

*Korobka O.V., Hasjuk N.I., Fastovets M.N.,  
Rossocha Z.I., Kovalova O.M.*

## ***Association between the I/D polymorphism of the ACE gene and the development of asphyxia in newborns***

**Abstract:** This article studies the influence of ACE gene I/D polymorphism on the asphyxia development in the term infants. It is shown that children with II genotype of ACE gene are less odds ratio to develop birth asphyxia, and her severe. Heart rate, blood pressure, urine output hourly, as well as the rate of dopamine use in children with different genotypes of ACE gene is not different.

**Keywords:** newborn, asphyxia, ACE gene, I/D polymorphism, hemodynamics, dopamine.

*Коробка О.В., Гасюк Н.И., Фастовец М.Н.,  
Россоха З.И., Ковалева Е.М.*

## ***Ассоциации между I/D полиморфизмом ACE гена и развитием асфиксии у новорожденных***

**Аннотация:** Статья посвящена изучению влияния I/D полиморфизма ACE гена на развитие асфиксии у доношенных новорожденных. Показано, что дети с II генотипом ACE гена имеют меньше шансов в развитии асфиксии и ее тяжелого течения. Частота сердечных сокращений, артериальное давление, почасовой диурез, а также частота применения дофамину у детей с разными генотипами ACE гена не отличались.

**Ключевые слова:** новорожденные, асфиксия, ген ACE, I/D полиморфизм, гемодинамика, дофамин.

**Введение.** Асфиксия при рождении является основной причиной неонатальной смертности, особенно в развивающихся странах. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, вместе с преждевременным рожде-

нием и сепсисом асфиксия занимает 2 место среди причин смертности детей [1]. Патологические изменения, которые происходят у новорожденных при указанной патологии, достаточно хорошо изучены. На сегодня известны молекулярные, клеточные, тканевые и органые нарушения, которые лежат в основе развития полиорганной недостаточностью при асфиксии [2]. Но вклад генетической детерминанты индивидуума в развитие асфиксии остается до конца не выясненным. В последнее время значительное количество исследований посвящено поиску наследственных факторов, которые способствуют развитию того или иного заболевания или обуславливают его более тяжелое течение. Среди генов-кандидатов именно ген *ACE* является биологически и клинически значимым в формировании фенотипических особенностей течения заболеваний сердечно-сосудистой [3], мочевыделительной систем [4] и хронических обструктивных легочных болезней [5] у детей.

Ангиотензин-превращающий фермент (angiotensin-converting enzyme ACE) является цинк-металлопептидазой, основными функциями которого есть превращение ангиотензина I в вазоактивный и альдостерон-стимулирующий пептид ангиотензин II, а также деградация вазодилатирующих кининов. Циркулирующий ACE находится в биологических жидкостях и берет начало из эндотелиальных клеток. Ангиотензин I-превращающий фермент также является важным компонентом местной ренин-ангиотензиновой системы, был обнаружен в различных тканях, в том числе легких и скелетных мышцах [6,7]. Полиморфизм гена *ACE* включает наличие (инсерция, I) или отсутствие (делеция, D) фрагмента в 287 (bp) [8]. Делеция ассоциируется с повышенной активностью АПФ как в тканях [9], так и в системе циркуляции крови [10].

Учитывая выше наведенное, мы предположили, что генетический полиморфизм этого ключевого гена может ассоциироваться с развитием органных дисфункций у доношенных детей с асфиксией вследствие нарушения системной и периферической гемодинамики.

**Цель исследования.** Проанализировать ассоциации между I/D полиморфизмом *ACE* гена и развитием асфиксии у доношенных новорожденных.

**Материалы и методы.** В исследование включены доношенные новорожденные (n=108) с гестационным возрастом от 37 недель, массой при рождении от 2500 г, которые лечились в неонатальных отделениях интенсивной терапии лечебных учреждений Полтавской области в течение 2011-2013 гг. с

диагнозом асфиксия (согласно МКБ-10). Критериями исключения из исследования стали: наличие врожденных пороков развития у новорожденных, подозрение на внутриутробное инфицирование, гестационный возраст менее 37 недель, масса при рождении меньше 2500 г. Все дети были разделены на группы в зависимости от вида генотипа *ACE* гена. В группу контроля вошли здоровые новорожденные дети ( $n=38$ ), которые не имели признаков гипоксии плода, асфиксии при рождении и клинических симптомов гипоксического поражения. Состояние гемодинамики изучали за следующими показателями: частотой сердечных сокращений (ЧСС), средними значениями артериального давления (АД) систолического АД, диастолического АД, среднего АД, почасового диуреза, частотой применения дофамина, максимальной его дозой, необходимой для стабилизации гемодинамики, и длительностью применения препарата. Родители всех младенцев дали информированное согласие на генетическое обследование своих детей.

