

Взаємозв'язок між рівнем експресії мікро-РНК та особливостями клінічного перебігу функціональних розладів жовчного міхура та сфінктера Одди в дітей

О. Є. Абатуров*^{A,C,E,F}, В. Л. Бабиш^{A-D}

ДЗ «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпро

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Ключові слова:

жовчних шляхів дискінезія, дисфункція сфінктера Одди, епігенез генетичний, мікро-РНК, діти.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 5(116). – С. 638–644

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.5.179434

*E-mail: alexabaturov@i.ua

Мета роботи – встановити взаємозв'язок між рівнями експресії мікро-РНК-378f, мікро-РНК-4311, мікро-РНК-4714-3p та анамnestичними, клініко-параклінічними параметрами функціональних розладів жовчного міхура та сфінктера Одди (ФР ЖМ і СФО) в дітей.

Матеріали та методи. Обстежили 50 дітей із ФР ЖМ і СФО віком від 4 до 14 років. У контрольну групу ввійшли 20 практично здорових дітей аналогічного віку. Всім дітям, крім загальноклінічного обстеження, здійснили молекулярно-генетичне дослідження з визначенням рівня експресії мікро-РНК-378f, мікро-РНК-4311, мікро-РНК-4714-3p у сироватці крові методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі зі зворотною транскрипцією згідно з протоколом TaqMan Gene Expression Assays. Проаналізували 140 клініко-лабораторних та інструментально-діагностичних показників 50 пацієнтів із верифікованими ФР ЖМ і СФО за допомогою кореляційного аналізу.

Результати. Виявили асоціацію рівня експресії мікро-РНК-378f із сімейною спадковістю щодо захворювань біліарного тракту: ФР ЖМ і СФО в матерів ($r = +0,27$; $p < 0,05$) і сестер ($r = +0,39$; $p < 0,05$) пацієнтів. Позитивний зв'язок зареєстрували між рівнями експресії мікро-РНК-378f і мікро-РНК-4311 та ФР ЖМ і СФО в родичів за материнською лінією ($r = +0,35$ і $r = +0,32$ відповідно; $p < 0,05$). Встановили асоціацію рівнів експресії мікро-РНК-4311 і мікро-РНК-4714-3p та обтяженого алергологічного анамнезу дітей із ФР ЖМ і СФО ($r = +0,41$; $r = +0,37$ відповідно; $p < 0,05$). Аналіз кореляційної діаграми показав, що рівень експресії мікро-РНК-4714-3p позитивно корелював зі зниженням скоротливості жовчного міхура ($r = +0,36$; $p < 0,05$).

Висновки. Встановили вірогідні кореляції рівнів експресії мікро-РНК-378f і мікро-РНК-4311 із сімейною агрегацією патології біліарного тракту в родовах дітей із ФР ЖМ і СФО. Обтяжений алергологічний анамнез асоціюється з рівнями експресії мікро-РНК-4311 і мікро-РНК-4714-3p в обстежених дітей. Виявили асоціацію між рівнями експресії мікро-РНК-4311 і мікро-РНК-4714-3p і клінічними проявами больового абдомінального, диспептичного та астеновегетативного синдромів ФР ЖМ і СФО в дітей. Встановили, що зниження рівня експресії мікро-РНК-4714-3p асоційоване зі зниженням скоротливості жовчного міхура в дітей із ФР ЖМ і СФО.

Ключевые слова:

желчных путей дискинезия, дисфункция сфинктера Одди, эпигенез генетический, микро-РНК, дети.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 5(116). – С. 638–644

Взаимосвязь между уровнем экспрессии микро-РНК и особенностями клинического течения функциональных расстройств желчного пузыря и сфинктера Одди у детей

А. Е. Абатуров, В. Л. Бабиш

Цель работы – установить взаимосвязь между уровнями экспрессии микро-РНК-378f, микро-РНК-4311, микро-РНК-4714-3p и анамnestическими, клинико-параклінічними параметрами функциональных расстройств желчного пузыря и сфинктера Одди (ФР ЖП и СФО) у детей.

Материалы и методы. Обследовали 50 детей с ФР ЖП и СФО в возрасте от 4 до 14 лет. В контрольную группу вошли 20 практически здоровых детей аналогичного возраста. Всем детям кроме общеклинического обследования проведено молекулярно-генетическое исследование с определением уровня экспрессии микро-РНК-378f, микро-РНК-4311, микро-РНК-4714-3p в сыворотке крови методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с обратной транскрипцией согласно с протоколом TaqMan Gene Expression Assays. Проанализированы 140 клинико-лабораторных и инструментально-диагностических показателей 50 пациентов с верифицированными ФР ЖП и СФО с помощью корреляционного анализа.

Результаты. Установлены ассоциации уровня экспрессии микро-РНК-378f с семейной наследственностью по заболеваниям билиарного тракта ФР ЖП и СФО у матерей ($r = +0,27$; $p < 0,05$) и сестер ($r = +0,39$; $p < 0,05$) пациентов. Положительная связь зарегистрирована между уровнями экспрессии микро-РНК-378f и микро-РНК-4311 и ФР ЖП и СФО у родственников по материнской линии ($r = +0,35$ и $r = +0,32$ соответственно; $p < 0,05$). Отмечены ассоциации уровней экспрессии микро-РНК-4311 и микро-РНК-4714-3p и отягощенного алергологического анамнеза детей с ФР ЖП и СФО ($r = +0,41$; $r = +0,37$ соответственно; $p < 0,05$). Анализ корреляционной диаграммы показал, что уровень экспрессии микро-РНК-4714-3p положительно коррелировал со снижением сократимости желчного пузыря ($r = +0,36$; $p < 0,05$).

Выводы. Установлены достоверные корреляции уровней экспрессии микро-РНК-378f и микро-РНК-4311 с семейной агрегацией патологии билиарного тракта в родословных детей с ФР ЖП и СФО. Отягощенный алергологический анамнез ассоциируется с уровнями экспрессии микро-РНК-4311 и микро-РНК-4714-3p у обследованных детей. Установлены ассоциации между уровнями экспрессии микро-РНК-4311 и микро-РНК-4714-3p и клиническими проявлениями болевых абдомінального, диспептического и астеновегетативного синдромов ФР ЖП и СФО у детей. Отмечено, что снижение уровня экспрессии микро-РНК-4714-3p ассоциировано со снижением сократимости желчного пузыря у детей с ФР ЖП и СФО.

