

ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ИНСТИТУТ ГЕНЕТИКИ И ЦИТОЛОГИИ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ»

Объект авторского права

УДК 577.21: 575.174.015.3:616-053.32

МАЛЫШЕВА
Ольга Михайловна

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА
СИНДРОМА ДЫХАТЕЛЬНОГО РАССТРОЙСТВА,
БРОНХОЛЁГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ И РЕТИНОПАТИИ
У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЁННЫХ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

по специальности 03.01.07 – молекулярная генетика

Минск, 2026

Научная работа выполнена в Государственном научном учреждении «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси» и в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Научные руководители: **Кильчевский Александр Владимирович,**
доктор биологических наук, профессор, академик НАН Беларуси, заместитель Председателя Президиума НАН Беларуси

Шишко Георгий Александрович,
доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты: **Моссэ Ирма Борисовна,**
доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории генетики человека Института генетики и цитологии НАН Беларуси

Слобожанина Екатерина Ивановна,
доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент НАН Беларуси, главный научный сотрудник лаборатории медицинской биофизики Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси

Оппонирующая организация Белорусский государственный университет

Защита состоится 19 февраля 2026 г. в 10³⁰ часов на заседании совета по защите диссертаций Д 01.31.01 при Государственном научном учреждении «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» по адресу: 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27.

Тел.: (+375 17) 305-34-10, факс (+375 17) 378-19-17, e-mail: O.Orlovskaya@igc.by

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института генетики и цитологии НАН Беларуси.

Автореферат разослан « 15 » января 2026 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций,
кандидат биологических наук, доцент



О.А. Орловская

ВВЕДЕНИЕ

Одной из важнейших задач в области демографической безопасности является снижение младенческой смертности и заболеваемости. Среди новорождённых, умерших в неонатальном периоде, до 70% приходится на недоношенных детей [Моисеева и др., 2023; Perin et al., 2022; Васильев и др., 2022]. Несмотря на существенный прогресс в выхаживании недоношенных младенцев, синдром дыхательного расстройства у новорождённого (СДР) остается наиболее частым заболеванием у этих пациентов и может являться одной из причин развития бронхолёгочной дисплазии (БЛД) и ретинопатии недоношенных (РН), способствующих ранней инвалидизации пациента [Чистякова и др., 2024; Podraza et al., 2018]. В то же время комплексный подход в неонатальной помощи, опирающийся на знание этиологии заболевания, увеличивает шансы благоприятного исхода для недоношенных новорождённых [Гнедько, Берестень, 2019].

Современные представления о причинах и механизмах развития СДР, БЛД и РН включают в себя общие положения о многофакторности и полигенности, а также о сложном характере взаимодействия как генетических, так и перинатальных факторов риска (заболевания матери в период беременности, гипоксия плода, преждевременные роды, малый срок гестации, низкий вес) [Zhang et al., 2025].

В основе СДР и развивающихся осложнений дыхательной системы недоношенных новорождённых лежит дефицит сурфактанта, проявляющийся в условиях дисбаланса кислородного и энергетического гомеостаза. На патогенез БЛД и РН влияют окислительный стресс вследствие продолжительной кислородотерапии, аномальные уровни регуляторов ангиогенеза и воспалительные реакции [Wu et al., 2025]. Гены, кодирующие компоненты указанных патофизиологических систем, являются высоко полиморфными, что может объяснять индивидуальные различия новорождённых в восприимчивости к развитию БЛД и РН. Выявление молекулярно-генетических изменений, связанных с этими состояниями, позволит определить генетические факторы риска развития БЛД и РН.

Изучение роли генетических и средовых факторов в развитии СДР, БЛД и РН у новорождённых будет способствовать дальнейшему успеху в раскрытии природы этих заболеваний, а также в разработке эффективных методов профилактики, лечения и прогнозирования постнатального развития детей.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами

Диссертационная работа выполнялась в рамках задания 17ИБ «Разработать и внедрить метод прогнозирования исходов дыхательных расстройств у новорождённых на основании молекулярно-генетических исследований генов, ассоциированных с данной патологией» (2016–2018 гг., № ГР 20170109) и задания 25ИБ «Разработать алгоритм проведения клиничко-лабораторных и молекулярно-генетических исследований для минимизации риска развития ретинопатии, лейкомаляции мозга и бронхолёгочной дисплазии у недоношенных новорождённых» (2019–2020 гг., № ГР 20192786) раздела «Геномные биотехнологии» подпрограммы «Инновационные биотехнологии 2020» ГП «Наукоемкие технологии и техника».

Диссертационное исследование соответствует приоритетным направлениям научных исследований и научно-технической деятельности Республики Беларусь на 2016–2020 гг., отраженным в пункте 3 «Биологические системы и технологии» Постановления Совета Министров Республики Беларусь №190 от 12.03.2015 и в пункте 4 «Медицина, фармацевтика, медицинская техника: технологии профилактики, диагностики и лечения заболеваний; охрана здоровья матери и ребенка» Указа Президента Республики Беларусь № 166 от 22.04.2015, а также приоритетным направлениям научной, научно-технической и инновационной деятельности на 2021–2025 гг., отраженным в пункте 2 «Биологические, медицинские, фармацевтические и химические технологии и производства: биотехнологии (геномные и постгеномные, клеточные, микробные, медицинские, промышленные)» Указа Президента Республики Беларусь № 156 от 07.05.2020.

Цель работы: выявить молекулярно-генетические факторы риска синдрома дыхательного расстройства, бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных новорождённых.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи:**

1. определить частоту встречаемости полиморфных вариантов генов системы сурфактанта (*SFTPВ*, *SFTPС*), генов компонентов системы ангиогенеза (*VEGFA*, *KDR*) и тканевого ремоделирования (*MMP2*, *MMP9*, *TGFB1*, *TGFBRI*) у недоношенных новорождённых срока гестации 28–36 недель с синдромом дыхательного расстройства различной степени тяжести, бронхолёгочной дисплазией, ретинопатией недоношенных и в группе доношенных новорождённых;

2. выявить варианты нуклеотидной последовательности исследуемых генов, влияющие на риск развития и тяжесть течения синдрома дыхательного расстройства у новорождённых;

3. провести анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов-кандидатов с вероятностью развития бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии недоношенных;

4. определить методом полноэкзомного секвенирования спектр редких вариантов нуклеотидной последовательности генов, участвующих в патогенезе бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии недоношенных.

Объектом исследования являлись образцы ДНК, выделенные из венозной крови недоношенных новорождённых с синдромом дыхательного расстройства, бронхолёгочной дисплазией и ретинопатией недоношенных, и доношенных новорождённых с отсутствием исследуемых и других видимых патологий.

Предметом исследования служили варианты нуклеотидной последовательности генов, ассоциированных с возникновением и тяжестью течения синдрома дыхательного расстройства, бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии недоношенных.

Научная новизна. Впервые в Беларуси дана комплексная оценка частоты распределения полиморфных вариантов генов компонентов системы ангиогенеза и тканевого ремоделирования (*VEGFA*, *TGFB1*, *KDR*, *TGFBRI*, *MMP2*, *MMP9*), генов компонентов системы сурфактанта (*SFTPB*, *SFTPC*) у недоношенных новорождённых со сроком гестации 28–36 недель с синдромом дыхательного расстройства различной степени тяжести. Определена прогностическая значимость отдельных полиморфных вариантов генов, а также их сочетаний для оценки вероятности развития и течения синдрома дыхательного расстройства. Выявлены гендерные различия в ассоциации полиморфных вариантов генов с развитием и тяжестью течения синдрома дыхательного расстройства. Установлены молекулярно-генетические особенности осложнений перинатального периода, а именно влияние генетической изменчивости белков сурфактанта (*SP-B* и *SP-C*) на развитие бронхолёгочной дисплазии у новорождённых, а также компонентов ангиогенеза, тканевого ремоделирования и воспаления на развитие ретинопатии недоношенных.

Впервые в Беларуси проведено полноэкзомное секвенирование у недоношенных новорождённых с бронхолёгочной дисплазией и ретинопатией со сроком гестации 28–34 недели с использованием сформированной панели, включающей 88 генов для оценки риска этих заболеваний. По результатам секвенирования описаны редкие варианты в генах *FZD4*, *TLR6*, *TIRAP*, *AGTR1*, *EPAS1*, *SOD1*, встречающиеся у недоношенных новорождённых белорусской популяции с осложнениями синдрома дыхательного расстройства, а также выявлен новый на момент исследования вариант p.Gln101Ter гена *TIRAP* у пациента с ретинопатией недоношенных.

