

На правах рукописи

ПОЖАРИЩЕНСКАЯ ВАЛЕРИЯ КОНСТАНТИНОВНА

**КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ФОРМИРОВАНИЯ
БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ**

14. 01. 08-Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном автономном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук

Ирина Владимировна Давыдова

Научный консультант:

Кандидат биологических наук

Кирилл Викторович Савостьянов

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, заведующий кафедрой педиатрии медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Российский университет дружбы народов" Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Дмитрий Юрьевич Овсянников

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской генетики федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова" Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Алий Юрьевич Асанов

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится « » _____ 2020 года в « » часов на заседании диссертационного совета Д 001.023.01 при федеральном государственном автономном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу 119991, Москва, Ломоносовский проспект, 2 стр. 1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу 119991, Москва, Ломоносовский проспект, 2 стр. 1 и на сайте <http://www.nczd.ru>

Автореферат разослан « » _____ года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор РАН

Ирина Валериевна Винярская

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Бронхолегочная дисплазия (БЛД) является многофакторным хроническим заболеванием легких, встречающимся, в основном, у недоношенных детей в 15-40% случаев. Существуют общеизвестные факторы риска формирования данного заболевания: низкая масса тела при рождении, недоношенность, респираторный дистресс-синдром (РДС), респираторная поддержка в неонатальном периоде. В настоящее время отмечается совершенствование реанимационных протоколов для недоношенных новорожденных, включающих профилактическое и терапевтическое применение препаратов сурфактанта, раннее проведение респираторной поддержки постоянным положительным давлением в дыхательных путях (СРАР), раннее медикаментозное или хирургическое закрытие гемодинамически значимого открытого артериального протока (ОАП), кофеинотерапию, применение витамина А и другие стратегии с высоким уровнем доказательности эффективности их применения (Давыдова И.В., 2010, Овсянников Д.Ю. и соавт., 2016, Павлинова Е.Б., 2014, Lindsey A. Morrow et al., 2012, Amr Hosny Malash et al., 2016).

Современная концепция этиопатогенеза БЛД включает в себя общие положения о многофакторности этой патологии, а также о сложном характере взаимодействия как наследственных, так и внешнесредовых факторов в процессе развития заболевания.

Очевидно, что не все недоношенные дети, имеющие факторы риска развития БЛД, формируют данное заболевание. Одним из важнейших моментов в профилактике развития БЛД является грамотная стратегия респираторной поддержки недоношенного ребенка с РДС в неонатальном периоде, позволяющая предотвратить формирование данного заболевания. Тем не менее, наличие значимой когорты недоношенных детей с диагнозом БЛД в исходе РДС, даже при условии проведения им адекватной респираторной поддержки в первые недели жизни, свидетельствует о наличии иных факторов, определяющих возможность хронизации бронхолегочного процесса у данной категории больных. Идея существования определенной генетической предрасположенности детей к тяжелому течению РДС с последующим формированием бронхолегочной дисплазии, в последнее время изучается во всем мире (Condò V. et al., 2016, Tian W. et al., 2016, Abbasi F. et al., 2017). В отечественной литературе доступны результаты единичных исследований по изучению ассоциации генов-кандидатов с развитием БЛД у недоношенных детей (Павлинова Е.Б., 2011, Панов П.В., 2015, Панченко А.С., 2015 Межинский С.С., 2019).

Предполагается, что с изучением роли генетических факторов предрасположенности к формированию БЛД будет связан научный прогресс в раскрытии патогенеза заболевания, а также в разработке эффективных методов профилактики его формирования, что приведет к уменьшению фармакоэкономических затрат за счет адекватного научно-обоснованного прогнозирования постнатального развития и тактики лечения таких больных.

Учитывая это, работы, направленные на выявление генетических предикторов формирования БЛД и их сопоставление с клинико-анамнестическими факторами риска, являются особенно актуальными, тем более, что на сегодняшний день клинически значимых результатов ассоциативных генетических исследований получено очень мало.

В мировой научной литературе последних лет отмечен существенный интерес к выявлению генетических предикторов формирования БЛД. Активно исследуется ассоциация генов-кандидатов, которые могут быть вовлечены в развитие БЛД на уровне различных систем организма: антиоксидантной, сосудистой системы легких, протеолитических ферментов, а также системы продукции белков сурфактанта (Sampath V. et al., 2012, Hamvas A. 2012, Hu LY. et al., 2017, Huusco JM. et al., 2014, Jazaeri A. et al., 2017, Jo HS. et al., 2013, Kreft K. et al., 2017).

Степень разработанности темы

Тяжесть течения заболевания и социально-экономическая значимость последствий формирования БЛД у недоношенных детей остается актуальной проблемой здравоохранения, что определяет необходимость поиска генетических предикторов формирования БЛД у недоношенных детей. При анализе научной литературы, посвященной данной проблеме, было отмечено, что вопрос генетической детерминации формирования БЛД у недоношенных детей остается недостаточно изученным (Беляшова М.А. и соавт., 2015, Межинский С.С., 2019, Овсянников Д.Ю., 2016, Павлинова Е.Б., 2012, Хиггинс Р.Д. и соавт., 2019, Bao-huan Cai et al., 2013, Kropski JA. et al., 2013, Liu Z. et al., 2019).

В отечественной и зарубежной литературе представлены научные исследования, касающиеся в основном изучения полиморфизма генов, кодирующих белки факторов роста фибробластов, белки сурфактанта, белки металлопротеиназ. Исследования, посвященные генам, кодирующим белки, влияющие на формирование воспалительного ответа, единичны (Abbasi F. et al., 2017, Adam S. et al., 2013, Moumni I. et al., 2014, Shi-Qi Huang. Et al., 2017, Tai AS. et al., 2018, Tian W. et al., 2016, Voynow JA., 2017, Wawrusiewicz-Kurylonek N. et al., 2019).

В настоящее время необходимо обобщение данных мировой литературы, а также анализ собственных данных, касающихся сопоставления клинико-анамнестических и генетических факторов риска формирования БЛД у недоношенных детей, а также создание алгоритма клинико-генетической диагностики БЛД, что будет иметь как научную, так и практическую значимость.

Цель исследования: выявить генетические факторы предрасположенности к формированию бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей и сопоставить их с клинико-анамнестическими факторами риска развития данного заболевания.

Задачи исследования:

1. Провести клинико-анамнестическую и рентгенологическую оценку недоношенных детей, получавших респираторную поддержку в неонатальном периоде, сформировавших и не сформировавших бронхолегочную дисплазию.

2. Проанализировать однонуклеотидные варианты генов-кандидатов, кодирующих белки сурфактанта (*SFTPВ*, *SFTPС*, *SFTPА*), факторы роста фибробластов (*FGFR4*,

FGFR2), металлопротеиназы (*MMP2, MMP9, MMP12, MMP16*), генов, кодирующих белки, влияющие на формирование воспалительного ответа (*PTPN22, HLA-DRA, TAGAP, TYK2, LOC102723878*) у недоношенных детей, сформировавших и не сформировавших бронхолегочную дисплазию.

3. Определить влияние однонуклеотидных вариантов генов-кандидатов на формирование бронхолегочной дисплазии с учетом клинико-анамнестических и рентгенологических характеристик пациентов.

