < 0,05$, значимость различий между группами (критерий χ^2 Пирсона).

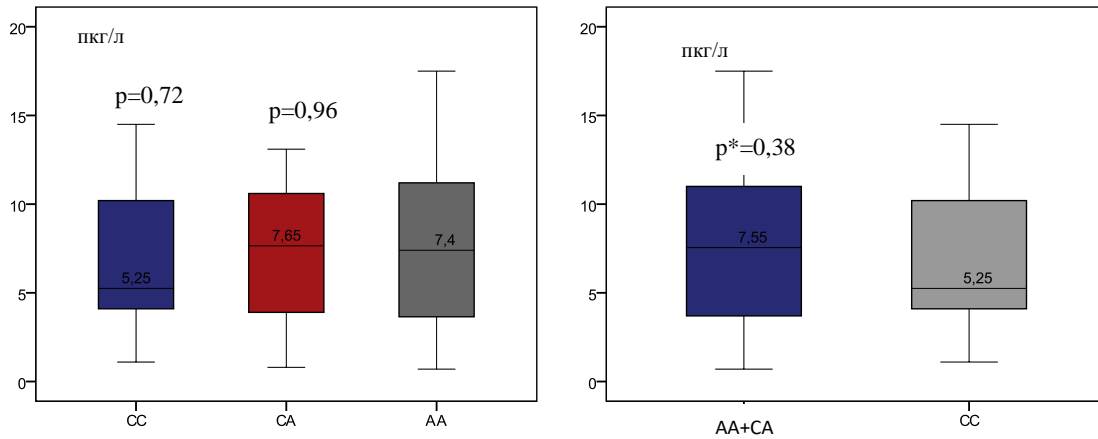


Рис. 26 – Показатели IL10 в зависимости от генотипов *IL10 592 C/A* у новорожденных с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС

Примечание: p – различия по сравнению с группой AA (критерии Краскела-Уоллиса, Данетта, Данна), p^* – различия между группами с генотипами AA+CA и AA (критерий Манна – Уитни).

Экспрессия IL10 была сопоставимой у пациентов с генотипом *592 C/C* – 5,25 [4,10; 10,20], *592 C/A* – 7,65 [3,90; 10,60], *592 A/A* – 7,40 [3,65; 11,20] пкг/мл. Не установлено достоверных различий у обладателей редкого гена *592A* и генотипов *592 A/A+592 C/A* – 7,55 [3,70; 11,0], $p=0,38$ (рис. 26).

Таким образом, установлена связь между полиморфизмом генов *IL1 β* , *TNF α* , *IL10* и развитием гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных.

У детей русской национальности с гипоксически-ишемической энцефалопатией, проживающих на Юге России, определяется высокая распространенность аллелей *IL1 β (-31)T*, *TNF α 308A* и генотипов *IL1 β (-31)T/T* и *TNF α 308A/A* и увеличение риска развития заболевания у их обладателей.

Факторами риска тяжелой формы ГИЭ являются полиморфные аллели *IL1 β (-31)T*, *TNF α 308A* и генотипы *IL1 β (-31)T/T* и *TNF α 308A/A*.

Формирование неблагоприятных резидуальных последствий гипоксически-ишемического поражения ЦНС реализуется преимущественно у резидентов аллелей *IL1 β (-31)T*, *TNF α 308A*, *IL10 592A* и генотипов *IL1 β (-31)T/T*, *TNF α 308A/A* и *IL10 592A/A*. В то время как носительство

аллелей *IL1 β* (-31)*C*, *TNF α* 308*G*, *IL10* 592*C* и генотипа *TNF α* 308*G/G* обладает протективными свойствами.

Установлена зависимость между полиморфизмом генов и экспрессией интерлейкинов в сыворотке крови новорожденных. Высокая продукция *IL1 β* регистрируется у респондентов аллеля *IL1 β* (-31)*T* и генотипа *IL1 β* (-31)*T/T*, *TNF α* – аллеля 308*A*. Не показано ассоциативной связи между полиморфизмом гена *IL10* и высоким синтезом *IL10*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гипоксически-ишемическая энцефалопатия у новорожденных является ведущей причиной детской смертности и инвалидности и регистрируется с частотой 2-3 случая на 1000 новорожденных в развитых странах и 26 на 1000 – в развивающихся [55, 115, 144].

Совершенствование неонатальной помощи, а также методов интенсивной терапии улучшают выживаемость новорожденных с ГИЭ в последние годы, однако не предотвращают формирование неврологических расстройств и их увеличение у детей, подростков и взрослых [193].

Выжившие пациенты с ГИЭ имеют пожизненный неврологический дефицит, включая церебральный паралич (10-20%), дефекты слуха и зрения (40%), двигательные и поведенческие нарушения, такие как эпилепсия, задержка развития и аутизм [55, 115, 144, 199].

Весьма актуальным является поиск предикторов плохого прогноза при ГИЭ, способных определять тактику превентивного лечения у новорожденных [12, 180, 225], в качестве которых предложены клинические [28, 282, 292, 304], инструментальные [6, 89, 212, 227] и биохимические маркеры, такие как белок S100 [228, 286, 294], нейронспецифическая энолаза, активин, адреномедуллин [53, 79, 83, 180, 228, 250].

Большое внимание уделяется маркерам полиорганной дисфункции и повреждения клеток, являющихся неотъемлемой частью гипоксически-ишемического поражения ЦНС [112, 192, 245]. В ряде фундаментальных исследований показано, что увеличение интерлейкинов, таких как IL1 β , IL4, IL6, IL8, TNF α , IL10, напрямую связано с тяжестью ишемического поражения головного мозга [78, 117, 215, 249], что делает целесообразным их применение в качестве биомаркеров-кандидатов при ГИЭ у новорожденных.

Известно, что экспрессия цитокинов во многом зависит от генов, детерминирующих их активность, влияющих на развитие заболевания и резидуальных исходов [138].

Определение прогностической ценности клинических и лабораторных маркеров у новорожденных с гипоксическим поражением ЦНС стало предметом настоящего исследования.

Работа выполнялась в 2017-2021 гг. в дизайне проспективного продольного когортного нерандомизированного исследования.

Под наблюдением находились 96 новорожденных детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией 2 ст. (72,9%) и 3 ст. (27,1%). В контрольную группу вошли 30 здоровых детей. При гендерном анализе детей с ГИЭ выявлено преобладание мальчиков (60,4%). Преимущественная распространенность ГИЭ у младенцев мужского пола подчеркивается в большинстве литературных источников последних десятилетий [13, 51], однако, в настоящем исследовании отличия от группы здоровых детей (56,7%) были статистически не значимы.

Установлено, что среди матерей новорожденных с ГИЭ преобладали первородящие женщины (64,6%, $p=0,003$), моложе 25 лет (63,5%, $p=0,01$), у которых чаще, чем контрольной группе выполнялись экстренная ОКС (15,6%, $p=0,022$), вакуум-экстракция плода (14,6%, $p=0,027$), что совпадало с данными других исследователей [6, 13, 51, 217, 238, 239].

Не выявлено социальных факторов риска развития ГИЭ в когорте обследованных пациентов. Курение сигарет во время беременности отмечено в 3,1% случаев в группе ГИЭ и у 3,3% матерей здоровых детей. Неблагоприятный микроклимат в семье зарегистрирован в 13,5% наблюдений, что было сопоставимо с контрольной группой (13,3%).

Большая часть детей с ГИЭ (77,7%) также, как и в группе матерей, родивших здоровых детей (80%) рождалась через естественные родовые пути. Аналогичные данные получены и другими исследователями [13, 51, 239].

В структуре гестационных факторов риска тяжелой и среднетяжелой форм ГИЭ чаще, чем в контроле диагностировались инфекции с гипертермией во время беременности (40,6%, $p=0,04$), угроза прерывания беременности (57,3%, $p=0,001$), хроническая плацентарная недостаточность (18,8%, $p=0,04$).

Гестационная железодефицитная анемия (35,4%), острая и хроническая гипертензия (14,6%), материнская тромбофилия (16,7%), преэклампсия (10,4%), хориоамнионит (8,3%) не были выявлены в качестве статистически значимых факторов риска заболевания, но оказались более распространенными у матерей детей с ГИЭ также, как это было отмечено другими исследователями [100, 239].

Известно, что тромбофилия беременной может быть вовлечена в патогенез неонатального инсульта [239], гипертоническая болезнь способствует снижению кровотока и асфиксии, в то время как анемия во время перинатального периода приводит к хронической внутриутробной гипоксии плода [239].

Среди соматических заболеваний матерей в исследовании установлены сахарный диабет 1-2 типа (6,3%) и гестационный сахарный диабет (16,7%), ожирение (20,8%), аутоиммунные заболевания (4,2%), однако статистически значимых различий по отношению к контрольной группе выявлено не было. По данным ряда авторов, сахарный диабет и ожирение чаще встречаются у матерей детей с ГИЭ и могут рассматриваться в качестве потенциальных факторов риска ее развития [100, 238].

В спектре интранатальной патологии при ГИЭ 2 и ГИЭ 3 ст. статистически значимыми оказались преждевременная отслойка нормально сформированной плаценты (12,5%, $p=0,042$), слабость родовой деятельности (36,4%, $p=0,002$), мутные околоплодные воды с примесью мекония (17,7%, $p=0,049$). В 14,6% случаев отмечалось тазовое предлежание плода, 17,7% – тугое обвитие пуповиной, 8,9% – преждевременное излитие околоплодных вод, однако достоверных различий по отношению к контрольной группе получено не было.

При анализе отношения шансов в качестве предикторов ГИЭ выявлены первые роды (OR=3,65; 95% CI: 1,53-8,68), инфекции во время беременности с гипертермией (OR=2,74; 95% CI: 1,02-7,31), хроническая плацентарная недостаточность (OR=8,12; 95% CI: 0,85-52,42), аномалии родовой

деятельности (OR=8,03; 95% ДИ 1,80-35,77). По данным. Parker S.J et al. в структуре факторов риска ГИЭ целесообразно учитывать материнский возраст более 35 лет (OR=2,5; 95% CI: 1,1-5,6), наличие хориоамнионита и инфекций мочевыводящих путей во время беременности (OR=2,6; 95% CI: 1,0-6,5) [60]. Показано, что младенцы с ГИЭ нередко рождаются путем экстренного кесарева сечения [13, 51]. При этом не установлено влияние предыдущих беременностей с развитием асфиксии в родах и внутрижелудочковых кровоизлияний [238]. По мнению ряда, авторов тазовое предлежание увеличивает риск развития асфиксии в 2,96 раза [239] ввиду возможного выпадения пуповины и травмы в родах. Среди перинатальных факторов риска ГИЭ ранее доказаны заболевания щитовидной железы у матери, кровотечение во время беременности, вирусные инфекции с гипертермией, преэклампсия, плацентарная недостаточность, внутриутробная гипотрофия [46, 100, 201, 226].

Существует мнение, что повреждение головного мозга новорожденных может быть связано с увеличением концентрации цитокинов и хемокинов на фоне материнской инфекции [163, 238]. Нами показано, что инфекционные заболевания с гипертермией во время беременности развились у 40,6% матерей детей с ГИЭ, что было значительно чаще, чем в контрольной группе (20,0%). В спектре интранатальных факторов риска в когортных европейских исследованиях установлены неблагоприятные события в родах – разрыв матки или отслойка плаценты, с которыми обычно согласуются паттерны сердечного ритма плода [64]. При этом асфиксия в родах и инфекции отмечены в анамнезе лишь у 11% детей с ГИЭ и формированием церебрального паралича [64].

Фактором риска церебральной ишемии также считается окрашенная меконием амниотическая жидкость, поскольку у здоровых новорожденных разбавленный меконий легко выводится из легких благодаря физиологическому механизму [100].

Мутные околоплодные воды с примесью мекония в настоящем исследовании наблюдались в 17,7% случаев, подтверждены статистически

значимые различия по сравнению с контрольной группой. К важным интранатальным факторам риска относят преждевременный разрыв плодных оболочек и хориоамнионит [64]. Доказательства, связывающие хориоамнионит и развитие ГИЭ варьируют. В зависимости от сроков инфицирования и степени воспалительного ответа наблюдается увеличение объема гипоксически-ишемического повреждения мозга или протективный эффект [179, 207, 220].

Показано, что хориоамнионит сопровождается высокими показателями IL6 и IL8 в пуповинной крови [216]. По данным ряда исследований, поражение плаценты и снижение плацентарного кровотока являются значимыми независимыми факторами риска развития ГИЭ [46, 100]. В моделях на животных увеличение уровня гомоцистеина приводило к гиперсекреции провоспалительных цитокинов, таких как IL1 β , IL6, TNF α в гиппокампе и коре головного мозга с развитием в последующем нейрональных и цереброваскулярных эффектов [185]. В исследовании Martinez-Biarge M. et al. при логистическом регрессионном анализе в качестве значимых факторов риска установлены: сроки гестации более 41 недели, преждевременные разрыв плодных оболочек и отслойка плаценты, разрыв матки, брадикардия, окрашенные меконием околоплодные воды, неудачная вакуум-экстракция [223].

Для верификации и прогнозирования гипоксически-ишемической энцефалопатии используют совокупность клинических и лабораторных признаков [6, 68, 118, 123]. Определяющее значение при этом имеет ранняя оценка тяжести повреждения головного мозга, обусловленного церебральной ишемией [1, 63, 77, 190].

Средняя масса детей с ГИЭ при рождении равнялась 3120 г., что было сопоставимо с массой здоровых детей – 3290 г. Однако внутриутробная гипотрофия чаще встречалась в группе с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС (33,3%, $p=0,001$). Число крупных плодов составило 11,5% и 10,0% соответственно. В ряде исследований показано, что внутриутробная

гипотрофия в развитых странах и многоплодная беременность в развивающихся, связаны с развитием ГИЭ [100, 239]. Низкий вес при рождении позиционируется, как один из главных факторов риска при асфиксии [239].

Новорожденные с ГИЭ имели низкие показатели по шкале Апгар на первой – 5 [4; 6], $p=0,008$ и пятой – 6 [5; 6], $p=0,0009$ минутах. Аналогичные данные получены и в других работах [6]. При этом существует мнение, что оценка по шкале Апгар не предсказывает летальный исход и характер неврологических повреждений.

При биохимическом исследовании крови в группе ГИЭ отмечались признаки декомпенсированного метаболического ацидоза: снижение медианы рН крови 7,08 [6,99; 7,17] Ед, $p=0,0004$, высокие показатели pCO_2 – 59,2 [49; 64,4] мм рт. ст, $p=0,0001$, статистически значимый дефицит оснований – -11,6 [-14,0; -9,1] ммоль/л, $p=0,0003$, увеличение уровня лактата 4,6 [3,8; 5,5] ммоль/л, $p=0,0001$, снижение показателей глюкозы крови – 2,9 [2,4; 3,3] ммоль/л, что совпадало с данными других исследований [6, 104, 166, 194].

Ранее показано, что декомпенсированный метаболический ацидоз у новорожденных ассоциирован с высокой летальностью и неблагоприятными резидуальными неврологическими исходами [104, 166]. Установлено, что рН пупочной артерии $<7,00$ является плохим прогностическим критерием у детей с ГИЭ [151].

В ходе исследования было получено увеличение показателей острофазовых белков: С-реактивного белка – 5,0 [2,0; 13,0] мг/л, $p=0,04$, лактатдегидрогеназы – 770 [505; 965] Ед/л, $p<0,001$ у новорожденных с ГИЭ. В гемограмме имело место увеличение абсолютного количества нейтрофильных гранулоцитов – 6,3 [3,2; 9,45] $\cdot 10^9$ /л, $p<0,05$.

В структуре неврологических синдромов в первые сутки после рождения выявлялись брадикардия (33,3%), нарушение сознания в виде сопора (комы) – 19,8%, судорожный синдром – 57,3%, бульбарные нарушения – 3,1%, дыхательные расстройства – 52 (54,2%). В 46,9% случаев

новорожденные нуждались в ИВЛ в связи с дыхательной недостаточностью и угнетением ЦНС, 12,5% из которых – длительностью более 10 дней. В 28 (29,2%) случаях использовалась вазопрессорная поддержка.

Клиническая картина гипоксически-ишемической энцефалопатии показана в многочисленных исследованиях, обзорах и метаанализах последних десятилетий [4, 6, 95, 100, 121, 209, 230]. Известно, что длительная искусственная вентиляция легких при ГИЭ является прогностически неблагоприятным признаком и предсказывает вероятный летальный исход [64].

У 57,4% детей в первые 24 ч. после рождения развился судорожный синдром. Существует мнение, что рецидивирующие судороги в периоде новорожденности способствуют дополнительному высвобождению глутамата вследствие изменения метаболизма в клетках ЦНС и существенно ухудшают прогноз [4, 40, 100].

В 16,7% неблюдений неонатальная энцефалопатия осложнилась присоединением интеркуррентных инфекций, у 9,4% – развилась неонатальная пневмония, у 5,2% – поздний неонатальный сепсис, у 2,1% – некротический энтероколит. Сопоставимые данные представлены в исследовании Shang Q. Ma, et al. [100].

По данным ультразвукового исследования, регистрировались отек мозга (71,8%), гиперэхогенность паренхимы (51,0%) мозга и перивентрикулярных областей (9,7%), расширение межполушарной борозды (30,2%), субэпендимальные кисты (15,6%). В 6,3% случаях формировалась перивентрикулярная лейкомаляция, 9% – поликистозная энцефаломалиция, 2,1% – порэнцефалия, что соответствовало нейросонографической картине ишемического поражения ЦНС у новорожденных [13, 47, 49, 51].

Умерли 6,3% детей, все из которых имели клинические признаки тяжелой гипоксически-ишемической энцефалопатии. Динамическое наблюдение в течение полутора лет удалось осуществить у 67 детей. Неблагоприятные неврологические исходы зарегистрированы в 49,3%

случаев, в том числе гидроцефалия (11,9%), микроцефалия (2,9%), эписиндром (14,9%), нейросенсорная тугоухость (5,9%), потеря зрения (2,9%). В 26,9% случаев диагностирована умеренная, в 22,4% – выраженная задержка психомоторного развития, в 4,5% – ЗПМР с элементами аутизма. У 17,9% сформировался ДЦП, в 4-х случаях – спастический тетрапарез, в 3-х – гемипарез, в 5 – атонически-астатическая форма ДЦП.

