

Роль toll-подобных рецепторов в развитии осложнений после кардиохирургического лечения врожденных пороков сердца у детей

Для корреспонденции:

Анна Викторовна Цепочкина, seroav1991@gmail.com

Поступила в редакцию 25 февраля 2021 г. Исправлена 11 мая 2021 г. Принята к печати 12 мая 2021 г.

Цитировать:

Цепочкина А.В., Аникеенко А.А., Шмулевич С.А., Понасенко А.В., Шабалдин А.В. Роль toll-подобных рецепторов в развитии осложнений после кардиохирургического лечения врожденных пороков сердца у детей. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2021;25(3):34-42. <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2021-3-34-42>

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0546-2019-0002.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов

Концепция и дизайн: А.В. Шабалдин, А.В. Понасенко, А.В. Цепочкина
Сбор и анализ данных: А.А. Аникеенко, А.В. Цепочкина, С.А. Шмулевич
Статистическая обработка данных: А.В. Шабалдин, А.В. Цепочкина
Написание статьи: А.В. Шабалдин, А.В. Цепочкина, А.В. Понасенко
Исправление статьи: А.В. Цепочкина
Утверждение окончательного варианта статьи: все авторы

ORCID ID

А.В. Цепочкина, <https://orcid.org/0000-0002-4467-8732>
А.А. Аникеенко, <https://orcid.org/0000-0002-1352-2591>
С.А. Шмулевич, <https://orcid.org/0000-0002-7316-2962>
А.В. Понасенко, <https://orcid.org/0000-0002-3002-2863>
А.В. Шабалдин, <https://orcid.org/0000-0002-8785-7896>

© А.В. Цепочкина, А.А. Аникеенко, С.А. Шмулевич, А.В. Понасенко, А.В. Шабалдин, 2021

Статья открытого доступа, распространяется по лицензии [Creative Commons Attribution 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

А.В. Цепочкина, А.А. Аникеенко, С.А. Шмулевич,
А.В. Понасенко, А.В. Шабалдин

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация

Актуальность. Кардиохирургическое вмешательство в сочетании с гипотермией, ишемией, реперфузией вызывает воспалительный ответ, который может проявляться послеоперационными осложнениями. Toll-подобные рецепторы — сигнальные молекулы, активирующие некоторые функции врожденного иммунитета. Полиморфные варианты генов toll-подобных рецепторов могут быть предикторами осложнений после кардиохирургического лечения.

Цель. Изучить ассоциации генов toll-подобных рецепторов с инфекционными и неинфекционными осложнениями после кардиохирургического лечения врожденных пороков сердца.

Методы. В исследование включили 89 детей (44 девочки и 45 мальчиков) с врожденными пороками сердца после кардиохирургического лечения. У 47 наблюдались послеоперационные осложнения, у 42 отсутствовали. Генотипирование toll-подобных рецепторов выполняли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием зондов TaqMan (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Уолтем, США).

Результаты. Оптимальным межгенным взаимодействием является двухлокусная модель *TLR1* rs5743551 – *TLR2* rs3804099, на долю которой пришлось 4,01 % фенотипической энтропии. Наибольшим предсказательным потенциалом обладает полиморфный вариант rs5743708 *TLR2* (2,59 %).

Выводы. Послеоперационные осложнения при кардиохирургическом лечении врожденных пороков сердца обусловлены синергетическим влиянием полиморфных вариантов *TLR1* (rs5743551) и *TLR2* (rs3804099). Реализация этого эффекта может быть связана с особенностями транскрипции генов *TLR1* и *TLR2*, последующей экспрессии рецепторов на клетках и сигналинга на активацию синтеза провоспалительных цитокинов и хемокинов.

Ключевые слова: toll-подобный рецептор; врожденный порок сердца; послеоперационное осложнение

Введение

Врожденные пороки сердца (ВПС) у новорожденных детей составляют 1 % и вносят существенный вклад в перинатальную и младенческую смертность [1]. Современные методы пренатальной диагностики и хирургическое лечение ВПС с первых дней жизни значительно увеличили выживаемость таких пациентов. Однако кардиохирургическое вмешательство в условиях искусственного кровообращения при ВПС может сопровождаться осложнениями в раннем послеоперационном периоде [2], имеющими инфекционную или неинфекционную природу [3]. Проводится поиск потенциальных биомаркеров — предикторов таких осложнений [2].

Кардиохирургическое вмешательство в сочетании с гипотермией, ишемией, реперфузией вызывает воспаление через активацию врожденного иммунного ответа и характеризуется выработкой различных медиаторов [4]. Toll-подобные рецепторы (англ. toll-like receptors, TLR) являются сигнальными молекулами, через которые активируются некоторые функции врожденного иммунитета. Это группа трансмембранных белков, экспрессируемых на иммунных (макрофагах, дендритных и других) и иных (эпителиальных, эндотелиальных и так далее) типах клеток организма [5]. Лигандами для TLR являются молекулярные паттерны, обусловленные патогеном или опасностью. Таким образом, воспалительный ответ может инициироваться через эти рецепторы как на различные патогены, так и стресс-ассоциированные молекулы.

