

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«АСТРАХАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ХИШТИЛОВА Патимат Багировна

КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ
ТЯЖЕСТИ И ИСХОДОВ
БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ У ДЕТЕЙ

14.01.08 – Педиатрия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, доцент
Сергиенко Диана Фикретовна

АСТРАХАНЬ – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ У ДЕТЕЙ.....	12
1.1. История изучения и эпидемиологические аспекты бронхолегочной дисплазии у детей	12
1.2. Классификация и клиничко-патогенетические аспекты развития бронхолегочной дисплазии на современном этапе	16
1.3. Исходы бронхолегочной дисплазии.....	22
1.4. Роль генетических факторов в формировании бронхолегочной дисплазии	27
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	35
2.1. Материалы исследования	35
2.1.1. Общая характеристика больных.....	35
2.2. Методы исследования	37
2.2.1. Клиничко-анамнестический метод	39
2.2.2. Инструментальные методы исследования	39
2.2.3. Биохимические методы исследования.....	40
2.2.4. Молекулярно-генетические методы исследования	41
2.2.4.1. Выделение геномной ДНК.....	41
2.2.5. Статистические методы анализа	42
ГЛАВА 3. ОСОБЕННОСТИ АНАМНЕСТИЧЕСКИХ ДАННЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ И ИСХОДОВ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ У ДЕТЕЙ.....	45
ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ -9 И КАЛЬЦИДИОЛА НА ТЕЧЕНИЕ И ИСХОДЫ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ У ДЕТЕЙ.....	58
ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ НА ТЕЧЕНИЕ И ИСХОДЫ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ У ДЕТЕЙ.....	65
5.1. Влияние полиморфизма rs3918242 гена матриксной металлопротеи- назы -9 на течение и исходы бронхолегочной дисплазии у детей.....	65
5.2. Роль полиморфизма rs721917 гена сурфактантного белка D в тече- нии и исходах бронхолегочной дисплазии у детей.....	72
5.3. Роль полиморфизма FOK1 гена рецептора витамина D в течении и исходах бронхолегочной дисплазии у детей.....	82
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	97
ВЫВОДЫ	119
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	121
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	122
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	123

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Бронхолегочная дисплазия (БЛД) – полиэтиологическое хроническое заболевание морфологически незрелых легких, развивающееся у новорожденных, главным образом глубоко недоношенных детей, в результате интенсивной терапии респираторного дистресс-синдрома (РДС) и/или пневмонии. Технологии выхаживания младенцев и их респираторной поддержки непрерывно совершенствуются, давая возможность сохранения жизни маленьким пациентам. Тем не менее последнее десятилетие показывает, что уровень заболеваемости БЛД только растет [6; 18].

В настоящее время БЛД выходит на первое место по частоте и клинической значимости как наиболее распространенная форма хронического заболевания легких (ХЗЛ) у детей [65; 85]. Несмотря на значительный прогресс, достигнутый в понимании механизмов развития, совершенствование методов диагностики и лечения данного недуга, заболевание характеризуется частыми госпитализациями, ухудшением качества жизни ребенка, инвалидизацией, значительными финансовыми затратами, что обеспечивает высокую медико-социальную значимость поднимаемой проблемы.

На современном этапе происходит трансформация морфологических форм БЛД, что связано с совершенствованием медикаментозной терапии. Отмечается рост новой формы заболевания с благоприятными исходами по мере взросления ребенка. Однако не исключается формирование хронических поражений легких, таких как облитерирующий бронхиолит (ОБ), хронический бронхит (ХБ) и бронхоэктазы [58; 66; 73; 109; 123].

Главными предикторами тяжести БЛД признаны РДС, гестационный возраст (ГВ), длительность искусственной вентиляции легких (ИВЛ), а также сопутствующая патология [4; 6; 7; 8; 33; 37; 52; 68; 86; 95; 112; 122; 124]. В то же время у ряда недоношенных детей, несмотря на идентичные условия выхаживания, режимы вентиляционной поддержки, диагностируют различные

варианты тяжести течения и исходов БЛД, что диктует необходимость дальнейшего изучения патогенетических механизмов.

Данные современной литературы свидетельствуют о том, что первичная воспалительная реакция легочной ткани у недоношенных новорожденных неминуема. [38; 52; 66; 98; 125; 127]. В то же время формирование БЛД как хронического типа легочной деструкции и особенности ее течения зависят от целого ряда факторов. При этом одной из ведущих и доказанных позиций является модификация механизмов защиты организма, как системных, так и локальных. Безусловно, изучение патогенетических механизмов невозможно без понимания их генетической основы. Варианты генетических полиморфизмов способны трансформировать почти все звенья реализации БЛД у детей, чем и объясняется вариабельность клинического течения и исходов заболевания при идентичных условиях выхаживания. Согласно данным современных медицинских обзоров, наибольший интерес представляет изучение генов-модификаторов сурфактанта, клеточных протеиназ, иммунного воспаления.

Анализ литературы свидетельствует о том, что, несмотря на высокий интерес к изучению молекулярно-генетических аспектов заболевания, исследования носят противоречивый и фрагментарный характер. [11; 28; 40; 50]. Все вышеизложенное диктует необходимость углубленного изучения патогенетических механизмов БЛД в фокусе фенотип-ассоциированных полиморфизмов кандидатных генов, что позволит конкретизировать варианты генетической изменчивости с учетом степени тяжести и исходов заболевания. Комплексный анализ клинико-лабораторных и генетических показателей позволит расширить представления о патогенетических звеньях БЛД для формирования персонализированных терапевтических алгоритмов.

Степень разработанности темы исследования

В отечественной и зарубежной литературе представлено весомое количество научных исследований, посвященных изучению формирования БЛД у

детей. Большинство работ рассматривает этиопатогенетические аспекты заболевания в призме развития и вариантов течения и исходов БЛД у детей [7; 11; 12; 34; 37; 74]. Однако в доступной медицинской литературе не найдено научных работ, в которых приводилось бы комплексное определение клинико-биохимических и генетических маркеров, модифицирующих течение и прогноз заболевания, несмотря на высокую медико-социальную значимость данной патологии у детей. Проведенный анализ публикаций показал высокий диагностический и прогностический потенциал имеющихся сегодня некоторых лабораторных показателей, таких как матриксная металлопротеиназа (ММР), белки системы сурфактанта, активные формы витамина D в генезе БЛД.

Отечественные и зарубежные авторы в последнее десятилетие уделяют особое внимание системе ММР и их антагонистам как основным медиаторам коллагенообразования и формирования внеклеточного матрикса, что, безусловно, оказывает влияние на течение и прогноз БЛД [9; 35; 56; 143; 156]. В то же время результаты исследований показателей обмена коллагена и оценки их клинико-прогностического потенциала малочисленны, противоречивы и требуют дополнения.

Сегодня приобрел актуальность поиск новых высокоинформативных генетических маркеров, отражающих различные патогенетические аспекты реализации и течения БЛД у детей [120; 187; 190; 195]. Однако эти исследования единичны и не позволяют сформировать целостное представление об их патогенетическом и прогностическом значении. Малоизученность генетической гетерогенности в контексте клинической значимости и вариантов исходов заболевания является одной из причин неполного понимания патогенетических аспектов развития ХЗЛ как неблагоприятного варианта исхода БЛД.

Исследование полиморфизмов генов коллагенообразования, сурфактантных белков и факторов, влияющих на степень воспаления в легочной ткани у данной когорты больных, будет способствовать пониманию глубинных механизмов прогрессирования заболевания с формированием основ для

персонафицированной терапии.

Цель исследования

На основе многокомпонентного анализа клинико-anamнестических, биохимических и молекулярно-генетических факторов установить предикторы тяжести течения и вариантов исходов бронхолегочной дисплазии у детей.

Задачи исследования

1. Установить клинико-anamнестические предикторы степени тяжести и исходов БЛД у детей.
2. Изучить клинико-диагностическое значение определения MMP-9 и кальцидиола в сыворотке крови у детей с БЛД для прогноза заболевания после 3-х лет.
3. Определить клинико-патогенетическое влияние полиморфизма rs3918242 гена MMP-9 у детей с БЛД.
4. Определить клинико-диагностическую значимость полиморфизма rs721917 гена сурфактантного белка D (SFTPD) у детей с БЛД.
5. Изучить ассоциации полиморфизма FokI (rs2228570) гена рецептора витамина D (VDR) с течением БЛД у детей и вариантами исходов заболевания.

Методология и методы исследования

В работе была применена базирующаяся на системном подходе научная методология с использованием общенаучных, формально-логических и специальных методов. В соответствии с дизайном исследования определена репрезентативная группа пациентов, которые были обследованы как стандартизированными методами с учетом клинических рекомендаций по ведению детям с БЛД, так и дополнительными клинико-биохимическими (определение уровня MMP-9 и кальцидиола в сыворотке крови) и молекулярно-генетическими (исследование FokI полиморфизмов гена VDR, rs3918242 гена MMP-9 rs721917 гена SFTPD) методами. Результаты исследования обработа-

ны и проанализированы с применением современных статистических методов, соответствующих цели и задачам данной работы, а также спецификой исходных данных. Исследование осуществлено в соответствии с российскими и международными законодательными нормами, регламентирующими этические и юридические аспекты медицинских исследований.

Научная новизна

Уточнено патогенетическое влияние MMP-9 и кальцидиола в сыворотке крови у детей с БЛД на этапе пересмотра диагноза. Определены показатели желатиназы-В и кальцидиола в зависимости от степени тяжести заболевания, периода заболевания и исходов.

Установлена частота аллелей, а также генотипов полиморфных локусов генов MMP-9, VDR и SFTPD у пациентов с БЛД, у недоношенных детей без формирования БЛД, проживающих на территории Астраханской области.

Впервые изучено влияние аллелей и генотипов полиморфных локусов генов SFTPD, MMP-9, VDR у детей в зависимости от степени тяжести БЛД и определена их роль в формировании исходов заболевания. Доказано, что полиморфизм rs721917 гена SFTPD ассоциирован с развитием БЛД, а присутствие в генотипе дикого аллеля С в гомозиготном состоянии является предрасполагающим генетическим фактором для реализации ХЗЛ у детей. Генотип Т/Т является упреждающим в отношении полного морфофункционального восстановления легочной ткани и снижает риск инфицирования дыхательных путей патогенной микрофлорой.

Доказано предрасполагающее влияние генотипа С/С полиморфизма rs3918242 гена MMP-9 к повышению кратности бронхообструктивного синдрома (БОС) на фоне респираторных инфекций у детей, риску инфицирования дыхательных путей грамотрицательной микрофлорой и длительному курсу ингаляционных глюкокортикостероидов (ИГКС).

Установлено протективное действие гомозиготного генотипа F/F полиморфного FOK1 гена VDR в отношении формирования БЛД у детей, а также

выявлена ассоциация гетерозиготного генотипа F/f с высокой частотой и ранним стартом острой респираторной вирусной инфекции (ОРВИ), с реализацией тяжелого БОС у детей с БЛД.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты исследования вносят существенный вклад в изучение патогенетических механизмов БЛД, способствуют формированию индивидуализированного подхода в терапии больных детей, что может улучшить прогноз заболевания и повысить качество жизни пациентов.

Определение уровня ММР-9 и кальцидиола в сыворотке крови может быть использовано в качестве дополнительного диагностического критерия для уточнения обострения и варианта исхода заболевания.

Доказано предрасполагающее влияние генотипа С/Т полиморфного локуса rs721917 гена SFTPD и гомозиготного генотипа F/F полиморфизма FOK1 гена VDR в отношении формирования БЛД у детей. Выявлены основные генотипы и аллели, оказывающие протективное или предрасполагающее действие на фенотипические признаки заболевания, что позволяет рекомендовать исследование этих генов для прогнозирования степени тяжести, исходов заболевания и выбора рациональной персонализированной терапии.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Предрасполагающими факторами к формированию тяжелой формы БЛД являются низкий ГВ, масса тела при рождении менее 1000 г, грамметрический характер микробиоты дыхательных путей. Доказана высокая частота и тяжесть БОС с заинтересованностью в длительной терапии ИГКС у детей с тяжелой формой БЛД, в отличие от пациентов со средней тяжестью заболевания. Определены предикторы формирования ХЗЛ у детей с БЛД: низкие антропометрические показатели, агрессивный характер респираторной поддержки, ранний старт и рецидивирующий характер респираторных вирусных инфекций, ряд коморбидных состояний.

2. К моменту пересмотра диагноза у детей с новой формой БЛД наблюдаются референтные сывороточные значения ММР-9, что связано с завершением процессов фиброзирования легочной ткани, с одной стороны, и благоприятным влиянием введения сурфактанта в неонатальном периоде, с другой. Желатиназа-В в контексте клинической картины может рассматриваться как еще один диагностический маркер воспаления при обострении бронхолёгочного процесса.

Уровень сывороточного кальцидиола способен влиять на фенотипические характеристики БЛД. Согласно результатам данного исследования, выявлена корреляция между VD-статусом, тяжестью течения, кратностью респираторных инфекций и вариантами исходов заболевания.

3. Установлено влияние полиморфизма rs721917 гена SFTPD на фенотипические проявления БЛД. Выявлены ассоциации гомозиготного генотипа Т/Т полиморфного локуса rs721917 гена SFTPD с благоприятным характером микробиоты респираторного тракта и исходами БЛД у детей. Доказано предрасполагающее влияние генотипа С/С к формированию хронических бронхолегочных заболеваний.

4. Генотип С/С полиморфизма rs3918242 гена ММР-9 является генетическим триггером формирования БЛД у девочек. У носителей генотипа С/С полиморфизма rs3918242 гена ММР-9 выявлено частое развитие БОС на фоне респираторных инфекций, высокий риск инфицирования дыхательных путей грамотрицательной микрофлорой и необходимость длительного применения ИГКС.

5. Доказано влияние полиморфизма FOK1 на вероятность реализации заболевания и модификацию чувствительности к инфекционным агентам с воплощением тяжелого обструктивного синдрома.

Апробация результатов

Основные положения диссертации опубликованы в «Астраханском медицинском журнале» (2020), в журнале «Успехи современной науки и обра-

зования» (2017), в международном медицинском журнале «Archiv Euromedica» (2020), в журнале «Фарматека» (2020). Материалы диссертации также представлены в сборниках III международной конференции «Актуальные вопросы современной медицины» (2018) и X международной научно-практической конференции «Наука в современном информационном обществе» (2016).

Внедрение результатов работы

Результаты представленного исследования были освоены и включены в практику пульмонологическим отделением ГБУЗ АО «ОДКБ им. Н.Н. Силищевой» г. Астрахани, а также кабинетом пульмонолога консультативной поликлиники данного лечебного учреждения и ГБУЗ АО «ДГП № 3». Теоретический материал был внедрен в учебный процесс, основные положения и результаты активно использованы в семинарских и практических занятиях студентов V курса, интернов, клинических ординаторов на кафедре факультетской педиатрии ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ МЗ РФ.

Публикации

По теме диссертации написано и опубликовано 10 печатных работ. Из них 5 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ и 1 статья в журнале, относящемся к базе Web of Science.

Личный вклад автора

Авторский вклад состоит в личном участии диссертанта в работе над всеми этапами представленного исследования. Совместно с научным руководителем осуществлялось планирование работы, были сформулированы ее цель и задачи, определены параметры дизайна. Автор лично участвовал в организации и выполнении исследования в соответствии с разделами диссертации, в определении объема и выполнении спектра клинико-лабораторных изысканий, в литературном поиске по изучаемой теме, осуществлении стати-

стической обработки и интерпретации полученных результатов. Диссертантом написана рукопись и подготовлены публикации по представленной теме.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 150 страницах машинописного текста. Работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, 3-х глав собственных наблюдений, обсуждения полученных результатов, выводов. В список литературы вошли 199 источников, из них 107 отечественных и 92 зарубежных. Работа содержит 64 таблицы и 3 рисунка.

Связь с планом научных исследований

Диссертационное исследование осуществлено в соответствии с планом НИОКТР ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава РФ на тему «Клинико-лабораторные и иммуногенетические предикторы развития атопических заболеваний кожи и дыхательных путей у детей». Номер государственной регистрации 114070770018.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ У ДЕТЕЙ

1.1. История изучения и эпидемиологические аспекты bronхолегочной дисплазии у детей

Бронхолегочная дисплазия – это полиэтиологическое хроническое заболевание морфологически незрелых легких, развивающееся у новорожденных, главным образом глубоко недоношенных детей, в результате интенсивной терапии РДС и/или пневмонии. БЛД проходит с преобладающим поражением бронхиол и паренхимы легких, формированием фиброза, эмфиземы и(или) нарушением репликации альвеол. Кроме того, заболевание выражается в зависимости от наличия кислорода в возрасте пациента от 28 суток и выше, сопутствующего БОС, симптомов дыхательной недостаточности (ДН). БЛД отличаются особые рентгенографические изменения в первые месяцы жизни ребенка, а также регресс клинических параметров по мере его роста [6; 18].

БЛД впервые была описана в 1967 г. W.H. Northway. Это был обзор историй болезней, данных рентгенограмм, а также заключений патологоанатомических вскрытий 30 недоношенных детей, которые перенесли РДС и нуждались в вентиляционной поддержке на протяжении 24 часов и более. Дети были рождены на 32 неделе гестации и имели среднюю массу тела 2200 г. Наблюдения W.H. Northway привели к всеобъемлющему клиническому, рентгенологическому и патологическому фенотипированию нового ХЗЛ, его формирование автор ассоциировал с включением в терапию длительной (более 150 часов) ИВЛ при использовании 80–100 % кислорода для дыхания [176].

В 1979 г. E. Bancalari с соавторами клинически определили БЛД как заболевание, возникающее среди детей, которые получали ИВЛ не менее 3 дней в течение первой недели после рождения и имели характерные рент-

генологические признаки и постоянные респираторные признаки, включая потребность в дополнительном кислороде на 28 день после рождения [120; 130]. Авторы предлагали рассматривать как БЛД только те случаи, когда у недоношенных детей после 28 дня жизни и проведенного ИВЛ проявлялась клиническая симптоматика ДН с характерными рентгенологическими изменениями в легких, а также сохранялась необходимость в дополнительной оксигенотерапии. По мнению А.Т. Shennan, о БЛД у недоношенных можно говорить в тех случаях, если они в ГВ 36 недель еще нуждаются в дополнительной кислородной поддержке [187].

Впервые термин «новой формы» БЛД был представлен в 1999 г., в основе ее патогенетического механизма рассматривалось нарушение альвеоляризации и развитие сосудов легких. Эти представления отличались от морфологических изменений классической формы БЛД, что было связано с трансформацией терапевтических подходов в лечении, ассоциированных с эндотрахеальным введением сурфактанта недоношенным детям [6; 29; 30; 102; 114].

Согласно результатам исследования рабочей группы Научного института (NIH), в США в 2001 г. был сформулирован консенсус [102; 190; 192], в котором выделяли три степени тяжести БЛД для появившихся на свет до 32 недель младенцев:

- легкая (кислород в 28 дней, но комнатный воздух в 36 недель);
- умеренная (менее 30 % кислорода в 36 недель);
- тяжелая (более 30 % кислорода или положительное давление на вдохе в 36 недель).

В ходе работы М.С. Walsh с соавторами в 2003 г. предложили физиологическое определение БЛД [198]. В соответствии с представленной дефиницией, критерием диагноза признана потребность пациента в 30 % кислороде или положительном давлении в дыхательных путях в 36 недель постконцептуального возраста. Если пациенты в возрасте 36 недель постконцептуального возраста испытывали необходимость в поддержке с концентрацией кислорода менее 30 %, то предполагалась реализация теста с дыханием комнатным

воздухом. Согласно тесту, если насыщение крови кислородом фиксировалось на уровне не менее 88 % после дыхания комнатным воздухом в течение 60 мин, то диагноз БЛД не выставляли. В то время как если SpO₂ составляла менее 88 %, то диагностировали БЛД [198]. Немного позже авторы трансформировали представленный тест, отменяя кислородную дотацию всего на 30 мин и принимая SpO₂ 90 % при дыхании комнатным воздухом как минимально возможную. Такая форма работы признана стандартным физиологическим тестом в целях установления кислородозависимости, а также для постановки диагноза БЛД [17; 198].

В 2005 г. в США R.A. Ehrenkranz с соавторами было проведено крупное когортное исследование, которое охватило 3848 младенцев, весивших при рождении ≤ 1000 г и имевших ГВ менее 32 недель. Установлена прогностическая ценность рабочего определения БЛД консенсуса NIH для течения заболевания и его отдаленных исходов [17; 171]. А в 2008 г. W. Lefkowitz показал повышение прогностической ценности по поводу долгосрочной респираторной патологии вследствие дополнения вышеупомянутой классификации физиологическим тестом [171].

Диагноз БЛД впервые был поставлен российскими учеными в Санкт-Петербурге в 1989 г. [13]. По инициативе профессора А.В. Богдановой в 1995 г. БЛД была внесена в Классификацию клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей с разработкой системы оказания помощи данной категории больных на различных этапах ведения [13].

В ходе XVIII Национального конгресса по болезням органов дыхания в 2008 г. были внесены поправки в дефиницию и классификацию БЛД. Этот вариант является в нашей стране рабочим и сегодня [29; 30].

Данные о частоте БЛД с учетом развития современной медицины существенно трансформировались и отличаются в медицинских учреждениях разных стран мира.

По данным А.А. Баранова, растет частота формирования БЛД в соответствии со снижением ГВ и массы тела ребенка при рождении. Пациенты с ГВ

менее 29 недель и массой тела при рождении менее 750 г формируют БЛД до 65–67 % случаев, а дети с ГВ более 32 недель и массой тела при рождении более 1250 г – только 1–3,6 % [6]. Согласно данным зарубежной литературы, встречаемость БЛД существенно отличается от отечественных показателей [108; 111; 117; 120; 126; 131; 171; 188].

Несмотря на четко сформулированные критерии диагностики данного заболевания, показатели частоты встречаемости БЛД крайне противоречивы. Так, согласно статистическим данным, в США ежегодно БЛД регистрируется у 20 % новорожденных с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ), в то время как в Финляндии – у 39 % [111; 131; 188]. В исследование германских специалистов вошли 8059 недоношенных детей с ГВ менее 32 недель. Дополнительную респираторную поддержку после 28-го дня жизни получали 29 % пациентов [108; 117; 126]. В 1994 г. S. Bohin и N. Shaw провели исследование в Великобритании, в него были включены дети с ГВ менее 26 недель. В этой группе частота БЛД, которую определяли по критерию кислородозависимости в 36 недель постконцептуального возраста, составила 50 % [171; 188]. Мультицентровой анализ, осуществленный в Японии S. Kusuda охвативший 2145 детей с очень низкой массой тела (ОНМТ), рожденных в 2003 г. и наблюдавшихся в 37 перинатальных центрах, показал, что 56 % обследованных детей нуждались после рождения в интубации и ИВЛ, 90 % пациентов – в кислородотерапии. Диагноз БЛД был выставлен 28–33 % новорожденных [169].