4. Создать алгоритм клинико-генетической диагностики бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей.

Научная новизна

Впервые создана база данных ДНК недоношенных детей, сформировавших и не сформировавших БЛД.

Впервые обосновано включение оценки по шкале APGAR менее 4 баллов на 1 и 5 минутах жизни в группу факторов высокого риска формирования БЛД.

Впервые в Российской Федерации у недоношенных детей в одном исследовании были проанализированы варианты однонуклеотидных вариантов генов-кандидатов, кодирующих белки сурфактанта (*SFTPB, SFTPC, SFTPA*), факторы роста фибробластов (*FGFR4, FGFR2*), металлопротеиназы (*MMP2, MMP9, MMP12, MMP16*), а также генов, кодирующих белки, влияющие на формирование воспалительного ответа (*PTPN22, HLA-DRA, TAGAP, TYK2, LOC102723878*) у недоношенных детей, сформировавших и не сформировавших БЛД.

Впервые сопоставлены клинико-анамнестические и генетические факторы риска формирования БЛД у недоношенных детей.

Впервые определены генетические маркеры предрасположенности к формированию БЛД у недоношенных детей.

Впервые создан алгоритм клинико-генетической диагностики БЛД у недоношенных детей с целью внедрения его педиатрическую практику.

Теоретическая и практическая значимость работы

Доказано, что недоношенным детям, имеющим высокий риск развития БЛД по результатам сопоставления клинико-анамнестических и генетических факторов риска, необходимо проведение комплексной медикаментозной профилактики до 28 дня жизни.

Особую ценность для использования в клинической практике имеют определенные в исследовании генетические предикторы формирования БЛД, что позволяет использовать разработанный алгоритм клинико-генетической диагностики для прогноза формирования БЛД у недоношенных детей в неонатальном периоде с целью своевременного назначения медикаментозной профилактики этой патологии.

Основные результаты исследования рекомендованы для использования в лечебных учреждениях, занимающихся выхаживанием недоношенных детей (перинатальные центры, отделения реанимации и интенсивной терапии и отделения 2 этапа выхаживания недоношенных детей).

Методология и методы исследования

При выполнении настоящей работы были изучены и проанализированы данные отечественной и иностранной научной литературы, касающиеся клинико-анамнестических и генетических факторов риска формирования БЛД у недоношенных детей.

В настоящем исследовании был проведен ретроспективный анализ данных медицинской документации (выкопировка данных из истории болезни, амбулаторных карт). Выборка репрезентативна, соответствует признакам генеральной совокупности. Исследование одномоментное (поперечное), случай-контроль.

Оценка рентгенологических признаков структурных изменений респираторной системы проводилась методом мультислайдовой компьютерной томографии органов грудной клетки (МСКТ ОГК) в фазе физиологического или медикаментозного сна на мультиспиральном компьютерном томографе «Aquilion» фирмы TOSHIBA.

Выделение дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) осуществлялось методом экстракции фенол-хлороформом из пятен крови, высушенных на фильтровальной бумаге, с дальнейшим проведением полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Качество и количество выделенной геномной ДНК оценено при помощи спектрофотомера NanoVue (GE Healthcare, США), а также флуориметрически с использованием флуориметра нового поколения Qubit 3.0 (Invitrogen, США). Участки исследуемых генов амплифицировали с использованием метода ПЦР в режиме реального времени на термоциклере «ABI StepOnePlus» («Applied Biosystems», США) (Green R And Sambrook J. Isolation of High-Molecular-Weight DNA Using Organic Solvents // Cold Spring Harb Protoc. 2017).

В исследованиях типа «случай-контроль» относительный риск развития заболевания оценивался с помощью показателя соотношения шансов (ОШ), вычислявшегося с помощью программы «Калькулятор для расчета статистики в исследованиях «случай-контроль» (http://test.tapotili.ru/calculator_org.php).

Математическая обработка материала проведена с использованием статистического пакета IBM SPSS 6.0, Microsoft Office Excel 7.0. Для статистической обработки результатов применялись методы описательной статистики в качестве основных характеристик использовались средняя арифметическая (M) при нормальном распределении, стандартное отклонение (SD), определение 95% доверительного интервала (ДИ). В случае распределения, отличающегося от нормального, или анализа порядковых переменных, использовался непараметрический критерий Манна-Уитни (U) для двух независимых выборок. Для выявления корреляционной взаимосвязи двух признаков (силы и направления) применялся ранговый коэффициент корреляции Пирсона (r) и непараметрический коэффициент корреляции Спирмена. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Подтверждено, что риск формирования бронхолегочной дисплазии имеют дети с ОНМТ и ЭНМТ при рождении, с низкими баллами оценки по шкале APGAR на 1 и 5 минутах жизни и длительной кислородозависимостью. Полученные данные

соответствуют общепринятым в настоящее время представлениям о влиянии клинико-анамнестических факторов риска на развитие БЛД у недоношенных детей.

2. Показана возможность влияния генотипов *TC* и *CC* варианта g.102736642T>C (rs652438) гена *MMP12*, ответственного за процессы протеолиза легочной ткани, и варианта rs694739 гена *LOC102723878*, расположенного в области гена *PRDX5*, играющего важную роль в формировании воспалительного ответа, на формирование бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей.

3. Ассоциации других исследованных однонуклеотидных вариантов генов-кандидатов, кодирующих факторы роста фибробластов *FGFR4* (rs376618, rs1966265), *FGFR2* (rs2981579, rs1219648), белки сурфактантов *SFTPA1* (rs4253527), *SFTPA2* (rs121917737, rs121917738), *SFTPB* (rs137853202), *SFTPC* (rs121918559, rs121918560, rs121917834, rs34957318, rs121917835, rs121917836, rs121918560) и генов, кодирующих белки, влияющие на формирование воспалительного ответа *PTPN22* (rs2476601), *HLA-DRA* (rs9268645), *TAGAP* (rs1738074), *TYK2* (rs34536443, rs2304256), с развитием бронхолегочной дисплазии в исследовании обнаружено не было.

Внедрение результатов исследования в практическое здравоохранение

Основные научные положения, выводы и рекомендации исследования использовались в научной и клинической работе отделения патологии новорожденных детей ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России и отделения патологии новорожденных ГБУЗ «ДГКБ №9 им. Г.Н. Сперанского».

Степень достоверности результатов исследования

Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается репрезентативной выборкой пациентов, использованием методологических стандартов научно-обоснованной медицинской практики, современных информативных методов лабораторного и инструментального обследования, адекватных методов анализа и статистической обработки данных.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены на XXVI Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2019». МГУ (Москва, 2019), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Осенние филатовские чтения» (Пенза, 2019).

Публикации

По материалам диссертационного исследования опубликовано 7 печатных работ, включая 4 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, в том числе 1 статья в журнале, индексируемом в Scopus.

