

Коробка О.В.

АСОЦІАЦІЇ МІЖ ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНУ eNOS ТА ПЕРЕБІГОМ
АСФІКСІЇ У НОВОНАРОДЖЕНИХ

Полтавська обласна дитяча клінічна лікарня,

korobka.ok@yandex.ua

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», кафедра педіатрії №1 з
пропедевтикою та неонатологією,

керівник д.м.н., проф. Ковальова О.М.

Робота виконана в контексті науково-дослідних робіт ДУ «Інституту педіатрії, акушерства та гінекології АМН України» «Розробити систему діагностичних, лікувальних і профілактичних заходів для новонароджених від матерів з інфекцією статевих органів» (державний реєстраційний №0110U 002060).

Вступ. Асфіксія належить до безпосередньої причини високої перинатальної захворюваності, смертності та інвалідізації дітей і посідає перші місця у структурі захворюваності та смертності новонароджених в Україні [1]. Гіпоксично-ішемічна енцефалопатія, дихальна недостатність (ДН), шок і поліорганна дисфункція, які можуть ускладнювати перебіг асфіксії, є основними факторами, що впливають на смерть дитини та розвиток у неї несприятливих наслідків.

Патофізіологічні зміни, які відбуваються у новонароджених при асфіксії, вивчено добре. На сьогодні відомі молекулярні, клітинні, тканинні та органні порушення, які лежать в основі розвитку поліорганної недостатності при асфіксії [1]. Ці дослідження показують, що енергетичний дистрес, цитокіни та оксид азоту (NO) відіграють ключову роль у патогенезі асфіксії та синдрому поліорганної недостатності [2,3]. Але перебіг асфіксії та її наслідки відрізняються між окремими пацієнтами. Тому в останній час значну кількість

досліджень присвячено пошуку спадкових факторів, які сприяють розвитку асфіксії або зумовлюють її більш важкий перебіг. Серед генів-кандидатів саме ген *eNOS* є біологічно та клінічно значимим у формуванні фенотипічних особливостей перебігу захворювань серцево-судинної [5, 6,11], сечовидільної систем [7], метаболічного синдрому [8] та хронічних обструктивних легеневих хвороб [9].

Оксид азоту відіграє важливу роль у підтримці гомеостазу [10,11,12]. Ця молекула утворюється при дії ферменту NO-синтази (NOS), яка існує у вигляді трьох основних ізоформ: нейрональної NO-синтази (nNOS), ендотеліальної NO-синтази (eNOS) і індукцибельної NO-синтази (iNOS). Нейрональна і ендотеліальна NO-синтази є ферментами зі стабільною активністю, тоді як активність iNO-синтази більшою мірою регулюється цитокінами, тому вона відіграє значну роль у системній запальній відповіді. Ендотеліальна NO-синтаза стабільно експресується в ендотеліальних клітинах [13].

Ген *eNOS* локалізований в 7 хромосомі і кодує білок, що складається з 1203 амінокислот. В екзонах і інтронах гену *eNOS* виявлено кілька поліморфних ділянок, серед яких найбільш вивченими є дві: міні-сателітний повтор в інтроні 4 (*eNOS* 4a/b поліморфізм) і мутація в положенні 298 білкової послідовності, що призводить до заміни залишку глютамінової кислоти на аспарагинову (Glu298Asp) [14]. Саме поліморфізм *eNOS*, який полягає у зміні числа тандемних повторів (4 a/a) відповідає за рівень NO в плазмі [15].

Зважаючи на ключову роль NO в системній та органній гемодинаміці, ми припустили, що генетичний поліморфізм *eNOS* гену може асоціюватись з розвитком органних дисфункцій у доношених дітей з асфіксією.

Мета дослідження. Вивчити асоціації між поліморфізмом гену *eNOS* і розвитком асфіксії та її перебігом у доношених новонароджених.

Об'єкт і методи дослідження. Проведено проспективне когортне дослідження, в яке включено доношених новонароджених (n=37) із гестаційним віком від 37 тижнів, масою при народженні від 2500 г, які лікувалися у відділеннях інтенсивної терапії новонароджених (ВІТН) лікувальних закладів

