

women, positive correlations were found between an increase in the concentration of the proinflammatory cytokine INF- γ and an increase in iNOS activity, between a decrease in IL-10 levels and arginase activity, and a negative relationship between an increase in iNOS activity and a decrease in arginase activity. Conclusions. The detected cytokine imbalance in pregnant women, who underwent in vitro fertilization and were at risk of preterm childbirth, together with a impaired ratio of iNOS and arginase, indicates an inappropriate level of immunosuppression. These immune changes, by activating cellular responses of maternal immunity, can contribute to preterm childbirth.

DOI 10.31718/2077-1096.21.3.25

УДК 616-053.31+618.3]:575-07

Похилько В.І., Чернявська Ю.І., Цвіренко С.М., Россоха З.І., Яковенко О.В.

КЛІНІКО-ГЕНЕТИЧНІ ДЕТЕРМІНАНТИ ПЕРИНАТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ У НОВОНАРОДЖЕНИХ

Полтавський державний медичний університет

Державний заклад «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України», м. Київ

Актуальною проблемою медицини в даний час є використання методів молекулярної генетики, спрямованих на виявлення і оцінку генетичних факторів ризику і вчасної діагностики перинатальної патології. В результаті проведених численних досліджень визначені фактори ризик, які впливають на стан здоров'я новонароджених. Метою дослідження було вивчення асоціацій між розвитком перинатальної патології у передчасно народжених і доношених новонароджених з поліморфізмом генів сімейства глутатіон-трансфераз (GSTT1, GSTM1, GSTP1), ренін-ангіотензинової системи (ACE, AGT2R1). Матеріали і методи. У дослідження було включено 110 доношених дітей з асфіксією, 30 – здорових доношених дітей для групи контролю, а також 125 передчасно народжених дітей з інфекціями перинатального періоду, 21 передчасно народжена дитина з бронхолегеневою дисплазією, і 70 умовно здорових передчасно народжених дітей. Було проведено комплекс рутинних клініко-лабораторних методів дослідження та визначення поліморфізму генів. Результати. З наявністю нефункціонального алелю гену GSTT1 та DD варіанту ACE гену у новонароджених пов'язаний розвиток тяжкої перинатальної асфіксії ($p=0,006$ та $p=0,003$ відповідно). Діти з GSTT1 "-" і AC AG2TR1 генотипами мають достовірно вищий рівень діастолічного тиску в першу добу після народження, ніж діти з функціональними генотипами цих генів ($p<0,05$). Медіанний показник середньої тривалості штучної вентиляції легень та CPAP-терапії у дітей з генотипом GSTT1 «-» був достовірно вищим за аналогічний показник у дітей з генотипом GSTT1 «+» ($p=0,01$ та $p=0,001$ відповідно). Висновок. Дослідження поліморфізму генів глутатіон-трансфераз та ренін-ангіотензинової системи може бути використане для предикції тяжкості стану дитини після народження.

Ключові слова: поліморфізм генів, новонароджені, перинатальна патологія, асфіксія, артеріальна гіпотензія

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом наукової теми НДР кафедри педіатрії № 1 з пропедевтикою та неонатологією на 2020-2024 рр.: «Розробити клініко-лабораторні критерії, методи прогнозування та запобігання метаболічних порушень у дітей раннього віку». Державний реєстраційний номер – 0120U102856.

Вступ

За останні 5 років в Україні відбулося значне зростання захворювань, що призводять до інвалідності – кількість таких випадків серед дитячого населення зросла на 20 тисяч. Згідно зі статистичними даними, близько 2% від загальної кількості дитячого населення у віці до 18 років – це діти з інвалідністю. Кожна одинадцята новонароджена дитина має порушення стану здоров'я, що призводить до формування хронічних захворювань та дитячої інвалідності. Незалежний експерт з питань соціальної політики П.В. Розенко зазначає, що на 22% збільшилася мережа загальноосвітніх навчальних закладів для дітей зі складним порушенням розвитку, зокрема збільшилося число учнів в них. Якщо у 2015 – 2016 році таких закладів було 58, то у 2016-2017 році – вже 71.

