

**РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРЕДИКТОРОВ В ДОКЛИНИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ****В.А. Бондарь<sup>1\*</sup>, И.В. Давыдова<sup>1</sup>, М.А. Басаргина<sup>1</sup>, А.П. Фисенко<sup>1</sup>, А.А. Пушков<sup>1</sup>, И.С. Жанин<sup>1</sup>, И.В. Борисов<sup>2</sup>, К.В. Савостьянов<sup>1</sup>**<sup>1</sup> ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва<sup>2</sup> ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии», Московская область**THE ROLE OF GENETIC PREDICTORS IN PRECLINICAL DIAGNOSTICS OF BRONCHOPULMONARY DYSPLASIA****V.A. Bondar<sup>1\*</sup>, I.V. Davydova<sup>1</sup>, M.A. Basargina<sup>1</sup>, A.P. Fisenko<sup>1</sup>, A.A. Pushkov<sup>1</sup>, I.S. Zhanin<sup>1</sup>, I.V. Borisov<sup>2</sup>, K.V. Savostyanov<sup>1</sup>**<sup>1</sup> National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia<sup>2</sup> Federal Scientific and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, Moscow region, Russia**E-mail:** Bondva23@gmail.com**Аннотация**

Бронхолегочная дисплазия (БЛД) в настоящее время является одним из самых опасных с клинической точки зрения последствий недоношенности и представляет собой патологию, развивающуюся на фоне совершенствования перинатальных технологий и респираторной терапии в неонатальном периоде. Новая форма бронхолегочной дисплазии — наиболее часто встречающееся заболевание легких у недоношенных детей.

**Цель.** Выявить клинико-генетические предикторы развития новой формы бронхолегочной дисплазии.

**Материалы и методы.** В исследование было включено 100 недоношенных детей, получавших терапию респираторного дистресс-синдрома и развивших новую форму БЛД. Из клеток эпителия буккального соскоба выделена ДНК с помощью экстракции фенол-хлороформом. Для поиска редких нуклеотидных вариантов было проведено массовое параллельное секвенирование экзона с последующим биоинформатическим анализом.

**Результаты.** Большинство детей имели экстремально низкую массу тела при рождении — 81%, очень низкую массу тела при рождении — 19%. ИВЛ была проведена 95 детям, медиана продолжительности — 18 дней [5, 34]. Випхасис проводился 50 пациентам, медиана составила 12 дней [5, 19]. СРАР — 50 детям, медиана продолжительности — 8 дней [5, 13]. Из видов респираторной поддержки также можно отметить дополнительную оксигенацию через маску, носовые канюли и в кювет. Медиана общей продолжительности кислородозависимости у детей — 49 дней [37, 67]. В результате полноэкзомного секвенирования было обнаружено 17 генов, потенциально участвующих в патогенезе БЛД. Среди генов, ранее описанных при БЛД и найденных в рамках данного исследования, было выделено 8 генетических вариантов, частота встречаемости которых у пациентов значимо отличалась от референсного значения: rs12489516, rs2476601, rs1042703, rs5744174, COSV53739696, rs45488997, rs1059046, rs62542745. Найденные генетические варианты могут потенциально влиять на следующие системы: сурфактантная; иммуновоспалительного ответа; организации внеклеточного матрикса и его деградации; ангиогенеза; трансмембранного транспорта.

**Выводы.** Изучение генетических предикторов новой формы БЛД является актуальным направлением, что подтверждается растущим количеством исследований, выявляющих редкие нуклеотидные варианты генома, а также насущной проблемой детской пульмонологии, требующей дальнейшего изучения.

**Ключевые слова:** бронхолегочная дисплазия, недоношенные дети, секвенирование, экзом, генетические предикторы.

**Abstract**

Currently, bronchopulmonary dysplasia (BPD) is one of the most dangerous clinical consequences of premature birth. However, this pathology is met with constantly improving perinatal technologies and respiratory therapy in the neonatal period. A new form of multi-factor bronchopulmonary dysplasia is the most common lung disease in premature infants.