Личный вклад автора

Автором лично выполнена основная работа на всех этапах диссертации: анализ литературных источников и подготовка обзора литературы, постановка цели и задач исследования, формирование базы данных, ретроспективный анализ медицинской документации, клиническое наблюдение недоношенных детей, сформировавших и не сформировавших БЛД, выделение ДНК методом экстракции фенол-хлороформом из

пятен крови, высушенных на фильтровальной бумаге с дальнейшим проведением ПЦР в режиме реального времени, статистическая обработка и интерпретация полученных данных, на основании которых были сформулированы основные положения диссертационной работы, выводы и практические рекомендации.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 106 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, выводов, практических рекомендаций, 1 приложения. Работа содержит 12 рисунков, 12 таблиц. Библиографический список представлен 139 источниками, из них 21 отечественных и 118 зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объем и методы исследования

Настоящее исследование проводилось в течение 2014-2018 гг. на базе ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, (директор – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач РФ, А.П. Фисенко), в отделении восстановительного лечения детей раннего возраста с перинатальной патологией (руководители - доктор медицинских наук И.В. Давыдова, кандидат медицинских наук Е.П. Зими́на) и лаборатории молекулярной генетики и медицинской геномики (руководитель – кандидат биологических наук К.В. Савостьянов).

Исследование одобрено локальным независимым этическим комитетом ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. Информированное согласие на участие пациента в исследовании подписывалось его родителями или законными представителями. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Для решения поставленных в работе задач были использованы следующие методы:

1. Анализ анамнестических и клинических данных наблюдаемых больных и ретроспективный анализ медицинской документации (история болезни, амбулаторная карта). Сбор и анализ демографических данных (пол, возраст), акушерско-гинекологического анамнеза матери и анамнеза ребенка (гестационный возраст, масса тела, длина тела при рождении и оценка по шкале APGAR на 1 и 5 минутах жизни, длительность и режимы ИВЛ, длительность кислородозависимости, сопутствующая патология, анамнез настоящей болезни).
2. Инструментальное обследование детей (МСКТ ОГК)
3. Выделение ДНК методом экстракции фенол-хлороформом из пятен крови, высушенных на фильтровальной бумаге.
4. Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени.
5. Методы математической статистики и корреляционного анализа.

Вышеперечисленные современные высокотехнологичные методы позволили оценить тяжесть течения БЛД и обнаружить ассоциированные с развитием БЛД у недоношенных детей однонуклеотидные варианты генов-кандидатов.

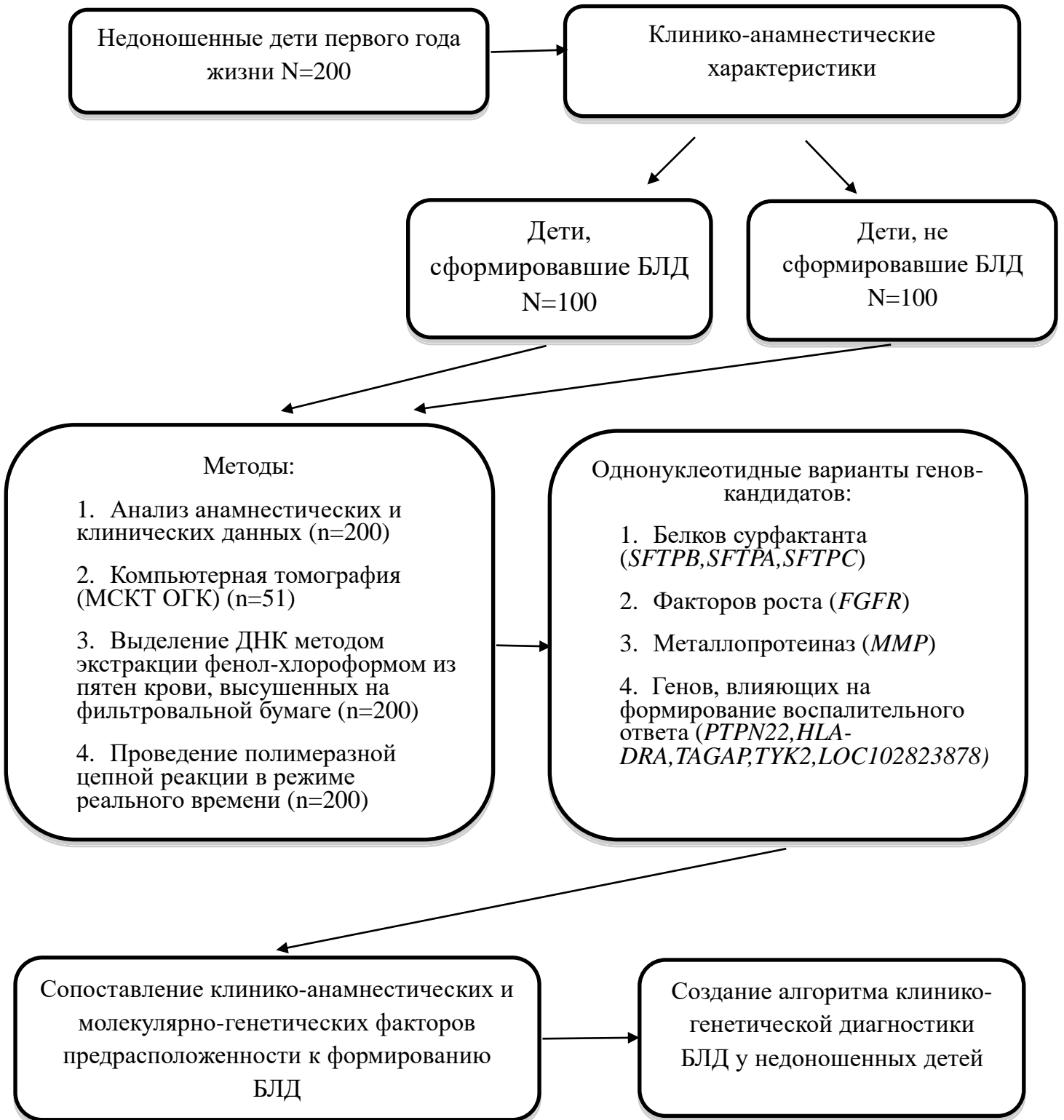


Рисунок 1. Дизайн исследования

В соответствии с целями и задачами в исследование были включены результаты ретроспективного анализа медицинской документации (история болезни, амбулаторная карта) 200 недоношенных детей, сформировавших (n=100) и не сформировавших БЛД (n=100).

Критерии включения в исследование:

1. Недоношенные дети, получавшие респираторную поддержку в неонатальном периоде в связи с РДС недоношенных, сформировавшие и не сформировавшие БЛД
2. Гестационный возраст ребенка при рождении менее 37 недель
3. Возраст ребенка на момент сбора данных не более 1 года

Критерии исключения из исследования:

1. Доношенные дети
2. Генетически обусловленные синдромальные состояния у детей
3. Дети с врожденными пороками легких, муковисцидозом, врожденным стридором.

Клинико-anamnestическая характеристика недоношенных детей, сформировавших и не сформировавших БЛД.

Проведен анализ анамнестических и клинических данных наблюдаемых больных и ретроспективный анализ медицинской документации (история болезни, амбулаторная карта), акушерско-гинекологического анамнеза матери и анамнеза ребенка (гестационный возраст, масса тела, длина тела при рождении и оценка по шкале АРGAR на 1 и 5 минутах жизни, длительность и режимы ИВЛ, длительность кислородозависимости, сопутствующая патология, анамнез настоящей болезни).