В когортных исследованиях, проведенных в Великобритании, Канаде, Австралии летальность у детей до 1,5-2,5 лет колебалась в диапазоне от 7 до 12% [86, 145, 174, 222, 254, 267], в то время, как в развивающихся странах составляла 25-37,5% [136, 152, 195, 293].

В исследовании Dixon G. et al. включено 276 доношенных новорожденных с умеренной и тяжелой энцефалопатией, 34 (12,3%) пациента умерли, 39% (76) из 195 выживших детей имели неблагоприятный резидуальный исход, обусловленный развитием ДЦП (10,1%) или значительной задержкой психомоторного развития по сравнению с 2,9% в контрольной группе. Тяжелые резидуальные последствия формировались у 62% детей с тяжелой энцефалопатией и у 25% – со среднетяжелой. У пациентов с судорогами в неонатальном периоде вероятность детского церебрального паралича была в 3 раза выше, чем без них.

В работе Boskabadi H. et al. сообщалось о 26% смертности пациентов с тяжелой перинатальной асфиксией, при этом у 28% из выживших наблюдалась существенная задержка развития [87]. По данным масштабных исследований у 47% пациентов с тяжелыми вариантами ГИЭ наблюдались неблагоприятные резидуальные последствия (летальный исход, ДЦП, когнитивный дефицит) [176], эписиндром [141], нейросенсорная тугоухость и дефекты зрения [141].

В работе Lee V. L. et al. показано, что широкий спектр когнитивных и поведенческих расстройств формируется не только в раннем детстве, но и в школьном и подростковом возрасте [170], чему способствует стойкое персистирующее воспаление в ЦНС в течение десятилетий, приводящее к

функциональным расстройствам в процессе развития ребенка и во взрослом возрасте [156, 219].

Учитывая значимую роль воспаления в патогенезе ГИЭ, мы анализировали уровень острофазовых показателей, а также сывороточных интерлейкинов и их генного полиморфизма, как потенциальных биомаркеров тяжести повреждения мозга при гипоксически-ишемической травме.

Установлено увеличение IL1 β у пациентов с ГИЭ 2 – 13,2 (7,3-18,2) пг/мл, $p=0,001$ и ГИЭ 3 – 20,8 (14,4-28,9) пг/мл, $p=0,003$. Уровень TNF α повышался у детей обеих групп. Показатели достигали 12,65 (11,3-13,7) пг/мл, $p=0,001$ у детей со среднетяжелой формой ГИЭ и 18,1 (13,2-20,7) пг/мл, $p=0,003$ – в группе ГИЭ 3. Наличие межгрупповых различий в зависимости от степени тяжести воспалительного процесса в ЦНС установлено только для IL1 β .

У детей с резидуальным неврологическим дефицитом в периоде новорожденности определялись более высокие показатели IL1 β – 22,70 (16,8-28,1) пг/мл ($p=0,04$) и TNF α – 19,00 (12,70-21,20) пг/мл ($p=0,002$) по сравнению с младенцами, имевшими в последующем, благоприятные исходы.

IL1 β и TNF α относятся к цитокинам раннего ответа и часто экспрессируются одновременно. IL1 β является важнейшим медиатором провоспалительных реакций [236], обладает нейротоксическими свойствами, приводящими к разрушению гематоэнцефалического барьера и апоптотической гибели нейронов [113, 172].

В серии масштабных исследований установлено увеличение IL1 β у новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией [70, 127, 147, 228, 243], показана его высокая чувствительность и специфичность при диагностике ГИЭ [70]. Установлено, что показатели IL1 β коррелируют с аномалиями нейровизуализации по результатам МРТ [58].

По данным Aly H. et al. уровень IL1 β в спинномозговой жидкости при асфиксии у доношенных новорожденных имеет высокую прогностическую ценность плохого неврологического исхода через 6 и 12 месяцев [147], что

свидетельствует о его центральной роли в продолжающемся повреждении нейронов в латентной фазе гипоксически-ишемического повреждения.

Высокие показатели IL1 β у новорожденных с ГИЭ взаимосвязаны с тяжелыми резидуальными последствиями – развитием эпилепсии [117, 278], гидроцефалии [88, 109, 264], микроцефалии [88, 264], детского церебрального паралича [126, 197, 264], дефектами психомоторного развития в дошкольном, школьном и юношеском возрасте [88, 97, 125, 126, 197, 263, 264, 295].

Однако существует и противоположное мнение. В работе Šumanović-Glamuzina D. et al. не обнаружено увеличения IL1 β у новорожденных, что отчасти обусловлено поздним сбором сывороток после гипоксически-ишемической травмы [52].

Роль TNF α при перинатальной гипоксической травме подтверждена исследованиями последних лет, однако его нейротоксические и нейропротекторные функции до конца не определены [52, 113, 255, 306]. Высокая экспрессия TNF α приводит к апоптозу олигодендроцитов и предотвращает ремиелинизацию, однако на поздних этапах увеличение синтеза TNF α способствует репарации ткани мозга [56].

В клинических исследованиях показано увеличение TNF α в сыворотке крови у новорожденных с ГИЭ [52, 147, 255, 260], что не было подтверждено другими авторами [58, 120, 128, 228, 249]. Установлено, что высокие концентрации TNF α в сыворотке крови у доношенных детей с перинатальной гипоксией прогностически неблагоприятны для формирования серьезных неврологических последствий, таких как ДЦП, когнитивный дефицит [19, 221, 228], эпилепсия [117, 248].

Показатели IL10 при ГИЭ 2 в нашем исследовании составили 6,65 (4,10-11,0) пг/мл ($p=0,07$), при ГИЭ 3 – 6,20 (3,50-10,4) пг/мл ($p=0,43$) и не отличались от группы здоровых детей – 4,50 [3,40; 7,40] пг/мл. Не получено достоверных различий IL10 в группах с благоприятными – 4,50 [3,05; 9,45] пг/мл и неблагоприятными – 7,60 [4,20; 10,60] пг/мл исходами, показатели были сопоставимы с группой здоровых детей.

IL10 – противовоспалительный цитокин, высвобождаемый благодаря активации TLR2 (кВ-зависимый путь) после гипоксии-ишемии [140, 159]. Традиционно провоспалительные цитокины связаны с повреждением нейронов, а противовоспалительные – с их выживанием и восстановлением [128, 284]. Существует мнение, что IL10 может усугублять повреждение мозга в результате пролонгированной компенсаторной противовоспалительной передачи сигналов [128, 158, 182].

В экспериментальной модели Rocha-Ferreira E. et al. уровни IL10 достигали пика через 36 часов после гипоксически-ишемической травмы, после чего постепенно снижались [242]. В исследовании Massaro A. N. et al. содержание IL10 умеренно коррелировало с объемом повреждения головного мозга на МРТ через 16 часов после рождения, однако взаимосвязи отсутствовали при определении IL10 через 5 дней [221]. Установлено увеличение IL10 при тяжелом и среднетяжелом вариантах ГИЭ [108, 128, 229], продемонстрирована связь IL10 с неонатальной смертностью [71, 249] и серьезными неврологическими последствиями [129, 251]. Полученные нами данные согласуются с исследованиями, не подтвердившими увеличение IL10 в сыворотке у новорожденных с ГИЭ [58, 221].

Очевидно, баланс между цитокинами про- и противовоспалительного профиля является ключевым для нейрогенеза и восстановления ткани в третью стадию перинатального гипоксического поражения мозга [134, 210]. Несбалансированная воспалительная реакция в неонатальном периоде может иметь долгосрочные последствия. Zareen Z. et al. показали высокий цитокиновый ответ, сохраняющийся после гипоксически-ишемического поражения ЦНС у детей школьного возраста [108].

В работе проведен анализ биохимических и гематологических показателей в качестве рутинных лабораторных маркеров у детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией.

Значения СРБ возрастали только у детей с ГИЭ 3 (13,0 [8,0; 19,0] мг/л), статистически значимые отличия определялись по сравнению с группой ГИЭ

2 (3,50 [2,0; 9,0] мг/л, $p=0,001$) и здоровыми детьми (2,0 [1,0; 2,3] мг/л, $p=0,003$). Дети с инвалидизирующими исходами ГИЭ имели максимальные показатели С-реактивного белка в первые 72 часа после рождения – 15,0 [8,0; 20,5] пг/мл по сравнению с младенцами, реализовавшими благоприятные исходы – 5,0 [2,0; 13,0] пг/мл ($p=0,001$).

Увеличение лактатдегидрогеназы по сравнению с группой здоровых младенцев выявлено как при тяжелой (881 [530; 1020] Ед/л, $p=0,001$), так и среднетяжелой (735 [480; 950] Ед/л, $p=0,001$) формах заболевания. Выявлены статистически значимые различия у младенцев с неблагоприятными исходами – 927 [725; 1025] Ед/л по сравнению с благоприятными – 540 [430; 800] Ед/л, $p=0,001$.

Повышение абсолютного содержания нейтрофильных гранулоцитов в первые дни после рождения регистрировалось у детей с ГИЭ 2 (6,75 [3,60; 9,66] $\cdot 10^9$ /л) и ГИЭ 3 (8,95 [5,40; 9,20] $\cdot 10^9$ /л) с более высокими показателями у младенцев с инвалидизирующими исходами (9,7 [7,70; 10,40] $\cdot 10^9$ /л, $p=0,003$).

Существует мнение, что гипоксия-ишемия инициирует системное воспаление, что сопровождается увеличением СРБ [82, 124, 251, 262]. Ранее показано, что СРБ увеличивается не менее, чем у 15,8% пациентов [266] и зависит от степени тяжести гипоксии-ишемии [82].

Высокий уровень ЛДГ предлагается, как биомаркер повреждения нейронов и считается хорошим предиктором ГИЭ [78, 94]. Установлена его высокая чувствительность и специфичность при увеличении до 775 МЕ/мл [211] или 1049 ЕД/л в первые сутки после рождения [167].

В ретроспективных исследованиях высокие показатели ЛДГ у новорожденных с ГИЭ предсказывали аномальный индекс психического и психомоторного развития в возрасте 18 мес. [78, 94, 246, 256].

Выявлено, что гипоксически-ишемическое поражение ЦНС усиливает быструю экспрессию провоспалительных интерлейкинов, что приводит к клеточному ответу на повреждение, включая, в первую очередь

нейтрофильные гранулоциты [8, 38, 57, 64]. Активация и увеличение числа нейтрофильных гранулоцитов отмечены в многочисленных клинических исследованиях и экспериментальных моделях и во многом связаны с системными эффектами провоспалительных интерлейкинов [57, 64, 90, 169], показана их взаимосвязь с неблагоприятными исходами [200].

Для определения ассоциации предикторов воспаления при ГИЭ в работе изучены корреляционная взаимосвязь острофазовых показателей и сывороточных интерлейкинов.

Установлена зависимость средней силы уровней СРБ от $IL1\beta$ ($r_s = 0,28$, $p=0,01$) и $TNF\alpha$ ($r_s = 0,35$, $p=0,001$), лактатдегидрогеназы – от $IL1\beta$ ($r_s = 0,27$, $p=0,008$) и $TNF\alpha$ ($r_s = 0,34$, $p=0,007$), количества нейтрофилов – от $IL1\beta$ ($r_s = 0,42$, $p=0,001$) и $TNF\alpha$ ($r_s = 0,30$, $p=0,0001$), показателей лактата – только от $IL1\beta$ ($r_s = 0,27$, $p=0,007$). Не выявлено взаимосвязи между содержанием белков острой фазы и нейтрофильных гранулоцитов и показателями $IL10$.

Полученные закономерности согласуются с представлением о том, перинатальная гипоксия кроме церебрального повреждения может сопровождаться признаками системного воспалительного ответа с увеличением таких острофазовых показателей, как СРБ, ЛДГ, число нейтрофильных гранулоцитов в периферической крови [8, 38, 64, 177].

Высвобождению цитокинов и хемокинов клетками микроглии, поступающих в системный кровоток при гипоксической травме, приводит к увеличению СРБ, активации нейтрофильных гранулоцитов. Цитокины индуцируют пролиферацию лейкоцитов, увеличивают количество циркулирующих нейтрофилов, способствуют эндотелиальной трансмиграции и накоплению клеток в поврежденных участках мозга [64, 177, 218].

При проведении ROC-анализа установлена высокая предсказательная ценность для лактатдегидрогеназы, нейтрофильных гранулоцитов, $IL1\beta$ и $TNF\alpha$, но не для показателей СРБ, лактата и $IL10$.

Показано, что в качестве факторов риска формирования резидуального неврологического дефицита при ГИЭ могут быть использованы значения $IL1\beta$

>16,8 пг/мл (OR=29,0; 95% CI: 7,24-116,4), TNF α > 17,4 пг/мл (OR=11,33; 95% CI: 2,46-52,15), а также показатели ЛДГ >750 Ед/л мл (OR=5,09; 95% CI: 1,86-13,9) и абсолютного содержания нейтрофильных гранулоцитов > 6,9*10⁹/л (OR=16,98; 95% CI: 5,28-54,63).

В качестве молекулярно-генетических предикторов в работе были изучены аллельные варианты генов *IL1 β 31 C>T* (rs1143627); TNF α *308 G>A* (rs1800629) и *IL10 592 C>A* (rs1800872) и их значение при гипоксически-ишемической энцефалопатии.

У новорожденных с ГИЭ более распространенным по сравнению с контрольной группой был минорный аллель *31T* (62% и 46,7%, OR=1,86; 95% CI: 1,03–3,34; p=0,04) и гомозиготный по данному аллелю генотип – *31T/T* (41,7% и 20%, OR= 2,86; 95% CI: 1,07–7,63; p=0,03). Статистически значимая ассоциация ГИЭ была подтверждена для генотипов с высокой экспрессией ИЛ-1 β – *TT+CT* (OR= 3,09; 95% CI: 1,26–7,61; p=0,01).

Распространенность минорного аллеля -*31T* и гомозиготного по редкому аллелю генотипа не зависела от степени тяжести гипоксически-ишемического поражения центральной нервной системы. В обеих группах (ГИЭ 2 и ГИЭ 3) выявлена статистически значимое преобладание аллеля *31T* (OR=1,71; 95% CI: 0,93–3,15; p=0,0049 и OR= 2,35; 95% CI: 1,09–5,08; p=0,03) и генотипа – *31T/T* (OR= 2,67; 95% CI: 0,07–7,35; p=0,049 и OR=3,43; 95% CI: 1,05–11,17; p=0,037 соответственно). Однако установлены различия в полиморфизме гена *IL1 β (-31C/T)* в зависимости от исхода. У детей с неблагоприятным неврологическим исходом и умерших детей чаще встречались аллель *T* (71,8%, OR=2,52; 95% CI: 1,01–6,53; p=0,049) и генотип *TT* (59,0%, OR=1,99; 95% CI: 1,01–3,99; p=0,049).

Наиболее высокий синтез ИЛ1 β отмечался у младенцев с генотипом *IL1 β (-31) T/T* (18,15 [11,85; 24,0] пкг/мл), достоверные различия определены для респондентов *C/C* (8,40 [5,0; 12,30] пкг/мл, p=0,03, но не *C/T* (14,10 [8,10; 17,40] пкг/мл, p=0,06).

Ранее показано, что этот аллель связан с $IL1\beta$ – зависимым воспалением и увеличивает риск прогрессирования воспалительного процесса [99]. Существует мнение о том, что замена одного из оснований в промоторе $IL1\beta$ увеличивает синергетическую активность факторов транскрипции $C/EBP\beta$ и PU. 1, что приводит к увеличению экспрессии $IL1\beta$ в моноцитах и клетках микроглии [218].

Новорожденные, несущие аллель rs1143627T, ассоциированный с высоким синтезом $IL1\beta$, склонны к развитию тяжелых вариантов ГИЭ. Связь между продукцией $IL1\beta$ и тяжелым течением ГИЭ согласуется с представленными в литературе данными о том, что NLRP3-инфламмосомозависимый $IL1\beta$ усиливает рекрутирование нейтрофилов и усугубляет повреждение ткани [218], о чем свидетельствуют полученные ранее данные о корреляции между $IL1\beta$ и содержанием НГ в периферической крови.

Высокий уровень экспрессии $IL1\beta$ у новорожденных с генотипом TT (rs1143627) ассоциировался с тяжелым течением и неблагоприятными исходами. Наши наблюдения позволяют предположить, что устойчивая продукция $IL1\beta$ вызывает стойкое повреждение нейронов и развитие необратимых неврологических последствий.

Ранее было показано, что пациенты, несущие генотип $-31TT$ в промоторе $IL1\beta$, демонстрируют повышенные уровни ИЛ-1 β у пациентов с болезнью Альцгеймера. Существует данные о том, что промоторы $IL1\beta$, несущие аллели T и C , обладают разной способностью связываться с ядерными белками (факторами транскрипции) при этом вариантный аллель T связан с усиленной экспрессией $IL1\beta$ по сравнению с аллелем дикого типа – C [160]. Дети с генотипом $IL1\beta$ $-31TT$ имели высокий риск развития внутрижелудочковых кровоизлияний [237].

При определении полиморфных аллелей $TNF\alpha$ выявлено, что у младенцев с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС (67,7%) также, как у здоровых детей (90,0%) преобладал дикий аллель $308G$, при этом у

пациентов с ГИЭ он встречался реже, чем у здоровых младенцев ($p < 0,001$). Наличие мутантного аллеля *308A* увеличивало риск развития заболевания (OR=4,29; 95% CI: 1,75-10,52).