Фрагментарный и противоречивый характер имеют эпидемиологические сведения по распространенности БЛД в России. Согласно результатам отечественных ученых, частота БЛД составляет в среднем 20 % от числа всех детей, нуждавшихся во введении ИВЛ, с колебаниями от 5 до 68 %, и в большей степени зависит от ГВ и массы тела при рождении [3; 13; 23; 25; 26; 32; 37; 57; 64; 69; 70]. Зависимость от массы тела ребенка при рождении ряд исследователей связывает с частотой формирования БЛД. Так, в работах Т.А. Добряка и А.Г. Румянцева продемонстрировано, что у детей с массой тела

при рождении 1000 г частота развития БЛД составляла 73 %, в то время как у пациентов, которые родились с весом 1500 г и более, заболевание было диагностировано лишь у 16 % [13; 57; 67].

В отечественной литературе данные по частоте формирования заболевания в различных регионах схожи. В Астраханской области диагноз БЛД выставляют пациентам, рожденным с ЭНМТ, в 46,6 % случаев, а новорожденным с ОНМТ – в 10,5 %. По данным А.В. Богдановой, исследование, проведенное в Санкт-Петербурге, показало, что БЛД формируется у 10 % новорожденных с весом менее 1 500 г, находившихся на ИВЛ. Согласно результатам Г.Т. Демьянова, в России у новорожденных с ГВ менее 26 недель БЛД развивается у 50 % детей [51; 53].

Таким образом, анализ данных отечественной и иностранной литературы показал, что, несмотря на большое различие в диапазоне встречаемости БЛД, ассоциированной как с ГВ, так и вариантом респираторной поддержки, в России частота диагностики БЛД ниже, чем за рубежом.

Изучение эпидемиологических аспектов заболевания является актуальным вопросом, позволяющим провести прогнозирование и адекватное распределение медицинских коек и персонала в стационарах соответствующего профиля.

1.2. Классификация и клинико-патогенетические аспекты развития бронхолегочной дисплазии на современном этапе

В соответствии с рабочей классификацией клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей, БЛД дифференцируют по форме: 1) классическая и новая формы недоношенных, 2) БЛД доношенных. Кроме того, заболевание подразделяется по тяжести и периоду болезни – ремиссия или обострение [29; 30; 31; 102].

Степень тяжести ассоциируется с вариантом респираторной поддержки (терапия кислородом более 21 % в течение 28 суток), выраженностью БОС

и характерными рентгенологическими изменениями в виде мелкокистозных просветлений, ателектазов, выраженности эмфиземы и пневмофиброза [23; 40; 42; 58; 62; 115; 133; 140].

По данным литературы, независимо от формы заболевания клиническая картина характеризуется БОС с развитием тахипноэ, гипоксии, гиперкапнии. Согласно многочисленным клиническим исследованиям, в легких при аускультации определяются стойкие сухие свистящие хрипы, а также бронхиальное дыхание с удлинненным выдохом. Симптомы хронической дыхательной недостаточности (ХДН), иногда диктующей необходимость введения домашней кислородотерапии, характеризуют тяжелое течение БЛД. У пациентов с классической БЛД недоношенных и БЛД доношенных симптомы ХДН включают одышку с втяжением межреберий и западением грудины при дыхании, цианоз, а также тахипноэ, которое может фиксироваться до 60 раз в 1 мин в покое, до 80 раз в 1 мин при минимальной физической нагрузке независимо от возраста обследуемого пациента [42; 58; 62; 81; 84; 93; 134; 151].

По данным Д.Ю. Овсянникова, у пациентов с ГВ более 32–34 недель при рождении заболевание протекает атипично. Течение заболевания у таких детей в основном более легкое. Отмечается возникновение «светлого промежутка» в форме недолговременного – до нескольких суток – отсутствия кислородозависимости после разрешения РДС с нарастанием ДН и необходимостью в дополнительном кислороде и далее [58; 62; 63; 137].

Согласно данным литературы, с улучшением технологий выхаживания недоношенных детей, а также выживанием недоношенных с ОНМТ (1001–1500 г) и ЭНМТ (до 1000 г), с малым ГВ в настоящее время БЛД рассматривается в качестве совокупности заболеваний, имеющих разные патофизиологические механизмы [20; 21; 22; 48; 51; 53; 58; 74; 87; 149; 152; 170; 187].

Патогенез классической формы БЛД основан, по мнению W.H. Northway, на повреждении незрелых легких давлением, кислородом, объемом при реализации ИВЛ с «жесткими» режимами, что обуславливает

возникновение системной воспалительной реакции, фиброза и эмфиземы, поражение дыхательных путей [176]. Классическая форма БЛД морфологически характеризуется тяжелыми повреждениями респираторного эпителия (сквамозная метаплазия), чередованием ателектазов с участками гипервентиляции, гипертрофией гладкой мускулатуры бронхиол и бронхов с уменьшением их диаметра, гипертензивным ремоделированием легочных артерий, персистирующим интерстициальным отеком, перибронхиальной гиперпластической инфильтрацией, выраженным диффузным интерстициальным фиброзом, нарушением альвеоляризации с уменьшением площади дыхательной поверхности, формированием ОБ, образованием интерстициального и перибронхиолярного фиброза и эмфиземы [10; 29; 40; 58; 98; 118; 119; 138; 139; 144; 185; 188]. Вышеназванное определяет персистенцию стойкого БОС у пациентов с классической формой БЛД.

Новая форма БЛД – это паренхиматозное легочное заболевание, ассоциированное с нарушением роста, развития альвеол, сосудов малого круга кровообращения. Возникновение септальных гребней в мешочках, или саккулах, – основа альвеоляризации. У детей с новой формой БЛД главной причиной нарушения альвеоляризации признана недоношенность. Среди ингибирующих альвеоляризацию факторов можно назвать: баротравму и волюмотравму [10; 29; 40; 58; 144; 184; 186; 188], в результате увеличения давления и объема в ходе ИВЛ, гипероксия или гипоксия, МП, неадекватное питание, постнатальную и пренатальную лёгочную инфекцию, недоразвитие легочного микроциркуляторного русла, прием кортикостероидов [29; 40; 58; 141; 158; 172]. Как известно, при классической форме БЛД ацинус перерастянут или атрофирован. Новую форму заболевания характеризует сниженное количество альвеол с истонченными септами, а также минимальная выраженность фиброза.

БЛД доношенных формируется на фоне аспирации мекония, сепсиса, нозокомиальной пневмонии, пролонгированной ИВЛ, проводимой в связи с хирургическими вмешательствами, персистирующей легочной гипертензией

новорожденных. Эта форма заболевания формируется у рожденных в срок пациентов, рентгенологически и клинически БЛД доношенных схожа с ее классической формой.

Отечественная и иностранная литература определяет главные предикторы тяжести БЛД – длительность ИВЛ, тяжесть РДС, параметры ГВ, а также сопутствующая патология [7; 13; 14; 15; 19; 34; 37; 46; 57; 108; 113; 188]. В то же время у ряда недоношенных детей, несмотря на идентичные сроки гестации, условия выхаживания, режимы вентиляционной поддержки, диагностируются различные варианты тяжести течения и исходов БЛД, что диктует необходимость дальнейшего изучения патогенетических механизмов заболевания.

По данным Е.Б. Павлиновой, О.В. Лебедевой, появление первичной воспалительной реакции легочной ткани у недоношенных детей неминуемо. Но формирование БЛД в качестве хронической формы легочной деструкции, его течение с возникновением отдаленных осложнений зависит от целого ряда факторов. На первом месте стоит состояние системных и локальных механизмов защиты организма, а девиации цитокинового ансамбля отведена главенствующая роль [54; 66]. Известно, что цитокины принимают участие в нормальном формировании легочной ткани, модулировании иммунной защиты. В случае возникновения БЛД они усугубляют вентиляционно-ассоциированные повреждения легких, приводят к острому их травмированию [67; 69].

В 2009 г. N. Ambalavanan и соавторами было проведено исследование по изучению цитокиновой регуляции у детей с ЭНМТ. В ходе работы выявлено, что при рождении у таких пациентов развитие БЛД и смертельные исходы ассоциированы с высокими концентрациями в сыворотке цитокинов: интерлейкина 1 β , IL-10, IL-6, IL-8, интерферон- γ IFN- γ на фоне снижения IL-17, хемокина, экспрессируемого и секретируемого Т-клетками при активации (RANTES)), а также фактора некроза опухоли- β (ФНО- β). Также было установлено, что у тех младенцев, у которых развилась БЛД, отмечалось повышение уровня IL-8, сопровождаемое преобладанием Th2 цитокинов (IL-6, IL-10)

[17; 110;136; 142; 156; 193].

В работе В.А. Таболина показано, что у детей с БЛД генерализованная воспалительная реакция сопутствует росту уровня свободных кислородных радикалов, воспалительных медиаторов, провоспалительных цитокинов (интерлейкинов-1- β , 6 и 8, ФНО- α) и под их влиянием MMP 2-го и 9-го типов в бронхоальвеолярном лаваже и сыворотке крови. Распад коллагена легочной интерстиции с последующим развитием пневмофиброза осуществляется системой MMP за счет активного протеолиза [17; 35; 51; 54; 69].

W.A. Dik в 2001 г. была проведена работа, направленная на изучение легочной ткани, полученной от младенцев, которые скончались на разных фазах развития БЛД. Во всех исследованных случаях обнаружено, что пневмоциты типа II иммунореактивны в отношении MMP-1, тканевых или эндогенных ингибиторов металлопротеиназ-1 (TIMP), TIMP-2 [143].

Во время острой и регенеративной фазы БЛД пневмоциты II типа реэпителизируют поврежденные альвеолы. Это может свидетельствовать о том, что MMP-1 и его ингибиторы, экспрессируемые пневмоцитами II типа, играют важную роль в процессе реэпителизации после острого повреждения легких. Хотя интенсивность окрашивания MMP-1 оставалась постоянной в пневмоцитах II типа во время развития БЛД, TIMP-1 повышался во время хронической фиброзной фазы. Это относительное повышение TIMP-1 по сравнению с MMP-1 свидетельствует о снижении коллагенолитической активности пневмоцитов II типа при хронической БЛД и может способствовать возникновению фиброза. Фиброзные очаги при хронической БЛД содержали фибробласты, иммунореактивные к MMP-1, TIMP-1 и TIMP-2. Этот факт может указывать на то, что снижение оборота коллагена фибробластами способствует фиброзу в развитии БЛД [9; 35; 56; 54].

Витамин D – жирорастворимое вещество, относящееся к группе родственных химических соединений (кальциферолов), производных стероидов. В настоящий момент существуют две формы VD – холекальциферол (D3) и эргокальциферол (D2) [44; 79].

Молекулярный механизм действия 1,25-дигидроксивитамина D (1,25(OH)₂D) заключается во взаимодействии со специфическими рецепторами в тканях, получивших название «рецепторы витамина D» (VDR). Эти рецепторы широко представлены в организме и обнаружены более чем в 40 органах и тканях [79]. Обобщенные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что большинство иммунных клеток экспрессируется VDR, затрагивая моноциты, Т- и В-лимфоциты, дендритные клетки и макрофаги [44; 79; 88; 101].

На современном этапе подробно изучается роль низкого VD-статуса в течении острых заболеваний респираторного тракта у детей. Так, по данным М.Е. Belderbos в 2011 г. отметил, что у детей с тяжелым течением пневмонии и бронхиолитом, получавших лечение в реанимационном отделении, уровень VD достоверно был снижен по сравнению группой контроля [79; 155].

Проведенные W.P. Sexauer, A. Hadeh (2014) исследования свидетельствуют о том, что при значении 30 нг/мл 25(OH)D в сыворотке крови показатели функции внешнего дыхания существенно превышали значения у пациентов с низким уровнем VD. Таким образом, подтверждается регуляторное влияние VD на хроническое воспаление у данной категории больных [88; 101].

В исследовании Third National Health and Nutrition Examination Survey (2005) отражены доказательные результаты, раскрывающие взаимосвязь дефицита VD и нарушения легочной функции у пациентов с ХОБЛ.

Проанализированы полученные результаты и выявлена корреляционная связь между показателями VD и изменением функциональных легочных параметров (жизненная емкость легких (ЖЕЛ) и объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1)). К схожим результатам пришли и Franco с соавторами (2010) [167; 181].

Таким образом, интерес к полиорганным эффектам VD стал особенно очевидным в последнее десятилетие. На основании научных разработок ситуация оценивается как эпидемия D-дефицита в мировых масштабах. Однако наи-

менее изученной остается проблема взаимосвязи VD и респираторной патологии в контексте противовоспалительного и иммуномодулирующего эффекта VD. Большинство исследований проведены во взрослой когорте пациентов, в то время как в детской популяции подобные работы единичны, в данных работах отсутствуют работы посвященный изучению влиянию дефицита VD на течение БЛД, что диктует необходимость дальнейшего изучения поставленной проблемы

Вышеперечисленное диктует необходимость углубленного изучения маркеров воспаления у детей с БЛД, что позволит уточнить полярность воспалительного ответа с учетом тяжести течения и трансформации в другие ХЗЛ. Прогноз течения, осложнений и исходов заболевания на основе данного исследования даст возможность своевременно реализовать профилактические мероприятия, повысить эффективность осуществляемой терапии. Кроме того, это создаст условия для формирования новых этиопатогенетических подходов в лечении и повышения качества жизни пациентов.

1.3. Исходы бронхолегочной дисплазии

В 2008 г. в ходе работы XVIII-го Национального конгресса по болезням органов дыхания была утверждена рабочая классификация бронхолегочных заболеваний у детей. Диагноз БЛД правомерно устанавливать лишь детям до 3 лет [29; 30; 102]. Пациентам старше этого возраста следует отметить БЛД в качестве имевшегося в анамнезе заболевания. Патологические легочные симптомы у детей старше 3 лет рассматриваются как осложнения, исходы или манифестация иной бронхолегочной патологии.

По данным Д.Ю. Овсянникова, в ходе катamnестического наблюдения за 71 ребенком, родившимся глубоко недоношенным, к трехлетнему возрасту основными исходами БЛД являлись клиническое выздоровление (49,3 %), рецидивирующий бронхит (РБ) (23,9 %) и ХБ (11,2 %), ОБ (8,4 %), локальный пневмосклероз (7 %) [57; 58; 64].

Современные исследователи [1; 10; 38; 83; 94] подчеркивают, что даже дети, перенесшие БЛД клинически относительно благополучно, подвержены необратимым и стойким нарушениям вентиляционной функции легких, ранней эмфизематозной перестройке с утратой эластических свойств легочной ткани.

Е.В. Бойцова с соавторами доказали, что функциональные нарушения сохраняются продолжительно. Кроме того, речь идет о персистенции трансформаций в легких, устанавливаемых с помощью применения компьютерной томограммы (КТ) [16]. По мере взросления ребенка наблюдается тенденция к росту числа функциональных нарушений. Тем не менее обследование имевших в анамнезе БЛД молодых взрослых и подростков не обнаружило отличий в характере и частоте нарушений функции дыхания между теми, кто перенес новую форму БЛД, и теми, кто болел классической БЛД [38; 83; 94; 168].

Современная классификация БЛД предполагает исходы заболевания:

- клиническое выздоровление;
- ХБ;
- интерстициальный пневмонит грудного ребенка;
- эмфизема легких;
- ОБ;
- РБ;
- пневмосклероз;
- бронхоэктазы [6; 29; 30; 57; 58].

У основной массы детей наступает клиническое выздоровление, которое включает в себя отсутствие бронхообструкции на фоне интеркуррентных заболеваний. В то же время остаточные рентгенологические изменения могут наблюдаться и далее. Рост легочной ткани определяет выздоровление пациентов [58; 59].

Диагноз ХБ как исход БЛД ставят в случае фиксирования устойчивой симптоматики, выражающейся в продуктивном кашле влажных хрипов в

легких. Подобные симптомы усиливаются при 2–3 обострений в год в период 2 лет подряд и более. В периоде ремиссии осуществляется рентгенографическое исследование, которое, как правило, обнаруживает неравномерное увеличение прозрачности легочной ткани; пневмофиброз с признаками объемного уменьшения пораженных сегментов; усиление, а иногда и деформация легочного рисунка в основном в задненижних отделах легких (деформирующий бронхит), множественные лентообразные уплотнения. Подобные симптомы усиливаются при обострении заболевания, в период 2 лет подряд и более [2; 7; 10; 59; 157; 155].

Гистологическая картина морфологически подтвержденного интерстициального пневмонита грудного ребенка отличается от показателей идиопатической интерстициальной пневмонии у взрослых и детей старшего возраста. С БЛД связывают определенную долю случаев интерстициальной пневмонии [59].

Одна из причин эмфиземы легких у детей – БЛД. Буллезную эмфизему, в соответствии с исследованиями С.В. Старевской, у детей с БЛД в анамнезе в возрасте 7–15 лет диагностировали в 20 % наблюдений [58].

Осуществленные в НИИ пульмонологии СПбГМУ им. И.П. Павлова исследования говорят о вероятности видоизменения БЛД в ОБ, диагноз которого основан на клинико-рентгенологических показателях заболевания [59]. В клинике отмечают кашель, свистящее дыхание и одышку, усиливающиеся вследствие воздействия физической нагрузки, остающиеся на протяжении более 6 недель после острого эпизода. Кроме того, наблюдаются устойчивые влажные мелкопузырчатые хрипы над пораженными зонами легких, которые выслушиваются даже во время ремиссии.

На рентгенограммах органов грудной клетки (ОГК) во время ремиссии фиксируется выраженное вздутие и увеличение прозрачности легкого, локальные фиброзно-склеротические трансформации, обеднение бронхо-сосудистого рисунка на периферии. Рентгенологическая симптоматика в период обострения заболевания усиливается из-за увеличения пневматизации

легочной ткани и возможных проявлений интерстициального отека [2; 8; 59; 73; 76; 106; 162]

По данным КТ, главные признаки ОБ – локальное или распространенное увеличение прозрачности легочной ткани в совокупности с изменениями локального фиброзного характера, неомогенность вентиляции и симптом «воздушных ловушек», проявляющийся при сканировании на выдохе [59; 106; 107]. Всё сказанное может сопровождаться бронхоэктазами и легочной гипертензией. Отсутствие сопряжения признаков гиперинфляции с фазой дыхательного цикла может быть причиной гипердиагностики ОБ в качестве исхода БЛД. Согласно исследованиям А.В. Богдановой [13], предрасполагающим фактором к развитию неблагоприятных исходов БЛД, например, ХБ и ОБ, становится синдром хронической аспирации.

Исследователями [5; 29; 45; 57; 85; 162; 161] установлено, что постановка диагноза РБ обусловлена в случае повторных эпизодов острых бронхитов (в течение года 2–3 раза). Рентгенологическая картина легких у пациентов с РБ схожа с подобной в группе детей, клинически выздоровивших. У детей с БЛД в анамнезе в случае формирования исходов в виде РБ и ХБ возможно течение болезни с проявлениями БОС.

Как морфологический исход БЛД может рассматриваться локальный пневмосклероз, у некоторых пациентов клинически зафиксировано ослабление дыхания над зонами пневмосклероза высокой протяженности, которые признаны следствием ателектазов [57; 58].

У пациентов, анамнез которых содержит упоминание о БЛД, бронхоэктазы считаются морфологической находкой [58; 59].

В соответствии с классификацией бронхолегочных заболеваний у детей, их нозологические формы как исходы БЛД устанавливаются после 3-летнего возраста пациента на основании клинико-анамнестических и инструментальных методов исследования. Для уточнения характера изменений в легких всем пациентам проводится КТ легких.

В исследовании на базе Национального медицинского исследователь-

ского Центра здоровья детей, осуществленном в 2005–2008 гг., показано, что по достижению пациентами 3-летнего возраста выздоровление наступило у 18 % наблюдаемых детей с БЛД. А повторное исследование в 2013 г. установило, что выздоровление зафиксировано более чем у половины обследуемых. Видимо, подобная положительная динамика связана с улучшением терапевтических и реабилитационных мер у данной категории детей. Среди детей с тяжелой формой заболевания у 40 % пациентов в качестве исхода был диагностирован РБ с БОС, у 17 % больных сформировался ХБ, у 6 % детей был зафиксирован ОБ. Таким образом, трансформация БЛД в иные хронические формы бронхолегочной патологии наблюдалась у 23 % детей с тяжелой формой заболевания. Несмотря на то, что снятие диагноза или пересмотр на иную нозологическую форму происходит после 3-летнего возраста, по данным ряда исследователей (А.А. Баранов, Л.С. Намазова-Баранова, И.В. Давыдова), считается, исход БЛД складывается уже на 2 году жизни пациента.

Согласно данным А.В. Богдановой и Е.В. Бойцовой, под наблюдением которых находились 83 ребенка с диагнозом БЛД, показано, что у всех детей со среднетяжелой формой заболевания (51 ребенок) к 3 годам жизни достигнуто клиническое выздоровление.

В то же время рентгенологическая картина характеризовалась проявлением интерстициальной реакции и умеренного вздутия легких. Среди пациентов с тяжелой формой заболевания, а это 25 детей, получавших противовоспалительную терапию, 18 (73 %) больных показали клиническое выздоровление, 5 (23 %) пациентов скончались в первые 1,5 года жизни, у 1 (4 %) обследованного диагностирован хронический бронхит.

Информация о частоте исходов БЛД противоречива и бедна. А.Г. Антонов отмечает, что даже у клинически выздоровевших пациентов, перенесших БЛД, при отдаленном катamnестическом обследовании зафиксированы изменения рентгенологического и функционального плана. Рецидивирующую бронхиальную обструкцию диагностируют у каждого пятого ребенка с БЛД по достижении им 2-летнего возраста [29; 45; 57; 85].

Обобщая данные исследований, можно сделать вывод о том, что на степень тяжести и исходы заболевания влияет совокупность как пре-, так и постнатальных факторов. В то же время многие предикторы течения и возрастной трансформации остаются дискуссионными и малоизученными, что приводит к поиску новых патогенетических модификаторов с переносом внимания исследователей на молекулярно-генетический уровень.

1.4. Роль генетических факторов в формировании бронхолегочной дисплазии

Актуальные на сегодняшний день исследования демонстрируют расширение данных о характере течения БЛД. Так, установлено, что именно полиморфизмы генов вносят значительный вклад в особенности развития защитных реакций и определяют предрасположенность к массе заболеваний.

Наблюдается актуализация внимания на генетические основы цитокиновой регуляции, а точнее – гены-регуляторы иммунного воспаления. Доказано, что существенный вклад в течение и прогноз хронических заболеваний (сахарный диабет, муковисцидоз, ревматоидный артрит и др.) вносят полиморфизмы генов иммунного реагирования, обеспечивающих направленность и интенсивность иммунологических реакций, как при инфекционном, так и при асептическом воспалении. Сегодня имеются единичные работы, как в России, так и за рубежом, раскрывающие влияние генов-модуляторов иммунного ответа на течение БЛД [11; 12; 37; 39; 49; 66; 69; 71; 77; 121; 128; 132]. В то же время осуществление анализа клинко-иммунологических показателей в комплексе, с привлечением генетических сторон иммунного реагирования дало бы возможность не только уточнить патогенез болезни и выделить предикторы тяжести течения, но и использовать их для прогнозирования исхода заболевания. Такой подход позволил бы осуществить первичную профилактику и оптимизировать терапию заболевших с учетом индивидуальности каждого пациента.

