

УДК: 616-053.31-001.8:575

*О.М. Ковальова, В.І. Похилько,  
О.В. Коробка, О.О. Калюжка,  
Н.І. Гасюк*

ВДНЗ «Українська медична  
стоматологічна академія»  
(м.Полтава, Україна)

ПЕРЕБІГ АСФІКСІЇ ТА СТАН  
ГЕМОДИНАМІКИ У НОВОНАРОДЖЕНИХ,  
СТРАТИФІКОВАНИХ ЗА ГЕНОТИПАМИ  
AGTR1 ГЕНА

**Ключові слова:** AGTR1, асфіксія, новонароджені, гемодинаміка, дофамін.

**Резюме.** Представлено результати дослідження поліморфізму генів AGTR1 у новонароджених з асфіксією (n=70). Не виявлено асоціації між CC генотипом AGTR1 гена і розвитком асфіксії та CC генотипом її тяжким її ступенем у доношених новонароджених. Показано відсутність достовірних відмінностей у показниках ЧСС, артеріального тиску систолічного та середнього, погодинного діурезу упродовж раннього неонатального періоду в новонароджених з функціональним та нефункціональним AGTR1 геном. Проте виявлено достовірно вищий рівень діастолічного артеріального тиску в першу добу життя у новонароджених з наявною С-алеллю, ніж у новонароджених з АА генотипом ( $35,07 \pm 1,89$  мм рт ст. проти  $29,81 \pm 1,04$  мм рт ст.,  $p=0,013$ ). Початкова доза дофаміну, що потрібна для стабілізації гемодинаміки у новонароджених, а також тривалість його застосування були майже однаковими у немовлят з наявною С-алеллю AGTR1 гена та у немовлят з її відсутністю. Потрібні подальші дослідження на більшій когорті пацієнтів для з'ясування остаточного внеску зазначеного гену в розвиток асфіксії та її перебіг у новонароджених.

### Вступ

Асфіксія є безпосередньою причиною високої перинатальної захворюваності, смертності та інвалідизації новонароджених не тільки в Україні, але і в цілому світі. Глобальні оцінки фатальних випадків, пов'язаних з асфіксією, коливаються від 0,7 до 1,2 мільйона з 4 000 000 усіх смертей новонароджених [1, 2]. Близько 20% доношених новонароджених із гіпоксично-ішемічною енцефалопатією (ГІЕ) помирають у неонатальному періоді і 25% тих, хто виживе, будуть мати нейросенсорні порушення, такі як церебральний параліч, розумова відсталість та втрата слуху [3]. 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 [4]. Досконало вивчено також і клінічні прояви асфіксії та її ускладнень. Зокрема досліджено, що серцево-судинна недостатність може призвести до смерті дитини або розвитку у неї тяжкої ГІЕ. Найчастіше її розвиток пов'язаний з дисфункцією лівого шлуночка після гіпоксично-ішемічного інсульту [5], пошкодженням ендотеліальних

клітин, гіповолемією через відшарування плаценти (рідше) і як наслідок, порушенням ауторегуляції мозкового кровотоку [6]. З'ясування причин розвитку ГІЕ залишається складним навіть при сучасному розвитку медицини та наявних діагностичних критеріях.

В останній час значну кількість досліджень присвячено пошуку спадкових факторів, які сприяють розвитку того чи іншого захворювання або зумовлюють його більш тяжкий перебіг. Серед генів-кандидатів саме гени ренін-ангіотензинової системи – ACE, AGTR1 і eNOS є біологічно та клінічно значимими у формуванні фенотипічних особливостей перебігу захворювань серцево-судинної системи у дітей [7]. Генетичний поліморфізм цих ключових генів створює основу для вивчення асоціацій між генетичними варіантами гена AGTR1 і розвитком органних дисфункцій у доношених дітей з асфіксією внаслідок порушень системної та периферичної гемодинаміки.