Всего идентифицировано 11 TLR, которые находятся на поверхности и внутри клетки [6]. Соответственно, по локализации они разделены на две группы: расположенные на цитоплазматической мембране (TLR1, TLR2, TLR4–6) и на мембранах внутриклеточных органелл (TLR3 и TLR7–9). Передача сигналов через TLR вызывает цепочку событий, которые включают экспрессию провоспалительных молекул (хемокинов и цитокинов), активацию системы комплемента, рекрутирование фагоцитирующих и антигенпрезентирующих клеток в месте инвазии патогена или асептического повреждения тканей.

Гены *TLR* ассоциированы в том числе с хроническими заболеваниями сердца и сосудов: кардитами, атеросклерозом, сердечной дисфункцией при сепсисе, застойной сердечной недостаточностью [7]. Об отношении вклада этих генов и их продуктов в патогенез ВПС предполагают, что взаимодействие микрорибонуклеиновой кислоты *Let-7* с *TLR7* негативно влияет на клеточный цикл кардиальных прогениторных клеток [8]. Вероятно, активация этих сигнальных рецеп-

торов у эмбриона материнскими стресс-ассоциированными молекулами или продуктами обмена может активировать пироптоз и апоптоз, что в конечном итоге приведет к дисбалансу пролиферации и дифференцировки при морфогенезе сердца и сосудов. Более того, хирургическое лечение ВПС, особенно у детей грудничкового периода, многократно увеличивает количество молекул, способных активировать врожденный иммунитет через TLR. Именно этот феномен может лежать в патогенезе осложнений после кардиохирургического лечения ВПС у детей с TLR-ассоциированной иммунной гиперчувствительностью.

Цель — изучить ассоциации генов *TLR* с инфекционными и неинфекционными осложнениями после кардиохирургического лечения врожденных пороков сердца.

Методы

В исследование включили 89 детей (44 девочки и 45 мальчиков) с ВПС, прошедших кардиохирургическое лечение в Научно-исследовательском институте комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний. Исследование одобрено локальным этическим комитетом учреждения (протокол № 20 от 24 ноября 2016 г.).

Сбор биологического материала

У всех участников собрали кровь из локтевой вены в пробирку с трикалием этилендиаминтетрауксусной кислоты (КЗ ЭДТА) для последующего выделения геномной дезоксирибонуклеиновой кислоты методом фенол-хлороформной экстракции. После поступления в лабораторию кровь немедленно, без предварительного центрифугирования аликвотировали по 0,7 мл в пластиковые стерильные микропробирки «Эппендорф» с маркировкой DNase-free объемом 1,5 мл Axugen (Corning, Корнинг, США) с плотно закрывающимися крышками. Все образцы биологического материала маркировали и хранили при -80 °С до даты проведения исследования.

Генотипирование

Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на амплификаторе ViiA 7 (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Уолтем, США) с использованием зондов TaqMan (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Уолтем, США). Для исследования отобрали полиморфные варианты *TLR1* (rs5743611, rs5743551), *TLR2* (rs5743708, rs3804099), *TLR4*

Табл. 1. Характеристика полиморфных сайтов изучаемых генов

Ген	Тип однонуклеотидного полиморфизма	Идентификатор однонуклеотидного полиморфизма	Аминокислотная замена	Локализация на хромосоме GRCh38.p12*	Нуклеотидная замена
<i>TLR1</i>	Missense Variant	rs5743611	Missense mutation Arg80Thr	chr4:38798593	C/G
<i>TLR1</i>	5 Prime UTR Variant	rs5743551	–	chr4:38806033	T/A, C, G
<i>TLR2</i>	Missense Variant	rs5743708	Missense mutation Arg753Gln	chr4:153705165	G/A
<i>TLR2</i>	Synonymous Variant	rs3804099	Synonymous Variant Asn199=	chr4:153703504	T/C
<i>TLR4</i>	Missense Variant	rs4986791	Missense mutation Thr399Ile	chr9:117713324	C/T
<i>TLR4</i>	Missense Variant	rs4986790	Missense mutation Asp299Gly	chr9:117713024	A/G, T
<i>TLR6</i>	Missense Variant	rs3775073	Missense mutation Lys421Asn	chr4:38828211	T/C, G
<i>TLR6</i>	Missense Variant	rs5743810	Missense mutation Ser249Ala	chr4:38828729	A/C, G, T

(rs4986791, rs4986790), *TLR6* (rs3775073, rs5743810). Использовали базы данных dbSNP, SNPinfo, SNPnexus. Установили, что из 8 изучаемых идентификаторов однонуклеотидного полиморфизма (англ. single-nucleotide polymorphism, SNP) 6 приводят к аминокислотной замене (миссенс-мутации) (табл. 1).