Генотип *TNF α G308G* был распространенным, как в группе ГИЭ (53,1%), так и в группе сравнения (83,3%), однако у младенцев с гипоксически-ишемической энцефалопатией он встречался реже ($p = 0,004$). У 17,7% ($p = 0,049$) новорожденных в группе ГИЭ определялся гомозиготный вариант генотипа по редкому аллелю *A308A*, увеличение вероятности заболевания у обладателей которого составляло 6,24 (95% CI: 0,79-49,02).

При анализе аллелей и генотипов в зависимости от степени тяжести ГИЭ статистически значимых различий установлено не было. Высокая распространенность мутантного аллеля *308A* подтверждалась, как в группе ГИЭ 2 – 30,7%, $p < 0,003$, так и в группе с ГИЭ 3 – 38,5%, ($p < 0,001$) с возрастанием риска развития ГИЭ до 3,86 (95% CI: 1,54-9,6) и 5,63 (95% CI: 2,05-15,5) соответственно. У резидентов генотипа *A308A* увеличивалась вероятность тяжелой степени гипоксически-ишемического поражения мозга (26,9%, OR= 10,7; 95% CI: 1,21–9,32; $p = 0,012$).

Определялись статистически значимые различия в зависимости от исхода заболевания. Неблагоприятные неврологические последствия и летальный исход чаще отмечались у обладателей аллеля *308A* (48,7%, OR=2,97; 95% CI: 1,45-6,08, $p = 0,003$) и генотипа *A308A* (33,3%, OR=3,63; 95% CI: 1,05-12,52, $p = 0,035$).

Максимальная экспрессии TNF α установлена у новорожденных с генотипом *TNF α 308 A/A* – 8,40 [13,5; 21,5] пкг/мл. В группе *308 G/A* показатели TNF α достигали 13,6 [10,45; 18,0] пкг/мл, однако статистически значимые различия выявлены только по отношению к группе *308 G/G* – 12,4 [9,40; 17, 10] пкг/мл.

Близкие данные получены в исследовании S. Khodjimetova et al. [138]. Выявлено увеличение риска развития ВЖК у пациентов, являющихся резидентами аллеля *TNF α 308A* [243, 289]. Однако в исследовании А. Неер у

недоношенных детей получены противоположные данные [74]. Не установлено связи полиморфизма *TNF α G308A* с развитием ДЦП у глубоконедоношенных детей [168].

Известно, что биаллельный полиморфизм (*G*→*A*) в положении -308 в области промотора *TNF α* обеспечивает увеличение транскрипции гена по сравнению с диким аллелем в 6-7 раз и может играть ключевую роль в развитии воспалительного ответа. Известно, что *TNF α* вызывает апоптоз, пролиферацию и дифференцировку клеток. Кроме того, перепроизводство *TNF α* связано с различными системными симптомами [56]. Ранее показана ассоциация генотипов *TNF α (-308G/G)* и *TNF α (-308G/A)* с повышенным уровнем СРБ, *TNF α* и *IL1 β* [73, 290].

В группе детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией чаще, чем у здоровых детей встречался редкий аллель *IL10 592A* (44,8%) и гомозиготный генотип *A592A* (29,2%), однако различия не были статистически значимы. Не установлено различий в полиморфизме гена *592A/A* у новорожденных в зависимости от степени тяжести заболевания.

У детей с резидуальными последствиями ГИЭ и умерших детей (65,4%) чаще, чем в группе с благоприятным исходом (37,9%), $p=0,001$, выявлялся редкий аллель *592A* с увеличением вероятности неблагоприятного исхода у его обладателей – (OR=3,1; 95% CI: 1,57-6,13).

У детей с инвалидизирующими исходами ГИЭ преобладал гомозиготный генотип *592 A/A* (53,8%) по сравнению с группой с благоприятным исходом (18,2%) $p=0,002$, с увеличением риска резидуальных последствий – OR= 5,25; 95% CI:1,77-15,5.

Экспрессия *IL10* была сопоставимой у пациентов с генотипом *592 C/C* – 5,25 [4,10; 10,20], *592 C/A* – 7,65 [3,90; 10,60], *592 A/A* – 7,40 [3,65; 11,20] пкг/мл. Не установлено существенных различий у обладателей редкого гена *592A* и генотипов *592 A/A+592 C/A* – 7,55 [3,70; 11,0] пкг/мл, $p=0,38$.

Интерлейкин 10 относится к противовоспалительным интерлейкинам, имеющим большое значение в гомеостазе нейронов и выживании клеток [110].

При этом IL10 способен участвовать в возникновении и развитии воспалительных заболеваний.

Ген *IL10* человека расположен на хромосоме 1 и картирован в месте соединения 1q31 и 1q32. В современных исследованиях изучены полиморфные варианты 5-го промоторного участка гена *IL10*, включающие полиморфизмы микросателлитных повторов и точечные мутации, в том числе -592 C/A, -819 C/T, 1082 G/A. Установлено, что эти SNP сопровождаются усилением транскрипции матричной РНК [72, 110].

Несколько функциональных исследований подтвердили, что аллели -592A, -819T, 1082A связаны с низкой продукцией IL10 [72, 178]. Аллель -592A был связан с повышенной частотой ревматоидного артрита [142] и ишемического инсульта у взрослых [235]. Установлено, что уровень IL10 значительно выше у пациентов с ревматоидным артритом, резидентов аллеля rs1800872(-592A/C) [142] и пациентов с ишемическим инсультом [235].

Ранее продемонстрирована связь неонатальной энцефалопатии и полиморфизма *IL10* (1082 G/A) [50, 138, 272], а также связь формируемая ДЦП и полиморфизмов IL10 rs3024490 и rs1800871 [102].

Продолжительность терапевтического окна для новорожденных с ГИЭ ограничена шестью часами, в последующем реализуются апоптоические и воспалительные пути [83]. Ведется поиск объективных биомаркеров с высокой чувствительностью и специфичностью для диагностики новорожденных с гипоксическим поражением ЦНС.

Таким образом, в работе установлено, что факторами риска развития ГИЭ являются первые роды (OR=3,65; 95% CI: 1,53-8,68), инфекции во время беременности (OR=2,74; 95% CI: 1,02-7,31), плацентарная недостаточность (OR=6,69; 95% CI: 0,85-52,42), слабая родовая деятельность (OR=8,03; 95% CI: 1,80-35,77).

В клинико-лабораторной картине ГИЭ среднетяжелой и тяжелой степени определяются низкие показатели по шкале Апгар, брадикардия (33,3%), угнетение (92,7%), нарушение сознания в виде сопора или комы

(19,8%), судороги (57,3%), дыхательные расстройства (54,2%), снижение показателей кислотности крови 7,08 [6,99; 7,17], дефицит оснований – -11,6 [-14,0; -9,1], повышение парциального давления углекислого газа – 59,2 [49,0; 64,4], лактата – 4,6 [3,8; 5,5] Ед/л, СРБ – 13,0 [8,0; 17,5] мг/л.

В числе резидуальных неврологических последствий к 18 месяцам у детей с тяжелой и среднетяжелой формами ГИЭ формируются гидроцефалия (11,9%), микроцефалия (2,9%), эписиндром (14,9%), нейросенсорная тугоухость (5,9%), потеря зрения (2,9%). У 50,7% детей определяются низкие показатели речевого и психомоторного развития, в том числе умеренная (26,9%) и выраженная (22,4%) ЗПМР, а также ЗПМР с элементами аутизма (4,5%).

У новорожденных с ГИЭ 2 и 3 ст. отмечается высокая экспрессия провоспалительных интерлейкинов – IL1 β и TNF α , зависящая от степени тяжести ГИЭ. Уровень С-реактивного белка увеличивается только при тяжелом поражении ЦНС, в то время как показатели лактатдегидрогеназы и нейтрофильных гранулоцитов возрастают у детей с гипоксическим повреждением ЦНС второй и третьей степени и не зависят от степени тяжести поражения ЦНС. Показатели СРБ, ЛДГ и содержания нейтрофилов зависят от экспрессии IL1 β и TNF α , лактата – только от IL1 β .

У детей с неблагоприятными резидуальными последствиями ГИЭ в периоде новорожденности наблюдается существенное увеличение IL1 β и TNF α , СРБ, ЛДГ в сыворотке крови, а также абсолютного содержания нейтрофильных гранулоцитов в гемограмме.

Показатели IL1 β >16,8 пг/мл (OR=29,0; 95% CI: 7,24-116,4), TNF α > 17,4 пг/мл (OR=11,33; 95% CI: 2,46-52,15), ЛДГ >750 Ед/л мл (OR=5,09; 95% CI: 1,86-13,9), абсолютного содержания НГ > 6,9*10⁹/л (OR=16,98; 95% CI: 5,28-54,63) в первые трое суток после рождения могут применяться в качестве предикторов неврологического дефицита в раннем детстве.

В ходе генетических исследований установлена связь между полиморфизмом генов IL1 β , TNF α , IL10 и развитием гипоксического

поражения ЦНС у детей русской национальности, проживающих на Юге России. Факторами риска тяжелой формы ГИЭ являются полиморфные аллели *IL1 β* (-31)*T*, *TNF α* 308*A* и генотипы *IL1 β* (-31)*T/T* и *TNF α* 308*A/A*.

Формирование неблагоприятных резидуальных последствий гипоксически-ишемического поражения ЦНС реализуется преимущественно у резидентов аллелей *IL1 β* (-31)*T*, *TNF α* 308*A*, *IL10* 592*A* и генотипов *IL1 β* (-31)*T/T*, *TNF α* 308*A/A* и *IL10* 592*A/A*. В то время как носительство аллелей *IL1 β* (-31)*C*, *TNF α* 308*G*, *IL10* 592*C* и генотипа *TNF α* 308*G/G* обладает протективными свойствами.

Существует зависимость между полиморфизмом генов и экспрессией интерлейкинов в сыворотке крови новорожденных. Высокая продукция *IL1 β* ассоциирована с аллелем *IL1 β* (-31)*T* и генотипом *IL1 β* (-31)*T/T*, *TNF α* – аллелем 308*A*.

Таким образом, результаты исследования подтверждают то, что маркеры воспаления и повреждения клеток, такие как ЛДГ, СРБ, количество нейтрофильных гранулоцитов и провоспалительные интерлейкины – *IL1 β* и *TNF α* могут использоваться в качестве дополнительных рутинных показателей для диагностики ГИЭ 2 и 3 ст. и прогнозирования неблагоприятных неврологических исходов. Индивидуальные генетические различия, определяющие продукцию цитокинов, могут быть вовлечены в патогенез гипоксического поражения мозга у новорожденного и должны учитываться в терапии и профилактике прогрессирующего поражения ЦНС.

ВЫВОДЫ

1. У новорожденных с гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы тяжелой и среднетяжелой степени наблюдается увеличение интерлейкина 1β , фактора некроза опухолей α , лактатдегидрогеназы в сыворотке крови и абсолютного содержания нейтрофильных гранулоцитов в гемограмме. Показатели С-реактивного белка, лактатдегидрогеназы и нейтрофильных гранулоцитов взаимосвязаны с экспрессией провоспалительных интерлейкинов (интерлейкина 1β , фактора некроза опухолей α).

2. Высокие уровни интерлейкина 1β , фактора некроза опухолей α , С-реактивного белка, лактатдегидрогеназы, нейтрофильных гранулоцитов могут быть использованы в качестве предикторов инвалидизирующих неврологических исходов при гипоксически-ишемическом поражении центральной нервной системы.

3. У детей русской национальности с гипоксически-ишемической энцефалопатией, проживающих на Юге России, определяется высокая распространенность аллелей $IL1\beta (-31)T$, $TNF\alpha 308A$ и генотипов $IL1\beta (-31)T/T$ и $TNF\alpha 308A/A$ и увеличение риска развития заболевания у их обладателей.

4. Факторами риска тяжелой формы гипоксически-ишемической энцефалопатии являются полиморфные аллели $IL1\beta (-31)T$, $TNF\alpha 308A$ и генотипы $IL1\beta (-31)T/T$ и $TNF\alpha 308A/A$.

5. Формирование неблагоприятных резидуальных последствий гипоксически-ишемического поражения центральной нервной системы реализуется преимущественно у резидентов аллелей $IL1\beta (-31)T$, $TNF\alpha 308A$, $IL10 592A$ и генотипов $IL1\beta (-31)T/T$, $TNF\alpha 308A/A$ и $IL10 592A/A$. Аллели $IL1\beta (-31)C$, $TNF\alpha 308G$, $IL10 592C$ и генотип $TNF\alpha 308G/G$ обладают протективными свойствами.

6. Высокая продукция интерлейкина 1β наблюдается у респондентов аллеля *IL1 β* (-31)T и генотипа *IL1 β* (-31)T/T, фактора некроза опухолей α – аллеля 308A. Не установлено ассоциативной связи между полиморфизмом гена *IL10* и высоким синтезом интерлейкина 10.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В качестве клинических предикторов гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных учитывать первые роды (OR=3,65; 95% CI: 1,53-8,68), инфекции во время беременности (OR=2,74; 95% CI: 1,02-7,31), плацентарную недостаточность (OR=6,69; 95% CI: 0,85-52,42), слабую родовую деятельность (OR=8,03; 95% CI: 1,80-35,77).

2. Наряду с биомаркерами воспаления следует определять уровни цитокинов крови – интерлейкина 1β , фактора некроза опухолей α в первые 72 часа после рождения для диагностики тяжелой и среднетяжелой гипоксически-ишемической энцефалопатии.

3. Использовать увеличение интерлейкина $1\beta >16,8$ пг/мл, фактора некроза опухолей $\alpha >17,4$ пг/мл, лактатдегидрогеназы >750 Ед/л, абсолютного содержания нейтрофильных гранулоцитов $>6,9 \cdot 10^9$ /л в качестве потенциальных предикторов инвалидизирующих резидуальных исходов у детей с тяжелой и среднетяжелой формами гипоксического поражения центральной нервной системы.

4. Учитывать наличие полиморфных аллелей *IL1 β (-31)T*, *TNF α 308A* и генотипы *IL1 β (-31)T/T* и *TNF α 308A/A* в качестве факторов риска тяжелого течения гипоксически-ишемической энцефалопатии и предикторов развития в последующем неврологического дефицита.

5. Использовать методы активной терапии и профилактики резидуальных последствий у детей, имеющих высокие показатели биомаркеров воспаления (лактатдегидрогеназа, абсолютное содержание нейтрофилов, интерлейкин 1β , фактор некроза опухолей α), а также являющихся резидентами *IL1 β (-31)T*, *TNF α 308A*, *IL10 592A* и генотипов *IL1 β (-31)T/T*, *TNF α 308A/A* и *IL10 592A/A*.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Выполненная диссертационная работа является законченным исследованием. Вместе с тем, необходимы дальнейшие исследования на различных когортах новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией для формирования панели биомаркеров с высокой чувствительностью и специфичностью, что позволит применять терапевтическую гипотермию, а также инновационные методы лечения (топирамат, эритропоэтин, стволовые клетки или генноинженерные моноклональные антитела) в рамках терапевтического окна.

Исследования сигнальных путей и генетических предикторов целесообразны для разработки профилактических и терапевтических стратегий, направленных на предотвращение неврологического дефицита при гипоксически-ишемическом поражении мозга у младенцев.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АД – артериальное давление
- АЛТ – аланиновая аминотрансфераза
- АСТ – аспартатаминотрансфераза
- АТФ – аденозинтрифосфат
- АФК – активные формы кислорода
- БИ – благоприятный исход
- ВЖК – внутрижелудочковое кровоизлияние
- ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия
- ГЭБ – гематоэнцефалический барьер
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ДЦП – детский церебральный паралич
- ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
- ЗПМР – задержка психомоторного развития
- ИВЛ – искусственная вентиляция легких
- КГ – контрольная группа
- КОС – кислотно-основное состояние
- КФК – креатинфосфокиназа
- ЛДГ – лактатдегидрогеназа
- М1, М2а, М2b – макрофаги
- мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота
- МРТ – магнитно-резонансная томография
- НГ – нейтрофильные гранулоциты
- НИ – неблагоприятный исход
- ОКС – операция кесарева сечения
- ОША – оценка по шкале Апгар
- ПМР – психомоторное развитие
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РНК – рибонуклеиновая кислота

СРБ – С-реактивный белок

УЗИ – ультразвуковое исследование

ЦНС – центральная нервная система

ЧД – частота дыхания

ЧМН – черепномозговые нервы

ЧСС – частота сердечных сокращений

ЩФ – щелочная фосфатаза

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

ЭЭГ – электроэнцефалография

A – аденин

AUC – площадь под кривой

BE – дефицит оснований

C – цитозин

CD – номенклатура антигенных маркеров клеток иммунной системы

CI – доверительный интервал

DAMPs – молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением

DQ – коэффициент интеллектуального развития

G – гуанин

IL – интерлейкин

MHC – главный комплекс гистосовместимости

MMP – матриксная металлопротеиназа

MQ – коэффициент моторного развития

NO – оксид азота

NOS – синтаза оксида азота

NPV – отрицательная предсказательная ценность

OR – анализ шансов

pCO₂ – парциальное давление углекислого газа

pH – водородный показатель, кислотность

pO₂ – парциальное давление кислорода

PPV – положительная предсказательная ценность

ROC – анализ качества модели

Se – чувствительность

SNP – одиночные единичные замены

Sp – специфичность

SpO₂ – степень насыщения крови кислородом

T – тимин

TGF – трансформирующий фактор роста

TLR – рецептор врожденного иммунитета

TNF – фактор некроза опухоли

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анурьев, А. М. Гипоксически-ишемические поражения головного мозга у недоношенных новорожденных / А. М. Анурьев, В. И. Горбачев // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. – 2019. – Т. 119, № 8-2). – С. 63-69. – DOI 10.17116/jnevro201911908263.
2. Биомаркеры детского церебрального паралича / Т. А. Камилова, А. С. Голота, Д. А. Вологжанин [и др.] // Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация. – 2021. – Т. 3, № 3. – С. 301-317. – DOI 10.36425/rehab79386.
3. Бодиенкова, Г. М. Роль полиморфизма и экспрессии отдельных генов цитокинов в формировании патологии / Г. М. Бодиенкова, Ж. В. Титова // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 1-4. – С. 616-620. – URL: <https://www.natural-sciences.ru/ru/article/view?id=34866> (дата обращения: 02.08.2017).
4. Ветчинкина, Ю. В. Поиск биомаркеров церебральной гипоксии у новорождённых / Ю. В. Ветчинкина, А. П. Скромнец // Известия Коми научного центра УрО РАН. – 2013. – Вып. 1, № 13. – С. 56-62.
5. Врождённый спастический церебральный паралич: генетические аспекты патогенеза / А. Г. Притыко, Н. В. Чебаненко, П. Л. Соколов [и др.] // Acta biomedica scientifica. – 2019. – Т. 4, № 3. – С. 28-39. DOI: 10.29413/ABS.2019-4.3.4
6. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия у новорожденных / А. П. Скоромец, Г. Д. Смолко, С. А. Дамбинова [и др.] // THE JOURNAL OF NEUROSCIENCE of В.М. Mankovskyi'. – 2014. – Т. 2, № 3. – С. 25-28.
7. Деев, Р. В. Гистогенез микроглии: история изучения / Р. В. Деев, М. В. Диконенко, У. П. Гречаник // Гены и клетки. – 2019. – Т. 14, №1. – С. 6-15. – DOI: 10.23868/201903002
8. Диагностическое и прогностическое значение амплитудноинтегрированной электроэнцефалографии у новорожденных с

гипоксически-ишемической энцефалопатией / А. А. Задворнов, А. В. Голомидов, Е. В. Григорьев, Е. Г. Цой // Анестезиология и реаниматология. – 2018. – № 3. – С. 76-85. – DOI: 10.17116/anaesthesiology201803176

9. Динамика содержания нейротрофических и проапоптотических цитокинов в сыворотке крови у новорожденных с острой асфиксией / Г.С. Голосная, А.В. Яковлева, А.В. Заплатников // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2016. – Т. 95, № 1. – С. 27-34.