Актуальною проблемою медицини в даний час є використання методів молекулярної генетики, спрямованих на виявлення і оцінку гене-

тичних факторів ризику і вчасної діагностики перинатальної патології. В результаті проведених численних досліджень визначені фактори ризику які впливають на стан здоров'я новонароджених. Генетичні порушення, що виникають у період новонародженості, можуть мати значний вплив на захворюваність та смертність. Рання діагностика може полегшити своєчасне прогностичне консультування родин та можливість прицільного лікування, що покращує результати лікування [1]. У міру розширення доступності діагностичного тестування кожен лікар-неонатолог має належно застосовувати та розуміти методи генетичного скринінгу. Саме тому, серед напрямків науково-дослідної роботи на кафедрі педіатрії №1 з пропедевтикою та неонатологією були такі, що стосувалися питань розробки комплексу ранніх лікувально-діагностичних та профілактично-реабілітаційних заходів для попередження поліорганичних уражень у передчасно народжених

дітей, створення і впровадження системи медико-психологічного супроводу для новонароджених груп ризику з формування хронічної захворюваності, інвалідності та затримки розвитку. Одним з найважливіших завдань стало вивчення клініко-лабораторних критеріїв та методів прогнозування та запобігання метаболічним порушенням у дітей раннього віку.

Мета дослідження

Вивчення асоціацій між розвитком перинатальної патології у передчасно народжених і доношених новонароджених з поліморфізмом генів сімейства глутатіон-трансфераз (*GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*), ренін-ангіотензинової системи (*ACE*, *AGT2R1*). Обрані гени-кандидати беруть участь у ключових механізмах регуляції стану метаболізму, можливостей адаптації дихальної та серцево-судинної систем в умовах гіпоксії.

Так, сімейство *GST* генів (*GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*) бере участь у детоксикації і перетворення різних екзогенних і ендогенних активних речовин, в тому числі продуктів перекисного окислення ліпідів і медикаментів, формування відповіді на стрес, анти-апоптозі, деяких метаболічних процесах та розвитку центральної нервової системи. Гени ренін-ангіотензинової системи – *ACE*, *AGT2R1* є одними з ключових у формуванні відповіді на гіпоксію, регуляції системного артеріального тиску, запальної відповіді, проліферації гемопоетичних клітин, скороченні серця, рівні секреції арахідонової кислоти, розвитку нирок, моделюванні судинних реакцій, апоптозу.

Під час дослідження було вивчено асоціації генетичного поліморфізму з розвитком асфіксії, її тяжкістю і станом гемодинаміки у новонароджених в ранньому неонатальному періоді, респіраторного дистрес-синдрому, бронхолегеневої дисплазії, тяжкістю їх перебігу і необхідності респіраторної підтримки.

Предметами дослідження були: перебіг асфіксії, БЛД, РДС, пневмонії, гемодинамічні показники (ЧСС, артеріальний тиск), погодинний діурез, частота використання медикаментозної підтримки гемодинаміки, початкова доза дофаміну, тривалість використання медикаментозної підтримки гемодинаміки, респіраторна підтримка. Дослідження генетичних поліморфізмів проводяться на кафедрі педіатрії №1 з 2011 року.

Матеріали і методи

У дослідження було включено 110 доношених дітей з асфіксією, 30 – здорових доношених дітей для групи контролю, а також 125 передчасно народжених дітей з інфекціями перинатального періоду, 21 передчасно народжена дитина з БЛД, і 70 умовно здорових передчас-

но народжених дітей. Батьки всіх дітей дали добровільну згоду на дослідження.

Усім пацієнтам був проведений стандартний комплекс клініко-лабораторних методів дослідження. Матеріалом для проведення генетичного дослідження слугувала периферична кров новонароджених. Забір крові проводився в об'ємі 0,25 мл. Зразки крові у новонароджених відбирали у стерильні пробірки закритої системи «Моноветт». Після отримання зразки зберігали при температурі — 20° С до проведення дослідження. Після процедури виділення зразків ДНК із отриманого матеріалу, яку виконували за допомогою комерційного набору реагентів «ДНК-сорб-В», проводили молекулярно-генетичне дослідження із використанням методів полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) і поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ) для подальшого аналізу.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою пакету прикладних програм STATA (США, номер ліцензії №71606281563). Було використано середнє значення (M), стандартне відхилення (SD). Гіпотези про рівність загальних засобів перевірялись за допомогою одностороннього та двостороннього t-критерію Стьюдента. Відносні значення порівнювали за допомогою критерію χ^2 (хі-квадрат).