Полтавської області упродовж 2012-2014 рр. з діагнозом помірної або тяжкої асфіксії (згідно МКХ-10). Зазначений діагноз виставляли на основі критеріїв, викладених у Наказі МОЗ України від 08.06.2007 р. №312 «Про затвердження клінічного протоколу з первинної реанімації та після реанімаційної допомоги новонародженим». У групу контролю увійшли здорові новонароджені діти (n=31), які не мали ознак гіпоксії плода, асфіксії при народженні та клінічних симптомів гіпоксичного ураження. Критеріями виключення із дослідження стали: наявність вроджених вад розвитку у новонароджених, підозра на внутрішньоутробне інфікування, гестаційний вік менше 37 тижнів, маса при народженні менше 2500 г. У дітей основної групи вивчали частоту артеріальної гіпотензії (потреба у введенні судинно-активних препаратів для підтримання артеріального тиску в межах норми), частоту дихальної недостатності III ст. (потреба у проведенні штучної вентиляції легень), частоту синдрому меконіальної аспірації (потреба в інтубації трахеї та її санації), також досліджували стан гемодинаміки за такими показниками: частота серцевих скорочень (ЧСС), артеріальний тиск (АТ) систолічний, АТ діастолічний, АТ середній, погодинний діурез у першу та шосту доби життя, частота застосування дофаміну, його максимальна доза необхідна для стабілізації гемодинаміки та тривалість застосування. Батьки усіх немовлят дали інформовану згоду на клінічне та генетичне обстеження своїх дітей.

Матеріалом для проведення генетичного дослідження слугувала периферична кров новонароджених. Забір крові проводився в об'ємі 0,25 мл. Зразки крові у новонароджених відбирали в перші дні життя у стерильні пробірки закритої системи «Моноветт». Після отримання зразки зберігали при температурі — 20° С (не більше, ніж 7 діб) до проведення дослідження. Поліморфізм *eNOS* генів вивчався молекулярно-генетичними методами.

Статистичну обробку отриманих даних проведено з використанням пакету ліцензованої прикладної програми STATA версії 11 для Windows (StataCorp, Техас, США). За допомогою методів параметричної статистики здійснювалась перевірка нормальності розподілу кількісних ознак з використанням критерію

Колмогорова-Смірнова. Дані представлені як середнє±стандартна похибка ($M\pm\delta$), або у відсотках. Перевірка гіпотез щодо рівності генеральних середніх проводилась з використанням t-критерія Стюдента. Порівняння відносних або виражених у відсотках величин здійснювалося за допомогою точного критерію Фішера. Відношення шансів (ОШ) з 95% довірчими інтервалами (ДІ) були використані для вивчення зв'язку між окремими змінними. Значення $p<0,05$ вважали статистично значущими.

Результати дослідження та їх обговорення. Середня маса при народженні обстежених дітей становила $3536,7\pm 470,4$ г, дівчаток було 13 (35,13 %). Результати дослідження засвідчили наявність поліморфного 4a/a варіанту *eNOS* гену у 1 (3,23 %) дитини групи порівняння та у 2 (5,47 %) немовлят з основної групи, 4a/b варіант гену *eNOS* – відповідно у 6 (19,35 %) та у 10 (27,03 %) немовлят та 4b/b варіант гену – у 24 (77,42%) здорових немовлят та у 25 (67,57%) немовлят з асфіксією (табл.1). Результати наших досліджень співпадають з даними інших авторів, зокрема у дослідженнях проведених серед дітей турецької популяції показано, що 4a/a генотип виявлявся у 2% дітей, 4a/b генотип – у 26% дітей та генотип 4b/b – у 72% дітей [21]. Дослідженням виявлено відсутність достовірних асоціацій між будь-яким генотипом *eNOS* гену та розвитком асфіксії у доношених дітей, тобто наявність 4a алелі у доношених дітей не є фактором ризику розвитку асфіксії.

Таблиця 1

Частота виявлення 4a/b поліморфізму гену *eNOS* серед здорових новонароджених та немовлят з асфіксією

Тип генотипу	Здорові діти (n=31), % (n)	Діти з асфіксією (n=37), % (n)	ВШ (95%ДІ)	P
4a/a	3,23 (1)	5,47 (2)	0,58 (0-4,74)	0,567
4a/b	19,35 (6)	27,03 (10)	0,648 (0,21-1,98)	0,57
4b/b	77,42 (24)	67,57 (25)	1,65 (0,57-4,76)	0,424

Зважаючи на те, що серед дітей з асфіксією лише 2 дитини мали 4a/a генотип, для подальшого аналізу було сформовано 2 підгрупи: у 1 підгрупу

увійшли діти з генотипом 4a/a або 4a/b та у 2 підгрупу – діти з генотипом 4b/b. Аналіз оцінки за шкалою Апгар на 1 та 5 хвилинах у дітей, стратифікованих відповідно до типу генотипу, виявив відсутність достовірної різниці у їх величинах. Зокрема діти з генотипом 4a/a або 4a/b були оцінені у $3,91 \pm 1,38$ балів на 1 хв. та $5,33 \pm 1,55$ бали на 5 хв., а діти з генотипом 4b/b відповідно у $3,44 \pm 1,71$ бали, ($p=0,378$) та $5,24 \pm 1,71$ бали, ($p=0,874$).

