

Оригинальные исследования

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Басаргина М.А., Фисенко А.П., Пушков А.А., Жанин И.С., Бондарь В.А., Савостьянов К.В., Давыдова И.В.

Оценка генетических маркеров, ассоциированных с развитием бронхолёгочной дисплазии, у недоношенных детей, в структуре прогностической модели её развития

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, 119991, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Бронхолёгочная дисплазия (БЛД) — это комплексное заболевание, в котором важную роль играет генетический фактор.

Цель работы заключалась в определении генетических маркеров, ассоциированных с формированием БЛД у недоношенных детей в структуре создания прогностической модели.

Материалы и методы. На первом этапе для оценки генетических вариантов проведено массовое параллельное секвенирование полного экзона 100 пациентов с последующим биоинформатическим анализом. Далее проведено сравнение полученных результатов между группами пациентов с БЛД и данными секвенирования экзотов детей, не страдающих заболеваниями лёгких. На втором этапе полученные результаты были валидированы с использованием метода ПЦР в режиме реального времени, а также было проведено генотипирование контрольной группы недоношенных детей, не сформировавших БЛД ($n = 70$). Полученные частоты нуклеотидных вариантов были сопоставлены между группами, а также с общепопуляционными данными и базой данных RUSeq.

Результаты. При сравнении группы пациентов, сформировавших БЛД, с контрольной выборкой установлено, что генетический вариант rs12489516 в гене *CPA3* достоверно чаще встречался в контрольной группе недоношенных детей ($p = 0,03$; ОШ = 0,2; 95% ДИ 0,02–0,94). Наличие его в генотипе уменьшает вероятность развития БЛД в 4,76 раза. Кроме того, при сравнении групп были выявлены статистически значимые различия в относительных частотах нуклеотидного варианта rs45488997 в гене *CCN2* ($p = 0,023$). Данный генетический вариант был специфичен только для детей с БЛД. Установлено также, что нуклеотидный вариант rs45488997 в гене *CCN2* встречался статистически чаще среди пациентов с БЛД по сравнению с общей популяцией ($p = 0,005$). Кроме того, такие генетические варианты, как rs5744174 (*TLR5*) и rs2476601 (*PTPN22*), статистически значимо реже наблюдались у пациентов исследуемой группы по сравнению с общепопуляционными показателями ($p = 0,03$ и $p = 0,003$ соответственно).

Ограничения исследования. Широкая вариабельность гестационного возраста от 20 до 32 нед в исследуемой группе потенциально могла повлиять на степень экспрессии генов.

Заключение. Определение генетических маркеров в совокупности с клиническими и лабораторными данными поможет создать эффективную предикторную модель для прогнозирования вероятности формирования БЛД.

Ключевые слова: бронхолёгочная дисплазия; недоношенные дети; генетика; *CCN2*; *CPA3*

Для цитирования: Басаргина М.А., Фисенко А.П., Пушков А.А., Жанин И.С., Бондарь В.А., Савостьянов К.В., Давыдова И.В. Оценка генетических маркеров, ассоциированных с развитием бронхолёгочной дисплазии, у недоношенных детей, в структуре прогностической модели её развития. *Неврологический журнал им. Л.О. Бадаляна*. 2024; 5(1): 6–13. <https://doi.org/10.46563/2686-8997-2024-5-1-6-13>
<https://elibrary.ru/romqbe>

Для корреспонденции: Басаргина Милана Александровна, канд. мед. наук, зав. отделением патологии новорождённых и детей раннего детского возраста с соматической реабилитацией, ст. науч. сотр. лаб. неонатологии и проблем здоровья раннего детского возраста ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, 119991, Москва. E-mail: basargina.ma@nczd.ru

Участие авторов:

Фисенко А.П.	разработка концепции и дизайна исследования, редактирование текста;
Басаргина М.А.	разработка концепции и дизайна исследования;
Савостьянов К.В.	разработка концепции и дизайна исследования, редактирование текста;
Пушков А.А.	разработка концепции и дизайна исследования;
Давыдова И.В.	разработка концепции и дизайна исследования, редактирование текста;
Басаргина М.А.	сбор и обработка данных, статистическая обработка материала и написание текста;
Бондарь В.А.	сбор и обработка данных; статистическая обработка материала и написание текста;
Жанин И.С.	выполнение лабораторных исследований, статистическая обработка материала.
Все соавторы	утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 01.03.2024

Принята к печати 28.03.2024

Опубликована 27.04.2024

Milana A. Basargina, Andrey P. Fisenko, Alexander A. Pushkov, Ilya S. Zhanin, Valeria A. Bondar, Kirill V. Savostyanov, Irina V. Davydova

Assessment of genetic markers associated with the development of bronchopulmonary dysplasia in premature infants in the structure of a prognostic model of its development

National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, 119991, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Bronchopulmonary dysplasia (BPD) is a complex disease with a significant genetic predisposition. **The aim** of the study was to determine genetic markers associated with the development of bronchopulmonary dysplasia in premature infants.

Materials and methods. At Stage 1, whole exome sequencing followed by the bioinformatic analysis of one hundred samples was provided to evaluate the genetic variants. Sequencing data were compared with the data of the children without any congenital pulmonary diseases. At Stage 2, the obtained results were validated using real-time PCR. Further the genotyping of the control group ($n = 70$) was performed. The obtained frequencies of nucleotide variants were compared between the groups, as well as with general population data using the RUSseq database.

