

Соколов П.Л.¹, Притыко А.Г.¹, Н.В. Чебаненко Н.В.², Романов П.А.¹.

НЕПРЯМОЙ ПУТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ НА ФОРМИРОВАНИЕ ФЕНОТИПА ЦЕРЕБРАЛЬНОГО ПАРАЛИЧА: ГЕНОМ И ТОЛЕРАНТНОСТЬ К ГИПОКСИИ

¹ ГБУЗ «Научно-практический центр специализированной помощи детям имени Н.В. Войно-Ясенецкого Департамента здравоохранения г. Москвы», 119619, Москва;² Кафедра неврологии детского возраста ГБОУ ДПО «РМАПО» МЗ России, 125993 г. Москва

♦ Несмотря на прогресс во всех областях медицины, включая акушерство и неонатологию, число случаев заболевания детским церебральным параличом не только не уменьшается, но даже имеет тенденцию к росту. Развитие заболевания в 70% случаев происходит под влиянием хорошо известных и описанных факторов, таких, как гипоксия-ишемия, инфекционное, токсическое, травматическое поражение плода. В 30% случаев заболевания выявить воздействие патогенетических факторов не удается, что определяет актуальность поиска генетических аномалий, ответственных за формирование данного фенотипа.

Выделены десятки генных аномалий, в разной степени ассоциированные с развитием фенотипа врожденного церебрального паралича. Особый интерес представляют генетические факторы патогенеза, влияющие на формирование заболевания опосредованно, через механизмы формирования гипоксически-ишемического поражения мозга. Такие факторы влияют практически на все этапы «ишемического каскада»: формирование «глутаматного удара», реализацию «глутаматного удара» цитокинами, дефект антиоксидантной защиты нейрона, реализацию цитотоксического воздействия оксида азота (NO), стимуляцию процессов апоптоза нейронов и микроглии. Это позволяет выделить варианты особенностей и аномалий генома, определяющие толерантность головного мозга ребенка к гипоксически-ишемическому поражению. Формирование носителей таких аномалий в группы риска позволит дифференцировать тактику их ведения в перинатальном и постнатальном периодах с целью снижения вероятности формирования тяжелых гипоксически-ишемических поражений центральной нервной системы и церебральных параличей.

Накопленный объем научных данных по молекулярно-генетическим механизмам патогенеза перинатальных поражений головного мозга, таким, как эпигенетические, механизмы управления экспрессией генов, транскриптомные, осуществляемые посредством микро-РНК, на сегодняшний день позволяет в эксперименте предлагать новые пути защиты мозга плода от гипоксии и купирования ее последствий в послеродовом периоде.

Ключевые слова: обзор; церебральный паралич; патогенез; генетические факторы; гипоксия-ишемия.

Для цитирования: Соколов П.Л., Притыко А.Г., Н.В. Чебаненко Н.В., Романов П.А. Непрямой путь генетического влияния на формирование фенотипа церебрального паралича: геном и толерантность к гипоксии. *Российский медицинский журнал*. 2019; 25(5-6): 328-334.

DOI <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2106-2019-25-5-6-328-334>

Для корреспонденции: Чебаненко Наталья Владимировна, канд. мед. наук, доцент кафедры неврологии детского возраста ГБОУ ДПО РМАПО МЗ России, 125993, Москва, E-mail: nataqwe@yandex.ru

Sokolov P.L.¹, Prityko A.G.¹, Chebanenko N.V.², Romanov P.A.¹.

AN INDIRECT PATHWAY FOR GENETIC INFLUENCE ON THE FORMATION OF THE CEREBRAL PALSY PHENOTYPE: GENOME AND HYPOXIA TOLERANCE

¹N.V. Voyno-Yasensky Scientific and Practical Center for Specialized Assistance for Children Department of Healthcare of Moscow, 119619, Moscow, Russian Federation;²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, 125993, Moscow, Russian Federation

♦ The incidence of cerebral palsy is increasing. In 70% of cases, the disease develops as a result of exposure to known pathogenesis factors, such as hypoxia-ischemia, infectious, toxic, and traumatic damage to the fetus. In 30% of cases of the disease, the effect of pathogenetic factors is absent. This determines the relevance of the search for genetic anomalies responsible for the formation of this phenotype. Many genome disorders associated with the development of the cerebral palsy phenotype have been identified. Of particular interest is the indirect influence of genetic factors of pathogenesis, affecting the formation of the disease indirectly, through the mechanisms of formation of hypoxic-ischemic brain damage. Such factors affect almost all stages of the “ischemic cascade”: the formation of a “glutamate shock”, the realization of a “glutamate shock” by cytokines, the defect of the antioxidant defense of a neuron, the realization of the cytotoxic effect of nitric oxide (NO), and the stimulation of apoptosis of neurons and microglia. This makes it possible to identify genome variants that determine the tolerance of the child's brain to hypoxic-ischemic damage.

The combination of carriers of such anomalies into risk groups will make it possible to differentiate the tactics of their observation in the natal and postnatal periods in order to reduce the likelihood of the formation of severe hypoxic-ischemic lesions of the central nervous system and cerebral palsy.