Результати дослідження та їх обговорення

Особливої актуальності набуло прогнозування адаптаційних можливостей новонароджених у ранньому неонатальному періоді, а також визначення генетичної детермінанти у розвитку неонатальних синдромів та важкої перинатальної патології. Відомо, що поліморфні варіанти генів відіграють стрижневу роль у визначенні індивідуальних особливостей метаболічних процесів на клітинному рівні, тобто обумовлюють індивідуалізацію реакцій на дію екзогенних чинників та ендогенних продуктів як наслідків надмірного оксидантного стресу [2]. В ході дослідження було доведено, що з наявністю не функціонального алелю гену *GSTT1* у новонароджених пов'язаний розвиток тяжкої перинатальної асфіксії (табл.1).

Поліморфізм гену *ACE* виявився важливою генетичною детермінантою в розвитку і прогресі асфіксії, а D/D генотип достовірно асоціювався з важкою асфіксією. У роботах інших авторів наводяться дані щодо наявності асоціацій між генотипом D/D і маркерами кардіореспіраторної нестабільності в перинатальному періоді, але у передчасно народжених дітей [3].

Таблиця 1
Асоціації поліморфізму генів з виникненням асфіксії при народженні

Генотипи	BP	95% ДІ	p
<i>GSTT₁</i> "+"	0,152	0,40-0,587	0,126
<i>GSTT₁</i> "-"	6,56	1,705-25,26	0,006
<i>GSTM₁</i> "+"	1,67	0,476-5,85	0,424
<i>GSTM₁</i> "-"	0,599	0,171-2,01	0,424
AA <i>GSTP₁</i>	0,500	0,067-3,747	0,500
AG <i>GSTP₁</i>	0,778	0,224-2,645	0,692
GG <i>GSTP₁</i>	2,308	0,348-15,316	0,386
ACE II	0,429	0,087-2,101	0,087
ACE ID	0,275	0,050-1,508	0,137
ACE DD	5,857	1,840-18,643	0,003
AT ₂ R ₁ AA	0,345	0,043-2,781	0,317
AT ₂ R ₁ AC	0,829	0,26-2,636	0,750
AT ₂ R ₁ CC	2,90	0,36-23,9	0,317

Діагностика та лікування гіпотензії у недоношених дітей – одна із значних проблем, з якими стикаються лікарі у повсякденній практиці. Існує багато дискусійних питань, наприклад, як визначити контрольні параметри артеріального тиску у недоношених дітей, що може спричинити серйозні патологічні зміни у цієї конкретної групи пацієнтів. Загально визнано, що артеріальна гіпотензія виникає у недоношених дітей, коли середній рівень артеріального тиску нижче гестаційного віку дитини або нижче 30 мм рт. ст., оскільки вважається, що ці показники артеріального тиску є критичними для пошкодження мозку [4,5]. Існують дослі-

дження, які вказують на відсутність зв'язку між рівнем мозкового кровотоку та системним артеріальним тиском у недоношених дітей [6] та припускають наявність інтактного мозкового кровотоку у таких пацієнтів з критичною кількістю системного артеріального тиску [7].

Так, під час дослідження ми з'ясували, що генетичний поліморфізм може бути предиктором рівня діастолічного артеріального тиску у передчасно народжених дітей (рис. 1). Діти з *GSTT₁* "-" і AC *AG₂TR₁* генотипами мають достовірно вищий рівень діастолічного тиску в першу добу після народження, ніж діти з функціональними генотипами цих генів (p<0,05).