Results. The prevalence of genetic variant rs12489516 in gene *CPA3* was significantly higher in the control group of premature infants ($p = 0.03$; OR = 0.2; 95% CI: 0.02–0.94). Its presence in the genotype reduces the likelihood of developing BPD by 4.76 times. Moreover, statistically significant differences were also identified in the prevalence of rs45488997 in gene *CCN2* ($p = 0.023$). This genetic variant was specific only for children with bronchopulmonary dysplasia. It was also identified that the prevalence of the nucleotide variant rs45488997 in the *CCN2* gene was statistically more common among patients with bronchopulmonary dysplasia compared with the general population ($p = 0.005$). In addition, genetic variants rs5744174 in gene *TLR5* and rs2476601 in gene *PTPN22* were less frequently observed in the investigated group compared to the general population ($p = 0.03$ and $p = 0.003$, respectively).

Conclusion. Identification of genetic markers together with clinical and laboratory data will contribute to the development of an effective predictive model for the calculation of the probability of BPD.

Keywords: bronchopulmonary dysplasia; premature neonates; genetics; *CCN2*; *CPA3*

For citation: Basargina M.A., Fisenko A.P., Pushkov A.A., Zhanin I.S., Bondar V.A., Savostyanov K.V., Davydova I.V. Assessment of genetic markers associated with the development of bronchopulmonary dysplasia in premature infants in the structure of a prognostic model of its development. *Nevrologicheskiy zhurnal imeni L.O. Badalyana (L.O. Badalyan Neurological Journal)*. 2024; 5(1): 6–13. (In Russ.) <https://doi.org/10.46563/2686-8997-2024-5-1-6-13>
<https://elibrary.ru/romqbe>

For correspondence: Milana A. Basargina, MD, Ph.D., National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, 119991, Russian Federation. E-mail: basargina.ma@nczd.ru

Contribution:

Fisenko A.P.	development of research concept and design, text editing;
Basargina M.A.	development of research concept and design;
Savostyanov K.V.	development of research concept and design, text editing;
Pushkov A.A.	development of research concept and design;
Davydova I.V.	development of research concept and design, text editing;
Basargina M.A.	collection and processing of data, statistical processing of material and writing text;
Bondar V.A.	data collection and processing; statistical processing of material and writing text;
Zhanin I.S.	performing laboratory research, statistical processing of material.
All co-authors	are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of its final version.

Acknowledgements. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: March 1, 2024

Accepted: March 28, 2024

Published: April 27, 2023

Введение

Бронхолегочная дисплазия (БЛД) — это сложное мультифакторное заболевание. В его патогенезе играют роль различные механизмы, которые активируются в результате незрелости ткани дыхательных путей, воздействия искусственной вентиляции лёгких, окислительного стресса. Важно также влияние различных алиментарных, инфекционных и иммунологических факторов [1]. Кроме того, в настоящее время публикуется всё больше данных, указывающих на генетическую природу развития БЛД [2].

Первые работы, изучавшие врождённые механизмы, были опубликованы в 1980 г. Однако на современ-

ном этапе отмечается повышенный интерес к данной патологии, благодаря научно-техническому прогрессу в области генетических исследований [2]. Тем не менее подтверждение врождённой природы рассматриваемого заболевания вызывает определённые трудности.

Существует несколько причин, по которым относительные оценки влияния наследственности могут различаться в изучаемых популяциях новорождённых. В частности, к ним можно отнести различия в распространённости заболевания, ранние неонатальные факторы, влияние окружающей среды и другие кофакторы формирования БЛД. Очень важную роль играет срок гестации на момент родоразрешения, стандарты выхаживания в отделении интенсивной терапии но-

врождённых, различия в респираторной поддержке, уровень ухода в родильном доме и при транспортировке. Кроме того, следует учитывать расовые различия, этнической принадлежность, пол, социально-экономический статус родителей и др. [3].

В настоящее время ведётся активный поиск генов-предикторов, которые могли бы быть использованы на этапе прогнозирования формирования заболевания. В дальнейшем эти результаты могут способствовать выбору соответствующей таргетной тактики лечения пациента. В первую очередь поиск ведётся среди генетических маркеров, ассоциированных с развитием лёгких, их созреванием, формированием воспаления и фиброза, а также ангиогенезом, оксидативным стрессом, процессом повреждения и восстановления тканей дыхательных путей. В целом, многие из текущих исследований сосредоточены на полиморфизме отдельных нуклеотидов в относительно ограниченном количестве генов и имеют небольшие размеры выборок из одного или нескольких центров. К сожалению, в настоящее время нет полного понимания процесса перехода от сакулярной к альвеолярной стадии развития лёгких. Следовательно, достоверно не установлены все наиболее значимые молекулы и сигнальные пути, имеющие ключевое значение в развитии и созревании дистальных отделов лёгких. Это создаёт сложности в выделении анализируемых генов [4].

В настоящее время существуют различные методики изучения генетического фактора в формировании БЛД. К ним можно отнести подробный семейный анамнез, наблюдения за близнецами, полномасштабные геномные исследования и поиск генов-кандидатов [5].

В целом изучение семейного анамнеза ассоциировано с большим количеством погрешностей. Однако оно имеет определённую ценность с точки зрения генетики. В частности, при изучении семей, где 2 или более родственников имеют интересующий исследователей фенотип заболевания, возможно выделить отдельные схожие генетические маркеры. Однако даже в том случае, когда определённый генотип может присутствовать в семье на 100% (полная пенетрантность), связанный с ним фенотип может варьироваться. Кроме того, помимо врождённых факторов, в одной семье часто присутствуют схожие особенности образа жизни, окружающей среды и т. д. В связи с этим достоверность такого типа изучения наследственности остаётся невысокой [5].