10. Ергиева, С. И. Оценка существующих подходов к диагностике перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС у новорожденных / С. И. Ергиева, Н. В. Малюжинская // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6. – С. 1051.

11. Жидкова, И. И. Генетические факторы (гены рецепторов врожденного иммунитета – TLRs) в патогенезе атеросклероза и его осложнений / И. И. Жидкова, А. В. Понасенко, М. В. Хуторная, А. Г. Кутихин, О. Л. Барбараш // Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19, № 3. – С. 241-254. – DOI: 10.15789/1563-0625-2017-3-241-254

12. Задворнов, А. А. Биомаркеры перинатального поражения центральной нервной системы / А. А. Задворнов, А. В. Голомидов, Е. В. Григорьев // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2017. – № 1. – С. 47–57.

13. Зарубин, А. А. Влияние аппаратной терапевтической гипотермии на исход гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей: дис. ... кан. мед. наук: 14.01.08. / Зарубин Александр Анатольевич. – Иркутск, 2021. – 160 с.

14. Значение цитокинового статуса в прогнозировании степени тяжести гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных / З. С. Камалов, З. Ж. Рахманкулова, Ш. Х. Ходжиметова, М. Т. Алимова // Журнал теоретической и клинической медицины. – 2021. – № 4. – С. 87-90.

15. Изменение сывороточного уровня молекулы клеточной адгезии ALCAM у новорожденных детей с перинатальными гипоксическими

поражениями ЦНС (2) / Л. И. Ильенко, Д. И. Албагачиева, Е. С. Сахарова, О. В. Тарасова // Детская и подростковая реабилитация. – 2019. – Т. 4, № 40. – С. 31.

16. Иова, А. С. Пути повышения чувствительности шкалы комы Глазго у детей (педиатрическая шкала комы Глазго, Санкт-Петербург) / А. С. Иова, Л. М. Щугарева, Ю. А. Гармашов // Матер. Первой Всерос. конф. по детской нейрохирургии. – М., 2003. – С. 134–135.

17. Клинические проявления перинатального поражения ЦНС у новорожденных в зависимости от степени задержки внутриутробного развития / Л. В. Кравченко, И. И. Крукиер, А. А. Афонин, М. А. Левкович // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2021. – Т. 66, № 4. – С. 270.

18. Концентрация матриксных металлопротеиназ-2,9 у новорожденных с перинатальной гипоксией / Е. И. Малинина, Т. В. Чернышева, О. А. Рычкова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 2. – С. 111.

19. Концентрация цитокинов как ранний маркер гипоксического повреждения головного мозга у доношенных новорожденных / М. С. Панова, А. С. Панченко, А. М. Зиганшин, А. М. Мудров // Лечение и профилактика. – 2021. – Т. 11, № 1. – С. 20-25.

20. Коржевский, Д. Э. Нейроглия и ее участие в патогенезе заболеваний нервной системы. Актовая речь на заседании Ученого совета ФГБНУ «ИЭМ» 12 декабря 2019 г. – СПб, 2019. – 29 с.

21. Крохалева, Ю. А. Генетический полиморфизм TOLL-рецепторов у больных ишемическим инсультом в Забайкальском крае / Ю. А. Крохалева, Н. Н. Страмбовская, А. Е. Алферова // Забайкальский медицинский вестник. – 2014. – № 4. – С. 66-72.

22. Левкович, М. А. Показатели цитокинового статуса у новорожденных с перинатальным поражением ЦНС от матерей с хронической плацентарной недостаточностью / М. А. Левкович, В. А. Линде, Т. Г. Плахотя // Медицинский вестник Юга России. – 2015. – № 3. – С. 78-81.

23. Маркер гипоксического повреждения головного мозга у доношенных новорожденных / М. С. Панова, А. С. Панченко, А. М. Зиганшин, А. М. Мудров // Лечение и профилактика. – 2021. – Т. 11, № 1. – С. 20-25.
24. Механизмы и биохимические маркеры оксидативного стресса при постгипоксической патологии ЦНС у недоношенных новорожденных / А. Г. Соловьева, Н. В. Диденко, Е. Г. Новопольцева [и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2020. – Т. 99, № 1. – С. 164-169. – DOI 10.24110/0031-403X-2020-99-1-164-169.
25. МРТ-паттерны гипоксически-ишемического поражения головного мозга у доношенных новорожденных / Т. В. Мелашенко, А. В. Поздняков, В. С. Львов, Д. О. Иванов // Педиатр. – 2017. – Т. 8, № 6. – С. 86-93. – DOI: 10.17816/PED8686-93
26. Пальчик, А. Б. Введение в неврологию развития / А. Б. Пальчик. – СПб.: Коста, 2007. – 367с.
27. Пальчик, А. Б. Эволюционная неврология / А. Б. Пальчик. – СПб.: Питер, 2002. – 384 с.
28. Пальчик, А.Б. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных / А.Б. Пальчик, Н.П. Шабалов. – 6-е изд. – МЕДпресс-информ, 2021. – 304 с.
29. Панова, М. С. Роль цитокинов и их генетического полиморфизма в развитии гипоксически-ишемической энцефалопатии у доношенных новорожденных детей / М. С. Панова, А. С. Панченко // Педиатр. – 2017. – Т. 8, № 6. – С. 99-104. – DOI 10.17816/PED8699-104.
30. Панченко, А. С. Биохимические маркеры гипоксического поражения головного мозга у доношенных новорожденных / А. С. Панченко, М. С. Панова // Доктор.Ру. – 2020. – Т. 19. – № 3. – С. 12-16. – DOI 10.31550/1727-2378-2020-19-3-12-16.
31. Панченко, А. С. Особенности содержания провоспалительных цитокинов в пуповинной крови доношенных новорожденных детей с гипоксическими событиями / А. С. Панченко, М. С. Панова // Сибирский

медицинский журнал (Иркутск). – 2019. – Т. 157, № 2. – С. 35-37. – DOI 10.34673/ismu.2019.156.1.007.

32. Панченко, А. С. Содержание провоспалительных цитокинов в пуповинной крови у доношенных новорожденных детей с гипоксическими событиями / А. С. Панченко, М. С. Панова // Забайкальский медицинский вестник. – 2019. – № 4. – С. 84-89.

33. Перинатальные поражения центральной нервной системы у новорожденных: учебное пособие / З. А. Лютая, А. И. Кусельман, С. П. Чубарова; под ред. проф. А. И. Кусельмана. – Ульяновск: УлГУ, 2016. – 100 с.

34. Повышение эффективности терапии новорожденных доношенных детей с тяжелой асфиксией в родах / А. П. Скоромец, Л. М. Щугарева, С. В. Шумилина, Ю. В. Горелик // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. – 2016. – Т. 116, № 4. – С. 83-88. – DOI: 0.17116/jnevro20161163283-88

35. Поиск биологических маркеров дизрегуляционных нарушений при детском церебральном параличе / О. А. Башкина, З. М. Нуржанова, А. А. Шилова [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2020. – Т. 15, № 1. – С. 36-48. – DOI 10.17021/2020.15.1.36.48.

36. Показатели нейромодулина и В-аррестина-2 у глубоко недоношенных новорожденных с перинатальным поражением ЦНС / А. В. Андреев, Н. В. Харламова, А. А. Песенкина, Е. О. Кряжева // Academy. – 2021. – № 6 (69). – С. 63-68. – DOI 10.24411/2412-8236-2021-10602.

37. Поражение Центральной нервной системы у новорожденных детей: новые возможности персонафицированной диагностики / Е. Б. Павлинова, А. А. Губич, Н. Ю. Власенко [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 6. – С. 203. – DOI 10.17513/spno.29480.

38. Сергеева, В. А. Предикторы гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей / В. А. Сергеева, Ю. С. Александрович, Н. С. Петренкова // Вестник анестезиологии и

реаниматологии. – 2017. – Т. 14, № 4. – С. 16-22. – DOI: 10.21292/2078-5658-2017-14-4-16-22

39. Сиротина, З. В. Гипоксически-ишемические поражения ЦНС у новорожденных детей (клиническая лекция) / З. В. Сиротина // Здравоохранение Дальнего Востока. – 2017. – № 4(74). – С. 65-74.

40. Скоромец, А. П. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия у новорожденных / А. П. Скоромец, Г. Д. Смолко, С. А. Дамбинова // Журнал неврологии им. Б. М. Маньковського. – 2014. – Т. 2, № 3. – С. – 25-28.

41. Современные аспекты формирования перинатального поражения ЦНС у новорожденных / М. А. Левкович, В. А. Линде, Т. Г. Плахотя, А. Ю. Левкович // Российский иммунологический журнал. – 2015. – Т. 9 (18), № 3-1. – С. 127-129.

42. Современные данные о патогенезе и лечении гипоксически-ишемических поражений головного мозга у новорожденных / Г. А. Каркашадзе, А. В. Аникин, Е. П. Зиминая, [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2016. – Т. 13, № 5. – С. 452-467. – DOI: 10.15690/pf.v13i5.1641

43. Соловьева, Э. Ю. От концепции окислительного стресса к модуляции клеточной сигнализации / Э. Ю. Соловьева, Д. Т. Чипова // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2015. – Т. 115, № 8. – С. 105-111. – DOI: 10.17116/jnevro201511581105-111

44. Сороковикова, Т. В. Клинико-anamнестические, ультразвуковые и биохимические особенности перинатальных поражений ЦНС у доношенных новорожденных / Т. В. Сороковикова, Л. В. Чичановская, Е. М. Корнюшо // Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. – 2016. – № 8. – С. 46-49.

45. Состояние цитокинового статуса у новорожденных с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС от матерей с хронической плацентарной недостаточностью, осложненной синдромом задержки развития плода / М. А. Левкович, И. И. Крукиер, Л. В. Кравченко [и др.]

др.] // Российский иммунологический журнал. – 2016. – Т. 10 (19), № 2-1. – С. 234-235.

46. Сравнительный анализ факторов риска у женщин с антенатальной асфиксией плода / А. А. Олина, Г. К. Садыкова, Е. В. Ширинкина, Л. М. Семягина // Медицинская наука и образование Урала. – 2018. – № 2. – С. 14-18.

47. Структурные изменения головного мозга при гипоксически-ишемическом поражении центральной нервной системы у новорожденных разного гестационного возраста. Сопоставление эхографической картины с данными морфологических исследований / Ю. К. Быкова, Е. А. Филиппова, К. В. Ватолин [и др.] // НОНАТОЛОГИЯ: НОВОСТИ, МНЕНИЯ, ОБУЧЕНИЕ. – 2016. – Т. 3, №13. – С. 28-38.

48. Федеральное руководство по детской неврологии / Под редакцией профессора Гузевой В. И. – М: ООО “МК”, 2016. – 656 с.

49. Халиков, А. Д. Пренатальная диагностика коннатальных кист головного мозга / А. Д. Халиков, Д. В. Воронин, В. В. Демидова // Лучевая диагностика и терапия. – 2016. – Т. 3, № 7. – С. 32-36.

50. Ходжиметова, Ш. Х. Генетические предикторы возникновения гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных детей / Ш. Х. Ходжиметова, З. Ж. Рахманкулова, З. С. Камалов // Журнал теоретической и клинической медицины. – 2020. – № 4. – С. 97-101.

51. Шумилина Мария Васильевна. Предикторы неврологического исхода у доношенных детей с тяжелой интранатальной асфиксией в условиях применения управляемой умеренной гипотермии: автореф. ... к.м.н.: специальность 14.01.11 – нервные болезни – СПб, 2014, 24 с.

52. A comparison of blood and cerebrospinal fluid cytokines (IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF- α) in neonates with perinatal hypoxia / D. Šumanović-Glamuzina, F. Čulo, M. I. Čulo [et al.] // Bosn. J. Basic Med. Sci. – 2017. – Vol. 17, № 3. – P. 203-210. – DOI: 10.17305/bjbms.2017.1381

53. A systematic review of noninflammatory cerebrospinal fluid biomarkers for clinical outcome in neonates with perinatal hypoxic brain injury that

could be biologically significant / Z. Shi, K. Luo, S. Deol, S. Tan // *J. Neurosci. Res.* – 2022. – Vol. 100, № 12. – P. 2154-2173. – DOI: 10.1002/jnr.24801.

54. Adiponectin, leptin and insulin levels at birth and in early postnatal life in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy / A. A. El-Mazary, K. A. Nasif, G. L. Abdel-Hakeem [et al.] // *J. Diabetes. Metab. Disord.* – 2015. – Vol. 14. – P. 87. – DOI: 10.1186/s40200-015-0219-1.

55. Ahearne, C. E. Short and long term prognosis in perinatal asphyxia: an update / C. E. Ahearne, G. B. Boylan, D. M. Murray // *World J. Clin. Pediatr.* – 2016. – Vol. 5, № 1. – P. 67-74. – DOI: 10.5409/wjcp.v5.i1.67.

56. Allan, S. M. Cytokines and acutedegeneration / S. M. Allan, N. J. Rothwell // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2001. – Vol. 2, № 10. – P. 734-744. – DOI: 10.1038/35094583.

57. Alsulaimani, A. A. Inflammatory Cytokines in Neonatal Hypoxic Ischemic Encephalopathy and their Correlation with Brain Marker S100 Protein: A Case Control Study in Saudi Arabia / A. A. Alsulaimani, A. S. Abuelsaad, N. M. Mohamed // *J. Clin. Cell. Immunol.* – 2015. – Vol. 6, № 1. – P. 1-8. – DOI: 10.4172/2155-9899.1000289.

58. Altered Cytokine Endotoxin Responses in Neonatal Encephalopathy Predict MRI Outcomes / M. I. O'Dea, L. A. Kelly, E. McKenna [et al.] // *Front. Pediatr.* – 2021. – Vol. 9. – P. 734540. – DOI: 10.3389/fped.2021.

59. An, Y. Interleukin-1 exerts distinct actions on different cell types of the brain in vitro / Y. An, Q. Chen, N. Quan // *J. Inflamm. Res.* – 2011. – Vol. 2011, № 4. – P. 11-20. – DOI: 10.2147/JIR.S15357.

60. Antenatal and intrapartum risk factors for hypoxic-ischemic encephalopathy in a US birth cohort / S. J. Parker, M. Kuzniewicz, H. Niki, Y. W. Wu // *J. Pediatr.* – 2018. – Vol. 203. – P. 163-169. – DOI: 10.1016/j.jpeds.2018.08.028

61. Anti-neutrophil antibody enhances the neuroprotective effects of G-CSF by decreasing number of neutrophils in hypoxic ischemic neonatal rat model

/ D. M. Doycheva, T. Hadley, L. Li [et al.] // *Neurobiol. Dis.* – 2014. – Vol. 69. – P. 192-199. – DOI: 10.1016/j.nbd.2014.05.024.

62. Antioxidant polymorphisms do not influence the risk of epilepsy or its drug resistance after neonatal hypoxic-ischemic brain injury / K. Esih, K. Goricar, V. Dolzan, Z. Rener-Primec // *Seizure.* – 2017. – Vol. 46. – P. 38-42. – DOI: 10.1016/j.seizure.2017.01.005.

63. Anuriev, A. M. Hypoxic-ischemic brain damage in premature newborns / A. M. Anuriev, V. I. Gorbachev // *Zh. Nevrol. Psikiatr. Im. S. S. Korsakova.* – 2019. – Vol. 119, № 8-2. – P. 63-69. – DOI: 10.17116/jnevro201911908263

64. Aslam, S. Neonatal Encephalopathy: Need for Recognition of Multiple Etiologies for Optimal Management / S. Aslam, T. Strickland, E. J. Molloy // *Front. Pediatr.* – 2019. – Vol. 7. – P. 142. – DOI: 10.3389/fped.2019.00142

65. Asphyxie périnatale au centre hospitalier et universitaire de Brazzaville / A. R. Okoko, G. Ekouya-Bowassaa, E. Moyena [et al.] // *Journal de Pédiatrie et de Puériculture.* – 2016. – № 6. – P. 295-300. – DOI:10.1016/j.jpp.2016.09.003

66. Assessment of brain tissue injury after moderate hypothermia in neonates with hypoxicischaemic encephalopathy: a nested substudy of a randomised controlled trial / M. Rutherford, L. A. Ramenghi, A. D. Edwards [et al.] // *Lancet. Neurol.* – 2010. – Vol. 9, №1. – P. 39-45. – DOI: 10.1016/S1474-4422(09)70295-9.