Relationship between the expression level of microRNA and the features of clinical course of the gallbladder and Oddi's sphincter functional disorders in children

O. Ye. Abaturov, V. L. Babych

The aim of the work is to establish the relationship between the expression levels of microRNA-378f, microRNA-4311, microRNA-4714-3p and anamnestic, clinical and paraclinical parameters of functional disorders of the gallbladder and Oddi's sphincter (FD GB and OS) in children.

Materials and methods. We examined 50 children with FD GB and OS aged from 4 to 14 years old. The control group included 20 healthy children of the same age. All the children, in addition to general clinical examination, underwent a molecular genetic study with the determination of the expression level of microRNA-378f, microRNA-4311, microRNA-4714-3p in blood serum by the method of real-time reverse transcription polymerase chain reaction according to TaqMan Gene Expression Assays protocol. In total, 140 clinical, laboratory and instrumental diagnostic indicators of 50 patients with verified FD GB and OS were analyzed using correlation analysis.

Results. Associations between the expression level of microRNA-378f and familial heredity of the biliary tract diseases with FD GB and OS in mothers ($r = +0.27$; $P < 0.05$) and sisters ($r = +0.39$; $P < 0.05$) of patients were identified. A positive correlation was registered between the expression levels of microRNA-378f and microRNA-4311 and FD GB and OS in maternal relatives ($r = +0.35$ and $r = +0.32$, respectively; $P < 0.05$). Associations between the expression levels of microRNA-4311 and microRNA-4714-3p and burdened allergic history in children with FD GB and OS ($r = +0.41$; $r = +0.37$, respectively; $P < 0.05$) were established. Analysis of the correlation diagram showed that the expression level of microRNA-4714-3p was positively correlated with a decrease in the gallbladder contractility ($r = +0.36$; $P < 0.05$).

Conclusions. Significant correlations between the expression levels of microRNA-378f and microRNA-4311 and familial aggregation of the biliary tract pathology in the pedigrees of children with FD GB and OS were established. It was determined that the burdened allergic history was associated with the expression levels of microRNA-4311 and microRNA-4714-3p in the examined children. Associations between the expression levels of microRNA-4311 and microRNA-4714-3p and clinical manifestations of abdominal pain syndrome, dyspeptic and asteno-vegetative syndromes of FD GB and OS in children were found. It was revealed that a decrease in the expression level of microRNA-4714-3p was associated with a decrease in the gallbladder contractility in children with FD GB and OS.

Key words:

biliary dyskinesia, Oddi's sphincter dysfunction, genetic epigenesis, microRNA, children.

Zaporozhye
medical journal

2019; 21 (5), 638–644

Науково-практичні дослідження останніх років свідчать про чималу поширеність функціональних гастроінтестинальних розладів як однієї з найбільш актуальних проблем сучасної дитячої гастроентерології [1,2]. Згідно з Римською класифікацією функціональних розладів травлення IV [3], функціональними розладами біліарної системи (ФРБС) у дітей є функціональні розлади жовчного міхура та сфінктера Одді (ФР ЖМ та СФО), які, за офіційними даними, становлять 65–85 % від усіх захворювань біліарного тракту в дітей [4]. Актуальність проблеми функціональних розладів біліарної системи зумовлена поширеністю, недостатньою вивченістю основних патогенетичних ланок формування цієї патології, можливістю переходу в органічну патологію [2,5].

Доведено, що основним механізмом формування функціональних розладів біліарного тракту (ФРБТ) є порушення взаємодії вегетативної нервової системи та гуморального впливу секретину, холецистокініну, що зумовлює дисфункцію жовчного міхура, сфінктерів та виділення жовчі. Зміни вегетативної та гуморальної регуляції біліарного тракту, які зумовлені різними чинниками, призводять до порушення фізико-хімічних властивостей жовчі та моторики жовчовивідних шляхів. Функціонування біліарної системи регулюється епігенетичними механізмами, що впливають на гуморальну ланку формування функціональних розладів жовчного міхура та сфінктера Одді [2,6,7].

У результаті досліджень останніх років визначено роль неінвазивних високочутливих і специфічних маркерів у діагностиці захворювань біліарної системи [8–10]. До таких маркерів належать мікро-РНК (microRNA, miRNA, miR) – епігенетичні фактори регуляції генної експресії на посттранскрипційному рівні. Мікро-РНК – це малі некодувальні молекули РНК довжиною 21–23

нуклеотиди, які опосередковано беруть участь у синтезі білків, диференціюванні клітин і тканин [11–13]. Можливість використання мікро-РНК як діагностичних і прогностичних маркерів обґрунтована високим рівнем стабільності цих молекул у сироватці крові та інших біологічних середовищах [14]. Науковці довели асоціацію рівня експресії різних мікро-РНК із розвитком і прогресуванням таких захворювань біліарної системи, як первинний склерозивний холангіт, первинний біліарний холангіт, біліарна атрезія, полікістоз печінки, холангіокарцинома, фіброз печінки, первинний біліарний цироз печінки [8,15]. Однак не визначено роль зміни спектра експресії мікро-РНК при функціональних розладах жовчного міхура та сфінктера Одді в дітей.

Мета роботи

Встановлення взаємозв'язку між рівнями експресії мікро-РНК-378f, мікро-РНК-4311, мікро-РНК-4714-3p та анамнестичними, клініко-параклінічними параметрами функціональних розладів жовчного міхура та сфінктера Одді в дітей.