У нашому дослідженні 18 (48,65 %) дітей мали важку асфіксію. Як представлено у табл. 2 розподіл немовлят за генотипами гену *eNOS* серед дітей з помірною асфіксією та дітей з важкою асфіксією був майже однаковим. Відношення шансів мати тяжку асфіксію у дитини з генотипом 4a/a або 4a/b становило 2,54 (95% ДІ 0,62-10,14).

Таблиця 2

Частота виявлення 4a/b поліморфізму гену *eNOS* серед немовлят з важкою та помірною асфіксією

Тип генотипу	Діти з помірною асфіксією (n=19), % (n)	Діти з важкою асфіксією (n=18), % (n)	ВШ (95%ДІ)	P
4a/a або 4a/b	42,11 (8)	16,67 (4)	2,54 (0,62-10,14)	0,17
4b/b	57,99 (11)	77,78 (14)	0,39 (0,098-1,587)	0,17

Аналіз гемодинаміки в першу добу життя у новонароджених з асфіксією, стратифікованих відповідно до генотипів *eNOS* гену, виявив відсутність достовірних відмінностей у таких показниках, як ЧСС, АТ (систоличний, діастолічний та середній) і погодинний діурез між групами пацієнтів (табл.3). На шосту добу життя середні значення ЧСС та АТ у групах дітей, стратифікованих відповідно до генотипів *eNOS* гену, були майже однаковими. Проте середнє значення погодинного діурезу у дітей з 4b/b генотипом було достовірно більшим за погодинний діурез дітей з генотипом 4a/a або 4a/b.

Таблиця 3

**Стан гемодинаміки у новонароджених з асфіксією, стратифікованих
відповідно до генотипів *eNOS* гену, (M±δ)**

Показники	Генотипи		P
	4a/a або 4a/b (n=12)	4b/b (n=25)	
1 доба життя:			
ЧСС, уд за хв.,	146,3±8,6	145,4±11,98	0,759
АТ систолічний, мм рт ст.	55,9±7,4	54,48±8,9	0,602
АТ діастолічний, мм рт ст.	28,8±5,5	29,08±5,71	0,887
АТ середній, мм рт ст.	35,2±5,3	35,12±6,23	0,968
Погодинний діурез, мл/кг/год	1,01±0,90	1,58±1,27	0,13
6 доба життя:			
ЧСС, уд за хв.,	150,0±12,7	150,9±14,03	0,843
АТ систолічний, мм рт ст.	66,0±6,3	66,36±5,48	0,867
АТ діастолічний, мм рт ст.	35,1±5,2	34,36±4,53	0,677
АТ середній, мм рт ст.	42,4±6,1	42,08±4,6	0,873
Погодинний діурез, мл/кг/год	2,15±0,78	3,13±0,56	0,001

Безперечно про стан гемодинаміки у новонародженого з асфіксією свідчить і застосування медикаментів для її підтримки. Як представлено в табл.4, дофамін застосовувався майже у половини пацієнтів з асфіксією. Слід відмітити більшу частоту застосування дофаміну в групі дітей, які мають а алель *eNOS* гену, ніж у групі дітей з 4b/b генотипом. І хоча не було отримано достовірної різниці між цими двома значеннями, ми вважаємо, що одержані дані потребують уваги та подальшого вивчення.

Таблиця 4

**Медикаментозна підтримка гемодинаміки у новонароджених з асфіксією,
стратифікованих відповідно до генотипів *eNOS* гену**

Показники	Генотипи		P
	4a/a або 4a/b (n=12)	4b/b (n=25)	
Частота застосування дофаміну, % / (n [так/ні])	58,3 (7/5)	36,0 (9/16)	0,176
Максимальна доза дофаміну, мкг/кг/хв., (M±δ)	5,57±4,27	6,77±3,77	0,416
Тривалість застосування дофаміну, діб (M±δ)	2,86±2,03	2,66±1,22	0,757

Також нами не отримано достовірних відмінностей між дітьми зазначених груп у середніх значеннях таких показників, як максимальна доза дофаміну та тривалість його застосування. На нашу думку потрібні подальші дослідження на більшій когорті немовлят для з'ясування механізму розвитку асфіксії у осіб з поліморфним *eNOS* геном.