67. Assessment of risk factors and prognosis in asphyxiated infants / H. Boskabadi, F. Ashrafzadeh, H. Doosti, M. Zakerihamidi // *Iran. J. Pediatr.* – 2015. – Vol. 25, № 4. – P. e2006. – DOI: 10.5812/ijp.2006.

68. Association between newborn screening analytes and hypoxic ischemic encephalopathy / L. A. Wilson, D. B. Fell, S. Hawken, [et al.] // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 15704. – DOI: 10.1038/s41598-019-51919-x.

69. Association between rs3833912/rs16944 SNPs and risk for cerebral palsy in Mexican children / S. Torres-Merino, H. N. Moreno-Sandoval, M. del Rocio Thompson-Bonilla [et al.] // *Mol. Neurobiol.* – 2019. – Vol. 56, № 3. – P. 1800-1811. – DOI: 10.1007/s12035-018-1178-6.

70. Association between serum interleukin-1 β levels and perinatal asphyxia / H. Boskabadi, G. Maamouri, J. Tavakol Afshari, M. T. Shakeri // Iran. J. Neonatol. – 2010. – Vol. 1. – P. 24-29. – DOI:10.2478/abm-2010-0009.

71. Association of brain injury and neonatal cytokine response during therapeutic hypothermia in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy / J. E. Orrock, K. Panchapakesan, G. Vezina [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2016. – Vol. 79, № 5. – P. 742-747. – DOI: 10.1038/pr.2015.280.

72. Association of interleukin-10 A-592C polymorphism in Taiwanese children with Kawasaki disease / K. C. Hsueh, Y. J. Lin, J. S. Chang [et al.] // *J. Korean. Med. Sci.* – 2009. – Vol. 24, № 3. – P. 438-442. – DOI: 10.3346/jkms.2009.24.3.438.

73. Association of tumor necrosis factor- α and - β gene polymorphisms in inflammatory bowel disease/ E. S. Al-Meghaiseeb, A. Al-Robayan, M. M. Al-Otaibi [et al.] // *J. Inflamm. Res.* – 2016. – Vol. 9. – P. 133-140. – DOI: 10.2147/JIR.S101225.

74. Association of two tumour necrosis factor gene polymorphisms with the incidence of severe intraventricular haemorrhage in preterm infants / A. Heep, A. Schueller, E. Kattner [et al.] // *J. Med. Genet.* – 2005. – Vol. 42, № 7. – P. 604-608. – DOI: 10.1136/jmg.2004.021378.

75. Associations between functional polymorphisms and response to biological treatment in Danish patients with psoriasis / N. D. Loft, L. Skov, L. Iversen [et al.] // *Pharm. J.* – 2018. – Vol. 18. – P. 494-500. – DOI: 10.1038/tpj.2017.31.

76. Astrocyte-targeted production of IL-10 induces changes in microglial reactivity and reduces motor neuron death after facial nerve axotomy / N. Villacampa, B. Almolda, A. Vilella [et al.] // *Glia.* – 2015. – Vol. 63, № 7. – P. 1166-1184. – DOI: 10.1002/glia.22807

77. Bano, S. Neonatal Hypoxic-ischemic Encephalopathy: A Radiological Review / S. Bano, V. Chaudhary, U. C. Garga // *J. Pediatr. Neurosci.* – 2017. – Vol. 12, № 1. – P. 1-6. – DOI: 10.4103/1817-1745.205646.

78. Basic biochemical and hematological parameters in perinatal asphyxia and their correlation with hypoxic ischemic encephalopathy / A. I. Munteanu, A. M. Manea, C. M. Jinca, M. Boia // *Exp. Ther. Med.* – 2021. – Vol. 21, № 3. – P. 259. – DOI: 10.3892/etm.2021.9690.

79. Benefits of starting hypothermia treatment within 6 h vs. 6–12 h in newborns with moderate neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy / W. Jia, X. Lei, W. Dong [et al.] // *BMC Pediatr.* – 2018. – Vol. 18, № 1. – P. 50. – DOI: 10.1186/s12887-018-1013-2

80. Bhalala, U. S. Neuroinflammation and neuroimmune dysregulation after acute hypoxic-ischemic injury of developing brain / U. S. Bhalala, R. C. Koehler, S. Kannan // *Front. Pediatr.* – 2015. – Vol. 2. – P. 144. – DOI: 10.3389/fped.2014.00144.

81. Biomarkers for severity of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy and outcomes in newborns receiving hypothermia therapy / L. F. Chalak, P. J. Sánchez, B. Adams-Huet [et al.] // *J. Pediatr.* – 2014. – Vol. 164, № 3. – P. 468-474. – DOI: 10.1016/j.jpeds.2013.10.067

82. Biomarkers of hepatic injury and function in neonatal hypoxic ischemic encephalopathy and with therapeutic hypothermia / H. Muniraman, D. Gardner, J. Skinner [et al.] // *Eur. J. Pediatr.* – 2017. – Vol. 176. – P. 1295-1303. – DOI: 10.1007/s00431-017-2956-2

83. Biomarkers of hypoxic-ischemic encephalopathy: a systematic review / I. Caramelo, M. Coelho, M. Rosado [et al.] // *World. J. Pediatr.* – 2023. – Vol. 19, № 6. – P. 505-548. – DOI: 10.1007/s12519-023-00698-7.

84. Blood Biomarkers and 6- to 7-Year Childhood Outcomes Following Neonatal Encephalopathy / A. Pappas, S. Shankaran, S. A. McDonald [et al.] // *Am. J. Perinatol.* – 2022. – Vol. 39, № 7. – P. 732-749. – DOI: 10.1055/s-0040-1717072.

85. Blood biomarkers for evaluation of perinatal encephalopathy-State of art / E. M. Graham, A. D. Everett, J-Ch. Delpech, F. J. Northington // *Curr. Opin. Pediatr.* – 2018. – Vol. 30, № 2. – P. 199-203. – DOI: 10.1097/MOP.0000000000000591.

86. Bonifacio, S. L. The Term Newborn: Evaluation for Hypoxic-Ischemic Encephalopathy / S. L. Bonifacio, S. Hutson // *Clin. Perinatol.* – 2021. – Vol. 48, № 3. – P. 681-695. – DOI: 10.1016/j.clp.2021.05.014.

87. Boskabadi, H. Interleukins in diagnosis of perinatal asphyxia: A systematic review / H. Boskabadi, A. Moradi, M. Zakerihamidi // *Int. J. Reprod. Biomed.* – 2018. – Vol. 17, № 5. – P. 303-314. – DOI: 10.18502/ijrm.v17i5.4598.

88. Both antenatal and postnatal inflammation contribute information about the risk of brain damage in extremely preterm newborns / D. Yanni, S. J. Korzeniewski, E. N. Allred [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2017. – Vol. 82, № 4. – P. 691-696. – DOI: 10.1038/pr.2017.128.

89. Brain injury following trial of hypothermia for neonatal hypoxic-ischaemic encephalopathy / S. Shankaran, P. D. Barnes, S. R. Hintz [et al.] // *Arch. Dis. Child.* – 2012. – Vol. 97, № 6. – P. F398-404. – DOI: 10.1136/archdischild-2011-301524.

90. Brain-immune interactions in perinatal hypoxic-ischemic brain injury / B. Li, K. Concepcion, X. Meng, L. Zhang [et al.] // *Prog. Neurobiol.* – 2017. – Vol. 159. – P. 50-68. – DOI: 10.1016/j.pneurobio.2017.10.006.

91. Can we predict functional outcome in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy by the combination of neuroimaging and electroencephalography? / T. Nanavati, N. Seemaladinne, M. Regier [et al.] // *Pediatr. Neonatol.* – 2015. – Vol. 56, № 5. – P. 307-316. – DOI: 10.1016/j.pedneo.2014.12.005

92. CARD8 and IL1B Polymorphisms Influence MRI Brain Patterns in Newborns with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy Treated with Hypothermia / K. Esih, K. Goričar, Z. Rener-Primec [et al.] // *Antioxidants (Basel)*. – 2021. – Vol. 10, № 1. – P. 96. – DOI: 10.3390/antiox10010096.

93. Chang, Y. Ganoderic acid A alleviates hypoxia-induced apoptosis, autophagy, and inflammation in rat neural stem cells through the PI3K/AKT/mTOR pathways / Y. Chang, R. Kong // *Phytother. Res.* – 2019. – Vol. 33, № 5. – P. 1448-1456. – DOI: 10.1002/ptr.6336.

94. Changes in lactate dehydrogenase are associated with central gray matter lesions in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy / S. K. Yum, C. J. Moon, Y. A. Youn, I. K. Sung // *J. Matern. Neonatal. Med.* – 2017. – Vol. 30. – P. 1177-1181. – DOI: 10.1080/14767058.2016.1208745.

95. Changing clinical characteristics of infants treated for hypoxic-ischaemic encephalopathy in England, Wales and Scotland: a population-based study using the National Neonatal Research Database / L. Hage, D. Jeyakumaran, J. Dorling [et al.] // *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* – 2021. – Vol. 106, № 5. – P. 501-508. – DOI: 10.1136/archdischild-2020-319685.

96. Circulating biomarkers in extremely preterm infants associated with ultrasound indicators of brain damage / A. Leviton, E. N. Allred, R. N. Fichorova [et al.] // *Eur. J. Paediatr. Neurol.* – 2018. – Vol. 22, № 3. – P. 440-450. – DOI: 10.1016/j.ejpn.2018.01.018.

97. Circulating inflammatory-associated proteins in the first month of life and cognitive impairment at age 10 years in children born extremely preterm / K. C. Kuban, R. M. Joseph, T. M. O'Shea [et al.] // *J. Pediatr.* – 2017. – Vol. 180. – P. 116–123.e111. – DOI:10.1016/j.jpeds.2016.09.054

98. Clinical practice guidelines for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy: A systematic review using the appraisal of guidelines for research and evaluation (AGREE) II instrument / Y. S. Amer, J. Anabrees, M. Abdelmawla [et al.] // *Front. Pediatr.* – 2023. – Vol. 11. – P. 1092578. – DOI: 10.3389/fped.2023.1092578.

99. Clinical relevance of IL-1 β -ta promoter polymorphisms (-1470, -511, and -31) in patients with major trauma / A. Q. Wen, W. Gu, J. Wang [et al.] // *Shock.* – 2010. – Vol. 33, № 6. – P. 576-582. – DOI: 10.1097/SHK.0b013e3181cc0a8e.

100. Clinical study of cerebral palsy in 408 children with periventricular leukomalacia / Q. Shang, C. Ma, N. Lv [et al.] // *Exp. Ther. Med.* – 2015. – Vol. 9, № 4. – P. 1336-1344. – DOI: 10.3892/etm.2015.2222

101. Combination of Serum interleukin-1 and 6 concentrations levels in the diagnosis perinatal asphyxia / H. Boskabadi, G. Maamouri, J. T. Afshari [et al.] // Arch. Iran. Med. – 2016. – Vol. 19, № 5. – P. 312-316.

102. Combined analysis of interleukin-10 gene polymorphisms and protein expression in children with cerebral palsy / L. Xia, M. Chen, D. Bi [et al.] // Front. Neurol. – 2018. – Vol. 9. – P. 182. – DOI: 10.3389/fneur.2018.00182.

103. Comparison of new biomarkers in the diagnosis of perinatal asphyxia / H. Boskabadi, M. Zakerihamidi, M. G. Mobarhan [et al.] // Iran. J. Child. Neurol. – 2023. – Vol. 17, № 1. – P. 99-110. – DOI: 10.22037/ijcn.v17i2.38561.

104. Coste, K. pH au cordon et encéphalopathie / K. Coste, D. Gallot, A. TranMau-Them // Revue de Médecine Périnatale. – 2017. – Vol. 9, N 2. – P.124-126. – DOI:10.1007/s12611-017-0396-x.

105. Crider, K. S. Genetic variation associated with preterm birth: a HuGE review / K. S. Crider, N. Whitehead, R. M. Buus // Genet. Med. – 2005. – Vol. 7. – P. 593-604. – DOI: 10.1097/01.gim.0000187223.69947.db.

106. Current Therapies for Neonatal Hypoxic–Ischaemic and Infection-Sensitised Hypoxic–Ischaemic Brain Damage / K. Tetorou, C. Sisa, A. Iqbal [et al.] // Front. Synaptic. Neurosci. – 2021. – Vol. 13. – P. 709301. – DOI: 10.3389/fnsyn.2021.709301.

107. Cytokine dysregulation in children with cerebral palsy / Z. Zareen, T. Strickland, L. Fallah [et al.] // Dev. Med. Child. Neurol. – 2021. – Vol. 63, № 4. – P. 407-412. – DOI: 10.1111/dmcn.14724.

108. Cytokine dysregulation persists in childhood post Neonatal Encephalopathy / Z. Zareen, T. Strickland, V. M. Eneaney [et al.] // BMC Neurol. – 2020. – Vol. 20. – P. 115. – DOI: 10.1186/s12883-020-01656-w

109. Cytokines and posthemorrhagic ventricular dilation in premature infants / N. Ambalavanan, W. A. Carlo, S. A. McDonald [et al.] // A. J. Perinatol. – 2012. – Vol. 29, № 9. – P. 731-740. – DOI: 10.1055/s-0032-1316443.

110. Dammann, O. Cytokines and perinatal brain damage / O. Dammann, T. M.O'Shea // *Clin. Perinatol.* – 2008. – Vol. 35, № 4. – P. 643-663. – DOI:10.1016/j.clp.2008.07.011
111. Del Arco, L. Current Research in Neonatal Hypoxic-Ischemic Anti-Inflammatory Therapeutics / L. Del Arco, D. Alonso-Alconada // *EC Paediatr.* – 2018. – Vol. 73. – P. 168-170.
112. Diagnostic accuracy of lactate dehydrogenase for diagnosis of perinatal asphyxia in neonates with non-reactive CTG / R. Jahan, A. Khanam, A. Masood, R. Rehman // *Pak. J. Med. Heal. Sci.* – 2019. – Vol. 13. – P. 460-462.
113. Distinct cytokine patterns may regulate the severity of neonatal asphyxia-an observational study / A. Bajnok, L. Berta, C. Orbán, [et al.] // *J. Neuroinflammation.* – 2017. – Vol 14. – P. 244. – DOI: 10.1186/s12974-017-1023-2
114. Douglas-Escobar, M. Biomarkers of hypoxic-ischemic encephalopathy in newborns / M. Douglas-Escobar, M. D. Weiss // *Front. Neurol.* – 2012. – Vol. 3. – P. 144. – DOI: 10.3389/fneur.2012.00144.
115. Douglas-Escobar, M. Hypoxic-ischemic encephalopathy: a review for the clinician / M. Douglas-Escobar, M. D. Weiss // *JAMA Pediatrics.* – 2015. – Vol. 169, № 4. – P. 397-403. – DOI: 10.1001/jamapediatrics.2014.3269
116. Dysregulation of multiple signaling pathways: A possible cause of cerebral palsy / J. Upadhyay, M. N. Ansari, A. Samad, A. Sayana // *Exp. Biol. Med. (Maywood).* – 2022. – Vol. 247, № 9. – P. 779-787. – DOI: 10.1177/15353702221081022.
117. Early changes in pro-inflammatory cytokine levels in neonates with encephalopathy are associated with remote epilepsy / A. L. Numis, A. Foster-Barber, X. Deng [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2019. – Vol. 86, № 5. – P. 616-621. – DOI: 10.1038/s41390-019-0473-x.
118. Early diagnosis of perinatal asphyxia by nucleated red blood cell count: A case-control study / H. Boskabadi, G. Maamouri, M. H. Sadeghian [et al.] // *Arch. Iran. Med.* – 2010. – Vol. 13, № 4. – P. 275-281.

119. Early EEG findings in hypoxic-ischemic encephalopathy predict outcomes at 2 years / D. M. Murray, G. B. Boylan, C. A. Ryan, S. Connolly // *Pediatrics*. – 2009. – Vol. 124, № 3. – P. e459-467. – DOI: 10.1542/peds.2008-2190.

120. Early Markers of Brain Damage in Premature Low-Birth-Weight Neonates Who Suffered from Perinatal Asphyxia and/or Infection / S. Fotopoulos, K. Pavlou, H. Skouteli [et al.] // *Biol. Neonatology*. – 2001. – Vol. 79, № 3-4. – P. 213-218. – DOI: 10.1159/000047094.

121. Early predictors of brain damage in full-term newborns with hypoxic ischemic encephalopathy / U. M. Alkholy, N. Abdalmonem, A. Zaki [et al.] // *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* – 2017. – Vol. 13. – P. 2133-2139. – DOI: 10.2147/NDT.S144225

122. Effect of mild hypothermia on the expression of IL-10 and IL-18 in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy / H. Wu, G. Liu, X. Yang [et al.] // *Exp. Ther. Med.* – 2019. – Vol. 18, № 3. – P. 2194-2198. – DOI: 10.3892/etm.2019.7768.

123. Effect of prenatal selenium supplementation on cord blood selenium and lipid profile / H. Boskabadi, G. Maamouri, F. R. Omran [et al.] // *Pediatr. Neonatol.* – 2012. – Vol. 53, № 6. – P. 334-339. – DOI: 10.1016/j.pedneo.2012.08.008.

124. Effect of therapeutic hypothermia on C-reactive protein levels in patients with perinatal asphyxia / N. Okumuş, S. Beken, B. Aydin [et al.] // *Am. J. Perinatol.* – 2015. – Vol. 32. – P. 667-674. – DOI: 10.1055/s-0034-1393933

125. Elevated blood levels of inflammation-related proteins are associated with an attention problem at age 24 mo in extremely preterm infants / T. M. O'Shea, R. M. Joseph, K. C. Kuban [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2014. – Vol. 75, № 6. – P. 781-787. – DOI: 10.1038/pr.2014.41.

