

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.23/.24-007.17-053.32:577.21.088

Межинский С.С.¹, Шилова Н.А.¹, Чаша Т.В.¹, Фетисова И.Н.^{2,1}, Харламова Н.В.¹, Ратникова С.Ю.¹, Фетисов Н.С.^{1,2}

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ СИСТЕМЫ ДЕТОКСИКАЦИИ У ГЛУБОКОНЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С БРОНХОЛЁГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ

¹ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава РФ, 153045, Иваново;

²ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, 153045, Иваново

Статья посвящена сравнительному анализу полиморфизма генов системы детоксикации и риску формирования бронхолегочной дисплазии (БЛД) у недоношенных новорожденных с массой тела при рождении менее 1500 г и сроком гестации менее 32 нед, что формирует бронхолегочную дисплазию (БЛД). В нашем исследовании было 50 детей с БЛД и 47 детей без признаков БЛД. Установлена положительная ассоциация между присутствием в геноме делеционных вариантов генов системы детоксикации - семейства глутатион-S-трансфераз M1 и T1 и риском формирования БЛД у недоношенных новорожденных.

Ключевые слова: бронхолегочная дисплазия; генетический полиморфизм; недоношенные новорожденные.

Для цитирования: Межинский С.С., Шилова Н.А., Чаша Т.В., Фетисова И.Н., Харламова Н.В., Ратникова С.Ю., Фетисов Н.С. Полиморфизм генов системы детоксикации у глубоконедоношенных новорожденных с бронхолегочной дисплазией. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (10): 658-660. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-10-658-660>.

Mezhinskij S.S.¹, Shilova N.A.¹, Chasha T.V.¹, Fetisova I.N.^{1,2}, Kharlamova N.V.¹, Ratnikova S.Yu.¹, Fetisov N.S.^{1,2}

THE POLYMORPHISM OF DETOXIFICATION SYSTEM GENES IN VERY PRETERM INFANTS WITH BRONCHOPULMONARY DYSPLASIA

¹Federal state budget institution "Ivanovo research Institute of maternity and childhood named after V. N. Gorodkov" of the Ministry of health of the Russian Federation. Russia, 153000, Ivanovo ;

²FGBOU VO "Ivanovo State Medical Academy" Ministry of Health of Russia, 153045, Ivanovo

This article is devoted to the comparative analysis of polymorphism of genes of the detoxification system in premature newborns with birth weight less than 1500 g and gestational age less than 32 weeks, formed bronchopulmonary dysplasia (BPD) (n=50), and without signs of BPD (n=47). A positive association between the presence in the genotype of deletion variants of glutathione-S-transferases (GSTT1 and GSTM1) and risk of developing BPD in preterm infants.

Key words: bronchopulmonary dysplasia; gene polymorphism; premature infants.

For citation: Mezhinskij S.S., Shilova N.A., Chasha T.V., Fetisova I.N., Kharlamova N.V., Ratnikova S.Yu., Fetisov N.S. The polymorphism of detoxification genes system genes in very preterm infants. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2018; 63 (10): 658-660. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-10-658-660>.

For correspondence: Mezhinskij S.S., anesthesiologist-resuscitator of neonatal intensive care; e-mail: semen.mezhinsky@yandex.ru

Information about authors:

Mezhinskij S.S., <https://orcid.org/0000-0003-4205-5547>

Chasha T.V., <http://orcid.org/0000-0002-3074-2094>

Kharlamova N. V., <http://orcid.org/0000-0003-2867-1693>

Ratnikova S. Y., <http://orcid.org/0000-0002-2398-7835>

Shilova N.A., <http://orcid.org/0000-0001-9623-2575>

Fetisova I. N., <http://orcid.org/0000-0002-5769-1645>

Fetisov N.S., <http://orcid.org/0000-0002-6455-477X>

Conflict of interests. The author declare the absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 16.09.2018
Accepted 28.10.2018

Введение. Бронхолегочная дисплазия (БЛД) (код в МКБ-Х Р27.0) является полиэтиологическим хроническим заболеванием морфологически незрелых лёгких, которое развивается у новорожденных, главным образом глубоконедоношенных детей в результате интенсивной терапии респираторного дистресс-синдрома (РДС) и/или пневмонии. Протекает с преимущественным поражением бронхиол и паренхимы лёгких, развитием эмфиземы, фиброза и/или нарушением репликации альвеол; проявляется зависимостью от кислоро-

да в возрасте 28 сут. жизни и старше, бронхообструктивным синдромом и симптомами дыхательной недостаточности; характеризуется специфическими рентгенографическими изменениями в первые месяцы жизни и регрессом клинических проявлений по мере роста ребёнка [1].