В последнее десятилетие было проведено несколько исследований по геномным ассоциациям (GWAS) для выявления потенциальных однонуклеотидных полиморфизмов, оказывающих фенотипическое влияние на формирование и течение БЛД у детей. Наиболее репрезентативное исследование оценивало более 1700 недоношенных детей, при этом не выявлены геномные локусы или пути, которые объясняли бы генетическую предрасположенность к развитию заболевания [77; 121; 128; 132]. В то же время, согласно исследованию, включающему 1470 больных с диагнозом БЛД, было доказано, что ген SPOCK2 может явиться кандидатным геном и ключевым регулятором альвеоляризации [12]. Достижения в области геномики и протеомики позволяют предположить, что регуляторы восприимчивости могут быть идентифицированы, что потенциально позволяет проводить целевую или индивидуальную терапию для профилактики и лечения БЛД.

Большая часть звеньев патогенеза заболевания затронута вариантами полиморфизмов генов – система внутриклеточного матрикса, сурфактанта, ферментов перекисного окисления липидов, фактора роста фибробластов, цитокинов, ксенобиотиков и ферментов антиоксидантной системы.

Полиморфный генотип His/His гена микросомальной эпоксидгидролазы (EPHX113) и C/C гена эндотелиальной системы оксида азота (NOS3 786), также гетерозиготный вариант C/T гена фермента митохондриальный супероксиддисмутаза (MnSOD 60), по сведениям А.С. Панченко [77], чаще отмечались у пациентов с БЛД, что позволяет оценить влияние данных полиморфизмов на вероятность возникновения заболевания.

Согласно исследованиям, проведенным на протяжении последних 10 лет, главную роль в патогенезе многих заболеваний легких играет свободнорадикальное окисление [11; 12; 39; 77; 47; 82; 117; 129; 135; 142]. Исследование полиморфных локусов генов детоксикации ксенобиотиков, ангиотензин-превращающего фермента, ферментов антиоксидантной защиты, синтазы окиси азота и интерлейкина представляется многообещающим в целях конкретизации патогенетических основ БЛД.

В последнее время одним из наиболее перспективных и интересных для изучения этиологии и патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний и бронхолегочной системы у пациентов разных возрастов стал генетический полиморфизм ферментов антиоксидантной системы организма человека [39; 180].

Среди многочисленных механизмов антиоксидантной защиты и системы цитопротекции особое место занимает семейство ферментов глутатион-S-трансфераз (GST), внутри которого наиболее частыми объектами для молекулярно-генетических исследований являются гены GSTM1, GSTT1 и GSTP1.

В 2013 г. были опубликованы результаты законченного генетического исследования Р. Karagianni с соавторами. Определено, что гомозиготные генотипы Pc/Pc полиморфизма $\text{c.313A} > \text{G}$ (p.Pc105Val) гена GSTP1 были выявлены у 23 недоношенных детей с БЛД и 23 недоношенных детей без БЛД. Анализ полученных данных не выявил различий в распределении частоты аллелей и генотипов полиморфизма p.Pc105Val гена GSTP1 между группами детей, сформировавших и несформировавших БЛД [195].

Главная роль в реализации патогенетических механизмов повреждения ткани легкого отведена определению однонуклеотидных замен в генах антиоксидантных ферментов, что следует признать одним из перспективных направлений исследования. В 2011 г. Е.Б. Павлинова [66] провела анализ частоты встречаемости полиморфных вариантов генов митохондриальной супероксиддисмутазы (MnSOD) и глутатионцистеинлигазы (GCL) у недоношенных детей из группы риска развития БЛД. Установлено, что у этой когорты пациентов значимо чаще фиксировались минорные полиморфизмы 129T GCLC и 60T SOD2. Недоношенные дети из группы риска, имеющие гомозиготное и гетерозиготное носительство минорных аллелей гена GCL, демонстрировали достоверно высокую прогностическую значимость признаков, способствующих формированию БЛД. Половина пациентов с развившейся БЛД имела гетерозиготный генотип 129 CT GCLC, в то время как у 25 % больных был диагностирован полиморфный генотип 58TC SOD2 [66].

Связь риска возникновения БЛД и однонуклеотидной замены гена глутатион-S-трансферазы P1 выявлена в работах В.А. Невзорова (2013). Установлено, что полиморфизм 105I/V и 114A/V глутатионтрансферазы и полиморфизм 113T/H микросомальной эпоксидгидролазы EPHX1 имеет значение в развитии ХБ с обструктивным компонентом у детей в качестве исхода заболевания [11; 12; 104].

В патогенезе развития БЛД имеет значение участие ферментов деградации внеклеточной ММР. Как известно, ММР-9 (желатиназа-В) – один из ферментов, которые принимают участие в ремоделинге структур внеклеточного матрикса, процессах заживления ран, воспаления, мобилизации матрикс-связанных факторов роста и процессинге цитокинов. ММР-9 секретируется макрофагами, моноцитами, кератиноцитами, хондроцитами, нейтрофилами, остеокластами, фибробластами, эндотелиальными клетками, сателлитными клетками скелетных мышц. Субстраты для ММР-9: денатурированный коллаген I типа (желатин), нативные коллагены типов IV, V, VII, X и XI, витронектин, фибронектин, IL-1 β и энтактин, его молекула соединяет коллаген IV типа и ламинин [9; 11; 12; 35; 156].

D. Harding с соавторами (2013) провели исследование, согласно которому из 284 недоношенных детей со сроком гестации менее 28 недель БЛД возникла у 45 младенцев. Изучены уровни в контексте генетических полиморфизмов ММР-2, ММР-14 и ММР-16, определен генотип, связанный со сниженной активностью ММР-2 и ММР-16 в трахеобронхиальном аспирате на третий день жизни пациента. Этот генотип определял развитие заболевания у глубоко недоношенных детей. Осуществлен генетический анализ (при учете этнической принадлежности пациента и его массы тела), который установил, что упреждающими при развитии БЛД являются ТТ генотип ММР-16, С/Т (rs2664352) и GG генотип ММР-16 [9; 11; 12; 35; 157; 156].

M. Yang, анализируя профиль экспрессии генов, связанных с ангиогенезом, и генов ММР у недоношенных детей с БЛД, показал, что из 27 обнаруженных ММР и TIMP, ММР-8, ММР-9, ММР-25, TIMP-2 и TIMP-3

подвергались генетической вариабельности. Уровни тромбоспондина-1, MMP-8, MMP-9, MMP-25, TIMP-2 и TIMP-3 были ассоциированы с генетическими полиморфизмами и увеличивались по мере нарастания тяжести БЛД и ретинопатии недоношенных, тогда как ETS1, LEF1 и SPOCK2 демонстрировали противоположную тенденцию. Была доказана положительная корреляционная связь между уровнями тромбоспондина-1 и CD36 (рецептор тромбоспондина-1) в образцах сыворотки крови недоношенных детей. Данное исследование указывает на то, что повышенная регуляция тромбоспондина-1 и пониженная регуляция ETS1, LEF1 стимулирует БЛД у недоношенных детей, нарушая образование кровеносных сосудов, не затрагивая регуляцию MMPs и TIMP [198].

Сурфактантный белок D (SFTPD) является одним из ключевых регуляторов функций альвеолярных макрофагов – основных клеток системы иммунитета в легких. Биологическая активность сурфактантного протеина D на клетки макроорганизма реализуется через взаимодействие со специфическими рецепторами макрофагов, которые, в свою очередь, приводят к выработке провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. По данным литературы, генетически обусловленное снижение концентрации SFTPD сопутствует с ростом частоты ОРВИ, а его избыток коррелирует с аллергическими заболеваниями органов дыхания у детей. Кодированные сурфактантные белки аллели могут повлиять на возникновение тяжелой формы БЛД [11; 28; 37; 49; 60; 135; 148; 151; 156; 182; 181; 198; 194].

В иностранной литературе имеется большое количество исследований, посвященных изучению ассоциации полиморфизмов генов белков сурфактанта с развитием БЛД. Несмотря на многообразие работ, их отличает крайне противоречивый характер. Так, в трудах В. Weber (2000) было выявлено повышение частоты полиморфизма 6А6 гена SFTPA у детей с БЛД по сравнению с контрольной группой. В дополнение к ранее установленным факторам риска развития БЛД полиморфизм 6А6 для гена SFTPA является независимым кофактором [194].

Многопараметрический анализ M. Rova с соавторами (2004) демонстрирует прямое участие аллеля варианта делеции интрона 4 SFTPB в качестве генетического фактора риска развития БЛД [195].

Полиморфный вариант гена сурфактантного белка A2 связан с повышенным риском РДС, доказано в исследовании D. Harding (2013). С развитием БЛД у детей ассоциировано и наличие ассоциации интрона 4 гена сурфактантного белка B [153].

К.В. Данилко в 2007 г. установил, что у новорожденных генетическими маркерами предрасположенности к дыхательным расстройствам стали гаплотип 32T/478G гена сурфактантного белка D и аллель-D полиморфного локуса гена ангиотензин-превращающего фермента. Предрасположенность к развитию РДС маркируют гаплотипы – 18A/1580C/VNTR:Inv гена сурфактантного белка B, 511T/3953T/VNTR:*A2 генов IL-1B и антагониста рецептора IL-1. Маркерами устойчивости к развитию РДС являются генотип Inv/330 минисателлитного локуса гена сурфактантного белка B, а также гаплотипы - 18A/1580T/VNTR:Inv гена сурфактантного белка B и -511T/3953T/VNTR:*A1 генов IL- B и /L7tfJV. Важными генетическими компонентами мультифакторной структуры РДС, а также врожденной пневмонии новорожденных стали полиморфные варианты генов протеинов сурфактанта B и сурфактанта D, ФНО- α , IL-1p, IL-1B, рецепторного антагониста IL-1, IL-10 [11; 37; 49; 60].

В 2014 г. G.L. Sorensen со авторами при изучении влияния полиморфизма сурфактантного белка D на уровень в сыворотке крови идентифицировал 3 гаплотипа, которые включали минорные аллели rs1923534, rs721917 и rs3088308, являющиеся значимыми для уменьшения уровня SFTPD. При этом наблюдалось повышение заинтересованности в объеме и удлинение сроков респираторной поддержки [198].

Таким образом, результаты исследований указывают на тот факт, что изменения в системе сурфактантных белков, ассоциированные с генетическими полиморфизмами, являются важными диагностическими и прогностическими факторами, влияющими на систему легочной адаптации у недоно-

шенных новорожденных.

Отмечается повышение научного интереса некоторых исследователей к потенциальной роли генетической изменчивости VDR и витамин D-связывающих белков (VDBPs, также известный как Gc-глобулин) в патогенезе определенных легочных заболеваний, таких как туберкулез, интерстициальные заболевания легких, муковисцидоз, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) [79; 101; 128; 132; 165; 166; 179; 189].

VDBPs вследствие реализации основной функции связывания витамина D с VDR модулирует его различные клеточные функции. Кроме того, VDBPs имеет и способность связываться с внеклеточным актином и эндотоксином, увеличивать хемотактическую активность фактора комплемента 5a для нейтрофилов, а он может действовать как макрофаг-стимулирующий фактор. Этот факт имеет положительное значение в случае возникновения инфекций легких и острого повреждения легочной ткани. У этого белка идентифицированы три изоформы (1F, Gc-1 и -2) [79; 166; 168; 182; 185].

У пациентов с ХОБЛ частота генотипа Gc-2 гена VDBP достоверно ниже, а это говорит о протективном эффекте данного генотипа в формировании ХЗЛ, по данным Kuerrpers и соавторов [168] Horne и соавторы [160] получили сходные результаты, удостоверив защитные эффекты гомозиготного Gc-2 аллеля в отношении формирования ХОБЛ. У носителей гомозиготного генотипа 1F по сравнению с контролем, напротив, риск возникновения ХОБЛ был выше [160; 168].

В 2014 г. Ozge Altun Koroglu в исследовании, посвященном изучению влияния полиморфизмов генов VDR на формирование БЛД, показал, что генотипы Ff полиморфизма Fok I VDR ассоциированы с повышенным риском развития БЛД; тогда как tt генотип полиморфизма Taq 1 был связан с защитным эффектом против БЛД. По полиморфизмам Taq 1, Bsm 1 и Apa 1 не получено никакой ассоциации с заболеванием [187].

Вышеизложенное, с одной стороны, позволяет сделать предположение о том, что генетическая изменчивость VDR и VDBPs оказывает активное

влияние на течение воспалительного процесса через механизмы активации альвеолярных макрофагов, тем самым способствуя развитию легочных заболеваний. С другой стороны, нехватка исследований о связи между уровнями витамина D и функцией легких, а также механизмах, лежащих в их основе, говорит об актуальности исследования поставленной проблемы в дальнейшем [152; 155; 173; 182; 185; 189].

Изучение современной медицинской литературы подтвердило, что одним из важнейших направлений в рассмотрении специфики течения БЛД является исследование генетических маркеров, которые отвечают за наследственную предрасположенность у детей к бронхолегочным заболеваниям. В настоящий момент написаны единичные работы, как в России, так и за рубежом, раскрывающие влияние полиморфизмов генов на риск возникновения БЛД. В то же время остаются недостаточно изученными предикторы тяжести течения, а также варианты исхода заболевания.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы исследования

2.1.1. Общая характеристика больных

Работа проведена на кафедре факультетской педиатрии (заведующая кафедрой – д-р мед. наук, профессор О.А. Башкина) ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава РФ.

В исследование включено 146 пациентов (основная группа) с ранее установленным диагнозом бронхолегочная дисплазия в возрасте от 2 лет 11 месяцев до 4 лет 1 месяца ($3,35 \pm 0,13$ года). Дети проходили обследование и лечение на этапе пересмотра диагноза БЛД на базе ГБУЗ АО ОДКБ им. Н.Н. Силищевой, отделения пульмонологии в период с 2016 по 2019 гг.

В основной группе сроки гестации у детей фиксировались от 25 до 37 недель ($30,9 \pm 2,3$), а масса при рождении – от 562 г до 2500 г ($1\ 458 \pm 458$).

Количественная характеристика детей основной группы в соответствии со сроками ГВ и степенью недоношенности представлена на рисунке 1.

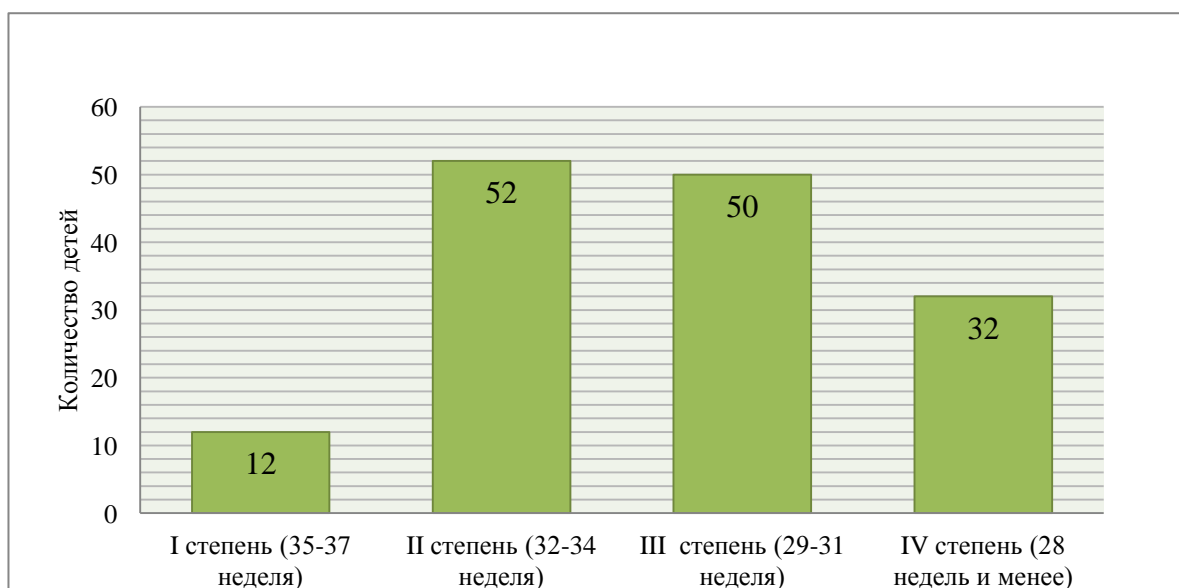


Рисунок 1 – Степень недоношенности в зависимости от ГВ

Среди пациентов основной группы число пациентов мужского пола ($n = 98$; 67,1 %) преобладало над количеством больных женского пола ($n = 48$; 32,9 %), что отражено на рисунке 2.

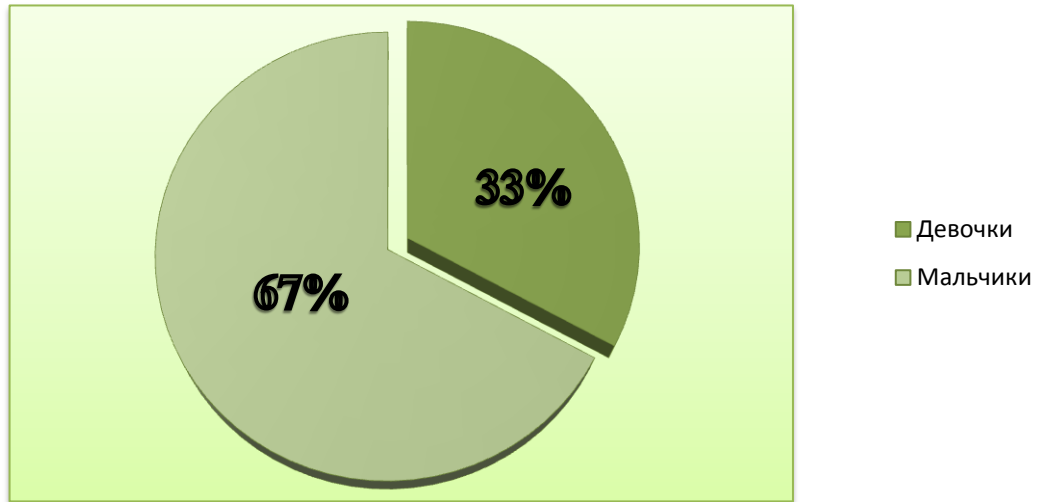


Рисунок 2 – Гендерное распределение пациентов

Согласно рабочей классификации клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей (2016), диагноз БЛД у всех пациентов ставили после 28 дня жизни на основании стандартных клинических и инструментальных методов исследования. В соответствии с классификационным подходом у всех обследованных детей была диагностирована новая форма заболевания. При верификации тяжести течения болезни учитывали степень кислородозависимости, которую оценивали в 36 недель постконцептуального возраста у пациентов, родившихся с ГВ менее 32 недель, а также на 56 день жизни у новорожденных с ГВ более 32 недель.

С учетом степени тяжести БЛД пациенты были разделены на 3 группы. 1 группу составили 14 (9,6 %) детей, у которых была диагностирована легкая форма БЛД; во 2 группу вошли 72 (49,3 %) ребенка со среднетяжелым ее течением; в 3 группу были включены 60 (41,1 %) пациентов, у которых было диагностировано тяжелое течение заболевания.

Согласно клиническим рекомендациям по диагностике и лечению БЛД у детей, исход заболевания верифицируется к 3 годам жизни. В зависимости от

варианта трансформации диагноза пациенты были разделены на 2 подгруппы.

Первую подгруппу сформировали 88 детей ($3,7 \pm 0,43$ года), у которых наблюдалось восстановление морфофункциональных структур с реализацией в виде выздоровления или РБ.

Вторую подгруппу составили 58 ($3,2 \pm 0,66$ года) пациентов, у которых произошло формирование неблагоприятных исходов заболевания в виде ХБ или ОБ.

Диагнозы (ХБ, РБ и ОБ) устанавливали, основываясь на полученных показателях комплексного клинико-инструментального обследования, согласно классификации клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей, утвержденной на специальном заседании XVIII Национального конгресса по болезням органов дыхания (Екатеринбург, 12.12.08 г.).

Контрольная группа для проведения дополнительного биохимического исследования (определения уровня ММР-9 в сыворотке крови) и генетического типирования была представлена 93 пациентами в возрасте от 3 до 5 лет ($M \pm m = 3,9 \pm 0,26$ года), родившимися недоношенными с ГВ от 27 до 35 недель ($M \pm m = 29,3 \pm 3,2$), но не сформировавшими БЛД.

Взятие образцов крови проводили с соблюдением этических принципов, в соответствии с текущей версией Хельсинкской декларации. Родители или законные представители больных и лиц контрольной группы были проинформированы об участии в медико-эпидемиологическом исследовании, от них получено добровольное согласие.

2.2. Методы исследования

Исследование осуществлено в соответствии с скрининговыми рекомендациями по ведению детей с БЛД (2016г.):

- на основе собственных наблюдений и данных анализа медицинской документации, заключения узких специалистов;

- реализован полный комплекс клинико-лабораторных методов обследования (общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, в который входит определение С-реактивного белка, глюкозы, креатинина, общего белка, мочевины, аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, общего билирубина); определен характер микробиоты дыхательных путей (мазок с задней стенки глотки, мокрота, бронхоальвеолярная жидкость);
- спектр инструментальных исследований был представлен данными бронхофонограммы, КТ, ультразвуковым исследованием органов брюшной полости, забрюшинного пространства и эхокардиографии.

Для решения поставленных задач в работу вошли дополнительные исследования:

- анкетирование посредством разработанной анкеты-опросника для анализа клинико-anamnestических особенностей течения заболевания;
- определение MMP-9 в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем фирмы «ELISA Kit for MMP-9» (Cloud-Clone Corp., США).
- определение кальцидиола в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем фирмы ЗАО «Техсистемс» (Россия);
- молекулярно-генетические методы с целью определения полиморфизмов rs721917 гена SFTPD, полиморфизма rs 3918242435 гена MMP-9 и FOK1 полиморфизма гена VDR. Для выполнения анализа производили выделение тотальной ДНК из лейкоцитов венозной крови с использованием: этилендиамидтетраацетата Na (ЭДТА), SDS (фирма «Helicon»), фенола (фирма «AcrosOrganics», USA), протеиназы K (фирма «Helicon»). Генотипирование полиморфных маркеров изучаемых генов осуществляли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов.

Образцы цельной периферической крови и ее плазмы послужили биологическим материалом для работы над исследованием.

2.2.1. Клинико-anamнестический метод

Представленное исследование осуществлено с опорой на личные наблюдения диссертанта и анализ медицинской документации (истории болезни, выписки из амбулаторных карт, выписки из родильных домов, со 2 этапа выхаживания, а также заключение узких специалистов – офтальмолога, кардиолога, невролога). Автором исследования создана детализированная анкета, включающая в себя сведения о состоянии здоровья ребенка с момента рождения, формирование и течение заболевания.