У нашому дослідженні ми не знайшли зв'язку між порушенням гемодинаміки і поліморфізмом гену *eNOS* у доношених дітей з асфіксією. Відомо, що NO бере участь у патогенезі гіпотензії та органної недостатності, що виникає при важкій асфіксії [20]. З однієї сторони моделі гіпоксії на тваринах і вивчення патогенезу асфіксії у новонароджених свідчать про збільшення синтезу NO при асфіксії [2], завдяки вазоделятаційному ефекту, через який у патологічний процес залучається більшість органів і систем. З іншої сторони відомо, що генотип 4a/a є незалежним чинником ризику розвитку серцево-судинних захворювань, зокрема гіпертонічної хвороби. В експериментальних роботах показано, що гіпертонія розвивається внаслідок підвищення резистентності периферичних судин через дефіцит ендотеліального NO в результаті дезінтеграції гену *eNOS* [16]. Брадикардія також є загальним фенотипом делеції гена *eNOS*. Cotter G. та ін. відмітили, що введення інгібіторів NO пацієнтам з кардіогенним шоком мало сприятливі клінічні та гемодинамічні

ефекти [17]. Але досі існують суперечки щодо позитивних і негативних моментів інгібування NO.

Аспірація меконіальними водами – синдром, який часто є проявом гіпоксичного ураження плода. У нашому дослідженні у 8 (66,7%) дітей з генотипом 4a/a або 4a/b та у 12 (48%) дітей з генотипом 4b/b виявлявся синдром меконіальної аспірації. Відношення шансів мати синдром меконіальної аспірації при наявності генотипу 4a/a або 4a/b становило 2,16 ((95% ДІ 0,53-8,59), $p=0,319$).

Дослідженням не виявлено достовірних асоціацій між наявністю у дитини 4a алелі гену *eNOS* та розвитком у неї ДН III ст. Так, ДН III спостерігалась у 6 (50,0 %) дітей з генотипом 4a/a або 4a/b та у 8 (32,0 %) дітей з генотипом 4b/b, ВШ 2,125 ((95% ДІ 0,54-8,41), $p=0,242$). Про опосередкований вплив NO у розвитку ДН свідчать роботи Dobyns E.L. щодо поліпшення оксигенації та резистентності легеневих судин у дітей з гострим респіраторним дистрес-синдромом при інгаляції NO [18]. У багатоцентровому рандомізованому контрольованому дослідженні ефективності інгаляції NO в порівнянні з плацебо у 108 дітей з гострою гіпоксемічною дихальною недостатністю було показано покращення оксигенації після введення NO, але в той же час не відмічено зниження смертності (42% для NO проти 43,4% у групі контролю) [18]. Аналогічний результат був одержаний у дослідженні, яке проводилось у дорослих [19]. Про зв'язок NO з розвитком респіраторної патології вказано і в інших працях, зокрема доведено наявність підвищених рівнів NO у пацієнтів з легенеvim фіброзом [9].

У нашому дослідженні на 6 добу життя достовірно вищий погодинний діурез було відмічено у дітей з 4b/b генотипом, ніж у дітей з 4 a/a генотипом. Одержані результати можуть дещо пояснити дані експериментальних досліджень, в яких показано важливу нефропротективну роль eNOS при моделюванні у тварин тубулярного апоптозу, інтестиціального фіброзу та гломерулосклерозу. При асфіксії у дітей важким ускладненням розвивається ішемічна нефропатія, яка за певних обставин може трансформуватись в гостру

ниркову недостатність. Можливо у дітей з 4a/a генотипом при важкій асфіксії має місце дефіцит NO, що призводить до морфологічних змін у цитоархітектоніці нирок з подальшим розвитком гострої ниркової недостатності та смерті дитини [7, 9]. Крім того є нові докази, які демонструють, що eNOS відіграють головну роль в патогенезі нирково-кардіального зв'язку [9].

Висновки

1. Середні значення частоти серцевих скорочень, артеріального тиску на першу добу життя та шосту добу життя у новонароджених с асфіксією, стратифікованих відповідно до 4a/b поліморфізму *eNOS* гену достовірно не відрізнялися.
2. Погодинний діурез на першу добу життя був майже однаковим у дітей з генотипами 4a/a або 4a/b та у дітей з генотипом 4b/b, проте на 6 добу життя в останніх погодинний діурез був достовірно вищим.
3. Ми не знайшли жодного зв'язку між 4a/b поліморфізмом *eNOS* гену і асфіксією, її важкою формою, артеріальною гіпотензією, дихальною недостатністю і синдромом меконіальної аспірації. Тим не менше, результати даного дослідження це тільки попередній звіт, потрібні подальші дослідження на більшій когорті дітей для з'ясування зв'язку між 4a/b поліморфізмом *eNOS* гену і вище перерахованими станами.