Материалом для проведения генетического исследования служила периферическая кровь новорожденных. Полиморфизм *ACE* гена изучался молекулярно-генетическими методами.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета прикладных программ EXCEL-2003® и STATA версии 11 для Windows (StataCorp, Техас, США). При нормальном распределении данных использовали: среднее значение ( $M$ ); стандартную ошибку среднего значения ( $m$ ), доверительный интервал (ДИ) – для определения 95% интервала средней, а при ненормальном распределении, соответственно - медиану и квартили ( $Me [Q1-Q3]$ ). Сравнение количественных показателей с нормальным распределением происходило с помощью двустороннего критерия Стьюдента, сравнение количественных показателей с ненормальным распределением при несвязанных выборках - с помощью критерия Манна-Уитни (критерий  $U$ ) сравнение относительных величин – с помощью критерия  $\chi^2$  (хи-квадрат) Пирсона и Фишера при малых выборках. Значение  $p < 0,05$  считали статистически значимыми.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Исследование показало, что масса тела при рождении, соотношение количества девочек и мальчиков в группе детей с нефункциональными генотипами *ACE* гена не отличались от аналогичных показателей у детей с функциональными генотипами указанных

генов. Оценка по шкале Апгар на 1 минуте была достоверно ниже у детей с генотипом D/D, чем у детей с генотипом I/D. Отсутствие достоверной разницы в величине указанного показателя между детьми с I/I генотипом и I/D генотипом мы объясняем малой выборкой детей с I/I генотипом (табл. 1).

Таблица 1

**Оценка по шкале Апгар обследованных детей с асфиксией, стратифицированных в соответствии с генотипами ACE гена, M±m**

Базовые характеристики	Генотипы			$P_{1-2}$ $P_{1-3}$ $P_{2-3}$
	I/I <sup>1</sup> (n=17)	I/D <sup>2</sup> (n=62)	D/D <sup>3</sup> (n=22)	
Оценка по шкале Апгар на 1 мин. в балах	4,3±1,57	4,4±1,56	3,7/1,75	0,745 0,225 0,055
Оценка по шкале Апгар на 5 мин. в балах	5,9±1,27	5,8±1,67	5,4±1,67	0,797 0,275 0,283

Также нами были проанализированы частота осложнений во время беременности и родов у матерей детей обследованных групп. Нами не выявлено достоверных различий в частоте развития угрозы прерывания, кольпита, многоводия или маловодия, а также проведения операции кесарева сечения у матерей, чьи дети имели разные варианты ACE гена.

Результаты исследования показали наличие полиморфного I/D варианта ACE гена в 44,7% здоровых детей и у 57,41% младенцев с асфиксией, а D/D вариант гена ACE - соответственно в 15,8% и в 25,0% детей (табл. 2). При этом соотношение шансов иметь асфиксию у пациентов с генотипом I/I составило 0,28 (95% ДИ 0,11-0,72),  $p=0,005$ .

Таблица 2

**Частота вариантов ACE гена среди здоровых новорожденных и младенцев с асфиксией**

Тип генотипа	Здоровые дети (n=38), % (n)	Дети с асфиксией (n=108), % (n)	СШ (95%ДИ)	P
I/I ACE	39,5 (15)	15,74 (17)	0,28 (0,11-0,72)	0,005
I/D ACE	44,7 (17)	57,41 (62)	1,34 (0,59-3,02)	0,453
D/D ACE	15,8 (6)	25,0 (27)	1,78 (0,63-5,75)	0,270

Как представлено в табл. 3, соотношение шансов иметь тяжелую асфиксию у ребенка с генотипом I/I ACE гена составляет 0,34,  $p=0,037$ , а у детей с D/D генотипом – 2,77,  $p=0,055$ . Таким образом, I/I генотип ACE гена достоверно уменьшает шансы ребенка иметь асфиксию, а также ее тяжелое течение, а D/D генотип увеличивает шансы ребенка иметь тяжелую асфиксию.