В ходе анализа оценивали:

- течение беременности (акушерско-гинекологический анамнез), состояние здоровья матери (наличие сопутствующей инфекции и соматической патологии);
- состояние ребенка при рождении (ГВ, антропометрические данные, оценка по шкале Апгар, особенности проведения первичной реанимационной помощи), длительность и методы проведения респираторной поддержки, наличие сочетанной и сопутствующей патологии (ренинопатия недоношенных, детский церебральный паралич, врожденные пороки сердца, анемия недоношенных в постнеонатальном периоде);
- особенности течения заболевания и состояние здоровья ребенка (кратность и тяжесть БОС, частота госпитализаций, объем базисной терапии, кратность и возраст старта острых респираторных инфекций, коморбидные состояния, характер микробиоты дыхательных путей).

2.2.2. Инструментальные методы исследования

Инструментальные методы включали в себя:

1. КТ ОГГ. Данное исследование является «золотым стандартом» в рентгенологическом обследовании пациентов с БЛД. Представленный метод дает возможность достоверно визуализировать структурные трансформации

легочной ткани, которые не определяются на обзорной рентгенограмме грудной клетки. Кроме того, этот метод позволяет установить локализацию и объем поражения дыхательных путей.

2. Изучение функции внешнего дыхания (ФВД) проводили путем бронхофонографии, преимуществом которой стала независимость итогов от техники выполнения больными респираторных маневров. Поэтому бронхофонографию можно использовать у детей раннего возрастного периода [94; 145]. Ее проводили с помощью компьютерно-диагностического комплекса «Паттерн 01». Регистрация дыхательного акта в виде временной кривой – принцип диагностики при бронхофонографии. Процесс регистрации дыхательных шумов выполняли в положении пациента сидя, при спокойном дыхании, в течение 4 с. Производится описанная неоднократно процедура до получения 3 воспроизводимых результатов. Осуществляется оценка показателей общей акустической работы дыхания – суммарного паттерна дыхания, акустической работы дыхания в низкочастотном (0,2–1,2 кГц), среднечастотном (1,2–5,0 кГц) и высокочастотном (5,0–12,6 кГц) диапазонах [94]. Паттерн дыхания является соотношением компонентов дыхательного акта в виде временной кривой, обработанного дисконтным преобразованием Фурье.

2.2.3. Биохимические методы исследования

В обследование входило определение уровня ММР-9 и кальцидиола в сыворотке крови в группе детей с БЛД и в контрольной группе.

В целях исследования была использована сыворотка крови, забор которой осуществляли из локтевой вены, далее кровь отстаивали в течение 1,5–2 часов при комнатной температуре для формирования фибринового сгустка. После этого для отделения сыворотки от форменных элементов кровь центрифугировали в течение 20 мин при приблизительно 1 000 об/мин. Затем для последующего исследования сыворотку помещали в микропробирки эппендорф и замораживали в морозильной камере при температуре 20 °С. При

завершении набора необходимого количества сывороток производили определение уровня MMP-9 с использованием «ELISA Kit for MMP-9» (Cloud-Clone Corp., США) и кальцидиола с использованием тест-систем фирмы ЗАО «Техсистемс» (Россия). Данный набор предназначен для определения концентрации MMP-9 и кальцидиола в сыворотке крови в научно-исследовательских лабораториях.

2.2.4. Молекулярно-генетические методы исследования

2.2.4.1. Выделение геномной ДНК

Выделение геномной ДНК осуществляли из лейкоцитов венозной крови с применением реактивов: ЭДТА, фенола, SDS, протеиназы К. К 10 мл крови добавляли 3 мл ЭДТА, потом смешивали кровь с 1 мкл сахарозного буфера. Затем перемешивали 2–3 мин и центрифугировали 8 000 об/мин 10 мин. Ядерный осадок ресуспензировали в 400 мкл буфера для протеиназы К. После чего добавляли 20 мкл 10 % SDS до конечной концентрации 0,5 % и инкубировали в присутствии 10 мкл протеиназы К, в конечной концентрации 250 мкг/мл, в течение 16 ч при 37 °С. Позже добавляли 500 мкл забуференного фенола рН 8, осторожно перемешивали 15 мин и центрифугировали 5 мин при 13 400 об/мин. Далее переносили верхнюю фазу в другую пробирку, добавляли 500 мкл смеси фенол-хлороформ (1 : 1). Перемешивали 15 мин, центрифугировали 5 мин при 13 400 об/мин. Экстрагировали фенол из верхней обводненной фазы 500 мкл хлороформа с последующим перемешиванием и центрифугированием 5 мин при 13 400 об/мин. Далее к раствору ДНК (верхняя фаза) добавляли последовательно 16 мкл NaCl и 1 000 мкл охлажденного 96 % этанола. Перемешивали и центрифугировали 15 мин при 13 400 об/мин, промывали преципитат 1 мл 70 % этанола. Центрифугировали повторно, осадок высушивали и растворяли ДНК в буфере TE. Концентрацию ДНК оценивали при измерении оптической плотности при 260 и 280 нм против TE. От-

ношение A260/A280 должно быть $> 1,8$. ДНК хранили в буфере TE при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

ПЦР фрагментов генотипов MMP-9, SFTPD, VDR FOK1: для проведения ПЦР фрагментов генов 250 нг (1 мкл) исследуемого образца геномной ДНК добавляли к 14 мкл смеси, в состав которой входили следующие компоненты: 1,5 мкл дезоксинуклеотидтрифосфата (в концентрации по 0,8 мМоль каждого); 1,5 мкл буфера НРБ (Tris-HCl, pH8,8 1M) 670 мкл, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ —100 мкл, 2В-меркаптоэтанол – 7,8 мкл, MgCl_2 насыщенный – 14,4 мкл, dH_2O —206,6 мкл); 8,7 мкл ампулированной воды; термостабильная ДНК-полимераза 0,3 мкл (0,2 ед./мкл («Сибэнзим», Новосибирск) и по 0,001 оптической единицы каждого олигопраймера (по 1 мкл каждого) [92; 103].

Таблица 1 – Последовательности праймеров и зондов

Полиморфный маркер	Последовательность праймеров	Последовательность зондов
rs3918242	<i>MMP-9</i> rs3918242 435 8242 435 >chr20:46007145+46007579 435bp GCCTGGCACATAGTAGGCC TTCCTAGCCAGCCGGCATC	<i>MMP-9</i> rs3918242 Фермент Cvia II Фрагменты рестрикции: С+ 379+49+7 п.н. Т+ 244+135+49+7 п.н.
rs721917	<i>SFTPD</i> rs721917 >chr10:79946547-79946647 101bp-105bp CTCCTCTCTGCACTGGTC (CTCCTCTCTGCACTGGTCAT)	<i>SFTPD</i> rs721917 Фермент Acc16I Фрагменты рестрикции: Т+ 82+19 С+ 101
VDR FOK1	Эндонуклеаза рестрикции FOK1 F:5'-AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTGCTCT-3' R:5'-ATGGAAACACCTTGCTTCTTCTCCCTC-3'	VDR FOK1 С (F): 267 Т (f): 197+70

2.2.5. Статистические методы анализа

Статистическую обработку полученных данных проводили, применяя параметрическую и непараметрическую статистику, учитывая зависимость от правильности и неправильности распределения признака, при помощи программного обеспечения с помощью Microsoft Excel и Statistika 10 (США).

U-критерий Манна-Уитни был использован в целях сравнения двух независимых выборок по уровню какого-либо признака, измеренного количественно. Метод базируется на определении того, достаточно ли мала зона перекре-

сравниваемых значений между двумя вариационными рядами (ранжированным рядом значений параметра в первой выборке и таким же во второй). Вероятнее, что различия между значениями параметра в выборках достоверны, если значение критерия меньше. Для проверки равенства медиан нескольких выборок использовали критерий Краскела-Уоллиса. В отличие от U-критерия Манна-Уитни, он позволяет сравнивать средние значения трех и более групп.

Критерий χ^2 Пирсона как непараметрический метод статистики использован в работе для анализа данных о частоте исходов и степени тяжести заболевания в зависимости от наличия фактора риска. Однако в тех случаях, когда при анализе данных четырехпольных таблиц хотя бы в одной ячейке число ожидаемого явления было меньше 10, рассчитывали критерий χ^2 с поправкой Йейтса, который помогает уменьшить вероятность обнаружения различий там, где их нет. Для этого из абсолютного значения разности между фактическим и ожидаемым количеством наблюдений вычитали 0,5, что приводило к снижению показателя критерия χ^2 . В тех случаях, когда полученное значение критерия χ^2 оказывалось больше критического, устанавливали наличие статистически значимой взаимосвязи между изучаемым фактором риска и исходом. Результаты рассматривали как статистически значимые при $p < 0,05$ [17; 49; 58]. Для сравнения двух и более относительных показателей, характеризующих частоту определенного признака, имеющего два значения, использовали точный критерий Фишера. Данный критерий применяли в основном для определения критерий χ^2 Пирсона в малых выборках, когда при анализе четырехпольных таблиц число значения ожидаемого явления было менее 10.

Для оценки ассоциации между определенными генотипами и аллелями и риском развития заболевания подсчитывали отношение шансов (OR – odd ratio), то есть статистический показатель, один из основных способов описания в численном выражении того, насколько отсутствие или наличие определенного исхода связано с присутствием или отсутствием определенного фактора в конкретной статистической группе. Если отношение шансов превыша-

ло 1, то данный фактор риска оказывал прямое влияние на вероятность наступления исхода. Если же значение было меньше 1, то соответствующий фактор рассматривали как упреждающий (Confidence interval CI) [58].

OR подсчитывали по формуле: $OR = a/b \times d/c$, где a и b – количество имеющих и не имеющих мутантный генотип пациентов, соответственно; d и c – число больных в контрольной группе, которые имеют и не имеют мутантный генотип.

ГЛАВА 3. ОСОБЕННОСТИ АНАМНЕСТИЧЕСКИХ ДАННЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ И ИСХОДОВ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ У ДЕТЕЙ

Предлагаемое исследование включало в себя анализ анамнеза у 146 пациентов с учетом динамики клинических проявлений заболевания с момента рождения до этапа пересмотра диагноза. Сравнительная гендерная характеристика больных выявила в группах детей преобладание лиц мужского пола ($n = 98$) вне зависимости от срока гестации (табл. 2).

Таблица 2 – Гендерное распределение больных в зависимости от ГВ

Гестационный возраст	Пол пациентов		Статистическая достоверность: $\chi^2 = 0,365$, $p = 0,948$, $df = 3$
	Мальчики ($n = 98$)	Девочки ($n = 48$)	
35–37 неделя ($n = 12$)	8 (66,7 %)	4 (33,3 %)	$\chi^2 = 0,001$, $p = 0,972$, $df = 1$
32–34 неделя ($n = 52$)	36 (69,2 %)	16 (30,8 %)	$\chi^2 = 0,163$, $p = 0,687$, $df = 1$
29–31 неделя ($n = 50$)	32 (64 %)	18 (36 %)	$\chi^2 = 0,336$, $p = 0,563$, $df = 1$
28 недель и менее ($n = 32$)	22 (68,8 %)	10 (31,2 %)	$\chi^2 = 0,049$, $p = 0,0825$, $df = 1$

Примечание: p – уровень статистической значимости в сравнении по гендарному признаку.

Среди антропометрических показателей изучали ГВ и массу тела при рождении детей с БЛД. ГВ обследуемых детей составил от 25 до 37 недель ($30,9 \pm 2,3$), масса при рождении – от 562г до 2500 г (1458 ± 458).

Общеизвестным фактором риска возникновения БЛД признан малый ГВ. Выявлено, что у детей, рожденных в IV степени недоношенности (в ГВ 28 недель и менее), легкое течение БЛД отмечалось у 2 (14,8 %) обследованных, в то время как тяжелое диагностировано у 18 (30,0 %) пациентов. Эти данные совпадают с литературными, согласно которым низкий ГВ является предрасполагающим фактором для развития тяжелой формы БЛД у недоношенных младенцев (OR = 2,204 (ДИ 0,995–4,883)). Несмотря на уверенную тенденцию к реализации тяжелого течения БЛД при низких сроках гестации IV степени недоношенности, часть детей сформировали легкую форму недуга, а пациенты с ГВ 32 недели и более в 36,7 % случаев реализовали тяжелое течение заболевания

(табл. 3).

Таблица 3 – Тяжесть течения в зависимости от ГВ

Степень тяжести	Срок гестации				Статистическая достоверность: $\chi^2 = 15,871$, $p < 0,05$, $df = 6$
	28 недель и менее (n = 32)	29–31 неделя (n = 50)	32–34 неделя (n = 52)	35–37 недель (n = 12)	
Легкая	2 (14,8 %)	6 (42,8 %)	2 (14,8 %)	4 (28,6 %)	$\chi^2 = 5,364$, $p = 0,069$, $df = 3$
Средняя	10 (13,8 %)	22 (30,5 %)	30 (44,4 %)	10 (13,8 %)	$\chi^2 = 11,759$, $p = 0,009$, $df = 3$
Тяжелая	18 (30,0 %), OR = 2,204 (ДИ 0,995–4,883)	20 (33,3 %)	20 (33,3 %)	2 (3,4 %)	$\chi^2 = 11,731$, $p = 0,009$, $df = 3$

Примечание: p – уровень статистической значимости между группами по срокам гестации.

Согласно результатам (табл. 4), дети с легкой степенью тяжести БЛД были рождены с низкой (до 2000 г) или очень низкой массой тела (до 1500 г). Среди недоношенных пациентов со среднетяжелой формой заболевания наблюдалась гетерогенность показателей массы при рождении с превалированием от 1000 до 2000 г (64,6 % случаев). Тяжелую форму достоверно чаще диагностировали у детей, рожденных с ЭНМТ (менее 1000 г). Таким образом, анализ данных показал, что масса тела при рождении менее 1000 г является предрасполагающим фактором к тяжелому течению БЛД у недоношенных младенцев ($\chi^2 = 11,181$, $p = 0,011$, $df = 3$, OR = 2,643 (ДИ 1,161–6,017)).

Таблица 4 – Тяжесть течения заболевания в зависимости от массы тела при рождении

Тяжесть течения	Масса тела, г				Статистическая достоверность: $\chi^2 = 15,871$, $p < 0,05$, $df = 6$
	2001–2500	1500–2000	1001–1500	1000 и меньше	
Легкая	0	6 (42,8 %)	8 (57,2 %)	0	$\chi^2 = 7,363$, $p = 0,062$, $df = 3$
Средняя	14 (13,8 %)	20 (28,5 %)	26 (36,1 %)	12 (16,6 %)	$\chi^2 = 11,345$, $p = 0,010$, $df = 3$
Тяжелая	2 (3,3 %)	22 (36,6 %)	18 (30,0 %)	18 (30,0 %) OR = 2,643 (ДИ 1,161–6,017)	$\chi^2 = 11,181$, $p = 0,011$, $df = 3$

Примечание: p – уровень статистической значимости между группами по массе тела при рождении.

В ходе исследования оценивали влияние сопутствующей патологии на тяжесть течения БЛД. Анализировали следующие состояния: врожденные пороки сердца, поражения центральной нервной системы (ЦНС), врожденная пневмония и диагностированные хронические оппортунистические инфекции (цитомегаловирусная инфекция, вирус Эпштейна-Барр, герпес I–II типа) (табл. 5).

Таблица 5 – Степень тяжести заболевания в зависимости от сопутствующей патологии

Сопутствующая патология	Тяжесть течения			Статистическая достоверность: $\chi^2 = 33,605$, $p < 0,001$, $df = 12$
	Легкая (n = 14)	Средняя (n = 72)	Тяжелая (n = 60)	
Врожденные пороки сердца (n = 34)	0	16 (47 %)	18 (53 %)	$\chi^2 = 4,068$, $p = 0,131$, $df = 2$
Поражения ЦНС (n = 48)	4 (8,3 %)	24 (50 %)	20 (41,7 %)	$\chi^2 = 0,713$, $p = 0,701$, $df = 2$
Хронические оппортунистические инфекции (n = 12)	0	8 (66,7 %)	4 (33,3 %)	$\chi^2 = 1,488$, $p = 0,476$, $df = 2$
Врожденные пневмонии (n = 6)	10 (12,9 %)	42 (54,8 %)	34 (32,3 %)	$\chi^2 = 10,672$, $p = 0,005$, $df = 2$

Примечание: p – уровень статистической значимости между группами по влиянию коморбидных состояний

Выявлена высокая частота поражений ЦНС (церебральная ишемия, внутрижелудочковое кровоизлияние I–III степени, перивентрикулярная лейкомаляция) и врожденных пороков сердца в остром периоде у новорожденных. Несмотря на то, что статистическая значимость зафиксирована на уровне 10 %, данные коморбидные состояния преобладали у детей со среднетяжелой и тяжелой формой БЛД. Хронические оппортунистические инфекции были реализованы исключительно у детей со среднетяжелой и тяжелой формой недуга.

С учетом степени тяжести ДН дети получали респираторную поддержку, продолжительность которой составила от 3 суток до 3,5 месяцев. Анализ статистических данных свидетельствует о том, что новорожденные с легким течением получали наиболее кратковременную по длительности вентиляционную

поддержку ($3,6 \pm 1,2$ дней) по сравнению с пациентами со средним ($5,1 \pm 11,8$ дней) и тяжелым ($4,9 \pm 1,2$) течением ($h_{\text{эмп.}} = 6,23608$, $p = 0,04424$) в пределах 1 недели. В группе больных, находившихся на ИВЛ более месяца, длительность аппаратного дыхания при тяжелом течении заболевания была выше ($80,4 \pm 11,8$ дней), чем у новорожденных со средней ($51,3 \pm 11,7$ дней) и легкой ($38,5 \pm 0,5$ дней) формой недуга ($h_{\text{эмп.}} = 14,5522$, $p = 0,00069$) (табл. 6).

Таблица 6 – Тяжесть течения заболевания в зависимости от длительности респираторной поддержки

Тяжесть течения	Длительность респираторной поддержки, в днях			
	До 7 дней (n = 76)	8- 14 дней (n = 24)	15-21 дней (n = 18)	Больше 30 дней (n = 28)
Легкая (n = 14)	$3,6 \pm 1,2$	$11 \pm 1,5$	0	$38,5 \pm 0,5$
Средняя (n = 72)	$5,1 \pm 11,8$	$13 \pm 0,5$	$18,6 \pm 1,6$	$51,3 \pm 11,7$
Тяжелая (n = 60)	$4,9 \pm 1,2$	$12,9 \pm 0,7$	$19,25 \pm 1,25$	$80,4 \pm 11,8$
Критерий Краскела-Уоллиса	$h_{\text{эмп.}} = 6,23608$, $p = 0,04424$	$h_{\text{эмп.}} = 3,15761$, $p = 0,20622$	$h_{\text{эмп.}} = 3,24878$, $p = 0,19703$	$h_{\text{эмп.}} = 14,5522$, $p = 0,00069$

Примечание: p – уровень статистической значимости между группами по длительности ИВЛ в зависимости от степени тяжести

Исследование ФВД является одним из важнейших критериев диагностики заболеваний респираторного тракта при оценке их тяжести и степени эффективности терапии. В ходе статистической обработки показателей бронхофонограммы выявлено, что у детей с легкой степенью тяжести заболевания БЛД в возрасте 3 лет преобладали легкие и умеренные нарушения проходимости дыхательных путей. При среднетяжелом течении БЛД достоверно чаще наблюдали умеренные нарушения бронхиальной проходимости ($OR = 4,790$ (ДИ 2,278–10,073)). В то же время среди обследуемых больных с тяжелым течением недуга у 44 пациентов из 60 степень нарушения дыхательной проходимости была определена как выраженная (табл. 7).

Согласно статистическому анализу, не выявлено ассоциации между степенью тяжести БЛД у недоношенных и уровнем поражения дыхательных путей (верхним, средним и нижним) ($\chi^2 = 8,063$, $p = 0,090$, $df = 4$).

В отличие от других систем, дыхательные пути имеют гомогенную

микробиоту, которая уменьшается в биомассе от верхних отделов к нижним. Здоровое легкое не имеет обособленного микробиома, вместо этого оно содержит низкие уровни бактериальных сиквенсов, которые в значительной степени неотличимы от микрофлоры верхних дыхательных путей [105].

Таблица 7 – Степень выраженности нарушений ФВД у обследуемых пациентов по данным бронхофонограммы

Тяжесть течения	Степень нарушений			Статистическая достоверность: $\chi^2 = 35,968$, $p < 0,001$, $df = 4$
	Легкая (n = 18)	Умеренная (n = 52)	Выраженная (n = 76)	
Легкая (n = 14)	4 (28,6 %)	8 (57,1 %)	2 (14,3 %)	$\chi^2 = 9,572$, $p = 0,009$, $df = 2$
Средняя (n = 72)	4 (5,6 %)	38 (52,8 %) OR = 4,790 (ДИ 2,278–10,073)	30 (41,7 %)	$\chi^2 = 19,977$, $p < 0,001$, $df = 2$
Тяжелая (n = 60)	10 (16,7 %)	6 (10 %)	44 (73,3 %) OR = 4,461 (ДИ 2,259–9,535)	$\chi^2 = 29,181$, $p < 0,001$, $df = 2$

Примечание: p – уровень статистической значимости между группами по степени нарушения ФВД.

У детей с БЛД из 146 назофарингеальных мазков результат был положительным в 80 (54,8 %) случаях, в 66 (45,2 %) мазках флора не определялась или была условно-патогенной. Выявлены представители как грамположительной, так и грамотрицательной флоры, такие как *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*.

Частота характера выявления бактериальной микрофлоры с учетом тяжести течения БЛД представлена в таблице 8.

При комплексной оценке характера микробиоты с учетом тяжести течения БЛД у детей были получены статистически значимые различия, а именно – у пациентов с тяжелым течением заболевания достоверно чаще были выявлены представители грамотрицательной микрофлоры (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ($\chi^2 = 18,158$, $p < 0,001$, $df = 2$)) (табл. 8).

Таблица 8 – Характер бактериальной микрофлоры дыхательных путей с учетом степени тяжести БЛД

Флора	Тяжесть течения			Статистическая достоверность: $\chi^2 = 20,844$, $p = 0,036$, $df = 4$
	Легкая (n = 14)	Средняя (n = 72)	Тяжелая (n = 60)	
Грамположительная флора (n = 18)	0	12 (62,5 %)	6 (37,5 %)	$\chi^2 = 3,523$, $p = 0,172$, $df = 2$
Грамотрицательная флора (n = 62)	4 (6,5 %)	20 (32,2 %)	38 (61,3 %) OR = 4,462 (ДИ 2,204–9,035)	$\chi^2 = 18,158$, $p < 0,001$, $df = 2$
Отсутствие значимой микрофлоры (n = 66)	10 (15,2 %)	40 (60,6 %) OR = 2,308 (ДИ 1,185–4,493)	16 (24,2 %)	$\chi^2 = 15,325$, $p < 0,001$, $df = 2$

Примечание: p – уровень статистической значимости распределения микрофлоры дыхательных путей по степени тяжести.

Анализируя формирование БОС, развивающегося на фоне инфекционных заболеваний дыхательных путей, выявили статистически значимые различия между группами $\chi^2 = 6,570$, $p = 0,038$, $df = 2$ (табл. 9). У пациентов с тяжелой формой заболевания чаще диагностировали БОС на фоне респираторной инфекции (χ^2 с поправкой Йейтса = 3,576, $p = 0,059$, $df = 1$).