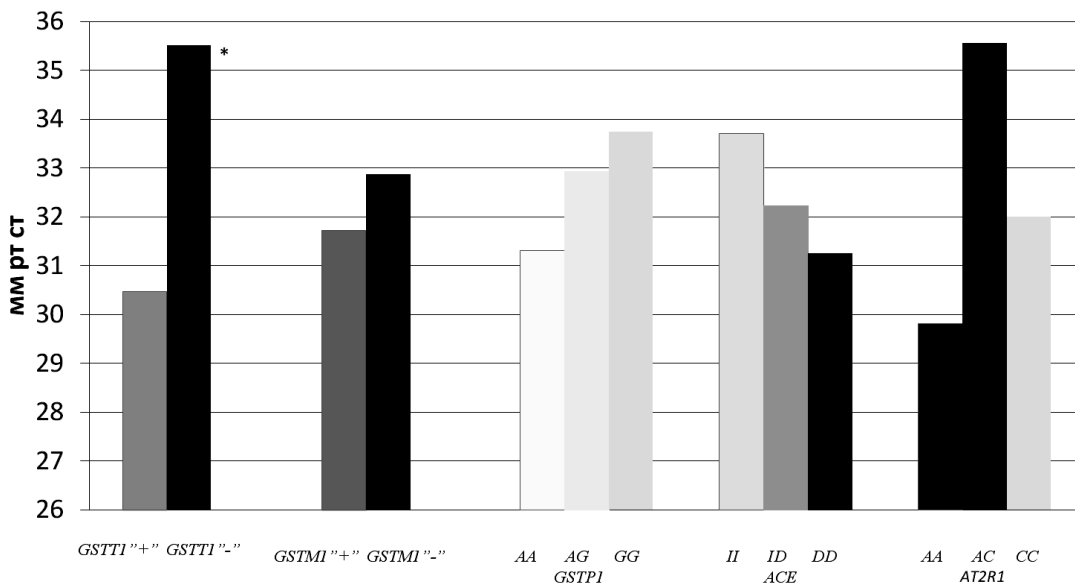


Рис. 1. Діастолічний артеріальний тиск у передчасно народжених з різними варіантами генетичного поліморфізму

Для вирішення питання про необхідність агресивного медичного втручання необхідно оцінити артеріальну гіпотензію в поєднанні з іншими показниками клінічного стану дитини [8] та з урахуванням можливих генетичних детермінант (табл. 2).

Як бачимо, дофамін застосовувався майже у половини пацієнтів з асфіксією. Що стосується дози препарату, то дещо вищу потребували

немовлята з генотипом AC або CC – 5,35 мкг/кг/хв., у той час, як немовлята з функціональним генотипом AA генотипом – 4,53 мкг/кг/хв., p = 0,282. Незважаючи на відсутність статистичної достовірної відмінності у цих показниках, вважаємо, що вони мають клінічну значимість і потребують подальшого вивчення на більшій когорті дітей.

Дихальна недостатність (ДН) є одним із ос-

новних ускладнень при асфіксії. Причинами її розвитку у дітей можуть бути респіраторний дистрес-синдром (РДС), інфекції, викликані пневмонією та бронхіолітом, а також неврологічні чинники, такі як центральна гіповентиляція та бульбарні розлади. У більшості дітей при пневмонії спостерігаються мінімальні прояви ДН, тоді як у деяких пацієнтів пневмонія може ускладнюватися ДН та тяжкими формами ураження легенів. Різні ступені ДН пацієнтів мо-

жуть бути обумовлені варіаціями генів, що впливають на сприйнятливості та наслідки легеневих пошкоджень. Параметри респіраторної підтримки безпосередньо пов'язані з тяжкістю дихальної недостатності. Тому оцінка зв'язків цих показників з варіантами генетичного поліморфізму може дати відповідь на питання – чи впливають певні генетичні детермінанти на тяжкість респіраторної дисфункції у новонароджених? (табл. 3)

Таблиця 2
Медикаментозна підтримка гемодинаміки у новонароджених з асфіксією, стратифікованих у відповідності з генотипами *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*, *ACE*, *AG2TR1* генів

Генотипи	Частота використання дофаміну		Стартова доза дофаміну, мкг/кг/хв., (M±m)		Тривалість використання дофаміну, доба (M±m)	
	%	p	%	p	%	p
<i>GSTT1</i> «+»	43,6	0,703	4,79	0,804	2,6	0,615
<i>GSTT1</i> «-»	38,1		4,56		2,9	
<i>GSTM1</i> «+»	45,2	0,644	4,89	0,653	2,6	0,782
<i>GSTM1</i> «-»	37,9		4,5		2,75	
<i>GSTP1</i>						
AA <i>GSTP1</i>	33,3	0,098	5,0	0,839	3,0	0,732
AG <i>GSTP1</i>	47,1	0,878	4,81	0,350	2,8	0,270
GG <i>GSTP1</i>	40,0	0,243	7,0	0,216	4,5	0,192
<i>ACE</i>						
<i>II</i> ¹	60,0	0,186*	4,58±0,69		3,00±0,68	1,000 [#]
<i>ID</i> ²	36,8	0,446	5,18±0,64	0,588 [#]	3,00±0,41	0,836
<i>DD</i> ³	45,5	0,512	3,00±0,41	0,942	2,82±0,52	0,784
<i>AT2R1</i>						
AA	43,6	0,890	4,53	0,561	3,18	0,379
AC+CC	41,9		5,35	0,282	2,67	