Матеріали і методи дослідження

У дослідження залучили 50 дітей із функціональними розладами жовчного міхура та сфінктера Одді віком від 4 до 14 років. Серед хворих були 29 (58 %) хлопчиків і 21 (42 %) дівчинка. Середній вік пацієнтів із ФР ЖМ та СФО становив $7,84 \pm 0,39$ року. Критерії залучення: вік дітей від 1 до 18 років і діагностовані функціональні розлади жовчного міхура та сфінктера Одді. Критерії виключення: вік дитини менше ніж 1 рік, наявність симптомів органічного ураження травної системи, наявність гострих

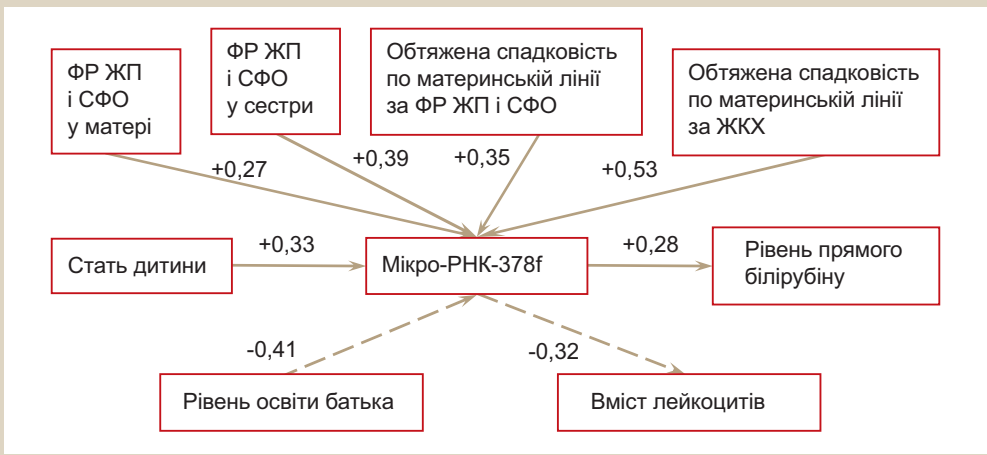


Рис. 1. Кореляційна діаграма взаємозв'язків між рівнем експресії мікро-РНК-378f у сироватці крові та анамnestичними, клініко-пара-клінічними параметрами в дітей із ФР ЖМ і СФО.

(або декомпенсованих) захворювань. Обстежили 20 практично здорових дітей відповідної вікової групи, серед них – 10 (50 %) хлопчиків і 10 (50 %) дівчаток, середній вік – $8,15 \pm 0,60$ року. Діти з ФР ЖМ і СФО та практично здорові – зіставні за статтю та віком ($p > 0,05$). Наукове дослідження виконали відповідно до принципів Гельсінської декларації та з дозволу локальної комісії з біоетики ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» за наявності інформованої згоди з боку батьків або опікунів пацієнтів і практично здорових дітей.

Комплексне обстеження здійснили на базі КЗ «Дніпровська міська клінічна лікарня № 1 ДМР». Верифікацію діагнозу виконали на підставі результатів клініко-анамnestичних, загальноклінічних, біохімічних, інструментальних методів дослідження згідно з клінічними критеріями функціональних розладів жовчного міхура та сфінктера Одді за Римською класифікацією функціональних розладів травлення IV (2016) [3] та положеннями наказу МОЗ України від 29.01.2013 р. № 59 «Про затвердження уніфікованих клінічних протоколів медичної допомоги дітям із захворюваннями органів травлення» [4]. Серед біохімічних показників сироватки крові, які визначали за стандартними методиками, досліджували вміст холестерину, лужної фосфатази, загального білірубину і його фракцій, аспартатамінотрансферази (АсАТ), аланінамінотрансферази (АлАТ) у сироватці крові. Усім пацієнтам виконували динамічну трансабдомінальну ультрасонографію з використанням ентерального холекінетика з визначенням моторно-тонічної та евакуаторної функцій біліарної системи.

До початку лікування всім дітям із ФР ЖМ і СФО та практично здоровим дітям здійснили молекулярно-генетичне дослідження з визначенням рівня експресії мікро-РНК-378f, мікро-РНК-4311, мікро-РНК-4714-3р у сироватці крові методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі зі зворотною транскрипцією згідно з протоколом TaqMan Gene Expression Assays у сертифікованій лабораторії відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології імені О. О. Богомольця НАН України (директор – д-р мед. наук, професор О. О. Кришталь). Дослідження мало такі етапи: виділення тотальної РНК із первинного матеріалу (сироватки крові), виділення ДНК із первинного матеріалу (сироватки крові), зворотна транскрипція, полімеразна ланцюгова

реакція (ПЛР), рестрикційний аналіз, полімеразно-ланцюгова реакція в реальному часі, розрахунок кількості молекул ампліфікату та побудова калібрувальної кривої.

Статистичний аналіз результатів виконали, використовуючи пакет прикладних програм Statistica 6.1 (№ AGAR909E415822FA) за допомогою персонального комп'ютера на базі процесора Intel Pentium 4. Залежно від результату перевірки застосовували параметричні та непараметричні методи статистики. Кількісні показники наведені як середнє значення та стандартна похибка середнього ($M \pm m$), для порівняння середніх показників у всіх групах використовували t-критерій Стьюдента. Відмінності між ознаками, що порівнювали, для всіх видів аналізу вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Проаналізували 140 клініко-лабораторних та інструментально-діагностичних показників 50 пацієнтів із верифікованими функціональними розладами жовчного міхура та сфінктера Одді за допомогою кореляційного аналізу. Для оцінювання взаємозв'язку між кількісними ознаками використовували кореляційний аналіз за методом Пірсона, а між якісними ознаками – за непараметричним ранговим аналізом Спірмена (rs). До уваги брали тільки значущі зв'язки ($p < 0,05$).

Результати

Результати молекулярно-генетичних досліджень свідчать, що в дітей із функціональними розладами жовчного міхура та сфінктера Одді середній рівень експресії мікро-РНК-378f у сироватці крові до терапії становив $2,02 \pm 0,57$ УО. Значення цього показника у хворих дітей статистично не відрізнялося від середнього значення у практично здорових дітей ($5,05 \pm 2,85$ УО) ($p > 0,05$). Розглядаючи кореляційну діаграму співвідношень між рівнем експресії мікро-РНК-378f та анамnestичними, клініко-параклінічними показниками в дітей із ФР ЖМ і СФО, можна визначити низку кореляційних взаємозв'язків (рис. 1).