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили в программе SNPstats. При анализе результатов генотипирования учитывали соблюдение закона Харди – Вайнберга, рассчитанное с помощью теста χ^2 . Для сравнения генотипов между изучаемыми группами использовали критерий Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность и точный критерий Фишера. Для расчета риска определяли отношение шансов и 95% доверительный интервал к нему. Анализ межгенных взаимодействий осуществляли методом сокращения многофакторной размерности (англ. Multifactor Dimensionality Reduction, MDR) в программе MDR версии 3.0.2. Для выявления ассоциации факторов широкого анамнеза с инфекционными и неинфекционными осложнениями после радикальных хирургических операций при лечении ВПС использовали логистическую регрессию (статистический метод классификации с использованием линейного дискриминанта Фишера). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Детей с ВПС, перенесших операцию на сердце, разделили на основную группу с осложнениями

в раннем послеоперационном периоде ($n = 42$) и группу сравнения без них ($n = 47$). В подгруппу с инфекционными осложнениями (фебрильной лихорадкой более 5 дней, пневмонией, бронхитом, плевритом, инфекционным кардитом, гидроперикардом, сепсисом) включили 31 пациента, в подгруппу с неинфекционными осложнениями (нарушением ритма и проводимости, судорожным синдромом, релаксацией купола диафрагмы, снижением фракции выброса) — 11. Для сопоставимости результатов эти подгруппы объединили в основную группу (табл. 2). По половому распределению сравниваемые группы сопоставимы. Все ВПС несиндромальные и спорадические без семейной истории. Значимых различий по частоте встречаемости ВПС не выявили.

Выполняли все вмешательства в условиях искусственного кровообращения. Оперировали 10 пациентов (11,2 %) на первом году жизни, 38 (42,7 %) — на втором, 33 (37,1 %) — в 2–5 лет, 8 (9,0 %) — до 7 лет.

По данным логистической регрессии, оценивающей вклад различных независимых переменных в деление по классам на наличие (1) или отсутствие (0) инфекционных и неинфекционных осложнений в послеоперационном периоде, выявили несколько значимых предикторов. В табл. 3 представлены статистически значимые бета-коэффициенты (относительное влияние фактора на зависимую переменную) и B-коэффициенты (прогностическая значимость фактора как предиктора).

Выявили положительные ассоциации между инфекционными и неинфекционными ослож-

Табл. 2. Фенотипы врожденных пороков сердца в группе обследованных детей с учетом послеоперационных осложнений

Фенотип врожденного порока сердца	Всего пациентов, n	Без осложнений, n	С осложнениями, n	
			инфекционными	неинфекционными
Дефект межпредсердной перегородки	31	16	11	4
Дефект межжелудочковой перегородки	14	7	5	2
Тетрада Фалло	12	6	4	2
Единый желудочек сердца	6	3	2	1
Коарктация аорты	5	3	2	0
Дефекты межпредсердной и межжелудочковой перегородок	3	2	1	0
Дефекты отхождения магистральных сосудов	3	2	1	0
Стеноз аортального клапана	3	2	1	0
Атриоventрикулярная коммуникация	3	2	1	0
Коарктация аорты и дефект межжелудочковой перегородки	2	1	1	0
Тотальный аномальный дренаж легочных вен	2	1	1	0
Частичный аномальный дренаж легочных вен	1	1	0	0
Атрезия легочной артерии первого типа	1	1	0	0
Гипоплазия аорты	1	0	0	1
Гипоплазия трикуспидального клапана	1	0	1	0
Стеноз клапана легочной артерии и дефект межпредсердной перегородки	1	0	0	1