Близнецовый метод имеет более высокую достоверность, чем изучение семейного анамнеза, т. к. он позволяет оценить воздействие внешних факторов. Установлено, что монозиготные близнецы имеют на 100% идентичный генотип, дизиготные — на 50%. Однако оба типа находятся в одной и той же внутритробной среде. Таким образом, если конкордантность заболевания у монозиготных близнецов существенно выше, чем у дизиготных, можно заключить, что в основе этиологии заболевания лежат генетические компо-

ненты. Однако данный метод не учитывает особенностей эпигенетики [5]. Под этим термином понимается изучение наследственных изменений в экспрессии генов, вызванных механизмами, отличными от вариативности в базовой последовательности ДНК. В настоящее время существуют доказательства того, что эпигенетические метки влияют на экспрессию генов в лёгких. Они ассоциированы с развитием таких нозологий, как бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь и интерстициальные заболевания. Кроме того, доказана их роль в злокачественных новообразованиях и различных иммунных нарушениях [6].

Для изучения генетической предрасположенности к БЛД было проведено многоцентровое ретроспективное исследование пар близнецов, родившихся на сроке < 32 нед беременности. Полученные в результате данные продемонстрировали, что 65,2% (95% ДИ 53–79%; $p < 0,001$) предрасположенности к рассматриваемой патологии можно объяснить генетикой и факторами окружающей среды. Генетический компонент оценивался по данным корреляции между монозиготными и дизиготными близнецами. Наблюдаемая конкордантность в первой группе была значительно выше ожидаемой. После контроля ковариат было подсчитано, что изолированно генетические факторы составляют 53% (95% ДИ 16–89%; $p = 0,004$) дисперсии предрасположенности к БЛД [7].

В дальнейшем похожее исследование было организовано в Канаде. В ходе работы изучались данные 318 пар близнецов с известной зиготностью, родившиеся на сроке < 30 нед гестации. Проведённый статистический анализ продемонстрировал, что генетические факторы обуславливают до 79% наблюдаемых различий в формировании БЛД от умеренной до тяжёлой степени [8].

Ещё один перспективный метод изучения пациентов с БЛД — полногеномное исследование. Такая методика позволяет провести агностическую оценку более 5 млн нуклеотидных вариантов на предмет различий в их частоте среди пациентов с рассматриваемой нозологией по сравнению с соответствующей контрольной популяцией [5]. В настоящее время активно развивается проект «Энциклопедия элементов ДНК» (ENCODE). Он направлен на определение всех функциональных элементов, закодированных в геноме человека [9]. В настоящее время далеко не все исследования с использованием данной методики получают положительные исходы с выявлением конкретных нуклеотидов. Нередко в случае БЛД закономерности не обнаруживаются [10]. Однако есть и положительные результаты. Благодаря данной методике у недоношенных детей с БЛД обнаружен нуклеотидный вариант rs11265269, расположенный рядом с геном *CRP*, который может служить фактором риска заболевания у финнов и французов африканского происхождения [11]. Более того, данная методика подтверждает значимые расовые различия в генетических предикторах формирования БЛД [12].

Важным направлением изучения БЛД является определение конкретных генов-кандидатов. Их выделение возможно на основе теоретических обоснований, лабораторных экспериментов с использованием животных, а также клинических исследований определённой популяции пациентов [5]. В настоящее время активно изучаются гены-кандидаты, кодирующие протеины сурфактанта, фактор некроза опухоли, толл-подобные рецепторы, ангиотензинпревращающие ферменты, различные факторы ангиогенеза и др.

Цель работы заключалась в определении генетических маркеров, ассоциированных с формированием БЛД у недоношенных детей в структуре создания прогностической модели.

Материалы и методы

В данной работе было проведено полноэкзомное секвенирование 100 пациентов, сформировавших БЛД и проведён биоинформатический анализ, согласно методикам, описанным ранее [13]. При анализе исследуемой группы на начальном этапе выделены 115 генов, ассоциированных с развитием БЛД. В ходе дальнейшего анализа было отобрано 9 нуклеотидных вариантов, частота представленности которых у пациентов с БЛД значительно отличалась от группы сравнения — детей без лёгочных заболеваний.

На втором этапе полученные результаты были валидированы с использованием метода ПЦР в режиме реального времени, а также проведено генотипирование контрольной группы недоношенных детей, не сформировавших БЛД ($n = 70$). Частоты встречаемости выбранных нуклеотидных вариантов сравнивали как между группами, так и с базой данных частот нуклеотидных вариантов российской популяции RUSeq [14]. Эта база данных объединяет генетическую информацию между клиническими лабораториями и геномными центрами России. Данный этап позволил дополнительно оценить генетические варианты, встречающиеся у жителей России, и сравнить их с полученными в исследовании результатами. Статистическая обработка данных выполнялась в среде программирования R с использованием как встроенных базовых пакетов программ, так и дополнительных. Сравнение частот встречаемости нуклеотидных вариантов проводили с использованием точного теста Фишера и последующим расчётом отношения шансов (ОШ).

Результаты

В исследование было включено 170 недоношенных детей. На момент сбора данных возраст ребёнка не превышал 6 мес. У всех детей был установлен диагноз респираторный дистресс-синдром новорождённых. В соответствии с задачами исследования пациенты были разделены на 2 группы: сформировавшие БЛД к 28-му дню жизни и/или 36-й неделе ПКВ (основная группа; $n = 100$); не сформировавшие БЛД (контрольная группа; $n = 70$), т. е. дети, которым респираторная

поддержка и дополнительная оксигенация после представленных сроков не требовалась.

