

УДК 616-053.31-001.8:575

Коробка О.В.

АСОЦІАЦІЇ МІЖ ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНУ eNOS ТА ПЕРЕБІГОМ АСФІКСІЇ У НОВОНАРОДЖЕНИХ

Полтавська обласна дитяча клінічна лікарня,

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» м. Полтава

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.

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

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 інвалідизації 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.

Патолофізіологічні 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 глутамінової 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 асоціюватися 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

дження, 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 гіптензії (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 $1 \pm 20^\circ \text{C}$ (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 \pm стандартна похибка (M \pm d), або у відсотках. Перевірка гіпотез щодо рівності генеральних середніх проводилась з використанням t-критерія Стьюдента. 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 хвилини 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 зна-

чення 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±d)

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 ді-

тей, 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±d)	5,57±4,27	6,77±3,77	0,416
Тривалість застосування дофаміну, діб (M±d)	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 фібозом [9].

У нашому дослідженні на 6 добу життя достовірно вищий погодинний діурез було відмічено у дітей з 4b/b генотипом, ніж у дітей з 4a/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.

Література

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. Вречебное 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 генос NO-синтазы и рецептора ангиотензина II 1-го типа и эндотелиальный гемостаз у больных ишемической болезнью сердца / Д.А. Затейщиков, Л.О. Минущкина, 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. Ortiz P.A. Cardiovascular and renal control in NOS-deficient mouse models / P.A. Ortiz, J.L. Garvin // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. – 2003, Vol. 284. – P. 628–638.
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. Yildizdas, E. Alhan [et al.] // Turk J Pediatr. – 2008. – Vol. 50. – P. 114-119.

References

- Pohil'ko V.I. Problema perinatal'noi gipoksii (asfiksii). Diagnostika i likuvannya na suchasnomu etapi / V.I. Pohil'ko, O.M. Koval'ova // Svit medicini ta biologii. – 2006. – № 2. – S. 114-120.
- Pohil'ko V.I. Diagnostichne znachennya viznachennya aktivnosti sumarnih nitritiv ta nitrativ (NO₂ + NO₃) v sechi u nemovlyat, yakii perenesli perina-tal'nu asfiksiyu / V.I. Pohil'ko, N.R. Kasyanchuk // Svit medicini ta biologii. – 2007. – № 4. – S. 55-59.
- Znamens'ka T.K. Osoblivosti citoenergetichnogo metabolizmu v novonarodzhenih z gipoksichno- ishemičnoy encefalopatiyu vnaslidok asfiksii / T.K. Znamens'ka, V.I. Pohil'ko // Likars'ka sprava.Vrachebnoe delo. – 2007. – № 8. – S. 40-44.
- Koval'ova O.M. Osoblivosti mitochondrial'nogo energetichnogo obminu u novonarodzhenih, yakii perenesli perinatal'nu asfiksiyu / O.M. Koval'ova, V.I. Pohil'ko, N.R. Kasyanchuk // Nejiroprotektornij ta metabolitnij zahist. Mizhnarodnij nevrologichnij zhurnal. – 2009. – № 2 (24). – S. 27-35.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Tsutsui M. Significance of nitric oxide synthases: Lessons from triple nitric oxide synthases null mice / M. Tsutsui, A. Tanimoto, M. Ta-

mura // Journal of Pharmacological Sciences. – January 2015. – Vol. 127. – P. 42–52.

- 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.
- 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.
- 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.
- Zatejshchikov D.A. Polimorfizm genov NO-sintetazy i receptora angiotenzina II 1-go tipa i ehndotelial'nyj gemostaz u bol'nyh ishemičnoy boleznyu serdca / D.A. Zatejshchikov, L.O. Minushkina, O.YU. Kudryashova [i dr.] // Kardiologiya. – 2000. – № 11. – S. 28-32.
- 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.
- 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.
- Ortiz P.A. Cardiovascular and renal control in NOS-deficient mouse models / P.A. Ortiz, J.L. Garvin // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. – 2003, Vol. 284. – P. 628–638.
- 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.
- 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.
- 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.
- Landry D.W. The pathogenesis of vasodilatory shock / D.W. Landry, J.A. Oliver // N Engl J Med. – 2001. – Vol. 345. – P. 588-595.
- Celik U. Genetic dilemma: eNOS gene intron 4 a/b VNTR polymorphism in sepsis and its clinical features in Turkish children / U. Celik, D. Yildizdas, E. Alhan [et al.] // Turk J Pediatr. – 2008. – Vol. 50. – P. 114-119.

Реферат

АССОЦИАЦИИ МЕЖДУ ПОЛИМОРФИЗМОМ eNOS ГЕНА И ТЕЧЕНИЕМ АСФИКСИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ

Коробка О.В.

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

Известно влияние 4a/b полиморфизма мини-сателлитного 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-сателлитного 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 аллелей и такими клиническими признаками, как артериальная гипотензия, дыхательная недостаточность и мекониальная аспирация ($p > 0,05$) не выявлено. Было также определено отсутствие достоверной различия 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.

Summary

ASSOCIATION BETWEEN eNOS GENE POLYMORPHISMS AND COURSE OF ASPHYXIA IN NEWBORNS

Korobka O.V.