Положения, выносимые на защиту:

1. Однонуклеотидные замены и микросателлитные повторы в генах, кодирующих белки сурфактантной системы SP-B и SP-C (*SFTPB* и *SFTPC*), ассоциированы с развитием и тяжестью течения синдрома дыхательного расстройства у недоношенных новорождённых, что позволяет рассматривать их в качестве маркеров высокого риска этих состояний: аллель 256 п.н. D2S388 гена *SFTPB* и комбинация генотипов 1580CT_{*SFTPB*}/557AA_{*SFTPC*} связаны с тяжестью течения заболевания независимо от пола ребенка; у мальчиков комбинация генотипов 1580TT_{*SFTPB*}/413CC_{*SFTPC*} ассоциирована с тяжестью течения заболевания; у девочек развитие синдрома дыхательного расстройства связано с комбинацией генотипов -18CC_{*SFTPB*}/436-8CG_{*SFTPC*}, а тяжесть течения заболевания – с аллелем -18C гена *SFTPB* и комбинациями генотипов -18AC_{*SFTPB*}/413CC_{*SFTPC*} и -18AC_{*SFTPB*}/1580CT_{*SFTPB*}. Использование этих маркеров позволит расширить возможности генетической стратификации риска развития и тяжести течения синдрома дыхательного расстройства у недоношенных новорождённых.

2. Однонуклеотидные замены в генах системы тканевого ремоделирования (*MMP2*, *MMP9* и *TGFBI*) связаны с синдромом дыхательного расстройства у недоношенных новорождённых. При этом комбинация генотипов -1575GG_{*MMP2*}/-1562CC_{*MMP9*} генов металлопротеиназ -2 и -9 ассоциирована с возникновением заболевания независимо от пола ребенка. У девочек развитие заболевания связано также с генотипом 2660AA гена *MMP9* и комбинацией 2660AA_{*MMP9*}/-1562CC_{*MMP9*}. Аллель -509A гена трансформирующего фактора роста β 1, а также сочетанный генотип с геном *MMP2* (-509AG_{*TGFBI*}/-1575GG_{*MMP2*}) ассоциированы с тяжестью заболевания у мальчиков. Выявление этих маркеров позволит использовать их в многофакторной оценке риска развития и тяжести течения синдрома дыхательного расстройства у недоношенных новорождённых.

3. Носительство генотипа 413CC гена *SFTPC* белка сурфактанта С и комбинации генотипов белков сурфактанта В и С 413CC_{*SFTPC*}/1580CT_{*SFTPB*} ассоциировано с высоким риском развития бронхолёгочной дисплазии у недоношенных новорождённых со сроком гестации 28–34 недели, что подчеркивает ведущую роль компонентов сурфактантной системы в патогенезе дыхательных осложнений у недоношенных детей.

4. Развитие ретинопатии недоношенных у новорождённых со сроком гестации 28–34 недели связано с распространёнными и редкими вариантами генов, вовлеченных в ангиогенез (*FZD4*, *AGTR1*, *EPAS1*), тканевое ремоделирование (*TGFBR1*, *MMP2*, *MMP9*) и воспаление (*TLR6*, *TIRAP*, *SOD1*). Наибольший рискованный потенциал в отношении ретинопатии выявлен при носительстве генотипа 2660AA гена *MMP9* и парных комбинаций генотипов

2660AA_{MMP9}/- 1575GG_{MMP2}, 2660AA_{MMP9}/-1562CC_{MMP9}, 6A_9A_{TGFBR1}/- 1575AA_{MMP2}, что указывает на необходимость учитывать, как распространенные, так и редко встречающиеся варианты нуклеотидной последовательности при прогнозировании риска развития и течения ретинопатии недоношенных.

Личный вклад соискателя ученой степени

Основные научные результаты диссертационного исследования получены соискателем лично: выполнение экспериментальной части работы (выделение ДНК, молекулярно-генетический анализ, включая проведение полноэкзомного секвенирования, статистическая и биоинформатическая обработка данных) и интерпретация результатов исследования.

Автор выражает искреннюю благодарность научным руководителям д.б.н., академику Кильчевскому А. В. и д.м.н., профессору Шишко Г. А. за выбор темы исследования, обсуждение полученных результатов, консультации по медицинским аспектам изучаемых осложнений у недоношенных новорождённых. Автор признателен коллективу лаборатории экологической генетики и биотехнологии Института генетики и цитологии НАН Беларуси и кафедры репродуктивного здоровья, перинатологии и медицинской генетики Института повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения Белорусского государственного медицинского университета за формирование групп пациентов и помощь в сборе биологического материала, а также за дружественную атмосферу и поддержку при работе над диссертацией.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Результаты диссертационной работы представлены на международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика 2018» (Минск, 2018), X съезде педиатров и I перинатальном конгрессе Республики Беларусь (Минск, 2018), XXII Конгрессе педиатров России с международным участием (Москва, 2020), республиканской научной конференции «Современные проблемы генетики, геномики и биотехнологии» (Ташкент, 2022), V международной научной конференции, посвящённой 135-летию со дня рождения Н. И. Вавилова (Минск, 2022).

Разработана и опубликована Инструкция по применению «Метод медицинской профилактики бронхолёгочной дисплазии у недоношенных новорождённых», утвержденная Министерством здравоохранения Республики Беларусь (№ 136-1118 от 30.11.2018).

Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе Института повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения Белорусского государственного медицинского университета (1 акт о внедрении), а также внедрены в клиническую практику УЗ «Клинический родильный дом

Минской области» и УЗ «1-я городская клиническая больница» (2 акта о внедрении).

Опубликованность результатов диссертации

По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, в том числе 5 статей в научных изданиях, соответствующих пункту 19 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь» (3,6 авторских листа), 2 статьи в других рецензируемых изданиях, 5 материалов конференций и тезисов докладов, 1 инструкция по применению, 1 учебно-методическое пособие.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 179 страницах машинописного текста и состоит из введения, общей характеристики работы, 5 глав, заключения, списка использованных источников и 3 приложений. Работа иллюстрирована 38 таблицами и 55 рисунками. Библиографический список включает 206 наименований, в том числе 179 на иностранном языке.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Биологическим материалом для исследования служили образцы венозной крови 567 новорождённых, из которых 325 образцов недоношенных новорождённых с синдромом дыхательного расстройства (СДР) со сроком гестации 28–36 недель и 242 образца доношенных новорождённых, ранний неонатальный период которых протекал без патологий. Образцы крови предоставлены УЗ «Клинический родильный дом Минской области» с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности и наличием разрешения Комитета по этике Белорусской медицинской академии последиplomного образования на проведение исследования.

Исследуемая выборка недоношенных детей характеризовалась наличием пациентов с умеренным ($n=127$) или тяжелым ($n=198$) течением СДР, из них часть пациентов имела осложнения: 44 ребенка – с диагнозом «ретинопатия недоношенных» (РН), 20 детей – с диагнозом «бронхолёгочная дисплазия» (БЛД), и 23 пациента – с сочетанием РН и БЛД. Тяжелое течение СДР определялось необходимостью респираторной поддержки более 1 суток и применения сурфактантной терапии.

Для оценки риска развития БЛД в качестве контроля подобрана подгруппа из 100 недоношенных детей со сроком гестации 28–34 недели с СДР тяжелой формы без БЛД и РН, а для выявления риска развития РН – подгруппа из 187 недоношенных младенцев со сроком гестации 28–34 недели с СДР различной степени тяжести без исследуемых осложнений.

Исследуемые группы и подгруппы не различались по соотношению полов.

Выделение геномной ДНК осуществляли методом фенол-хлороформной экстракции. У новорождённых проведен анализ 18 полиморфных вариантов генов, контролирующих компоненты системы ангиогенеза (rs2010963, rs3025039, rs699947 *VEGFA*; rs1870377, rs2071559 *KDR*), тканевого ремоделирования (rs2285053, rs243866 *MMP2*; rs17576, rs3918242 *MMP9*; rs1800469 *TGFBI*; rs11466445 *TGFBR1*), синтеза сурфактанта (rs2077079, D2S388, D2S2232, rs1130866 *SFTPB*; rs4715, rs1124, rs2070687 *SFTPC*), методами ПЦР-ПДРФ, ПЦР с TaqMan-зондами, секвенирования по Сэнгеру и фрагментного анализа ДНК путем капиллярного гель-электрофореза.

