



Роль Генетических Факторов в Развитии Ретинопатии Недоношенных

1. Ташханова Дилрабо
Искандаровна
2. Каримова Муяссар Хамитовна

Received 15th Mar 2023,

Accepted 16th Apr 2023,

Online 19th Jun 2023

¹ PhD, детский врач детского отделения РСНПМЦМГ.

² д.м.н., профессор, зам.директора по научной работе РСНПМЦМГ

Аннотация. Сегодня РН занимает лидирующее место среди причин детской слепоты и слабовидения у преждевременно рожденных детей. Чем менее зрел ребенок к моменту рождения, тем заболевание встречается чаще, достигая 88-95% у детей с массой тела 500-1000 г. Несмотря на проведение многолетних клинических и экспериментальных исследований, патогенез данной патологии до конца не изучен. Цель исследования. Разработка путей оптимизации новых методов ранней диагностики ретинопатии недоношенных. Материал и методы. С этой целью обследовано 54 недоношенных новорожденных, составившие основную группу. Группу контроля составили 55 новорожденных, рожденных в срок. Для проведения сравнительного анализа концентрации гена VEGF в сыворотке крови у всех новорожденных основной и контрольной группы проведено ПЦР генотипирование полиморфизма C634G гена VEGF-A. Результаты. Результаты нашего исследования показывают, что функционально неблагоприятные генотипы C/G и G/G полиморфизма rs2010963 гена VEGFA достоверно чаще наблюдались в основной группе по сравнению с группой контроля. Выводы. Мутантные генотипы обладают статистически значимой ассоциативной связью с развитием ретинопатии недоношенных и могут служить прогностическим критерием риска развития заболевания у недоношенных детей.

Ключевые слова: недоношенные новорожденные, ретинопатия недоношенных, факторы риска, фактор роста эндотелия сосудов.

Введение Ежегодно в мире рождается приблизительно 15 млн недоношенных детей. Общая частота преждевременных родов в настоящее время – показатель относительно стабильный: 5-18% от общего числа рождений (статистические данные 184 стран мира). Удельный вес

преждевременных родов на 32-37-й нед гестации составляет более 80%, и большинство недоношенных детей могут выжить при наличии основного неонатального ухода(4).

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), сегодня в мире насчитывается 37 млн слепых и 124 млн слабовидящих. При этом каждый четвертый пациент утратил зрение в детстве. Среди детей младше 15 лет 1,5 млн являются слепыми(5).

Одним из тех заболеваний, которое чаще всего становится причиной детской инвалидности по зрению, считается ретинопатия недоношенных - частое заболевание (до 29,6%), исходом которого может быть нарушение, варьирующее от корригируемой миопии до двухсторонней слепоты(4). Ретинопатия недоношенных (РН) – глобальная медико-социальная проблема XXI в. Чем менее зрел ребенок к моменту рождения, тем заболевание встречается чаще, достигая 88-95% у детей с массой тела 500-1000 г (1). В последнее десятилетие отмечена тенденция к изучению патогенеза, поиска и разработки новых методов раннего прогнозирования развития и прогрессирования данного заболевания. В связи с этим, проводимые исследования направлены преимущественно на изучение роли различных сосудистых медиаторов в развитии РН. Тем не менее, потенциальная генетическая основа ретинопатии недоношенных и гены, ассоциированные с данной патологией, до настоящего времени не известны(2).

Эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF) известен как ключевой медиатор ангиогенеза и васкулогенеза, как патологического, так и нормального. Он взаимодействует с различными клетками и тканями головного мозга и глаза, и тем самым участвует в нейрогенезе и нейропротекции(6). Повышение экспрессии VEGF может быть непосредственно связана с молекулярным механизмом РН, так как данный фактор не только стимулирует пролиферацию сосудистого эндотелия, но также повышает проницаемость, атонию и хрупкости стенок сосудов и обладает воспалительной активностью(2,3). Одним из наиболее функционально значимых полиморфных вариантов VEGF является полиморфизм rs2010963, который представляет собой замену С на G в 634-положении нуклеотидной последовательности гена. По литературным данным, наблюдается повышение уровня VEGF в плазме крови при нуклеотидной замене С/G полиморфного варианта rs2010963. Однако связь rs2010963 гена VEGF с формированием проявлений РН до настоящего времени остается малоизученной областью (2). Изложенное выше послужило предпосылкой выполнения данного исследования.

Цель исследования. Изучить частоты встречаемости мутантных и диких аллелей генов детерминантов (VEGF) в крови.

Материал и методы. Для решения поставленных цели и задач проведено сравнительное обследование 109 новорожденных детей. Гестационный возраст новорожденных варьировал от 26 до 41 недель, масса тела при рождении в зависимости от срока гестации была в пределах от 790 до 4200 гр., длина тела - от 32 до 54 см. Мальчиков было 43, девочек 66.