В исследование включены 200 недоношенных детей первого года жизни с гестационным возрастом менее 37 недель при рождении и РДС в неонатальном периоде.

Основную группу составили 100 недоношенных детей, сформировавших бронхолегочную дисплазию (мальчиков – 55, девочек – 45), с гестационным возрастом до 28 недель 6 дней – 54%, от 29 недель до 31 недели 6 дней – 34%, от 32 недель до 36 недель 6 дней – 12% и массой тела при рождении от 480 до 2910 граммов, в основном дети с очень низкой (ОНМТ) и экстремально низкой массой тела (ЭНМТ) при рождении (78%). Преобладание мальчиков среди пациентов с БЛД подтверждает факт более частого формирования патологии бронхолегочной системы у лиц мужского пола. Заместительную терапию сурфактантом в родильном доме получили 74% детей основной группы, среди детей с ЭНМТ и ОНМТ этот процент составил 92%. Новая форма БЛД верифицирована у 80% детей основной группы, классическая форма – у 20%. По степени тяжести течения заболевания дети группы с бронхолегочной дисплазией распределились таким образом: легкое течение – 22%; среднетяжелое течение – 60%; тяжелое течение – 18%.

Группу контроля составили 100 недоношенных детей, не сформировавших БЛД (мальчиков – 59, девочек – 41), со сроком гестации до 28 недель 6 дней – 9%, от 29 недель до 31 недели 6 дней – 55%, от 32 недель до 36 недель 6 дней – 36% и массой тела при рождении от 740 до 2950 граммов, дети с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении составили 45%. Заместительную терапию сурфактантом в родильном доме получили 53% детей, среди детей с ЭНМТ и ОНМТ этот процент составил 66%.

В группе детей, сформировавших БЛД, ЭНМТ при рождении отмечалась в 48% случаев; ОНМТ - в 30% случаев; НМТ в 16% случаев; дети, рожденные с массой тела более 2000г, составили 6%. В группе детей, не сформировавших БЛД, ЭНМТ при рождении отмечалась в 13% случаев; ОНМТ - в 32% случаев; НМТ в 24% случаев; дети, рожденные с массой тела более 2000 граммов, составили 31%. По шкале APGAR на первой минуте после рождения 68% детей из основной группы имели оценку от 1 до 5 баллов, 32% детей - 6 баллов и более. К 5-й минуте после рождения 27% детей имели оценку по шкале APGAR 5 баллов и ниже. В группе контроля на первой минуте после рождения 24% детей имели оценку от 1 до 5 баллов, 76% детей - 6 баллов и более. К 5-й минуте после рождения только 5% детей имели оценку по шкале APGAR 5 баллов и ниже. У детей основной группы длительность традиционной ИВЛ составила 1–105 суток (в группе контроля 1-14 суток), Biphasic в основной группе не проводился (в группе контроля 1-18 суток), длительность СРАР в основной группе составила 1-90 суток (в группе контроля 1-18 суток), кислородная палатка в основной группе 1-37 суток (в группе контроля 2-12 суток), кислородная маска в основной группе 1-245 (в группе контроля 1-30).

Все дети, включенные в исследование, получили комплексное клинико-инструментальное обследование, включавшее антропометрию, соматический осмотр пациентов. Всем детям был проведен забор капиллярной крови на фильтровальную бумагу с дальнейшим выделением ДНК методом экстракции фенол-хлороформом и проведением полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

Мультислайсовая компьютерная томография органов грудной клетки детям первого года жизни с бронхолегочной дисплазией.

Для уточнения локализации и характера поражения легких у детей с БЛД применялся современный метод визуализации - мультислайсовая компьютерная томография органов грудной клетки в фазе физиологического или медикаментозного сна на мультиспиральном компьютерном томографе «Aquilion» фирмы TOSHIBA. При этом были соблюдены следующие физико-технические условия для спирального сканирования: напряжение - 100 кV, экспозиция - 120 mAs, скорость сканирования - 10 мм/с. Количество срезов – 64, двухэнергетический, толщина среза 0,65 мм. У 4 детей были ретроспективно проанализированы КТ грудной клетки, выполненные в других лечебных учреждениях.

Выделение ДНК методом экстракции фенол-хлороформом из пятен крови, высушенных на фильтровальной бумаге.

Геномная ДНК была выделена из образцов сухих пятен крови методом фенол-хлороформной экстракции. Для этого к образцу сухого пятна крови, добавляли 200 мкл буфера следующего состава (10 mM Трис–HCl (pH = 8,0), 0,32 M сахараза, 10 mM ЭДТА, 100 mM NaCl, 0,1%-ный тритон X-100), добавляли ДТТ, ДСН и протеиназу К в конечной концентрации 0,2%, 40 mM и 20 мкг/мл, соответственно, после чего инкубировали либо при 37°C в течение ночи, либо 2 часа при 60°C. Затем последовательно обрабатывали фенолом, смесью фенол/хлороформ (1:1) и хлороформом (дважды на каждой стадии). ДНК осаждали добавлением 1 мл 96%-ного этанола в

присутствии 0,3 М ацетата натрия с последующей инкубацией при -70°C . Осадок ДНК промывали 80%-ным этанолом, сушили на воздухе и растворяли в 30 мкл бидистиллированной воды. Препараты ДНК хранили при -70°C [Green R And Sambrook J. Isolation of High-Molecular-Weight DNA Using Organic Solvents // Cold Spring Harb Protoc. 2017.]. Качество и количество выделенной геномной ДНК оценено при помощи спектрофотомера NanoVue (GE Healthcare, США), а также флуориметрически с использованием флуориметра нового поколения Qubit 3.0 (Invitrogen, США).

Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени.

Участки исследуемых генов амплифицировали с использованием метода ПЦР в режиме реального времени на термоциклере “ABI StepOnePlus” («Applied Biosystems», США) в 20 мкл реакционной смеси следующего состава: 70 мМ буфер Трис-НСl, рН 8,8, 16,6 мМ сульфат аммония, 0,01%-ный Твин-20, 2 мМ хлорид магния, 200 нмоль каждого dNTP, 500 нмоль праймеров («Евроген», Россия), 250 нмоль флуоресцентных зондов («ДНК-Синтез», Россия), 1,5 ед. Таq ДНК-полимеразы («Евроген», Россия), 50-100 нг геномной ДНК. Условия ПЦР: $95^{\circ}\text{C}/2$ мин – 1-й цикл; 94°C , 10 с, $54-66^{\circ}\text{C}$, 60 с – 40 циклов. Последовательности праймеров, флуоресцентных зондов и метод определения генотипов исследованных локусов приведены в таблице 2.2.1. В зондах использовались флуоресцентные красители – FAM (карбоксифлуоресцеин) и HEX (гексахлорофлуоресцеин), а также тушитель флуоресценции – BHQ-1. Обозначения полиморфных маркеров соответствуют принятым в базе данных dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Отмечено, что в обеих группах преобладали мальчики. Однако, достоверных различий по гендерному признаку между детьми, сформировавшими и не сформировавшими БЛД, не выявлено.

У детей с БЛД верифицированы меньшие значения таких антропометрических показателей, как длина тела и масса тела при рождении, по сравнению с пациентами, не сформировавшими БЛД, что напрямую связано с меньшим средним гестационным возрастом недоношенных в этой группе.