У результаті дослідження визначили, що рівень експресії мікро-РНК-4311 у сироватці крові пацієнтів із ФР ЖМ і СФО становив $1,48 \pm 0,35$ УО. Ці значення вірогідно не відрізнялися від аналогічного показника у практично здорових дітей ($3,07 \pm 1,41$ УО) ($p > 0,05$). Кореляційні взаємозв'язки між рівнем експресії мікро-РНК-4311 та

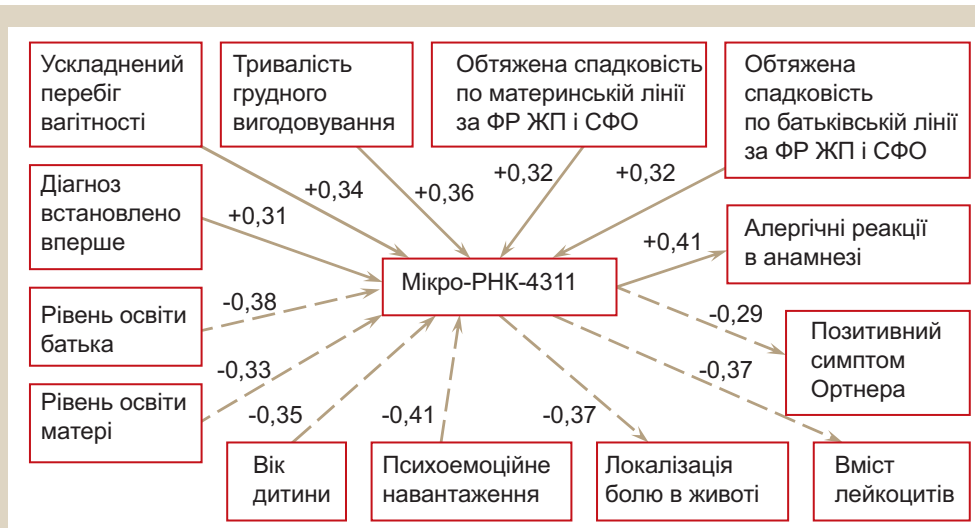


Рис. 2. Кореляційна діаграма взаємозв'язків між рівнем експресії мікро-РНК-4311 у сироватці крові та анамнестичними, клініко-пара-клінічними параметрами в дітей із ФР ЖМ і СФО.

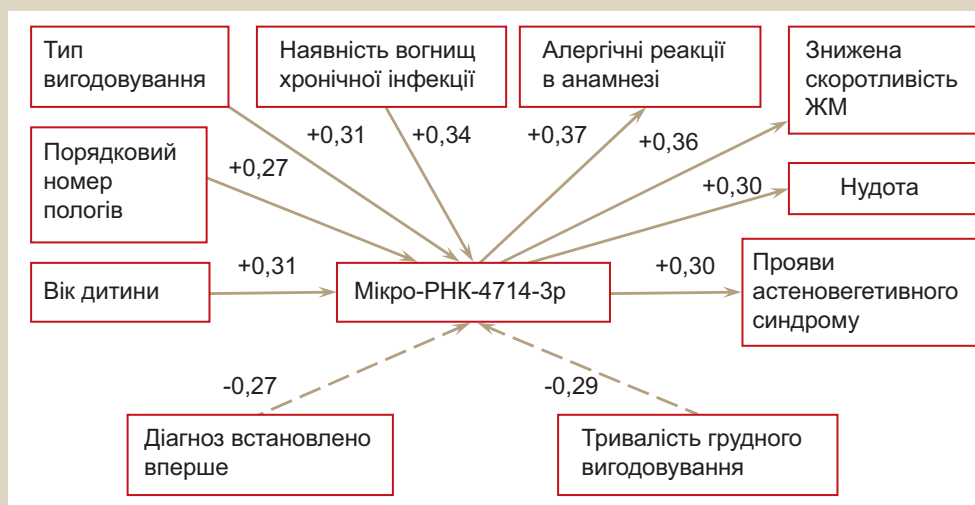


Рис. 3. Кореляційна діаграма взаємозв'язків між рівнем експресії мікро-РНК-4714-3p у сироватці крові та анамнестичними, клініко-пара-клінічними параметрами в дітей із ФР ЖМ і СФО.

анамнестичними, клініко-пара-клінічними параметрами в дітей із ФР ЖМ і СФО наведені на рис. 2.

За даними нашого дослідження, при функціональних розладах жовчного міхура та сфінктера Одді середнє значення рівня експресії мікро-РНК-4714-3p у сироватці крові було вірогідно нижчим, ніж у практично здорових дітей ($5,56 \pm 1,50$ УО та $53,62 \pm 10,42$ УО відповідно) ($p < 0,05$). Кореляційні взаємозв'язки між рівнем експресії мікро-РНК-4714-3p та анамнестичними, клініко-пара-клінічними показниками перебігу ФР ЖМ і СФО в дітей наведені на рис. 3.

Проаналізували особливості рівнів експресії маркерів епігенетичних механізмів функціональних порушень біліарного тракту: мікро-РНК-378f, мікро-РНК-4311 та мікро-РНК-4714-3p – у сироватці крові в дітей із функціональними розладами жовчного міхура та сфінктера Одді. За допомогою кореляційного аналізу встановили взаємозв'язок між основними чинниками, анамнестичними даними, клінічно-пара-клінічними ознаками перебігу ФР ЖМ і СФО та рівнями експресії названих мікро-РНК у дітей.

Вік і стать дитини. На підставі кореляційного аналізу визначили наявність позитивного взаємозв'язку між рівнем експресії мікро-РНК-4714-3p і віком пацієнтів

($r = +0,31$; $p < 0,05$), негативного – між рівнем експресії мікро-РНК-4311 та віком дітей із ФР ЖМ та СФО ($r = -0,35$; $p < 0,05$). Встановили позитивний зв'язок між рівнем експресії мікро-РНК-378f і статтю дитини ($r = +0,27$; $p < 0,05$).