При анализе исследуемой группы на начальном этапе выделены 115 генов, которые потенциально могут быть ассоциированы с формированием БЛД согласно кодируемым функциям. Они были определены на основании данных литературы, а также сравнения результатов полноэкзомного секвенирования у пациентов с БЛД с группой сравнения. На основании данных полноэкзомного секвенирования были выбраны следующие гены: *AFF2*, *AMH*, *AQP7*, *ARHGFB1*, *AUP1*, *CCN2*, *CPA3*, *GALR2*, *HTRA2*, *HYAL3*, *MAPK8IP3*, *MMP14*, *NCOR2*, *PPTN22*, *SFTPA2*, *TLR5*, *TTN*, *UGT1A3*, *UGT1A4*, *UGT1A5*, *UGT1A6*, *UGT1A7*, *UGT1A8*, *UGT1A9*, *UGT1A10*.

Среди выбранных генов было отобрано 9 генетических вариантов, частота представленности которых у пациентов с БЛД значительно отличалась от группы сравнения: rs12489516 (*CPA3*), rs2476601 (*PTPN22*), rs1042703 (*MMP14*), rs5744174 (*TLR5*), COSV53739696 (*AFF2*), rs45488997 (*CCN2/CTGF*), rs1059046 (*SFTPA2*), rs61519723 (*NCOR2*), rs62542745 (*AQP7*). Фильтрация генетических вариантов осуществлялась на основании данных о популяционных частотах, встречаемости в исследуемой и контрольной выборках, а также патогенетической роли в формировании БЛД.

При сравнении группы недоношенных пациентов с БЛД с контрольной выборкой было установлено, что генетический вариант rs12489516 в гене *CPA3* достоверно чаще встречался в контрольной группе ($p = 0,03$ ОШ = 0,2; 95% ДИ 0,02–0,94). Учитывая, что его представленность превалировала у пациентов без БЛД, данный нуклеотидный вариант можно отнести к защитным факторам, предотвращающим формирование заболевания. Таким образом, по расчётным данным нами установлено, что наличие в генотипе rs12489516 снижает вероятность развития БЛД в 4,76 раза, что может быть включено в математическую модель прогнозирования БЛД.

Кроме того, выявлены статистически значимые различия ($p = 0,023$) в частотах встречаемости нуклеотидного варианта rs45488997 в гене *CCN2* в контрольной и обследуемой групп. Однако ОШ не рассчитывалось, поскольку в группе детей, не сформировавших БЛД, данный вариант не был идентифицирован. Таким образом, это позволило сделать вывод о том, что нуклеотидный вариант rs45488997 в гене *CCN2* характерен для детей с БЛД, что может быть также использовано в качестве предиктора развития БЛД в структуре создания прогностической математической модели.

Для оставшихся 7 генетических вариантов не найдено статистически значимых различий в относительных частотах аллелей в обеих исследуемых группах недоношенных новорождённых. В связи с этим проведено сравнение частот встречаемости нуклеотидных вариантов в нашей выборке с общепопуляционными, полученными из базы данных RUSeq.

По результатам работы было установлено, что распространённость нуклеотидного варианта rs45488997 в гене *CCN2* также статистически значимо преобладала среди пациентов с БЛД по сравнению с общей популяцией ($p = 0,005$). Кроме того, нуклеотидные варианты rs5744174 в гене *TLR5* и rs2476601 в гене *PTPN22* статистически значимо реже выявлялись у пациентов исследуемой группы по сравнению с общепопуляционными показателями ($p = 0,03$ и $p = 0,003$ соответственно). Данные нуклеотидные варианты могут быть включены в структуру прогностической математической модели.

Ограничения исследования. Широкая вариабельность гестационного возраста от 20 до 32 нед в исследуемой группе потенциально могла повлиять на степень экспрессии генов.

Обсуждение

Выявленные генетические варианты, которые обуславливают различия между пациентами, сформировавшими и не сформировавшими БЛД, играют важную роль на различных этапах формирования альвеоло-капиллярного русла дыхательных путей.

Ген *CPA3* кодирует карбоксипептидазу А3 — специфическую протеазу тучных клеток. Карбоксипептидаза А3 (*CPA3*) является важным компонентом физиологии органов дыхания. В частности, она принимает участие в регуляции состояния лёгочной паренхимы и системного кровотока, в биогенезе и ремоделировании волокнистого компонента внеклеточного матрикса, в эпигенетическом репрограммировании. Все эти свойства определяют значимость фундаментальных исследований её физиологической активности при различных заболеваниях дыхательных путей [15]. Она экспрессируется на определённом типе тучных клеток, содержащих триптазу [16]. Существует значимая корреляция концентрации *CPA3* с наличием у пациентов бронхиальной астмы и аллергического ринита. Данный генетический вариант обуславливает коморбидность этих заболеваний [17]. Экспрессия *CPA3* значимо снижается на фоне терапии глюкокортикостероидами, в том числе ингаляционными [16]. Тучные клетки, содержащие данную протеазу, противодействуют токсичности, вызванной высокими концентрациями эндотелина-1, и тем самым способствуют гомеостазу [18].

Эндотелин-1 представляет собой пептид, состоящий из 21 аминокислотного остатка. Его максимальная концентрация отмечается в сосудистых эндотелиальных клетках. Он обладает выраженной вазоконстрикторной активностью. Эндотелин-1 участвует в разнообразных физиологических и патологических процессах, включая сосудистые изменения, развивающиеся на фоне сепсиса [19]. Таким образом, продукты гена *CPA3* могут играть роль в процессах ангиогенеза и созревания лёгочной ткани у недоношенных детей. Повышение концентрации *CPA3* у недоношенных детей потенциально может нивелировать чрезмерную

вазоконстрикцию сосудов дыхательных путей и препятствовать формированию БЛД. Однако для изучения всего спектра воздействия белковых продуктов гена *CPA3* на развитие и формирование требуется проведение дополнительных исследований.