Таблиця 3.
Параметри респіраторної підтримки у передчасно народжених дітей, стратифікованих відповідно до генотипів *GSTT1* і *GSTM1* генів

Медичні втручання	Генотипи <i>GSTT1</i>		p	Генотипи <i>GSTM1</i>		p
	<i>GSTT1</i> «+» (n=37)	<i>GSTT1</i> «-» (n=11)		<i>GSTM1</i> «+» (n=27)	<i>GSTM1</i> «-» (n=21)	
Середня тривалість ШВЛ в днях (Me/Q ₁ -Q ₃) _e	7 (4-10)	16 (8-28)	0,01	7 (4-10)	9(7-19)	0,069
Максимальний PIP в см вод. ст.	17 (14-20)	16,5 (14-21)	0,726	17(16-22,5)	14 (12-19)	0,018
Середня тривалість СРАР в днях (Me/ Q ₁ -Q ₃) _e	5,5 (2-7)	20 (12-32,5)	0,001	11 (6-23)	6 (2-16)	0,221

Медіанний показник середньої тривалості ШВЛ та СРАР у дітей з генотипом *GSTT1* «-» був достовірно вищим за аналогічний показник у дітей з генотипом *GSTT1* «+». Підтвердження впливу поліморфізму генів на прояви дихальної недостатності були отримані і в інших дослідженнях, які дали змогу констатувати, що нуль-генотипи *GSTM1*«-» і *GSTT1*«-» є чинниками ризику бронхіальної астми у дітей [9, 10]. Також було встановлено, що розвиток пневмонії у передчасно народжених дітей достовірно асоціюється з *DD* генотипом *ACE* гену (ВШ 15,0; p=0,023). Доведено, що жоден з трьох поліморфних варіантів *ACE* гену не асоціюється з сприйнятливостю передчасно народжених дітей до РДС, але у випадку розвитку останнього важкість його була нижче у пацієнтів з *II* генотипом (ВШ 0,23; p=0,064).

Висновок

Дослідження поліморфізму генів глутатіон-трансфераз та ренін-ангіотензинової системи може бути використане для предикції тяжкості

стану дитини після народження. Оскільки, доведено, що певні варіанти поліморфізму генів *GSTT1*, *GSTP1*, *GSTM1*, *ACE*, *AG2TR1* асоціюються з гіршими клінічними показниками кардіо-респіраторної адаптації як доношених, так і передчасно народжених дітей.

Література

1. Carroll J, Wigby K, Murray S. Genetic testing strategies in the newborn. *J Perinatol.* 2020;40:1007-16.
2. Znamenska TK, Pokhyl'ko VI, Podol's'kyy VV, ta in. Hipoksiya ploda ta asfiksiya novonarozheno [Fetal hypoxia and neonatal asphyxia]. Kyiv, 2010. P.59-63.
3. Harding D, Dhamrait S, Marlow N et al. The angiotensin converting enzyme (ACE) DD genotype is associated with worse perinatal cardiorespiratory adaptation after preterm birth. *J Pediatr.* 2003; 143:746-49.
4. Lawlor DA, Lichtenstein P, Fraser A et al. Does maternal weight gain in pregnancy have long-term effects on offspring adiposity? A sibling study in a prospective cohort of 146,894 men from 136,050 families. *Am J Clin Nutr.* 2011 Jul; 94(1):142-8.
5. Abdulmalik MA, Ayoub JJ, Mahmoud A et al. Pre-pregnancy BMI, gestational weight gain and birth outcomes in Lebanon and Qatar: Results of the MINA cohort. *PLoS ONE.* 2019; 14(7):e0219248.
6. Sahoo K, Sahoo B, Choudhury AK et al. Childhood obesity: causes and consequences. *J Family Med Prim Care.* 2015; 4(2):187-92.

7. Pokhyl'ko VI, Tsvirenko SM, Solovyova HO ta in. Vplyv zabezpechennya nutriyentamy v prenatal'nomu i hrudnomu vitsi na rozvytok ozhyrinnya u ditey [The effect of nutrient supply in prenatal and infant age on the development of obesity in children]. *Sovremennaya pedyatryya*. 2016; 7(79):106-11.
8. Anderson PM, Butcher KE. Childhood obesity: Trends and potential causes. *Future Child*. 2006; 16:19-45.
9. Kumar C, Gaur P, Pandey S et al. Role of Glutathione-S-Transferase gene susceptibility in patient with Bronchial asthma [Internet]. *American Journal of Pharmacy & Health Research*. 2014; 2(5). Available from: https://www.researchgate.net/publication/323812027_Role_of_Glutathione-S-Transferase_gene_susceptibility_in_patient_with_Bronchial_asthma
10. Grubisa I, Otasevic P, Vucinic N et al. Combined GSTM1 and GSTT1 null genotypes are strong risk factors for atherogenesis in a Serbian population *Genetics and Molecular Biology*. 2018; 41(1):35-40.