Список літератури

1. Похилько В.І. Проблема перинатальної гіпоксії (асфіксії). Діагностика й лікування на сучасному етапі/ В. І. Похилько, О. М. Ковальова // Світ медицини та біології. – 2006. – № 2. – С. 114-120.
2. Похилько В.І. Діагностичне значення визначення активності сумарних нітритів та нітратів ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$) в сечі у немовлят, які перенесли перинатальну асфіксію / В.І. Похилько, Н.Р. Касянчук // Світ медицини та біології. – 2007.- №4. – С.55-59.
3. Знаменська Т.К. Особливості цитоенергетичного метаболізму в новонароджених з гіпоксично-ішемічною енцефалопатією внаслідок асфіксії / Т.К. Знаменська, В.І. Похилько // Лікарська справа. Врачебное дело. – 2007. – №8. – С. 40 - 44.
4. Ковальова О.М. Особливості мітохондріального енергетичного обміну у новонароджених, які перенесли перинатальну асфіксію / О.М. Ковальова, В.І. Похилько, Н.Р. Касянчук // Нейропротекторний та метаболітний захист. Міжнародний неврологічний журнал. – 2009. – №2(24). – С.27-35.
5. Shibata K. Spontaneous development of left ventricular hypertrophy and diastolic dysfunction in mice lacking all nitric oxide synthases / K. Shibata, Y. Yatera Y. Furuno [et al.] // Circ J. - 2020. –Vol. 74. - P. 2681 – 2692
6. Kamezaki F. Plasma levels of nitric oxide metabolites are markedly reduced in normotensive men with electrocardiographically determined left ventricular hypertrophy Hypertension / F. Kamezaki, M. Tsutsui, M. Takahashio [et al.] // Hypertension. - 2014. – Vol. 64. - P. 516 – 522.
7. Morisada M. Complete disruption of all nitric oxide synthase genes causes markedly accelerated renal lesion formation following unilateral ureteral obstruction in mice in vivo / M. Morisada, M. Nomura, H. Nishii [et al.] //J Pharmacol Sci.- 2010. – Vol. 114. - P. 379 – 389.

8. Nakata S. Spontaneous myocardial infarction in mice lacking all nitric oxide synthase isoforms / S. Nakata, M. Tsutsui, H. Shimokawa [et al.] // *Circulation*. - 2008. – Vol.117. - P. 2211 – 2223.
9. Tsutsui M. Significance of nitric oxide synthases: Lessons from triple nitric oxide synthases null mice / M. Tsutsui, A. Tanimoto, M. Tamura // *Journal of Pharmacological Sciences*. - January 2015. - Vol. 127. – P. 42–52.
10. Shimokawa H. Nitric oxide synthases in the pathogenesis of cardiovascular disease: lessons from genetically modified mice / H. Shimokawa, M. Tsutsui // *Pflugers Archiv*. - 2010. - Vol. 459. - P. 959–967.
11. Tsutsui M. Spontaneous myocardial infarction and nitric oxide synthase / M. Tsutsui, S. Nakata, H. Shimokawa, Y. Otsuji [et al.] // *Trends Cardiovasc Med*. – 2008. - Vol. 18. - P. 275–279.
12. Tsutsui M. Pathophysiological relevance of NO signaling in the cardiovascular system: novel insight from mice lacking all NO synthases / M. Tsutsui, H. Shimokawa, Y. Otsuji [et al.] // *Pharmacol The*. – 2010. – Vol. 128. – P. 499–508.
13. Затейщиков Д.А. Полиморфизм генов NO-синтетазы и рецептора ангиотензина II 1-го типа и эндотелиальный гемостаз у больных ишемической болезнью сердца / Д. А. Затейщиков, Л. О. Минушкина, О. Ю. Кудряшова [и др.] // *Кардиология* - 2000. - №11. - С.28-32.
14. Miyahara K. Cloning and structural characterization of the human endothelial nitric-oxide-synthase gene / K. Miyahara, T. Kawamoto, K. Sase [et al.] // *Eur J Biochem*. - 1994 Aug 1 – Vol. 223(3). – P.719-726.
15. Tsukada T. Evidence of association of the eNOS gene polymorphism with plasma NO metabolite levels in humans / T. Tsukada , K. Yokoyama, T. Arai [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. - 1998. – Vol. 245. – P. 190-193.
16. P.A. Ortiz, J.L. Garvin Cardiovascular and renal control in NOS-deficient mouse models *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 284 (2003), pp. R628–638
17. Cotter G. L-NMMA (a nitric oxide synthase inhibitor) is effective in the treatment of cardiogenic shock / G. Cotter, E. Kaluski, A. Blatt [et al.] // *Circulation*. - 2000. – Vol. 101. –P. 1358-1361.