Таблица 9 – Наличие БОС на фоне ОРВИ в зависимости от тяжести течения БЛД

Тяжесть течения	Наличие бронхообструкции на фоне ОРВИ		Статистическая достоверность: $\chi^2 = 6,570$, $p = 0,038$, $df = 2$
	Имеется (n = 114)	Отсутствует (n = 32)	
Легкая (n = 14)	8 (57,1 %)	6 (42,9 %)	$\chi^2 = 2,729$, $p = 0,099$, $df = 1$
Средняя (n = 72)	54 (75 %)	18 (25 %)	$\chi^2 = 0,789$, $p = 0,375$, $df = 1$
Тяжелая (n = 60)	52 (86,7 %)	8 (13,3 %)	χ^2 с поправкой Йейтса = 3,576, $p = 0,059$, $df = 1$

Примечание: p – уровень статистической значимости между группами по наличию БОС на фоне ОРВИ

Общепризнанно, что БОС у детей младшего возраста приводит к повторным госпитализациям с включением в комплекс лечения системных глюкокортикостероидов с последующим назначением ИГКС [5; 31; 43; 90; 91]. В ходе исследования выявлено, что дети с тяжелым течением БЛД чаще нуждаются в длительном применении ИГКС по сравнению с пациентами со

среднетяжелой и легкой формами дисплазии (χ^2 с поправкой Йейтса = 10,596, $p = 0,002$, $df = 1$, OR = 4,250 (ДИ 1,797–10,051)) (табл. 10).

Таблица 10 – Сроки использования ИГКС у детей с БЛД в зависимости от степени тяжести заболевания

Тяжесть течения	Длительность использования ИГКС		Статистическая достоверность: $\chi^2 = 11,931$, $p = 0,003$, $df = 2$
	Длительно ($n = 104$)	Эпизодически ($n = 42$)	
Легкая ($n = 14$)	8 (57,1 %)	6 (42,9 %)	$\chi^2 = 1,500$, $p = 0,221$, $df = 1$
Средняя ($n = 72$)	44 (61,1 %), OR = 0,367 (ДИ 0,173–0,776)	28 (38,9 %)	$\chi^2 = 7,102$, $p = 0,008$, $df = 1$
Тяжелая ($n = 60$)	52 (86,7 %), OR = 4,250 (ДИ 1,797–10,051)	8 (13,3 %)	χ^2 с поправкой Йейтса = 10,596, $p = 0,002$, $df = 1$

Примечание: p – уровень статистической значимости между группами по наличию БОС на фоне ОРВИ

Длительное наблюдение за детьми с диагнозом БЛД свидетельствует о том, что заболевание носит циклический характер, степень выраженности клинических проявлений напрямую зависит от морфологических изменений легких и ассоциированных с ними функциональных нарушений.[5; 43; 91]

Таким образом, согласно проведенному клинико-анамнестическому исследованию, можно утверждать, что основными предикторами тяжести БЛД являются низкий ГВ (менее 29 недель), ЭНМТ при рождении, длительные сроки респираторной поддержки. При этом тяжелое течение заболевания характеризуется рецидивирующим БОС, грамотрицательной микробиотой дыхательных путей, необходимостью в длительных курсах ИГКС, а также выраженными нарушениями ФВД согласно данным бронхофонограммы.

Анализ литературы свидетельствует о том, что у большинства младенцев наблюдается постепенное восстановление дыхательных функций, улучшение состояния с купированием основных клинических симптомов (одышка, дистанционные хрипы и кашель). В то же время пациенты с тяжелой формой БЛД могут нуждаться в длительной дотации кислорода и сохранять признаки дыхательных расстройств. Именно у данной когорты больных высока вероятность трансформации БЛД в хронические формы легочных забо-

леваний, таких как ХБ и ОБ [37; 41; 50; 57; 72; 75; 78; 99; 100].

Согласно определению Классификации клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей (2008) [29], диагноз БЛД устанавливается у детей до 3-летнего возраста. В последующем возможна трансформация заболевания как в хронические заболевания (ХБ, ОБ), так и в форму благоприятных исходов в виде выздоровления или РБ [50; 57; 72; 75]., характеризующихся ростом и морфофункциональным восстановлением легочной ткани. При анализе влияния степени тяжести заболевания на исходы БЛД у детей были выявлены статистически значимые различия. У пациентов с тяжелым течением БЛД достоверно чаще формируются ХЗЛ (OR = 7,556 (ДИ 3,580–15,947)), в то время как у больных со средней степенью тяжести преобладают благоприятные исходы заболевания (OR = 3,529 (ДИ 1,748–7,126)) (табл. 11).

Таблица 11 – Исходы БЛД в зависимости от тяжести течения заболевания

Тяжесть течения	Исходы		Статистическая достоверность: $\chi^2 = 33,935$, $p < 0,001$, $df = 2$
	1 подгруппа (n = 88)	2 подгруппа (n = 58)	
Легкая (n = 14)	14 (100 %)	0	–
Средняя (n = 72)	54 (75 %), OR = 3,529 (ДИ 1,748–7,126)	18 (25 %)	$\chi^2 = 12,865$, $p < 0,001$, $df = 1$
Тяжелая (n = 60)	20 (33,3 %)	40 (66,7 %), OR = 7,556 (ДИ 3,580–15,947)	$\chi^2 = 30,876$, $p < 0,001$, $df = 1$

Примечание: p – уровень статистической значимости между группами по вариантам исхода заболевания.

При анализе влияния ГВ на варианты исходов БЛД было выявлено, что у детей, рожденных в возрасте менее 31 недели, достоверно чаще в анамнезе диагностированы ХЗЛ ($\chi^2 = 8,411$, $p = 0,004$, $df = 1$). Несмотря на небольшую статистическую достоверность в пределах 10 % наблюдается отчетливая тенденция к преобладанию пациентов с выздоровлением в 3-летнем возрасте при сроках гестации более 32 недель (табл. 12).

Согласно полученным данным (табл. 13), достоверных различий между группами детей с благоприятными и неблагоприятными исходами БЛД и массой тела не выявлено.

Таблица 12 – Исходы БЛД в зависимости от ГВ пациентов

Гестационный возраст	Исходы		Статистическая достоверность
	1 подгруппа (n = 88)	2 подгруппа (n = 58)	
35–37 недель (n = 12)	10 (83,3 %)	2 (16,7 %)	$\chi^2 = 2,903, p = 0,089, df = 1$
32–34 недель (n = 52)	36 (69,2 %)	16 (30,8 %)	$\chi^2 = 2,706, p = 0,100, df = 1$
29–31 недель (n = 50)	22 (44,0 %)	28 (56,0 %)	$\chi^2 = 8,411, p = 0,004, f = 1$
28 недель и менее (n = 32)	20 (62,5 %)	12 (37,5 %)	$\chi^2 = 0,085, p = 0,771 df = 1$

Примечание: p – уровень статистической значимости между подгруппами по срокам гестации

Таблица 13 – Исходы БЛД в зависимости от массы тела при рождении пациентов

Масса при рождении, г	Исходы		U-критерий Манна-Уитни
	1 подгруппа (n = 88)	2 подгруппа (n = 58)	
2 001–2 500 (n = 16)	2 318 ± 148,4	2 258,3 ± 111,6	$U_{эмп.} = 22, p > 0,05$
1 500–2 000 (n = 48)	1 700 ± 134,6	1 736 ± 145,4	$U_{эмп.} = 262,5, p > 0,05$
1 001–1 500 (n = 52)	1 334 ± 87,8	1 277 ± 151,8	$U_{эмп.} = 269,5, p > 0,05$
1 000 и меньше (n = 30)	852,5 ± 97,2	813 ± 124	$U_{эмп.} = 128,0, p > 0,05$

Примечание: p – уровень статистической значимости между подгруппами по массе тела.

По гендерному признаку больные основной когорты распределились следующим образом: 58 (59,2 %) мальчиков и 30 (62,5 %) девочек в первой группе пациентов; 40 (40,8 %) мальчиков и 18 (37,5 %) девочек – во второй. Статистически значимых различий между группами с благоприятным (выздоровление или РБ) и неблагоприятным исходом заболевания (ХБ, ОБ) выявлено не было (табл. 14).

Таблица 14 – Распределение детей в группах исхода по полу

Пол пациентов	Исходы		Статистическая достоверность: $\chi^2 = 0,148,$ $p = 0,701,$ $df = 1$
	1 подгруппа (n = 88)	2 подгруппа (n = 58)	
Мальчики (n = 98)	58 (59,2 %)	40 (40,8 %)	
Девочки (n = 48)	30 (62,5 %)	18 (37,5 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между подгруппами по полу

При анализе статистических данных установлено, что исход определяется длительностью проводимой оксигенотерапии. Выявлено, что дети,

сформировавшие в дальнейшем ХЗЛ, получали достоверно более длительно кислородную поддержку даже в пределах идентичных временных групп (до 3 недель и более месяца) ($p < 0,05$) (табл. 15).

Таблица 15 – Варианты исхода в зависимости от длительности ИВЛ

Длительность ИВЛ	Исходы		U-критерий Манна-Уитни
	1 подгруппа (n = 88)	2 подгруппа (n = 58)	
До 7 дней (n = 76)	4,9 ± 1,9	4,75 ± 1,2	U = 568,5, p > 0,05
8-14 дней (n = 24)	11,7 ± 1,5	12,8 ± 0,7	U = 45, p > 0,05
15-21 дней (n = 18)	15,7 ± 0,75	19,5 ± 1,2	U = 1, p < 0,05
Больше 30 дней (n = 28)	49,8 ± 11,8	80,4 ± 11,8	U = 12,5, p ≤ 0,05

Примечание: p – уровень статистической значимости между подгруппами по длительности ИВЛ.

Одновременно с анализом длительности была проведена оценка параметров респираторной терапии. При анализе данных выявлено, что 34 (58,6 %) ребенка второй подгруппы вентилировались с применением «жестких» параметров ($FiO_2 \geq 0,45$; $PiP \geq 26$ см вод.ст.), тогда как 24 (41,4 %) пациента находились на ИВЛ «средних» режимов ($FiO_2 0,35-0,45$; $PiP 22-26$ см вод.ст.).

В первой подгруппе только 18 (20,5 %) новорожденных находились на ИВЛ со «средними» параметрами, у остальных вентиляционные режимы определялись как «мягкие» ($FiO_2 \geq 0,35$, $PiP \geq 22$ см вод.ст.) (табл. 16).

Таблица 16 – Варианты исхода в зависимости от параметров респираторной поддержки

Параметры	1 подгруппа (n = 88)	2 подгруппа (n = 58)	Статистическая достоверность: $\chi^2 = 103,043$, p < 0,001, df = 2
$FiO_2 \geq 0,35$, $PiP \geq 22$ см вод.ст. (n = 70)	70 (79,5 %)	0	F = 0,00000, p < 0,05, df = 1
$FiO_2 0,35-0,45$; $PiP 22-26$ см вод.ст. (n = 42)	18 (20,5 %)	24 (41,4 %)	$\chi^2 = 7,470$, p = 0,007, df = 1
$FiO_2 \geq 0,45$; $PiP \geq 26$ см вод.ст. (n = 34)	0	34 (58,6 %)	F = 0,00000, p < 0,05, df = 1

Примечание: p – уровень статистической значимости между подгруппами по параметрам ИВЛ

Можно заключить, что применение сразу после рождения ребенка вентиляционной поддержки с «жесткими» параметрами является одним из предрасполагающих факторов формирования ХЗЛ в последующем ($\chi^2 = 67,246$, $p < 0,001$, $df = 1$).

Коморбидная патология пациентов основной когорты была представлена врожденными пороками сердца, поражениями ЦНС гипоксическим ишемическим генеза, оппортунистическими инфекциями, такими как цитомегаловирусная инфекция и вирус Эпштейна-Барр. (табл. 17).

Врожденные пороки сердца в данном исследовании были представлены гемодинамически значимым функционирующим артериальным протоком, дефектом межжелудочковой и межпредсердной перегородок, клапанным и надклапанным стенозом митрального и аортального клапанов, гипоплазией дуги аорты, транспозицией магистральных сосудов. При оценке частоты встречаемости пороков сердца и поражений ЦНС достоверных различий между группами не выявлено. (табл. 17).

Таблица 17 – Влияние сопутствующей патологии на исход заболевания

Сопутствующая патология	Исходы		Статистическая достоверность: $\chi^2 = 13,342$, $p < 0,05$, $df = 6$
	1 подгруппа (n = 88)	2 подгруппа (n = 58)	
Врожденные пороки сердца (n = 34)	16 (47,1 %)	18 (52,9 %)	$\chi^2 = 3,233$, $p = 0,073$, $df = 1$
Поражения ЦНС (n = 48)	32 (66,7 %)	16 (33,2 %)	$\chi^2 = 1,220$, $p = 0,270$, $df = 1$
Оппортунистические инфекции (n = 8)	4 (50 %)	4 (50 %)	$\chi^2 = 0,373$, $p = 0,71305$, $df = 1$
Врожденные пневмонии (n = 6)	4 (66,7 %)	2 (33,3 %)	$\chi^2 = 2,421$, $p = 0,120$, $df = 1$
Анемия (n = 46)	32 (69,6 %)	14 (30,4 %)	$\chi^2 = 2,336$, $p = 0,311$, $df = 1$

Примечание: p – уровень статистической значимости между подгруппами в зависимости от сопутствующей патологии

Дети с БЛД часто подвержены инфицированию респираторными вирусами. Инфекции дыхательных путей могут приводить к быстрому развитию ДН. У большинства пациентов с БЛД БОС характеризуется персистирующим течением [55; 89; 92; 97; 146; 147].

Согласно результатам исследования, дети с ХЗЛ достоверно чаще заболевали ОРВИ – более 8 раз году, что соответствует показателю часто болеющего ребенка в возрасте до 3 лет, чем больные из первой группы. У пациентов первой группы ранний старт заболеваний назофарингеальной зоны вирусной этиологии до года наблюдался достоверно реже, чем у детей с хроническими бронхолегочными заболеваниями легких в анамнезе (табл. 18, 19).

Таблица 18 – Влияние частоты респираторно-вирусной инфекции на исходы БЛД

Исходы	Кратность ОРВИ за 1 год		Статистическая достоверность: $\chi^2 = 5,655, p = 0,018, df = 1$
	Частые (n = 78)	Редкие (n = 68)	
1 подгруппа (n = 88)	40 (45,5 %)	48 (54,5 %)	$\chi^2 = 5,655, p = 0,018, df = 1$
2 подгруппа (n = 58)	38 (65,5 %), OR = 2,280 (ДИ 1,149–4,523)	20 (34,5 %)	$\chi^2 = 5,655, p = 0,018, df = 1$

Примечание: p – уровень статистической значимости между подгруппами по частоте ОРВИ.

Таблица 19 – Исходы БЛД в зависимости от наличия эпизодов ОРВИ до года жизни

Исходы	ОРВИ до года		Статистическая достоверность: $\chi^2 = 14,067, p < 0,001, df = 1$
	Отмечены (n = 106)	Не отмечены (n = 40)	
1 подгруппа (n = 88)	54 (61,4 %)	34 (38,6 %)	$\chi^2 = 12,681, p < 0,001, df = 1,$
2 подгруппа (n = 58)	52 (89,7 %)	6 (10,3 %)	$\chi^2 = 12,681, p < 0,001, df = 1,$ OR = 5,457 (ДИ 2,115–14,078)

Примечание: p – уровень статистической значимости между подгруппами по наличию ОРВИ до года.

Известно, что данные, полученные при проведении КТ легких, представляют подробную информацию о структурно-морфологических изменениях легочной ткани, бронхов, медиастинальных лимфатических узлов и аорты. При этом существует возможность оценки не только локализации процесса, но и степени повреждения.

КТ легких у пациентов в возрасте 3 лет на момент снятия диагноза БЛД свидетельствует о том, что у детей с тяжелым и среднетяжелым течением за-

болевания изменения в виде эмфиземы, булл, ателектазов, локального и распространенного пневмофиброза встречаются достоверно чаще, чем у больных с легкой формой ($\chi^2 = 19,752$, $p < 0,01$, $df = 5$). У 4 (28,6 %) детей с легким течением заболевания при исследовании выявляли только локальный пневмофиброз (табл. 20).

Таблица 20 – Изменения на КТ в зависимости от степени тяжести

Показатели мультиспиральной КТ	Тяжесть течения		
	Легкая (n = 14)	Средняя (n = 74)	Тяжелая (n = 72)
Без патологии (n = 16)	10 (71,4 %)	6 (8,1 %)	0
Эмфизема (n = 14)	0	10 (13,5 %)	4 (5,6 %)
Буллы (n = 18)	0	10 (13,5 %)	8 (11,1 %)
Локальный пневмофиброз (n = 84)	4 (28,6 %)	44 (59,5 %)	36 (50 %)
Распространенный пневмофиброз (n = 14)	0	0	14 (19,4 %)
Ателектаз (n = 14)	0	4 (5,4 %)	10 (13,9 %)
Статистическая достоверность: $\chi^2 = 52,999$, $p < 0,01$, $df = 10$	$\chi^2 = 27,917$, $p < 0,01$, $df = 5$	$\chi^2 = 19,752$, $p < 0,01$, $f = 5$	$\chi^2 = 37,277$, $p < 0,01$, $df = 5$

Примечание: p – уровень статистической значимости между группами по степени тяжести.

Таким образом, основными клиническими предикторами ХЗЛ у детей являются: тяжелое и среднетяжелое течение заболевания, низкий ГВ (до 31 недели), «жесткие режимы» и длительность респираторной поддержки, ранний старт (до года) и высокая частота ОРВИ.

Однако, несмотря на выявленные закономерности формирования степени тяжести и исходов заболевания, у ряда недоношенных детей, учитывая идентичные условия выхаживания, режимы вентиляционной поддержки, диагностировали различные варианты тяжести течения и исходов БЛД, что побудило к дальнейшему изучению патогенетических механизмов в фокусе фенотип-ассоциированных полиморфизмов кандидатных генов.

ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ - 9
И КАЛЬЦИДИОЛА НА ТЕЧЕНИЕ И
ИСХОДЫ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ У ДЕТЕЙ

В соответствии с поставленными задачами исследования был изучен уровень ММР-9, который определен у всех обследуемых пациентов на этапе пересмотра диагноза в период обострения и при его стихании в зависимости от степени тяжести и исхода заболевания (табл. 21–23).

Статистически значимых различий в содержании ММР-9 у детей старше 3 лет и пациентов контрольной группы не выявлено, несмотря на обнаруженную тенденцию к увеличению средних показателей по мере нарастания степени тяжести, что, вероятно, связано с регрессом клинико-рентгенологических проявлений, а также с увеличением объема здоровой легочной ткани по мере роста ребенка (табл. 21).

Таблица 21 – Уровень ММР-9 в зависимости от степени тяжести БЛД

Группа контроля (n = 93)	Степень тяжести			t-критерий Стьюдента, p
	1.Легкая (n = 14)	2.Средняя (n = 72)	3.Тяжелая (n = 60)	
506,43 ± 22,2 нг/мл	510,61 ± 34,6 нг/мл	578,43 ± 36,87 нг/мл	588,48 ± 38,90 нг/мл	1–2: t = 1,34, p = 0,183478, 1–3: t = 1,49, p = 0,139404, 2–3: t = 0,19, p = 0,852284
	t-критерий Стьюдента с группой контроля			
	t = 0,10, p = 0,919207	t = 1,67, p = 0,096266	t = 1,83, p = 0,069114	

В то же время в период обострения наблюдается достоверное увеличение уровня ММР-9 в сыворотке крови, что свидетельствует об активации воспаления с привлечением основных клеток продуцентов, а именно – моноцитов, лейкоцитов, макрофагов, с последующим ремоделированием и репарацией легочной ткани, а также мобилизацией матрикс-связанных факторов роста и процессинга цитокинов (табл. 22).

Таблица 22 – Показатели ММР-9 с учетом фазы заболевания

Группа контроля (n = 93)	Фаза		t-критерий Стьюдента, p
	1.Обострение (n = 104)	2.Ремиссия (n = 42)	
506,43 ± 22,2 нг/мл	589,65 ± 31,90 нг/мл	508,43 ± 24,1 нг/мл	1–2: t = 2,00, p = 0,047291
	t-критерий Стьюдента с группой контроля		
	t = 2,14, p = 0,033499	t = 0,06, p = 0,9551421	

В ходе работы был проведен анализ показателей содержания в сыворотке крови ММР-9 и вариантами исходами БЛД. Данные таблицы 23 не выявили достоверного различия показателей в обеих группах пациентов с БЛД старше 3-летнего возраста относительно друг друга и группы контроля. В то же время прослеживается тенденция к пограничным максимальным значениям фермента в группе формирования хронических заболеваний.

Таблица 23 – Показатели ММР-9 у пациентов с БЛД в зависимости от исхода заболевания

Группа контроля (n = 93)	Исходы		t-критерий Стьюдента, p
	1.1 подгруппа (n = 88)	2.2 подгруппа (n = 58)	
506,43 ± 22,2 нг/мл	505,45 ± 31,5 нг/мл	578,43 ± 34,77 нг/мл	1–2: t = 1,56, p = 0,122034
	t-критерий Стьюдента с группой контроля		
	t = 0,03, p = 0,979740	t = 1,75, p = 0,083002	

Результаты данного исследования совпадают с рядом ранее проведенных работ. Так, согласно трудам М.А. Басаргиной с коллективом соавторов [9], наблюдалось достоверное снижение показателей желатиназы В как в сыворотке крови, так и в бронхоальвеолярном лаваже у детей с БЛД по мере взросления с достоверным снижением до референтных значений к 1,5–2 годам жизни. При этом тенденция к снижению показателей более выражена у детей, получающих препараты сурфактанта при рождении. В данном исследовании все пациенты в раннем неонатальном периоде получили однократно или двукратно Poractant alfa, что, видимо, явилось одной из причин снижения воспалительной реакции и достижения показателей, сопоставимых с группой контроля к 3-летнему возрасту в обеих группах [9].

Вероятно, у детей с благоприятными исходами БЛД нормализация

уровня ММР-9 по мере взросления связана с завершением процессов фиброобразования на фоне увеличения объема нормально-функционирующей легочной ткани [1; 9]. Возможно, у детей с ХЗЛ процессы реорганизации тканей к 3-летнему возрасту частично завершены, следовательно, к моменту пересмотра диагноза наблюдается уверенная тенденция к снижению показателей ММР в сыворотке крови до пограничных референтных значений. В то же время это может быть и прогностически неблагоприятным фактором, а именно – предиктором резистентности к проводимой терапии, в том числе глюкокортикостероидами, что прослеживается у больных бронхиальной астмой с низкими значениями данного фермента [45]. Однако подобные суждения требуют дальнейших исследований с динамическим мониторингом клинической картины и функциональных показателей у таких больных.