Развитие БЛД наиболее характерно для глубоко недоношенных детей. Одновременно с достоверно более низким уровнем средних показателей гестационного возраста детей первой группы, у них же отмечают достоверно более низкие показатели средней массы тела при рождении. Дети с БЛД имели меньшую массу тела при рождении ($1184,5 \pm 94,8$ граммов) по сравнению с детьми без БЛД ($1724,7 \pm 118,3$ граммов). В группе пациентов с БЛД наиболее часто встречались недоношенные с очень низкой и экстремально низкой массой тела, в отличие от группы контроля, где в 50% случаев представлены дети с массой тела при рождении >1500 граммов.

Тяжелая гипоксия на 1 минуте после рождения была верифицирована у 10% детей, которые имели оценку по шкале APGAR от 1 до 3 баллов. Стоит отметить, что среди

недоношенных детей с тяжелой гипоксией на 1 минуте после рождения ($n=23$) превалировали дети из 1 группы (78% от числа детей с тяжелой гипоксией). В общей когорте недоношенных ($n=200$), превалировали дети с умеренной степенью гипоксии (4 - 6 баллов), которая была верифицирована у 66% от общего числа недоношенных детей, преимущественно детей из 1 группы (60% от числа детей с умеренной степенью гипоксии). К 5-й минуте после рождения только лишь 16% от общего числа недоношенных детей имели оценку по шкале APGAR 5 баллов и ниже, а в 84% случаев от общего числа недоношенных было верифицировано 6 и более баллов.

В респираторной поддержке нуждались все дети, вошедшие в исследование ($n=200$). Щадящая респираторная поддержка путем поддержания постоянного положительного давления в дыхательных путях методом CPAP была проведена 108 пациентам из общей когорты недоношенных детей (54%). Пациенты из группы детей, сформировавших БЛД, составили 44% из всех детей, получающих респираторную поддержку методом CPAP. Респираторная поддержка методом Biphasic была проведена 28 недоношенным детям, не сформировавшим БЛД. Респираторная поддержка методом традиционной ИВЛ, относящаяся к факторам высокого риска повреждения легочной ткани, была оказана 93% детей, сформировавших БЛД и 57% детей, не сформировавших БЛД. Длительность ИВЛ составила в среднем 29 суток жизни в основной группе пациентов и 4,4 суток жизни - в контрольной группе. Длительность традиционной ИВЛ до 14 суток жизни отмечалась у 38 детей основной группы (41% от числа детей с БЛД, получивших респираторную поддержку методом традиционной ИВЛ) и у 57 детей контрольной группы (100% от числа детей без БЛД, получивших респираторную поддержку методом традиционной ИВЛ). Таким образом, дети, сформировавшие БЛД, нуждались в более длительной респираторной поддержке, чем дети контрольной группы. Преимущественным методом являлась традиционная ИВЛ.

Все дети, сформировавшие БЛД ($n=100$), получили дополнительную оксигенацию длительностью более 28 суток жизни. В среднем, длительность дополнительной оксигенации в основной группе составила $59,1 \pm 3,9$ суток. В группе пациентов, не сформировавших БЛД, среднее значение вышеуказанного показателя было достоверно ниже ($11,5 \pm 1,2$ суток).

По результатам нашего исследования мы можем подтвердить полученные другими авторами данные, что риск формирования БЛД имеют дети с ОНМТ и ЭНМТ при рождении, с низкими баллами оценки по шкале APGAR на 1 и 5 минутах жизни и длительной кислородозависимостью, превышающей 28 суток жизни.

Для уточнения локализации и характера поражения легких у детей с БЛД применялся современный метод визуализации - мультислайсовая компьютерная томография органов грудной клетки (МСКТ ОГК). Всего методом МСКТ ОГК в нашем исследовании был обследован 51 недоношенный ребенок из группы сформировавших БЛД. По данным МСКТ ОГК проводилась балльная оценка рентгенологических изменений с применением запатентованной в 2010 г. инновационной отечественной шкалы рентгенологической оценки степени тяжести БЛД (патент № 2401066), позволяющей дифференцировать детей, зависимых и независимых от кислорода в 36

недель ПКВ и предсказать рецидивирование респираторных симптомов в 6 месяцев скорректированного возраста, где легкое течение БЛД соответствует 1-5, среднетяжелое 6-10, тяжелое 11-15 баллам. Средний балл КТ в группе детей с легким течением БЛД ($n = 15$) составил $3,6 \pm 1,2$ баллов, в группе детей со среднетяжелым течением ($n = 29$) средний балл КТ составил $7,5 \pm 1,2$ баллов, группе больных с тяжелым течением ($n = 7$) средний балл КТ составил $11,4 \pm 0,5$ баллов. Таким образом, в исследуемой группе пациентов с БЛД преобладали дети со среднетяжелым и тяжелым течением заболевания, что соответствует оценке 6-15 баллов по шкале и свидетельствует о выраженности пневмофиброза у данной категории больных.

Полученные клинико-anamnestические и инструментальные данные подтверждают общепринятые представления о формировании БЛД у недоношенных детей. Однако наш клинический опыт и наблюдения коллег свидетельствуют о том, что при наличии одинаковых исходных показателей при рождении и проведении однотипной респираторной поддержки возможно как формирование БЛД, так и благоприятное разрешение РДС без формирования данного заболевания. Возможность генетической детерминации формирования БЛД является весьма актуальной для изучения данной проблемы на современном этапе.

В настоящем исследовании был проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов однонуклеотидных вариантов генов-кандидатов, кодирующих факторы роста фибробластов *FGFR4* (rs376618, rs1966265), *FGFR2* (rs2981579, rs1219648)), белки сурфактантов *SFTPA1* (rs4253527), *SFTPA2* (rs121917737, rs121917738), *SFTPB* (rs137853202), *SFTPC* (rs121918559, rs121918560, rs121917834, rs34957318, rs121917835, rs121917836, rs121918560)), металлопротеиназы *MMP2* (rs7201, rs17301608, rs243865), *MMP9* (rs20544, rs3918242, rs17576), *MMP12* (rs2276109, rs652438), *MMP16* (rs2664352), а также генов, кодирующих белки, влияющие на формирование воспалительного ответа *PTPN22* (rs2476601), *HLA-DRA* (rs9268645), *TAGAP* (rs1738074), *TYK2* (rs34536443, rs2304256), *LOC102823878* (rs 694739).

При проведении анализа распределения частот аллелей и генотипов варианта rs652438 гена *MMP12*, ответственного за процессы протеолиза легочной ткани и rs694739 гена *LOC102823878*, расположенного в области гена *PRDX5*, играющего важную роль в формировании воспалительного ответа, выявлены статистически значимые различия в группах недоношенных детей, сформировавших и не сформировавших БЛД.

Ассоциации других исследованных вариантов генов, кодирующих факторы роста фибробластов *FGFR4* (rs376618, rs1966265), *FGFR2* (rs2981579, rs1219648), белки сурфактантов *SFTPA1* (rs4253527), *SFTPA2* (rs121917737, rs121917738), *SFTPB* (rs137853202), *SFTPC* (rs121918559, rs121918560, rs121917834, rs34957318, rs121917835, rs121917836, rs121918560), а также генов, кодирующих белки, влияющие на формирование воспалительного ответа *PTPN22* (rs2476601), *HLA-DRA* (rs9268645), *TAGAP* (rs1738074), *TYK2* (rs34536443, rs2304256) с развитием БЛД в нашем исследовании обнаружено не было.