Таблица 3

**Частота функциональных и полиморфных вариантов ACE гена среди здоровых новорожденных и младенцев с тяжелой асфиксией**

Тип генотипа	Здоровые дети (n=38), % (n)	Дети с тяжелой асфиксией (n=38), % (n)	ОШ (95%ДИ)	<i>p</i>
I/I ACE	39,5 (15)	41,2 (7)	0,34 (0,103-1,09)	0,037
I/D ACE	44,7 (17)	29,03 (18)	1,11 (0,41-3,02)	0,500
D/D ACE	15,8 (6)	48,15 (13)	2,77 (0,83-10,09)	0,055

Анализ гемодинамики в первые сутки жизни у новорожденных с асфиксией, стратифицированных в соответствии с генотипами ACE гена, выявил отсутствие достоверных различий в таких показателях, как ЧСС, АД (систолическое, диастолическое и среднее) и почасовой диурез (табл. 4).

Таблица 4

**Состояние гемодинамики в первые сутки жизни у новорожденных с асфиксией, стратифицированных в соответствии с генотипами ACE гена**

Показатели	Генотипы			<i>P</i> <sub>1-2</sub> <i>P</i> <sub>1-3</sub> <i>P</i> <sub>2-3</sub>
	I/I <sup>1</sup> (n=17)	I/D <sup>2</sup> (n=62)	D/D <sup>3</sup> (n=27)	
ЧСС, уд. в мин., (M±m)	140,9±13,29	140,6±13,94	135,9±12,33	0,919 0,218 0,123
АД систолическое, мм рт. ст., (M±m)	61,7±10,06	59,61±9,92	60,11±9,97	0,452 0,610 0,829

АД диастолическое, мм рт. ст., (M±m)	33,06±7,0	31,02±8,0	30,8±7,15	0,310 0,319 0,924
АД среднее, мм рт. ст., (M±m)	43,29±9,41	40,53±8,96	42,48±7,94	0,288 0,769 0,311
Почасовой диурез, мл/кг/час, (M±m)	1,33±1,0	1,58±1,05	1,24±0,91	0,378 0,770 0,138
Эпизоды артериальной гипотензии, n (%)	6 (35,29)	25 (40,32)	12 (44,44)	0,707 0,548 0,717

О состоянии гемодинамики у новорожденного с асфиксией свидетельствует и применение медикаментов для поддержания гемодинамики. Как представлено на табл. 5, дофамин применялся почти у половины пациентов с асфиксией.

Таблица 5

**Характеристика медикаментозной поддержки гемодинамики у  
новорожденных с асфиксией, стратифицированных в соответствии с  
генотипами ACE гена**

Показатели	Генотипы			$P_{1-2}$ $P_{1-3}$ $P_{2-3}$
	$I/I^1$ (n=17)	$I/D^2$ (n=62)	$D/D^3$ (n=27)	
Частота применения дофамина, % / (n)	29,41 (5)	41,94 (26)	44,44 (12)	0,349 0,319 0,826
Максимальная доза дофамина, мкг/кг/мин., (M±m)	5,5±1,12	5,97±3,41	4,63±2,33	0,593 0,332 0,195
Длительность применения дофамина, суток (M±m)	3,2±1,92	2,8±1,38	2,7±1,42	1,710 0,651 0,846

При этом нами не получено достоверных различий в частоте применения этого препарата между группами младенцев с функциональными или нефункциональными генотипами *ACE* гена. Также нами не получено достоверных различий между указанными группами в максимальной дозе и длительности применения дофамина. Несмотря на отсутствие статистической значимости в этих значениях, мы считаем, что необходимы дальнейшие исследования на большей когорте младенцев для выяснения механизма развития асфиксии у лиц с полиморфным *ACE* геном.

**Обсуждения.** I/I генотип *ACE* гена оказался важной генетической детерминантой предупреждения развития и прогрессирования асфиксии, а D/D генотип достоверно ассоциировался с тяжелой асфиксией. При этом частота сердечных сокращений, артериальное давление, почасовой диурез в первые сутки жизни у новорожденных с различными генотипами достоверно не отличались. В работах других авторов приводятся данные о наличии ассоциаций между генотипом D/D и маркерами кардио-респираторной нестабильности в перинатальном периоде, но у недоношенных детей [11]. Подобные данные приводит E.Sivas, согласно которым дети с D/D генотипом *ACE* гена имеют риски развития кардиоваскулярных нарушений в неонатальном периоде [12]. По данным G.Dimitriou существует связь между активностью циркулирующего *ACE* и дыхательными расстройствами у детей [13]. Но, в то же время, *ACE* полиморфизм не влияет на развитие и тяжесть первичной легочной гипертензии у доношенных новорожденных [14]. С данными других авторов I/I генотип *ACE* гена ассоциируется с риском развития респираторных расстройств у преждевременно рожденных детей, а D/D генотип - с предупреждением их развития [11].