Ангіотензин II виявляє судинозвужуючий ефект через його рецептор першого типу (AGTR1), локалізований на плазматичній мембрані клітин тканин-мішеней. Ген рецептору 1 до ангіотензину II розміщений на довгому плечі 3-ї хромосоми в локусі 3q21-q25,

експресується в гладком'язових клітинах судин і в міокарді та є G-протеїновим рецептором. Існують два підтипи рецепторів: 1a і 1b, що мають 98% гомологію за амінокислотним складом. Варіант AGTR1 – 1a експресується в усіх тканинах і органах, а 1b – в плаценті, легенях, печінці, але не в серці. Основна функція обох підтипів рецептору AGTR1 – зв'язування ангіотензину II і передача сигналу вазоконстрикції й проліферації на гладеньком'язову клітину. Відомо близько 20 поліморфних варіантів гена AGTR1, найбільш вивченим з яких є заміна аденіну на цитозин в позиції 1166 (A1166C) [8]. Показано, що С-алель і СС генотип асоційовані з підвищеним рівнем артеріального тиску [9].

Таким чином, незважаючи на те, що вивчення асфіксії у новонароджених проводиться упродовж багатьох років, все ще не отримані остаточні відповіді щодо впливу генетичної детермінанти на розвиток асфіксії та її тяжкість. Саме вирішення цих питань зумовлює необхідність проведення даного дослідження з метою вдосконалення існуючих лікувально-реабілітаційних заходів, спрямованих на зниження смертності, захворюваності, інвалідності дітей з асфіксією та підвищення якості їх життя.

**Метою роботи** є дослідження перебігу асфіксії та стану гемодинаміки в перші шість діб життя у новонароджених, стратифікованих відповідно до генотипів гена AGTR1.

Поставлено наступні задачі дослідження: вивчення частоти розповсюдження поліморфізму AGTR1 гена серед дітей з асфіксією і серед клінічно здорових новонароджених; виявлення асоціацій між поліморфізмом AGTR1 гена та тяжким перебігом асфіксії; вивчення основних гемодинамічних показників впродовж перших шести діб життя у новонароджених.

### Матеріали та методи

У дослідження включені доношені новонароджені (n=70) із гестаційним віком від 37 тижнів, масою при народженні від 2500 г, які лікувалися у відділеннях інтенсивної терапії новонароджених лікувальних закладів Полтавської області упродовж 2009-2012 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 післяреанімаційної допомоги новонародженим» [10]. 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. Усі діти були розділені на групи залежно від генотипу AGTR1 гена. Стан гемодинаміки вивчали за такими показниками: частота серцевих скорочень (ЧСС), артеріальний тиск (АТ) систолічний, АТ діастолічний, АТ середній, погодинний діурез, частота застосування дофаміну, початкова доза необхідна для стабілізації гемодинаміки та тривалість застосування медикаментозної підтримки гемодинаміки.

**Матеріалом для дослідження** слугувала пуповинна або периферійна кров новонароджених, яку забирали у пробірки ЕДТА в кількості 1,2 мл. Виділення зразків ДНК із отриманого матеріалу проводили стандартним методом за допомогою комерційного набору «ДНК-сорб-В» фірми Амплі Сунс Центрального НДІ епідеміології МОЗ Російської федерації. Визначення А/С поліморфізму генів AGTR1 проводилося із використанням полімеразної ланцюгової реакції в автоматичному режимі у термоциклері GeneAmp 2700 (AppliedBiosystem). Праймери синтезовано фірмою «Metabion» (Німеччина).

Статистична обробка результатів здійснювалась із використанням пакету ліцензованих прикладних програм SPSS 16 та MS Excel XP.

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).