Фактор роста соединительной ткани, кодируемый геном *CCN2*, секретируется эндотелиальными клетками сосудов. Он играет ведущую роль в ангиогенезе. В экспериментальной модели с использованием грызунов подтверждена положительная динамика клинических проявлений БЛД при лечении моноклональным антителом фактора роста соединительной ткани. Установлено снижение ремоделирования лёгочных сосудов и, соответственно, уменьшение риска развития лёгочной гипертензии [20]. Показано, что повышение экспрессии *CCN2* у детей с БЛД может способствовать ремоделированию сосудов и формированию лёгочной гипертензии [21].

Мембранный белок — толл-подобный рецептор *TLR5*, кодируемый геном *TLR5*, участвует в противовоспалительном ответе. Он является важной частью каскада реакций при активации врождённого иммунитета в эпителиальных клетках лёгких. Однако в целом его функционал не ограничивается системой дыхания. Этот рецептор необходим для распознавания флагеллина, компонента клеточной стенки грамотрицательных бактерий. В экспериментальной модели на мышах при стимуляции *TLR5*-рецепторов наблюдались множественные положительные эффекты. В частности, отмечалось уменьшение выпадения волос и помутнения хрусталика глаза, увеличение минеральной плотности костей, улучшение активности стволовых клеток, задержка инволюции тимуса, повышение когнитивных способностей и предотвращение фиброза лёгких [22]. Кроме того, нуклеотидный вариант rs5744174 в гене *TLR5* у недоношенных детей был ассоциирован с бронхиолитом, вызванным респираторно-синцитиальным вирусом [23].

С другой стороны, толл-подобный рецептор *TLR5* также играет важную роль в условиях ишемии. В лабораторных экспериментах было подтверждено, что снижение его функции значительно уменьшает степень повреждения кишечника и активацию других воспалительных реакций. Дефицит *TLR5* заметно улучшил выживаемость мышей после ишемического повреждения органов пищеварения. Более того, также было продемонстрировано уменьшение воспалительных реакций в лёгочной ткани и снижение проницаемости сосудов [24]. Более высокая распространённость rs5744174 в гене *TLR5* в российской популяции, согласно базе RuSeq, по сравнению с группой недоношенных детей может свидетельствовать о возможной протективной функции данного нуклеотидного варианта. Нами не было получено статистически значимых различий в частотах нуклеотидного варианта rs5744174 в гене *TLR5* между группами недоношенных детей, развивших БЛД и не сформировавших данное заболе-

вание. Этот факт может свидетельствовать о том, что рассматриваемые патофизиологические процессы, регулируемые продуктами гена *TLR5*, характерны для недоношенных новорождённых независимо от наличия БЛД.

Ген *PTPN22* кодирует лимфоидспецифическую тирозинфосфатазу. Нуклеотидный вариант rs2476601, расположенный в том гене, является одним из наиболее значимых генетических факторов риска развития аутоиммунных заболеваний человека, связанных с множественными аутоантителами [25]. Он высоко экспрессируется на антигенпрезентирующих клетках [26]. Белок, кодируемый геном *PTPN22*, регулирует порог активации Т-клеточных рецепторов, участвует в регулировании сигнальной трансдукции, т. е. ретранслирует сигналы извне в ядро клетки. В дальнейшем эти сигналы способствуют росту клетки, её делению и функционированию [27]. Было показано, что генетический вариант rs2476601 ассоциирован с отторжением трансплантата при пересадке лёгких [28]. Однако его роль в формировании БЛД в настоящее время пока не установлена.

Заключение

Определены возможные ассоциации новых полиморфных маркеров генов-кандидатов с формированием БЛД. Наличие генетического варианта rs12489516 в гене *SPAZ* может свидетельствовать в пользу снижения риска формирования БЛД у недоношенного новорождённого, тогда как наличие варианта rs45488997 в гене *CCN2*, напротив, указывает на повышенный риск развития БЛД. Остальные описанные генетические маркеры требуют дополнительного изучения в рамках рассматриваемой патологии. Поиск генов-кандидатов, специфичных для формирования БЛД, является одной из приоритетных задач современной неонатологии. Определение генетических маркеров в совокупности с клиническими и лабораторными данными поможет создать эффективную предикторную модель для прогнозирования вероятности формирования заболевания. Такой пациентоориентированный подход поможет персонализировать тактику лечения и способствует уменьшению рисков инвалидизации новорождённых.