Today, a large amount of scientific data has been accumulated on the molecular genetic mechanisms of the pathogenesis of perinatal brain lesions. Such as epigenetic, transcriptome gene expression control mechanisms via micro-RNA.

The available information allows us to experimentally develop new methods for protecting the fetal brain from hypoxia-ischemia and stopping the effects of hypoxia-ischemia in the neonatal period.

Keywords: review; cerebral palsy; genetics; hypoxia; ischemia; brain lesion.

For citation: Sokolov P.L., Prityko A.G., Chebanenko N.V., Romanov P.A. An indirect pathway for genetic influence on the formation of the cerebral palsy phenotype: genome and hypoxia tolerance. *Rossiiskii meditsinskii zhurnal (Medical Journal of the Russian Federation, Russian journal)*. 2019; 25(5-6): 328-334. (In Russ.)

DOI <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2106-2019-25-5-6-328-334>

For correspondence: Natal'ya V. Chebanenko, candidate of medical sciences, Associate Professor of the Child Neurology Department of Further Professional Education «Russian Medical Academy of Continuous Professional Education», 125993, Moscow, Russian Federation, E-mail: nataqwe@yandex.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 27.11.19

Accepted 13.12.19

Проблематика врожденных церебральных параличей со времени их описания Уильямом Джоном Литтлом [1] не теряет своей актуальности. Причиной тому является недостаточная эффективность терапевтического и реабилитационного воздействия и тот прискорбный факт, что, несмотря на прогресс во всех областях медицины, включая акушерство и неонатологию, число случаев заболевания никак не уменьшается и даже имеет тенденцию к росту (в России – увеличилась от 1,5 до 3,3 на 1000 детей, а в отдельных регионах до 5,1 на 1000 детей) [2]. На настоящий момент имеются многочисленные исследования, посвященные выделению факторов риска развития церебрального паралича, таких, как инфекционный, интоксикационный, непосредственно травматический и т.д., однако в 30% случаев детальное изучение анамнеза пациента с ЦП не позволяет выделить ни одного из них, что стимулирует идущие все более широким фронтом исследования влияния генетических факторов.

Определяющее значение в прогрессе прикладных генетических исследований, в том числе и в этом направлении, является растущая доступность методик секвенирования [3]. Выявлены уже сотни генов-кандидатов, в той или иной степени ассоциирующихся с развитием фенотипа церебральных параличей. При этом исследования постоянно выявляют мутации *de novo*, в генах, не отмеченных ранее проводимыми исследованиями, как ассоциированных с развитием фенотипа церебрального паралича.

Ассоциированные с развитием фенотипа ЦП гены принимают участие в навигации аксонов при спрутинге (TUBA1A, ABLIM2, SCN8A, MAST1, UPF3B, L1CAM, ERHA1, PAK3), участвуют в белковых внутрисинаптических взаимодействиях 3 (SIPA1L1, SLITRK2, IL1RAPL1) и непосредственно в синаптической передаче 2 (MAOB, ADCY3) [4], кроме того в регуляции обменных процессов в клетке, нейрональной миграции, миелинизации, внутриклеточной секреции и аксонального транспорта, возбудимости нейрональной мембраны и т.д. и т.п. В эксперименте, в ответ на острую ишемию, в клетках среднего мозга выявлена экспрессия провоспалительных генов, детерминирующих синтез фактора некроза опухоли TNF (TNF- α), циклооксигеназы-2 (COX2) и каспазы 3 (CASP3) [5].

Богатую информацию о патогенезе перинатальных гипоксически-ишемических поражений головного мозга, о механизмах его защиты и обеспечения пластичности в условиях воздействия неблагоприятных факторов позволяют получить исследования транскриптома. При идентификации его специфических профилей у детей с перинатальной энцефалопатией в условиях гипоксии-ишемии идентифицировано 950 статистически значимых для гипоксии генов. В качестве основных процессов, ассоциированных с гипоксически-ишемическим

поражением мозга, определены аксональная навигация, адгезия и диапедез гранулоцитов, сигнальная передача и продукция интерлейкина IL-12 в макрофагах и передача сигнала для фактора 1 α [6].

Влияние этих генов определяет т.н. «первичное», в основе своей – дизонтогенетическое в пренатальном периоде, формирование фенотипа церебральных параличей, отграничивая группу в той или иной степени генетически детерминированной патологии нейроонтогенеза.

Однако, в практике работы с «чистыми» случаями церебральных параличей остаются те, при которых далеко не всегда ретроспективная оценка анамнеза позволяет выявить сравнимую степень его отягощенности у детей с близкими по тяжести поражениями центральной нервной системы. Прежде всего это касается гипоксически-ишемических поражений мозга.

Патогенез церебральной ишемии на настоящий момент достаточно хорошо изучен на молекулярном уровне, однако в клинической практике не всегда удается выстроить адекватный прогноз «выхода» ребенка из гипоксически-ишемического поражения мозга.