Сімейна спадковість на захворювання біліарної системи. Визначили сімейну агрегацію патології біліарного тракту в родовах дітей із функціональними розладами жовчного міхура та сфінктера Одді. Обтяжений спадковий анамнез щодо ФР ЖМ і СФО, хронічного холециститу та жовчнокам'яної хвороби (ЖКХ) виявили в усіх дітей. Так, ФР ЖМ і СФО визначили у 30 (60 %) матерів і в 4 (8 %) сестер пацієнтів. Встановили асоціацію рівня експресії мікро-РНК-378f із сімейною спадковістю щодо захворювання біліарного тракту, зокрема наявність ФР ЖМ і СФО у матерів ($r = +0,27$; $p < 0,05$) і сестер ($r = +0,39$; $p < 0,05$) пацієнтів. Обтяжену спадковість обстежених дітей за ФР ЖМ і СФО за материнською лінією спостерігали в 13 (26 %) випадках. Позитивний зв'язок зареєстрували між рівнями експресії мікро-РНК-378f, мікро-РНК-4311 і встановленими ФР ЖМ і СФО у родичів за материнською лінією ($r = +0,35$ і $r = +0,32$ відповідно; $p < 0,05$).

У 29 (58 %) батьків пацієнтів виявляли функціональні розлади жовчного міхура та сфінктера Одді. У дітей із ФР ЖМ і СФО за батьківською лінією спорідненості ФР

ЖМ і СФО визначили в 7 (14 %) випадках. Встановили позитивний зв'язок між рівнем експресії мікро-РНК-4311 та сімейною спадковістю щодо ФР ЖМ і СФО за батьківською лінією ($r = +0,32$; $p < 0,05$).

Спадкування жовчнокам'яної хвороби встановили в пацієнтів із ФР ЖМ і СФО. Так, на ЖКХ страждали 3 (6 %) матері дітей, а також ця патологія визначена за материнською лінією спорідненості в 4 (8 %) пацієнтів, за батьківською лінією – у 8 (16 %) дітей. Виявили високий рівень кореляційного взаємозв'язку між рівнем експресії мікро-РНК-378f і спадковістю за материнською лінією на жовчнокам'яну хворобу ($r = +0,53$; $p < 0,05$).

Рівень освіти батьків. За рівнем освіти в обстежених дітей із ФР ЖМ і СФО превалювали батьки та матері (26 (52 %) та 30 (60 %) відповідно), які мали вищу освіту ($p > 0,05$). На кореляційних діаграмах взаємовідношень наведені зворотні взаємозв'язки між рівнями активності мікро-РНК-378f у сироватці крові та рівнем освіти батька ($r = -0,41$; $p < 0,05$), мікро-РНК-4311 і рівнем освіти батька, матері ($r = -0,38$ і $r = -0,33$ відповідно; $p < 0,05$) дитини з ФР ЖМ і СФО.

Клінічний діагноз функціональні розлади жовчного міхура та сфінктера Одді встановлено вперше. У результаті дослідження виявили, що у 28 (56 %) пацієнтів клінічний діагноз функціональні розлади жовчного міхура та сфінктера Одді встановлено вперше ($p > 0,05$). Середній вік маніфестації захворювання в обстежених із ФР ЖМ і СФО становив $6,76 \pm 0,35$ року. Визначили прямий кореляційний зв'язок між рівнем експресії мікро-РНК-4311 у сироватці крові та фактом вперше встановленого клінічного діагнозу функціональні розлади жовчного міхура та сфінктера Одді в дитини на час дослідження ($r = +0,31$; $p < 0,05$) і зворотний кореляційний зв'язок між рівнем експресії мікро-РНК-4714-3р і цим фактом ($r = -0,27$; $p < 0,05$).

Перинатальний анамнез. Патологія в антенатальному періоді виявлена в кожній п'ятій дитини, що обстежили. Перебіг вагітності в матерів дітей із ФР ЖМ і СФО був ускладнений у 10 (20 %) випадках гестозами, у 5 (10 %) вагітних – ГРВІ. На кореляційних діаграмах взаємовідношень наведений позитивний взаємозв'язок між рівнем експресії мікро-РНК-4714-3р і порядковим номером пологів ($r = +0,27$; $p < 0,05$), а також між рівнем активності мікро-РНК-4311 та ускладненим перебігом вагітності ($r = +0,34$; $p < 0,05$).

Після народження 45 (90 %) дітей із ФР ЖМ і СФО перебували на природному вигодовуванні, його тривалість становила $10,67 \pm 0,89$ місяця. Кореляційний аналіз виявив позитивний взаємозв'язок між рівнем експресії мікро-РНК-4714-3р і типом вигодовування ($r = +0,31$; $p < 0,05$). З тривалістю грудного вигодовування позитивно корелював рівень активності мікро-РНК-4311 ($r = +0,36$; $p < 0,05$), негативно – рівень експресії мікро-РНК-4714-3р ($r = -0,29$; $p < 0,05$).

Алергологічний анамнез. Визначення алергологічного анамнезу в дітей із функціональними розладами жовчного міхура та сфінктера Одді дало інформацію про наявність алергічних реакцій у 6 (12 %) пацієнтів. Встановили асоціацію рівнів експресії мікро-РНК-4311 і мікро-РНК-4714-3р та обтяженого алергологічного анамнезу дітей із ФР ЖМ і СФО ($r = +0,41$; $r = +0,37$ відповідно; $p < 0,05$).

Чинники, що зумовлюють початок або загострення клінічного перебігу ФР ЖМ і СФО в дітей. Чинниками початку або загострення перебігу захворювання в пацієнтів із ФР ЖМ і СФО були порушення режиму харчування (36 (72 %) випадків), психоемоційне навантаження (25 (50 %)), гіподинамічний спосіб життя (15 (30 %)) і наявність вогнищ хронічної інфекції (7 (14 %)). Кореляційний аналіз показав зворотний кореляційний зв'язок середньої сили між рівнем експресії мікро-РНК-4311 і скаргами на психоемоційне навантаження ($r = -0,41$; $p < 0,05$), позитивний – між рівнем активності мікро-РНК-4714-3р і таким чинником початку або загострення клінічного перебігу ФР ЖМ і СФО в дітей, як наявність вогнищ хронічної інфекції ($r = +0,34$; $p < 0,05$).