126. Elevated endogenous erythropoietin concentrations are associated with increased risk of brain damage in extremely preterm neonates / S. J. Korzeniewski,

E. Allred, J. W. Logan [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, № 3. – P. e0115083. – DOI: 10.1371/journal.pone.0115083.

127. Elevated plasma and cerebrospinal fluid interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha concentration and combined outcome of death or abnormal neuroimaging in preterm neonates with early-onset clinical sepsis / S. Basu, P. Agarwal, S. Anupurba [et al.] // J. Perinatol. – 2015. – Vol. 35, № 10. – P. 855-861. – DOI: 10.1038/jp.2015.86.

128. Elevated serum IL-10 is associated with severity of neonatal encephalopathy and adverse early childhood outcomes / R. Pang, B. M. Mujuni, K. A. Martinello [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2022. – Vol. 92, № 1. – P. 180-189. – DOI: 10.1038/s41390-021-01438-1

129. Elevation of Cytokine Concentrations in Asphyxiated Neonates / K. Okazaki, A. Nishida, M. Kato [et al.] // *Neonatology.* – 2006. – Vol. 89, № 3. – P. 183-189. – DOI: 10.1159/000089180.

130. Emerging Role of the NLRP3 inflammasome and interleukin-1 β in neonates / M. Omer, A. M. Melo, L. Kelly [et al.] // *Neonatology.* – 2020. – Vol. 117, № 5. – P. 545-554. – DOI: 10.1159/000507584.

131. Endogenous IL-6 of mesenchymal stem cell improves behavioral outcome of hypoxic-ischemic brain damage neonatal rats by suppressing apoptosis in astrocyte / Y. Gu, M. He, X. Zhou [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – P. 18587. – DOI:10.1038/srep18587

132. Evaluation of mild hypothermia therapy for neonatal hypoxic-ischaemic ncephalopathy on brain energy metabolism using 18F-fluorodeoxyglucose positron emission computed tomography / M. Luo, Q. Li, W. Dong [et al.] // *Exp. Ther. Med.* – 2014. – № 8. – P.1219-1224. – DOI: 10.3892/ETM.2014.1884.

133. Fas-ligand and interleukin-6 in the cerebrospinal fluid are early predictors of hypoxic-ischemic encephalopathy and long-term outcomes after birth asphyxia in term infants / K. Leifsdottir, H. Mehmet, S. Eksborg, E. Herlenius // *J.*

Neuroinflammation. –2018. – Vol. 15, № 1. – P. 223. – DOI: 10.1186/S12974-018-1253-Y.

134. Fleiss, B. Tertiary mechanisms of brain damage: a new hope for treatment of cerebral palsy? / B. Fleiss, P. Gressens // *Lancet Neurology*. – 2012. – Vol. 11, № 6. – P. 556-566. – DOI: 10.1016/S1474-4422(12)70058-3.

135. Functional Polymorphism of the Interleukin-1beta Gene Promoter is Associated with Increased Risk for Cerebral Palsy in Mexican Children with Perinatal Hypoxia-Ischemia Antecedents / S. T. Merino, M. R. T. Bonilla, B. A. L. Chavez [et al.] // *J. Neonatal Biol.* – 2015. – Vol. 4, № 1. – P. 166-172. – DOI: 10.4172/2167-0897.1000167.

136. Gebregziabher, G. T. Prevalence and Associated Factors of Perinatal Asphyxia in Neonates Admitted to Ayder Comprehensive Specialized Hospital, Northern Ethiopia: A Cross-Sectional Study / G. T. Gebregziabher, F. B. Hadgu, H. T. Abebe // *Int. J. Pediatr.* – 2020. – Vol. 2020. – P. 4367248. – DOI: 10.1155/2020/4367248.

137. Genetic association study of adaptor protein complex 4 with cerebral palsy in a Han Chinese population / H. Wang, Y. Xu, M. Chen [et al.] // *Mol. Biol. Rep.* – 2013. – Vol. 40. – P. 6459-6467. – DOI: 10.1007/s11033-013-2761-6.

138. Genetic Polymorphism Of Some Cytokines In Newborn Infants With Hypoxic-Ischemic Encephalopathy Khodjimetova / S. Khodjimetova, Z. Rakhmonkulova, M. Ruzibakiyeva [et al.] // *Nat. Volatiles & Essent. Oils*. – 2021. – Vol. 8, № 4. – P. 16000-16005.

139. Genetic susceptibility to viral exposure may increase the risk of cerebral palsy / M. Djukic, C. S. Gibson, A. H. Maclennan [et al.] // *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.* – 2009. – Vol. 49, № 3. – P. 247-253. – DOI: 10.1111/j.1479-828X.2009.00999.x.

140. Ginkgolides and bilobalide protect BV2 microglia cells against OGD/reoxygenation injury by inhibiting TLR2/4 signaling pathways / J. M. Zhou, G. Sha-Sha, W. H. Mei [et al.] // *Cell. Stress. Chaperones*. – 2016. – Vol. 21, № 6. – P. 1037-1053. – DOI: 10.1007/s12192-016-0728-y.

141. Heart rate variability in hypoxic ischemic encephalopathy: correlation with EEG grade and 2-y neurodevelopmental outcome / R. M. Goulding, N. J. Stevenson, D. M. Murray [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2015. – Vol. 77, № 5. – P. 681-687. – DOI: 10.1038/pr.2015.28.

142. Heritability estimates of innate immunity: an extended twin study / A. J. de Craen, D. Posthuma, E. J. Remarque [et al.] // *Genes. Immun.* – 2005. – Vol. 6, № 2. – P. 167-170. – DOI: 10.1038/sj.gene.6364162.

143. How to reprogram microglia toward beneficial functions / M. Fumagalli, M. Lombardi, P. Gressens, C. Verderio // *Glia.* – 2018. – Vol. 66, № 12. – P. 2531-2549. – DOI:10.1002/glia.23484

144. Hypothermia modulates myeloid cell polarization in neonatal hypoxic–ischemic brain injury / M. Seitz, C. Köster, M. Dzierko [et al.] // *J. Neuroinflammation.* – 2021. – Vol. 18, № 1. – P. 266. – DOI: 10.1186/s12974-021-02314-9

145. Hypoxic ischemic encephalopathy in offspring of immigrant women in Sweden: A population-based cohort study / A. E. Törn, E. Lampa, A. K. Wikström, M. Jonsson // *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.* – 2021. – Vol. 100, № 12. – P. 2285-2293. – DOI: 10.1111/aogs.14234

146. IL10 polymorphisms influence neonatal immune responses, atopic dermatitis, and wheeze at age 3 years / D. Raedler, S. Illi, L. A. Pinto [et al.] // *J. Allergy. Clin. Immunol.* – 2013. – Vol. 131, № 3. – P. 789-796. – DOI: 10.1016/j.jaci.2012.08.008.

147. IL-1beta, IL-6 and TNF-alpha and outcomes of neonatal hypoxic ischemic encephalopathy / H. Aly, M. T. Khashaba, M. El-Ayouty [et al.] // *Brain Dev.* – 2006. – Vol. 28, № 3. – P. 178-182. – DOI: 10.1016/j.braindev.2005.06.006

148. IL-1 β , IL-6, IL-10, and TNF α Single Nucleotide Polymorphisms in Human Influence the Susceptibility to Alzheimer's Disease Pathology / M. Babić Leko, M. Nikolac Perković, N. Klepac [et al.] // *J. Alzheimers Dis.* – 2020. – Vol. 75. – P. 1029-1047. – DOI: 10.3233/JAD-200056.

149. Immune responses in perinatal brain injury / J. C. Y. Lai, E. Rocha-Ferreira, C. J. Ek [et al.] // *Brain. Behav. Immun.* – 2017. – Vol. 63. – P. 210-223. – DOI: 10.1016/j.bbi.2016.10.022.

150. *Immunopharmacology* / edited by M. M. Kahn. – 2nd ed. – Cham, Switzerland: Springer International, 2016. – 442 p.

151. Importance of blood gas measurements in perinatal asphyxia and alternatives to restore the acid base balance status to improve the newborn performance / H. O. Gregorio, D. M. Rojas, M. A. Spilsbury [et al.] // *Am. J. Biochem. Biotechnol.* – 2007. – Vol. 3, № 3. – P. 131-140. – DOI: 10.3844/ajbbbsp.2007.131.140

152. Incidence and short term outcomes of neonates with hypoxic ischemic encephalopathy in a Peri Urban teaching hospital, Uganda: a prospective cohort study / H. Namusoke, M. M. Nannyonga, R. Ssebunya [et al.] // *Matern. Health. Neonatol. Perinatol.* – 2018. – Vol. 4. – P. 6. – DOI: 10.1186/s40748-018-0074-4.

153. Incidence, Intrapartum Risk Factors, and Prognosis of Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy Among Infants Born at 35 Weeks Gestation or More / L. Ravichandran, V. M. Allen, A. C. Allen [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Can.* – 2020. – Vol. 42, № 12. – P. 1489-1497. – DOI: 10.1016/j.jogc.2020.04.020.

154. Inflammation in epileptogenesis after traumatic brain injury / K. M. Webster, M. Sun, P. Crack [et al.] // *J. Neuroinflammation.* – 2017. – Vol. 14. – P. 10. – DOI: 10.1186/s12974-016-0786-1

155. Inflammation-related cytokine gene polymorphisms in Behçet's disease / F. Al-Okaily, M. Arfin, S. Al-Rashidi [et al.] // *J. Inflamm. Res.* – 2015. – Vol. 8. – P. 173-180. – DOI: 10.2147/JIR.S89283. eCollection 2015.

156. Inflammatory biomarkers in children with cerebral palsy: A systematic review / R. C. Magalhães, J. M. Moreira, A. O. Lauer [et al.] // *Res. Dev. Disabil.* – 2019. – Vol. 95. – P. 103508. – DOI: 10.1016/j.ridd.2019.103508.

157. Interleukin (IL)1beta, IL-1alpha, and IL-1 receptor antagonist gene polymorphisms in patients with temporal lobe epilepsy / K. Kanemoto, J. Kawasaki, T. Miyamoto [et al.] // *Ann. Neurol.* – 2000. – Vol. 47, № 5. – P. 571-574.

158. Interleukin-10 and its role in clinical immunoparalysis following pediatric cardiac surgery / M. L. Allen, J. A. Hoschtitzky, M. J. Peters [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2006. – Vol. 34, № 10. – P. 2658-2665. – DOI: 10.1097/01.CCM.0000240243.28129.36.

159. Interleukin-10 release from astrocytes suppresses neuronal apoptosis via the TLR2/NF κ B pathway in a neonatal rat model of hypoxic-ischemic brain damage / M. L. He, Z. Y. Lv, X. Shi [et al.] // *J. Neurochem.* – 2017. – Vol. 142, № 6. – P. 920-933. – DOI: 10.1111/jnc.14126.

160. Interleukin-1 β Promoter Polymorphism Enhances the Risk of Sleep Disturbance in Alzheimer's Disease / Y. Yin, Y. Liu, X. Pan [et al.] // *PLoS ONE.* – 2016. – Vol. 11, № 3. – P. e0149945. – DOI: 10.1371/journal.pone.0149945

161. Interleukin-6 genotype and risk for cerebral palsy in term and near-term infants / Y. W. Wu, L. A. Croen, A. R. Torres [et al.] // *Ann. Neurol.* – 2009. – Vol. 66. – P. 663-670. – DOI: 10.1002/ana.21766.

162. Is Polymorphism in the Apoptosis and Inflammatory Pathway Genes Associated with a Primary Response to Anti-TNF Therapy in Crohn's Disease Patients? / M. Walczak, L. Lykowska-Szuber, M. Plucinska [et al.] // *Front. Pharmacol.* – 2020. – Vol. 11. – P. 1207. – DOI: 10.3389/fphar.2020.01207.

163. Khreisat, W. Risk factors of birth asphyxia: a study at Prince Ali Ben Al-Hussein Hospital, Jordan / W. Khreisat, Z. Habahbeh // *Pak. J. Med. Sci.* – 2005. – Vol. 21, № 1. – P. 30-34.

164. Knockdown of IL-1 β improves hypoxia-ischemia brain associated with IL-6 up-regulation in cell and animal models / S. Liu, S. Zhu, Y. Zou [et al.] // *Mol. Neurobiol.* – 2015. – Vol. 5, № 12. – P. 743-752. – DOI: 10.1007/s12035-014-8764-z.

165. Kremlev, S. G. Interleukin-10 inhibits endotoxin-induced pro-inflammatory cytokines in microglial cell cultures / S. G. Kremlev, C. Palmer // *J. Neuroimmunol.* – 2005. – Vol. 162, № 1-2. – P. 71-80. – DOI: 10.1016/j.jneuroim.2005.01.010

166. La césarienne peut-elle prévenir la paralysie cérébrale? Implications médicole gales d'une étude écologique française / C. Racinet, C. Tronc, E. Sellier [et al.] // *Gynecol. Obstet. Fertil.* – 2015. – № 43. – P.8-12. – DOI: 10.1016/j.gyobfe.2015.03.012

167. Lactate dehydrogenase predicts hypoxic ischaemic encephalopathy in newborn infants: A preliminary study / M. Karlsson, E. Wiberg-Itzel, E. Chakkarapani [et al.] // *Acta. Paediatr.* – 2010. – Vol. 99. – P. 1139-1144. – DOI: 10.1111/j.1651-2227.2010.01802.x.

168. Lammer E. Genetic polymorphisms and cerebral palsy in very preterm infants / K. B. Nelson, J. M. Dambrosia, D. M. Iovannisci [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2005. – Vol. 57, № 4. – P. 494-499. – DOI: 10.1203/01.PDR.0000156477.00386.E7.

169. Leavy, A. Perinatal Brain Injury and Inflammation: Lessons from Experimental Murine Models / A. Leavy, E. M. Jimenez Mateos // *Cells.* – 2020. – Vol. 9, № 12. – P. 2640. – DOI:10.3390/cells9122640

170. Lee, B. L. Cognitive outcomes in late childhood and adolescence of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy / B. L. Lee, H. C. Glass // *Clin. Exp. Pediatr.* – 2021. – Vol. 64, № 12. – P. 608-618. – DOI: 10.3345/cep.2021.00164.

171. Lenz, K. M. Microglia and beyond: innate immune cells as regulators of brain development and behavioral function / K. M. Lenz, L. H. Nelson // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 698. – DOI: 10.3389/fimmu.2018.00698

172. Liu, J. Increased umbilical cord plasma interleukin-1 β levels was correlated with adverse outcomes of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy / J. Liu, Z. C. Feng // *J. Trop. Pediatr.* – 2009. – Vol. 56, № 3. – P.178-182. – DOI: 10.1093/tropej/fmp098.

173. Loddick, S. A. Neuroprotective effects of human recombinant interleukin-1 receptor antagonist in focal cerebral ischaemia in the rat / S. A. Loddick, N. J. Rothwell // *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* – 1996. – Vol. 16, № 5. – P. 932-940. – DOI: 10.1097/00004647-199609000-00017.

174. Long-term neuropsychological and behavioral outcome of mild and moderate hypoxic ischemic encephalopathy / S. Halpin, C. McCusker, L. Fogarty [et al.] // *Early Hum. Dev.* – 2022. – Vol. 165. – P. 105541. – DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2022.105541.

175. Mallard, C. Microglia and Neonatal Brain Injury / C. Mallard, M. E. Tremblay, Z. S. Vexler // *Neuroscience.* – 2019. – Vol. 405. – P. 68-76. – DOI:10.1016/j.neuroscience.2018.01.023

176. Management and investigation of neonatal encephalopathy: 2017 update / K. Martinello, A. R. Hart, S. Yap [et al.] // *Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal. Ed.* – 2017. – Vol. 102, № 4. – P. F346-F358. – DOI: 10.1136/archdischild-2015-309639

177. Management of Multi Organ Dysfunction in Neonatal Encephalopathy / M. O'Dea, D. Sweetman, S. L. Bonifacio [et al.] // *Front. Pediatr.* – 2020. – Vol. 8. – P. 239. – DOI: 10.3389/fped.2020.00239.

178. Mapping of the human IL10 gene and further characterization of the 5'flanking sequence / J. Eskdale, D. Kube, H. Tesch, G. Gallagher // *Immunogenetics.* – 1997. – Vol. 46. – P. 120-128. – DOI: 10.1007/S002510050250.

179. Maternal or neonatal infection: association with neonatal encephalopathy outcomes / M. Jenster, S. L. Bonifacio, T. Ruel [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2014. – Vol. 76. – P. 93-99. – DOI: 10.1038/pr.2014.47

180. Merchant, N. Early predictors of outcome in infants treated with hypothermia for hypoxic-ischaemic encephalopathy / N. Merchant, D. Azzopardi // *Dev. Med. Child. Neurol.* – 2015. – Vol. 57, Suppl 3. – P. 8-16. – DOI: 10.1111/dmcn.12726.

181. Mesenchymal stem cells suppress neuronal apoptosis and decrease IL-10 release via the TLR2/NFκB pathway in rats with hypoxic-ischemic brain damage / Y. Gu, Y. Zhang, Y. Bi [et al.] // *Mol. Brain.* – 2015. – Vol. 8. – P. 65. – DOI: 10.1186/S13041-015-0157-3.

182. Mesples, B. Effects of interleukin-10 on neonatal excitotoxic brain lesions in mice / B. Mesples, F. Plaisant, P. Gressens // *Brain. Res. Dev. Brain. Res.* – 2003. – Vol. 141, № 1-2. – P. 25-32. – DOI: 10.1016/s0165-3806(02)00636-3.

183. Microglia development follows a stepwise program to regulate brain homeostasis / O. Matcovitch-Natan, D. R. Winter, A. Giladi [et al.] // *Science.* – 2016. – Vol. 353, № 6301. – P. aad8670. – DOI: 10.1126/science.aad8670.

184. MicroRNAs: key players in microglia and astrocyte mediated inflammation in CNS pathologies / A. Karthikeyan, R. Patnala, S. P. Jadhav [et al.] // *Curr. Med. Chem.* – 2016. – Vol. 23, № 30. – P. 3528-3546. – DOI: 10.2174/0929867323666160814001040.