Согласно сформировавшимся на настоящий момент представлениям о так называемом «ишемическом каскаде», роль триггера патологического процесса отводится падению синтеза аденозинтрифосфата, а роль основного патогенетического фактора – нарушениям обмена глутаминовой кислоты в глутаматных нейронах. Дефицит аденозинтрифосфата приводит к функциональной недостаточности мембранных ионных помп, в результате чего, в условиях трансмембранного ионного дисбаланса, формируется цитотоксический отек клетки. В результате такой «аноксической деполяризации» в глутамат-нейронах происходит массивный выброс глутаминовой кислоты, вызывающий эффект эксцитотоксичности: глутамат соединяется мембранными рецепторами (NMDA-, AMPA- и канинатыми) [7], и «открывает ворота» неконтролируемому трансмембранному проникновению ионов кальция и цинка.

Проведенные исследования генома пациентов с церебральными параличами, родившихся недоношенными, позволили выявить ассоциацию с развитием фенотипа заболевания с однонуклеотидными полиморфизмами rs1835740 (A-181C) и rs116392274 (C-200A) гена EAAT2, детерминирующего синтез основного транспортера глутамата EAAT2 [8]. Кроме того, выявлена ассоциированность этого гена с развитием наследственных дискинезий [9].

В продолжении «ишемического каскада» под воздействием ионов кальция происходит активация протеолитических ферментов, под воздействием которых запускаются процессы перекисного окисления, выделение свободных радикалов и повреждение внутриклеточных

структур. При этом данные исследований, проведенных на больных с церебральными параличами, показали, что полиморфизмы гена IL-6 (rs2069837; rs1800796; rs2066992; rs2069837) детерминирующего синтез одного из важнейших цитокинов — интрелейкина-6 (IL-6), ассоциировано с формированием фенотипа ЦП, и, кроме того, связано с полом и гестационным возрастом.

Ассоциированность с формированием церебрального паралича в результате гипоксически-ишемического поражения головного мозга демонстрируют и полиморфизмы генов, ответственных за синтез ферментов антиоксидантного ряда. Так, в качестве одного из субстратов генетической предрасположенности к развитию тяжелых перинатальных поражений центральной нервной системы, представлен полиморфный аллель гена каталазы CAT rs1001179 T [10].

В качестве маркера высокого риска развития церебрального паралича вследствие гипоксически-ишемического поражения мозга рассматривается активация транскрипции гена IL-1 β (IL-1 β) с положительной обратной стимуляцией микросателлита NOS2 (CCTTT) n с помощью IL-1 β . Основным патогенетическим фактором в данном случае является активация синтетазы оксида азота (NO) [11].

Важнейшим компонентом патогенеза гипоксически-ишемического поражения мозга является активация апоптоза. Данные генетических исследований позволяют рассматривать участие в патогенезе церебральных параличей гена TP53, детерминирующего синтез ядерного белка p53, индуцирующего апоптоз. В качестве доказательства приводятся данные об индукции TP53 в мозге новорожденного при гипоксически-ишемических поражениях [12, 13].

К активации апоптоза посредством изменения ядерной транслокации апоптоз-индуцирующего фактора (AIF) причастно снижение экспрессии гена микро РНК miR-124 [14].

В эксперименте на новорожденных детенышах крыс определено участие микро-РНК miR-210 в подавлении эндогенной нейропротекции ишемизированной мозговой ткани и, тем самым, усугубление гипоксически-ишемического поражения ткани мозга.

Исходя из этого положения, синтезирован и доказал нейропротекторную эффективность ингибированный вариант miR210, miR210-LNA. Введение MiR-210-LNA через четыре часа после острой ишемии значительно снижало уровни miR-210 в мозге, уменьшало HI-индуцированную гибель нейронов и размер инфаркта головного мозга и улучшало долговременное восстановление пораженных функций мозга [15].

Конечно же, генетически детерминируются не только физиологически агрессивные факторы. Так же регулируются и альтернативные физиологические механизмы нейропротекции. Внеклеточная супероксиддисмутаза (EC-SOD) является изоформой фермента, на которую приходится большая часть активности SOD в кровеносных сосудах. В эксперименте на трансгенных мышцах, свойством которых была сверхэкспрессия гена внекле-

точной супероксиддисмутаза, показана нейропротективная роль данного фермента в условиях гипоксии-ишемии. Трансгенные мыши сохраняли нормальную синаптическую активность, меньший уровень выраженности апоптоза и активности каспазы-3 в сравнении немодифицированными генетически сородичами [16].

Имеются данные о протективной роли полиморфизмов гена переносчика допамина (DAT1), на развитие высших корковых функций у детей, перенесших гипоксически-ишемическое поражение головного мозга [17].

В процессе исследований транскриптомных механизмов защиты головного мозга в условиях экспериментальной гипоксии-ишемии при помощи методики микрочипов была выявлена задействованность молекулярного сигнального пути ERK1/2, обеспечивающего пролиферацию и выживание клеток [18].

Технологические прорывы последнего времени открыли новые возможности в изучении генома. Фокус интереса исследователей сконцентрировался на изучении механизмов управления геномом в процессе пре- и постнатального нейроонтогенеза и патогенеза самых различных заболеваний, реализующегося посредством эпигенетических влияний. В числе последних рассматриваются метилирование, гидроксиметилирование, деметилирование цитозина, а также посттрансляционные модификации гистоновых белков, участвующие в регуляции экспрессии генов.