Полноэкзомное секвенирование проведено для 59 недоношенных новорождённых с СДР, из них 10 – с БЛД, 15 – с РН, 17 – сочетание БЛД и РН, 17 – без БЛД и РН. Исследование выполнялось по гибриднему протоколу Illumina DNA prep with enrichment / xGen™ hybridization capture of DNA libraries (Illumina, IDT) на приборе NextSeq 550 (Illumina). Обработку первичных данных осуществляли с помощью алгоритма Dragen germline pipeline (BaseSpace, Illumina), аннотирование и интерпретацию вариантов – с помощью программных средств wANNOVAR, Integrative Genomics Viewer, MS Excel 2016. С использованием данных из открытых научных источников сформирована панель из 88 генов, ассоциированных с исследуемыми патологиями неонатального периода недоношенных детей.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием пакетов прикладных программ Statistica 10.0, GraphPad InStat, MS Excel 2016 и онлайн-ресурса SNPStats. Точный критерий Фишера (для групп менее 5 образцов – поправка Йетса) и отношение шансов (odds ratio – OR) с расчетом 95% доверительного интервала (95% confidential interval – 95% CI) использовали для оценки влияния полиморфных вариантов на риск развития исследуемых патологий. Статистически значимыми различия считались при $p < 0,05$.

Генетический полиморфизм компонентов сурфактантной системы у недоношенных новорождённых с перинатальными осложнениями

Функциональная незрелость легких у недоношенных детей, связанная с недостаточной продукцией и активностью сурфактанта, – один из основных факторов риска развития СДР. Ключевыми компонентами сурфактантной системы являются белки SP-B и SP-C, кодируемые соответственно генами *SFTPB* и *SFTPC*.

Определены частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов *SFTPB* и *SFTPC* у новорождённых Беларуси. Не выявлено статистически

значимых различий по частотам полиморфных вариантов между группами недоношенных и доношенных детей, включающих оба пола.

Проведен анализ связи изучаемых полиморфных вариантов гена *SFTPВ* с тяжестью течения СДР у всех недоношенных новорождённых с учетом и без учета пола. Установлено, что наличие аллеля 256 п.н. микросателлитного маркера D2S388 *SFTPВ* связано с повышенным риском тяжелого течения СДР независимо от пола (рисунок 1), при этом аллель 254 п.н. этого маркера ассоциирован со сниженным риском тяжелой формы СДР в группе мальчиков (OR 0,60 [0,38-0,95]; p=0,034). Также в группе мальчиков достоверно реже встречается аллель 200 п.н. маркера D2S2232 (OR 0,10 [0,01-0,85]; p=0,031).

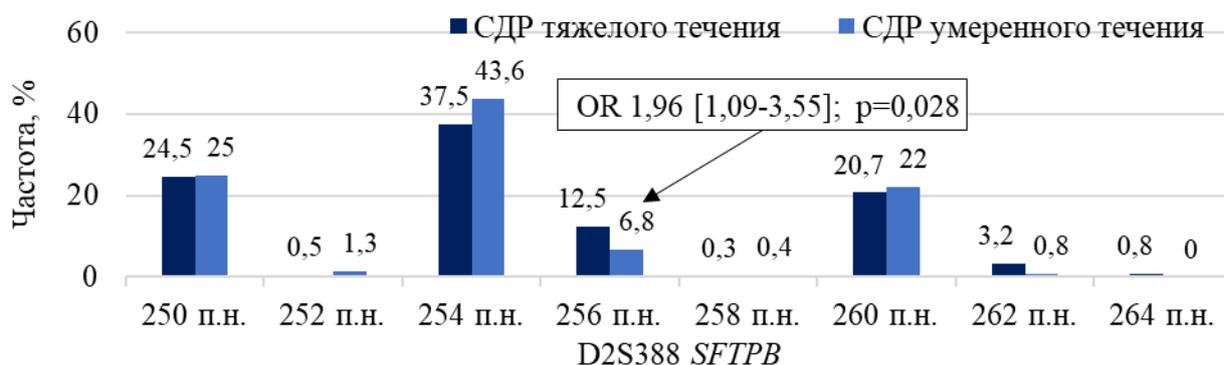


Рисунок 1 – Ассоциация аллелей микросателлитного маркера D2S388 гена *SFTPВ* с тяжестью течения СДР в общей группе недоношенных детей

Показано, что у девочек тяжесть течения СДР связана с полиморфными вариантами генов *SFTPВ* и *SFTPC*: у носительниц аллеля -18С rs2077079 *SFTPВ* повышен риск тяжелого течения СДР (рисунок 2), а носительство генотипа 557GA гена *SFTPC* ассоциировано со сниженным риском тяжелой формы СДР.

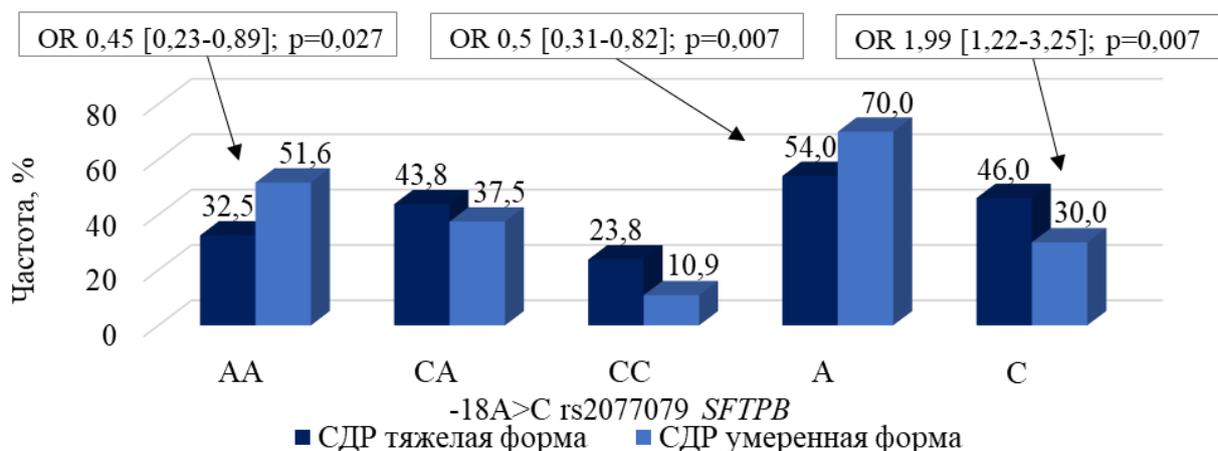


Рисунок 2 – Ассоциация полиморфных вариантов rs2077079 гена *SFTPВ* с тяжестью течения СДР у недоношенных девочек

Осложнением тяжелого течения СДР у недоношенных детей со сроком гестации 28–34 недели является БЛД. Проведенный анализ показал, что генотип СС и аллель С rs4715 гена *SFTPC* достоверно чаще встречаются у младенцев с БЛД, а генотип СА и аллель А – в группе сравнения (рисунок 3); также аллель 214 п.н. микросателлитного маркера SPBD2232 гена *SFTPВ* встречается достоверно реже у детей с БЛД (OR 0,25 [0,07-0,86]; p=0,032).

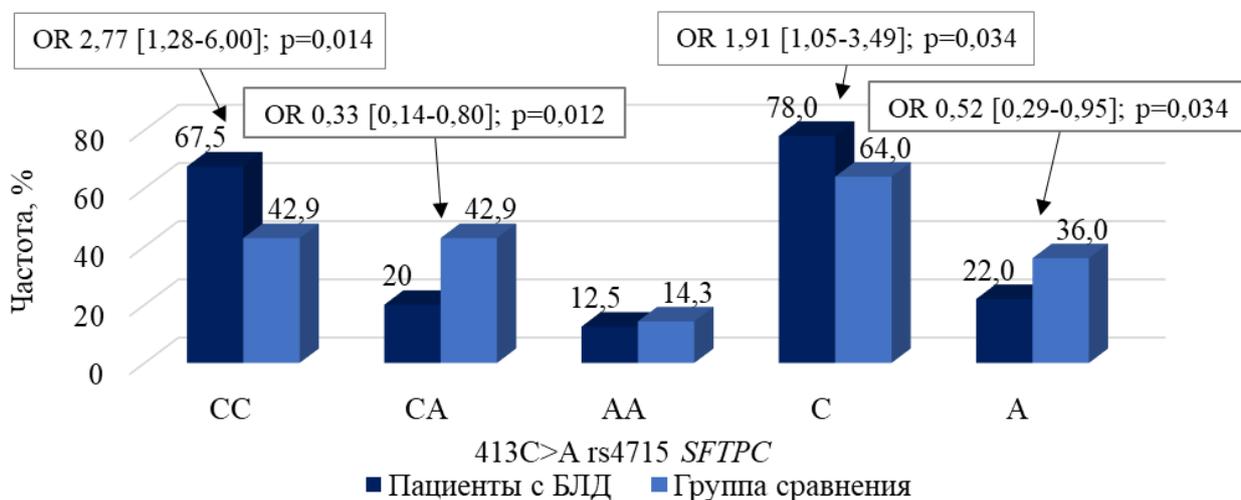


Рисунок 3 – Ассоциация полиморфных вариантов rs4715 гена *SFTPC* с БЛД

Так как SP-B участвует в процессинге предшественника SP-C, были проанализированы сочетания полиморфных вариантов генов *SFTPВ* и *SFTPC*. Комбинативный анализ связи полиморфных вариантов -18A>C гена *SFTPВ* и 436-8C>G гена *SFTPC* с возникновением СДР показал, что сочетание генотипов - 18CC_{*SFTPВ*}/436-8CG_{*SFTPC*} у девочек является рисковым (OR 4,95 [1,08-22,59]; p=0,03). У мальчиков данной зависимости обнаружено не было.