### Результати та їх обговорення

Вивчення поліморфізму гена AGTR1 у новонароджених з асфіксією засвідчило наявність АА генотипу у 55,7% (n=39), АС генотипу у 38,6% (n=27) та СС генотипу у 5,7% (n=4) немовлят. У здорових новонароджених частота генотипу АА AGTR1 гена виявлялась у 68,4% (n=26) дітей, АС генотипу – у 28,9% (n=11) дітей та СС генотипу – у 2,6% (n=1) дітей (p=0,404). При цьому, шанси немовлят з генотипом СС AGTR1 гена мати асфіксію становлять 1,722 (95% ДІ 0,750-3,953, p=0,200). Таким чином, частота виявлення поліморфізму вказаного гена у новонароджених з асфіксією не відрізнялась від частоти його виявлення в популяції здорових новонароджених,

а СС генотип не є фактором ризику розвитку асфіксії у дітей.

Дослідження показало, що маса тіла при народженні, співвідношення кількості дівчаток

і хлопчиків, оцінка за шкалою Апгар на 1 та 5 хвилини були майже однаковими у групах дітей з різними генотипами AGTR1 гена (табл. 1).

Також було проаналізовано частоту усклад-

Таблиця 1

**Базові характеристики обстежених дітей з асфіксією, стратифікованих відповідно до генотипів AGTR1 гена**

Базові характеристики	Генотипи		P
	AA (n=39)	AC+CC (n=31)	
Маса тіла при народженні, в грамах, (M+m)	3552,46±71,7	3539,19±86,44	0,906*
Стать, % / (n [жіноча/ чоловіча])	43,6/ (7/32)	41,9/ (13/18)	0,890*
Оцінка за шкалою Апгар на 1 хв. в балах, (M+m)	4,46±0,251	4,58±0,27	0,749#
Оцінка за шкалою Апгар на 5 хв. в балах, (M+m)	6,10±0,214	5,7±0,257	0,487#

**Примітка\*** – значення P розраховувалось за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

# – значення P розраховувалось за двостороннім t-тестом Стьюдента

лень під час вагітності та пологів у матерів дітей обстежених груп. Як свідчать результати дослідження (табл.2), не існує достовірних відмінностей у частоті розвитку загрози переривання, кольпіту, багатоводдя або маловод-

дя, а також проведенні операції кесарського розтину матерям, діти яких мали різні А/С поліморфізми, що дало нам можливість отримати коректні результати і мінімізувати вплив випадкових помилок.

Таблиця 2

**Особливості перинатального анамнезу у новонароджених з асфіксією, стратифікованих відповідно до генотипів AGTR1 гена**

Показники	Генотипи		P
	AA (n=39)	AC+CC (n=31)	
Загроза переривання, % / (n [так/ні])	33,3 (13/26)	41,9 (13/18)	0,459
Кольпіт, % / (n [так/ні])	10,4 (4/35)	3,2 (1/30)	0,258
Багатоводдя або маловоддя, % / (n [так/ні])	7,7 (3/36)	32,3 (10/21)	0,009
Кесарів розтин, % / (n [так/ні])	12,8 (5/)	12,9 (4/27)	0,992

**Примітка\*** – значення P розраховувалось за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона# – значення P розраховувалось за двостороннім t-тестом Стьюдента

Іншою задачею нашого дослідження було з'ясувати, чи впливає поліморфізм досліджуваного гену на перебіг асфіксії у доношених новонароджених. Частота тяжкої асфіксії серед дітей з генотипом СС була дещо вищою, ніж серед дітей з генотипом АА та АС (відповідно 50% проти 25,6%,  $p=0,308$  та 22,2%,  $p=0,268$ ), але ця різниця не мала статистич-

ної значущості. У немовлят з генотипом АА відношення шансів мати тяжку асфіксію становило 0,345 (95% ДІ 0,043-2,781,  $p=0,317$ ). Саме тому вважаємо за потрібне проводити подальші дослідження на більшій когорті пацієнтів для з'ясування остаточного внеску зазначеного гена в розвиток тяжкої асфіксії у новонароджених.