**Purpose.** To identify clinical and genetic predictors of the new form of bronchopulmonary dysplasia.

**Materials and methods.** 100 premature infants who were treated for the respiratory distress syndrome and developed a new BRD form were included in the trial. DNA was isolated from buccal epithelial cells using the phenol-chloroform extraction technique. To search for rare nucleotide variants, mass parallel exome sequencing was carried out followed by the bioinformatic analysis.

**Results.** Most of the children had extremely low birth weight (ELBW) — 81% or very low birth weight (VLBW) — 19%. Mechanical ventilation was done to 95 children; median duration 18 days [5, 34]. Biphasic one was done to 50 patients; median duration 12 days [5, 19]. CPAP was done to 50 children; median duration 8 days [5, 13]. Oxygenation through a mask, nasal cannulas and incubator can also be mentioned as additional types of respiratory support. Median total duration of oxygen dependence of children was 49 days [37, 67]. After the full exome sequencing, 17 genes that may be potentially involved in BPD pathogenesis have been found. Among genes previously described in BPD and found in the present study, 8 genetic variants were identified; their incidence in patients significantly differed

from the reference value: rs12489516, rs2476601, rs1042703, rs5744174, COSV53739696, rs45488997, rs1059046, rs62542745. The discovered genetic variants can potentially affect the following systems: surfactant; immune-inflammatory response; organization of extracellular matrix and its degradation; angiogenesis; transmembrane transport.

**Conclusion.** To study genetic predictors of the BPD new form is a relevant issue. It has been confirmed by the growing number of researches where rare nucleotide variants of the genome were revealed; besides, a new BPD form is an urgent problem in pediatric pulmonology that also requires further research.

**Key words:** bronchopulmonary dysplasia, premature infants, sequencing, exome, genetic predictors.

*Ссылка для цитирования: Бондарь В.А., Давыдова И.В., Басаргина М.А., Фисенко А.П., Пушков А.А., Жанин И.С., Борисов И.В., Савостьянов К.В. Роль генетических предикторов в доклинической диагностике бронхолегочной дисплазии. Кремлевская медицина. Клинический вестник. 2022; 1: 5–9.*

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно до 15 млн детей рождаются преждевременно. Срок гестации в 84% случаев составляет 32–36 недели, в 10% – 28–32 недели и в 5% – до 28 недель [1]. Одной из основных причин заболеваемости и смертности недоношенных детей является патология дыхательной системы, требующая проведения респираторной терапии, в том числе искусственной вентиляции легких (ИВЛ). Новая форма бронхолегочной дисплазии (БЛД) – наиболее часто встречающееся заболевание легких у недоношенных детей. Высокий риск смертельных осложнений со стороны легочной, сердечно-сосудистой, нервной, пищеварительной и других систем относит БЛД к мультидисциплинарной проблеме, требующей системного подхода [2].

На данный момент общепринятого определения БЛД, как и критериев диагностики, не существует [2]. Однако разные литературные источники выделяют следующие главные аспекты данного заболевания:

- 1) хроническое паренхиматозное заболевание легких, развивающееся у недоношенных новорожденных в исходе респираторного дистресс-синдрома (РДС);
- 2) диагностируемое на основании кислородозависимости в возрасте 28 суток жизни и/или 36 недель постконцептуального возраста [2, 3].

БЛД сопряжена с высоким риском жизнеугрожающих осложнений – острой и хронической дыхательной недостаточностью, белково-энергетической недостаточностью, легочной гипертензией, «легочным сердцем» [2, 4, 5]. Новая форма бронхолегочной дисплазии – многофакторное заболевание, являющееся результатом недоразвития легких и воздействия первичного респираторного заболевания (РДС, пневмонии), системной воспалительной реакции, агрессивной интенсивной терапии, вентилятор-ассоциированного повреждения и др. Низкая эластичность стенок примитивных альвеол и отсутствие перераспределения воздуха между ними не позволяют детям, родившимся на каникулярной и саккулярной стадиях развития легких, в полной мере осуществлять дыхательную функцию и требуют назначения респираторной поддержки [2, 4, 6].

В основе перечисленных факторов риска лежат патогенетические изменения в следующих системах: сурфактанта, иммунновоспалительного ответа, антиоксидантов, ангиогенеза, организации внеклеточного матрикса и его деградации, трансмембранных белков и др.