Эпигенетические модификации могут быть обратимыми, а могут приводить к стабильным и наследуемым изменениям в моделях экспрессии генов без изменения кодирующих последовательностей нуклеотидов [19].

Сейчас уже очевидно, что эпигенетические механизмы обеспечивают оперативную адаптацию генома в соответствии с требованиями внешней среды и особенностей гомеостаза как в норме, так и в патологии, в частности – в условиях ишемии. Так, определено снижение общей активности метилтрансфераз в условиях оксидантного стресса [20].

В 2016 году Munoz и соавт. получены экспериментальные данные, свидетельствующие об участии процессов метилирования ДНК в обеспечении синаптической пластичности [21].

Наиболее изученным на настоящий момент является механизм метилирования ДНК. Долгое время считалось, что метилирование необратимо, однако открытие процессов деметилирования и гидроксиметилирования позволило рассматривать механизмы модификации генома как обратимые. Функциональная роль гидроксиметилцитозина (5hmc) была описана Kriaucionis, Heintz и Tahiliani с соавт. в 2009 году [22,23], что придало новый импульс исследованиям патогенетической роли модификаций генома.

5hmC — это продукт окисления 5-метилцитозина (5mc), катализируемого белками семейства TET (Ten-Eleven-Translocation) [23–25]. 5hmC особенно широко представлен в тканях головного мозга [26], что свидетельствует о богатой его вовлеченности в процессы функционирования центральной нервной системы. По-

рядок чередования 5-гидроксиметилцитозина играет роль в обеспечении нейроонтогенеза [27].

Динамические изменения в гидроксиметилировании ДНК имеют фундаментальное значение для дифференцировки стволовых клеток. Усиление гидроксиметилирования и потеря метилирования происходят последовательно при специфических клеточных переходах во время нейрогенной фиксации. Эти изменения в основном отмечены в энхансерах нейрогенных генов, активированных во время нейрогенеза и мишеней для пионер-факторов транскрипции. На сегодняшний день продемонстрирован факт участия гидроксиметилирования в регуляции активности гена *DCHS1*, участвующего в процессах кортикогенеза (этот ген является членом суперсемейства кадгеринов, члены которого кодируют кальций-зависимые молекулы клеточной адгезии) [28].

В ЦНС млекопитающих 5hmC не только выступает в качестве промежуточного звена процесса деметилирования. Он также служит устойчивой эпигенетической меткой процессов патогенеза при различной патологии [29]. На настоящий момент определены профили чередования 5-гидроксиметилцитозина в геномной ДНК, характерные для моделей болезни Альцгеймера [30], хореи Геттингтона [31] и расстройств аутистического спектра [32].

В модели церебральной ишемии на новорожденных детенышах крыс показано уменьшение общего содержания 5-гидроксиметилцитозина в височной доле головного мозга после гипоксически-ишемического воздействия, что указывает на возможность снижения экспрессии метилцитозин-диоксигеназ TET-1 и TET-2 в условиях экспериментальной гипоксии-ишемии. Кроме того, выявленные дифференциальные области гидроксиметилирования (*DhMR*) активно участвуют во множестве сигнальных путей, связанных с развитием и функцией нейронов [33].

Важнейшим внеклеточным эффектом ишемического каскада является вовлечение в патологический процесс глиальных элементов. Микроглия, помимо широко известного фагоцитарного функционала, участвует в метаболизме нейротрансмиттеров, формирует локальный ответ при воздействии таких патогенных факторов, как интерлейкины, цитокины, апоптотические стимулы, и даже участвует в поддержании постоянства внутриклеточного ионного состава [34,35] и избыточных аксонов в процессе спрутинга. Осуществляя транспортную функцию, микроглия играет важнейшую роль в процессе нейроонтогенеза [36].

В процессе интенсивного накопления информации о влиянии генома на патогенез гипоксически-ишемического поражения мозга получены данные о роли поверхностных рецепторов, играющих ключевую роль в идентификации антигенов фагоцитами. Так, по экспериментальным данным, полученным на мышах, активация гена *Pam3CSK4* (*P3C*), ответственного за *Toll-like receptor 2* (*TLR2*), располагающегося, в том числе, на микроглиоцитах, снижает выраженность поражения мозговой ткани и демиелинизации в рамках гипокси-

чески-ишемического поражения центральной нервной системы [37].

Активация микроглии сопровождается и (или) определяет эффекты экссайтотоксичности и цитотоксического отека, приводящих к гибели нейрона, кроме того, приводит к активации *NMDA*-рецепторов [38]. Более того, на настоящий момент экспериментально (*in vitro*) показана способность микроглии в условиях респираторного дистресса выделять перекись водорода и окись азота в токсичных для клетки концентрациях [39].

По значимости в патогенезе перинатальных поражений мозга вторым за гипоксически-ишемическим следует инфекционный фактор.

Среди выделенных Montaldo P. и соавторами при анализе транскриптома детей с перинатальными поражениями мозга различной природы 950 ассоциированных генов 137 имели признаки ассоциированности с септическим процессом и отличающиеся профили экспрессии [6].