БЛД является типичным мультифакториальным заболеванием, развитие которого определено сложным взаимодействием множества генов и факторов внешней среды. В литературе широко обсуждают причастность полиморфизма генов системы детоксикации к повышенному риску развития разных заболеваний [2–5], в том числе бронхолегочной системы (хронический обструктивный бронхит, бронхоэктатическая болезнь, эмфизема лёгких, муковисцидоз). В организме человека процесс детоксикации включает две последователь-

Для корреспонденции: Межинский Семён Сергеевич, врач анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных; e-mail: semen.mezhinsky@yandex.ru

ные фазы, 2-я из которых с помощью ферментов семейства глутатионтрансфераз (GST), превращает метаболиты ксенобиотиков в водорастворимые нетоксичные продукты и выводит их из организма. Глутатион-опосредованная детоксикация играет ключевую роль в обеспечении резистентности клеток к перекисному окислению липидов, свободным радикалам, алкилированию белков и предотвращению поломок ДНК. GST присутствуют в самых разных тканях, отмечаются выраженные межтканевые различия в отношении их разных классов. Особенно высока их концентрация в печени, плаценте, лёгких, мозге, кишечнике, почках [6]. Экспрессия GST начинается в эмбриональном периоде развития [7]. Наличие функционально неполноценных аллелей генов системы детоксикации (GST) приводит к повышенной чувствительности человека к действию повреждающих факторов и развитию разных заболеваний. Таким образом, определение особенностей полиморфизма генов системы детоксикации у недоношенных новорождённых представляет научно-практический интерес и способствует индивидуальному подходу к выбору тактики терапии дыхательных нарушений.

Цель исследования – определить особенности полиморфизма генов системы детоксикации (GSTT1 и GSTM1) у глубоконедоношенных новорожденных, сформировавших в исходе респираторной патологии БЛД.

Материал и методы. Проведено проспективное и ретроспективное комплексное клинико-лабораторное и инструментальное обследование 97 недоношенных новорождённых, у которых масса тела при рождении была менее 1500г. Все пациенты находились на лечении в ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России. Из обследованных детей 55 младенцев были с экстремально низкой массой тела при рождении (менее 1000 г), 42 - с очень низкой массой тела при рождении (менее 1500 г). Основную группу (группу наблюдения) составили дети с БЛД ($n = 50$) – 1-я группа. Группа сравнения была сформирована из недоношенных младенцев аналогичного гестационного возраста и массы тела при рождении, но без формирования БЛД ($n = 47$) – 2-я группа. Критерии включения: новорождённые дети со сроком гестации менее 32 нед, массой тела при рождении менее 1500 г, требующие проведения респираторной терапии. Критерии исключения: гестационный возраст более 32 нед, масса тела при рождении более 1500 г, отсутствие потребности в проведении респираторной терапии, врождённые пороки развития.

Молекулярно-генетическое исследование проведено на базе лаборатории клинической биохимии и генетики ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава России. Выделение ДНК из лейкоцитов венозной крови выполняли с помощью набора реактивов DLAAtom DNA Prep100. Амплификацию всех исследуемых фрагментов ДНК проводили методом ПЦР на программируемом термоциклере MC2 фирмы «ДНК-технология» (Россия) в реакционной смеси объёмом 25 мкл. Для оценки результатов амплификации генов *GSTM1*, *GSTT1* использовали полимерный гель.

Статистическую обработку результатов провели с помощью пакета программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США) и OpenEpi 2.3 (Dean A., Sullivan K., Soe M., США). Анализ количественных показателей провели с учётом ненормального распределения признака: определялись медиана (Me) и интерквартильные размеры – UQ-LQ [25 – 75% процентиля]. Использовали непараметрические методы (критерии Манна-Уитни). Для оценки влияния отдельных факторов на риски развития заболевания провели расчёт отношения шансов (OR), скорректированного методом условной оценки максимального подобия, с 95% доверительным интервалом. Стати-

стическую достоверность определяли на основании двустороннего критерия Фишера.