Гены, кодирующие белки перечисленных выше систем, с функциональной и патогенетической точек зрения являются важнейшими генами-кандидатами развития БЛД. Накопление клеток, участвующих в иммунном ответе, дефицит сурфактанта, нарушение организации внеклеточного матрикса, ангиогенеза и работы трансмембранных

каналов являются ключевыми факторами, приводящими к РДС – предшественнику БЛД [7–9]. Поиск молекулярно-генетических предикторов БЛД – актуальное направление современной медицинской науки, которое позволит своевременно определить предпосылки к формированию заболевания и применить профилактические воздействия уже в раннем неонатальном периоде.

### Материалы и методы

Исследование проведено на базе ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации в отделении патологии новорожденных детей и в лаборатории медицинской геномики.

В исследование включено 100 недоношенных детей первого полугодия жизни, перенесших РДС в неонатальном периоде и развивших новую форму БЛД. Критерии включения в исследование:

- 1) недоношенные дети, получавшие респираторную поддержку в неонатальном периоде в связи с РДС недоношенных, сформировавшие БЛД среднетяжелой и тяжелой степени;
- 2) гестационный возраст ребенка при рождении менее 32 недель;
- 3) возраст ребенка на момент сбора данных не более 6 месяцев;
- 4) подписанное информированное согласие родителя/законного представителя на генетическое исследование у ребенка.

Критерием исключения из исследования являлось наличие у ребенка врожденного порока сердечно-сосудистой или бронхолегочной системы, муковисцидоза, врожденного стридора.

Математическая обработка материала проведена с использованием статистического пакета Statistica 10.0. Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению, для этого использовался критерий Колмогорова – Смирнова. Совокупности количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, описывались при помощи значений медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1; Q3).

Для поиска редких нуклеотидных вариантов всем пациентам было проведено массовое параллельное секвенирование полного экзона с последующим биоинформатическим анализом. Для этого дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) из клеток буккального эпителия была выделена с помощью фенол-хлороформной экстракции. Для создания библиотек и обогащения целевыми регионами (экзом) использовали набор реактивов Ion AmpliSeq Library Kit и панель Ion AmpliSeq Exome. При помощи пакета программ Torrent Suite полученные прочтения триммировали,

картировали на геном (hg19), проводили поиск генетических вариантов и их аннотацию. Поиск новых генов, потенциально вовлеченных в патогенез БЛД, проводился по следующему алгоритму: все генетические варианты фильтровали по качеству и глубине чтения ( $QD > 3$ ), частоте минорного аллеля в популяции ( $MAF < 0,01$  по GnomAd 2.1 [10]), эффекту на белок (Moderate или High по SnpEff [11] и Deleterious по PolyPhen [12] или Sift [13]). Затем выбирали те гены, в которых было как минимум 2 подобных варианта, встречавшихся более чем в 2 аллелях среди всей основной выборки. Полученный список генов использовался как test list в программе TopGene [14] – алгоритме предсказания возможных связей между генами, основанном на анализе их функций. В качестве обучающего списка генов были использованы гены, связь которых с БЛД была показана ранее. На следующем этапе исследования было проведено сравнение встречаемости генетических вариантов в генах, ранее ассоциированных с БЛД и выбранных в данном исследовании, у пациентов с БЛД по сравнению с контрольной выборкой. Контрольная выборка состояла из 68 пациентов из Центрального и Северо-Западного федеральных округов, у которых не было заболеваний бронхолегочной системы. Генетический материал всех пациентов был просеквенирован на одном приборе и с использованием одинаковых реактивов. Частоты аллелей у двух выборок сравнивались при помощи точного критерия Фишера.

### Результаты и обсуждение

В исследование включено 100 недоношенных детей первого полугодия жизни с гестационным возрастом менее 32 недель при рождении, перенесших РДС в неонатальном периоде и сформировавших БЛД. На основании анамнеза и клинических данных детей (гестационный возраст, масса тела, длина тела при рождении и оценка по шкале APGAR на 1-й и 5-й минутах жизни, длительность кислородозависимости, длительность и режимы ИВЛ) создана современная модель пациента с новой формой бронхолегочной дисплазии. Распределение по гендерному признаку практических равномерное: мальчиков – 52%, девочек – 48%. Распределение по гестационному возрасту: до 28 недель 6 дней – 85%, от 29 недель до 31 недели 6 дней – 15%.