Дальнейшее развитие тема получила в серии экспериментальных исследований, в которых было выявлено достоверно более тяжелое поражение мозга при гипоксии-ишемии в условиях предварительного введения (с целью своего рода сенсibilизации) липополисахарида *Escherichia coli*. Потери площади мозга при условии предварительной сенсibilизации липополисахаридом были существенно выше, чем при «чистой» гипоксии-ишемии, причем в большей степени страдала гиппокампальная область. Кроме того, именно в этих случаях проявлялась неэффективность краниocereбральной гипотермии [40].

Изучение механизмов реализации данного феномена привело к выяснению ведущей роли микроглии в его формировании. Известно, что иммунные клетки проявляют высокую степень фенотипической пластичности, что может способствовать их участию как в прогрессировании, так и в разрешении воспалительного процесса, вызванного гипоксически-ишемическим воздействием. Сенсibilизация липополисахаридом индуцирует активацию микроглии как резидентного макрофага центральной нервной системы. При этом результатом классического пути активации является *M1*-фенотип, которому свойственна активная секреция провоспалительных цитокинов и хемокинов [41, 42]. Происходит это посредством активации провоспалительных генов, включая экспрессию гена воспаления *NLRP3* через 24 ч после сенсibilизированного воспалительным агентом (липополисахаридом) гипоксически-ишемического воздействия [43].

При изучении временной экспрессии генов, связанных с классическим (*M1*, провоспалительно-активным) и альтернативным (*M2* – преимущественно фагоцитарным) поляризационным фенотипами после экспериментальной гипоксии-ишемии была выявлена быстрая, в течение 6 часов, индукция генов, определяющих и *M1*, и *M2* фенотипы макрофагов, при этом популяция *M1* росла, а популяция *M2* снижалась. Кроме того, была идентифицирована популяция, не обладающая ни

свойствами M1, ни свойствами M2 фенотипов и при этом относящаяся в большинстве своем к резидентной микроглии. Именно эта популяция продуцировала белок галектин-3, участвующий в хемотаксисе и поляризации макрофагов [41].

Необходимо отметить: предположение о том, что M1 и M2 являются лишь полярными модификациями макрофагального пула, высказывались довольно давно [42]. В свете этих данных популяция «ни M1 ни M2» представляет собой недифференцированные макрофаги, основной задачей которых является обеспечение миграции в очаг гипоксии-ишемии.

Полученные данные уже на сегодняшний день позволили в эксперименте выйти на новые возможности снижения «агрессивности» микроглии в ишемизированном участке мозга. Так, была показана возможность снижения секреции провоспалительных агентов активированной M1-микроглией посредством введения внеклеточных везикулярноподобных экзосом мезенхимальных стволовых клеток Вартонова студня пуповины. В ответ на стимуляцию липополисахаридом экзосомы блокировали в передаче сигналов Toll-like рецептора 4 микроглии и предотвращали деградацию ингибитора NFκB IκBα и фосфорилирование молекул семейства митоген-активируемой протеинкиназы [44].

Значительно снижает M1-подобный (липополисахаридный, LPS-индуцированный) ответ микроглии и нивелирует ее LPS-индуцированную фагоцитарную активность пифитрин-μ (PFT-μ) — лекарственное средство с мощным нейропротективным эффектом, исследуемое на доклиническом уровне. [5].

Во многом сходна с микроглиальной реакция на гипоксию-ишемию олигодендроглии. Зрелые олигодендроциты проявляют ту же повышенную чувствительность к активации NMDA-bAMPA-рецепторам. Следствием их активации является поражение еще только формирующегося миелина [45], что может определять более высокий риск миелинокластических процессов у недоношенных новорожденных [46]. Однако, имеются и данные о вовлечении олигодендроцитов в патогенез ишемического поражения мозговой ткани на более ранних стадиях нейроонтогенеза. Олигодендроцитарные клетки-предшественники пролиферируют и дифференцируются в зрелые миелин-образующие олигодендроциты при участии астроцитов и микроглии. Гипоксически-ишемическое воздействие приводит к нарушению этих процессов, и, в результате — к проявлениям дисмиелинизации. Оно подавляет в развивающемся мозге гены, участвующие в дифференцировке олигодендроцитов, кодирующие синтез протеолипидного белка, рецептор фактора роста тромбоцитов и связанный с миелином гликопротеин. Кроме того, непосредственно поражает клетки-предшественники выброс провоспалительных цитокинов активированной микро- и астроглией, а также свойственные ишемическому каскаду избыток глутамата и повышение уровня оксида азота. Также описано усиленное накопление олигодендроцитами железа, ведущее к нарушению функционального

состояния эндоплазматического ретикулума, коагуляции белковых молекул и образованию активных форм кислорода [47].

Заключение

Приведенные данные демонстрируют наличие клинически значимой генетической детерминированности таких ключевых составляющих патогенеза гипоксически-ишемических поражений головного мозга, как:

- ♦ Формирования «глутаматного удара»;
- ♦ Реализации «глутаматного удара» цитокинами;
- ♦ Дефекта антиоксидантной защиты нейрона;
- ♦ Реализации цитотоксического воздействия оксида азота (NO);
- ♦ Стимуляции процессов апоптоза нейронов и микроглии.

