

М.О.Гончарь, А.Д.Бойченко, І.Ю.Кондратова¹**РОЛЬ ВАРІАБЕЛЬНОСТІ ГЕНІВ-КАНДИДАТІВ eNOS, MnSOD2, ADRB1 У РОЗВИТКУ КАРДІОВАСКУЛЯРНОЇ ПАТОЛОГІЇ У НОВОНАРОДЖЕНИХ**

Харківський національний медичний університет,

¹Регіональний перинатальний центр, Харків. Україна

На сьогоднішній день активно проводиться пошук генів, особливо визначення однонуклеотидних поліморфізмів, відповідальних за розвиток тієї чи іншої хвороби, а також розшифровка їх взаємодії з розвитком хвороби [1]. Доведено, що генетичні чинники у поєднанні з факторами навколишнього середовища, стилем життя людини можуть приводити до зміни генної експресії та клінічної реалізації успадкованої або набутої патології [2, 3, 4, 5, 6]. Таким чином, генетичний аналіз проводиться з метою визначення ризику розвитку соціально значущих захворювань. До даної категорії слід віднести захворювання серцево-судинної системи, що можуть у майбутньому призвести до розвитку або прогресування міокардіальної дисфункції, серцевої недостатності. Серед генів-кандидатів, що визначають розвиток серцево-судинних захворювань, значуще місце займають поліморфізм генів ендотеліальної синтази оксида азота (eNOS), мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) та β 1-адренорецепторів (ADRB1). Доведено роль поліморфізму генів eNOS в регуляції судинного тонуусу, розвитку легеневої гіпертензії [7, 8], що є актуальним при вивченні тривалого функціонування відкритої артеріальної протоки, особливо у передчасно народжених дітей, легеневої гіпертензії на тлі персистуючого фетального кровообігу. Приділяється увага значенню поліморфізму генів SOD2 у розвитку легеневої гіпертензії та механізмі окислювального стресу [9], що є важливим для більш глибокого розуміння патогенезу розвитку міокардіальної дисфункції у новонароджених, які перенесли асфіксію. Генетичний поліморфізм ADRB1 можна розглядати як головний регулятор серцевого ритму, що впливає на частоту серцевих скорочень [10], а варіанти генотипів мають різноманітну функціональну активність аденілатциклази та чутливість до стимуляції адреналіном [11], що є одним із головних механізмів гемодинамічної адаптації у постнатальному житті, як для здорових новонароджених, так із груп перинатального ризику. Вивчення поліморфізму генів проводиться з метою інформування лікарів практичної охорони здоров'я про генетичні дослідження, що можуть використовуватись в клінічній практиці, адже вивчені гени – націлюватимуть на пошук ранніх проявів серцево-судинних розладів. Можливість визначення шляхів корекції визначеної кардіоваскулярної патології зумовлює необхідність та перспективність проведення подальших досліджень, починаючи з неонатального періоду.

Мета дослідження. Вивчити частоту зустрічальності генотипів поліморфізму генів-кандидатів ендотеліальна синтаза оксида азота (eNOS), мутації 1 мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) та поліморфізм генів β 1-адренорецепторів (ADRB1) у новонароджених з груп перинатального ризику у неонатальний період.

Матеріали і методи. До обстеження увійшло 186 новонароджених, з них: 102 здорових доношених новонароджених (I група – група контролю) з гестаційним віком 38-40 тижнів, середньою масою при народженні $3318,9 \pm 406,3$ г, зростом $50,1 \pm 1,6$ см, з оцінкою за шкалою Апгар на першій та п'ятій хвилині – 8-9 балів, у яких ранній неонатальний період проходив без ускладнень. Основні групи пацієнтів репрезентовані наступними категоріями: II група (n=25) – новонароджені після перенесеної асфіксії, III група (n=46) передчасно народжені діти, IV група (n=13) новонароджені з затримкою внутришньоутробного розвитку.