Результаты. Анализ анамнеза матерей показал, что у большинства глубоконедоношенных новорожденных обеих групп матери имели отягощенный соматический, акушерско-гинекологический анамнез и отнесены нами к группе высокого риска по осложнённой течению беременности, развитию преждевременных родов и формированию перинатальной патологии плода. Все роды были преждевременными, до 32 нед гестации; третья часть родов осложнилась преждевременным разрывом плодных оболочек и длительным безводным промежутком. Большинство детей были рождены путём операции кесарева сечения. Различий по частоте экстрагенитальной, гинекологической патологии, осложнений беременности и родов в изучаемых группах не было. В группе детей с БЛД большинство женщин были старше 30 лет, а в группе выздоровевших пациентов возраст матерей значимо чаще был менее 30 лет ($p = 0,013$). Антенатальная профилактика РДС кортикостероидами в полном объёме была проведена у большинства матерей новорождённых обеих групп. Неполный курс антенатальной профилактики или её отсутствие зарегистрированы у 32% матерей новорождённых 1-й группы и 46% – 2-й ($p > 0,05$).

Оценка состояния детей при рождении показала, что все дети родились в тяжёлом состоянии, которое было обусловлено дыхательной недостаточностью, неврологической симптоматикой, степени перенесённой гипоксии и выраженной «незрелостью». Гестационный возраст (Me) у детей 1-й группы составил 28 [27–29] нед, а у детей 2-й группы – 30 [28–31] нед ($p = 0,0000$). Масса тела при рождении (Me) у детей 1-й группы составила 959,5 [830,0 – 1100,0] г, у детей 2-й группы – 1278 [984,0 – 1400,0] г ($p = 0,0000$). По половому признаку достоверных различий между группами не было.

Все новорождённые, включённые в исследование, имели дыхательные нарушения, представленные изолированным РДС (56,7%) и врождённой пневмонией (43,3%). Диагноз устанавливали на основании клинической картины, данных рентгенологического исследования органов грудной клетки и лабораторных данных соответственно клиническим рекомендациям [8]. В настоящем исследовании проведён анализ разных способов респираторной поддержки, их комбинаций и терапии кислородом, а также средней длительности респираторной терапии, осуществляемой в отделении реанимации и интенсивной терапии новорождённых. Установлено, что более чем в половине случаев у новорождённых с БЛД применяли комбинацию традиционной эндотрахеальной ИВЛ с управляемым давлением с другими видами респираторной поддержки, в то время как у пациентов без признаков БЛД эндотрахеальная вентиляция применялась достоверно реже (56,0 и 25,5%, $p = 0,0021$). Средняя длительность респираторной поддержки в 1-й группе оказалась выше более чем в 4 раза и составила 210,0 [118,0–398,0] ч, а во 2-й группе – 53,0 [34,0–142,0] ч ($p = 0,0000$).

Диагноз бронхолёгочной дисплазии, её формы и характер течения установлены согласно новой отечественной рабочей классификации клинических форм бронхолёгочных заболеваний у детей [9]. В качестве диагностических критериев использованы клинические и рентгенологические признаки. Основными клиническими критериями БЛД явились: а) потребность в эндотрахеальной вентиляции и/или неинвазивной респираторной поддержке (постоянное и переменное положительное давление в дыхательных путях) на первой неделе жизни; б) зависимость от кислорода в возрасте 28 дней и старше для поддержания уровня $SpO_2 > 90\%$; в) синдром дыхательной недостаточности и г) бронхообструктивный синдром в возрасте 28 дней и старше. Рентгенологические критерии БЛД включали признаки интерстициального отё-

ка, чередующиеся с участками повышенной прозрачности лёгочной ткани, лентообразные уплотнения и фиброзные изменения. Среди пациентов с БЛД у 15 новорождённых сформировалась классическая форма заболевания, а у 35 – новая форма, у 18 пациентов диагностировано тяжёлое, а у 32 – среднетяжелое течение БЛД.