Реферат

КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ

Похилько В.И., Чернявская Ю.И., Цвиренко С.М., Россоха З.И., Яковенко О.В.

Ключевые слова: полиморфизм генов, новорожденные, перинатальная патология, асфиксия, артериальная гипотензия

Актуальной проблемой медицины в настоящее время является использование методов молекулярной генетики, направленных на выявление и оценку генетических факторов риска и своевременной диагностики перинатальной патологии. В результате проведенных многочисленных исследований определены факторы риска, влияющие на состояние здоровья новорожденных. Целью исследования было изучение ассоциаций между развитием перинатальной патологии у недоношенных и доношенных новорожденных с полиморфизмом генов семейства глутатион-трансфераз (GSTT1, GSTM1, GSTP1), ренин-ангиотензиновой системы (ACE, AGT2R1). Материалы и методы. В исследование было включено 110 доношенных детей с асфиксией, 30 - здоровых доношенных детей для группы контроля, а также 125 недоношенных детей с инфекциями перинатального периода, 21 преждевременно родившийся ребенок с бронхолегочной дисплазией, и 70 условно здоровых недоношенных детей. Был проведен комплекс рутинных клинико-лабораторных методов исследования и определения полиморфизма генов. Результаты. С наличием нефункциональных аллеля гена GSTT1 и DD варианта ACE гена у новорожденных связано развитие тяжелой перинатальной асфиксии ($p = 0,006$ и $p = 0,003$ соответственно). Дети с GSTT1 "-" и AC AG2TR1 генотипами имеют достоверно более высокий уровень диастолического давления в первые сутки после рождения, чем дети с функциональными генотипами этих генов ($p < 0,05$). Медианный показатель средней продолжительности искусственной вентиляции легких и CPAP у детей с генотипом GSTT1 «-» был достоверно выше аналогичного показателя у детей с генотипом GSTT1 «+» ($p = 0,01$ и $p = 0,001$ соответственно). Вывод. Исследование полиморфизма генов глутатион-трансфераз и ренин-ангиотензиновой системы может быть использовано для предикции тяжести состояния ребенка после рождения.

Summary

CLINICAL AND GENETIC DETERMINANTS OF PERINATAL PATHOLOGY IN NEWBORNS

Pokhyl'ko V.I., Cherniavska Yu.I., Tsvirenko S.M., Rossokha Z.I., Yakovenko O.V.

Key words: gene polymorphism, newborns, perinatal pathology, asphyxia, arterial hypotension

One of the pressing issues of healthcare nowadays is applying methods of molecular genetics aimed at identifying and assessing genetic risk factors and early diagnosis of perinatal pathology. Numerous studies have contributed to identifying risk factors that affect the health of newborns. The aim of this work is to investigate the associations between the development of perinatal pathology in premature and full-term infants with polymorphism of genes of the glutathione transferase family (GSTT1, GSTM1, GSTP1), renin-angiotensin system (ACE, AGT2R1). Materials and methods. The study included 110 full-term infants with asphyxia, 30 healthy full-term infants for the control group, and 125 preterm infants with perinatal infections, 21 preterm infants with broncho-pulmonary dysplasia, and 70 conditionally healthy preterm infants. A set of routine clinical and laboratory methods of research and determining gene polymorphism was performed. Results. The presence of a non-functional allele of the GSTT1 gene and DD variant of the ACE gene in newborns is associated with the development of severe perinatal asphyxia ($p = 0.006$ and $p = 0.003$, respectively). Children with GSTT1 "-" and AC AG2TR1 genotypes have significantly higher levels of diastolic pressure in the first day after birth than children with functional genotypes of these genes ($p < 0.05$). The median mean duration of mechanical ventilation and CPAP in children with GSTT1 genotype "-" was significantly higher than that in children with GSTT1 genotype "+" ($p = 0.01$ and $p = 0.001$, respectively). Conclusion. Polymorphism studies of glutathione transferase and renin-angiotensin genes can be used to predict the severity of a child's condition after birth.