Таким образом, согласно проведенному исследованию, к моменту пересмотра диагноза у детей с новой формой БЛД наблюдаются референтные сывороточные значения ММР-9, что может быть связано с завершением процессов фиброобразования легочной ткани, с одной стороны, и благоприятным влиянием введения сурфактанта в неонатальном периоде, с другой. В то же время определены показатели желатиназы-В в зависимости от степени тяжести заболевания, периода заболевания и исходов, что в совокупности с клинической картиной позволяет интерпретировать ее в качестве дополнительного диагностического маркера воспаления. Дальнейшие исследования могут быть перспективными в указанном направлении благодаря расширению представлений об особенностях функционирования и регуляции этих веществ. Они расширят представления о механизмах трансформации БЛД в иные нозологические формы, а также позволят разработать и внедрить в практику новые патогенетически обоснованные методы терапии.

Одним из перспективных кандидатов в регулировании процессов воспаления при хронических заболеваниях респираторного тракта является витамин D₃ за счет мультифакториального влияния на систему воспаления. Согласно дизайну исследования, были проанализированы ассоциации VD-

статуса в контексте степени тяжести, вариантов исходов, частоты ОРВИ у детей с БЛД на этапе пересмотра диагноза, а также конкретизированы значения VD в сыворотке крови у недоношенных детей Астраханской области, не сформировавших БЛД, для сравнительной характеристики с основной когортой. Руководствуясь национальной программой «Недостаточность витамина D у детей и подростков РФ» (2018), дефицит VD определяли как концентрацию 25(OH)D в сыворотке крови < 20 нг/мл, недостаточность – от 20 до 30 нг/мл, адекватные уровни – 30–100 нг/мл [44].

Согласно полученным результатам (табл. 24), в основной когорте пациентов статистически значимо чаще определялась недостаточность VD (χ^2 с поправкой Йейтса = 6,422, df = 1, p = 0,012, OR–3,143 (ДИ 1,351–7,313), тогда как в контрольной – определены референтные значения.

Только у 54,9 % детей контрольной группы были выявлены референтные значения VD, в остальных случаях отмечалось снижение уровня кальцидиола различной степени, а именно – дефицит (27,5 %) и недостаточность (17,6 %) витамина D. Данные исследования отображают крайне неблагоприятную эпидемиологическую ситуацию гиповитаминоза D у детей в Астраханской области как части глобальной медико-социальной проблемы D-дефицита в стране и мире

Таблица 24 – Сравнительная характеристика контрольной и основной групп по уровню кальцидиола в сыворотке крови

Уровень витамина D3 в сыворотке крови	Группа контроля (n = 51)	Основная группа (n = 82)	Статистическая значимость
Дефицит < 20 нг/мл	14 (27,5 %)	27 (32,9 %)	$\chi^2 = 0,442$ p = 0,507 df = 1
Недостаточность 21–29 нг/мл	9 (17,6 %)	33 (40,2 %), OR–3,143 (ДИ 1,351–7,313)	χ^2 с поправкой Йейтса = 6,422, p = 0,012 df = 1
Референтные значения > 30 нг/мл	28 (54,9 %), OR–3,320 (ДИ 1,589–6,937)	22 (26,8 %)	$\chi^2 = 10,562$, p = 0,002, df = 1

Примечание: p – уровень статистической значимости по сравнению с группой контроля

Согласно результатам статистического анализа, дефицит VD

ассоциирован с вариантом тяжести течения заболевания. А именно – у детей с дефицитными значениями статистически значимо регистрировалась тяжелая форма БЛД ($\chi^2 = 21,500$, $df = 1$, $p < 0,001$, OR–11,733, ДИ 3,760–36,615), в то время как при референтных значениях и уровне соответствующим недостаточности – среднетяжелое течение БЛД ($\chi^2 = 17,379$ $df = 1$, $p < 0,001$) (табл. 25).

Таблица 25 – Сравнительная характеристика обследуемых пациентов по тяжести течения и VD-статусу

Уровень витамина D3 в сыворотке крови	Степень тяжести			Статистическая значимость
	Легкая (n = 8)	Средняя (n = 37)	Тяжелая (n = 37)	
Дефицит < 20 нг/мл (n = 27)	1 (3,7 %)	4 (14,8 %)	22 (81,5 %), OR–11,733 (ДИ 3,760–36,615)	$\chi^2 = 21,500$, $p < 0,001$, $df = 2$
Недостаточность 20–30 нг/мл (n = 33)	2 (6,1 %)	18 (54,5 %)	13 (39,4 %)	$\chi^2 = 2,261$, $p = 0,323$, $df = 2$
Референтные значения > 30 нг/мл (n = 22)	5 (22,7 %)	15 (68,2 %) OR–3,701 (ДИ 1,309–10,467)	2 (9,1 %)	$\chi^2 = 17,379$, $p < 0,001$, $df = 2$

Примечание: p – уровень статистической значимости между группами

Как известно, респираторные вирусы являются самыми частыми триггерами развития обострения БЛД у данной когорты больных. В зависимости от кратности эпизодов ОРВИ в год дифференцировали на частые (более 8 раз) и редкие (до 5 эпизодов респираторных инфекций в течение календарного года). При сравнительном анализе частоты респираторных инфекций у детей с БЛД было выявлено, что при дефиците VD статистически значимо регистрировались частые эпизоды более 8 раз в год (χ^2 с поправкой Йейтса = 4,821, $df = 1$, $p = 0,029$; OR–3,304, ДИ 1,234–8,845), в то время как при референтных значениях – не более 5 раз (χ^2 с поправкой Йейтса = 8,273, $df = 1$, $p = 0,005$, OR–5,470, ДИ 1,776–16,844) (табл. 26).

Результаты данной работы подтверждают мнение многих исследователей о непосредственном участии активных метаболитов VD в регулировании процессов воспаления. 1,25(OH)2D имеет рецепторы в

нескольких типах клеток легких и способствует снижению интенсивности воспалительной реакции. VD участвует в пролиферации и дифференцировке клеток крови и иммунокомпетентных клеток, регулирует иммуногенез и реакции иммунитета, апоптоз, активизирует выработку эндогенных антимикробных пептидов в эпителии и фагоцитах, ограничивает воспалительные процессы путем регуляции выработки цитокинов, модулирует врожденную иммунную систему и адаптивный иммунный ответ. Указанные свойства контролируют хроническое воспаление в легочной ткани, что способствует моделирующему влиянию на степень тяжести БЛД [44; 101; 169].

Таблица 26 – Частота эпизодов ОРВИ в зависимости от уровня сывороточного кальцидиола у детей с БЛД

Уровень витамина D3 в сыворотке крови	Частота эпизодов ОРВИ		Статистическая значимость
	Часто (n = 42)	Редко (n = 40)	
Дефицит < 20 нг/мл (n = 27)	19 (70,3 %), OR–3,304 (ДИ 1,234–8,845)	8 (29,6 %)	χ^2 с поправкой Йейтса = 4,821, p = 0,029, df = 1
Недостаточность 20–30 нг/мл (n = 33)	18 (54,5 %)	15 (41,5 %)	$\chi^2 = 0,245$, p = 0,621, df = 1
Референтные значения > 30 нг/мл (n = 22)	5 (23,7 %)	17 (77,3%), OR–5,470 (ДИ 1,776–16,844)	χ^2 с поправкой Йейтса = 8,273, p = 0,005, df = 1,

Примечание: p – уровень статистической значимости между группами

Согласно результатам статистического анализа, дефицит VD ассоциирован с развитием хронических заболеваний легких у детей с БЛД в качестве исходов ($\chi^2 = 23,036$, df = 1, p < 0,001, OR–14,000, ДИ 4,557–43,010), в то время как при референтных значениях статистически значимо регистрируются варианты исходов в виде выздоровления или РБ (F= 0,00007, p < 0,001, df = 1, OR–22,447, ДИ 2,835–177,728) (табл. 27).

Проведенный анализ позволяет утверждать, что изменение показателей сывороточного кальцидиола оказывает модифицирующее влияние на исходы БЛД и особенности ее течения.

Таблица 27 – Варианты исходов БЛД в зависимости от уровня сывороточного кальцидиола

Уровень витамина D3 в сыворотке крови	Исходы		Статистическая значимость
	1-я подгруппа (n = 50)	2-я подгруппа (n = 32)	
Дефицит < 20 нг/мл (n = 27)	6 (22,2 %)	21 (77,8%), OR=14,000 (ДИ 4,557–43,010)	$\chi^2 = 23,036$ $p < 0,001$, df = 1
Недостаточность 21–29 нг/мл (n = 33)	23 (69,7 %)	10 (30,3 %)	$\chi^2 = 1,765$ $p = 0,184$, df = 1
Референтные значения > 30 нг/мл (n = 22)	21 (95,5 %), OR=22,448 (ДИ 2,835–177,728)	1 (4,5 %)	F= 0,00007, $p < 0,001$, df = 1

Примечание: p – уровень статистической значимости между подгруппами

В ходе работы было определено, что концентрация сывороточного кальцидиола способна влиять на фенотипические характеристики БЛД, вероятно, за счет геномных и негеномных механизмов регуляции хронического воспаления. Выявлена корреляция между VD-статусом, тяжестью течения, кратностью респираторных инфекций и вариантами исходов заболевания.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о необходимости назначения и мониторинга сывороточного уровня VD у детей с БЛД с динамической коррекцией дозы до достижения референтных показателей для улучшения прогноза и качества жизни данной категории больных.

ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ НА ТЕЧЕНИЕ И ИСХОДЫ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ У ДЕТЕЙ

5.1. Влияние полиморфизма rs3918242 гена матриксной металлопротеиназы - 9 на течение и исходы bronхолегочной дисплазии у детей

Для реализации поставленной цели были проанализированы ассоциации клинических проявлений БЛД с полиморфными вариантами rs3918242 гена MMP-9. Кроме того, изучена частота данного полиморфизма в выборках основной и контрольной групп.

В ходе исследования выявлено, что у пациентов в контрольной группе генотип С/С полиморфизма rs3918242 гена MMP-9 определен в 68,8 % случаев. Данный генотип у детей с БЛД зафиксирован у 84 (79,2 %) обследованных. У детей без БЛД частота встречаемости генотипа С/Т составила 28,0 %, в то время как в группе пациентов с БЛД данный генотип встречался в 15,1 % случаев. Генотип Т/Т гена MMP-9 обнаружен лишь у 6 (5,7 %) пациентов основной группы, в то время как в контрольной встречался у 3 (3,2 %) обследуемых.

Таким образом, в ходе исследования достоверных различий по частоте встречаемости частот аллелей С и Т и генотипов С/С, С/Т и Т/Т по полиморфизму rs3918242 гена MMP-9 в контрольной группе и у пациентов с БЛД не выявлено ($\chi^2 = 5,257$, $p = 0,073$, $df = 2$) (рис. 3).

При оценке распределения аллелей и генотипов в зависимости от степени тяжести заболевания статистически значимые различия также не получены ($\chi^2 = 3,89$, $p = 0,421$, $df = 4$) (табл. 28).

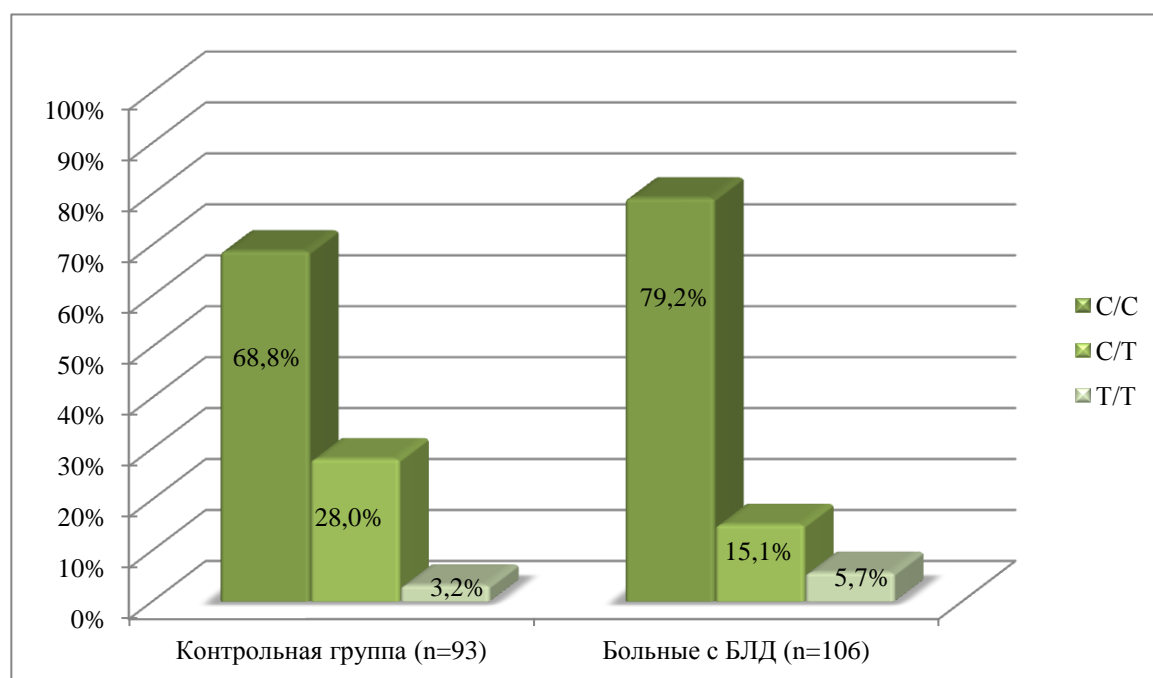


Рисунок 3 – Распределение генотипов полиморфизма rs3918242 гена MMP-9 в основной и контрольной группах

Таблица 28 – Распределение аллелей и генотипов полиморфизма rs3918242 гена MMP-9 в зависимости от степени тяжести БЛД

Генотипы MMP-9	Степень тяжести БЛД			Статистическая достоверность: $\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 3,893$, $p = 0,421$, $df = 4$
	Легкая (n = 8)	Средняя (n = 44)	Тяжелая (n = 54)	
C/C	8 (9,5 %)	34 (40,4 %)	42 (50,1 %)	$\chi^2 = 2,266$, $p = 0,323$, $df = 2$
C/T	0	6 (37,5 %)	10 (62,5 %)	$\chi^2 = 1,707$, $p = 0,426$, $df = 2$
T/T	0	4 (66,6 %)	2 (33,4 %)	$\chi^2 = 1,630$, $p = 0,443$, $df = 2$
Аллели	n = 8	n = 50	n = 64	χ^2, p
C	8 (8,0 %)	40 (40,0 %)	52 (52,0 %)	$\chi^2 = 1,913$, $p = 0,385$, $df = 2$
T	0	10 (45,5 %)	12 (54,5 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа по степени тяжести

Анализ статистических данных показал гендерные различия по распределению генотипов по полиморфизму rs3918242 гена MMP-9: генотип C/C является протективным у мальчиков в основной группе больных ($F = 0,03199$, $p = 0,025$, $df = 1$, $OR = 0,200$ (ДИ 0,044–0,917) (табл. 29). В данном исследовании генотип C/T идентифицирован исключительно у мальчиков с БЛД, в то время как у девочек не обнаружен.

Таблица 29 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs3918242 гена MMP-9 у детей с БЛД в зависимости от пола

Генотипы MMP-9	Пол пациентов		Статистическая достоверность: $\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 7,439, p = 0,025, df = 2$
	Мальчики (n = 76)	Девочки (n = 30)	
C/C	56 (66,6 %), OR = 0,200 (ДИ 0,044–1,117)	28 (33,4 %)	F = 0,03199, p = 0,025, df = 1
C/T	16 (100 %)	0	–
T/T	4 (66,6 %)	2(33,4 %)	F = 1,00000, p = 0,779, df = 1
Аллели	(n = 92)	(n = 30)	χ^2, p
C	72 (72,0 %)	28 (28,0 %)	F = 0,09844, p = 0,063, df = 1
T	20 (90,9 %)	2 (9,1 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генатипа по полу.

Статистический анализ показал, что генотип C/C полиморфизма гена MMP-9 является предрасполагающим для краткосрочной ИВЛ ($\chi^2 = 7,185, p = 0,008, df = 1, OR = 5,000$ (ДИ 1,574–15,880), в то же время данный генотип является протективным по отношению к длительным срокам ИВЛ (более 1 месяца) ($OR = 0,510$ (ДИ 0,104– 0,768)) (табл. 30).

Таблица 30 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs3918242 гена MMP-9 в зависимости от длительности ИВЛ

Генотипы	Длительность ИВЛ			
	До 1 недели (n = 46)	До 2 недель (n = 20)	До 3 не- дель (n = 14)	Больше 1 месяца (n = 26)
C/C	42 (50,0 %)	14 (16,6 %)	12 (14,4 %)	16 (19,0 %)
C/T и T/T	4 (18,1 %)	6 (27,2 %)	2 (9,0 %)	10 (45,7 %)
Статистическая достоверность: $\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 10,419,$ p = 0,016, df = 3	$\chi^2 = 7,185,$ p = 0,008, df = 1, OR = 5,000 (ДИ 1,574–15,880)	$\chi^2 = 1,281,$ p = 0,258, df = 1	$\chi^2 = 0,410,$ p = 0,522, df = 1	$\chi^2 = 6,567,$ p = 0,011, df = 1, OR = 0,510 (ДИ 0,104–0,768)
Аллели	n = 50	n = 26	n = 14	n = 36
C	46 (46,0 %)	20 (20,0 %)	12 (12,0 %)	26 (26,0 %)
T	4 (18,1 %)	6 (27,3 %)	2 (9,0 %)	10 (45,6 %)
Статистическая достоверность	$\chi^2 = 6,431, p = 0,093, df = 3$			

Примечание: p – уровень статистической значимости между длительностью ИВЛ по генотипам.

Изучение влияния полиморфизма rs3918242 гена MMP-9 на исходы

БЛД у детей, а именно – частоту выздоровления или формирование хронического бронхолегочного процесса, не выявило статистически значимых различий между генотипами С/С, С/Т, Т/Т ($\chi^2 = 1,820$, $p = 0,403$, $df = 2$), а также между аллелями С и Т ($\chi^2 = 0,835$, $p = 0,356$, $df = 1$) (табл. 31).

При поиске ассоциации полиморфных замен в гене ММР-9 с вариантами изменений легочной ткани по данным КТ легких достоверных различий выявлено не было ($\chi^2 = 17,169$, $p > 0,05$, $df = 10$) (табл. 32).

Таблица 31 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs3918242 гена ММР-9 в зависимости от исходов БЛД

Генотипы ММР-9	Исходы		Статистическая достоверность: $\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 1,820$, $p = 0,403$, $df = 2$
	1 подгруппа (n = 54)	2 подгруппа (n = 52)	
С/С	40 (45,5 %)	44 (54,5 %)	$\chi^2 = 1,820$, $p = 0,403$, $df = 2$
С/Т	10 (62,5 %)	6 (37,5 %)	
Т/Т	4 (66,6 %)	2 (33,4 %)	
Аллели	n = 64	n = 58	χ^2, p
С	50 (50,0 %)	50 (50,0 %)	$\chi^2 = 0,853$, $p = 0,356$, $df = 1$
Т	14 (63,6 %)	8 (36,8 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа по исходам

Таблица 32 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs3918242 гена ММР-9 в зависимости характера морфологических изменений по данным КТ легких

Генотипы	Без патологий (n = 2)	Эмфизема (n = 10)	Буллы (n = 16)	Локальный пневмофиброз (n = 62)	Распространенный пневмофиброз (n = 14)	Ателектаз (n = 14)	Статистическая достоверность: $\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 17,169$, $p > 0,05$, $df = 10$
С/С	2 (2,2 %)	10 (11,1 %)	10 (11,1 %)	44 (71 %)	12 (13,3 %)	12 (13,3 %)	$\chi^2 = 17,169$, $p > 0,05$, $df = 10$
С/Т	0	0	4 (20,0 %)	16 (80,0 %)	0	0	
Т/Т	0	0	2 (25,0 %)	2 (25,0 %)	2 (25,0 %)	2 (25,0 %)	
Аллели	(n = 2)	(n = 10)	(n = 20)	(n = 78)	(n = 14)	(n = 14)	$\chi^2 = 5,219$, $p > 0,05$, $df = 5$
С	2 (2,0 %)	10 (10,0 %)	14 (14,0 %)	60 (60,0 %)	12 (12,0 %)	12 (12,0 %)	
Т	0	0	6 (21,4 %)	18 (64,2 %)	2 (7,2 %)	2 (7,2 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа по изменениям на КТ.

Повышение ММР-9 в сыворотке крови следует рассматривать как маркер неврологических нарушений, в частности гипоксически-ишемического поражения. ММР-9 способна действовать на ангиогенез, нарушать проницаемость гематоэнцефалического барьера и обеспечивать нейтрофильную инфильтрацию ЦНС. Поэтому варианты полиморфизмов генов ММР-9, модулирующие экспрессию металлопероксидазы, могут быть ассоциированы с перинатальным поражением у недоношенных детей [9; 35; 56]. В данном исследовании статистически значимых ассоциаций генотипов и аллелей с частотой поражения ЦНС у детей с БЛД не выявлено ($\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 6,187, p = 0,056, df = 2$) (табл. 33).

Таблица 33 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs3918242 гена ММР-9 в зависимости от частоты коморбидной патологии со стороны ЦНС

Генотипы	Имеется (n = 32)	Отсутствует (n = 74)	Статистическая достоверность: $\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 6,187, p = 0,056, df = 2$
C/C	26 (30,1 %)	58 (69,9 %)	$\chi^2 = 6,187,$ $p = 0,056, df = 2$
C/T	2 (12,5 %)	14 (87,5 %)	
T/T	4 (66,6 %)	2 (33,4 %)	
Аллели	n = 34	n = 94	$\chi^2 = 0,033,$ $p = 0,856, df = 1$
C	28 (26,4 %)	78 (73,6 %)	
T	6 (17,6 %)	16 (82,4 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа по поражению ЦНС.

Согласно полученным статистическим данным, ассоциаций между полиморфизмом гена ММР-9 и частотой ОРВИ, а также наличием первых эпизодов ОРВИ до года не выявлено ($\chi^2 = 0,092, p = 0,955, df = 2$) (табл. 34–35).

Данные таблицы 36 демонстрируют, что генотип C/C полиморфизма ММР-9 является предрасполагающим генотипом к развитию БОС у детей на фоне респираторной инфекции ($\chi^2 = 16,133, p < 0,001, df = 1, OR = 7,200$ (ДИ 2,550–20,333)), а совместное воздействие генотипов C/T и T/T становится протективным по этому признаку (χ^2 с поправкой Йейтса = 6,318, $p = 0,012, OR = 0,216$ (ДИ 0,071–0,662), $df = 1$).

Таблица 34 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs3918242 гена ММР-9 в зависимости от частоты ОРВИ

Генотипы	Частые респираторные инфекции (n = 64)	Редкие респираторные инфекции (n = 42)	Статистическая достоверность: $\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 0,092,$ $p = 0,955, df = 2$
C/C	50 (59,5 %)	34 (40,5 %)	$\chi^2 = 0,092,$ $p = 0,955, df = 2$
C/T	10 (62,5 %)	6 (37,5 %)	
T/T	4 (66,6 %)	2 (33,4 %)	
Аллели	n = 74	n = 48	χ^2, p
C	60 (60,0 %)	40 (40,0 %)	$\chi^2 = 0,006,$ $p = 0,941, df = 1$
T	14 (63,6 %)	8 (36,4 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генатипа по частоте ОРВИ.