Подавляющее число детей были рождены до 29-й недели гестации. Большинство детей, включенных в исследование, имели экстремально низкую массу тела (ЭНМТ) при рождении – 81%, остальные дети родились с очень низкой массой тела (ОНМТ) при рождении – 19%. По шкале APGAR на первой минуте после рождения 89% детей имели оценку от 1 до 5 баллов, 11% детей – 6 баллов и более. К 5-й минуте после рождения 24% детей имели оценку по шкале APGAR 5 баллов и ниже. Все младенцы получали профилактику РДС препаратами экзогенного сурфактанта эндотрахеально после рождения. Традиционная ИВЛ была проведена 95 детям, медиана продолжительности (нижний и верхний квартили) составила 18 дней [5; 34]. Biphasic проводился 50 пациентам, медиана составила 12 дней [5; 19]. CPAP также проводился 50 детям, медиана продолжительности – 8 дней [5; 13]. Из видов осуществления респираторной поддержки также можно выделить масочную терапию ( $n=20$ ), носовые канюли ( $n=67$ ) и кювез ( $n=25$ ), медиана продолжительности составила 14 дней [11; 5; 27], 17 дней [8; 27] и 19 дней [7; 28] соответственно. Медиана общей продолжительности кислородозависимости у детей – 49 дней [37; 67]. Из 100 пациентов только у 7 (7%) детей отмечена легочная гипертензия,

пневмония осложнила течение БЛД более чем у половины пациентов исследуемой группы (54%), внутрижелудочковое кровотечение выявлено у 83 (83%) пациентов, некротизирующий энтероколит – у 43 (43%) пациентов.

Таким образом, современная модель пациента с новой формой бронхолегочной дисплазии – это недоношенный ребенок с ОНМТ или ЭНМТ, рожденный до 32-й недели гестации (на каникулярной или сакулярной стадии развития легких), нуждающийся в длительной респираторной поддержке и дополнительной оксигенации. Профилактика РДС препаратами сурфактантов является необходимым методом терапии в первые минуты жизни таких пациентов и входит в стратегии интенсивной терапии и принципы выхаживания детей с экстремально низкой и очень низкой массой тела при рождении [15].

В результате анализа приоритизации генов исходя из статистической значимости были выбраны 17 генов, которые потенциально могут участвовать в патогенезе БЛД: *TTN*, *HTRA2*, *AMH*, *MAPK8IP3*, *UGT1A7*, *UGT1A6*, *UGT1A3*, *UGT1A9*, *UGT1A4*, *UGT1A8*, *UGT1A10*, *AUP1*, *HYAL3*, *GALR2*, *ARHGEF11*, *UGT1A5*, *AQP7*. Среди генов, ранее описанных при БЛД и найденных в рамках данного исследования, было выделено 8 генетических вариантов, частота встречаемости которых у пациентов значимо отличалась от контрольной выборки: rs12489516 (*CPA3*), rs2476601 (*PTPN22*), rs1042703 (*MMP14*), rs5744174 (*TLR5*), COSV53739696 (*COL8A1*), rs45488997 (*CTGF*), rs1059046 (*SFTPA2*), rs62542745 (*AQP7*). Найденные генетические варианты могут потенциально влиять на следующие системы: сурфактанта; иммуновоспалительного ответа; организации внеклеточного матрикса и его деградации; ангиогенеза; трансмембранного транспорта.

Ассоциация генетических вариантов гена *SFTPA2* с развитием РДС и БЛД описана в исследовании К.К. Рукман и соавт. Ген *SFTPA2* кодирует сурфактантный белок А (SP-A – surfactant protein-A). SP-A является частью сложной смеси, в которую входят фосфолипиды, в первую очередь фосфатидилхолин, и белки сурфактанта SP-B, SP-C и SP-D, которые совместно определяют физическую структуру, функцию и метаболизм сурфактанта в альвеолах [16, 17].