В группе недоношенных детей, сформировавших БЛД, по сравнению с группой контроля, чаще встречался аллель *C* ($p=0,02$, ОШ 1,78 (95% ДИ 1,09-2,90), генотипы *CC* ($p=0,03$, ОШ 3,20 (95% ДИ 0,84-12,18) и *TC* ($p=0,03$, ОШ 1,39 (95% ДИ 0,76-2,55) варианта $g.102736642T>C$ (rs652438) гена *MMP-12*, а также аллель *C* ($p=0,004$, ОШ 1,8 (95% ДИ 1,21-2,67), генотипы *CC* ($p=0,0004$, ОШ 3,02 (95% ДИ 1,32-6,91) и *TC* ($p=0,0004$, ОШ 1,05 (95% ДИ 0,57-1,96) варианта rs694739 гена *LOC102723878* (табл.1-4).

Таблица 1.

Распределение частот аллелей *T* и *C* варианта $g.102736642T>C$ (rs652438) гена *MMP12* среди недоношенных детей, сформировавших и не сформировавших БЛД (мультипликативная модель наследования)

Аллели	Дети, сформировавшие БЛД	Дети, не сформировавшие БЛД	χ^2	p	ОШ	95% ДИ
	(N=100)	(N=100)				
Аллель <i>T</i>	0,740	0,835	5,39	0,02	0,56	0,34-0,92
Аллель <i>C</i>	0,260	0,165			1,78	1,09-2,90

Таблица 2.

Распределение частот генотипов *CC*, *TC* и *TT* варианта $g.102736642T>C$ (rs652438) гена *MMP12* среди недоношенных детей, сформировавших и не сформировавших БЛД (аддитивная модель наследования)

Генотипы	Дети, сформировавшие БЛД	Дети, не сформировавшие БЛД	χ^2	p	ОШ	95% ДИ
	(N=100)	(N=100)				
Генотип <i>TT</i>	0,570	0,700	4,95	0,03	0,57	0,32-1,02
Генотип <i>TC</i>	0,340	0,270			1,39	0,76-2,55
Генотип <i>CC</i>	0,090	0,030			3,20	0,84-12,18

Таблица 3.

Распределение частот аллелей Т и С варианта rs694739 гена LOC102823878 среди недоношенных детей, сформировавших и не сформировавших БЛД (мультипликативная модель наследования)

Аллели	Дети, сформировавшие БЛД	Дети, не сформировавшие БЛД	χ^2	р	ОШ	95% ДИ
	(N=100)	(N=100)				
Аллель Т	0,405	0,550	8,43	0,004	0,56	0,37-0,83
Аллель С	0,595	0,450			1,80	1,21-2,67

Таблица 4.

Распределение частот генотипов СС, ТС и ТТ варианта rs694739 гена LOC102823878 среди недоношенных детей, сформировавших и не сформировавших БЛД (общая модель наследования)

Генотипы	Дети, сформировавшие БЛД	Дети, не сформировавшие БЛД	χ^2	р	ОШ	95% ДИ
	(N=100)	(N=100)				
Генотип ТТ	0,040	0,190	15,91	0,0004	0,18	0,06-0,54
Генотип ТС	0,730	0,720			1,05	0,57-1,96
Генотип СС	0,230	0,090			3,02	1,32-6,91

Нами показано, что дети с клинико-анамнестическими факторами риска развития БЛД, имевшие генотипы СС и ТС варианта g.102736642Т>С (rs652438) гена MMR12 имели риск формирования БЛД в 3 раза выше ($p < 0,001$, ОШ 3,018 (ДИ 1,607-5,665)), по сравнению с детьми, не имевшими генотипов СС и ТС, а дети с клинико-анамнестическими факторами риска развития БЛД, имевшие генотипы СС и ТС варианта rs694739 гена LOC102723878 обладали риском формирования БЛД в 6 раз выше ($p = 0,002$, ОШ 6,0 (ДИ 1,970-18,275)), по сравнению с детьми, не имевшими этих генотипов (табл. 5,6).

Таблица 5.

Распределение генотипов *TT*, *TC* и *CC* варианта *g.102736642T>C (rs652438)* гена *ММР12* среди недоношенных детей, имеющих клиничко-анамнестические факторы риска формирования БЛД

	Наличие клиничко-анамнестических факторов риска у детей с генотипами <i>TC</i> и <i>CC</i>	Наличие клиничко-анамнестических факторов риска у детей, не имеющих генотипов <i>TC</i> и <i>CC</i>	χ^2	p	ОШ	95% ДИ
Дети, сформировавшие БЛД	0,430	0,570	11,215	<0,001	3,018	1,607-5,665
Дети, не сформировавшие БЛД	0,200	0,800				

Таблица 6.

Распределение генотипов *TT*, *TC* и *CC* варианта *rs694739* гена *LOC102823878* среди недоношенных детей, имеющих клиничко-анамнестические факторы риска формирования БЛД

	Наличие клиничко-анамнестических факторов риска у детей с генотипами <i>TC</i> и <i>CC</i>	Наличие клиничко-анамнестических факторов риска у детей, не имеющих генотипов <i>TC</i> и <i>CC</i>	χ^2	p	ОШ	95% ДИ
Дети, сформировавшие БЛД	0,960	0,040	10,653	0,002	6,0	1,970-18,275
Дети, не сформировавшие БЛД	0,800	0,200				

В нашем исследовании показана возможность влияния генотипов *TC* и *CC* варианта *g.102736642T>C* (*rs652438*) гена *MMP12* и варианта *rs694739* гена *LOC102723878* на формирование БЛД у недоношенных детей. Получены данные о взаимосвязи генотипов *TC* и *CC* варианта *g.102736642T>C* (*rs652438*), расположенного в гене *MMP12*, со следующими клинико-анамнестическими характеристиками недоношенных детей: длительность кислородозависимости, оценка по шкале APGAR на 1 и 5 минутах жизни. Выявлена взаимосвязь генотипов *TC* и *CC* варианта *rs694739* гена *LOC102723878*, со следующими клинико-анамнестическими характеристиками недоношенных детей: длительность кислородозависимости, гестационный возраст и масса тела при рождении, оценка по шкале APGAR на 1 и 5 минутах жизни.

Дети, сформировавшие БЛД, имеют более низкие показатели массы тела и гестационного возраста при рождении, что может быть обусловлено влиянием варианта *g.102736642T>C* (*rs652438*) гена *MMP12* и варианта *rs694739* гена *LOC102723878*. В нашем исследовании определено, что у детей с данными генотипами повышен риск преждевременного рождения. В последующем у детей с данными генетическими факторами риска формирования БЛД отмечаются более низкие баллы по шкале APGAR на 1 и 5 минутах жизни. В связи с внутриутробными нарушениями формирования легочной ткани, вызванными влиянием генотипов *TC* и *CC* *g.102736642T>C* (*rs652438*) гена *MMP12* и нарушениями формирования воспалительного ответа, которые могут быть обусловлены влиянием генотипов *TC* и *CC* *rs694739* гена *LOC102723878*, ранним сроком гестации при рождении у этих пациентов в раннем неонатальном периоде развивается РДС, что требует проведения кислородной поддержки. У новорожденных с генотипами *TC* и *CC* *g.102736642T>C* (*rs652438*) гена *MMP12* и варианта *rs694739* гена *LOC102723878*, развивших РДС, отмечается увеличение длительности кислородозависимости, что в последующем может предопределять формирование БЛД.