Это позволяет уже на настоящем этапе выделить варианты особенностей и аномалий генома, в той или иной степени определяющие толерантность головного мозга ребенка к гипоксически-ишемическому поражению. Формирование носителей таких аномалий в группы риска позволит дифференцировать тактику их ведения в натальном и постнатальном периодах с целью снижения риска формирования тяжелых гипоксически-ишемических поражений центральной нервной системы, имеющих в качестве исхода такую тяжелую патологию, как церебральные параличи.

Изучение патогенетических аспектов гипоксии-ишемии мозга в перинатальном периоде отвечает актуальному запросу практической медицины. Глубина наших познаний в этом направлении растет стремительными темпами, заданными прогрессом в области молекулярной генетики. Данные проведенных за последние годы исследований наметили новые, инновационные тренды терапевтического воздействия в остром периоде гипоксии-ишемии, такие, как создание маскирующих структурных аналогов микро-РНК, новых химических соединений с мощными нейропротективными свойствами.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

(п.п. 1, 3-33, 35-41 см. REFERENCES)

2. Клинические рекомендации. Детский церебральный паралич у детей. Союз Педиатров России. 2016.
34. Малиновская Н.А., Прокопенко С.В., Комлева Ю.К., Панина Ю.А., Пожиленкова Е.А., Рябоконь Р.В. и соавт. Молекулярные маркеры активации глии при нейровоспалении: новые возможности для фармакотерапии нейродегенерации. *Сибирское медицинское обозрение*. 2014; 5: 5-15.
42. Монастырская Е.А., Лямина С.В., Малышев Ю.И. M1 и M2 фенотипы активированных макрофагов и их роль в иммунном ответе и патологии. *Патогенез*. 2008; 6(4): 31-9.

REFERENCES

1. Little W.J. Deformities of the human frame. *Lancet*. 1843; 318-22.
2. Clinical recommendations. Cerebral palsy in children. Union of Pediatricians of Russia. 2016. (in Russian)