Аналіз гемодинаміки в першу добу життя у новонароджених з асфіксією, стратифікованих відповідно до генотипів AGTR1 генів, виявив відсутність достовірних відмінностей за такими

показниками як ЧСС, АТ (систоличний та середній). У той же час діастолічний АТ у новонароджених з АС або СС генотипами був достовірно вищим, ніж у дітей з АА генотипом (табл.3).

Таблиця 3

**Стан гемодинаміки в першу добу життя у новонароджених з асфіксією, стратифікованих відповідно до генотипів AGTR1 гена, (M±m)**

Показники	Генотипи		P
	АА (n=39)	АС+СС (n=31)	
ЧСС, ударів за хв.	136,77±1,96	135,74±2,753	0,756
АТ систолічний, мм рт ст.	62,64±1,86	66,069±1,78	0,195
АТ діастолічний, мм рт ст.	29,81±1,04	35,07±1,89	0,013
АТ середній, мм рт ст.	43,05±1,79	47,37±1,85	0,104
Погодинний діурез, мл/кг/год.	2,17±0,52	1,35±0,18	0,184

**Примітка\*** – # значення P розраховувалось за двостороннім t-тестом Стьюдента

Погодинний діурез, – показник, який також свідчить про стан гемодинаміки, у немовлят з різними генотипами був майже однаковим. На другу та шосту добу життя показники гемоди-

наміки, які досліджувались у немовлят з АА та АС або СС генотипами AGTR1, достовірно не відрізнялися (табл. 4 та табл. 5).

У новонароджених з асфіксією при неста-

Таблиця 4

**Стан гемодинаміки на другу добу життя у новонароджених з асфіксією, стратифікованих відповідно до генотипів AGTR1 гена, (M±m)**

Показники	Генотипи		P
	АА (n=39)	АС+СС (n=31)	
ЧСС, ударів за хв.	133,94±1,92	130,29±1,99	0,631
АТ систолічний, мм рт ст.	64,00±1,38	65,97±2,03	0,413
АТ діастолічний, мм рт ст.	34,30±1,45	35,43±1,45	0,585
АТ середній, мм рт ст.	45,97±1,09	47,48±1,34	0,380
Погодинний діурез, мл/кг/год.	2,57±0,17	2,90±0,22	0,229

**Примітка\*** – # значення P розраховувалось за двостороннім t-тестом Стьюдента

більній гемодинаміці згідно клінічного протоколу [10], застосовується дофамін для її підтримки. Майже половина пацієнтів дослідної групи з асфіксією потребувала призначення дофаміну. При цьому нами не отримано достовірних відмінностей у частоті призначення зазначеного препарату між групами немовлят з функціональним та нефункціональним AGTR1 геном - 43,6% (n=17) немовлят з АА генотипом та 41,9% (n=13) з АС або СС генотипом, p=0,890. Що стосується дози препарату, то дещо вищу дозу в першу добу життя

потребували немовлята з генотипом АС або СС – 5,35 мкг/кг/хв., у той час як немовлята з функціональним генотипом АА генотипом – 4,53 мкг/кг/хв., p=0,282. Водночас тривалість застосування дофаміну була дещо більшою у групі пацієнтів з АА генотипом, ніж у пацієнтів з АА AGTR1 та АС AGTR1 генотипами (3,18±0,41 діб та 2,67±0,39, p=0,379). Незважаючи на відсутність статистичної значущості у цих показниках, вважаємо, що вони мають клінічну значимість і потребують подальшого вивчення на більшій когорті немовлят.