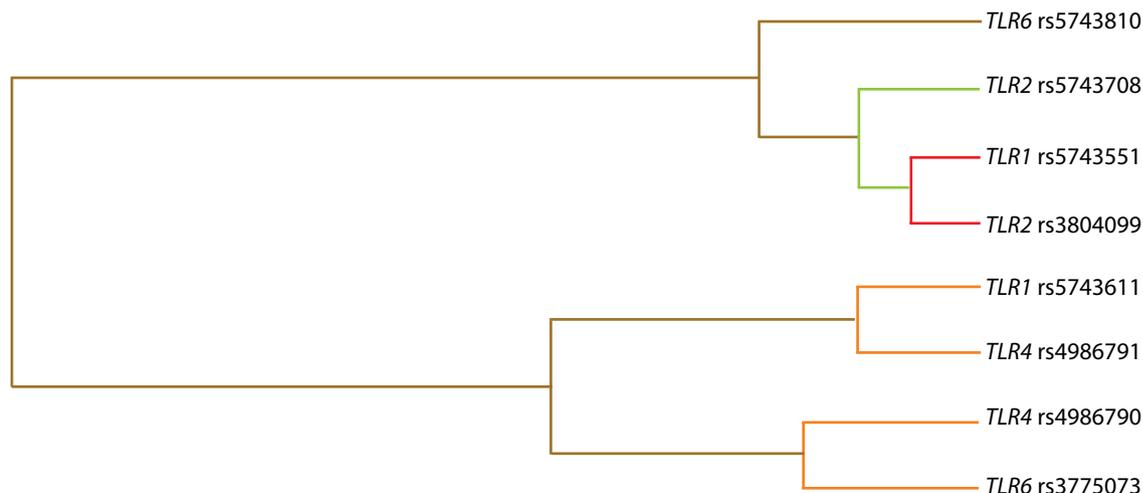
нениями и факторами широкого анамнеза, описывающими характер родов, неонатальных осложнений, видимых микроаномалий развития ребенка, состояние его здоровья, а также особенности вакцинопрофилактики. Коморбидность и отсутствие вакцинации не могли быть предик-

торами осложнений, так как 11,2 % детей перенесли радикальные операции на сердце до года. Взаимосвязь этих переменных с инфекционными и неинфекционными осложнениями можно рассматривать с обратной позиции: кардиохирургическая операция на сердце ребенка с тяжелыми

Табл. 3. Множественный линейный регрессионный анализ независимых переменных широкого анамнеза с зависимой вариантой: наличие инфекционных и неинфекционных осложнений в послеоперационном периоде

Регрессия зависимой варианты «осложнения»	Бета-коэффициент	Стандартная ошибка бета-коэффициента	Б-коэффициент	Стандартная ошибка Б-коэффициента	t(75)	p
Свободный член логистической модели	—	—	0,225	0,107	3,257	0,008
Коморбидность	0,449	0,099	0,750	0,165	4,536	0,000
Отсутствие вакцинации	0,254	0,098	0,670	0,259	2,589	0,012
Перинатальная пневмония	0,238	0,098	0,313	0,129	2,425	0,018
Родоразрешение путем кесарева сечения	0,186	0,099	0,198	0,105	2,183	0,043
Стигмы эмбриогенеза	0,378	0,107	0,996	0,282	3,533	0,001

Примечание. Представлены только значимые переменные.



Дендрограмма SNP × SNP взаимодействий генов *TLR*, ассоциированных с осложнениями в раннем послеоперационном периоде, у детей с врожденными пороками сердца

Примечание. Представлены данные о силе влияния полиморфизмов на развитие осложнений. Красная линия — выраженный синергизм, оранжевая — умеренный синергизм, коричневая — независимый эффект, зеленая — умеренный антагонизм.

последствиями является причиной отказа от вакцинации и предрасполагает к коморбидным состояниям в раннем онтогенезе.

Родоразрешение путем кесарева сечения, перинатальная пневмония и наличие более шести стигм эмбриогенеза являются предикторами инфекционных и неинфекционных осложнений в раннем послеоперационном периоде. Данные факторы могут влиять на эффективное формирование микробиома ребенка и иммунной компетентности, в том числе через регуляцию врожденного иммунитета. Они способствуют увеличению в микробиоме удельного веса представителей условно-патогенного кластера, который определяет развитие инфекционных осложнений после кардиохирургического лечения ВПС с применением искусственного кровообращения. Нарушенная иммунная регуляция вызывает неинфекционные осложнения.

Далее провели сравнительный анализ частоты встречаемости генотипов генов *TLR1*, *TLR2*, *TLR4*, *TLR6* во всех группах и подгруппах. Статистически значимых различий не обнаружили (табл. 4). Соответственно, единичные полиморфные варианты генов семейства *TLR* существенно не влияют на формирование осложнений после кардиохирургического лечения спорадических ВПС без хромосомных заболеваний.

С помощью программы MDR оценили SNP × SNP взаимодействие полиморфных вариантов генов *TLR* (рисунк). Оптимальным межгенным взаимодействием является двухлокусная модель *TLR1* rs5743551 – *TLR2* rs3804099, на долю которой пришлось 4,01 % фенотипической энтропии и характеристика которой представлена ниже.

Тренировочная сбалансированная точность	0,63
Тестируемая сбалансированная точность	0,45
Чувствительность	0,70
Специфичность	0,56
Повторяемость	9/10
Точность модели	0,60

Этот факт демонстрирует выраженный синергетический эффект полиморфных вариантов при развитии осложнений в раннем послеоперационном периоде у детей, перенесших кардиохирургическое лечение ВПС. Наибольшим предсказательным потенциалом обладал полиморфный вариант rs5743708 *TLR2* (2,59%).