ЛИТЕРАТУРА

1. Овсянников Д.Ю., Давыдова И.В., Савостьянов К.В., Пушков А.А. *Бронхолегочная дисплазия*. М.: РУДН; 2024.
2. Lavoie P.M., Rayment J.H. Genetics of bronchopulmonary dysplasia: An update. *Semin. Perinatol.* 2023; 47(6): 151811. <https://doi.org/10.1016/j.semperi.2023.151811>
3. Bhandari V., Gruen J.R., Jang K.L., Göpel W., Hallman M., Lavoie P.M. Genetics of bronchopulmonary dysplasia: When things do not match up, it is only the beginning. *J. Pediatr.* 2019; 208: 298–9. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2019.01.014>
4. Lal C.V., Ambalavanan N. Genetic predisposition to bronchopulmonary dysplasia. *Semin. Perinatol.* 2015; 39(8): 584–91. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2015.09.004>
5. Shaw G.M., O’Brodivich H.M. Progress in understanding the genetics of bronchopulmonary dysplasia. *Semin. Perinatol.* 2013; 37(2): 85–93. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2013.01.004>
6. Yang I.V., Schwartz D.A. Epigenetic control of gene expression in the lung. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 183(10): 1295–301. <https://doi.org/10.1164/rccm.201010-1579PP>
7. Bhandari V., Bizzarro M.J., Shetty A., Zhong X., Page G.P., Zhang H., et al. Familial and genetic susceptibility to major neonatal morbidities in preterm twins. *Pediatrics.* 2006; 117(6): 1901–6. <https://doi.org/10.1542/peds.2005-1414>
8. Lavoie P.M., Pham C., Jang K.L. Heritability of bronchopulmonary dysplasia, defined according to the consensus statement of the national institutes of health. *Pediatrics.* 2008; 122(3): 479–85. <https://doi.org/10.1542/peds.2007-2313>
9. Pal D., Rao M.R.S. Long noncoding RNAs in pluripotency of stem cells and cell fate specification. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017; 1008: 223–52. https://doi.org/10.1007/978-981-10-5203-3_8
10. Yu K.H., Li J., Snyder M., Shaw G.M., O’Brodivich H.M. The genetic predisposition to bronchopulmonary dysplasia. *Curr. Opin. Pediatr.* 2016; 28(3): 318–23. <https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000344>
11. Mahlman M., Karjalainen M.K., Huusko J.M., Andersson S., Kari M.A., Tammela O.K.T., et al. Genome-wide association study of bronchopulmonary dysplasia: a potential role for variants near the *CRP* gene. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 9271. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08977-w>
12. Torgerson D.G., Ballard P.L., Keller R.L., Oh S.S., Huntsman S., Hu D., et al. Ancestry and genetic associations with bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2018; 315(5): L858–69. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00073.2018>
13. Бондарь В.А., Давыдова И.В., Басаргина М.А., Фисенко А.П., Пушков А.А., Жанин И.С. и др. Роль генетических предикторов в доклинической диагностике бронхолегочной дисплазии. *Кремлевская медицина. Клинический вестник*. 2022; (1): 5–9. <https://doi.org/10.26269/m7zs-qa37> <https://elibrary.ru/qsdtsv>
14. Barbitoff Y.A., Khmelkova D.N., Pomerantseva E.A., Slepchenkov A.V., Zubashenko N.A., Mironova I.V., et al. Expanding the Russian allele frequency reference via cross-laboratory data integration: insights from 7,452 exome samples. Expanding the Russian allele frequency reference via cross-laboratory data integration. *medRxiv*. 2022. Preprint. <https://doi.org/10.1101/2021.11.02.21265801>
15. Атякшин Д.А., Костин А.А., Троценко И.Д., Шишкина В.В., Тиманн М., Бухвалов И.Б. и др. Карбоксипептидаза А3 в структуре протеазного фенотипа тучных клеток: цитофизиологические аспекты. *Эндокринная хирургия*. 2023; 17(4): 23. <https://doi.org/10.14341/serg12846>
16. Sánchez-Ovando S., Baines K.J., Barker D., Wark P.A., Simpson J.L. Six gene and TH2 signature expression in endobronchial biopsies of participants with asthma. *Immun. Inflamm. Dis.* 2020; 8(1): 40–9. <https://doi.org/10.1002/iid3.282>
17. Yan Z., Liu L., Jiao L., Wen X., Liu J., Wang N. Bioinformatics analysis and identification of underlying biomarkers potentially linking allergic rhinitis and asthma. *Med. Sci. Monit.* 2020; 26: e924934. <https://doi.org/10.12659/MSM.924934>
18. Hültner L., Ehrenreich H. Mast cells and endothelin-1: a life-saving biological liaison? *Trends Immunol.* 2005; 26(5): 235–8. <https://doi.org/10.1016/j.it.2005.03.007>
19. Maurer M., Wedemeyer J., Metz M., Piliponsky A.M., Weller K., Chatterje D., et al. Mast cells promote homeostasis by limiting endothelin-1-induced toxicity. *Nature*. 2004; 432(7016): 512–6. <https://doi.org/10.1038/nature03085>
20. Wang X., Cui H., Wu S. CTGF: A potential therapeutic target for bronchopulmonary dysplasia. *Eur. J. Pharmacol.* 2019; 860: 172588. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172588>
21. Mathew R. Signaling pathways involved in the development of bronchopulmonary dysplasia and pulmonary hypertension. *Children (Basel)*. 2020; 7(8): 100. <https://doi.org/10.3390/children7080100>
22. Lim J.S., Jeon E.J., Go H.S., Kim H.J., Kim K.Y., Nguyen T.Q.T., et al. Mucosal TLR5 activation controls healthspan and longevity. *Nat. Commun.* 2024; 15(1): 46. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-44263-2>
23. Siezen C.L., Bont L., Hodemaekers H.M., Ermers M.J., Doornbos G., Van’t Slot R., et al. Genetic susceptibility to respiratory syncytial virus bronchiolitis in preterm children is associated with airway