Накопление клеток, участвующих в иммунном ответе, является важным защитным фактором, и гены-предикторы, кодирующие белки воспалительного ответа, были подтверждены в качестве значимых в формировании БЛД, а именно: *CPA3*, *PTPN22*, *TLR5*. Ген *CPA3* кодирует карбоксипептидазу А3, относящуюся к семейству цинковых металлопротеаз. Экспрессия данного гена является специфичной для тучных клеток (ТК), ассоциация с БЛД описана в исследовании Y. Ren и соавт. [18]. Существует 2 основных фенотипа ТК, участвующих в иммунной защите дыхательной системы: слизистые ТК и ТК соединительной ткани. Карбоксипептидаза А3 – фермент, вырабатываемый ТК соединительной ткани, выполняющий не только протективную, но и гомеостатическую функцию. Белок, кодируемый *CPA3*, описан в качестве предиктора таких заболеваний, как хроническая обструктивная болезнь легких и бронхиальная астма [19, 20]. Продукт гена *PTPN22* известен как лимфоидспецифическая тирозинфосфатаза (lymphoid tyrosine phosphatase – LTP) и является мощным ингибитором активации Т-клеток [21]. Мутации гена *PTPN22* были описаны в качестве предикторов преждевременного рождения в диссертационной

работе J.A. Plunkett [22]. Ген *TLR5* кодирует мембранный белок, входящий в семейство толл-подобных рецепторов (TLR – toll-like receptor), обеспечивающих функционирование врожденного иммунитета [23]. Толл-подобные рецепторы участвуют в окислительных реакциях при травмах и воспалительных процессах в легких. В 2012 г. в США было проведено исследование с целью поиска ассоциации 9 генов-кандидатов (*TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, IRAK1, MAL, TIRAP, NFKB1, NFKBIA*) с БЛД у детей из 4 медицинских центров. Статистически значимым в отношении формирования БЛД оказался полиморфизм с.1174C>T гена *TLR5* [24, 25].

В нарушении метаболизма легочного коллагена большое значение имеет изменение содержания матриксных металлопротеиназ (ММП) и их тканевых ингибиторов [26]. Ген *MMP14* кодирует тканевую коллагеназу ММП-14, функция которой связана с деградацией соединительнотканного матрикса. ММП как полифункциональные белки способны денатурировать фибриллярные коллагены и активировать развитие фиброза. Ассоциация ММП-14 с бронхолегочной дисплазией неоднозначна. В исследовании M. Rezvani и соавт. среди 11 генотипированных полиморфизмов различных генов ММП (ММП-1, ММП-2, ММП-9, ММП-12, ММП-14, ММП-16) не было обнаружено БЛД-ассоциированных [27]. Экспрессия ММП-14 может свидетельствовать о продолжающемся активном фиброзе легочной ткани на этапе стихания клинических проявлений заболевания [26].

Ген *COL8A1* кодирует одну из двух альфа-цепей коллагена VIII типа. Продукт гена представляет собой короткоцепочечный коллаген и главный компонент базальной мембраны эндотелия роговицы. Значительная разница в экспрессии данного гена у пациентов, сформировавших и не сформировавших БЛД, была описана в исследовании S. Bhattacharya и соавт. [28].


Ген *CTGF* кодирует фактор роста соединительной ткани – одно из важнейших звеньев ангиогенеза. Уникальная молекулярная структура *CTGF* (connective tissue growth factor – фактор роста соединительной ткани) позволяет ему связывать различные факторы роста, такие как трансформирующий фактор роста  $\beta$ , сосудистый эндотелиальный фактор роста и др. [29]. Секретция *CTGF* регулируется различными факторами роста, гипоксическим состоянием, биомеханическим растяжением ткани, индуцируется в процессе восстановления тканей [30]. Помимо ангиогенной активности этого фактора, описана его роль в адгезии, миграции и пролиферации эндотелиальных клеток [29, 31]. В настоящее время доказана гиперэкспрессия *CTGF* в альвеолоцитах II типа, вызывающая ремоделирование сосудов и приводящая к легочной гипертензии. Ингибирование *CTGF* моноклональным антителом *CTGF* улучшает альвеоляризацию и развитие сосудов, а также снижает ремоделирование легочных сосудов и легочную гипертензию, вызванную гипероксией. *CTGF* может быть новой мишенью для терапии БЛД у недоношенных детей [32].