Таблица 35 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs3918242 гена ММР-9 в зависимости от наличия эпизодов ОРВИ до года

Генотипы	ОРВИ до года		Статистическая достоверность: $\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 4,159, p = 0,126, df = 2$
	Отмечены (n = 84)	Не отмечены (n = 22)	
C/C	70 (61,4 %)	14 (38,6 %)	$\chi^2 = 4,159, p = 0,126, df = 2$
C/T	10 (62,5 %)	6 (37,5 %)	
T/T	4 (66,6 %)	2 (33,4 %)	
Аллели	n = 94	n = 28	χ^2, p
C	80 (80,0 %)	20 (20,0 %)	$\chi^2 = 1,884, p = 0,170, df = 1$
T	14 (63,3 %)	8 (36,7 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генатипа по эпизодам ОРВИ до года.

Таблица 36 – Ассоциация аллелей и генотипов по полиморфизму rs3918242 гена ММР-9 с развитием БОС на фоне ОРВИ у детей с БЛД

Генотипы	БОС		Статистическая достоверность: $\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 14,167,$ $p < 0,001, df = 2$
	Имеется (n = 82)	Отсутствует (n = 24)	
C/C	72 (85,7 %), OR = 7,200 (ДИ 2,550–20,333)	12 (14,3 %)	$\chi^2 = 16,133,$ $p < 0,001, df = 1$
C/T	8 (50,0 %)	8 (50,0 %)	χ^2 с поправкой Йейтса = 6,318, $p = 0,012, df = 1$
T/T	2 (33,4 %)	4 (66,6 %)	
Аллели	n = 90	n = 32	χ^2, p
C	80 (80,0 %), OR = 4,800 (ДИ 1,816–12,685)	20 (20,0 %)	$\chi^2 = 11,122,$ $p < 0,001, df = 1$
T	10 (45,5 %)	12 (54,5 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости по наличию БОС.

Исследование ФВД является одним из важнейших критериев диагностики заболеваний респираторного тракта при оценке их тяжести и степени эффективности терапии. Согласно статистическому анализу, ассоциации влияния генотипов и аллелей гена ММР-9 с уровнем поражения дыхательных путей, а именно – верхних, средних и нижних, не выявлено ($\chi^2 = 4,713$, $p = 0,095$, $df = 2$).

При генетической вариабельности полиморфизма rs3918242 гена ММР-9 получены статистически значимые различия по влиянию генотипов на характер микробиоты дыхательных путей у детей с БЛД. У пациентов с генотипом С/С и аллелем С достоверно чаще выявлялись представители грамотрицательной флоры (*P. aeruginosa*, *Klebsiella*, *E. coli*) ($\chi^2 = 9,708$, $p = 0,008$, $df = 2$), в то же время генотип Т/Т и минорный аллель являются предрасполагающими к грамположительной флоре ($\chi^2 = 9,373$, $p = 0,010$, $df = 2$) (табл. 37).

Таблица 37 – Ассоциация генотипов и частот аллелей по полиморфизму rs3918242 гена ММР-9 микробиоты бронхиального дерева у детей с БЛД

Генотипы	Флора			Статистическая достоверность $\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 19,290$, $p < 0,001$, $df = 4$
	Грам+ флора (n = 12)	Грам- флора (n = 50)	Отсутствие значимой микрофлоры (n = 44)	
С/С	6 (7,1 %)	44 (52,3 %)	30 (35,7 %)	$\chi^2 = 9,708$, $p = 0,008$, $df = 2$
С/Т	2 (6,2 %)	2 (6,2 %)	12 (75,6 %)	$\chi^2 = 9,917$, $p = 0,008$, $df = 2$
Т/Т	6 (60,0 %)	2 (20,0 %)	2 (20,0 %)	$\chi^2 = 9,373$, $p = 0,010$, $df = 2$
Аллели	n = 14	n = 48	n = 44	χ^2, p
С	8 (8,4 %)	46 (47,9 %)	42 (43,7 %)	$\chi^2 = 7,291$, $p = 0,027$, $df = 2$
Т	8 (30,0 %)	4 (15,0 %)	14 (55,0 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генатипа по характеру микробиоты.

Генотип С/С, согласно анализу результатов, является предрасполагающим к длительному использованию ИГКС у детей с БЛД (χ^2 с поправкой Йейтса = 4,203, $p = 0,041$, $df = 1$, OR = 3,429 (ДИ 1,185–9,917), в то время как у представителей генотипов С/Т и Т/Т пролонгированное применение ИГКС было необходимо в 11,6 и 4,7 % случаев (табл. 38).

Таблица 38 – Влияние полиморфизма rs3918242 гена ММР9 на длительность использования ИГКС

Генотипы	Длительность использования ИГКС		Статистическая достоверность: $\chi^2_{c/c-t/c-t/t} = 5,601,$ $p = 0,061, df = 2$
	Длительно (n = 86)	Эпизодически (n = 20)	
С/С	72 (83,7 %), OR = 3,429 (ДИ 1,185–9,917)	12 (60 %)	χ^2 с поправкой Йейтса = 4,203, $p = 0,041, df = 1$
С/Т	10 (11,6 %)	6 (30 %)	χ^2 с поправкой Йейтса = 2,960, $p = 0,086, df = 1$
Т/Т	4 (4,7 %)	2 (10 %)	F = 0,31609, $p < 0,05, df = 1$
Аллели	n = 72	n = 50	χ^2, p
С	58 (80,6 %)	42 (84 %)	$\chi^2 = 0,237, p = 0,627,$ $df = 1$
Т	14 (19,4 %)	8 (16 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа по длительности применения ИГКС.

Таким образом генотип С\С полиморфизма rs3918242 гена ММР-9 чаще встречался у мальчиков, несмотря на ассоциацию данного гена с краткосрочной респираторной поддержкой, при нем увеличивается частота развития бронхообструктивного синдрома на фоне респираторных инфекций у детей, повышает риск инфицирования дыхательных путей грамотрицательной микрофлорой и ассоциирован с необходимостью длительного применения ИГКС. Данный генотип приводит к повышению уровня ММР-9, что влияет на активность воспалительного процесса [35; 56; 157]. Исходя из всего вышеизложенного, полиморфизм rs3918242 гена ММР-9 может рассматриваться как модифицирующий фактор на клиническое течение БЛД у детей.

5.2. Роль полиморфизма rs721917 гена сурфактантного белка D на течение и исход бронхолегочной дисплазии у детей

Сурфактантный белок D (SFTPD) является одним из ключевых регуляторов функций альвеолярных макрофагов - основных клеток системы иммунитета в легких. Биологическая активность сурфактантного протеина D на клетки макроорганизма реализуется через взаимодействие со специфическими рецепторами макрофагов, которые в свою очередь приводят в выработку провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. По данным литературы, генетически

обусловленное снижение концентрации SFTPD сопровождается увеличением частоты острых респираторных вирусных инфекций у детей, в то же время избыток его коррелирует с аллергическими заболеваниями органов дыхания. Анализ публикаций научных исследований [152; 160] об ассоциации генов белков сурфактанта с БЛД, позволил выявить противоречивость и недостаточность данных для формирования достоверной патогенетической картины заболевания.

Для оценки влияния генетической variability полиморфизма rs721917 гена SFTPD на течение и исходы БЛД, нами был проведен анализ ассоциаций клинических проявлений заболевания с полиморфными вариантами данного гена, а так же изучена вероятность ассоциации данного полиморфизма с реализацией бронхолегочной дисплазии при сравнении частот аллелей и генотипов в контрольной и основной группе пациентов.

В ходе исследования выявлено, что у пациентов в контрольной группе генотип С/С полиморфизма rs721917 гена SFTPD определен у 39 (42,0 %) больных. У детей с БЛД данный генотип наблюдался у 36 (34,0 %) детей.

Частота встречаемости генотипа С/Т у пациентов, у которых не произошло формирования БЛД, составило 37,6 %, при этом в основной группе – 54,7 %. Гомозиготное состояние мутантного аллеля Т гена SFTPD обнаружено лишь у 12 (11,3 %) пациентов с диагностированным недугом, в то время как из группы сравнения у 19 (20,4 %) детей (табл. 39).

Таблица 39 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs721917 гена SFTPD в основной и контрольной группах

Генотипы SFTPD	Контрольная группа (n = 93)	Основная группа (n = 106)	Статистическая достоверность: $\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 6,568, p = 0,038, df = 2$
С/С	39 (42 %)	36 (34 %)	$\chi^2 = 1,341, p = 0,247, df = 1$
С/Т	35 (37,6 %)	58 (54,7 %), OR = 2,002 (ДИ 1,135–3,533)	$\chi^2 = 5,807, p = 0,016, df = 1$
Т/Т	19 (20,4 %)	12 (11,3 %)	$\chi^2 = 3,126, p = 0,078, df = 1$
Аллели	n = 128	n = 164	χ^2, p
С	74 (57,8 %)	94 (57,3 %)	$\chi^2 = 0,007, p = 0,933, df = 1$
Т	54 (42,2 %)	70 (42,7 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа по сравнению с группой контроля.

Таким образом, гетерозиготный генотип С/Т, согласно статистическим данным, может рассматриваться в качестве полезного для формирования БЛД у детей ($\chi^2 = 5,807$, $p = 0,016$, $df = 1$, $OR = 2,002$ (ДИ 1,135–3,533)). В то же время сравнительный анализ частоты встречаемости дикого (С) и мутантного аллеля (Т) в контрольной и основной группах не выявил достоверных различий ($\chi^2 = 0,007$, $p = 0,933$, $df = 1$).

Данные литературы свидетельствуют о том, что мужской пол является одним из предикторов развития БЛД у недоношенных младенцев [59; 67]. В ходе работы проанализирована возможность ассоциации гендерного признака с полиморфными аллелями и генотипами сурфактантного белка D (табл. 40). Достоверных различий между пациентами женского и мужского пола по различными генотипам и аллелям полиморфизма rs721917 гена SFTPD не выявлено ($\chi^2 = 2,548$, $p = 0,280$).

Таблица 40 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs721917 гена SFTPD в зависимости от пола у детей с БЛД

Генотипы SFTPD	Мальчики (n = 76)	Девочки (n = 30)	Статистическая достоверность
С/С	28 (77,7 %)	8 (22,3 %)	$\chi^2_{С/С-Т/С-Т/Т} = 2,548$, $p = 0,280$, $df = 2$
С/Т	38 (65,5 %)	20 (34,5 %)	
Т/Т	10 (83,3 %)	2 (16,7 %)	
Аллели	(n = 114)	(n = 50)	χ^2, p
С	66 (70,2 %)	28 (29,8 %)	$\chi^2 = 0,051$, $p = 0,822$, $df = 1$
Т	48 (68,5 %)	22 (31,5 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа по полу.

Принимая во внимание тот факт, что степень тяжести БЛД имеет основополагающее значение для дальнейшего прогноза и морфофункциональной реабилитации легочной ткани с дальнейшим вариантом исхода БЛД, проанализировали возможность влияния полиморфизмов rs721917 гена SFTPD на степень тяжести заболевания. В ходе сравнительного анализа распределения частот аллелей (С, Т) и генотипов (С/С, С/Т, Т/Т) не было выявлено достоверных различий между группами пациентов с легкой, среднетяжелой и тя-

желой формой БЛД ($\chi^2 = 1,153$ $p = 0,562$, $df = 2$ и $\chi^2 = 7621$, $p = 0,107$ соответственно) (табл. 41).

Таблица 41 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs721917 гена SFTPD в зависимости от степени тяжести БЛД

Генотипы SFTPD	Легкая (n = 8)	Средняя (n = 44)	Тяжелая (n = 54)	Статистическая достоверность
C/C	2 (5,6 %)	10 (27,7 %)	24 (66,7 %)	$\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 7,621$, $p = 0,107$, $df = 4$
C/T	4 (6,5 %)	30 (44,1 %)	24 (41,4 %)	
T/T	2 (16,6 %)	4 (33,2 %)	6 (50,2 %)	
Аллели	n = 12	n = 74	n = 78	χ^2, p
C	6 (6,3 %)	40 (42,5 %)	48 (51,2 %)	$\chi^2 = 1,153$, $p = 0,562$, $df = 2$
T	6(8,7 %)	34 (48,5 %)	30 (42,8 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генатипа по степени тяжести.

Сравнительный анализ статистических данных по длительности респираторной поддержки показал равномерное распределение генотипов по группам пациентов с различной длительностью ИВЛ (табл. 42). Провести статистический анализ достоверности различий между группами по генотипу T/T не представляется возможным в связи с отсутствием пациентов с длительностью респираторной поддержки до 2- и 3-недельного срока.

Таблица 42 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs721917 SFTPD гена в зависимости от длительности ИВЛ

Генотипы SFTPD	Длительность ИВЛ, в днях				Статистическая достоверность: $\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 13,503$, $p < 0,05$, $df = 6$
	До 7 дней (n = 46)	8-14 дней (n = 20)	15-21 дней (n = 14)	Больше 30 дней (n = 26)	
C/C	16 (44,5 %)	6 (16,6 %)	8 (22,3 %)	6 (16,6 %)	$\chi^2 = 4,882$, $p = 0,181$, $df = 3$
C/T	24 (41,3 %)	14 (24,1 %)	6 (10,3 %)	14 (24,1 %)	
T/T	6(50,0%)	0	0	6 (50,0 %)	–
Аллели	n = 70	n = 34	n = 18	n = 40	χ^2, p
C	40 (43,6 %)	20 (21,7 %)	12 (13,0 %)	20 (21,7 %)	$\chi^2 = 1,528$, $p = 0,676$, $df = 3$
T	30 (42,8 %)	14 (20,2 %)	6 (8,5 %)	20 (28,5 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генатипа по длительности ИВЛ.

Изучение влияния полиморфизма rs721917 гена SFTPD на исходы БЛД у детей, а именно – частоту выздоровления или формирование хронического

бронхолегочного процесса, обнаружило статистически значимые различия. У детей с генотипами С/С достоверно чаще формировались ХЗЛ, такие как ХБ и ОБ ($\chi^2 = 11,706$, $p < 0,001$, $df = 1$). Показано, что доля генотипа Т/Т существенно увеличена в группе пациентов с благоприятным исходом в виде выздоровления или РБ ($\chi^2 = 5,681$, $p = 0,018$).

Таким образом, генотип С/С является маркером предрасположенности к формированию ХЗЛ (OR = 4,400 (ДИ 1,833–10,563)), в то время как генотип Т/Т представляет собой упреждающий или проективный вариант для благоприятного исхода заболевания (OR = 5,682 (ДИ 1,180–27,347)). Статистический анализ демонстрирует ассоциацию дикого аллеля С с неблагоприятным вариантом морфофункциональной способности к восстановлению легких с формированием в качестве исхода БЛД как ХБ, так и ОБ (OR = 1,923 (ДИ 1,022–3,617)). Возможно, именно данные генотипы ассоциированы с биохимической модификацией мультимерных SP-D, которые могут индуцировать провоспалительную и противовоспалительную сигнализацию SP-D в зависимости от высокомолекулярной или низкомолекулярной формы, что подтверждается данными литературы [60; 150; 158; 182] (табл. 43).

Таблица 43 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs721917 гена SFTPD в зависимости от исходов БЛД

Генотипы SFTPD	Исходы		Статистическая достоверность: $\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 14,136$, $p < 0,001$, $df = 2$
	1 подгруппа (n = 54)	2 подгруппа (n = 52)	
С/С	10 (27,7 %)	26 (62,3 %), OR = 4,400 (ДИ 1,833–10,563)	$\chi^2 = 11,706$, $p < 0,001$, $df = 1$
С/Т	34 (58,6 %)	24 (41,4 %)	$\chi^2 = 3,021$, $p = 0,83$, $df = 1$
Т/Т	10 (83,3 %), OR = 5,682 (ДИ 1,180–27,347)	2 (16,7%)	F = 0,02870, $p < 0,05$, $df = 1$
Аллели	n = 88	n = 76	χ^2 , p
С	44 (46,8 %)	50 (53,2 %), OR = 1,923 (ДИ 1,022–3,617)	$\chi^2 = 4,156$, $p = 0,042$, $df = 1$
Т	44 (57,1 %)	26 (42,9 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа по исходам.

Доказано, что обострения БЛД, как правило, ассоциированы с присое-

динением респираторной вирусной инфекции. В то же время частота и тяжесть ОРВИ непосредственно влияет на исход БЛД, а профилактические мероприятия относятся к приоритетным направлениям пульмонологии раннего детского возраста. Известно, что противовирусный иммунитет ассоциирован как с макрофагальной активностью, так и более поздним филогенетическим звеном – Т-клеточным ответом, запускаемым каскадом про- и противовоспалительных цитокинов. Принимая во внимание биологическую активность сурфактантного протеина D в отношении неспецифического звена иммунитета, изучили влияние генотипов SFTPD на частоту и старт вирусных инфекций у детей с БЛД.

Согласно полученным статистическим данным, ассоциаций между генотипами полиморфизма rs721917 гена SFTPD и частотой ОРВИ, а также наличием первых эпизодов ОРВИ до года не выявлено ($\chi^2 = 0,281$, $p = 0,869$, $df = 2$ и $\chi^2 = 1,520$, $p = 0,468$, $df = 2$ соответственно) (табл. 44, 45).

Развитие ОРВИ у пациентов БЛД ассоциировано с реализацией БОС, который может носить как эпизодический, так и регулярный характер. В зависимости от тяжести и кратности БОС пациенты основной группы нуждались в краткосрочном или в длительном применении ИГКС. При поиске возможных ассоциаций генотипов гена SFTPD и применяемых схем использования ИГКС достоверных различий не выявлено $\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 3,985$, $p = 0,139$, $df = 2$ (табл. 46). В то же время ни один пациент с генотипом T/T не нуждался в длительной ингаляционной противовоспалительной гормональной терапии.

Таблица 44 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs721917 гена SFTPD в зависимости от частоты ОРВИ

Генотипы SFTPD	Частые ОРВИ (8 и более раз в год) (n = 64)	Редкие ОРВИ (3–5 раз в год) (n = 42)	Статистическая достоверность
C/C	22 (61,1 %)	14 (39,9 %)	$\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 0,281$, $p = 0,869$, $df = 2$
C/T	34 (58,6 %)	24 (41,4 %)	
T/T	8 (66,6 %)	4 (33,4 %)	
Аллели	n = 98	n = 66	χ^2, p
C	56 (59,5 %)	38 (40,5 %)	$\chi^2 = 0,003$, $p = 0,957$, $df = 1$
T	42 (60,0 %)	28 (40,0 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости по частоте ОРВИ.

Таблица 45 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs721917 гена SFTPD в зависимости от наличия эпизодов ОРВИ до года

Генотипы SFTPD	ОРВИ до года		Статистическая достоверность
	Отмечены (n = 84)	Не отмечены (n = 22)	
С/С	30 (83,3 %)	6 (16,7 %)	$\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 1,520,$ $p = 0,468,$ $df = 2$
С/Т	46(79,3 %)	12 (20,7 %)	
Т/Т	8 (66,6 %)	4 (33,4 %)	
Аллели	n = 130	n = 34	χ^2, p
С	76 (79,1 %)	18 (20,9 %)	$\chi^2 = 0,336, p = 0,563,$ $df = 1$
Т	54 (77,1 %)	16 (22,9 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генатипа по наличию эпизодов ОРВИ до года.

Таблица 46 – Влияние полиморфизма rs721917 гена SFTPD на длительность использование ИГКС

Генотипы SFTPD	Длительно (n = 86)	Короткие курсы (n = 20)	Статистическая достоверность
С/С	30 (83,3 %)	6 (16,7 %)	$\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 3,985,$ $p = 0,139, df = 2$
С/Т	44 (75,8 %)	14 (24,2 %)	
Т/Т	12 (100,0 %)	0	
Аллели	n = 130	n = 34	χ^2, p
С	74 (78,7 %)	20 (21,3 %)	$\chi^2 = 0,040, p = 0,842,$ $df = 1$
Т	56 (80,0 %)	14 (20,0 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генатипа по длительности ИВЛ.

SP-D, связываясь с гликококонъюгатами и частью липидов, способствует санации легких от вирусных и бактериальных патогенов, что доказано в ряде научных работ. SP-D взаимодействует со специфическими рецепторами на поверхности иммунных клеток и трансформирует их функцию, увеличивает фагоцитоз микробов иммунными клетками (макрофагами и нейтрофилами) [59]. При генетической вариабельности полиморфизма rs721917 гена SFTPD получены статистически значимые различия по влиянию генотипов на характер микробиоты дыхательных путей у детей с БЛД. У пациентов с генотипом Т/Т достоверно чаще отсутствует колонизация патогенной бактериальной флорой дыхательных путей ($\chi^2 = 6,238, p = 0,045, df = 2$) (табл. 47).

Таблица 47 – Ассоциация генотипов и частот аллелей по полиморфизму rs721917 гена SFTPD с характером микробиоты бронхиального дерева у детей с БЛД

Генотипы SFTPD	Грам+ флора (n = 10)	Грам– микрофлора (n = 62)	Значимый рост отсутствует (n = 65)	Статистическая достоверность: $\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 10,335$, p = 0,036, df = 4
C/C	2 (3,2 %)	28 (44,5 %)	33 (52,3 %)	$\chi^2 = 3,334$, p = 0,189, df = 2
C/T	6 (10,0 %)	32 (53,3 %)	22 (37,7 %)	$\chi^2 = 5,220$, p = 0,074, df = 2
T/T	2 (14,2 %)	2 (14,2 %)	10 (71,6 %), OR = 3,091 (ДИ 0,919–10,394)	$\chi^2 = 6,238$, p = 0,045, df = 2
Аллели	n = 16	n = 104	n = 87	χ^2 , p
C	8 (6,5 %)	60 (48,7 %)	55 (44,8 %)	$\chi^2 = 1,156$, p = 0,562, df = 2
T	8 (10,8 %)	34 (45,9 %)	32 (43,3 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа по характеру микробиоты.

Как свидетельствуют представленные данные, генотип T/T, возможно, является генетическим маркером устойчивости дыхательных путей к негативной микрофлоре и уменьшает риск формирования тяжелой формы БЛД. Вместе с тем, несмотря на отсутствие достоверных различий, у пациентов с аллелем C в генотипах микрофлора дыхательных путей чаще характеризовалась присутствием грамотрицательных бактерий или патогенных грамположительных организмов (MRSA). Отсутствие SP-D в жидкости бронхоальвеолярного лаважа повышает риск бактериальной колонизации верхних и нижних дыхательных путей и способствует возникновению бактериемии [59].

Исходя из полученных данных, можно предположить, что генотипы T/T, C/C и C/T, вероятно, являются генетическими маркерами устойчивости или восприимчивости дыхательных путей к патологическим агентам. Их эффект связан с уровнем SP-D, который оказывает антимикробное действие и гасит воспаление за счет прямых микробных взаимодействий и модуляции реакций клеток хозяина через ряд клеточных рецепторов. Однако низкие концентрации белка, генетическая изменчивость, биохимическая модификация и протеолитический распад могут индуцировать разложение мультимерных SP-D в низкомолекулярные формы, которые ассоциированы с противо-

воспалительной сигнализацией SP-D [59].