- remodeling genes and innate immune genes. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2009; 28(4): 333–5. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e31818e2aa9>
24. Ito R., Barnes E.A., Che X., Alvira C.M., Cornfield D.N. SM22 α cell-specific HIF stabilization mitigates hyperoxia-induced neonatal lung injury. *Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol.* 2022; 323(2): L129–41. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00110.2022>
25. Purvis H.A., Clarke F., Montgomery A.B., Colas C., Bibby J.A., Cornish G.H., et al. Phosphatase PTPN22 regulates dendritic cell homeostasis and cDC2 dependent T cell responses. *Front. Immunol.* 2020; 11: 376. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00376>
26. Clarke F., Jordan C.K., Gutiérrez-Martinez E., Bibby J.A., Sanchez-Blanco C., Cornish G.H., et al. Protein tyrosine phosphatase PTPN22 is dispensable for dendritic cell antigen processing and promotion of T-cell activation by dendritic cells. *PLoS One.* 2017; 12(10): e0186625. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186625>
27. Бондарь В.А. Клинико-генетические особенности развития новой формы бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей. М.; 2022. <https://elibrary.ru/rfqofu>
28. Budding K., van Setten J., van de Graaf E.A., van Rossum O.A., Kardol-Hoefnagel T., Kwakkel-van Erp J.M., et al. The autoimmune-associated single nucleotide polymorphism within PTPN22 correlates with clinical outcome after lung transplantation. *Front. Immunol.* 2019; 9: 3105. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03105>
13. Bondar' V.A., Davydova I.V., Basargina M.A., Fisenko A.P., Pushkov A.A., Zhanin I.S., et al. The role of genetic predictors in preclinical diagnostics of bronchopulmonary dysplasia. *Kreml'evskaya meditsina. Klinicheskiy vestnik.* 2022; (1): 5–9. <https://doi.org/10.26269/m7zs-qa37> <https://elibrary.ru/qsdtvs> (in Russian)
14. Barbitoff Y.A., Khmelkova D.N., Pomerantseva E.A., Slepchenkov A.V., Zubashenko N.A., Mironova I.V., et al. Expanding the Russian allele frequency reference via cross-laboratory data integration: insights from 7,452 exome samples. Expanding the Russian allele frequency reference via cross-laboratory data integration. *medRxiv.* 2022. Preprint. <https://doi.org/10.1101/2021.11.02.21265801>
15. Atyakshin D.A., Kostin A.A., Trotsenko I.D., Shishkina V.V., Timann M., Bukhvalov I.B., et al. Carboxypeptidase A3 in the structure of the protease phenotype of mast cells: cytophysiological aspects. *Endokrinnaya khirurgiya.* 2023; 17(4): 23. <https://doi.org/10.14341/serg12846> (in Russian)
16. Sánchez-Ovando S., Baines K.J., Barker D., Wark P.A., Simpson J.L. Six gene and TH2 signature expression in endobronchial biopsies of participants with asthma. *Immun. Inflamm. Dis.* 2020; 8(1): 40–9. <https://doi.org/10.1002/iid3.282>
17. Yan Z., Liu L., Jiao L., Wen X., Liu J., Wang N. Bioinformatics analysis and identification of underlying biomarkers potentially linking allergic rhinitis and asthma. *Med. Sci. Monit.* 2020; 26: e924934. <https://doi.org/10.12659/MSM.924934>
18. Hültner L., Ehrenreich H. Mast cells and endothelin-1: a life-saving biological liaison? *Trends Immunol.* 2005; 26(5): 235–8. <https://doi.org/10.1016/j.it.2005.03.007>
19. Maurer M., Wedemeyer J., Metz M., Piliponsky A.M., Weller K., Chatterje D., et al. Mast cells promote homeostasis by limiting endothelin-1-induced toxicity. *Nature.* 2004; 432(7016): 512–6. <https://doi.org/10.1038/nature03085>
20. Wang X., Cui H., Wu S. CTGF: A potential therapeutic target for bronchopulmonary dysplasia. *Eur. J. Pharmacol.* 2019; 860: 172588. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172588>
21. Mathew R. Signaling pathways involved in the development of bronchopulmonary dysplasia and pulmonary hypertension. *Children (Basel).* 2020; 7(8): 100. <https://doi.org/10.3390/children7080100>
22. Lim J.S., Jeon E.J., Go H.S., Kim H.J., Kim K.Y., Nguyen T.Q.T., et al. Mucosal TLR5 activation controls healthspan and longevity. *Nat. Commun.* 2024; 15(1): 46. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-44263-2>
23. Siezen C.L., Bont L., Hodemaekers H.M., Ermers M.J., Doornbos G., Van't Slot R., et al. Genetic susceptibility to respiratory syncytial virus bronchiolitis in preterm children is associated with airway remodeling genes and innate immune genes. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2009; 28(4): 333–5. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e31818e2aa9>
24. Ito R., Barnes E.A., Che X., Alvira C.M., Cornfield D.N. SM22 α cell-specific HIF stabilization mitigates hyperoxia-induced neonatal lung injury. *Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol.* 2022; 323(2): L129–41. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00110.2022>
25. Purvis H.A., Clarke F., Montgomery A.B., Colas C., Bibby J.A., Cornish G.H., et al. Phosphatase PTPN22 regulates dendritic cell homeostasis and cDC2 dependent T cell responses. *Front. Immunol.* 2020; 11: 376. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00376>
26. Clarke F., Jordan C.K., Gutiérrez-Martinez E., Bibby J.A., Sanchez-Blanco C., Cornish G.H., et al. Protein tyrosine phosphatase PTPN22 is dispensable for dendritic cell antigen processing and promotion of T-cell activation by dendritic cells. *PLoS One.* 2017; 12(10): e0186625. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186625>
27. Bondar' V.A. *Clinical and Genetic Features of the Development of a New Form of Bronchopulmonary Dysplasia in Premature Infants [Kliniko-geneticheskie osobennosti razvitiya novoi formy bronkholegochnoi displazii u nedonoshennykh detei]*. Moscow; 2022. <https://elibrary.ru/rfqofu> (in Russian)
28. Budding K., van Setten J., van de Graaf E.A., van Rossum O.A., Kardol-Hoefnagel T., Kwakkel-van Erp J.M., et al. The autoimmune-associated single nucleotide polymorphism within PTPN22 correlates with clinical outcome after lung transplantation. *Front. Immunol.* 2019; 9: 3105. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03105>