Ген *AQP7* кодирует белок группы аквапоринов (аквапорин 7), который образует канал, проницаемый для воды и глицерина. Открытие семейства водоселективных каналов – аквапоринов, отвечающих за транспорт воды через клеточные мембраны, позволило идентифицировать молекулярные механизмы, лежащие в основе постнатальной гомеостатической адаптации, и способствовало лучшему

пониманию связанных с водным дисбалансом нарушений в младенчестве. Роль нарушения работы аквапоринов 1, 3, 4 и 5-го типов при РДС и БЛД описана в исследовании M. Zelenina и соавт. [33]. Легкие плода выделяют около 0,5 л жидкости в день. При рождении эпителий легких трансформируется из секреторного в абсорбирующий. Это переключение включает повышенную экспрессию натриевого насоса, а также изменения в экспрессии легочных АQP. При рождении большая часть легочной жидкости удаляется механически, но некоторая часть остается для абсорбции в течение первых постнатальных дней. У недоношенных детей способность легких реабсорбировать воду часто нарушена, что способствует повышению частоты формирования как РДС, так и бронхолегочной дисплазии [34].

Для разработки эффективных мер профилактики БЛД необходимо исследовать механизмы развития патологии в перинатальном периоде на молекулярно-генетическом уровне. Доклиническая диагностика и прогноз течения заболевания позволят не только своевременно проводить профилактику развития БЛД, но и минимизировать осложнения в случае формирования заболевания у ребенка.

### Выводы

Результатом совершенствования перинатальных технологий и методов респираторной поддержки стало увеличение выживаемости недоношенных детей и, следовательно, увеличение частоты развития новой формы бронхолегочной дисплазии. В данном исследовании представлен не только современный клинический портрет пациента с БЛД, но и обозначены главные молекулярно-генетические предикторы патологии. Следующим этапом исследования планируется определить разницу в экспрессии выбранных вариантов у детей с БЛД и у выборки детей с РДС, но без БЛД. Данный этап исследования будет необходим для определения возможных генетических вариантов, которые могут быть использованы в качестве ранних предикторов развития БЛД. Персонализированный подход на основании результатов исследования позволит предотвратить развитие заболевания или уменьшить тяжесть его течения. 

### Литература

1. Walani S.R. Global burden of preterm birth // *Int J Gynecol Obstet.* – 2020. – V. 150. – № 1. – P. 31–33.
2. Овсянников Д.Ю., Кузьменко Л.Г. Бронхолегочная дисплазия // *Пульмонология.* – 2020. – № 4. – С. 176. [Ovsyannikov D.Y., Kuzmenko L.G. Bronchopulmonary dysplasia // *Pulmonology.* – 2020. – № 4. – P. 176. In Russian].
3. Abman S.H., Collaco J.M., Shepherd E.G. et al. Interdisciplinary care of children with severe bronchopulmonary dysplasia // *J Pediatr.* – 2017. – V. 181. – P. 12–28.
4. Dudek R.W. *High-yield embryology.* – Lippincott Williams & Wilkins, 2013.
5. Wang S.H., Tsao P.N. Phenotypes of bronchopulmonary dysplasia // *Int J Mol Sci.* – 2020. – V. 21. – № 17. – P. 6112.
6. Овсянников Д.Ю., Кравчук Д.А., Николаева Д.Ю. Клиническая патофизиология органов дыхания недоношенных детей // *Неонатология: новости, мнения, обучение.* – 2018. – Т. 6. – № 3. – С. 74–98. [Ovsyannikov D.Y., Kravchuk D.A., Nikolaeva D.Yu. Clinical pathophysiology of the respiratory system in preterm infants //