БЛД у недоношенных детей имеет сложные патогенетические механизмы. В нашем исследовании было показано, что помимо влияния таких клинико-анамнестических факторов риска формирования БЛД у недоношенных детей, как масса тела, длина тела и гестационный возраст при рождении, оценка по шкале APGAR на 1 и 5 минутах жизни, длительность кислородозависимости, в патогенезе заболевания определяющую роль может играть генетическая детерминация, предрасполагающая к развитию данного заболевания.

Мы установили, что существует ассоциация генотипов *CC* и *TC* варианта *g.102736642T>C* (*rs652438*) гена *MMP-12* и варианта *rs694739* гена *LOC102723878* с формированием БЛД у недоношенных детей.

Вероятно, что однонуклеотидные варианты гена *MMP-12* приводят к длительной деструкции внеклеточного матрикса и процессам фиброзированию легочной ткани, нарушают альвеоляризацию легких и способствуют формированию БЛД у недоношенных детей с клинико-анамнестическими факторами риска развития данного заболевания.

Механизм влияния гена *LOC102723878*, расположенного на хромосоме 11, в области гена, кодирующего PRDX5, участвующего в формировании воспалительного

ответа, через кислород-опосредованное повреждение митохондрий и ингибирование апоптоза, на формирование БЛД у недоношенных детей не так очевиден. В мировой литературе описано, что ген *LOC102823878* может участвовать в формировании таких воспалительных заболеваний, как анкилозирующий спондилит, болезнь Крона, псориаз, склерозирующий холангит (Allinghaus D. et al., 2012, International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC), 2013), множественная эндокринная неоплазия, атаксии-телеангиэктазии, туберозный склероз, ассоциирован с некоторыми формами бронхиальной астмы и ринита, метастазированием в лимфатические узлы во время эволюции опухоли, течением серповидно-клеточной анемии (Moumni I. et al., 2014). Данная тема нуждается в дальнейшем изучении.

В исследовании показана возможность влияния генетических факторов на формирование БЛД у недоношенных детей с клинико-анамнестическими факторами риска развития данного заболевания. Для недоношенных детей, имеющих высокий риск развития БЛД, при выявлении генетической детерминации формирования бронхолегочной дисплазии необходима разработка новых подходов к профилактике данного заболевания или для уменьшения тяжести его течения. Определенные в нашем исследовании генетические предикторы формирования БЛД могут позволить использовать алгоритм клинико-генетической диагностики для прогноза развития БЛД в возрасте 3-4 суток у недоношенных детей с целью выделения группы риска и своевременного назначения медикаментозной профилактики формирования данной патологии.

ВЫВОДЫ

1. Клинико-анамнестическими факторами высокого риска формирования бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей являются гестационный возраст менее 37 недель, очень низкая и экстремально низкая масса тела при рождении, длительная респираторная поддержка в неонатальном периоде, низкая оценка по шкале APGAR на 1 и 5 минутах жизни, кислородозависимость более 28 суток жизни.

2. Анализ распределения частот аллелей и генотипов однонуклеотидных вариантов генов, ответственных за процессы протеолиза легочной ткани и воспалительного ответа, выявил ассоциацию с формированием бронхолегочной дисплазии у детей, обладающих аллелем *C* ($p=0,02$, ОШ 1,78 (95% ДИ 1,09-2,90) генотипами *CC* ($p=0,03$, ОШ 3,20 (95% ДИ 0,84-12,18) и *TC* ($p=0,03$, ОШ 1,39 (95% ДИ 0,76-2,55) варианта rs652438 гена *MMP-12* и аллелем *C* ($p=0,004$, ОШ 1,8 (95% ДИ 1,21-2,67), генотипами *CC* ($p=0,0004$, ОШ 3,02 (95% ДИ 1,32-6,91) и *TC* ($p=0,0004$, ОШ 1,05 (95% ДИ 0,57-1,96) варианта rs694739 гена *LOC102723878*.

3. Недоношенные дети, имеющие клинико-анамнестические факторы риска формирования бронхолегочной дисплазии, обладающие генотипами *TC* и *CC* ($p<0,01$, ОШ 3,01 (95% ДИ 1,60-5,66) варианта rs652438 гена *MMP-12* и генотипами *TC* и *CC* ($p=0,002$, ОШ 6,0 (95% ДИ 1,97-18,27) варианта rs694739 гена *LOC102723878*, обладают

повышенным риском формирования бронхолегочной дисплазии в 3 и в 6 раз соответственно.

4. Среди недоношенных детей с генотипами *TC* и *CC* варианта rs694739 гена *LOC102723878*, сформировавших бронхолегочную дисплазию, преобладают пациенты со среднетяжелым и тяжелым течением заболевания с оценкой по шкале мультислайсовой компьютерной томографии органов грудной клетки более 5 баллов.

5. В проведенном исследовании не было выявлено ассоциаций полиморфных маркеров rs376618, rs1966265 гена *FGFR4*, rs2981579, rs1219648 гена *FGFR2*, rs4253527 гена *SFTPА1*, rs121917737, rs121917738 гена *SFTPА2*, rs137853202 гена *SFTPВ*, rs121918559, rs121918560, rs121917834, rs34957318, rs121917835, rs121917836, rs121918560 гена *SFTPC*, rs7201, rs17301608, rs243865 гена *MMP2*, rs20544, rs3918242, rs17576 гена *MMP9*, rs2276109, rs2664352 гена *MMP16*, rs2476601 гена *PTPN22*, rs9268645 гена *HLA-DRA*, rs1738074 гена *TAGAP*, rs34536443, rs2304256 гена *TYK2*, с формированием бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей.

6. Выявленные клинико-анамнестические факторы риска формирования бронхолегочной дисплазии и ассоциации полиморфных маркеров гена *MMP-12* и гена *LOC10272387* обосновывают необходимость персонифицированного подхода к ведению больных с риском формирования бронхолегочной дисплазии согласно предложенному алгоритму.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Клинико-анамнестические и молекулярно-генетические факторы риска формирования БЛД могут быть использованы при проведении клинико-генетической диагностики для прогноза развития БЛД в раннем неонатальном периоде у недоношенных детей с целью выделения группы риска и проведения своевременной индивидуальной медикаментозной профилактики формирования данной патологии.

2. Предложенный алгоритм клинико-генетической диагностики БЛД у недоношенных детей с РДС в раннем неонатальном периоде рекомендуется для использования в перинатальных центрах и других учреждениях родовспоможения с целью выработки индивидуальной тактики ведения пациентов, относящихся к группе высокого риска формирования БЛД (рисунок 2).