Таким образом, не подтверждена гипотеза о роли отдельных полиморфных вариантов генов *TLR* в развитии послеоперационных осложнений у детей, перенесших кардиохирургическое вмешательство, но показано синергетическое влияние полиморфных вариантов генов *TLR1* и *TLR2* на формирование этой патологии.

Табл. 4. Частота распределения генотипов среди пациентов с осложнениями и без таковых

Ген	Генотип	Без осложнений, n (%)	С осложнениями, n (%)	Отношение шансов (95% доверительный интервал)	p
TLR1 rs5743611	C/C	26 (70,3)	22 (64,7)	1,00	0,42
	C/G	8 (21,6)	11 (32,4)	1,62 (0,56–4,75)	
	G/G	3 (8,1)	1 (2,9)	0,39 (0,04–4,06)	
	C	60 (81)	55 (81)	1,01 (0,43–2,34)	0,97
	G	14 (19)	13 (19)		
TLR1 rs5743551	T/T	23 (62,2)	19 (55,9)	1,00	0,80
	C/T	12 (32,4)	12 (35,3)	1,21 (0,44–3,31)	
	C/C	2 (5,4)	3 (8,8)	1,82 (0,27–12,01)	
	T	58 (78)	50 (74)	1,30 (0,60–2,82)	0,49
	C	16 (22)	18 (26)		
TLR2 rs5743708	G/G	35 (94,6)	31 (91,2)	1,00	0,28
	A/G	1 (2,7)	3 (8,8)	3,39 (0,33–34,27)	
	A/A	1 (2,7)	0 (0)	0,00 (0,00–NA)	
	G	71 (96)	65 (96)	1,09 (0,21–5,60)	0,91
	A	3 (4)	3 (4)		
TLR2 rs3804099	T/T	15 (40,5)	16 (47,1)	1,00	0,67
	C/T	19 (51,4)	14 (41,2)	0,69 (0,26–1,85)	
	C/C	3 (8,1)	4 (11,8)	1,25 (0,24–6,54)	
	T	49 (66)	46 (68)	0,93 (0,46–1,88)	0,85
	C	25 (34)	22 (32)		
TLR4 rs4986791	C/C	32 (86,5)	28 (82,3)	1,00	0,63
	C/T	5 (13,5)	6 (17,6)	1,37 (0,38–4,99)	
	C	69 (93)	62 (91)	1,33 (0,38–4,59)	0,64
	T	5 (7)	6 (9)		
TLR4 rs4986790	A/A	32 (86,5)	28 (82,3)	1,00	0,63
	A/G	5 (13,5)	6 (17,6)	1,37 (0,38–4,99)	
	A	69 (93)	62 (91)	1,33 (0,38–4,59)	0,64
	G	5 (7)	6 (9)		
TLR6 rs3775073	T/T	14 (37,8)	10 (29,4)	1,00	0,68
	T/C	18 (48,6)	20 (58,8)	1,56 (0,55–4,36)	
	C/C	5 (13,5)	4 (11,8)	1,12 (0,24–5,25)	
	T	49 (62)	40 (59)	1,22 (0,62–2,39)	0,55
	C	28 (38)	28 (41)		
TLR6 rs5743810	G/G	15 (40,5)	12 (35,3)	1,00	0,90
	A/G	20 (54)	20 (58,8)	1,25 (0,47–3,33)	
	A/A	2 (5,4)	2 (5,9)	1,25 (0,15–10,23)	
	G	50 (68)	44 (65)	1,13 (0,56–2,27)	0,71
	A	24 (32)	24 (35)		

Примечание. NA — нет данных.

Обсуждение

Требуются пояснения о роли генов *TLR* в предрасположенности к инфекционным и неинфекционным осложнениям после кардиохирургического лечения. Немногочисленные данные литературы свидетельствуют, что гены *TLR* влияют на развитие полиорганной недостаточности у пациентов, перенесших кардиохирургическое лечение. Так, М.В. Хуторная и соавт. отмечают, что аллель *C* гена *TLR6* rs3775073 связан со сниженным риском полиорганной недостаточности после аортокоронарного шунтирования [9]. В то же время в настоящем исследовании данный полиморфный вариант не являлся предиктором осложнений после кардиохирургического лечения спорадического несиндромального врожденного порока сердца.

В 2020 г. М.В. Merbecks и соавт. продемонстрировали, что у детей, перенесших операцию на сердце, наблюдалось увеличение экспрессии *TLR2* на моноцитах в первые и вторые сутки после вмешательства [10]. В настоящем исследовании именно ген *TLR2* имел наибольший предсказательный потенциал в отношении риска послеоперационных осложнений. Полиморфный вариант этого гена rs3804099 совместно с полиморфным вариантом гена *TLR1* rs5743551 оказывал синергетическое влияние на формирование инфекционных и неинфекционных осложнений после кардиохирургического лечения спорадических несиндромальных врожденных пороков сердца.