REFERENCES

1. Ovsyannikov D.Yu., Davydova I.V., Savost'yanov K.V., Pushkov A.A. *Bronchopulmonary Dysplasia [Bronkholegochnaya displaziya]*. Moscow: RUDN; 2024. (in Russian)

2. Lavoie P.M., Rayment J.H. Genetics of bronchopulmonary dysplasia: An update. *Semin. Perinatol.* 2023; 47(6): 151811. <https://doi.org/10.1016/j.semperi.2023.151811>

3. Bhandari V., Gruen J.R., Jang K.L., Göpel W., Hallman M., Lavoie P.M. Genetics of bronchopulmonary dysplasia: When things do not match up, it is only the beginning. *J. Pediatr.* 2019; 208: 298–9. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2019.01.014>

4. Lal C.V., Ambalavanan N. Genetic predisposition to bronchopulmonary dysplasia. *Semin. Perinatol.* 2015; 39(8): 584–91. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2015.09.004>

5. Shaw G.M., O'Brodovich H.M. Progress in understanding the genetics of bronchopulmonary dysplasia. *Semin. Perinatol.* 2013; 37(2): 85–93. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2013.01.004>

6. Yang I.V., Schwartz D.A. Epigenetic control of gene expression in the lung. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 183(10): 1295–301. <https://doi.org/10.1164/rccm.201010-1579PP>

7. Bhandari V., Bizzarro M.J., Shetty A., Zhong X., Page G.P., Zhang H., et al. Familial and genetic susceptibility to major neonatal morbidities in preterm twins. *Pediatrics.* 2006; 117(6): 1901–6. <https://doi.org/10.1542/peds.2005-1414>

8. Lavoie P.M., Pham C., Jang K.L. Heritability of bronchopulmonary dysplasia, defined according to the consensus statement of the national institutes of health. *Pediatrics.* 2008; 122(3): 479–85. <https://doi.org/10.1542/peds.2007-2313>

9. Pal D., Rao M.R.S. Long noncoding RNAs in pluripotency of stem cells and cell fate specification. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017; 1008: 223–52. https://doi.org/10.1007/978-981-10-5203-3_8

10. Yu K.H., Li J., Snyder M., Shaw G.M., O'Brodovich H.M. The genetic predisposition to bronchopulmonary dysplasia. *Curr. Opin. Pediatr.* 2016; 28(3): 318–23. <https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000344>

11. Mahlman M., Karjalainen M.K., Huusko J.M., Andersson S., Kari M.A., Tammela O.K.T., et al. Genome-wide association study of bronchopulmonary dysplasia: a potential role for variants near the CRP gene. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 9271. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08977-w>

12. Torgerson D.G., Ballard P.L., Keller R.L., Oh S.S., Huntsman S., Hu D., et al. Ancestry and genetic associations with bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2018; 315(5): L858–69. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00073.2018>

Информация об авторах:

Басаргина Милана Александровна, канд. мед. наук, ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0003-2075-6668>
E-mail: basargina.ma@nczd.ru

Фисенко Андрей Петрович, профессор, доктор мед. наук, директор ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, 119991, Москва, Россия, eLibrary SPIN: 4397-6291 <https://orcid.org/0000-0001-8586-7946> E-mail: director@nczd.ru

Савостьянов Кирилл Викторович, доктор биол. наук, ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, eLibrary SPIN: 6377-3090, <https://orcid.org/0000-0003-4885-4171> E-mail: 7443333@gmail.com

Давыдова Ирина Владимировна, профессор, доктор мед. наук, ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, eLibrary SPIN: 2019-6368, <https://orcid.org/0000-0002-7780-6737> E-mail: davydova@nczd.ru

Пушков Александр Александрович, канд. биол. наук, ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0001-6648-2063>
E-mail: pushkovgenetika@gmail.com

Жанин Илья Сергеевич, канд. мед. наук, ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, eLibrary SPIN: 6108-2016, <https://orcid.org/0000-0003-1423-0379> E-mail: Ilya_zhanin@outlook.com

Бондарь Валерия Александровна, канд. мед. наук, ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, eLibrary SPIN: 6780-1309, <https://orcid.org/0000-0002-3244-463X> E-mail: bondva23@gmail.com

Information about the authors:

Milana A. Basargina, MD, Ph.D., National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, 119991, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-2075-6668> E-mail: basargina.ma@nczd.ru

Andrey P. Fisenko, MD, Ph.D., DSci., professor, Director, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, 119991, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-8586-7946> E-mail: director@nczd.ru

Kirill V. Savostyanov, MD, Ph.D., National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, 119991, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-4885-4171> E-mail: 7443333@gmail.com

Irina V. Davydova, MD, Ph.D., DSci., professor, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, 119991, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-7780-6737> E-mail: davydova@nczd.ru

Alexander A. Pushkov, MD, Ph.D., National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, 119991, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-6648-2063> E-mail: pushkovgenetika@gmail.com

Ilya S. Zhanin, MD, Ph.D., National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, 119991, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-1423-0379> E-mail: Ilya_zhanin@outlook.com

Valeria A. Bondar, MD, Ph.D., National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, 119991, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-3244-463X> E-mail: bondva23@gmail.com