Key words: 4a / b polymorphism of mini-satellite repeat in an intron of eNOS gene, asphyxia, hypotension, respiratory distress, meconium aspiration.

It is known about the impact of 4a / b polymorphism of mini-satellite repeat in an intron of the eNOS gene upon the course of various diseases. We investigated how this polymorphism was associated with suscepti-

bility to asphyxia and such clinical signs such as hypotension, respiratory distress, meconium aspiration. 4a / 4b polymorphism of mini-satellite repeat in an intron of the eNOS gene was determined by polymerase chain reaction in 37 full-term newborns with asphyxia and 31 healthy full-term babies. There was no effect of the difference between the eNOS gene polymorphism in neonates with asphyxia and in the control group. No statistically significant correlation between the frequency of polymorphic alleles and clinical signs as hypotension, respiratory distress and meconium aspiration ($p > 0.05$) were found. No significant differences in heart rate, blood pressure, rate of diuresis in the first days of life in children with different genotypes of eNOS were found out as well. We revealed a significant difference in the rate of diuresis on the 6th day of life in children with different polymorphic variants of the gene. This is the first study that focuses on the impact of 4a / b gene eNOS polymorphism on the course of asphyxia. We could not prove the correlation between the influence of 4a / b polymorphism of eNOS and asphyxia, hypotension, respiratory failure. A large-scale research is required to study the gene in order to determine the relationship between 4a / b gene polymorphism of eNOS and asphyxia.

УДК 616.13-005.4-036.12-031.38-089.844

Корсак В.В., Русин В.В., Горленко Ф.В., Лангазо О.В., Машура В.В.

ОБГРУНТУВАННЯ НЕПРЯМИХ СПОСОБІВ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦІЇ НИЖНІХ КІНЦІВОК ПРИ ХРОНІЧНІЙ АРТЕРІАЛЬНІЙ ІШЕМІЇ

ДВНЗ «Ужгородський національний університет», м. Ужгород

Не дивлячись на значний прогрес у розвитку судинної хірургії, впровадження новітніх технологій, лікування хворих на ішемію нижніх кінцівок, обумовлену оклюзією у стегново-підколінному сегменті, залишається однією із актуальних і не вирішених проблем до сьогодні. Мета роботи: розробка та втілення в клінічну практику непрямих способів реваскуляризації при хронічній критичній ішемії нижніх кінцівок. У роботі вивчено та проаналізовано результати комплексного обстеження та хірургічного лікування 132 хворих, яких прооперовано з приводу критичної ішемії на фоні дистальних форм оклюзійно-стенотичних уражень при облітеруючому атеросклерозі судин нижніх кінцівок. За допомогою реваскуляризуючої остеотрепанатії вдалося зберегти кінцівку у кожного четвертого хворого – 25,4%, за допомогою поперекової симпатектомії у кожного п'ятого – 21,3%. До 5 року спостереження найкращі результати отримали в групах хворих, яким виконано шунтуючі операції в поєднанні з реваскуляризуючою остеотрепанатією та поперековою симпатектомією, відповідно 51,7% та 49,3%. Реваскуляризуюча остеотрепанатія великогомілкової кістки та стопи у поєднанні з реваскуляризуючими шунтуючими операціями дають 54,7% збереження кінцівки у віддаленому періоді спостереження.

Ключові слова: хронічна артеріальна ішемія нижніх кінцівок, непрямі способи реваскуляризації.

Зв'язок публікації з плановими науковими програмами. Робота виконується у рамках комплексної держбюджетної теми медичного факультету Ужгородського національного університету „Діагностика, лікування та профілактика тромбозів та тромбемболій” ДБ-671П №ДР-0108U001892.

Вступ

Не дивлячись на значний прогрес у розвитку судинної хірургії, впровадження новітніх технологій, лікування хворих на ішемію нижніх кінцівок, обумовлену оклюзією у стегново-підколінному сегменті, залишається однією із актуальних і не вирішених проблем до сьогодні [9].

Методи лікування критичної ішемії нижніх кінцівок постійно удосконалюються і за останні 30 років ангіохірурги віддають перевагу принципу максимальної реваскуляризації кінцівки, у тому числі й із застосуванням мікрохірургічної техніки та ендоваскулярних втручань. Проте реконструктивно-відновна операція, спрямована на відновлення магістрального кровотоку, можлива лише у 17-25% хворих. У решти хворих дифузне ураження артеріального русла дистальніше пупартової зв'язки унеможлиблює виконання реко-

нструктивно-шунтуючої операції. У таких випадках можлива непряма реваскуляризація артеріального русла нижніх кінцівок.

Арсенал непрямих способів реваскуляризації включає створення аутогемоекстравазатів, остеотрепанатії, відщеплення великогомілкової кістки, пересадку великого чепця на гомілку [4], пересадку кісткового мозку та стовбурових клітин [8]. Кожен із перерахованих методів використовується в різних клініках, як поодинокі несистемні випадки в лікуванні ішемії нижніх кінцівок, доповнюючи реконструктивно-відновні операції. При цьому, використання того або іншого способу базується в основному на тих переконаннях клініки, які успадковані від початку розвитку судинної хірургії.

Сама ідея непрямих способів реваскуляризації, в залежності від використаних методик, до