В ходе анализа парных комбинаций 5 однонуклеотидных полиморфизмов генов *SFTPВ* и *SFTPC* выявлены рисковые и протективные ассоциации с тяжестью течения СДР как в общей группе пациентов, так и при разделении ее по половому признаку (рисунок 4).

Установлено, что комбинация 1580Т_{*SFTPВ*}/557АА_{*SFTPC*} встречается достоверно чаще (OR 4,08 [1,18-14,15]; p=0,019) в общей группе пациентов с тяжелой формой СДР. У недоношенных девочек риск развития СДР тяжелой степени ассоциирован с комбинацией генотипов - 18АС_{*SFTPВ*}/413СС_{*SFTPC*} (OR 2,78 [1,19-6,50]; p=0,018), - 18АС/1580Т гена *SFTPВ* (OR 2,76 [1,08-7,03]; p=0,03), а у мальчиков – с 1580ТТ_{*SFTPВ*}/413СС_{*SFTPC*} (OR 3,09 [1,12-8,57]; p=0,03).

У младенцев с БЛД комбинация 413СС_{*SFTPC*}/1580Т_{*SFTPВ*} связана с повышенным риском развития данной патологии (OR 2,50 [1,11-5,63]; p=0,031).

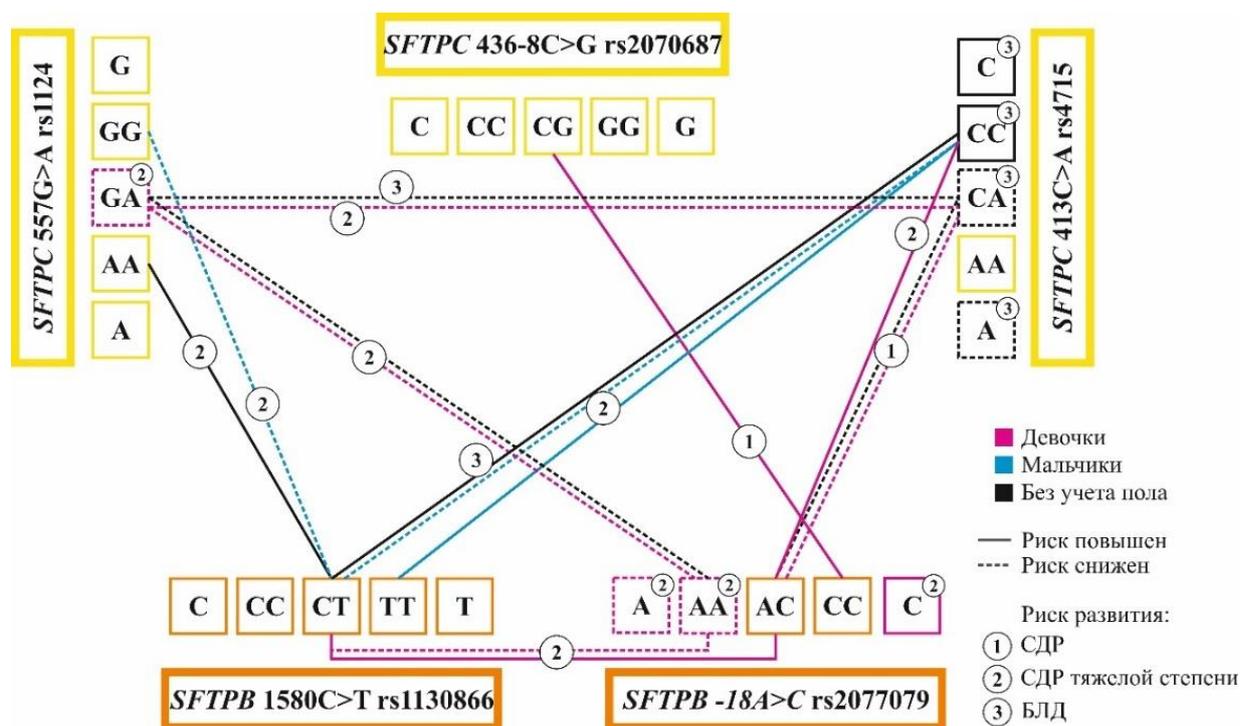


Рисунок 4 – Комбинации генотипов *SFTPB* и *SFTPC*, ассоциированные с развитием и тяжестью течения СДР и БЛД у недоношенных новорождённых с учетом и без учета пола

Таким образом, нами установлено, что молекулярные нарушения в генах *SFTPB* и *SFTPC* ассоциированы с развитием и тяжестью течения СДР, а также с возникновением БЛД. Для разработки моделей предсказания риска патологий дыхательной системы у недоношенных новорождённых необходимо учитывать, как отдельные полиморфные варианты, так и комбинации генотипов *SFTPB* и *SFTPC*, а также пол ребенка, поскольку генетические ассоциации в ряде случаев демонстрируют выраженный половой диморфизм.

Генетический полиморфизм компонентов системы ангиогенеза и тканевого ремоделирования у недоношенных новорождённых

Преждевременное рождение приходится на период прогрессирования развития сосудов и формирования сосудистой сети легких и сетчатки глаза. В процессе васкулогенеза ключевая роль принадлежит не только фактору роста эндотелия сосудов и его рецепторам, но и матриксным металлопротеиназам -2 и -9, а также трансформирующему фактору роста и его рецепторам.

Определены частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов *VEGFA*, *KDR*, *MMP2*, *MMP9*, *TGFBI* и *TGFBR1* у новорождённых Беларуси.

Сравнительный анализ отдельных полиморфных вариантов изучаемых генов между недоношенными новорождёнными с СДР и доношенными выявил, что при разделении пациентов по полу показана рискованная значимость генотипа 2660AA гена матриксной металлопротеиназы -9 (*MMP9*) в развитии СДР у недоношенных девочек (OR 1,87 [1,09-3,20]; p=0,02) (рисунок 5).

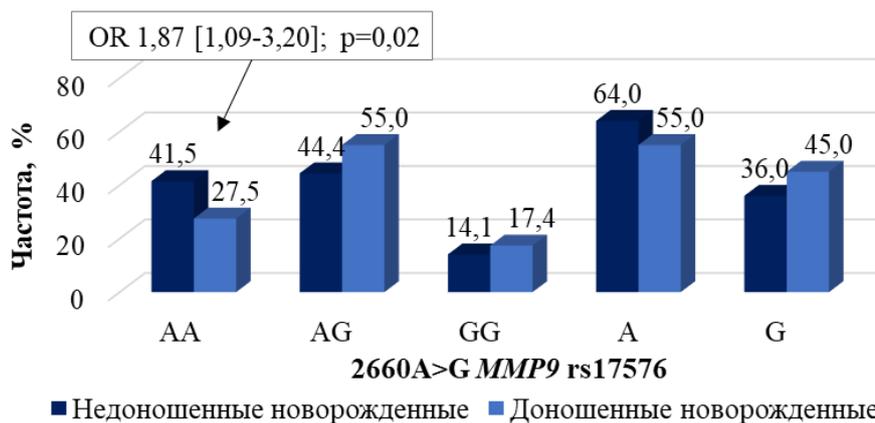


Рисунок 5 – Ассоциация полиморфных вариантов 2660A>G (rs17576) гена *MMP9* с риском развития СДР у девочек

Выявлено влияние аллеля -509A гена трансформирующего фактора роста $\beta 1$ *TGFB1* на риск развития СДР тяжелой формы среди мальчиков (рисунок 6).