В ходе исследования все недоношенные дети были разделены на 3 группы в зависимости от гестационного возраста и встречаемости ретинопатии недоношенных:

- Основная группа А - 32 недоношенных новорожденных без развития ретинопатии недоношенных;
- Основная группа В - 22 недоношенных новорожденных с развитием ретинопатии недоношенных;
- Группу контроля составили 55 новорожденных, родившиеся срок.

Молекулярно-генетическая часть исследования была проведена на базе лаборатории молекулярной генетики РСНПМЦ Гематологии.

Для проведения сравнительного анализа концентрации гена VEGF в сыворотке крови у всех новорожденных основной и контрольной группы проведено ПЦР генотипирование полиморфизма C634G гена VEGF-A. Для исследования брали кровь из периферической вены иглой (d=0,8 мм) в объеме 0.6-0.9 мл на 25-30-е сутки жизни. Выделение ДНК из

периферической крови проводили с использованием стандартного набора Рибо-сорб (AmpliSens®, Россия). ПЦР генотипирование полиморфизма C634G гена VEGF-A осуществляли с помощью термоциклира «Applied Biosystems» 2720 (США), с использованием тест-набора компании ООО «Литех» (Москва) согласно инструкции производителей.

Результаты и обсуждение. В работе осуществлен анализ неравновесия по сцеплению изученного полиморфизма, а также, распространности полиморфного варианта у больных с ретинопатией недоношенных и здоровых доноров. В результате проведенного исследования были установлены статистически значимые различия в распределении генотипов и частот аллелей между группами больных и представителями контрольной группы по аллельному варианту полиморфизма C634G гена VEGFA.

Выявлено, что распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма C634G гена VEGFA в обеих группах соответствовало ожидаемому закону равновесия Харди-Вайнберга ($p>0,05$).

Таблица 1

Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма C634G гена VEGFA в группах больных и контроля

Группы	Частота аллелей				Генотипы					
	C		G		C/C		C/G		G/G	
1.Основная группа n=54	72	66,7%	36	33,3%	28	51,8%	16	29,6%	10	18,5%
A.Недоношенные без РН n=32	56	87,5%	8	12,5%	26	81,2%	4	12,5%	2	6,3%
B.Недоношенные с РН n=22	16	36,4%	28	63,6%	2	9,1%	12	54,5%	8	36,4%
2.Контрольная группа n=55	94	85,4%	16	14,5%	41	74,5%	12	21,8%	2	3,6%

При исследовании полиморфизма C634G гена VEGFA отмечается тенденция к снижению частоты дикого аллеля C у пациентов основной группы по сравнению со здоровыми донорами (66,7 против 85,4% соответственно) и повышение частоты функционально неблагоприятного аллеля G по сравнению с этой группой (33,3 против 14,5% соответственно; $*\chi^2=10.6$; $P<0.05$; $OR=2.9$;

Таблица 2

Различия в частоте встречаемости аллельных и генотипических вариантов полиморфизма rs 2010963 гена VEGFA в исследованных группах

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		Статистическое различие
	Основная группа	Контроль	
Аллель С	72	94	* $\chi^2=10,6$; P=0,001; OR=2,9; 95%CI1,51- 5,7
Аллель G	36	16	
Генотип С/С	28	41	* $\chi^2=6,0$; P=0,01; OR=0,4; 95% CI0,16 - 0,825
Генотип С/G	16	12	$\chi^2=0,9$; P=0,3; OR=1,5; 95% CI0,6344, - 3,588
Генотип G/G	10	2	* $\chi^2=6,2$; P=0,01; OR=6,0; 95% CI1,25- 28,94

Примечание: * – различие статистически достоверное.

95%CI1.51- 5.7). Нами выявлено достоверное различие частотного распределения аллелей гена VEGFA среди больных и практически здоровых лиц узбекской популяции. Полученные данные указывают, на то, что носительство аллеля «G» достоверно повышает шанс развития ретинопатии недоношенных в 3 раза. При этом дикий аллель «С» в нашем исследовании связан с отсутствием предрасположенности к ретинопатии недоношенных и, по-видимому, имеет протективный характер в отношении развития заболевания.

Самым распространенным генотипом данного локуса как в группе контроля, так и в группе пациентов, является гаплотип G/G, соответственно 18,5 и 3,6%. Гомозиготный дикий С/С генотип также встречался с относительно высокой частотой 74,5% в контрольной группе и 51,8% – в группе больных, генотип С/G, соответственно 29,6 и 21,8%. Выявлена заметная тенденция к увеличению количества гомозигот и гетерозигот С/G в группе пациентов по сравнению с контрольной группой (соответственно 18,5 против 3,6%; $\chi^2=6,2$; P<0,05; OR=6,0; 95% CI1.25- 28.94; и 29,6 против 21,8%, $\chi^2=0,9$; P=0,3; OR=1,5; 95% CI0,6344, 3.588 соответственно). Превалирование С/С генотипа в группе условно здоровых доноров подтверждает протективную функцию данного генотипа в отношении к основной группе.