185. Mild hyperhomocysteinemia increases brain acetylcholinesterase and proinflammatory cytokine levels in different tissues / E. B. Scherer, S. O. Loureiro, F. C. Vuaden [et al.] // *Mol. Neurobiol.* – 2014. – Vol. 50, № 2. – P. 589-596. – DOI: 10.1007/s12035-014-8660-6

186. Mitochondria, Bioenergetics and Excitotoxicity: New Therapeutic Targets in Perinatal Brain Injury / B. Leaw, S. Nair, R. Lim [et al.] // *Front. Cell. Neurosci.* – 2017. – Vol. 11. – P. 199. – DOI:10.3389/fncel.2017.00199

187. Mitochondria: hub of injury responses in the developing brain / H. Hagberg, C. Mallard, C. I. Rousset, C. Thornton // *Lancet. Neurol.* – 2014. – Vol. 13, № 2. – P. 217-232. – DOI: 10.1016/S1474-4422(13)70261-8.

188. Mortality related factors on hypoxic ischemic encephalopathic patients treated with therapeutic hypothermia: an 11-year single-center experience / M. F. Deveci, H. Turgut, M. Alagöz [et al.] // *Turk. J. Med. Sci.* – 2022. – Vol. 52, № 3. – P. 796-802. – DOI: 10.55730/1300-0144.5375.

189. Nair, J. Current and Emerging Therapies in the Management of Hypoxic Ischemic Encephalopathy in Neonates / J. Nair, V. H. S. Kumar // *Children.* – 2018. – Vol. 5. – P. 99. – DOI: 10.3390/children5070099.

190. Naithani, M. Biochemical Markers in Perinatal Asphyxia / M. Naithani, A. K. Simalti // *Journal of Nepal Pediatric Society.* – 2011. – Vol. 31, № 2. – P. 151-156. – DOI: 10.3126/jnps.v31i2.4155.

191. Neferine Protects against Hypoxic-Ischemic Brain Damage in Neonatal Rats by Suppressing NLRP3-Mediated Inflammasome Activation / Z. Jin-jin, Y. Bin-yuan, H. Xiao-kai [et al.] // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2021. – Vol. 2021. – P. 6654954. – DOI: 10.1155/2021/6654954
192. Neonatal asphyxia as an inflammatory disease: Reactive oxygen species and cytokines / K. Okazaki, S. Nakamura, K. Koyano [et al.] // *Front. Pediatr.* – 2023. – Vol. 11. – P. 1070743. – DOI: 10.3389/fped.2023.1070743.
193. Neonatal hypoxia ischaemia: mechanisms, models, and therapeutic challenges / L. J. Millar, L. Shi, A. Hoerder-Suabedissen, Z. Molnár // *Front. Cell. Neurosci.* – 2017. – Vol. 11. – P. 78. – DOI: 10.3389/FNCEL.2017.00078.
194. Neonatal metabolic acidosis at birth: in search of a relevant marker / C. Racinet, P. Ouellet, F. Charles [et al.] // *Gynecol. Obstet. Fertil.* – 2016. – Vol. 44, № 6. – P.357-362. – DOI: 10.1016/j.gyobfe.2016.04.005.
195. Neonatal mortality associated with perinatal asphyxia: a population-based study in a middle-income country / M. D. Kawakami, A. Sanudo, M. L. P. Teixeira [et al.] // *BMC Pregnancy Childbirth.* – 2021. – Vol. 21, № 1. – P. 169. – DOI: 10.1186/s12884-021-03652-5.
196. Neonatal watershed brain injury on magnetic resonance imaging correlates with verbal IQ at 4 years / K. J. Steinman, M. L. Gorno-Tempini, D. V. Glidden [et al.] // *Pediatrics.* – 2009. – Vol. 123, № 3. – P. 1025-1030. – DOI: 10.1542/peds.2008-1203.
197. Neurodevelopment of preterm infants at 24 months after neonatal supplementation of a prebiotic mix: a randomized trial / J. P. van den Berg, E. A. Westerbeek, T. Broring-Starre [et al.] // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2016. – Vol. 63, № 2 – P. 270-276. – DOI: 10.1097/MPG.0000000000001148.
198. Neuroimaging in the evaluation of neonatal encephalopathy / A. R. Barnette, J. D. Horbar, R. F Soll [et al.] // *Pediatrics.* – 2014. – Vol. 133, № 6. – P. e1508-17. – DOI: 10.1542/peds.2013-4247.
199. Neurological and perceptual-motor outcome at 5 - 6 years of age in children with neonatal encephalopathy: relationship with neonatal brain MRI / A.

Barnett, E. Mercuri, M. Rutherford [et al.] // *Neuropediatrics*. – 2002. – Vol. 33, № 5. – P. 242-248. – DOI: 10.1055/s-2002-36737

200. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts the severity of motor impairment in cerebral palsy children living at home and the rehabilitation center: A comparative study / K. Riewruja, C. Amarase, P. Osateerakun [et al.] // *Biomed. Rep.* – 2020. – Vol. 13, № 6. – P. 63. DOI: 10.3892/br.2020.1370.

201. New antioxidant drugs for neonatal brain injury / M. L. Tataranno, S. Perrone, M. Longini, G. Buonocore // *Oxid. Med. Cell Longev.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 108251. – DOI: 10.1155/2015/108251.

202. New Insights into Mechanisms of Ferroptosis Associated with Immune Infiltration in Neonatal Hypoxic-Ischemic Brain Damage / S. Li, L. Wan, J. Sun [et al.] // *Cells*. – 2022. – Vol. 11, № 23. – P. 3778. – DOI: 10.3390/cells11233778.

203. Nist, M. D. An Integrative Review of Cytokine/Chemokine Predictors of Neurodevelopment in Preterm Infants / M. D. Nist, R. H. Pickler // *Biol. Res. Nurs.* – 2019. – Vol. 21, № 4. – P. 366-376. – DOI: 10.1177/1099800419852766.

204. Nle4, D-Phe7- α -MSH inhibits toll-like receptor (TLR)2- and TLR4-induced microglial activation and promotes a M2-like phenotype / L. Carniglia, D. Ramírez, D. Durand [et al.] // *PLoS ONE*. – 2016. – Vol. 11, № 6. – P. e0158564. – DOI: 10.1371/journal.pone.0158564.

205. NLRP3 inflammasome is expressed and functional in mouse brain microglia but not in astrocytes / A. Gustin, M. Kirchmeyer, E. Koncina [et al.] // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10, № 6. – P. e0130624. – DOI: 10.1371/journal.pone.0130624

206. Nlrp3-inflammasome activation in non-myeloid-derived cells aggravates diabetic nephropathy / K. Shahzad, F. Bock, W. Dong [et al.] // *Kidney. Int.* – 2015. – Vol. 87, № 1. – P. 74-84. – DOI: 10.1038/ki.2014.271.

207. Obstetric antecedents to body-cooling treatment of the newborn infant / D. B. Nelson, A. M. Lucke, D. D. McIntire [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2014. – Vol. 211. – P. 155.e1-6. – DOI: 10.1016/j.ajog.2014.02.013

208. Oliveira-Paula, G. H. Endothelial nitric oxide synthase: from biochemistry and gene structure to clinical implications of NOS3 polymorphisms / G. H. Oliveira-Paula, R. Lacchini, J. E. Tanus-Santos // *Gene*. – 2016. – 575 (2 Pt 3). – P. 584-599. – DOI: 10.1016/j.gene.2015.09.061.

209. Outcomes of Infants with Mild Hypoxic Ischemic Encephalopathy Who Did Not Receive Therapeutic Hypothermia / J. Reiss, M. Sinha, J. Gold [et al.] // *Biomed. Hub*. – 2019. – Vol. 4. – P. 1-9. – DOI: 10.1159/000502936

210. Paradigm shift to neuroimmunomodulation for translational neuroprotection in stroke / D. Amantea, R. Greco, G. Micieli, G. Bagetta // *Front. Neurosci*. – 2018. – Vol. 12. – P. 241. – DOI: 10.3389/fnins.2018.00241.

211. Patrón-Chí, S. A. Association between serum lactate dehydrogenase levels in the first 12 hours of life and the development of hypoxicischemic encephalopathy. A preliminary study / S. A. Patrón-Chí, E. E. Peraza-López, A. L. Zapata-Peraza // *Acta. Pediatr. Mex*. – 2018. – Vol. 39, № 5. – P. 271-282.

212. Pattern of brain injury and depressed heart rate variability in newborns with hypoxic ischemic encephalopathy / M. Metzler, R. Govindan, T. Al-Shargabi [et al.] // *Pediatr. Res*. – 2017. – Vol. 82, № 3. – P. 438-443. – DOI: 10.1038/pr.2017.94

213. Patterns of brain injury in term neonatal encephalopathy / S. J. Miller, V. Ramaswamy, D. Michelson [et al.] // *J. Pediatr*. – 2005. – Vol. 146, № 4. – P. 453-460. – DOI: 10.1016/j.jpeds.2004.12.026.

214. Patterns of increases in interleukin-6 and C-reactive protein as predictors for white matter injury in preterm infants / K. Inomata, M. Mizobuchi, S. Tanaka [et al.] // *Pediatr. International*. – 2014. – Vol. 56, № 6. – P. 851-855. – DOI:10.1111/ped.12376

215. Perinatal asphyxia and erythropoietin and VEGF: serial serum and cerebrospinal fluid responses / D. U. Sweetman, C. Onwuneme, W. R. Watson [et al.] // *Neonatology*. – 2017. – Vol. 111, № 3. – P. 253-259. – DOI: 10.1159/000448702

216. Perinatal inflammation/infection and its association with correction of metabolic acidosis in hypoxic-ischemic encephalopathy / C. T. Johnson, I. Burd, R. Raghunathan [et al.] // *J. Perinatol.* – 2016. – Vol. 36. – P. 448-452. – DOI: 10.1038/jp.2015.221

217. Perinatal risk factors for neonatal encephalopathy: an unmatched case-control study / C. J. Tann, M. Nakakeeto, B. A. Willey [et al.] // *Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal. Ed.* – 2018. – Vol. 103, № 3. – P. F250-F256. – DOI: 10.1136/archdischild-2017-312744.

218. Peripheral immune cells and perinatal brain injury: a double-edged sword? / J. Herz, I. Bendix, U. Felderhoff-Müser [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2022. – Vol. 91, № 2. – P. 392-403. – DOI: 10.1038/s41390-021-01818-7.

219. Persistent Inflammation in Cerebral Palsy: Pathogenic Mediator or Comorbidity? A Scoping Review / M. C. B. Paton, M. Finch-Edmondson, R. C. Dale [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2022. – Vol. 11, № 24. – P. 7368. – DOI: 10.3390/jcm11247368.

220. Placental pathology is associated with severity of neonatal encephalopathy and adverse developmental outcomes following hypothermia / I. N. Mir, S. F. Johnson-Welch, D. B. Nelson [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2015. – Vol. 213, № 6. – P. 849.e1-7. – DOI: 10.1016/j.ajog.2015.09.072

221. Plasma biomarkers of brain injury in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy / A. N. Massaro, Y. W. Wu, T. K. Bammler [et al.] // *J. Pediatr.* – 2018. – Vol. 194. – P. 67-75.e1. – DOI: 10.1016/j.jpeds.2017.10.060.

222. Population-Based Study of the National Implementation of Therapeutic Hypothermia in Infants with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy / J. Arnaez, A. García-Alix, G. Arca [et al.] // *Ther Hypothermia Temp Manag.* – 2018. – Vol. 8, № 1. – P. 24-29. – DOI: 10.1089/ther.2017.0024.

223. Predicting motor outcome and death in term hypoxic-ischemic encephalopathy / M. Martinez-Biarge, J. Diez-Sebastian, O. Kapellou [et al.] // *Neurology.* – 2011. – Vol. 6. – P. 2055-2061. – DOI: 10.1212/WNL.0b013e31821f442d.

224. Predictive value of plasma and cerebrospinal fluid tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1beta concentrations on outcome of full term infants with hypoxic-ischaemic encephalopathy / N. Oygur, O. Sonmez, O. Saka [et al.] // Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed. – 1998. – Vol. 79, № 3. – P. F190-F193. – DOI: 10.1136/fn.79.3.F190.

225. Predictors of Long-Term Neurodevelopmental Outcome of Hypoxic-Ischemic Encephalopathy Treated with Therapeutic Hypothermia / I. Goswami, M. Guillot, E. W. Y. Tam [et al.] // Semin. Neurol. – 2020. – Vol. 40, № 3. – P. 322-334. – DOI: 10.1055/s-0040-1702939.

226. Profil à risque et pronostic néonatal de l'asphyxie périnatale en milieu hospitalier pédiatrique à Ouagadougou / S. O. Ouédraogo-Yugbaré, G. Coulibaly, F. Koueta, S. Yao, [et al.] // J. Pediatr. Puericul. – 2015. – Vol. 28, № 2. – P.64-70. – DOI:10.1016/j.jpp.2015.02.003

227. Prognostic Value of Clinical Tests in Neonates With Hypoxic-Ischemic Encephalopathy Treated With Therapeutic Hypothermia: A Systematic Review and Meta-Analysis / W. Liu, Q. Yang, H. Wei [et al.] // Front. Neurol. – Vol. 11. – P. 133. – DOI: 10.3389/fneur.2020.00133

228. Proinflammatory cytokines, enolase and S-100 as early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy following perinatal asphyxia in newborns / V. Chaparro-Huerta, M. E. Flores-Soto, M. E. Merin Sigala [et al.] // Pediatr. Neonatol. – 2017. – Vol. 58, № 1. – P. 70-76. – DOI: 10.1016/j.pedneo.2016.05.001.

229. Proton magnetic resonance spectroscopy lactate/N-acetylaspartate within 2 weeks of birth accurately predicts 2-year motor, cognitive and language outcomes in neonatal encephalopathy after therapeutic hypothermia / S. Mitra, G. S. Kendall, A. Bainbridge [et al.] // Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal. Ed. – 2019. – Vol. 104, № 4. – P. F424-F432. DOI: 10.1136/archdischild-2018-315478

230. Queensland Clinical Guidelines [Electronic resurse]. Hypoxic ischaemic encephalopathy (HIE). Guideline No. MN21.11-V10-R26. Queensland Health. – 2021. – Available from: <http://www.health.qld.gov.au/qcg>

231. Racinet, C. La césarienne peut-elle prévenir la paralysie cérébrale? Implications médico-légales d'une étude écologique française / C. Racinet, C. Tronc, E. Sellier // *Gynecol. Obstet. Fertil.* – 2015. – Vol. 43. – P. 8-12.

232. Randomised controlled pilot feasibility trial of an early intervention programme for young infants with neurodevelopmental impairment in Uganda: a study protocol / M. Nampijja, E. Webb, C. Nanyunja [et al.] // *BMJ Open.* – 2019. – Vol. 9, № 10. – P. e032705. – DOI: 10.1136/bmjopen-2019-032705.

233. Rayasam, A. Microglia-leucocyte axis in cerebral ischaemia and inflammation in the developing brain / A. Rayasam, Y. Fukuzaki, Z. S. Vexler // *Acta. Physiol. (Oxf).* – 2021. – Vol. 233, № 1. – P. e13674. – DOI: 10.1111/apha.13674.

234. Relationship Between TNF- α and the Risk of Cerebral Palsy: A Systematic Review and Meta-Analysis / B. Wang, F. Wang, D. Wu [et al.] // *Front. Neurol.* – 2022. – Vol. 13. – P. 929280. – DOI: 10.3389/fneur.2022.929280.

235. Relationship of Serum Interleukin-10 and Its Genetic Variations with Ischemic Stroke in a Chinese General Population / G. Xie, P. K. Myint, M. J. S. Zaman [et al.] // *PLOS ONE.* – 2013. – Vol. 8, № 9. – P. e74126. – DOI: 10.1371/journal.pone.0074126

236. Ren, K. Role of interleukin-1 β during pain and inflammation / K. Ren, R. Torres // *Brain. Res. Rev.* – 2009. – Vol. 60, № 1. – P. 57-64. – DOI: 10.1016/J.Brainresrev.2008.12.020.

237. Replication of genetic associations in the inflammation, complement, and coagulation pathways with intraventricular hemorrhage in LBW preterm neonates / K. K. Ryckman, J. M. Dagle, K. Kelsey [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2011. – Vol. 70, № 1. – P. 90-95. – DOI: 10.1203/PDR.0b013e31821ceb63

238. Risk factors for neonatal mortality due to birth asphyxia in southern Nepal: a prospective, community-based cohort study / A. C. Lee, L. C. Mullany, J. M. Tielsch [et al.] // *Pediatrics.* – 2008. – Vol. 121, № 5. – P. e1381-e1390. – DOI: 10.1542/peds.2007-1966.