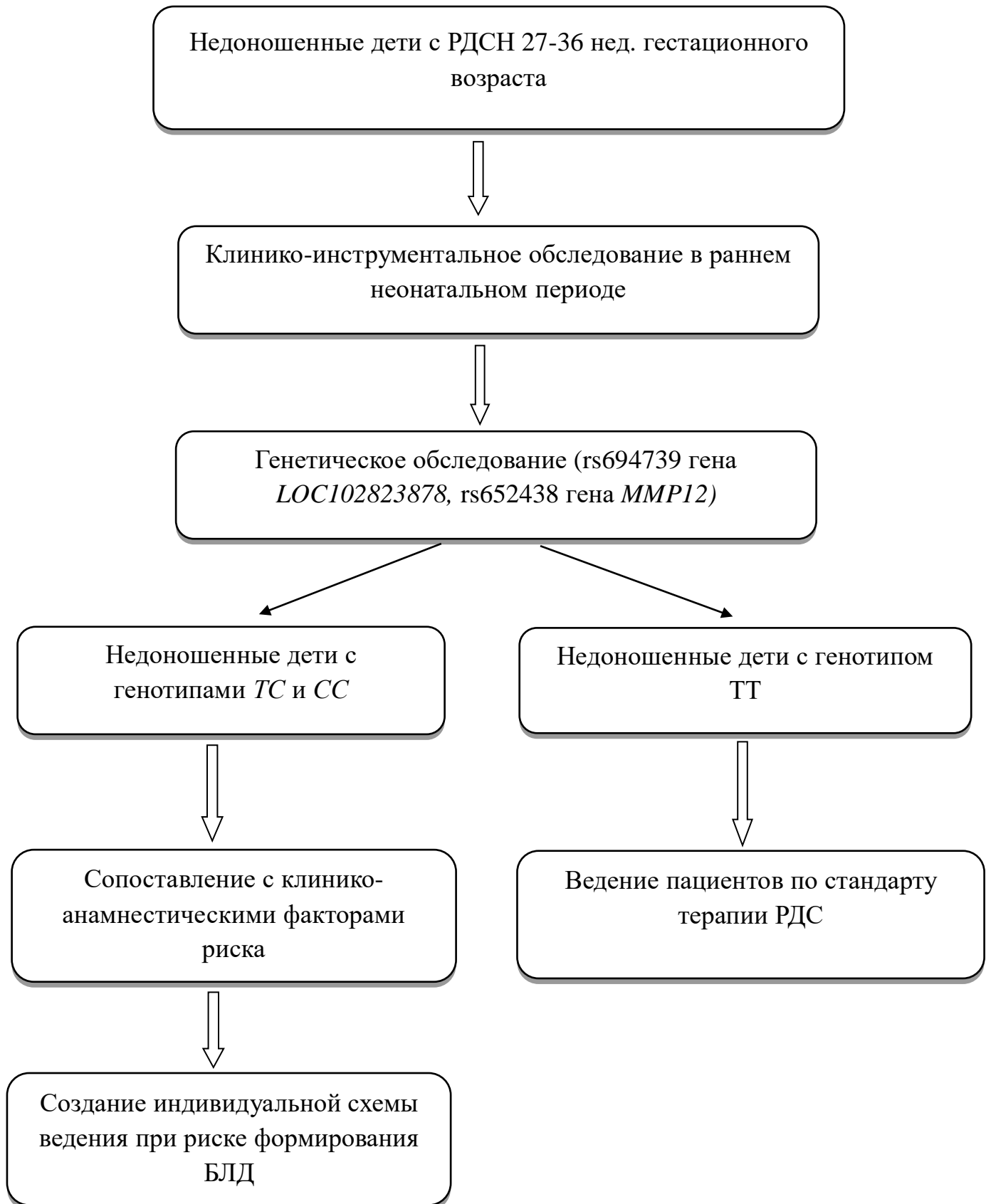


Рисунок 2. Алгоритм ведения недоношенных детей на основании данных клинико-генетического обследования

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Давыдова И.В., Аникин А.В., Кустова О.В., Сиденко А.В., Басаргина Е.Ю., Павлюкова Е.В., Пожарищенская В.К. Бронхолегочная дисплазия в постсурфактантную эру: результаты объективной оценки течения заболевания. Вопросы современной педиатрии. 2015; 14(4): 514-518.
2. Пожарищенская В.К., Давыдова И.В., Савостьянов К.В., Намазова-Баранова Л.С., Павлинова Е.Б., Пушков А.А. Генетическая детерминация формирования бронхолегочной дисплазии: за и против. Педиатрическая фармакология. 2017; 14(1): 24-33.
3. Давыдова И.В., Казакова К.А., Турина И.Е., Басаргина Е.Ю., Павлюкова Е.В., Пожарищенская В.К. Ведение пациентов с бронхолегочной дисплазией на амбулаторном этапе. Фарматека. 2018; 30-35.
4. Пожарищенская В.К. Клинико-генетические предпосылки формирования бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей. Тезис на XX Конгрессе педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии». 2018.
5. Пожарищенская В.К., Давыдова И.В., Савостьянов К.В., Пушков А.А. Клинико-anamnestические и молекулярно-генетические факторы риска формирования бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей. Педиатрия им. Г.Н. Сперанского. 2019; 98(6): 78-85.
6. Пожарищенская В.К. Генетическая детерминация формирования бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей. Тезис на XXVI Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2019». 2019.
7. Пожарищенская В.К. Новые аспекты генетической детерминации формирования бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей. Тезис на V Общероссийской конференции «Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству». 2019.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БЛД – бронхолегочная дисплазия
 ИВЛ – искусственная вентиляция легких
 ММП – матриксные металлопротеиназы
 МСКТ ОГК - мультислайсовая компьютерная томография органов грудной клетки
 ОАП – открытый артериальный проток
 ОНМТ – очень низкая масса тела
 ПКВ – постконцептуальный возраст
 РДС – респираторный дистресс-синдром
 ЭНМТ – экстремально низкая масса тела
FGFR 1-4 (fibroblast growth factor receptors) – гены, кодирующие рецепторы фактора роста фибробластов 1-4
LOC102723878 – ген, расположенный в хромосомной области 102723878

MMP – (matrix metalloproteinase) матриксные металлопротеиназы
PRDX5 – (peroxyredoxin) ген, кодирующий пероксиредоксин 5
PTPN22 – (protein-tyrosine phosphatase) ген, кодирующий белок тирозин фосфатазы 22
SFTPA1 – (surfactant protein A) ген, кодирующий сурфактантный белок А 1
SFTPB – (surfactant protein B) ген, кодирующий сурфактантный белок В
SFTPC – (surfactant protein C) ген, кодирующий сурфактантный белок С
SFTPD – (surfactant protein D) ген, кодирующий сурфактантный белок Д
SP-A, SFTPA – (surfactant protein A) сурфактантный белок А
SP-B, SFTPB – (surfactant protein B) сурфактантный белок В
SP-D, SFTPD – (surfactant protein D) сурфактантный белок Д
SP-C, SFTPC – (surfactant protein C) сурфактантный белок С
TYK2 – (tyrosine kinase) ген тирозинкиназы 2
TAGAP (T cell activation RhoGTPase activating protein) – Т клеточная активация белка, активированного ГТФ-азой