18. Dobyns E. L. Multicenter randomized controlled trial of the effects of inhaled nitric oxide therapy on gas exchange in children with acute hypoxemic respiratory failure / E.L. Dobyns, D.N. Cornfield, N.G. Anas [et al.] // J Pediatr. - 1999. – Vol. 134. – P.406-412.
19. Payen D. Results of the French prospective multicentre randomized double-blind placebo-controlled trial of inhaled nitric oxide (NO) in ARDS / D. Payen, B. Vallet // Intensive Care Med. – 1999. – Vol. 25. – P. 166.
20. Landry D.W. The pathogenesis of vasodilatory shock / D. W. Landry, J. A. Oliver // N Engl J Med. - 2001. – Vol. 345. – P. 588-595.
21. Celik U. Genetic dilemma: eNOS gene intron 4 a/b VNTR polymorphism in sepsis and its clinical features in Turkish children / U. Celik, D. Yıldızdaş , E. Alhan [et al.] //Turk J Pediatr. - 2008. – Vol. 50. – P.114-119.

УДК 616-053.31-001.8:575

АСОЦІАЦІЇ МІЖ ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНУ *eNOS* ТА ПЕРЕБІГОМ АСФІКСІЇ У НОВОНАРОДЖЕНИХ

Коробка О.В.

Ключові слова: 4a/b поліморфізм міні-сателітного повтору у інтроні гену *eNOS*, асфіксія, артеріальна гіпотензія, дихальна недостатність, меконіальна аспірація.

Резюме. Відомий вплив поліморфізму міні-сателітного повтору 4a/b гену *eNOS* на перебіг різних захворювань. Нами було досліджено, як цей поліморфізм пов'язаний зі сприйнятливістю до тяжкої асфіксії та такими клінічними ознаками, як артеріальна гіпотензія, дихальна недостатність, аспірація меконію. 4a/b поліморфізм міні-сателітного повтору у інтроні гену *eNOS* був визначений шляхом полімеразної ланцюгової реакції у 37 доношених новонароджених з асфіксією і 31 здорової доношеної дитини. Не було визначено різниці впливу поліморфізму гену *eNOS* між новонародженими з асфіксією та групою контролю. Статистично достовірного зв'язку між частотою поліморфних алелей і такими клінічними ознаками, як артеріальна гіпотензія, дихальна недостатність і меконіальна аспірація ($p > 0,05$) не виявлено. Була також визначена відсутність достовірної різниці між частотою серцевих скорочень, артеріальним тиском, темпом діурезу на 1 добу життя у дітей з різними генотипами *eNOS*. Виявлено лише значну різницю в темпі діурезу на 6 добу життя у дітей з різними поліморфними варіантами даного гену. Це перше дослідження, яке вивчає вплив 4a/b поліморфізму гену *eNOS* на перебіг асфіксії. Ми не змогли довести зв'язок між впливом 4a/b поліморфізму гену *eNOS* і асфіксією, артеріальною гіпотензією, дихальною недостатністю. Необхідне більш масштабне дослідження, що стосується вивчення даного гену, щоб встановити зв'язок між 4a/b поліморфізмом гену *eNOS* і асфіксією.

УДК 616-053.31-001.8:575

АССОЦИАЦИИ МЕЖДУ ПОЛИМОРФИЗМОМ *eNOS* ГЕНА И ТЕЧЕНИЕМ АСФИКСИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ

Коробка О.В.

Ключевые слова: 4a/b полиморфизм мини-сателитного повтора в интроне гена *eNOS*, асфиксия, артериальная гипотензия, дыхательная недостаточность, мекониальная аспирация.