Согласно рассчитанному коэффициенту соотношения шансов вероятность развития ретинопатии недоношенных в исследуемой группе больных при носительстве генотипа G/G увеличивается более чем в 6 раз, а при носительства генотипа С/G более чем в 1,5 раза. Это может свидетельствовать о том, что гетерозиготный и, особенно, гомозиготный генотипы обладают достаточно выраженной статистически значимой ассоциативной связью с развитием ретинопатии недоношенных.

Гомозиготный дикий С/С генотип также встречался с относительно высокой частотой 74,5% в контрольной группе и 51,8% – в группе больных. Превалирование С/С генотипа в группе условно здоровых доноров подтверждает протективную функцию данного генотипа в отношении к основной группе.

Еще более значимую разницу в сравнении с контролем имела частота аллеля «G» в подгруппе В (63,6 и 14,5% соответственно; * $\chi^2=37,1$; P<0,05; OR=10,2; 95%CI 4,56-23,14). Частота встречаемости полиморфизма С/G гена VEGFA среди больных подгруппы В и контроля составили (54,5 и 21,8% соответственно; $\chi^2=7,8$; P<0,05; OR=4,3; 95%CI 1,49-12,35) и полиморфизма G/G (36,4 и 3,6% соответственно; $\chi^2=14,9$; P<0,05; OR=15,1; 95%CI 2,89-79,46). Согласно рассчитанному коэффициенту соотношения шансов вероятность развития ретинопатии недоношенных в исследуемой группе больных при носительстве генотипа G/G увеличился более чем в 15 раз, а при носительства генотипа С/G более чем в 4 раза. При этом дикий аллель «С» в нашем исследовании связан с отсутствием предрасположенности к

ретинопатии недоношенных и, по-видимому, имеет протективный характер в отношении развития заболевания.

Это может свидетельствовать о том, что гетерозиготный и, особенно, гомозиготный генотипы обладают достаточно выраженной статистически значимой ассоциативной связью с развитием ретинопатии недоношенных. Эти данные могут свидетельствовать о хорошем самостоятельном эффекте полиморфизма rs2010963 гена VEGFA на риск развития ретинопатии недоношенных в узбекской популяции.

Заключение. Высокий уровень прогностической ценности полиморфизма rs2010963 гена VEGFA позволяют рассматривать его как доминирующий молекулярно-генетический маркер риска развития ретинопатии недоношенных. Учитывая, что функционально неблагоприятные генотипы C/G и G/G полиморфизма rs2010963 гена VEGFA являются генетическим фактором, предрасполагающим к развитию ретинопатии недоношенных, для прогнозирования развития данного заболевания рекомендуется проводить молекулярно-генетические исследования, позволяющие обнаружить мутации в генах, предрасполагающих к развитию данного заболевания. Прогнозирование развития и улучшение ранней выявляемости ретинопатии недоношенных позволит вести поиск более специфичных мишеней и средств терапии.

Литература

1. Аветисов С.Э., Егоров Е.А., Мошетова Л.К., Нероев В.В., Тахчиди Х.П. Офтальмология. Национальное руководство. М., 2018. – С. 586-599.
2. Бабаджанов О.А., Каримов Х.Я., Арифов С.С., Бобоев К.Т. Оценка роли полиморфизма rs2010963 гена VEGF в развитии розацеа и его связь с клиническими формами заболевания.// Цитология и генетика.- 2019.-Т 53.-№ 3.- С 65-69.
3. Дубенский В.В., Корнюшо Е.М. Туманова Е.О. Роль полиморфизма гена сосудистого эндотелиального фактора роста в развитии ювенильных гемангиом // Соврем. Пробл. науки и образования. – 2013. - №4. - С. 35-39.
4. Кацан С.В. Медицинская газета «Здоровая Украина 21 столетия», - 2019
5. Первый Всемирный Доклад ВОЗ, 10.2019.
6. Рудько А.С., Эфендиева М.Х., Будзинская М.В., Карпилова М.А. Влияние фактора роста эндотелия сосудов на ангиогенез и нейрогенез. Вестник офтальмологии. 2017. №3. С. 75-80.
7. Сахарова Е.С. Недоношенность как медико-социальная проблема здравоохранения. Часть 2// Российский вестник перинатологии и педиатрии. -2017; 62 (4). – С 37-42.