3. Van Eyk C.L., Corbett M.A., MacLennan A.H. The emerging genetic landscape of cerebral palsy. *Handb Clin Neurol.* 2018; 147:331-342. doi: 10.1016/B978-0-444-63233-3.00022-1.
4. McMichael G., Bainbridge M.N., Haan E., Corbett M., Gardner A., Thompson S. et al. Whole-exome sequencing points to considerable genetic heterogeneity of cerebral palsy. *Mol Psychiatry.* 2015; 20(2): 176-82. doi: 10.1038/mp.2014.189
5. Fleiss B., Chhor V., Rajudin N., Lebon S., Hagberg H., Gressens P., Thornton C. The Anti-Inflammatory Effects of the Small Molecule Pifithrin- μ on BV2 Microglia. *Dev Neurosci.* 2015; 37(4-5):363-75. doi: 10.1159/000370031
6. Montaldo P., Kaforou M., Pollara G., Hervás-Marín D., Calabria I., Panadero J. et al. Whole Blood Gene Expression Reveals Specific Transcriptome Changes in Neonatal Encephalopathy. *Neonatology.* 2019; 115(1): 68-76. doi: 10.1159/000492420
7. Wu X., Zhu D., Jiang X., Okagaki P., Mearow K., Zhu G. et al. AMPA protects cultured neurons against glutamate excitotoxicity through a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent activation in extracellular signal-regulated kinase to upregulate BDNF gene expression. *J Neurochem.* 2004; 90: 807-18. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2004.02526.x
8. Rajatileka S., Odd D., Robinson M.T., Spittle A.C., Dwomoh L., Williams M. et al. Variants of the EAAT2 Glutamate Transporter Gene Promoter Are Associated with Cerebral Palsy in Preterm Infants. *Mol Neurobiol.* 2018; 55(3): 2013-24. DOI: 10.1007/s12035-017-0462-1
9. Carecchio M., Mencacci N.E., Iodice A., Pons R., Panteghini C., Zorzi G. et al. ADCY5-related movement disorders: Frequency, disease course and phenotypic variability in a cohort of paediatric patients. *Parkinsonism Relat Disord.* 2017; 41: 37-43. doi: 10.1016/j.parkreldis.2017.05.004
10. Bi D., Chen M., Zhang X., Wang H., Xia L., Shang Q., Li T. et al. The association between sex-related interleukin-6 gene polymorphisms and the risk for cerebral palsy. *J Neuroinflammation.* 2014; 11: 100. doi: 10.1186/1742-2094-11-100
11. Torres-Merino S., Moreno-Sandoval H.N., Thompson-Bonilla M. del R., Leon J.A.O., Gomez-Conde E., Leon-Chavez B.A. et al. Association Between rs3833912/rs16944 SNPs and Risk for Cerebral Palsy in Mexican Children. *Mol Neurobiol.* 2019; 56(3): 1800-11. doi: 10.1007/s12035-018-1178-6
12. Hedtjörn M., Mallard C., Eklind S., Gustafson-Brywe K., Hagberg H. Global gene expression in the immature brain after hypoxia-ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2004; 24(12):1317-32. DOI:10.1097/01.WCB.0000141558.40491.75
13. Bolouri H., Savman K., Wang W., Thomas A., Maurer N., Dullaghan E. et al. Innate defense regulator peptide 1018 protects against perinatal brain injury. *Ann Neurol.* 2014; 75: 395-410. doi: 10.1002/ana.24087 24: 1317-32
14. Li H., Wang X.L., Wu Y.Q., Liu X.M., Li A.M. Correlation of the predisposition of Chinese children to cerebral palsy with nucleotide variation in pri-miR-124 that alters the non-canonical apoptosis pathway. *Acta Pharmacol Sin.* 2018; 39(9): 1453-62. doi: 10.1038/aps.2017.211
15. Ma Q., Dasgupta C., Li Y., Bajwa N.M., Xiong F., Harding B., Hartman R., Zhang L. Inhibition of microRNA-210 provides neuroprotection in hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Neurobiol Dis.* 2016; 89: 202-12. doi: 10.1016/j.nbd.2016.02.011
16. Zaghloul N., Patel H., Codipilly C., Marambaud P., Dewey S., Fratini S. et al. Overexpression of extracellular superoxide dismutase protects against brain injury induced by chronic hypoxia. *PLoS One.* 2014; 9(9): e108168. doi: 10.1371/journal.pone.0108168.
17. Miguel P.M., Pereira L.O., Barth B., de Mendonça Filho E.J., Pokhvisneva I., Nguyen T.T.T. et al. Prefrontal Cortex Dopamine Transporter Gene Network Moderates the Effect of Perinatal Hypoxic-Ischemic Conditions on Cognitive Flexibility and Brain Gray Matter Density in Children. *Biol Psychiatry.* 2019; 86(8): 621-30. doi: 10.1016/j.biopsych.2019.03.983
18. Cox-Limpens K.E., Gavilanes A.W., Zimmermann L.J., Vles J.S. Endogenous brain protection: what the cerebral transcriptome teaches us. *Brain Res.* 2014; 1564: 85-100. doi: 10.1016/j.brainres.2014.04.001
19. Murrell A., Hurd P.J., Wood I.C. Epigenetic mechanisms in development and disease. *Biochem. Soc. Trans.* 2013; 41: 697-9. doi: 10.1042/BST20130051
20. Chen C.C., Wang K.Y., Shen C.K. The mammalian de novo DNA methyltransferases DNMT3A and DNMT3B are also DNA 5-hydroxymethylcytosine dehydroxymethylases. *J Biol Chem.* 2012; 287: 33116-21. DOI: 10.1074/jbc.C112.406975
21. Munoz P., Estay C., Diaz P., Elgueta C., Ardiles A.O., Lizana P.A. Inhibition of DNA methylation impairs synaptic plasticity during an early time window in rats. *Neural Plast.* 2016; 2016: 4783836. doi: 10.1155/2016/4783836.
22. Kriaucionis S., Heintz N. The nuclear DNA base 5-hydroxymethylcytosine is present in purkinje neurons and the brain. *Science.* 2009; 324: 929-30. doi: 10.1126/science.1169786
23. Tahiliani M., Koh K.P., Shen Y., Pastor W.A., Bandukwala H., Brudno Y. et al. Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1. *Science.* 2009; 324: 930-5. DOI:10.1126/science.1170116
24. Cliffe L.J., Kieft R., Southern T., Birkeland S.R., Marshall M., Sweeney K., Sabatini R. JBP1 and JBP2 are two distinct thymidine hydroxylases involved in J biosynthesis in genomic DNA of African trypanosomes. *Nucleic Acids Res.* 2009; 37(5):1452-62. doi: 10.1093/nar/gkn1067.
25. D'Alessio A.C., Taranova O.V., Hong K., Sowers L.C., Zhang Y. Role of tet proteins in 5mC to 5hmC conversion, ES-cell self-renewal and inner cell mass specification. *Nature.* 2010; 466: 1129-33. doi: 10.1038/nature09303
26. Song C.X., Szulwach K.E., Fu Y., Dai Q., Yi C., Li X. et al. Selective chemical labeling reveals the genome-wide distribution of 5-hydroxymethylcytosine. *Nat. Biotechnol.* 2011; 29(1): 68-72. doi: 10.1038/nbt.1732.
27. Wang Z., Tang B., He Y., and Jin P. DNA methylation dynamics in neurogenesis. *Epigenomics.* 2016; 8: 401-14. doi: 10.2217/epi.15.119
28. Noack F., Pataskar A., Schneider M., Buchholz F., Tiwari V.K., Calegari F. Assessment and site-specific manipulation of DNA (hydroxy-) methylation during mouse corticogenesis. *Life Sci Alliance.* 2019; 2(2). pii: e201900331. doi: 10.26508/lsa.201900331
29. Tan L., Shi Y.G. Tet family proteins and 5-hydroxymethylcytosine in development and disease. *Development.* 2012; 139: 1895-902. doi: 10.1242/dev.070771
30. Shu L., Sun W., Li L., Xu Z., Lin L., Xie P. et al. Genome-wide alteration of 5-hydroxymethylcytosine in a mouse model of Alzheimer's disease. *BMC Genomics.* 2016; 17: 381. doi: 10.1186/s12864-016-2731
31. Wang F., Yang Y., Lin X., Wang J.-Q., Wu Y.-S., Xie W. et al. Genome-wide loss of 5-hmC is a novel epigenetic feature of Huntingtons disease. *Hum. Mol. Genet.* 2013; 22: 3641-53. doi: 10.1093/hmg/ddt214
32. Papale L.A., Zhang Q., Li S., Chen K., Keles S., and Alisch R.S. Genomewide disruption of 5-hydroxymethylcytosine in a mouse model of autism. *Hum. Mol. Genet.* 2015; 24: 7121-31. doi: 10.1093/hmg/ddv411
33. Zhang Y., Zhang Y., Chen D., Wang C., Chen L., Gao C. et al. Genome-Wide Alteration of 5-Hydroxymethylcytosine in Hypoxic-Ischemic Neonatal Rat Model of Cerebral Palsy. *Front Mol Neurosci.* 2019; 12: 214. doi: 10.3389/fnmol.2019.00214
34. Malinenskaya N.A., Prokopenko S.V., Komleva Yu.K., Panin Yu.A., Pozhilovskaya E.A., Ryabokon R.V. et al. Marker molecules of glia activation in neuroinflammation: new possibilities for pharmacotherapy of neurodegeneration. *Sibirskoe Meditsinskoe obozrenie.* 2014; 5: 5-15. (in Russian)
35. Furue S., Watanabe K., Negoro T., Yamamoto N., Aso K., Takae-su K. Auditory brainstem response: a comparative study of ipsilateral versus contralateral recording in neurological disorders in children. *Brain & Development.* 1985; 7(5): 463-9. DOI: 10.1016/j.eplepsyres.2006.02.007
36. Zhang F., Nance E., Alnasser Y., Kannan R., Kannan S. Microglial migration and interactions with dendrimer nanoparticles are altered in the presence of neuroinflammation. *Journal of Neuroinflammation.* 2016; 13: 65. DOI 10.1186/s12974-016-0529-3
37. Mottahedin A., Svedin P., Nair S., Mohn C.J., Wang X., Hagberg H. et al. Systemic activation of Toll-like receptor 2 suppresses mitochondrial respiration and exacerbates hypoxic-ischemic injury in the developing brain. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2017; 37(4): 1192-8. doi: 10.1177/0271678X17691292.