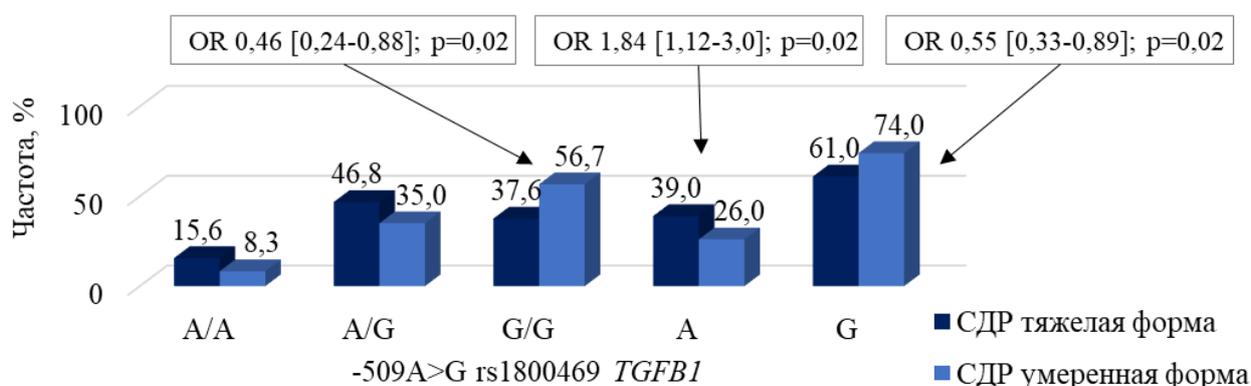


Рисунок 6 – Ассоциация полиморфных вариантов -509A>G (rs1800469) гена *TGFB1* с тяжестью течения СДР у недоношенных мальчиков

Было установлено, что риск развития РН у детей в сроке гестации 28–34 недели повышен у носителей генотипа 2660AA гена *MMP9* и снижен у носителей генотипа 2660AG (рисунок 7).

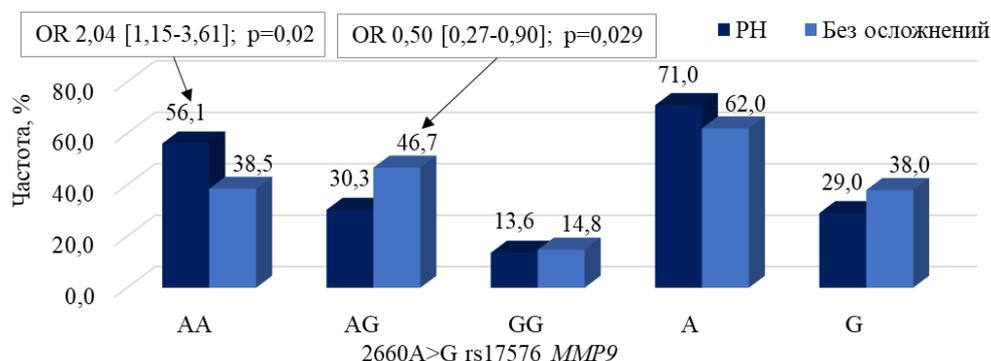


Рисунок 7 – Ассоциация полиморфных вариантов 2660A>G (rs17576) гена *MMP9* с развитием ретинопатии у недоношенных детей

Оценка парных комбинаций полиморфных вариантов генов *VEGFA*, *KDR*, *MMP2*, *MMP9*, *TGFBI* и *TGFBR1* выявила ряд рисковых ассоциаций в отношении СДР и его тяжелой формы, а также РН (таблица 1).

Таблица 1 – Комбинации полиморфных вариантов изучаемых генов, ассоциированные с развитием и тяжестью течения синдрома дыхательного расстройства и ретинопатии у недоношенных новорождённых

Комбинации генотипов	Пациенты, n (%)	Группа сравнения, n (%)	OR [95% CI]; p
Риск развития СДР			
1575GG _{MMP2} /- 1562CC _{MMP9}	126 из 296 (42,6)	75 из 235 (31,9)	1,58 [1,11-2,26]; 0,015
2660AA _{MMP9} /1562CC _{MMP9}	59 из 139 (42,4)	29 из 109 (26,6)	2,03 [1,18-3,50]; 0,011
Риск развития СДР тяжелой формы			
- 509AG _{TGFBI} /- 1575GG _{MMP2}	35 из 109 (32,1)	10 из 60 (16,7)	2,37 [1,07-5,21]; 0,031
Риск развития РН			
2660AA _{MMP9} /- 1575GG _{MMP2}	25 из 65 (38,5)	43 из 182 (23,6)	2,02 [1,10-3,70]; 0,024
2660AA _{MMP9} /- 1562CC _{MMP9}	37 из 64 (57,8)	70 из 179 (39,1)	2,13 [1,20-3,81]; 0,013
6A_9A _{TGFBR1} /- 1575AA _{MMP2}	4 из 62 (6,5)	0 из 172 (0)	26,5 [1,41-500,7]; 0,005

Примечание – Красный цвет означает ассоциацию среди девочек; синий цвет – среди мальчиков

С повышенным риском развития СДР без учета пола ассоциирована комбинация - 1575GG_{MMP2}/- 1562CC_{MMP9}, у девочек – 2660AA_{MMP9}/1562CC_{MMP9}. Тяжелая форма СДР у недоношенных мальчиков коррелирует с комбинацией - 509AG_{TGFBI}/- 1575GG_{MMP2}.

Обнаружены три рисковые комбинации генотипов, ассоциированные с развитием РН, в каждую из которых входят гены матриксных металлопротеиназ -2 и -9 (таблица 1): 6A_9A_{TGFBR1}/- 1575AA_{MMP2}, 2660AA_{MMP9}/- 1575GG_{MMP2}, 2660AA_{MMP9}/- 1562CC_{MMP9}.

Таким образом, установлено влияние полиморфных вариантов генов *MMP2*, *MMP9*, *TGFBI* и *TGFBR1* на риск развития и тяжесть течения СДР, на возникновение РН, что показывает связь дисрегуляции тканевого ремоделирования с этими патологиями.

Полноэкзомное секвенирование в определении редких вариантов нуклеотидной последовательности в генах, ассоциированных с развитием бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных детей

Принимая во внимание полигенную этиологию БЛД и РН недоношенных, а также имеющиеся данные о влиянии редких вариантов генов различных систем в развитии этих патологий, является актуальной разработка перечня (панели) генов, ассоциированных с БЛД и РН, с учетом особенностей конкретных популяций (из-за этнических и региональных различий в частотах аллелей и их ассоциаций с заболеваниями).

Проведено полноэкзомное секвенирование у недоношенных новорождённых с БЛД и РН. Для анализа полученного массива данных были

подобраны 88 генов, которые по данным из открытых научных источников ассоциированы с развитием этих патологий (6 генов – с РН, 14 – с БЛД, 68 генов – участвующих в патогенезе этих двух заболеваний), в их числе гены метаболизма сурфактанта, ремоделирования тканей, развития сосудов, ренин-ангиотензиновой системы, антиоксидантной защиты, иммунной системы и воспаления, а также гены Wnt/ β -катенин-сигнального пути развития сетчатки.

Выявлено 376 вариантов нуклеотидной последовательности, из которых 121 замена, в соответствии с международной базой данных GnomAD, является редкой (MAF<0,01). Среди них обнаружено 7 вариантов (таблица 2), встречающихся только у пациентов с РН или с РН и БЛД, приводящих к изменению аминокислотной последовательности белка и имеющих функциональную значимость в развитии и течении рассматриваемых патологий. Клиническая значимость каждого варианта оценена как неопределенная или конфликтная по данным ClinVar. Информация о нонсенс-замене гена *TIRAP* отсутствует в базе данных ClinVar.