Матеріалом для молекулярно-генетичного аналізу були зразки дезоксирибонуклеїнової кислоти (геномної ДНК), виділеної з буккального зіскрібка. Для дослідження обрано точка мутації ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS) в позиції 786 (C>T) і мутації 1 мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) в позиції 58 (T>C), поліморфізм гену β 1-адренорецепторів (ADRB1) в позиції 49 (Ser> Gly). Визначення поліморфізму генів проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). При виділенні використовували набір фірми «Літех» (Росія): «Комплект реагентів для експрес-виділення ДНК з буккального зіскрібка» для виділення ДНК з клітин буккального епітелію. Матері обстежуваних пацієнтів були поінформовані про клінічне дослідження та дали згоду на його проведення.

Статистична обробка отриманих даних проводилася з використанням програми «Microsoft Excel 2010 for Windows». Для визначення частот алельних варіантів генів застосовувався закон Харді-Вайнберга. Порівняння досліджуваних груп за кількісними ознаками здійснювалося за допомогою критерію Манна-Уїтні. Різниця показників вважалася достовірною при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. Виявлено, що у здорових доношених новонароджених частота генотипу CC eNOS гена (C786T) виявилась у 6,8% (n=7) дітей, СТ генотипу – у 67,7% (n=68) ($p \leq 0,05$) дітей та ТТ генотипу – у 25,5% (n=26) обстежених. Частота виявлення генотипів відповідає даним, отриманим у дорослій популяції серед здорових осіб [12, 13, 14]. За даними літератури, існують значні расові та етнічні відмінності в розподілі поліморфізму eNOS [6, 15, 16]. Частота алельних варіантів С і Т гена NOS3 (C786T) становила 0,41 та 0,59 відповідно, що дотримувалося рівноваги Харді– Вайнберга.

При вивченні поліморфізму (T58C) гена мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) встановлено наявність наступних генотипів: ТТ – 55,9% (n=57) ($p \leq 0,05$), ТС – 32,4% (n=33), СС – 11,7% (n=12) відповідно. За даними Ming Xu та співавтор. (2017) [17] при

обстеженні 530 здорових осіб встановлено зустрічальність генотипів ТТ – 80,37%, ТС – 18,68% та СС – 0,94%, що декілька відрізняється від наших даних за частотою генотипів ТС та СС, але даний факт можна пояснити расовою приналежністю та кількістю пацієнтів, що увійшли до вибірки. Розподіл частоти алелів поліморфізму (Т58С) гена мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) становив Т – 0,72 ($p \leq 0,05$) та С – 0,28, що відповідало рівноваги Харді– Вайнберга.

Розподіл генотипів поліморфізму гена β 1-адренорецепторів (ADRB1) (Ser49Gly) представлено носіями генотипу AG (Ser49Gly) – 25,5% (n=26), AA (Ser49Ser) – 52,0% (n=53) ($p \leq 0,05$) і GG (Gly49Gly) – 22,5% (n=23) у обстежених осіб. Робіт про вивчення поліморфізму (Ser49Gly) гена β 1-адренорецепторів (ADRB1) у дитячій популяції ми не зустріли, тому орієнтувалися на дані, що є характерними для дорослого населення: генотип AG (Ser49Gly) – 30,7%, AA (Ser49Ser) – 67,3% та GG (Gly49Gly) – 2% ($p \leq 0,05$) [11]. Достовірних відзнак між генотипами в дорослій та дитячій популяції не отримано. Розподіл алелів відповідав рівновазі Харді-Вайнберга. Частота зустрічальності алелів складала 0,65 і 0,35 для алелів А і G відповідно.

Достовірних відмінностей в розподілі генотипів серед дітей з груп перинатального ризику при порівнянні з групою контролю виявлено не було (таблиця 1).