Особливості клініко-параклінічних проявів ФР ЖМ і СФО. Усі пацієнти із функціональними розладами жовчного міхура та сфінктера Одді надійшли у стаціонар із проявами больового абдомінального, диспептичного та астеновегетативного синдромів різної тривалості та вираженості. Так, біль у ділянці живота в обстежених дітей до госпіталізації спостерігали протягом $9,58 \pm 0,80$ доби. У 9 (18 %) дітей біль у животі був локалізований у правому підребер'ї, у 28 (56 %) пацієнтів – в епігастральній ділянці та правому підребер'ї, у 13 (26 %) обстежених – у навіколопупковій ділянці ($p > 0,05$). Під час пальпації живота в 42 (84 %) пацієнтів визначали болючість у правому підребер'ї. Позитивний симптом Кера виявили в усіх дітей, позитивний симптом Мерфі – у 38 (76 %), болючість під час пальпації в панкреатичних точках (Дежардена, Мейо–Робсона, зоні Шоффара) – у 10 (20 %) пацієнтів. У результаті кореляційного аналізу виявили асоціацію проявів больового синдрому з епігенетичними механізмами ФР ЖМ і СФО в дітей на підставі визначення зворотного кореляційного взаємозв'язку між рівнем експресії мікро-РНК-4311 і клінічними симптомами, як-от локалізація болю в животі ($r = -0,37$; $p < 0,05$) і позитивний симптом Ортнера ($r = -0,29$; $p < 0,05$).

Диспептичний синдром у пацієнтів із функціональними розладами жовчного міхура та сфінктера Одді до терапії характеризувався тривалістю $10,95 \pm 0,99$ доби та скаргами на нудоту (22 (44 %)), знижений апетит (26 (52 %)), відрижку гірким (11 (22 %)), нестійкі випороження (23 (46 %)). Виявили позитивні кореляційні взаємозв'язки середньої сили між рівнем експресії мікро-РНК-4714-3р і проявом диспептичного синдрому (нудотою) ($r = +0,30$; $p < 0,05$).

Астеновегетативний синдром в обстежених із ФР ЖМ і СФО до лікування мав тривалість $12,24 \pm 0,82$ доби та включав скарги та прояви зниженої працездатності, підвищеної стомлюваності, загальної слабкості. У результаті кореляційного аналізу визначили пряму залежність між рівнем активності мікро-РНК-4714-3р та ознаками астеновегетативного синдрому ($r = +0,30$; $p < 0,05$).

В обстежених із ФР ЖМ і СФО не визначили вірогідні зміни показників клінічного аналізу крові щодо аналогічних параметрів у практично здорових дітей. Кореляційний аналіз показав наявність зворотного зв'язку між рівнями експресії мікро-РНК-378f і мікро-РНК-4311 і вмістом лейкоцитів у сироватці крові ($r = -0,32$ і $r = -0,37$ відповідно; $p < 0,05$).

За результатами біохімічного дослідження крові в дітей із функціональними розладами жовчного міхура та сфінктера Одді виявили ознаки холестази: зміни рівня АлАТ, АсАТ, лужної фосфатази при нормальному рівні холестерину, загального та прямого білірубину в сироватці крові. Так, спостерігали статистично вірогідне підвищення рівня аспартатамінотрансферази в сироватці крові до $34,96 \pm 1,31$ мкмоль/л у дітей із ФР ЖМ і СФО щодо відповідного значення у практично здорових дітей ($24,20 \pm 0,89$ мкмоль/л) ($p < 0,05$). Вміст аланінамінотрансферази в сироватці крові дітей із функціональними розладами жовчного міхура та сфінктера Одді вірогідно відрізнявся від цього параметра у практично здорових дітей ($18,76 \pm 0,91$ н/л та $14,50 \pm 0,57$ н/л відповідно) ($p < 0,05$). Рівень лужної фосфатази в сироватці крові підвищувався до $507,92 \pm 19,94$ н/л у пацієнтів із ФР ЖМ і СФО, що статистично відрізнявся від $202,95 \pm 9,07$ н/л у практично здорових дітей ($p < 0,05$). Кореляційний аналіз показав позитивний взаємозв'язок між рівнем експресії мікро-РНК-378f і вмістом прямого білірубину в сироватці крові ($r = +0,28$; $p < 0,05$).

Визначення евакуаторної функції біліарної системи за даними динамічної трансабдомінальної ультрасонографії в обстежених дітей із ФР ЖМ і СФО свідчило про зниження скоротливості жовчного міхура при його випорожненні. Так, у дітей із ФР ЖМ і СФО скоротливість жовчного міхура в середньому становила $29,66 \pm 2,57$ %, а у практично здорових дітей – $49,55 \pm 1,11$ % ($p < 0,05$). Аналіз кореляційної діаграми показав: рівень експресії мікро-РНК-4714-3р позитивно корелював зі зниженням скоротливості жовчного міхура за даними УЗД ($r = +0,36$; $p < 0,05$) в обстежених дітей.

Обговорення

Дослідження показали наявність взаємозв'язку між маркерами епігенетичних механізмів регуляції генної експресії на посттранскрипційному рівні та особливостями клінічного перебігу функціональних розладів жовчного міхура та сфінктера Одді в дітей. Під час аналізу кореляційних зв'язків встановили важливу роль у формуванні ФР ЖМ і СФО в дітей спадкових факторів, ускладненого перебігу вагітності, тривалості грудного вигодовування, психоемоційного навантаження, наявності вогнищ хронічної інфекції. У результаті дослідження визначили імовірність асоціації алергологічних та епігенетичних механізмів ФР ЖМ і СФО в дітей. Асоціація клінічних проявів больового абдомінального, диспептичного та астеновегетативного синдромів у дітей з епігенетичними механізмами ФР ЖМ і СФО, можливо, пов'язана з опосередкованою участю мікро-РНК у синтезі білків, диференціюванні клітин і тканин. Зниження скоротливої функції жовчного міхура при функціональних розладах жовчного міхура та сфінктера Одді в дітей корелює зі зниженням рівня експресії мікро-РНК-4714-3р, що, ймовірно, зумовлено впливом епігенетичних механізмів на моторно-евакуаторну функцію біліарної системи.