Полиморфный вариант rs3804099 гена *TLR2* является синонимической однонуклеотидной заменой, сохраняющей смысл кодона без смены аминокислоты в кодируемой белковой молекуле [Reference SNP (rs) Report: rs3804099. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs3804099>]. В то же время этот полиморфный вариант имеет большое количество ассоциаций с хроническими инфекционными заболеваниями: туберкулезом, инфекциями, вызванными *Helicobacter pylori*, гепатитами В, С, бактериальным менингитом, сепсисом, в том числе неонатальным [11; 12]. Кроме того, его минорный аллель *C* ассоциирован с устойчивостью к формированию рака желудка у пациентов с *Helicobacter pylori* [12]. Метаанализ, посвященный роли генов *TLR* в детерминировании рака различной локализации, показал, что именно полиморфный вариант rs3804099 гена *TLR2* снижает риск онкологических заболеваний [13].

Рецепторы *TLR* участвуют не только в активации врожденного иммунитета, но и в регуляции обменных процессов, в частности липидного и углеводного обменов. Гомозиготный мажорный генотип *TT* rs3804099 гена *TLR2* ассоциирован с повышением холестерина в крови обследованных мужчин репродуктивного возраста [14].

Таким образом, полиморфный вариант rs3804099 гена *TLR2* позитивно и негативно влияет на развитие инфекционных, онкологических, обменных нарушений и ассоциирован с эффективностью антицитокиновой терапии инфликсимабом при болезни Крона [15]. Механизм реализации этих эффектов не совсем ясен, так как замена нуклеотида не приводит к аминокислотной замене в кодируемой молекуле, но вполне вероятно, что данный полиморфный вариант гена определяет особенности его транскрипции. Синергетическое влияние rs3804099 гена *TLR2* на развитие инфекционных и неинфекционных осложнений после кардиохирургического лечения ВПС, выявленное в настоящем исследовании, может быть следствием особенностей экспрессии молекулы *TLR2* и последующей индукции провоспалительных и противовоспалительных реакций под воздействием триггерных факторов операции на сердце в условиях искусственного кровообращения.

Также синергетический эффект для формирования инфекционных и неинфекционных осложнений после кардиохирургического лечения ВПС дал полиморфный вариант rs5743551 гена *TLR1*, расположенный в 5'-нетранслируемой области (англ. five prime untranslated region), которая находится перед кодирующей частью гена и способствует активации экспрессии (транскрипции для дезоксирибонуклеиновой кислоты и трансляции для рибонуклеиновой) этого гена. Соответственно, по аналогии с rs3804099 гена *TLR2*, данный полиморфный вариант будет детерминировать особенности экспрессии *TLR1* на клетках. Метаанализ, посвященный изучению генов *TLR* и их связи с атеросклерозом, показал, что полиморфный вариант rs5743551 *TLR1* может служить генетическим биомаркером атеросклеротических заболеваний [16]. Исследование полиморфных вариантов генов *TLR1*, *TLR2* и *TLR4* с продукцией цитокинов при лепре показало синергетический эффект rs3804099 *TLR2* и rs5743551 *TLR1* на продукцию интерлейкина-17 и синергетический эффект полиморфизмов *TLR1* (rs4833095, rs5743551) на продукцию Monocyte Chemoattractant Protein-1 и активного компонента интерлейкина-12 (IL-12p40). Авторы считают, что через этот повышенный синтез цитокинов, детерминированных полиморфизмами rs4833095, rs5743551 *TLR1* и rs3804099 *TLR2*, поддерживается воспалительный процесс при лепре [17].

Вероятно, детерминирование инфекционных и неинфекционных осложнений после кардиохирургического лечения ВПС через полиморфизмы rs5743551 *TLR1* и rs3804099 *TLR2* также связано с опосредованным влиянием на синтез провоспалительных цитокинов и хемокинов. Этот механизм

вполне понятен, так как основной эффект сигналинга через TLR направлен на синтез интерлейкинов.

Заключение

Таким образом, послеоперационные осложнения при кардиохирургическом лечении ВПС обусловлены синергетическим влиянием полиморфных вариантов rs5743551 и rs3804099 генов *TLR1*, *TLR2* соответственно. Реализация этого эффекта может быть связана с особенностями транскрипции генов *TLR1* и *TLR2*, последующей экспрессии рецепторов на клетках и сигналинга на активацию синтеза провоспалительных цитокинов и хемокинов.