- Neonatology: News, Opinions, Training.* – 2018. – V. 6. – № 3. – P. 74–98. In Russian].
7. Басаргина М.А., Фисенко А.П., Давыдова И.В., Бондарь В.А. Ранняя диагностика бронхолегочной дисплазии: актуальный вектор научных исследований // *Кремлевская медицина. Клинический вестник.* – 2021. – № 1. – С. 90–99. [Basargina M.A., Fisenko A.P., Davydova I.V., Bondar V.A. Early diagnostics of bronchopulmonary dysplasia: an actual vector of scientific research // *Kremlin medicine. Clinical bulletin.* – 2021. – № 1. – P. 90–99. In Russian].
  8. Беляшова М.А., Овсянников Д.Ю., Огородова Л.М. Молекулярно-генетические механизмы развития бронхолегочной дисплазии // *Неонатология: новости, мнения, обучение.* – 2015. – № 3 (9). – С. 50–68. [Belyashova M.A., Ovsyannikov D.Yu., Ogorodova L.M. Molecular genetic mechanisms of bronchopulmonary dysplasia development // *Neonatology: News, Opinions, Training.* – 2015. – № 3 (9). – P. 50–68. In Russian].
  9. Давыдова И.В., Аникин А.В., Кустова О.В. и др. Бронхолегочная дисплазия в постсурфактантную эру: результаты объективной оценки течения заболевания // *Вопросы современной педиатрии.* – 2015. – Т. 14. – № 4. – С. 514–518. [Davydova I.V., Anikin A.V., Kustova O.V. et al. Bronchopulmonary dysplasia in post-surfactant era: results of an objective assessment of the disease // *Current Pediatrics.* – 2015. – V. 14 – № 4. – P. 514–518. In Russian].
  10. Karczewski K., Francioli L.C., MacArthur D.G. et al. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans // *Nature.* – 2020. – P. 434–443.
  11. Cingolani P., Platts A., Wang L.L. et al. A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain w1118; iso-2; iso-3 // *Fly (Austin).* – 2012. – V. 6. – № 2. – P. 80–92.
  12. Adzhubei I.A., Schmidt S., Peshkin L. et al. A method and server for predicting damaging missense mutations // *Nat Methods.* – 2010. – V. 7. – № 4. – P. 248–249.
  13. Ng P.C., Henikoff S. SIFT: Predicting amino acid changes that affect protein function // *Nucleic Acids Res.* – 2003. – V. 31. – № 13. – P. 3812–3814.
  14. Chen J., Aronow B.J., Jegga A.G. Disease candidate gene identification and prioritization using protein interaction networks // *BMC Bioinformatics.* – 2009. – V. 10. – P. 73.
  15. Антонов А.Г., Борисевич О.А., Буркова А.С. и др. Интенсивная терапия и принципы выхаживания детей с экстремально низкой и очень низкой массой тела при рождении. Методическое письмо Минздравасоцразвития России от 16.12.2011 № 15-0/10/2-11336. М., 2011. С. 36. [Antonov A.G., Borisevich O.A., Burkova A.S. et al. Intensive care and nursing of newborns with extremely low and very low birth weight. Methodic letter from the Ministry of Health and Social Development of Russia No. 15-0/10/2-11336 dated 16 December 2011. M., 2011. P. 36. In Russian].
  16. Ryckman K.K., Dagle J.M., Kelsey K. et al. Genetic associations of surfactant protein D and angiotensin-converting enzyme with lung disease in preterm neonates // *J Perinatol.* – 2012. – V. 32. – № 5. – P. 349–355.
  17. Whitsett J.A., Wert S.E., Weaver T.E. Diseases of pulmonary surfactant homeostasis // *Ann Rev Pathol Mech Dis.* – 2015. – V. 10. – P. 371–393.
  18. Ren Y., Lyu Y., Mereness J.A. et al. Rare pulmonary connective tissue type mast cells regulate lung endothelial cell angiogenesis // *Am J Pathol.* – 2020. – V. 190. – № 8. – P. 1763–1773.
  19. Pejler G. The emerging role of mast cell proteases in asthma // *Eur Respir J.* – 2019. – V. 54. – № 4.