Таблица 2 – Редкие генетические варианты, встречающиеся только у пациентов с ретинопатией недоношенных и/или бронхолёгочной дисплазией

Ген	rs dbSNP	Замена нуклеотида, аминокислоты	Частота (GnomAD)	Клиническая значимость (ClinVar)	Диагноз у пациента
<i>FZD4</i>	rs104894223	c.766A>G, p.Ile256Val	0,0005205	конфликтная	РН
	rs773474310	c.1128G>T, p.Leu376Phe	0,000026	неопределенная	РН
<i>SOD1</i>	rs80265967	c.272A>C, p.Asp91Ala	0,00095	конфликтная	РН
<i>TIRAP</i>	–	c.301C>T, p.Gln101Ter	0,00000124	–	РН
<i>TLR6</i>	rs138792485	c.392A>G, p.Asn131Ser	0,0001419	неопределенная	РН
<i>AGTR1</i>	rs368951368	c.893A>G, p.Asn298Ser	0,0001202	неопределенная	БЛД+РН
<i>EPAS1</i>	rs1169287303	c.1256A>G, p.Gln419Arg	0,00000128	неопределенная	БЛД+РН

Редкие варианты выявлены в генах, связанных с ангиогенезом, воспалением и оксидативным стрессом. Гены белка Frizzled-4 (*FZD4*), индуцированного гипоксией фактора 2α (*EPAS1*) и рецептора ангиотензина II первого типа (*AGTR1*) регулируют формирование сосудов в ответ на гипоксию. Их патогенные варианты вызывают сосудистые аномалии, эндотелиальную дисфункцию и сниженную устойчивость к кислородной терапии, усиливая риск и тяжесть РН и БЛД. Ген супероксиддисмутазы 1 (*SOD1*) участвует в защите клеток от окислительного стресса, и его патогенные варианты нарушают нейтрализацию реактивных кислородных радикалов. Гены толл-подобного рецептора 6 (*TLR6*) и адаптерного белка, содержащего TIR-домен (Toll/Interleukin-1 Receptor domain), (*TIRAP*) играют ключевую роль в активации иммунного ответа и воспаления, их патогенные варианты нарушают сигнальные пути NF- κ B и MAPK, усиливая воспаление и предрасполагая к более тяжелому течению РН и БЛД.

С использованием программ предсказания патогенности *in silico* установлено, что выявленный нами новый на момент исследования

гетерозиготный нонсенс-вариант с.301C>T, p.Gln101Ter в гене *TIRAP* является вероятно патогенным. Белок *Tirap* в качестве адаптера сигнальных путей участвует в передаче сигналов от TLR2, TLR4, RAGE и IFNGR, активирует NF-κB и MAPK, стимулируя секрецию цитокинов (TNF, IL-6) и развитие воспалительной реакции в ответ на широкий спектр патогенов [Rajroot et al., 2021; Lannoy et al., 2023].

На N-конце белка *Tirap*, состоящего из 221 аминокислоты, расположены 2 ключевых домена: домен, обеспечивающий прикрепление белка к плазматической мембране (PBM – PIP₂-binding motif), и PEST-домен (proline (P), glutamic acid (E), serine (S), threonine (T)), регулирующий уровень *Tirap* в клетке, предотвращая его накопление и избыточную активацию. На C-конце белка *Tirap* находится TIR-домен, который участвует в передаче сигнала после взаимодействия с рецепторами TLR2 и TLR4 через TRAF-6-связывающий мотив (рисунок 8А) [Belhaouane et al., 2020].

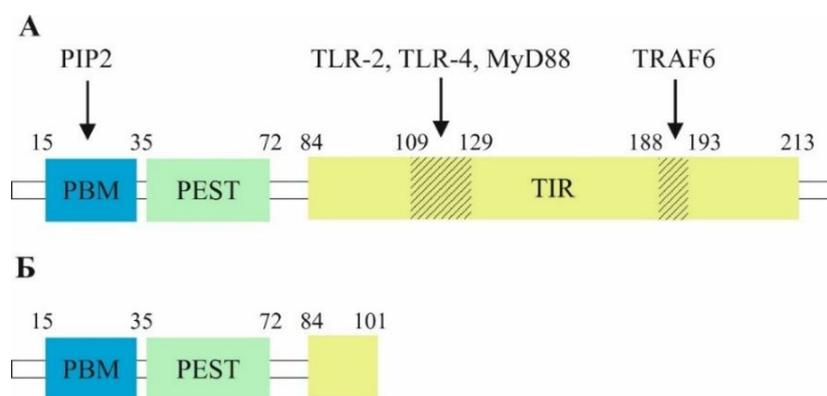


Рисунок 8 – Структура адаптерного белка *Tirap* в норме (А) [Belhaouane et al., 2020] и с выявленным вариантом нуклеотидной последовательности с.301C>T (p.Gln101Ter) в гене *TIRAP* (Б)

В результате проведенного *in silico* анализа данных, направленного на определение влияния нуклеотидной замены на структуру белка и ее патогенного потенциала, было показано, что выявленный вариант с.301C>T (p.Gln101Ter) в гене *TIRAP* приводит к образованию преждевременного стоп-кодона, в результате чего синтезируется укороченный белок, лишенный домена, необходимого для связывания с толл-подобными рецепторами (рисунок 8Б). Этот вариант нуклеотидной последовательности обнаружен у пациента с РН и, возможно, нарушает иммунный ответ и воспалительную реакцию, что может играть роль в патогенезе заболевания.

Таким образом, определён ряд редких вариантов нуклеотидной последовательности, встречающихся только у пациентов с патологиями и отсутствующих в контрольной группе, что может указывать на их потенциальную роль в развитии БЛД и РН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Определены частоты аллелей и генотипов 18 полиморфных вариантов генов, контролирующих компоненты системы ангиогенеза (*VEGFA*, *KDR*), тканевого ремоделирования (*MMP2*, *MMP9*, *TGFBI*, *TGFBR1*), системы сурфактанта (*SFTPB*, *SFTPC*) у новорождённых Беларуси. Риск развития синдрома дыхательного расстройства у новорождённых повышен у носителей комбинации генотипов - 1575GG_{MMP2}/- 1562CC_{MMP9} ($p=0,015$) независимо от пола, а у девочек – генотипа 2660AA гена *MMP9* ($p=0,02$), комбинаций 2660AA_{MMP9}/- 1562CC_{MMP9} ($p=0,011$) и - 18CC_{SFTPB}/436-8CG_{SFTPC} ($p=0,03$) [1-А; 3-А; 5-А–11-А].

2. Обнаружено, что аллель 256 п.н. маркера D2S388 гена *SFTPB* ($p=0,028$), а также сочетание генотипов 1580CT_{SFTPB}/557AA_{SFTPC} ($p=0,019$) ассоциированы с тяжестью течения синдрома дыхательного расстройства у новорождённых независимо от пола. Тяжесть течения этого заболевания у девочек определяется аллелем - 18C гена *SFTPB* ($p=0,007$), комбинациями генотипов - 18AC_{SFTPB}/413CC_{SFTPC} ($p=0,018$) и - 18AC/1580CT ($p=0,03$) *SFTPB*, а у мальчиков – аллелем - 509A гена *TGFBI* ($p=0,02$), а также сочетаниями генотипов - 509AG_{TGFBI}/- 1575GG_{MMP2} ($p=0,031$) и 1580TT_{SFTPB}/413CC_{SFTPC} ($p=0,03$) [2-А; 3-А; 5-А; 11-А].

3. В группе недоношенных новорождённых со сроком гестации 28–34 недели с бронхолёгочной дисплазией по сравнению с группой детей, имеющих тяжелую форму синдрома дыхательного расстройства, чаще встречаются носители генотипа 413CC ($p=0,014$) и аллеля 413C ($p=0,034$) гена *SFTPC*, а также комбинации генотипов 413CC_{SFTPC}/1580CT_{SFTPB} ($p=0,031$) [2-А; 5-А; 11-А].

4. Показано влияние генетических вариантов компонентов тканевого ремоделирования на развитие ретинопатии недоношенных. У недоношенных новорождённых срока гестации 28–34 недели маркерами высокого риска ретинопатии являются генотип 2660AA гена *MMP9* ($p=0,02$) и сочетание генотипов 2660AA_{MMP9}/- 1575GG_{MMP2} ($p=0,024$), 2660AA_{MMP9}/- 1562CC_{MMP9} ($p=0,013$), 6A_9A_{TGFBR1}/-1575AA_{MMP2} ($p=0,005$) [3-А].

5. Анализ данных полноэкзомного секвенирования показал, что редкие варианты нуклеотидной последовательности могут вносить вклад в проявление ретинопатии недоношенных (rs138792485 гена *TLR6*, p.Gln101Ter гена *TIRAP*, rs104894223 и rs773474310 гена *FZD4*, rs368951368 гена *AGTR1*, rs111513627 гена *EPAS1*, rs80265967 гена *SOD1*) [4-А; 12-А].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Разработанная по результатам исследования и утвержденная Министерством здравоохранения Республики Беларусь инструкция по

применению «Метод медицинской профилактики бронхолёгочной дисплазии у недоношенных новорождённых» (№ 136-1118 от 30.11.2018) [13-А] внедрена в клиническую практику отделений анестезиологии и реанимации для новорождённых детей УЗ «Клинический родильный дом Минской области» (акт внедрения от 21.05.2019), УЗ «1-я городская клиническая больница» (акт от 05.12.2019) и учебный процесс на кафедре неонатологии и медицинской генетики Государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования» (акт от 05.12.2018), а также рекомендуется для использования в других учреждениях Министерства здравоохранения для профилактики бронхолёгочной дисплазии.