Список литературы / References

1. Васильева М.А. Анализ динамики врожденных пороков сердца у новорожденных на территории Новосибирской области за 2015–2019 гг. *Медицинская генетика*. 2020;19(7):36-37. [Vasilyeva M.A. Analysis of the dynamics of congenital heart defects in newborns in the territory of the Novosibirsk region for 2015–2019. *Medical Genetics*. 2020;19(7):36-37. (In Russ.)] <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2020.07.36-37>
2. Попов Д.А., Хрусталева А.А. Прогностическая ценность новых биомаркеров у детей первого года жизни с врожденными пороками сердца в периоперационном периоде. *Лабораторная служба*. 2019;8(4):13-21. [Popov D.A., Khrustaleva A.A. Prognostic value of new biomarkers in newborns and children with congenital heart disease. *Laboratory Service*. 2019;8(4):13-21. (In Russ.)] <https://doi.org/10.17116/labs2019804113>
3. Boehne M., Sasse M., Karch A., Dziuba F., Horke A., Kausen T., Mikolajczyk R., Beerbaum P., Jack T. Systemic inflammatory response syndrome after pediatric congenital heart surgery: Incidence, risk factors, and clinical outcome. *J Card Surg*. 2017;32(2):116-125. PMID: 27928843. <https://doi.org/10.1111/jocs.12879>
4. Justus G., Walker C., Rosenthal L.-M., Berger F., Miera O., Schmitt K.R.L. Immunodepression after CPB: Cytokine dynamics and clinics after pediatric cardiac surgery – A prospective trial. *Cytokine*. 2019;122:154018. PMID: 28411047. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.03.017>
5. West A.P., Koblansky A.A., Ghosh S. Recognition and signaling by toll-like receptors. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2006;22:409-437. PMID: 16822173. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.21.122303.115827>
6. Akira S. Toll receptor families: structure and function. *Semin Immunol*. 2004;16(1):1-2. PMID: 14751756. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2003.10.001>
7. Sharma S., Garg I., Ashraf M.Z. TLR signalling and association of TLR polymorphism with cardiovascular diseases. *Vascul Pharmacol*. 2016;87:30-37. PMID: 27826031. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2016.10.008>
8. Suluba E., Shuwei L., Xia Q., Mwanga A. Congenital heart diseases: genetics, non-inherited risk factors, and signaling pathways. *Egypt J Med Hum Genet*. 2020;21:11. <https://doi.org/10.1186/s43042-020-0050-1>
9. Хуторная М.В., Понасенко А.В., Радивилко А.С., Кутихин А.Г., Жидкова И.И., Крутицкий С.С., Салахов Р.Р., Григорьев Е.В., Головкин А.С. Значение генов врожденного иммунитета в развитии критических послеоперационных осложнений коронарного шунтирования. *Трансляционная медицина*. 2017;4(5):15-27. [Khutornaya M.V., Ponasenko A.V., Radivilko A.S., Kutikhin A.G., Zhidkova I.I., Krutitskiy S.S., Salakhov R.R., Grigoryev E.V., Golovkin A.S. Impact of innate immunity genes in development of critical postoperative complications after coronary artery bypasses grafting. *Translational Medicine*. 2017;4(5):15-27. (In Russ.)] <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2017-4-5-15-27>
10. Merbecks M.B., Ziesenis V.C., Rubner T., Meier N., Klein B., Rauch H., Saur P., Ritz N., Loukanov T., Schmitt S., Gorenflo M. Intermediate monocytes exhibit higher levels of TLR2, TLR4 and CD64 early after congenital heart surgery. *Cytokine*. 2020;133:155153. PMID: 32554157. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155153>
11. Neamatallah M., El-Bendary M., Elalfy H., Besheer T., El-Maksoud M.A., Elhamady D., Abed S., Elegezy M., Kandeel L., Eldeib D., Mousa N., Abd El-Hafeez M., El-Gilany A.-H., Esmat G. Impact of Toll-like receptors 2(TLR2) and TLR 4 gene variations on HCV susceptibility, response to treatment and development of hepatocellular carcinoma in cirrhotic HCV patients. *Immunol Invest*. 2020;49(4):462-476. PMID: 31615295. <https://doi.org/10.1080/08820139.2019.1673772>
12. Tongtawe T., Simawaranon T., Wattanawongdon W., Dechsukhum C., Leeanansaksiri W. Toll-like receptor 2 and 4 polymorphisms associated with Helicobacter pylori susceptibility and gastric cancer. *Turk J Gastroenterol*. 2019;30(1):15-20. PMID: 30301709; PMCID: PMC6389301. <https://doi.org/10.5152/tjg.2018.17461>
13. Gao Sh.-L., Chen Y.-D., Yue Ch., Chen J., Zhang L.-F., Wang S.-M., Zuo L. -196 to -174del, rs4696480, rs3804099 polymorphisms of Toll-like receptor 2 gene impact the susceptibility of cancers: evidence from 37053 subjects. *Biosci Rep*. 2019;39(12):BSR20191698. PMID: 31710083; PMCID: PMC6900473. <https://doi.org/10.1042/BSR20191698>
14. Gomes Torres A.C.M.B., Leite N., Tureck L.V., de Souza R.L.R., Titski A.C.K., Milano-Gai G.E., Lazarotto L., da Silva L.R., Furtado-Alle L. Association between Toll-like receptors (TLR) and NOD-like receptor (NLR) polymorphisms and lipid and glucose metabolism. *Gene*. 2019;685:211-221. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.11.065>
15. Salvador-Martín S., López-Cauce B., Nuñez O., Laserna-Mendieta E.J., García M.I., Lobato E., Abarca-Zabalía J., Sanjurjo-Saez M., Lucendo A.J., Marín-Jiménez I., Menchén L.A., López-Fernández L.A. Genetic predictors of long-term response and trough levels of infliximab in Crohn's disease. *Pharmacol Res*. 2019;149:104478. PMID: 31605784. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104478>
16. Xie X., Shi X., Liu M. The roles of TLR gene polymorphisms in atherosclerosis: A systematic review and meta-analysis of 35,317 subjects. *Scand J Immunol*. 2017;86(1):50-58. PMID: 28474755. <https://doi.org/10.1111/sji.12560>
17. Santana N.de L., Rêgo J.L., Oliveira J.M., de Almeida L.F., Braz M., Machado L.M.M., Machado P.R.L., Castellucci L.C. Polymorphisms in genes TLR1, 2 and 4 are associated with differential cytokine and chemokine serum production in patients with leprosy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2017;112(4):260-268. PMID: 28327786; PMCID: PMC5354609. <https://doi.org/10.1590/0074-02760160366>