Таблиця 5

**Стан гемодинаміки на другу добу життя у новонароджених з асфіксією, стратифікованих відповідно до генотипів AGTR1 гена, (M±m)**

Показники	Генотипи		P
	AA (n=39)	AC+CC (n=31)	
ЧСС, ударів за хв.	131,8±1,49	129,7±1,58	0,339
АТ систолічний, мм рт ст.	68,71±1,67	72,52±1,65	0,115
АТ діастолічний, мм рт ст.	37,50±2,62	39,09±1,46	0,620
АТ середній, мм рт ст.	46,37±1,51	50,42±2,27	0,132
Погодинний діурез, мл/кг/год.	3,09±0,20	3,41±0,205	0,279

**Примітка\*** – # – значення P розраховувалось за двостороннім t-тестом Стьюдента

### Висновки

1. Не виявлено асоціацій між CC генотипом AGTR1 гена і розвитком асфіксії (ВШ=1,722 (95% ДІ 0,750–3,953, p=0,200) та більш тяжким її перебігом (ВШ=0,345 95% ДІ 0,043–2,781, p=0,317) у доношених новонароджених.

2. Показано достовірно вищий рівень діастолічного АТ в першу добу життя у новонароджених з С алеллю, ніж у новонароджених з АА генотипом (35,07±1,89 мм рт ст. проти 29,81±1,04 мм рт ст., p=0,013), та відсутність достовірних відмінностей у показниках ЧСС, артеріального тиску систолічного та середнього, погодинного діурезу упродовж 2–6 діб життя у новонароджених.

3. Немовлята з генотипом АС та СС, які перенесли перинатальну асфіксію, не потре-

бують у першу добу життя менших доз дофаміну та меншу тривалість його застосування для підтримки стабільної гемодинаміки, ніж діти з генотипом АА AGTR1 гена.

### Перспектива подальших досліджень

Для з'ясування ролі генного поліморфізму AGTR1 гена в розвитку асфіксії та її більш тяжкому перебігу необхідні подальші дослідження на більшій когорті новонароджених та запровадження молекулярно-генетичного скринінгу у новонароджених, які лікуються у неонатальних відділеннях інтенсивної терапії, що дозволить виявляти немовлят із ризиком розвитку тяжкого перебігу асфіксії, органних дисфункцій та підвищеною потребою у застосуванні «органопротезуючих» технологій.

### Література

1. Lawn J. 4 Million neonatal deaths: When? Where? Why? / J. Lawn, S. Cousens, J. Zupan // *Lancet*. – 2005. – Vol. 365. – P. 891–900.
2. Wachtel E.V. Current Management of the Infant Who Presents with Neonatal Encephalopathy / E.V. Wachtel, K.D. Hendricks-Mucoz // *Curr. Probl. Pediatr. Adolesc. Health Care* – 2011. – Vol. 41. – P. 132–153.
3. Pin T.W. A review of developmental outcome of term infants with post-asphyxia neonatal encephalopathy / T.W. Pin, B. Eldridge, M.P. Galea // *Eur. J. Paediatr. Neurol.* – 2009. – Vol. 13. – P. 613–618.
4. Визначення генетичної детермінанти у розвитку перинатальної асфіксії новонароджених / Горovenko Н. Г., Знаменська Т. К., Россоха З.І. [та ін /] // *Перинатология и педиатрия*. – 2009. – № 4 (40). – С. 37–40.
5. Postresuscitation left ventricular systolic and diastolic dysfunction. Treatment with dobutamine / K.B. Kern, R.W. Hilwig, R.A. Berg [et al] // *Circulation*. – 1997. – Vol. 95. – P. 2610–2613.
6. Vasoparalysis associated with brain damage in asphyxiated term infants / O. Pryds, G. Greisen, H. Lou [et al] // *J. Pediatr.* – 1990. – Vol. 117: – P. 119–125.
7. Кузьмина С.В. Полиморфизм генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и особенности состояния вегетативной нервной системы детей и подростков с артериальной гипертензией / С.В. Кузьмина, О.А. Мутафьян В.И. Ларионова // *Педиатрия*. – 2011. – Т. 90, № 5. – С.58–62.
8. Protein : AGTR1. режим доступу: <http://ppar.cas.psu.edu/PPARgamma/7689.html>
9. Angiotensin II type I receptor gene polymorphism: anthropometric and metabolic syndrome traits / M. Abdollahi, T. Gaunt, H. Syddall [et al] // *J. Med. Genet.* – 2005. – Vol. 42(5). – P. 396–401.
10. Про затвердження клінічного Протоколу з первинної реанімації та післяреанімаційної допомоги новонародженим. [Наказ № 312 МОЗ України від 8.06.2007 року]. – К., 2007. – 54 с. – (Нормативні директивні правові документи).