2. Методическое пособие «Молекулярно-генетические аспекты развития у недоношенных детей бронхолёгочной дисплазии, ретинопатии, лейкомаляции головного мозга» [14-А] рекомендуется к использованию в сфере дополнительного образования и повышения квалификации для врачей-педиатров-неонатологов, врачей-педиатров, врачей-анестезиологов-реаниматологов, врачей-генетиков.

3. Созданная коллекция образцов ДНК, выделенных из биологического материала доношенных новорождённых контрольной группы и недоношенных детей с дыхательными осложнениями и ретинопатией, передана в «Республиканский Банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов» (акты от 03.12.2018, 03.12.2018, 09.12.2020 и 17.03.2023) и рекомендуется к использованию для дальнейших молекулярно-генетических исследований осложнений перинатального периода.

4. Информационные ресурсы «База данных молекулярно-генетических характеристик у новорождённых контрольной группы» (№1341917209 от 03.01.2019), «База данных о информационном ресурсе молекулярно-генетических характеристик детей с бронхолёгочной дисплазией и новорождённых с дыхательными расстройствами» (№1341816526 от 21.09.2018), «База данных клиничко-метаболических и молекулярно-генетических характеристик пациентов с ретинопатией, бронхолёгочной дисплазией и лейкомаляцией мозга» (№1342023963 от 30.11.2020) рекомендуется использовать в научно-исследовательской работе по изучению генетических факторов, оказывающих влияние на развитие и прогрессирование бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии недоношенных.

5. Сформированная панель из 88 генов, участвующих в патогенезе бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных детей, может быть использована для прогнозирования их течения, а также для выявления генетических маркеров риска в популяции [7-А; 14-А].

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

Публикации, соответствующие пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь

1-А. Полиморфные варианты rs1124, rs4715 и rs2070687 гена *SFTPC* у недоношенных новорожденных с синдромом дыхательных расстройств / **О. М. Малышева**, Е. П. Михаленко, В. Ф. Аджиева, А. П. Сухарева, М. В. Артюшевская, К. А. Гомолко, А. В. Кильчевский, Г. А. Шишко // Молекулярная и прикладная генетика : сб. науч. тр. / Институт генетики и цитологии НАН Беларуси. – Минск, 2019. – Т. 26. – С. 106–114.

2-А. Генетический полиморфизм белков сурфактанта SP-B и SP-C у недоношенных новорожденных с дыхательными осложнениями / **О. М. Малышева**, Е. П. Михаленко, А. П. Сухарева, М. В. Артюшевская, К. А. Гомолко, А. В. Кильчевский // Доклады НАН Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 187–194.

3-А. Генетический полиморфизм компонентов системы ангиогенеза и тканевого ремоделирования у недоношенных новорожденных с осложнениями неонатального периода / **О. М. Малышева**, Е. П. Михаленко, Ю. В. Полухович, Е. И. Кузьминова, А. П. Сухарева, М. В. Артюшевская, К. А. Гомолко, А. В. Кильчевский // Молекулярная и прикладная генетика : сб. науч. тр. / Институт генетики и цитологии НАН Беларуси. – Минск, 2023. – Т. 35. – С. 110–122.

4-А. Вариабельность генов, ассоциированных с бронхолегочной дисплазией и ретинопатией у недоношенных новорожденных / **О. М. Малышева**, Е. П. Михаленко, О. Ч. Мазур, А. В. Кильчевский // Молекулярная и прикладная генетика : сб. науч. тр. / Институт генетики и цитологии НАН Беларуси. – Минск, 2024. – Т. 36. – С. 123–134.

5-А. Роль внутригенных и межгенных комбинаций полиморфных вариантов генов *SFTPB* и *SFTPC* в патогенезе синдрома дыхательного расстройства и бронхолегочной дисплазии у недоношенных новорожденных / **О. М. Малышева**, Е. П. Михаленко, А. П. Сухарева, М. В. Артюшевская, А. В. Кильчевский // Доклады НАН Беларуси. – 2025. – Т. 69, № 4. – С. 296–302.

Публикации в других журналах и сборниках научных трудов

6-А. Длительность кислородотерапии и полиморфизм rs1130866 гена *SFTPB* у недоношенных новорождённых с синдромом дыхательных расстройств / А. П. Сухарева, Г. А. Шишко, Е. П. Михаленко, **О. М. Малышева**, М. В. Артюшевская, В. Ф. Аджиева, В. И. Адасько, Т. А. Сержан, А. В. Кильчевский // Современные перинатальные медицинские технологии

в решении проблем демографической безопасности : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр «Мать и дитя». – Минск, 2018. – Вып. 11. – С. 349–353.

7-А. Клинические характеристики и исход синдрома дыхательных расстройств у новорожденного А. Роль молекулярно-генетических маркеров / А. П. Сухарева, **О. М. Малышева**, Н. Г. Ситник, Г. В. Кулакова, К. А. Гомолко, Ю. А. Устинович // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2020. – Т. 10, № 5. – С. 620–628.

Материалы конференций

8-А. Полиморфизм rs1130866 гена *SFTPB* у недоношенных новорождённых с респираторным дистресс-синдромом / **О. М. Малышева**, А. П. Сухарева, Е. П. Михаленко, М. В. Артюшевская, В. Ф. Аджиева, Г. А. Шишко, П. Л. Мосько, А. В. Кильчевский // Молекулярная диагностика 2018 : сб. тр. Междунар. науч.-практ. конф., г. Минск, 27–28 сентября 2018 г. / Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Российской Федерации); М-во здравоохранения Респ. Беларусь ; редкол.: В. И. Покровский (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2018. – С. 115–116.

Тезисы докладов

9-А. Частота встречаемости полиморфных вариантов rs1130866 гена *SFTPB* у новорождённых / А. П. Сухарева, Г. А. Шишко, Е. П. Михаленко, **О. М. Малышева**, М. В. Артюшевская, В. Ф. Аджиева, А. В. Кильчевский, К. А. Гомолко // тез. докл. X съезда педиатров и I перинатального конгресса Республики Беларусь, г. Минск, 3–7 октября 2018 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь. – Минск, 2018. – С. 135–137. – 1 CD-ROM.

10-А. Полиморфизм генов матриксных металлопротеиназ -2 и -9 у недоношенных новорожденных с замедленным ростом, нарушением питания плода и синдромом дыхательных расстройств / К. А. Гомолко, Г. А. Шишко, М. В. Артюшевская, Е. П. Михаленко, **О. М. Малышева**, Ю. В. Полюхович, П. Л. Мосько // Актуальные проблемы педиатрии : сб. тезисов XXII Конгресса педиатров России с международным участием, г. Москва, 21–23 февраля 2020 г. / Союз педиатров России. – Москва, 2020. – С. 55.

11-А. Роль генетических полиморфизмов белков сурфактанта SP-B и SP-C в течении дыхательных осложнений у недоношенных новорожденных / **О. М. Малышева**, Е. П. Михаленко, А. П. Сухарева, М. В. Артюшевская, Г. А. Шишко, А. В. Кильчевский // Современные проблемы генетики, геномики и биотехнологии : сб. тезисов Республ. науч. конф., г. Ташкент, 18 мая 2022 г. / Академия наук Республики Узбекистан, Центр геномики и биоинформатики ; редкол.: В. С. Камбурова [и др.]. – Ташкент, 2022. – С. 105–107.

12-А. Анализ генов-кандидатов развития ретинопатии недоношенных детей с использованием полноэкзомного секвенирования / **О. М. Малышева**, Е. П. Михаленко, О. Ч. Мазур, М. В. Артюшевская, А. В. Кильчевский // Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы : материалы V Междунар. науч. конф., посвящённой 135-летию со дня рождения Н. И. Вавилова, г. Минск, 21–25 ноября 2022 г. / Институт генетики и цитологии НАН Беларуси ; редкол.: А. В. Кильчевский [и др.]. – Минск, 2022. – С. 138.

Инструкции по применению

13-А. Метод медицинской профилактики бронхолёгочной дисплазии у недоношенных новорождённых : инструкция по применению № 136-1118 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 30.11.2018 / А. П. Сухарева, Г. А. Шишко, М. В. Артюшевская, Е. П. Михаленко, **О. М. Малышева**, П. Л. Мосько, А. В. Кильчевский. – Минск, 2018. – 7 с.