Резюме. Известно влияние 4a/b полиморфизма мини-сателитного повтора в интроне гена *eNOS* на течение различных заболеваний. Нами было исследовано, как этот полиморфизм связан с восприимчивостью к асфиксии и такими клиническими признаками, как артериальная гипотензия, дыхательная недостаточность, мекониальная аспирация. 4a/4b полиморфизм мини-сателитного повтора в интроне гена *eNOS* определялся путем полимеразной цепной реакции у 37 доношенных новорожденных с асфиксией и 31 здорового доношенного ребенка. Не было определено различия влияния полиморфизма гена *eNOS* между новорожденными с асфиксией и группой контроля. Статистически достоверной связи между частотой полиморфных аллей и такими клиническими признаками, как артериальная гипотензия, дыхательная недостаточность и мекониальная аспирация ($p > 0,05$) не выявлено. Было также определено отсутствие достоверной разницы в частоте сердечных сокращений, уровне артериального давления, темпе диуреза в первые сутки жизни у детей с разными генотипами *eNOS*. Выявлено лишь значительную разницу в темпе диуреза на 6 сутки жизни у детей с различными полиморфными вариантами данного гена. Это первое исследование, которое изучает влияние 4a/b полиморфизма гена *eNOS* на течение асфиксии. Мы не смогли доказать связь между влиянием 4a/b полиморфизма гена *eNOS* и асфиксией, артериальной гипотензией, дыхательной недостаточностью. Необходимо более масштабное исследование, которое бы касалось изучения данного гена, чтобы определить связь между 4a/b полиморфизмом гена *eNOS* и асфиксией.

УДК 616-053.31-001.8:575

ASSOCIATIONS BETWEEN ACE GENE POLYMORPHISM AND THE COURSE OF ASPHYXIA IN NEWBORNS

Korobka O.V.

Keywords: eNOS gene intron 4a/b VNTR polymorphism, asphyxia, arterial hypotension, respiratory failure and meconium aspiration,

Summary. The role of endothelial nitric oxide synthase gene intron 4 a/b (eNOS4a/b) variable number of tandem repeats (VNTR) polymorphism in various diseases was investigated. We investigated whether this polymorphism is associated with susceptibility to asphyxia and its clinical features such as arterial hypotension, respiratory failure, meconium aspiration. eNOS4a/b VNTR polymorphism was determined by the polymerase chain reaction in 37 term neonates with asphyxia and in 31 healthy controls. The genotype distribution of eNOS4 was not different between the patients and controls. There was no statistically significant association between genotypes/allele frequency and outcomes like arterial hypotension, respiratory failure and meconium aspiration ($p>0.05$). It was shown the absence of significant differences in of heart rate, blood pressure, urine output during the first day of life in infants with different genotypes eNOS gene. It was determined the significant differences in of urine output during the sixth day of life in infants with different genotypes eNOS gene.

This is the first study that evaluates the effect of eNOS4a/b polymorphism in asphyxia. We were unable to show a relationship between eNOS gene intron 4 a/b VNTR polymorphism and severe asphyxia, arterial hypotension, respiratory failure and meconium aspiration. Larger studies that do research on the interaction of such genes are needed to clarify the association between eNOS4a/b polymorphism and asphyxia.

Список літератури (транслітерація):

1. Pohil'ko V.I. Problema perina-tal'noï gipoksii (asfiksii). Diagnostika j likuvannya na suchasnomu etapi / V. I. Pohil'ko, O. M. Koval'ova // Svit medicini ta biologii. – 2006. – № 2. – S. 114-120.
2. Pohil'ko V.I. Diagnostichne znachennya viznachennya aktivnosti sumarnih nitritiv ta nitrativ ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) v sechi u nemovlyat, yaki perenesli perina-tal'nu asfiksiyu / V.I. Pohil'ko, N.R. Kasyanchuk //Svit medicini ta biologii. – 2007.- №4. – S.55-59.
3. Znamens'ka T.K. Osoblivosti citoenergetichnogo metabolizmu v novonarodzhenih z gipoksichno- ishemichnoyu encefalopatieyu vnaslidok asfiksii / T.K. Znamens'ka, V. I. Pohil'ko // Likars'ka sprava.Vrachebnoe delo. – 2007. – №8. – S. 40- 44.
4. Koval'ova O.M. Osoblivosti mitohondrial'nogo energetichnogo obminu u novonarodzhenih, yaki perenesli perinatal'nu asfiksiyu / O.M. Koval'ova, V.I. Pohil'ko, N.R. Kasyanchuk // Nejroprotektornij ta metabolitnij zahist. Mizhnarodnij nevrologichnij zhurnal. – 2009. –№2(24). – S.27-35.
5. Shibata K. Spontaneous development of left ventricular hypertrophy and diastolic dysfunction in mice lacking all nitric oxide synthases / K. Shibata, Y. Yatera Y. Furuno [et al.] // Circ J. - 2020. –Vol. 74. - P. 2681–2692
6. Kamezaki F. Plasma levels of nitric oxide metabolites are markedly reduced in normotensive men with electrocardiographically determined left ventricular hypertrophy Hypertension / F. Kamezaki, M. Tsutsui, M. Takahashio [et al.] // Hypertension. - 2014. – Vol. 64. - P. 516–522.
7. Morisada M. Complete disruption of all nitric oxide synthase genes causes markedly accelerated renal lesion formation following unilateral ureteral obstruction in mice in vivo / M. Morisada, M. Nomura, H. Nishii [et al.] //J Pharmacol Sci.- 2010. – Vol.114. - P. 379–389.
8. Nakata S.Spontaneous myocardial infarction in mice lacking all nitric oxide synthase isoforms / S. Nakata, M. Tsutsui, H. Shimokawa [et al.] // Circulation. - 2008. – Vol. 117. - P. 2211–2223.