Таблиця 1

Розподіл генотипів досліджуваних поліморфних варіантів генів у основних групах і групі контролю

Ген	Поліморфізм	Розподіл генотипів (%)				
		Генотип	Група контролю I група (n=102)	Основні групи		
				II група (n=25)	III група (n=46)	IV група (n=13)
ендотеліальна синтаза оксида азота (eNOS)	C 786 T	CC	7 (6,8%)	3 (12%)	7 (15,2%)	1 (7,7%)
		CT	68 (67,7%)#	13 (52%)	26 (56,5%)	10 (76,9%)#
		TT	26 (25,5%)	9 (36%)	13 (28,3%)	2 (16,9%)
мутація 1 мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2)	T58C	TT	57 (55,9%)#	22 (88%)#	32 (69,6%)#	12 (92,3%)#
		TC	33 (32,4%)	1 (4%)	8 (17,4%)	1 (7,7%)
		CC	12 (11,7%)	2 (8%)	6 (13%)	-
β 1-адренорецепторів (ADRB1)	Ser49Gly	AA	53 (52,0%)#	16 (64%)#	16 (34,8%)	10 (76,9%)#
		AG	26 (25,5%)	2 (8%)	13 (28,3%)	-
		GG	23 (22,5%)	7 (28%)	17 (36,9%)	3 (23,1%)

- вірогідність відмінностей між внутрішньогруповими генотипами, ($p < 0,05$).

Викликає клінічний інтерес наявність вірогідних відзнак серед частоти зустрічальності гомозигот по першому алелю – генотип ТТ поліморфізму мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) T58C, генотип АА β1-адренорецепторів (ADRB1) Ser49Gly та гетерозигот ендотеліальна синтаза оксида азота (eNOS) C786T – генотип СТ. Отримані дані дозволяють припустити, що генотип СТ гена ендотеліальної синтази оксида азота (eNOS) C786T має патогенетичне значення у розвитку серцево-судинних розладів у новонароджених, що потребує подальшого клініко-інструментального співставлення. В той же час, генотип ТТ гена мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) T58C та генотип АА гена β1-адренорецепторів (ADRB1) Ser49Gly можна вважати генотипами «дикого типу», тобто такого, що є найбільш широко представленим в даній популяції [18]. Отже, генотип СС гена мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) T58C та генотип GG гена β1-адренорецепторів (ADRB1) Gly49Gly можна вважати одними з предикторів розвитку кардіоваскулярних подій у майбутньому.

За прогнозами провідних фахівців медицини, нова концепція медицини XXI століття – це системна П4-Медицина (P4-Medicine): Предиктивна (передбачувальна), Попереджувальна (профілактична), партисипаторна (participatory) – пацієнт учасник процесу, його інформують, навчають, йому допомагають у виборі, про нього піклуються і Персоналізована (індивідуальна). Системна медицина сприятиме забезпеченню фундаментального розуміння механізмів хвороби і нових підходів до діагностики та терапії. Таким чином, П4-медицина є активним напрямком, що фокусується на пацієнті, прагне до оптимізації стану здоров'я і збирає індивідуальні дані кожної людини [19]. Вивчення поліморфізму генів-кандидатів розвитку тих чи інших соціально значимих захворювань – це один із перспективних та сучасних напрямів клінічної генетики та практичної кардіології, що може сприятиме розвитку та удосконаленню профілактичних заходів з перших днів життя дитини, розробки лікувально-діагностичних заходів, спрямованих на мінімізацію виявлених ризиків.

Висновки.

1. Генотип СТ гена ендотеліальної синтази оксида азота (eNOS) C786T можна вважати одним із предикторів розвитку серцево-судинних розладів у новонароджених.
2. Частота розподілу генотипів гена ендотеліальна синтаза оксида азота (eNOS) C786T, мітохондріальна супероксиддисмутаза (MnSOD2) T58C та β1-адренорецепторів (ADRB1) Ser49Gly у новонароджених з груп перинатального ризику у неонатальний період не відрізняється від здорових новонароджених.
3. Отримані нами дані про поширеність поліморфізмів генів, асоційованих з розвитком кардіоваскулярних подій, необхідно враховувати при розробці комплексу індивідуальних профілактичних заходів.

Перспективи подальших наукових досліджень. Вважаємо доцільним провести клініко-інструментальні співставлення стану серцево-судинної системи новонароджених, починаючи з неонатального періоду та в катамнезі 6-12 місяців, з варіантами поліморфізму генів-кандидатів: ендотеліальна синтаза оксида азота, мітохондріальна супероксиддисмутаза, поліморфізм гену $\beta 1$ -адренорецепторів.

Конфлікт інтересів: відсутній.