Анализ частот низкофункциональных аллелей в генах *GSTM1* и *GSTT1*, проведённый в изучаемых группах, позволяет говорить о возможной причастности вышеуказанных полиморфизмов к риску формирования хронической патологии респираторной системы у новорождённых. У детей с БЛД «нулевой» вариант гена *GSTM1* по сравнению с пациентами без БЛД отмечен чаще с высокой степенью достоверности (42,0 и 21,3 % соответственно, $p = 0,032$, $OR = 2,603$ (1,105–6,134)). Кроме того, анализ частоты встречаемости «нулевого» варианта гена *GSTT1* показал, что у детей 1-й группы встречаемость делеции в гене *GSTT1* по сравнению с детьми 2-й группы также достоверно выше и составляет 34,0 и 12,8% соответственно ($p = 0,017$, $OR = 3,335$ (1,276–8,717)). Учитывая, что одновременное наличие неблагоприятных полиморфных вариантов в нескольких генах, возможно, суммирует их негативное действие, мы оценили сочетанное распределение аллелей с низкой функцией в двух генах семейства глутатион-S-трансфераз. Гомозиготный генотип *GSTM1* 0/0; *GSTT1* 0/0 в 1-й группе выявили у 14,0 % детей, в то время как у новорождённых без признаков БЛД данный генотип зафиксирован не был ($p = 0,013$, $OR = 16,379$ (2,092–128,239)).

Обсуждение. В литературе есть единичные упоминания о причастности нулевых генотипов генов *GSTM1* и *GSTT1* к развитию БЛД. Так, X. Wang et al. (2014) указывают, что делеционный вариант гена *GSTM1*, а также сочетанное присутствие в генотипе *GSTM1* 0/0 и *GSTT1* 0/0 у новорождённых в китайской популяции увеличивает риск трансформации дыхательных нарушений, характерных для неонатального периода в БЛД [10], что согласуется с полученными нами данными у глубоко недоношенных новорождённых в ЦФО РФ. Кроме того, при исследовании других классов GST, M. Manar et al. (2004) доказали причастность *GSTP1* к формированию хронического повреждения бронхолёгочной системы у недоношенных новорождённых [11]. Исследований генов системы детоксикации в европейской популяции у глубоко недоношенных новорождённых с хронической патологией бронхолёгочной системы, в частности у представителей русской нации, найдено не было.

Низкая функциональная активность ферментов системы детоксикации обусловлена присутствием в генотипе новорожденного делеционных аллелей соответствующих локусов и, как следствие, неспособностью организма адекватно обезвреживать токсические вещества. Способствует этому морфологическая и функциональная «незрелость» легких, дефицит сурфактанта, дисбаланс в системе протеолиз-антипротеолиз, наличие оксидативного стресса и зачастую инфекционно-воспалительного процесса. Всё это может способствовать повреждению лёгочной ткани у глубоко недоношенных новорождённых и формированию БЛД. Суммируя полученные данные, можно говорить о возможном участии генов системы детоксикации в формировании неблагоприятного генетического фона, предрасполагающего к развитию БЛД у глубоко недоношенных новорождённых.

Выводы. 1. Особенности полиморфизма генов системы детоксикации у глубоко недоношенных новорождённых с бронхолёгочной дисплазией являются наличие в генотипе низкофункциональных вариантов генов *GSTM1* и *GSTT1* и сочетанное присутствие *GSTM1* 0/0 и *GSTT1* 0/0. 2. Исследование полиморфизма генов системы детоксикации у глубоко недоношенных новорождённых с дыхательными нару-

шениями будет способствовать индивидуальному подходу к выбору тактики терапии данной патологии.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 10-11 см. REFERENCES)