**ТЕЧЕНИЕ АСФИКСИИ И СОСТОЯНИЕ  
ГЕМОДИНАМИКИ У НОВОРОЖДЕННЫХ,  
СТРАТИФИЦИРОВАННЫХ ПО ГЕНОТИПАМ  
AGTR1 ГЕНА**

*Е.М. Ковалева, В.И. Похилько, О.В. Коробка,  
Е.А. Калюжжа, Н.И. Гасюк*

**ВГУЗУ «Украинская медицинская  
стоматологическая академия»  
(г. Полтава, Украина)**

**Резюме.** Представлены результаты исследования полиморфизма генов AGTR1 у новорожденных с асфиксией (n=70). Не обнаружено ассоциаций между CC генотипом AGTR1 гена и развитием асфиксии, в также CC генотипом и тяжелой ее степенью у доношенных новорожденных. Показано отсутствие достоверных отличий в показателях ЧСС, артериального давления систолического и среднего, почасового диуреза на протяжении раннего неонатального периода у новорожденных с функциональным и нефункциональным AGTR1 геном. Однако, обнаружен достоверно более высокий уровень диастолического артериального давления в первые сутки жизни у новорожденных с имеющейся С-аллелью, чем у новорожденных с АА генотипом ( $35,07 \pm 1,89$  мм рт ст. против  $29,81 \pm 1,04$  мм рт ст.,  $p=0,013$ ). Начальная доза дофамина, необходимая для стабилизации гемодинамики у новорожденных, а также длительность его применения, были почти одинаковыми у младенцев с имеющейся С-аллелью AGTR1 гена как и у младенцев с ее отсутствием. Нужны дальнейшие исследования на большей когорте пациентов для выяснения окончательного влияния отмеченного гена на развитие и течение асфиксии у новорожденных.

**Ключові слова:** AGTR1, асфіксія, новонароджені, гемодинаміка, дофамін.

**THE COURSE OF ASPHYXIA AND  
HEMODYNAMIC'S STATUS IN NEWBORN  
BABIES, STRATIFIED BY GENOTYPES OF  
AGTR1 GENE**

*O.M. Kovalova, V.I. Pokhylko, O.V. Korobka,  
O.O. Kalyuzhka, N.I. Gasyuk*

**Public higher educational institution «Ukrainian  
Medical Stomatological Academy»  
(Poltava, Ukraine)**

**Summary.** The results of research of polymorphism of AGTR1 genes in newborn babies with asphyxia (n = 70) are presented. Associations between the CC genotype of AGTR1 gene and the development of asphyxia and CC genotype and its severe form in full-term newborns haven't been revealed. The absence of significant differences in heart rate, systolic and mean blood pressures, hourly diuresis during the early neonatal period in newborn babies with functional and nonfunctional AGTR1 gene has been shown. However, significantly higher diastolic blood pressure during the first 24 hours of life in newborns with existing C-allele than in newborns with AA genotype ( $35,07 \pm 1,89$  mm Hg. Vs  $29,81 \pm 1,04$  mm Hg.,  $p = 0.013$ ) has been revealed. The initial dose of dopamine, which is needed for stabilizing haemodynamics in newborn babies and the duration of its use was almost identical in newborns with existing C-allele of AGTR1 gene and in babies, who don't have C-allele. Further researches on larger cohort of patients for determining the final contribution of mentioned gene in the development of asphyxia and its progress in newborns are needed.

**Keywords:** AGTR1, asphyxia, newborn babies, haemodynamics, dopamine.