Висновки

1. Функціональні розлади жовчного міхура та сфінктера Одді в дітей супроводжуються зниженням рівнем

експресії мікро-РНК-4714-3р, нормальними рівнями експресії мікро-РНК-378f і мікро-РНК-4311 у сироватці крові.

2. Рівні експресії мікро-РНК-378f і мікро-РНК-4311 мають зв'язок із сімейною агрегацією патології біліарного тракту в родах дітей із функціональними розладами жовчного міхура та сфінктера Одді переважно за материнською лінією спадковості.

3. У дітей із функціональними розладами жовчного міхура та сфінктера Одді обтяжений алергологічний анамнез асоціюється з рівнями експресії мікро-РНК-4311 і мікро-РНК-4714-3р.

4. Визначили зв'язок між рівнем експресії мікро-РНК-4311 і психоемоційним навантаженням, а також між рівнем активності мікро-РНК-4714-3р і наявністю вогнищ хронічної інфекції в дітей із функціональними розладами жовчного міхура та сфінктера Одді.

5. Встановили асоціацію між рівнями експресії мікро-РНК-4311 і мікро-РНК-4714-3р і клінічними проявами больового абдомінального, диспептичного та астеновегетативного синдромів функціональних розладів жовчного міхура та сфінктера Одді в дітей.

6. Зниження рівня експресії мікро-РНК-4714-3р асоційоване зі зниженням скоротливості жовчного міхура в дітей із функціональними розладами жовчного міхура та сфінктера Одді.

Перспективи подальших досліджень. Встановлені взаємозв'язки між рівнями експресії мікро-РНК-378f, мікро-РНК-4311, мікро-РНК-4714-3р та анamnестичними, клініко-параклінічними параметрами функціональних розладів жовчного міхура та сфінктера Одді в дітей потребують продовження дослідження для підвищення ефективності медикаментозної корекції.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 28.01.2019

Після доопрацювання / Revised: 25.03.2019

Прийнято до друку / Accepted: 08.04.2019

Відомості про авторів:

Абатуров О. Є., д-р мед. наук, професор, зав. каф. педіатрії 1 та медичної генетики, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

ORCID ID: 0000-0001-6291-5386

Бабич В. Л., асистент каф. педіатрії 1 та медичної генетики, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

ORCID ID: 0000-0001-9261-9051

Сведения об авторах:

Абатуров А. Е., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. педиатрии 1 и медицинской генетики, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро.

Бабич В. Л., ассистент каф. педиатрии 1 и медицинской генетики, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро.

Information about the authors:

Abaturov O. Ye., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pediatrics 1 and Medical Genetics, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.

Babych V. L., MD, Assistant of the Department of Pediatrics 1 and Medical Genetics, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.