1. Беляшова М.А., Овсянников Д.Ю., Огородова Л.М. Молекулярно-генетические механизмы развития бронхолегочной дисплазии. *Неонатология: новости, мнения, обучения*. 2015; 3: 50-9.
2. *Генетический паспорт - основа индивидуальной и предиктивной медицины*. СПб: Издательство Н-Л; 2009.
3. *Наследственные факторы при различных формах нарушения репродуктивной функции супружеской пары*. Иваново: ОАО «Издательство Иваново»; 2009.
4. Фетисова И.Н., Межинский С.С., Ратникова С.Ю., Фетисов Н.С., Чаша Т.В., Шилова Н.А. Полиморфизм генов системы детоксикации. *Вестник Ивановской медицинской академии*. 2014; 19(4): 50-8.
5. Коротина Г.Ф., Ямбаева Д.Г., Викторова Т.В. Полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз M1 и P1 у больных с муковисцидозом и хроническими заболеваниями дыхательной системы. *Генетика*. 2004; 40(3): 401-8.
6. Лябыгина А.В., Ступко Е.Е., Вяткина И.С., Сутурина Л.В., Колесникова Л.И. Особенности метаболизма и полиморфизм генов второй фазы детоксикации ксенобиотиков у женщин с бесплодием. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2013; 7(14): 70-4.
7. Полтанова А.А., Агаркова Л.А., Бухарина И.Ю. Функциональные различия генетически детерминированных вариантов системы детоксикации ксенобиотиков в формировании осложнений гестационного процесса. *Современные проблемы науки и образования*. 2013; 6: 9.
8. *Ведение новорожденных с респираторным дистресс-синдромом. Клинические рекомендации*. Володин Н.Н., ред. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.raspm.ru/files/0236-rds-br2.pdf> 26.05.2016.
9. Современная классификация клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей. Российское респираторное общество. Чучалин А.Г., ред. *Педиатрия*. 2010; 89(4): 6-15.

REFERENCES

1. Belyashova M.A., Ovsyannikov D.Yu., Ogorodova L.M. Molecular genetic mechanisms of bronchopulmonary dysplasia development. *Neonatology: news, opinions, education*. 2015; 3: 50-9. (in Russian)
2. *Genetic passport - the basis of individual and predictive medicine*. St.Peterburg: Izdatel'stvo N-L; 2009. (in Russian)
3. *Hereditary factors in various forms of reproductive dysfunction of the couple*. Ivanovo: OAO Izdatel'stvo Ivanovo; 2009. (in Russian)
4. Fetisova I.N., Mezinskij S.S., Ratnikova S.YU., Fetisov N.S., Chasha T.V., Shilova N.A. The gene polymorphism of detoxification system. *Vestnik Ivanovskoy meditsinskoy akademii*. 2014; 19(4): 50-8. (in Russian)
5. Korytina G.F., Yanbaeva D.G., Viktorova T.V. Glutathione-S-transferase M1 and P1 gene polymorphism in patients with cystic fibrosis and chronic respiratory diseases. *Genetika*. 2004; 40(3): 401-8. (in Russian)
6. Labygina A.V., Stupko E.E., Vyatkina I.S., Suturina L.V., Kolesnikova L.I. Features of metabolism and polymorphism of genes of the second phase of xenobiotic detoxification in women with infertility. *Mezhdunarodnyi nauchno-issledovatel'skiy zhurnal*. 2013; 7(14): 70-4. (in Russian)
7. Poltanova A.A., Agarkova L.A., Buharina I.Yu. Functional differences of genetically determined variants of xenobiotic detoxification system in the formation of complications of gestational process. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2013; 6: 9. (in Russian)
8. *Management of newborns with respiratory distress syndrome. Clinical guidelines*. Volodin N.N., ed. Available at: <http://www.raspm.ru/files/0236-rds-br2.pdf> 26.05.2016. (in Russian)
9. Modern classification of clinical forms of bronchopulmonary diseases in children. The Russian respiratory society [Sovremennaya klassifikatsiya klinicheskikh form bronkholegochnykh zabolevaniy u detey]. Chuchalin A.G., ed. *Pediatriya*. 2010; 89(4): 6-15. (in Russian)
10. Wang X., Li W., Liu W., Cai B., Cheng T., Gao C. et al. *GSTM1* and *GSTT1* gene polymorphisms as major risk factors for bronchopulmonary dysplasia in a Chinese Han population. *Gene*. 2014; 533(1): 48-51.
11. Manar M.H., Brown M.R., Gauthier T.W., Brown L.A. Association of glutathione-S-transferase-P1 (GST-P1) polymorphisms with bronchopulmonary dysplasia. *J. Perinatol.* 2004; 24 (12): 800.

Поступила 16.09.18

Принята к печати 28.10.18