Role of toll-like receptors in complications of cardiac surgery for congenital heart defects in children

Anna V. Tsepokina, Aleksandra A. Anikeenko, Svetlana A. Shmulevich, Anastasia V. Ponasenko, Andrey V. Shabaldin

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

Corresponding author. Anna V. Tsepokina, cepoav1991@gmail.com

Background. Cardiac surgery in combination with hypothermia, ischaemia and reperfusion leads to an inflammatory response causing postoperative complications. Toll-like receptors are signalling molecules through which some functions of innate immunity can be activated, and polymorphic variants in the *TLR*-family genes can be predictors of complications after cardiac surgery.

Aim. To study the associations of *TLR*-family genes with infectious and non-infectious complications of cardiac surgery for congenital heart defects.

Methods. The study included 89 children (44 girls and 45 boys) with congenital heart defects who underwent cardiac surgery. Complications occurred in 47 children 47 days after cardiac surgery. There were no complications in 42 children. Genotyping was performed by real-time PCR using TaqMan probes.

Results. A two-locus model of gene-gene interaction between *TLR1* rs5743551 and *TLR2* rs3804099 was the best fit, accounting for 4.01% of phenotypic entropy. The *TLR2* gene polymorphic variant rs5743708 had the highest predictive potential (2.59%).

Conclusion. The development of postoperative complications of cardiac surgical treatment for congenital heart defects can be due to the synergistic effect of the polymorphic variants rs5743551 in the *TLR1* gene and rs3804099 in the *TLR2* gene. This effect occurs through the features of *TLR1* and *TLR2* transcription, the subsequent expression of receptors on cells and signalling which activates the synthesis of proinflammatory cytokines and chemokines.

Keywords: congenital heart disease; postoperative complication; toll-like receptor
Received 25 February 2021. Revised 11 May 2021. Accepted 12 May 2021.

Funding: The work is supported by the complex program of fundamental research of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (No. 0554-2019-0002).

Conflict of interest: The authors declare no conflicts of interests.

Contribution of the authors

Conception and study design: A.V. Shabaldin, A.V. Ponasenko, A.V. Tsepokina

Data collection and analysis: A.A. Anikeenko, A.V. Tsepokina, S.A. Shmulevich

Statistical analysis: A.V. Shabaldin, A.V. Tsepokina

Drafting the article: A.V. Shabaldin, A.V. Tsepokina, A.V. Ponasenko

Critical revision of the article: A.V. Tsepokina

Final approval of the version to be published: A.V. Tsepokina, A.A. Anikeenko, S.A. Shmulevich, A.V. Ponasenko, A.V. Shabaldin

ORCID ID

A.V. Tsepokina, <https://orcid.org/0000-0002-4467-8732>

A.A. Anikeenko, <https://orcid.org/0000-0002-1352-2591>

S.A. Shmulevich, <https://orcid.org/0000-0002-7316-2962>

A.V. Ponasenko, <https://orcid.org/0000-0002-3002-2863>

A.V. Shabaldin, <https://orcid.org/0000-0002-8785-7896>

Copyright: © 2021 Tsepokina et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution 4.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

How to cite: Tsepokina A.V., Anikeenko A.A., Shmulevich S.A., Ponasenko A.V., Shabaldin A.V. Role of toll-like receptors in complications of cardiac surgery for congenital heart defects in children. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2021;25(3):34-42. (In Russ.) <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2021-3-34-42>