Отсутствие связи между генотипами *ACE* гена и показателями гемодинамики мы объясняем тем, что, возможно, наша выборка была недостаточной для выявления такой связи. Таким образом, данный вопрос является дискуссионным и требует дальнейшего изучения.

Наши результаты свидетельствуют о том, что ID/DD генотип в будущем может стать важной частью клинического процесса по идентификации рисков. Дальнейшие исследования в этой области открывают множество вариантов для выбора времени, вида и дозы препаратов при синдроме полиорганной недостаточности у детей с асфиксией. Введение таких подходов позволит

заранее предсказывать клинические результаты и перейти от общей методики «Одно лечение для всех пациентов» к индивидуализированной «Одно лечение для одного пациента».

#### Список литературы:

1. [http://www.who.int/maternal\\_child\\_adolescent/ru](http://www.who.int/maternal_child_adolescent/ru).
2. Гипоксия плода и асфиксия новорожденного / Знаменская Т.К., Похилько В.И., Подольский В.В., Ципкун А.Г., Ковалева Е.М., Мироненко К.Е., Шевченко Л.И., Костюкова К.О. – Киев: ЗАТ "Биолик", 2011. – 451 с.
3. Different Mechanisms for the Progression of CKD with ACE Gene Polymorphisms / Y. Nakayama, H. Nonoguchi, Y. Kohda [et al] // *Nephron. Clin. Pract.* – 2009. – Vol. 111, № 4. – P. 240-246.
4. Rudnicki M. Significance of genetic polymorphisms of the renin-angiotensin-aldosterone system in cardiovascular and renal disease / M. Rudnicki, G. Mayer // *Pharmacogenomics.* – 2009. – Vol. 10, № 3. – P. 463-476.
5. Association between renin-angiotensin system gene polymorphism and recurrent wheezing in Chinese children: a 4-year follow-up study / S. Guo, J.N. Zhang, Y.D. Yan [et al] // *J Int Med Res.* – 2009. – Vol. 37, № 2. – P. 351-358.
6. Генетические маркеры дыхательных расстройств у новорожденных / Р.З. Богданова, А.И. Фатыхова // *Вопросы практической педиатрии.* - 2008. - № 3. - С. 12-16.
7. Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene and arterial oxygen saturation at high altitude / D.R. Woods, A.J. Pollard, D.J. Collier [et al] // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2002. - Vol. 166, № 3. – P. 362-366.
8. Jones A. Skeletal muscle RAS and exercise performance // A. Jones, D.R. Woods // *Int J Biochem Cell Biol.* – 2003. – Vol. 35, № 6. – P. 855-866.
9. Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels / L. Tiret, B. Rigat, S. Visvikis [et al] // *Am. J. Hum. Genet.* – 1992. – Vol. 51, № 1. – P. 197-205.
10. Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism / A.H. Danser, M.A. Schalekamp, W.A. Bax [et al] // *Circulation* – 1995. – Vol. 92(6). – P. 1387-1388.

11. The angiotensin converting enzyme (ACE) DD genotype is associated with worse perinatal cardiorespiratory adaptation after preterm birth / D. Harding, S. Dhamrait, N. Marlow [et al] // *J Pediatr.* – 2003. – Vol. 143. – P. 746-749.
12. ACE gene deletion/deletion polymorphism may be a protective factor for respiratory distress in preterm infants / E. Sivaslı, M. Yurdakök, E. Babaoğlu // *Turk J Pediatr.* – 2007. – Vol. 49. – H. 69-74.
13. Association of circulating angiotensin converting enzyme activity with respiratory muscle function in infants / G.I Dimitriou, D. Papakonstantinou, E.F. Stavrou // *Respiratory Research.* – 2010. - Vol. 11. – P. 57.
14. Role of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in persistent pulmonary hypertension of the newborn / L.C. De Jesus, S.N. J Kazzi, M.K. Dahmer // *Acta Paediatrica.* – 2011. – Vol. 100, Issue 10. – H. 1326–1330.