239. Risk factors of birth asphyxia / H. M. Aslam, S. Saleem, R. Afzal [et al.] // *Ital. J. Pediatr.* – 2014. – Vol. 40, № 1. – P. 94. – DOI: 10.1186/s13052-014-0094-2.
240. Robertson, C. M. Follow-up of the term infant after hypoxic-ischemic encephalopathy / C. M. Robertson, M. Perlman // *Paediatr. Child. Health.* – 2006. – Vol. 11, № 5. – P. 278-782.
241. Rocha-Ferreira, E. Plasticity in the Neonatal Brain following Hypoxic-Ischaemic Injury / E. Rocha-Ferreira, M. Hristova // *Neural. Plast.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 4901014. – DOI: 10.1155/2016/4901014.
242. Rocha-Ferreira, E. Systemic pro-inflammatory cytokine status following therapeutic hypothermia in a piglet hypoxia-ischemia model / E. Rocha-Ferreira, D. Kelen, Stuart Faulkner // *J. Neuroinflammation.* – 2017. – Vol. 14, № 1. – P. 44. – DOI: 10.1186/s12974-017-0821-x.
243. Role of selected cytokines in the etiopathogenesis of intraventricular hemorrhage in preterm newborns / D. Szpecht, K. Wiak, A. Braszak [et al.] // *Childs. Nerv. Syst.* – 2016. – Vol. 32, № 11 – P. 2097-2103. – DOI: 10.1007/s00381-016-3217-9.
244. Sadowska, M. Cerebral Palsy: Current Opinions on Definition, Epidemiology, Risk Factors, Classification and Treatment Options / M. Sadowska, B. Sarecka-Hujar, I. Kopyta // *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* – 2020. – Vol. 16. – P. 1505-1518. – DOI: 10.2147/NDT.S235165.
245. Salivary Lactate Dehydrogenase in Relationship to the Severity of Hypoxic-Ischemic Encephalopathy among Newborn Infants / H. Elmoursi, M. Abdalla, B. E. Mesbah, A. Khashana // *Scientifica (Cairo).* – 2021. – Vol. 2021. – P. 9316277. – DOI: 10.1155/2021/9316277.
246. Salivary lactate dehydrogenase levels can provide early diagnosis of hypoxic-ischaemic encephalopathy in neonates with birth asphyxia / A. Mehta, D. Chawla, J. Kaur [et al.] // *Acta. Paediatr.* – 2015. – Vol. 104. – P. e236-e240. – DOI: 10.1111/apa.12964.

247. Schroder, K. The inflammasomes / K. Schroder, J. Tschopp // *Cell*. – 2010. – Vol. 140, № 6. – P. 821-832. – DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.040.

248. Semple, B. D. Immune Challenges and Seizures: How Do Early Life Insults Influence Epileptogenesis? / B. D. Semple, L. K. Dill, T. J. O'Brien // *Front. Pharmacol.* – 2020. – Vol. 11. – P. 2. – DOI: 10.3389/fphar.2020.00002.

249. Serial cytokine alterations and abnormal neuroimaging in newborn infants with encephalopathy / F. M. O'Hare, R. W. Watson, A. O'Neill [et al.] // *Acta Paediatr.* – 2017. – Vol. 106, № 4. – P. 561-567. – DOI: 10.1111/apa.13745.

250. Serum copeptin and neuron specific enolase are markers of neonatal distress and long-term neurodevelopmental outcome / D. Kelen, C. Andorka, M. Szabó [et al.] // *PLoS One*. – 2017. – Vol. 12, № 9. – P. e0184593. – DOI: 10.1371/journal.pone.0184593.

251. Serum Cytokines in a Clinical Trial of Hypothermia for Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy / D. D. Jenkins, L. G. Rollins, J. K. Perkel [et al.] // *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.* – 2012. – Vol. 32, № 10. – P. 1888-1896. – DOI: 10.1038/jcbfm.2012.83.

252. Serum S100B and neuron-specific enolase levels in normothermic and hypothermic infants after perinatal asphyxia / A. Roka, D. Kelen, J. Halasz [et al.] // *Acta Paediatr.* – 2012. – Vol. 101, 3. – P. 319-323. – DOI: 10.1111/j.1651-2227.2011.02480.x.

253. Severity of hypoxic ischemic encephalopathy and heart rate variability in neonates: a systematic review / M. Andersen, T. C. K. Andelius, M. V. Pedersen [et al.] // *BMC Pediatr.* – 2019. – Vol. 19, № 1. – P. 242. – DOI: 10.1186/s12887-019-1603-7.

254. Shipley, L. Trends in the incidence and management of hypoxic-ischaemic encephalopathy in the therapeutic hypothermia era: a national population study / L. Shipley, C. Gale, D. Sharkey // *Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal. Ed.* – 2021. – Vol. 106, № 5. – P. 529-534. – DOI: 10.1136/archdischild-2020-320902.

255. Silveira, R. C. Interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels in plasma and cerebrospinal fluid of term newborn infant with hypoxic-ischemic

encephalopathy / R. C. Silveira, R. S. Procianoy // *J. Pediatr.* – 2003. – Vol. 143, № 5. – 625-629. – DOI: 10.1067/S0022-3476(03)00531-6

256. Singh, S. K. Correlation of Serum LDH Level in Perinatal Ashyxia as a Marker of Hypoxic Ischemic Encephalopathy / S. K. Singh, S. Rijal, A. Giri // *Birat J. Health Sci.* – 2019. – Vol. 4, № 3. – P. 850-854. – DOI: 10.3126/bjhs.v4i3.27039

257. Slavich, G. M. From stress to inflammation and major depressive disorder: A social signal transduction theory of depression / G. M. Slavich, M. R. Irwin // *Psychological. Bulletin.* – 2014. – Vol. 140, № 3. – P. 774-815. – DOI: 10.1037/a0035302.

258. Sorokan, S. T. L'imagerie du cerveau du nouveau-né à terme / S. T. Sorokan, A. L. Jefferies, S. P. Miller // *Paediatr. Child. Health.* – 2018. – Vol. 23, № 5. – P. 329-335. French. – DOI: 10.1093/pch/pxy002.

259. Sulyok, E. Pathomechanisms of Prenatally Programmed Adult Diseases / E. Sulyok, B. Farkas, J. Bodis // *Antioxidants (Basel).* – 2023. – Vol. 12, № 7. – P. 1354. – DOI: 10.3390/antiox12071354.

260. Šumanović-Glamuzina, D. Cytokines (IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF- α) in Blood and Cerebrospinal Fluid in Neonatal Hypoxia/Ischemia) / D. Šumanović-Glamuzina, M. Jerković-Raguž // *J. Cell. Immunol.* – 2020. – Vol. 2, № 4. – P. 183-187.

261. Systematic review of biomarkers of brain injury in term neonatal encephalopathy / V. Ramaswamy, J. Horton, B. Vandermeer [et al.] // *Pediatr. Neurol.* – 2009. – Vol. 40, № 3. – P. 215-226. – DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2008.09.026.

262. Systemic inflammation and cerebral palsy risk in extremely preterm infants / K. C. Kuban, T. M. O'Shea, E. N. Allred [et al.] // *J. Child Neurol.* – 2014. – Vol. 29, № 12. – P. 1692-1698. – DOI:10.1177/0883073813513335

263. Systemic inflammation during the first postnatal month and the risk of attention deficit hyperactivity disorder characteristics among 10 year-old children born extremely preterm / E. N. Allred, O. Dammann, R. N. Fichorova [et al.] // *J.*

Neuroimmune. Pharmacol. – 2017. – Vol. 12, № 3. – P. 531-543. – DOI: 10.1007/s11481-017-9742-9.

264. Systemic inflammation on postnatal days 21 and 28 and indicators of brain dysfunction 2 years later among children born before the 28th week of gestation / A. Leviton, E. N. Allred, R. N. Fichorova [et al.] // *Early. Hum. Dev.* – 2016. – Vol. 93, P. 25-32. – DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2015.11.004.

265. Tanaka, T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease / T. Tanaka, M. Narazaki, T. Kishimoto // *Cold. Spring. Harb. Perspect. Biol.* – 2014. – Vol. 6, № 10. – P. a016295. – DOI: 10.1101/cshperspect.a016295.

266. Temporal relationship between serum levels of interleukin-6 and C-reactive protein in therapeutic hypothermia for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy / J. Saito, J. Shibasaki, T. Shimokaze [et al.] // *Am. J. Perinatol.* – 2016. – Vol. 33. – P. 1401-1406. – DOI: 10.1055/s-0036-1583192.

267. Temporal Trends in the Severity and Mortality of Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy in the Era of Hypothermia / C. Vega-Del-Val, J. Arnaez, S. Caserío [et al.] // *Neonatology.* – 2021. – Vol. 118, № 6. – P. 685-692. – DOI: 10.1159/000518654.

268. The association between antioxidant enzyme polymorphisms and cerebral palsy after perinatal hypoxic-ischaemic encephalopathy / K. Esih, K. Goricar, V. Dolzan, Z. Rener-Primec // *Eur. J. Paediatr. Neurol. EJPN Off. J. Eur. Paediatr. Neurol. Soc.* – 2016. – Vol. 20. – P. 704-708. – DOI: 10.1016/j.ejpn.2016.05.018.

269. The association between inherited cytokine polymorphisms and cerebral palsy / C. S. Gibson, A. H. MacLennan, P. N. Goldwater [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2006. – Vol. 194, № 3. – P. 674.e1–11. – DOI: 10.1016/j.ajog.2006.01.093.

270. The association between interleukin-1 polymorphisms and their protein expression in Chinese Han patients with breast cancer / J. Wang, Y. Shi, G. Wang [et al.] // *Mol. Genet. Genomic Med.* – 2019. – Vol. 7. – P. e804. – DOI: 10.1002/mgg3.804.

271. The association between NOS3 gene polymorphisms and hypoxic-ischemic encephalopathy susceptibility and symptoms in Chinese han population / Y. Wu, Z. Zhu, X. Fang [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 1957374. – DOI: 10.1155/2016/1957374.

272. The association between pro- and anti-inflammatory cytokine polymorphisms and periventricular leukomalacia in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy / M. L. Gabriel, F. B. Braga, M. R. Cardoso [et al.] // *J. Inflamm. Res.* – 2016. – Vol. 9. – P. 59-67. – DOI: 10.2147/JIR.S103697.

273. The association between proinflammatory cytokine polymorphisms and cerebral palsy in very preterm infants / H. K. Vidak, T. C. Ivkovic, M. Jokic [et al.] // *Cytokine.* – 2012. – Vol. 58, № 1. – P. 57-64. – DOI: 10.1016/j.cyto.2011.12.018.

274. The association between sex-related interleukin-6 gene polymorphisms and the risk for cerebral palsy / D. Bi, M. Chen, X. Zhang [et al.] // *J. Neuroinflammation.* – 2014. – Vol. 11. – P. 100. – DOI: 10.1186/1742-2094-11-100

275. The association of genetic polymorphism with cerebral palsy: a meta-analysis / D. Wu, Y. Zou, X. Y. Xu [et al.] // *Dev. Med. Child. Neurol.* – 2011. – Vol. 53, № 3. – P. 217-225. – DOI: 10.1111

276. The correlation between AGT gene polymorphism and neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) / H. Chen, L. Gao, J. Wang, C. Gao // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2019. – Vol. 23, № 05. – P. 2194-2199. – DOI: 10.26355/eurrev_201903_17266.

277. The Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. The association of cord serum cytokines with neurodevelopmental outcomes / M. W. Varner, N. E. Marshall, D. J. Rouse [et al.] // *Am. J. Perinatol.* – 2015. – Vol. 30, № 2. – P. 115-122. – DOI: 10.1055/s-0034-1376185.

278. The inflammatory molecules IL-1beta and HMGB1 can rapidly enhance focal seizure generation in a brain slice model of temporal lobe epilepsy / A. Chiavegato, E. Zurolo, G. Losi [et al.] // *Front. Cell. Neurosci.* – 2014. – Vol. 8. – P.155. – DOI: 10.3389/fncel.2014.00155.

279. The influence of genetic variability in IL1B and MIR146A on the risk of pleural plaques and malignant mesothelioma / P. Piber, N. Vavpetic, K. Goricar [et al.] // *Radiol. Oncol.* – 2020. – Vol. 54, № 4. – P. 429-436. – DOI: 10.2478/raon-2020-0057.

280. The NESHIE and CP Genetics Resource (NCGR): A database of genes and variants reported in neonatal encephalopathy with suspected hypoxic ischemic encephalopathy (NESHIE) and consequential cerebral palsy (CP) / M. A. Holborn, G. Ford, S. Turner [et al.] // *Genomics.* – 2022. – Vol. 114, № 6. – P. 110508. – DOI: 10.1016/j.ygeno.2022.110508.

281. The potential neuroprotective role of a histone deacetylase inhibitor, sodium butyrate, after neonatal hypoxia-ischemia / J. Jaworska, M. Ziemka-Nalecz, J. Sypecka, T. Zalewska // *J. Neuroinflammation.* – 2017. – Vol. 14, № 1. – P. 34. – DOI: 10.1186/s12974-017-0807-8.

282. The prognostic value of early aEEG in asphyxiated infants undergoing systemic hypothermia treatment / B. Hallberg, K. Grossmann, M. Bartocci, M. Blennow // *Acta. Paediatrica.* – 2010. – Vol. 99, № 4. – P.531-536. – DOI: 10.1111/j.1651-2227.2009.01653.x.

283. The relationship of CSF and plasmacytokine levels to cerebral white matter injury in the premature newborn / V. J. Ellison, T. J. Mocatta, C. C. Winterbourn [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2005. – Vol. 57, № 2. – P. 282-286. – DOI: 10.1203/01.PDR.0000148286.53572.95.

284. The role of inflammation in perinatal brain injury / H. Hagberg, C. Mallard, D. M. Ferriero [et al.] // *Nat. Rev. Neurol.* – 2015. – Vol. 11, № 4. – P. 192-208. – DOI: 10.1038/nrneurol.2015.13.

285. The role of lymphocytes in neonatal encephalopathy / A. M. Melo, N. Ab Taher, D. G. Doherty, E. J. Molloy // *Brain Behav. Immun. Health.* – 2021. – Vol. 18. – P. 100380. – DOI: 10.1016/j.bbih.2021.100380.

286. The Role of S100B Protein at 24 Hours of Postnatal Age as Early Indicator of Brain Damage and Prognostic Parameter of Perinatal Asphyxia / Q.

Luo, T. Pin, L. Dai // *Global. Pediatric. Health.* – 2019. – Vol. 6. – P. 2333794X19833729. – DOI: 10.1177/2333794X19833729.

287. The role of TNF- α , IL-6, IL-10, and GDNF in neuronal apoptosis in neonatal rat with hypoxic-ischemic encephalopathy / S. J. Li, W. Liu, J. L. Wang [et al.] // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2014. – Vol. 18, № 6. – P. 905-909.

288. The significance of polymorphisms in genes encoding Il-1 β , Il-6, TNF α , and Il-1RN in the pathogenesis of intraventricular hemorrhage in preterm infants / D. Szpecht, J. Gadzinowski, A. Seremak-Mrozikiewicz [et.el.] // *Childs. Nerv. Syst.* – 2017. – Vol. 33, № 11– P. 1905-1916. – DOI: 10.1007/s00381-017-3458-2.

289. The TNF-alpha -308, MCP-1 -2518 and TGF-beta1 +915 polymorphisms are not associated with the development of chronic lung disease in very low birth weight infants / K. Adcock, C. Hedberg, J. Loggins [et al.] // *Genes Immun.* – 2003. – Vol. 4, № 6. – P. 420-426. – DOI: 10.1038/sj.gene.6363986.

290. TNF-alpha -308A promoter polymorphism is associated with enhanced TNF-alpha production and inflammatory activity in Crohn's patients with fistulizing disease / S. Gonzalez, L. Rodrigo, J. Martinez-Borra [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* – 2003. – Vol. 98, № 5. – P. 1101-1106. – DOI: 10.1111/J.1572-0241.2003.07416.x.

291. TNF- α and MTHFR Polymorphisms Associated with Cerebral Palsy in Chinese Infants / R. Hou, X. Ren, J. Wang, X. Guan // *Mol. Neurobiol.* – 2016. – Vol. 53, № 10. – P. 6653-6658. – DOI: 10.1007/s12035-015-9566-7.

292. Traudt, C. M. Concurrent erythropoietin and hypothermia treatment improve outcomes in a term nonhuman primate model of perinatal asphyxia / C. M. Traudt, R. J. McPherson, L. A. Bauer // *Dev. Neurosci.* – 2013. – Vol. 35, № 6. – P.491-503. – DOI: 10.1159/000355460.

293. Trends and predictors of in-hospital mortality among babies with hypoxic ischaemic encephalopathy at a tertiary hospital in Nigeria: A retrospective cohort study / B. N. Ezenwa, G. Olorunfemi, I. Fajolu [et al.] // *PLoS One.* – 2021. – Vol. 16, № 4. – P. e0250633. – DOI: 10.1371/journal.pone.0250633.

294. Umbilicalcord S100B protein in neonatal hypoxic–ischemic encephalopathy / G. M. El-Meshad, D. M. El-Lahoney, N. F. Barseem [et al.] // *Menoufia Med. J.* – 2017. – Vol. 30. – P. 588-594.

295. Urinary levels of IL-1beta and GDNF in preterm neonates as potential biomarkers of motor development: A prospective study / R. C. Magalhaes, J. M. Moreira, E. L. M. Vieira [et al.] // *Mediators Inflamm.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 8201423. – DOI: 10.1155/2017/8201423.

296. Van Wincoop, M. Effect of therapeutic hypothermia on renal and myocardial function in asphyxiated (near) term neonates: A systematic review and meta-analysis / M. van Wincoop, K. de Bijl-Marcus, M. Lilien [et al.] // *PLoS One.* – 2021. – Vol. 16, № 2. – P. e0247403. – DOI: 10.1371/journal.pone.0247403.

297. Variants of the OLIG2 gene are associated with cerebral palsy in Chinese han infants with hypoxic-ischemic encephalopathy / L. Sun, L. Xia, M. Wang [et al.] // *NeuroMolecular. Med.* – 2019. – Vol. 21, № 1. – P. 75-84. – DOI: 10.1007/s12017-018-8510-1.

298. Vezzani, A. Neuroinflammatory pathways as treatment targets and biomarkers in epilepsy / A. Vezzani, S. Balosso, T. Ravizza // *Nat. Rev. Neurol.* – 2019. – Vol. 15. – P. 459-472. – DOI: 10.1038/s41582-019-0217-x

299. White matter injury in the neonatal hypoxic-ischemic brain and potential therapies targeting microglia / R. Shao, D. Sun, Y. Hu, D. Cui // *J. Neurosci. Res.* – 2021. – Vol. 99, № 4. – P. 991-1008. – DOI: 10.1002/jnr.24761.

300. Wiswell, T. E. Evaluation for the etiology of neonatal encephalopathy and the diagnosis of FIRS / T. E. Wiswell // *Semin. Fetal. Neonatal. Med.* – 2020. – Vol. 25, № 4. – P. 101140. – DOI: 10.1016/j.siny.2020.101140.