  20. Winter N.A., Gibson P.G., McDonald V.M., Fricker M. Sputum gene expression reveals dysregulation of mast cells and basophils in eosinophilic COPD // *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* – 2021. – V. 16. – P. 2165.
  21. Budding K., van Setten J., van de Graaf E.A. et al. The autoimmune-associated single nucleotide polymorphism within PTPN22 correlates with clinical outcome after lung transplantation // *Front Immunol.* – 2019. – V. 9. – P. 3105.
  22. Plunkett J.A. Genetic influences on preterm birth. – Washington University in St. Louis, 2010. doi: 10.1055/s-2006-956774.
  23. Lien E., Ingalls R.R. Toll-like receptors // *Crit Care Med.* – 2002. – V. 30. – № 1. – P. 1–11.
  24. Пожарищенская В.К., Давыдова И.В., Савостьянов К.В. и др. Генетическая детерминация формирования бронхолегочной дисплазии: за и против // *Педиатрическая фармакология.* – 2017. – Т. 14. – № 1. – С. 24–32. [Pozharishchenskaya V.K., Davydova I.V., Savost'yanov K.V. et al. Genetic determination of bronchopulmonary dysplasia formation: pros and cons // *Pediatric pharmacology.* – 2017. – V. 14. – № 1. – P. 24–32. In Russian].
  25. Malash A.H., Ali A.A., Samy R.M., Shamma R.A. Association of TLR polymorphisms with bronchopulmonary dysplasia // *Gene.* – 2016. – V. 592. – № 1. – P. 23–28.
  26. Давыдова И.В., Яцык Г.В., Бершова Т.В. и др. Матриксные металлопротеиназы как биомаркеры формирования бронхолегочной дисплазии у детей // *Пульмонология.* – 2009. – № 4. – С. 80–84. [Davydova I.V., Yatsyk G.V., Bershova T.V. et al. Matrix metalloproteinases as biomarkers of bronchopulmonary dysplasia in children // *Pulmonology.* – 2009. – № 4. – P. 80–84. In Russian].
  27. Rezvani M., Wilde J., Vitt P. et al. Association of a FGFR-4 gene polymorphism with bronchopulmonary dysplasia and neonatal respiratory distress // *Dis. Markers.* – 2013. – V. 35. – № 6. – P. 633–640.
  28. Bhattacharya S., Go D., Krenitsky D.L. et al. Genome-wide transcriptional profiling reveals connective tissue mast cell accumulation in bronchopulmonary dysplasia // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2012. – V. 186. – № 4. – P. 349–358.
  29. Cicha I., Goppelt-Struebe M., Yilmaz A. et al. Endothelial dysfunction and monocyte recruitment in cells exposed to non-uniform shear stress // *Clin Hemorheol Microcirc.* – 2008. – V. 39. – № 1–4. – P. 113–119.
  30. Kapoor M., Liu S., Huh K. et al. Connective tissue growth factor promoter activity in normal and wounded skin // *Fibrogenesis Tissue Repair.* – 2008. – V. 1. – № 1. – P. 1–9.
  31. Васильева О.В., Голубцова Н.Н., Филиппов Ф.Н., Гунин А.Г. Фактор роста соединительной ткани (CTGF) в дерме человека в онтогенезе // *Онтогенез.* – 2016. – Т. 47. – № 2. – С. 75–82. [Vasilieva O.V., Golubtsova N.N., Filippov F.N., Gunin A.G. Connective tissue growth factor (CTGF) in the human dermis through ontogenesis // *Russian Journal of Developmental Biology.* – 2016. – V. 47. – № 2. – P. 75–82. In Russian].
  32. Wang X., Cui H., Wu S. CTGF: A potential therapeutic target for Bronchopulmonary dysplasia // *Eur J Pharmacol.* – 2019. – V. 860. – P. 172588.
  33. Zelenina M., Zelenin S., Aperia A. Waterchannels (aquaporins) and their role for postnatal adaptation // *Pediatr Res.* – 2005. – V. 57. – № 7. – P. 47–53.
  34. Modi N. Clinical implications of postnatal alterations in body water distribution // *Semin Neonatol.* – 2003. – V. 8. – № 4. – P. 301–306.