9. Tsutsui M. Significance of nitric oxide synthases: Lessons from triple nitric oxide synthases null mice / M. Tsutsui, A. Tanimoto, M. Tamura // *Journal of Pharmacological Sciences*. - January 2015. - Vol. 127. – P. 42–52.
10. Shimokawa H. Nitric oxide synthases in the pathogenesis of cardiovascular disease. lessons from genetically modified mice / H. Shimokawa, M. Tsutsui // *Pflugers Archiv*. - 2010. - Vol. 459. - P. 959–967.
11. Tsutsui M. Spontaneous myocardial infarction and nitric oxide synthase / M. Tsutsui, S. Nakata, H. Shimokawa, Y. Otsuji [et al.] // *Trends Cardiovasc Med*. – 2008. - Vol. 18. - P. 275–279.
12. Tsutsui M. Pathophysiological relevance of NO signaling in the cardiovascular system: novel insight from mice lacking all NO synthases / M. Tsutsui, H. Shimokawa, Y. Otsuji [et al.] // *Pharmacol The*. – 2010. – Vol. 128. – P. 499–508.
13. Zatejshchikov D.A. Polimorfizm genov NO-sintetazy i receptora angiotenzina II 1-go tipa i ehndotelial'nyj gemostaz u bol'nyh ishemicheskoy bolezn'yu serdca / D. A. Zatejshchikov, L. O. Minushkina, O. YU. Kudryashova [i dr.] // *Kardiologiya* - 2000. - №11. - S.28-32.
14. Miyahara K. Cloning and structural characterization of the human endothelial nitric-oxide-synthase gene / K. Miyahara, T. Kawamoto, K. Sase [et al.] // *Eur J Biochem*. - 1994 Aug 1 – Vol. 223(3). – P.719-726.
15. Tsukada T. Evidence of association of the eNOS gene polymorphism with plasma NO metabolite levels in humans / T. Tsukada, K. Yokoyama, T. Arai [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. - 1998. – Vol. 245. –P. 190-193.
16. P.A. Ortiz, J.L. Garvin Cardiovascular and renal control in NOS-deficient mouse models *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 284 (2003), pp. R628–638
17. Cotter G. L-NMMA (a nitric oxide synthase inhibitor) is effective in the treatment of cardiogenic shock / G. Cotter, E. Kaluski , A. Blatt [et al.] // *Circulation*. - 2000. – Vol.101. –P. 1358-1361.
18. Dobyns E. L. Multicenter randomized controlled trial of the effects of inhaled nitric oxide therapy on gas exchange in children with acute hypoxemic respiratory

failure / E.L. Dobyns, D.N. Cornfield, N.G. Anas [et al.] //J Pediatr. - 1999. – Vol. 134. – P.406-412.

19. Payen D. Results of the French prospective multicentre randomized double-blind placebo-controlled trial of inhaled nitric oxide (NO) in ARDS / D. Payen, B. Vallet // Intensive Care Med. – 1999. – Vol. 25. – P. 166.

20. Landry D.W. The pathogenesis of vasodilatory shock / D. W. Landry, J. A. Oliver // N Engl J Med. - 2001. –Vol. 345. – P. 588-595.

21. Selik U. Genetic dilemma: eNOS gene intron 4 a/b VNTR polymorphism in sepsis and its clinical features in Turkish children / U. Celik, D. Yıldızdaş , E. Alhan [et al.] //Turk J Pediatr. - 2008. – Vol.50. – P.114-119.