Учебно-методическое пособие

14-А. Молекулярно-генетические аспекты развития у недоношенных детей бронхолегочной дисплазии, ретинопатии, лейкомаляции головного мозга : учеб.-метод. пособие / Г. А. Шишко А. П. Сухарева, Е. П. Михаленко, **О. М. Малышева**, И. В. Жевнеронок, Н. А. Венчикова, М. В. Артюшевская, А. В. Кильчевский, К. А. Гомолко, Н. Г. Ситник, Г. В. Кулакова, Ю. А. Устинович, И. М. Крастелева. – Минск : БелМАПО, 2019. – 51 с.

РЭЗІЮМЭ

Малышава Вольга Міхайлаўна

Малекулярна-генетычныя фактары рызыкі сіндрому дыхальнага расстройства, бронхалёгачнай дысплазіі і рэтынапатыі ў неданошаных нованароджаных

Ключавыя словы: сіндром дыхальнага расстройства ў нованароджанага, бронхалёгачная дысплазія, рэтынапатыя неданошаных, генетычны палімарфізм, гены *SFTPB*, *SFTPC*, *VEGFA*, *TGFBI*, *KDR*, *TGFBR1*, *MMP2*, *MMP9*

Мэта працы: выявіць малекулярна-генетычныя асаблівасці ў неданошаных нованароджаных, звязаныя з развіццём сіндрому дыхальнага расстройства, бронхалёгачнай дысплазіі і рэтынапатыі неданошаных.

Метады даследавання: вылучэнне геномнай ДНК, ПЛР-ПДРФ, ПЛР з TaqMan-зондамі, секвенаванне па Сэнгеру, поўнаэкзомнае секвенаванне (Illumina), статыстычныя метады аналізу.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: Упершыню ў Беларусі для неданошаных нованароджаных з тэрмінам гестацыі 28–36 тыдняў з сіндромам дыхальнага расстройства рознай ступені цяжару дадзена комплексная ацэнка частаты сустракання генатыпаў і алеляў паліморфных варыянтаў генаў кампанентаў сістэмы ангіягенезу і рэмадэлявання міжклеткавага матрыкса (*VEGFA*, *TGFBI*, *KDR*, *TGFBR1*, *MMP2*, *MMP9*), генаў сістэмы сурфактанту (*SFTPB*, *SFTPC*). Вызначана прагнастычная значнасць асобных паліморфных варыянтаў генаў, а таксама іх спалучэнняў для ацэнкі верагоднасці развіцця сіндрому дыхальнага расстройства, бронхалёгачнай дысплазіі і рэтынапатыі неданошаных. Выяўлены гендэрныя адрозненні ў асацыяцыі паліморфных варыянтаў генаў з развіццём і цяжкасцю сіндрому дыхальнага расстройства.

Упершыню ў Беларусі праведзена поўнаэкзомнае секвенаванне ў неданошаных нованароджаных з бронхалёгачнай дысплазіяй і рэтынапатыяй з тэрмінам гестацыі 28–34 тыдні. У выніку інтэрпрэтацыі дадзеных высокапрадукцыйнага секвенавання з выкарыстаннем сфарміраванай панэлі, у якую ўваходзяць 88 генаў, выяўлены новы на момант даследавання варыянт p.Gln101Ter гена *TIRAP* у пацыента з рэтынапатыяй неданошаных.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: вынікі даследавання могуць быць выкарыстаны для стратыфікацыі рызыкі пры сіндроме дыхальнага расстройства, бронхалёгачнай дысплазіі і рэтынапатыі ў неданошаных нованароджаных.

Вобласць выкарыстання: генетыка, медыцына.

РЕЗЮМЕ

Малышева Ольга Михайловна

Молекулярно-генетические факторы риска синдрома дыхательного расстройства, бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных новорождённых

Ключевые слова: синдром дыхательного расстройства у новорождённого, бронхолёгочная дисплазия, ретинопатия недоношенных, генетический полиморфизм, гены *SFTPB*, *SFTPC*, *VEGFA*, *TGFBI*, *KDR*, *TGFBR1*, *MMP2*, *MMP9*

Цель работы: выявить молекулярно-генетические особенности у недоношенных новорождённых, связанные с синдромом дыхательного расстройства, бронхолёгочной дисплазией и ретинопатией недоношенных.

Методы исследования: выделение геномной ДНК, ПЦР-ПДРФ, ПЦР с TaqMan-зондами, секвенирование по Сэнгеру, полноэкзомное секвенирование (Illumina), статистические методы анализа.

Полученные результаты и их новизна: Впервые в Беларуси для недоношенных новорождённых сроком гестации 28–36 недель с синдромом дыхательного расстройства различной степени тяжести дана комплексная оценка частоты встречаемости генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов компонентов системы ангиогенеза и ремоделирования межклеточного матрикса (*VEGFA*, *TGFBI*, *KDR*, *TGFBR1*, *MMP2*, *MMP9*) и генов системы сурфактанта (*SFTPB*, *SFTPC*). Определена прогностическая значимость отдельных полиморфных вариантов генов, а также их сочетаний для оценки вероятности развития синдрома дыхательного расстройства, бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии недоношенных. Выявлены гендерные различия в ассоциации полиморфных вариантов генов с развитием и тяжестью синдрома дыхательного расстройства.

Впервые в Беларуси проведено полноэкзомное секвенирование у недоношенных новорождённых с бронхолёгочной дисплазией и ретинопатией со сроком гестации 28–34 недели. В результате интерпретации данных высокопроизводительного секвенирования с использованием сформированной панели, включающей 88 генов, выявлен новый на момент исследования вариант p.Gln101Ter гена *TIRAP* у пациента с ретинопатией.

Рекомендации по использованию: результаты исследования могут быть использованы для стратификации риска при синдроме дыхательного расстройства, бронхолёгочной дисплазии и ретинопатии у недоношенных новорождённых.

Область применения: генетика, медицина.

SUMMARY

Volha M. Malyshava

Molecular genetic risk factors for respiratory distress syndrome, bronchopulmonary dysplasia, and retinopathy in premature infants

Key words: respiratory distress syndrome in a newborn, bronchopulmonary dysplasia, retinopathy of prematurity, genetic polymorphism, *SFTPB*, *SFTPC*, *VEGFA*, *TGFBI*, *KDR*, *TGFBR1*, *MMP2*, *MMP9* genes

Aim of the study: to identify molecular genetic features in premature infants associated with the development of respiratory distress syndrome, bronchopulmonary dysplasia and retinopathy of prematurity.

Methods of the study: total DNA extraction, PCR-RFLP, TaqMan PCR, Sanger sequencing, whole exome sequencing (Illumina), statistical analysis methods.

Obtained results and their novelty: for the first time for Belarusian preterm neonates of gestational age 28–36 weeks with respiratory distress syndrome of varying severity a comprehensive assessment of the allele and genotype frequencies of the polymorphic loci of genes for angiogenesis and intercellular matrix remodeling system components (*VEGFA*, *TGFBI*, *KDR*, *TGFBR1*, *MMP2*, *MMP9*) and genes for surfactant system components (*SFTPB*, *SFTPC*) has been given. The prognostic significance of individual polymorphic gene variants, as well as their combinations, has been determined for estimation the risk of developing respiratory distress syndrome, bronchopulmonary dysplasia and retinopathy of prematurity. Gender differences in the association of polymorphic gene variants with the development and severity of respiratory distress syndrome have been identified.

For the first time in Belarus, whole exome sequencing was performed in preterm newborns of gestational age 28–34 weeks with bronchopulmonary dysplasia and retinopathy. As a result of the interpretation of high-throughput sequencing data using a formed panel including 88 genes, a new at the time of the study variant of the p.Gln101Ter *TIRAP* gene was identified in a patient with retinopathy.

Recommendations for application: the results of the research can be used for risk stratification in case of respiratory distress syndrome, bronchopulmonary dysplasia and retinopathy of prematurity in preterm infants.

Scope of application: genetics, medicine.



Подписано в печать 13.01.2026 Формат 60x84_{1/16} Бумага офсетная
Печать цифровая Усл.печ.л. 1,5 Уч.изд.л. 1,6 Тираж 60 экз. Заказ 7520
ИООО «Право и экономика» 220072 Минск Сурганова 1, корп. 2 Тел. 8 029 684 18 66
Отпечатано на издательской системе Gestetner в ИООО «Право и экономика»
Свидетельство о государственной регистрации издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий, выданное
Министерством информации Республики Беларусь 17 февраля 2014 г.
в качестве издателя печатных изданий за № 1/185