38. Domingo-Gonzalez R., Martínez-Colón G.J., Smith A.J., Smith C.K., Ballinger M.N., Xia M. et al. Inhibition of neutrophil extracellular trap formation after stem cell transplant by prostaglandin E2. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2016; 193(2): 186–97. DOI: 10.1164/rccm.201501-0161OC
39. Guillemin G.J., Brew B.J. Microglia, macrophages, perivascular macrophages, and pericytes: a review of function and identification. *J. Leukoc. Biol.* 2004; 5(3): 388–97. DOI: 10.1189/jlb.0303114.
40. Osredkar D., Thoresen M., Maes E., Flatebø T., Elstad M., Sabir H. Hypothermia is not neuroprotective after infection-sensitized neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Resuscitation.* 2014; 85(4): 567–72. doi: 10.1016/j.resuscitation.2013.12.006
41. Hellström Erkenstam N., Smith P.L., Fleiss B., Nair S., Svedin P. et al. Microglia/Macrophage Phenotypes in a Mouse Model of Neonatal Hypoxic-Ischemic Brain Injury. *Front Cell Neurosci.* 2016; 10: 286. doi: 10.3389/fncel.2016.00286
42. Monastyrskaya E.A., Lyamina S.V., Malyshev Yu.I. M1 and M2 phenotypes of activated macrophages and their role in the immune response and pathology. *Patogenez.* 2008; 6 (4): 31–9.(in Russian)
43. Serdar M., Kempe K., Rizazad M., Herz J., Bendix I., Felderhoff-Müser U. et al. Early Pro-inflammatory Microglia Activation After Inflammation-Sensitized Hypoxic-Ischemic Brain Injury in Neonatal Rats. *Front Cell Neurosci.* 2019;13: 237. doi: 10.3389/fncel.2019.00237.
44. Thomi G., Surbek D., Haesler V., Joerger-Messerli M., Schoeberlein A. Exosomes derived from umbilical cord mesenchymal stem cells reduce microglia-mediated neuroinflammation in perinatal brain injury. *Stem Cell Res Ther.* 2019; 10(1): 105. doi: 10.1186/s13287-019-1207-z
45. Khwaja O., Volpe J.J. Pathogenesis of cerebral white matter injury of prematurity. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2008; 93(2): F153–61. doi: 10.1136/adc.2006.108837.
46. Hickey E., Shi H., Van Arsdell G., Askalan R. Lipopolysaccharide-induced preconditioning against ischemic injury is associated with changes in tolllike receptor 4 expression in the rat developing brain. *Pediatr Res.* 2011; 70:10–4. 73. DOI: 10.1203/PDR.0b013e31821d02aa
47. Singh D.K., Ling E.A., Kaur C. Hypoxia and myelination deficits in the developing brain. *Int J Dev Neurosci.* 2018;70:3–11. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2018.06.012.

Поступила 27.11.19
Принята к печати 13.12.19