Список літератури

- [1] Харчова непереносимість у патогенезі функціональних захворювань шлунково-кишкового тракту в дітей раннього віку: підходи до діагностики та лікування / О. Г. Шадрін та ін. *Перинатологія і педіатрія*. 2016. №1(65). С. 104–111. doi: 10.15574/PP.2016.65.104
- [2] Педіатрія (гастроентерологія та патологія раннього віку): навч. посібник / О. П. Волосовець та ін. Одеса, 2017. 264 с.
- [3] Майданник В. Г. Римські критерії IV (2016): що нового? *Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології*. 2016. Т. 10. №1. С. 8–18.
- [4] Уніфікований клінічний протокол медичної допомоги дітям із захворюваннями органів травлення: наказ МОЗ України від 29.01.2013 р. №59. *Современная педиатрия*. 2013. №4. С. 20–31.
- [5] Марушко Ю. В., Нагорна К. І., Брюзгіна Т. С. Клінічні прояви і жирнокислотний баланс у дітей із біліарною дисфункцією і дефіцитом заліза. *Перинатологія і педіатрія*. 2016. №2(66). С. 116–121. doi: 10.15574/PP.2016.66.116
- [6] Тяжка О. В., Сміщук В. В., Брюзгіна Т. С. Значення біохімічного дослідження жовчі як індикатора порушень метаболізму жирних кислот, фосфоліпідів та холестерину в дітей з холелітазом. *Перинатологія і педіатрія*. 2015. №1(61). С. 63–67. doi: 10.15574/PP.2015.61.63
- [7] Механізми порушеної моторно-евакуаторної функції желчного пузьря і їх значення в розвитку холелітаза / Я. М. Вахрушев і др. *Архивъ внутренней медицины*. 2018. №1. С. 53–58.
- [8] Circulating MicroRNAs as Biomarkers in Biliary Tract Cancers / P. Letelier et al. *Int J Mol Sci*. 2016. Vol. 17. Issue 5. P. 791. doi: 10.3390/ijms17050791
- [9] Panella M., Carotenuto P., Braconi C. MicroRNAs link inflammation and primary biliary cholangitis. *Non-coding RNA Investig*. 2018. Vol. 2. P. 29. doi: 10.21037/ncr.2018.05.02
- [10] Circulating biliary tract microRNA signature discriminates cholangiocarcinoma from pancreatic cancer [abstract] / J. R. Puik et al. *Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 2018*; 2018 Apr 14-18; Chicago, IL. Philadelphia (PA): AACR; Cancer Res 2018;78(13 Suppl):Abstract nr 493. doi: 10.1158/1538-7445.AM2018-493
- [11] Абатуров О. Є., Бабич В. Л. Роль мікро-РНК при захворюваннях біліарної системи. *Здоровье ребенка*. 2017. №7(12). С. 155–161. doi: 10.22141/2224-0551.12.7.2017.116191
- [12] Microarray Study of Pathway Analysis Expression Profile Associated with MicroRNA-29a with Regard to Murine Cholestatic Liver Injuries / S. C. Li et al. *Int J Mol Sci*. 2016. Vol. 17. Issue 3. P. 324. doi: 10.3390/ijms17030324
- [13] MicroRNAs and liver disease / M. Otsuka et al. *J Hum Genet*. 2016. Vol. 62. Issue 1. P. 75–80. doi: 10.1038/jhg.2016.53
- [14] Hayes C. N., Chayama K. MicroRNAs as Biomarkers for Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma. *Int. J. Mol. Sci*. 2016. Vol. 17. Issue 3. P. 280. doi: 10.3390/ijms17030280
- [15] Identification of microRNA profiles associated with refractory primary biliary cirrhosis / T. Sakamoto et al. *Mol Med Rep*. 2016. Vol. 14. Issue 4. P. 3350–6. doi: 10.3892/mmr.2016.5606
- [6] Tyazhka, O. V., Smishchuk, V. V., & Bryuzgina, T. S. (2015) Znachennia biokhimichnoho doslidzhennia zhovchi yak indykatora porushen metabolizmu zhyrnykh kyslot, fosfolipidiv ta kholesterynu v ditei z kholelitirozom [Importance of bile biochemical studies as an indicator of fatty acids, phospholipids and cholesterol metabolic disorders in children with cholelithiasis]. *Perinatologia i pediatria*, 1(61), 63–67. doi: 10.15574/PP.2015.61.63 [in Ukrainian].
- [7] Vakhrushev, Ya. M., Khokhlacheva, N. A., Mikheeva, P. S., & Suchkova, E. V. (2018) Mekhanizmy narushenij motorno-e'vakuatornoj funkcii zhelchnogo puzyrya i ikh znachenie v razvitii kholelitiyaza [The mechanisms of the disorders of motor-evacuation function of gall bladder and their importance in the development of cholelithiasis]. *Arhiv' vnutrennej medicyny*, 1, 53–58. [in Russian].
- [8] Letelier, P., Riquelme, I., Hernández, A. H., Guzmán, N., Fariás, J. G., & Roa, J. C. (2016) Circulating MicroRNAs as Biomarkers in Biliary Tract Cancers. *Int J Mol Sci*, 17(5), 791. doi: 10.3390/ijms17050791
- [9] Panella, M., Carotenuto, P., & Braconi, C. (2018) MicroRNAs link inflammation and primary biliary cholangitis. *Non-coding RNA Investig*, 2, 29. doi: 10.21037/ncr.2018.05.02
- [10] Puik, J. R., Meijer, L. L., Le Large, T. Y., Heger, M., Dijk, F., Funel, N., et al. (2018) Circulating biliary tract microRNA signature discriminates cholangiocarcinoma from pancreatic cancer [abstract]. *Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 2018*, Chicago, IL. Philadelphia (PA): AACR; Cancer Res 2018; 78(13 Suppl): Abstract nr 493. doi: 10.1158/1538-7445.AM2018-493
- [11] Abatur, O. E., & Babich, V. L. (2017) Rol mikro-RNK pry zakhvoriuvanniakh biliarnoi systemy [The role of microRNA in diseases of the biliary system]. *Zdorov'e rebenka*, 7(12), 155–161. doi: 10.22141/2224-0551.12.7.2017.116191 [in Ukrainian].
- [12] Li, S. C., Wang, F. S., Yang, Y. L., Tiao, M. M., Chuang, J. H., & Huang, Y. H. (2016) Microarray Study of Pathway Analysis Expression Profile Associated with MicroRNA-29a with Regard to Murine Cholestatic Liver Injuries. *Int J Mol Sci*, 17(3), 324. doi: 10.3390/ijms17030324
- [13] Otsuka, M., Kishikawa, T., Yoshikawa, T., Yamagami, M., Ohno, M., Takata, A., et al. (2016) MicroRNAs and liver disease. *J Hum Genet*, 62(1), 75–80. doi: 10.1038/jhg.2016.53
- [14] Hayes, C. N., & Chayama, K. (2016) MicroRNAs as Biomarkers for Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma. *Int J Mol Sci*, 17(3), 280. doi: 10.3390/ijms17030280
- [15] Sakamoto, T., Morishita, A., Nomura, T., Tani, J., Miyoshi, H., Yoneyama, H., et al. (2016) Identification of microRNA profiles associated with refractory primary biliary cirrhosis. *Mol Med Rep*, 14(4), 3350–6. doi: 10.3892/mmr.2016.5606

References

- [1] Shadrin, O. G., Marushko, T. L., Radushinskaya, T. Yu., Marushko, R. V., Fisun, V. N., Kovalchuk, A. A., & Bondarenko, N. Y. (2016). Kharchova neperenosymist u patopenezi funktsionalnykh zakhvoriuvan shlunkovo-kyshkovoho traktu v ditei rannoho viku: pidkhody do diahnozyky ta likuvannia [Food intolerance in the pathogenesis of functional gastrointestinal disorders in infants: approaches to diagnosis and treatment]. *Perinatologia i pediatria*, 1(65), 104–111. doi: 10.15574/PP.2016.65.104 [in Ukrainian].
- [2] Volosovets, O. P., Zubarenko, O. V., & Kryvopustov, S. P. (2017) *Pediatria (hastroenterologia ta patologia rannoho viku) [Pediatrics (Gastroenterology and Pathology of the Early Age)]*. Odessa. [in Ukrainian].
- [3] Maidannyk, V. G. (2016). Rymski kryterii IV (2016): shcho novoho? [Rome IV (2016) criteria: What is new?]. *Mizhnarodnyi zhurnal pediatrii, akusherstva ta hinekolohii*, 1(10), 8–18. [in Ukrainian].
- [4] (2013) Unifikovanyi klinichniy protokol medychnoi dopomohy ditiam iz zakhvoriuvanniamy orhaniv travlennia : nakaz MOZ Ukrainy vid 29.01.2013. №59 [Unified clinical protocol of medical aid for children with diseases of the digestive system: Order of the Ministry of Health of Ukraine from January 29, 2013. №59]. *Sovremennaya pediatriya*, 4, 20–31. [in Ukrainian].
- [5] Marushko, U. V., Nagorna, K. I., & Bryuzgina, T. S. (2016). Klinichni proiavy i zhynokyslotnyi balans u ditei iz biliarnoiu dysfunksiei u defitsytom zaliza [Clinical manifestation and fatty acid balance in children with biliary dysfunction and iron deficiency]. *Perinatologia i pediatria*, 2(66), 116–121. doi: 10.15574/PP.2016.66.116 [in Ukrainian].