Согласно статистическому анализу, ассоциации влияния генотипов и аллелей гена SFTPD со степенью нарушения функции внешнего дыхания и уровнем поражения дыхательных путей выявлено не было ($\chi^2 = 4,767$, $p = 0,313$, $df = 4$) (табл. 48, 49).

Таблица 48 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs721917 гена SFTPD в зависимости степени нарушения ФВД

Генотипы SFTPD	Степень нарушения ФВД			Статистическая достоверность
	Легкая (n = 14)	Умеренная (n = 32)	Выраженная (n = 58)	
C/C	2 (5,5 %)	10 (27,7 %)	24 (66,8 %)	$\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 3,904$, $p = 0,420$, $df = 4$
C/T	10 (17,8 %)	18 (32,2 %)	28 (50,0 %)	
T/T	2 (16,6 %)	4 (33,4 %)	6 (50,0 %)	
Аллели	n = 24	n = 50	n = 86	χ^2, p
C	12 (13,1 %)	28 (31,4 %)	52 (56,5 %)	$\chi^2 = 0,908$, $p = 0,636$, $df = 2$
T	12 (17,6 %)	22 (32,4 %)	34 (50,0 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генатипа по степени нарушения ФВД.

Таблица 49 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs721917 гена SFTPD в зависимости уровня поражения дыхательных путей

Генотипы SFTPD	Дыхательные пути			Статистическая достоверность
	Верхние (n = 4)	Средние (n = 82)	Нижние (n = 72)	
C/C	2 (3,1 %)	34 (53,1 %)	28 (43,8 %)	$\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 1,456$, $p = 0,835$, $df = 4$
C/T	2 (2,6 %)	38 (48,7 %)	38 (48,7 %)	
T/T	0	10 (62,5 %)	6 (37,5 %)	
Аллели	n = 6	n = 120	n = 110	χ^2, p
C	4 (2,8 %)	72 (50,7 %)	66 (46,5 %)	$\chi^2 = 0,155$, $p = 0,926$, $df = 2$
T	2 (2,1 %)	48 (51,0 %)	44 (46,9 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генатипа по уровню поражения дыхательных путей.

С целью визуализации структурных изменений легочной ткани, а также определения характера и объема поражения дыхательных путей и оценки исхода заболевания всем детям проводили КТ ОГК. Проанализировано распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма rs721917 гена SFTPD в зависимости от характера изменений на КТ легких в основной группе, стати-

стические различия не выявлены ($\chi^2 = 21,483$, $p > 0,05$).

Провести статистический анализ достоверности различий между группами по генотипу Т/Т не представляется возможным в связи с отсутствием пациентов с эмфиземой легких, буллами и распространенным пневмофиброзом в данной группе. Изменения при данном генотипе были представлены локальным пневмофиброзом и фиброателектазами (табл. 50).

Таблица 50 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма rs721917 гена SFTPD в зависимости изменений на КТ

Генотипы SFTPD	Без патологий (n = 2)	Эмфизема (n = 10)	Буллы (n = 8)	Локальный пневмофиброз (n = 62)	Распространенный пневмофиброз (n = 14)	Ателектазы (n = 14)	Статистическая достоверность
С/С	2 (4,4 %)	4 (8,6 %)	4 (8,6 %)	24 (38,7 %)	10 (52,3 %)	2 (4,4 %)	$\chi^2 = 12,669$, $p > 0,05$, $df = 5$
С/Т	0	6 (10,8 %)	4 (7,1 %)	34 (60,8 %)	4 (7,1 %)	8 (14,2 %)	$\chi^2 = 5,803$, $p > 0,05$, $f = 5$
Т/Т	0	0	0	4 (50,0 %)	0	4 (50,0 %)	–
Аллели	(n = 2)	(n = 16)	(n = 12)	(n = 96)	(n = 18)	(n = 22)	$\chi^2 = 5,845$, $p > 0,05$, $df = 5$
С	2 (1,9 %)	10 (9,9 %)	8 (7,9 %)	58 (56,7 %)	14 (13,7 %)	10 (9,9 %)	
Т	0	6 (9,3 %)	4 (6,3 %)	38 (59,3 %)	4 (6,3 %)	12 (18,8 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа по изменениям на КТ.

Анализ частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs721917 гена SFTPD в основной и контрольной группах обнаружил, что генотип С/Т является предрасполагающим для формирования БЛД у недоношенных детей. В ходе работы доказано, что гомозиготный генотип Т/Т полиморфного локуса rs721917 гена SFTPD является кандидатным геном благоприятного исхода БЛД, в то время как С/С – предрасполагающим к формированию ХЗЛ. Помимо этого, минорный генотип ассоциирован с благоприятным характером микробиоты дыхательных путей.

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что анализ полиморфизма rs721917 гена SFTPD является полезным для прогнозирования исходов

БЛД у недоношенных младенцев и формирования представлений о генетических механизмах заболевания.

5.3. Роль полиморфизма FOK1 гена рецептора витамина D в течении и исходе бронхолегочной дисплазии у детей

Известно, что ген VDR располагается на коротком плече хромосомы 12 (12q13.1) и состоит из 9 экзонов и 8 интронов. Ген VDR обладает большой вариабельностью полиморфных последовательностей, возникающих и в кодирующих, и в некодирующих частях гена, что обуславливает трансформацию его функции за счет активации экспрессии гена, реже – изменения в структуре белка.

Выявлено достоверное различие частот аллелей по модификации FOK1 гена VDR. У больных БЛД частота аллеля F составила 73,1 %, а минорного f – 26,9 %. Поэтому полученная ассоциация полиморфизма FOK1 позволяет рассматривать его в качестве кандидатного полиморфизма в развитии БЛД: OR = 1,924 (ДИ 1,108–3,342) (табл. 51).

Таблица 51 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма FOK1 гена VDR в основной и контрольной группах

Генотипы VDRFOK1	Контрольная группа (n = 93)	Основная группа (n = 80)	Статистическая достоверность: $\chi^2_{F/F-F/f-f} = 12,084, p = 0,003, df = 2$
F/F	37 (39,8 %)	52 (65,0 %)	$\chi^2 = 10,946, p < 0,001, df = 1$
F/f	42 (45,2 %)	24 (30,0 %)	$\chi^2 = 4,190, p = 0,041, df = 1$
f/f	14 (15 %)	4 (5,0 %)	F=NaN, $p > 0,05, df = 1$
Аллели	n = 135	n = 104	χ^2, p
F	79 (58,5 %)	76 (73,1 %), OR = 1,924 (ДИ 1,108–3,342)	$\chi^2 = 5,462, p = 0,020, df = 1$
f	56 (41,5 %)	28 (26,9 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа по сравнению с группой контроля.

Таким образом, доказано влияние полиморфизма FOK1 гена VDR в качестве кандидатного гена для реализации БЛД у детей. Согласно статистиче-

ским данным, аллель F и генотип F/F являются предрасполагающими к развитию заболевания ($\chi^2 = 10,946$, $p < 0,001$, $df = 1$, $OR = 2,811$ (ДИ 1,513–5,221)), то время как генотип F/f – упреждающим или протективным ($\chi^2 = 4,190$, $p = 0,041$, $df = 1$, $OR = 0,520$ (ДИ 0,277–0,976)).

Учитывая, что степень тяжести БЛД имеет основополагающее значение для фенотипической характеристики заболевания и варианта его исхода, было проанализировано влияние полиморфизма FOK1 гена VDR на данный классификационный критерий. В ходе сравнительного анализа распределения частот аллелей (F, f) и генотипов (F/F, F/f, f/f) выявлено достоверное различие между группами пациентов с легкой, среднетяжелой и тяжелой формами БЛД. Так, в группе детей со средней степенью тяжести преобладали пациенты с генотипом F/f ($\chi^2 = 7,561$, $p = 0,023$, $df = 2$, $OR = 3,661$ (ДИ 1,317–10,205)) (табл. 52).

Таблица 52 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма FOK1 гена VDR в зависимости от степени тяжести БЛД

Генотипы VDR FOK1	Степень тяжести БЛД			Статистическая достоверность $\chi^2_{F/F-F/f-f/f} = 9,806$, $p = 0,044$, $df = 4$
	Легкая (n = 12)	Средняя (n = 24)	Тяжелая (n = 44)	
F/F	8 (15,3 %)	12 (23,0 %)	32 (51,7 %)	$\chi^2 = 3,543$, $p = 0,171$, $df = 2$
F/f	4 (16,6, %)	12 (50 %)	8 (33,4 %)	$\chi^2 = 7,561$, $p = 0,023$, $df = 2$, $OR = 3,661$ (ДИ 1,317–10,205)
f/f	0	0	4 (100 %)	$\chi^2 = 3,445$, $p = 0,179$, $df = 2$
Аллели	n = 16	n = 36	n = 52	χ^2, p
F	12 (15,7%)	24(31,5 %)	40 (52,8 %)	$\chi^2 = 1,173$, $p = 0,557$, $df = 2$
f	4(14,2%)	12 (42,9 %)	12 (42,9 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генатипа по степени тяжести.

Принимая во внимание тот факт, что длительность респираторной поддержки является одним из основных факторов, влияющих на характер морфологических изменений в легких и степень тяжести БЛД, было проанализировано влияние генотипов и аллелей полиморфизмов FOK1 гена VDR на сроки проведения ИВЛ у пациентов основной группы. Дети были разделены на группы согласно ранее описанному дизайну.

Статистический сравнительный анализ показал неравномерное распределение генотипов по группам пациентов с различной длительностью ИВЛ (табл. 53). В группе детей с длительностью ИВЛ до 1 недели генотип F/F встречался достоверно чаще (OR = 5,625 (ДИ 2,050–15,436)). При этом статистический анализ демонстрирует, что в группе пациентов, которые нуждались в наименьшей по длительности респираторной поддержке, предрасполагающее влияние оказывал аллель F (OR = 3,438 (ДИ 1,346–8,781)).

Таблица 53 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма FOK1 гена VDR в зависимости от длительности ИВЛ

Генотипы FOK1	Длительность ИВЛ, в днях				Статистическая достоверность: $\chi^2_{F/F-F/f-f/f} = 35,804$, $p < 0,01$, $df = 6$
	До 7 дней (n = 44)	7-14 дней (n = 12)	15-21 дней (n = 12)	Больше 30 дней (n = 12)	
F/F	36 (69,2 %), OR = 5,625 (ДИ 2,050–15,436)	4 (7,7 %)	4 (7,7 %)	8 (14,4 %)	$\chi^2 = 16,064$, $p = 0,002$, $df = 3$
F/f	8 (33,3 %)	4 (16,2 %)	8 (33,2 %)	4 (16,2 %)	$\chi^2 = 10,736$, $p = 0,014$, $df = 3$
f/f	0	4 (100 %)	0	0	–
Аллели	n = 52	n = 16	n = 20	n = 16	
F	44 (57,8 %) OR = 3,438 (ДИ 1,346–8,781)	8 (10,5 %)	12 (15,7 %)	12 (15,7 %)	$\chi^2 = 9,618$, $p = 0,023$, $df = 3$
f	8 (22,3 %)	8 (22,3 %)	8 (22,3 %)	4 (11,1 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа подлительности ИВЛ.

Провести статистический анализ достоверности различий между группами по генотипу f/f не представляется возможным в связи с отсутствием пациентов с длительностью респираторной поддержки до 1, 3 недель и более 1 месяца.

С целью определения возможной ассоциации заболевания с гендерным признаком проанализировано распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса FOK1 гена ядерного рецептора витамина D среди мальчиков и девочек (табл. 54). Согласно полученным данным, выявлена ассоциация полиморфизма FOK1 гена в зависимости от пола ($\chi^2 = 6,496$, $p =$

0,039, df = 2). Определено, что генотип f/f идентифицировался только у девочек.

Таблица 54 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма FOK1 гена VDR в зависимости от пола у детей с БЛД

Генотипы FOK1	Мальчики (n = 48)	Девочки (n = 32)	Статистическая достоверность: $\chi^2_{F/F-F/f-f/f} = 6,496, p = 0,039, df = 2$
F/F	32 (61,5 %)	20 (38,5 %)	$\chi^2 = 0,147, p = 0,702, df = 1$
F/f	16 (66,6 %)	8 (33,4 %)	$\chi^2 = 0,635, p = 0,426, df = 1$
f/f	0	4 (100,0 %)	$F = 0,02274, p < 0,05, df = 1$
Аллели	(n = 64)	(n = 40)	χ^2, p
F	48 (63,2 %)	28 (36,8 %)	$\chi^2 = 0,313, p = 0,576, df = 1$
f	16 (57,2 %)	12 (42,8 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генатипа по полу.

Изучение влияния полиморфизмов FOK1 гена VDR на исходы БЛД у детей, а именно – частоту выздоровления или формирование хронического бронхолегочного процесса, не выявило статистически значимых различий ($\chi^2_{F/F-F/f-f/f} = 3,718, p = 0,156, df = 2$) (табл. 55).

Таблица 55 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма FOK1 гена VDR в зависимости исходов БЛД

Генотипы FOK1	Исходы		Статистическая достоверность
	1 подгруппа (n = 48)	2 подгруппа (n = 32)	
F/F	32 (61,5 %)	20 (38,5 %)	$\chi^2_{F/F-F/f-f/f} = 3,718, p = 0,156, df = 2$
F/f	12 (50,0 %)	12 (50,0 %)	
f/f	4 (100 %)	0	
Аллели	n = 60	n = 44	χ^2, p
F	44 (57,8 %)	32 (42,2 %)	$\chi^2 = 0,005, p = 0,946, df = 1$
f	16 (57,2 %)	12 (42,8 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генатипа по исходам.

Обострение БЛД, как правило, ассоциировано с присоединением респираторной вирусной инфекции, частота и тяжесть которой непосредственно влияет на исход БЛД. Согласно данным многочисленных исследований, ядерный рецептор витамина D прямо воздействует на недифференцирован-

ные и инактивированные Т-хелперы, Т-регуляторы, активированные Т-клетки и дендритные клетки. С учетом сказанного был осуществлен поиск ассоциации полиморфизма FOK1 гена VDR на частоту и старт вирусных инфекций у детей с БЛД [167; 175; 181; 191].

При анализе полученных данных выявлена достоверная взаимосвязь гетерозиготного генотипа F/f полиморфного маркера FOK1 гена VDR с высокой частотой ОРВИ ($F= 0,00618$, $p < 0,05$, $df = 1$), а также их ранним стартом ($F= 0,00003$, $p < 0,05$, $df = 1$). Таким образом, F/f является генетическим предиктором раннего старта (до года) и высокой частоты ОРВИ у детей с БЛД ($OR = 5,000$ (ДИ 1,514–16,510)) (табл. 56, 57).

Таблица 56 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма FOK1 гена VDR в зависимости от частоты ОРВИ

Генотипы FOK1	Частые ОРВИ (8 и более раз в год) (n = 48)	Редкие ОРВИ (3–5 раз в год) (n = 32)	Статистическая достоверность: $\chi^2_{F/F-F/f-f/f} = 12,265$, $p = 0,003$, $df = 2$
F/F	28 (53,8 %)	24 (46,2 %)	$\chi^2 = 1,669$, $p = 0,197$, $df = 1$
F/f	20 (83,3 %) OR = 5,000 (ДИ 1,514–16,510)	4 (16,7 %)	$F = 0,00618$, $p < 0,05$, $df = 1$
f/f	0	4 (100 %)	$F = 0,02274$, $p < 0,05$, $df = 1$
Аллели	n = 68	n = 36	χ^2 , p
F	48 (63,1 %)	28 (36,9 %)	$\chi^2 = 0,618$, $p = 0,432$, $df = 1$
f	20 (71,4 %)	8 (28,6 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа по частоте ОРВИ.

Таблица 57 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма FOK1 гена VDR в зависимости от наличия эпизодов ОРВИ до года

Генотипы FOK1	ОРВИ до года		Статистическая достоверность: $\chi^2_{F/F-F/f-f/f} = 21,392$, $p < 0,001$, $df = 2$
	Отмечены (n = 56)	Не отмечены (n = 24)	
F/F	32 (61,5 %) OR = 0,267 (ДИ 0,081–1,883)	20 (38,5 %)	$F = 0,03933$, $p < 0,05$, $df = 1$
F/f	24 (100 %)	0	$F = 0,00003$, $p < 0,05$, $df = 1$
f/f	0	4 (100 %)	$F = 0,00672$, $p < 0,05$, $df = 1$
Аллели	n = 56	n = 24	χ^2 , p
F	56 (73,6 %)	20 (26,4 %)	$\chi^2 = 1,668$, $p = 0,197$, $df = 1$
f	24 (85,7 %)	4 (14,3 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости по эпизодам ОРВИ до года.

Согласно проведенному статистическому анализу, генотип F/f и мутантный аллель f являются предрасполагающими к тяжелому течению БОС во время обострения БЛД ($\chi^2 = 35,4676$, $p = 0,002$, OR = 18,000 (ДИ 4,728–68,533) и $\chi^2 = 17,578$, $p < 0,001$, OR = 5,000 (ДИ 3,011–33,209)) (табл. 58).

Таблица 58 – Влияние полиморфизма FOK1 гена VDR на степень тяжести БОС у детей с БЛД

Генотипы FOK1	Степень тяжести БОС			Статистическая достоверность: $\chi^2_{F/F-F/f-f/f} = 35,467$, $p < 0,001$, $df = 4$
	Легкая (n = 8)	Среднетяжелая (n = 32)	Тяжелая (n = 24)	
F/F	8 (20,0 %)	28 (70,0 %)	4 (10,0 %)	$\chi^2 = 34,844$, $p < 0,001$, $df = 2$
F/f	0	4 (20,0 %)	16 (80,0 %) OR = 18,000 (ДИ 4,728–68,533)	$\chi^2 = 22,885$, $p < 0,001$, $df = 2$
f/f	0	0	4 (100 %)	–
Аллели	n = 8	n = 36	n = 40	χ^2, p
F	8 (13,3 %)	32 (53,3 %)	20 (33,4 %)	$\chi^2 = 17,578$, $p < 0,001$, $df = 2$
f	0	4 (16,7 %)	20 (83,3 %), OR = 5,000 (ДИ 3,011–33,209)	

Примечание: p – уровень статистической значимости по степени тяжести.

Респираторные инфекции у детей с БЛД сопровождались развитием БОС, что требовало проведения лечебных мероприятий с включением бронхолитиков и ИГКС. В зависимости от частоты эпизодов и тяжести БОС пациенты получали ингаляционную терапию либо краткосрочным курсом, либо (в случае частых эпизодов) длительно. При поиске ассоциаций генотипов F/F, F/f и f/f с возможностью реализации БОС при обострении БЛД и длительностью использования ИГКС достоверных различий не выявлено ($\chi^2 = 1,474$; $p = 0,479$; $\chi^2 = 5,519$; $p = 0,064$ соответственно) (табл. 59, 60).

Поражение ЦНС может быть ассоциировано с тяжестью течения и неблагоприятным исходом заболевания, что связано с нарушением регуляции дыхательных паттернов, тонуса бронхиальных сосудов и просвета бронхов, а также с изменением секреторной активности бокаловидных клеток по средствам дезрегуляции вегетативной нервной системы. В ходе исследования была выявлена высокая частота поражений нервной системы в виде церебраль-

ной ишемии, внутрижелудочковых кровоизлияний I–III степени, перивентрикулярной лейкомоляции. Сравнительный анализ данных показал, что у гетерозиготных носителей генотипа F/f полиморфного маркера FOK1 гена VDR достоверно чаще имелись тяжелые поражения ЦНС ($F = 0,00009$, $p < 0,05$, $df = 1$), в то время как в группе детей с гомозиготным генотипом f/f ни у одного пациента не выявлено поражений ЦНС.

Таким образом, генотип F/f может рассматривать в качестве кондикантного в развитии невровакулярных поражений у детей с БЛД ($OR = 9,000$ (ДИ 1,638–49,447)).

Таблица 59 – Влияние полиморфизма FOK1 гена VDR на развитие БОС

Генотипы FOK1	Имеется (n = 64)	Отсутствует (n = 16)	Статистическая достоверность
F/F	40 (76,9 %)	12 (23,1 %)	$\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 1,474$, $p = 0,479$, $df = 2$
F/f	20 (83,3 %)	4 (16,7 %)	
f/f	4 (100 %)	0	
Аллели	n = 84	n = 20	χ^2, p
F	60 (78,9 %)	16 (11,1 %)	$\chi^2 = 0,603$, $p = 0,578$, $df = 1$
f	24 (85,7 %)	4 (14,3 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа по развитию БОС.

Таблица 60 – Влияние полиморфизма FOK1 гена VDR на длительность использования ИГКС

Генотипы VDR FOK1	Длительно (n = 56)	Курсами (n = 24)	Статистическая достоверность
F/F	32 (57,6 %)	20 (42,4 %)	$\chi^2_{F/F-F/f-f/f} = 5,519$, $p = 0,064$, $df = 2$
F/f	20 (83,3 %)	4 (16,7 %)	
f/f	4 (100 %)	0	
Аллели	n = 76	n = 28	χ^2, p
F	52 (68,4 %)	24 (31,6 %)	$\chi^2 = 3,110$, $p = 0,087$, $df = 1$
f	24 (71,4 %)	4 (28,6 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа по длительности применения ИГКС.

У пациентов с артериальной гипертензией в российской популяции изучено распределение генотипов FokI гена VDR. Выяснилось, что у людей с FF- и Ff-генотипами болезнь стала проявляться в более раннем возрасте, чем у имеющих генотип ff пациентов. Описано, что неврологические расстройства,

связанные с дефицитом витамина D, включают в себя цереброваскулярные патологии – ишемический инсульт, сосудистую деменцию; рассеянный склероз – в том числе более высокую частоту рецидивов и большее число поражений, определяемых по итогам магнитно-резонансной томографии; болезнь Паркинсона; болезнь Альцгеймера, атеросклероз сонных артерий и эпилепсию (Hollo et al, 2014; Thouvenot, Camu, 2013)

Возможно, васкулярные изменения, ассоциированные с данным полиморфизмом, являются одной из причин высокой частоты встречаемости поражения ЦНС у недоношенных младенцев с БЛД (табл. 61).

Таблица 61 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма FOK1 гена VDR в зависимости от поражений ЦНС

Генотипы FOK1	Поражения ЦНС		Статистическая достоверность $\chi^2_{F/F-F/f-f/f} = 17,436$, $p < 0,001$, $df = 2$
	Имеются (n = 40)	Отсутствуют (n = 40)	
F/F	20 (38,4 %)	32 (61,6 %), OR = 0,250 (ДИ 0,093–0,674)	χ^2 с поправкой Йейтса = 6,648, $p = 0,010$, $df = 1$
F/f	20 (83,3 %) OR = 9,000 (ДИ 1,638–49,447)	4 (16,7 %)	F = 0,00009, $p < 0,05$, $df = 1$
f/f	0	4 (100 %)	$\chi^2 = 4,211$, $p = 0,115$, $df = 1$
Аллели	n = 60	n = 44	$\chi^2 = 2,242$, $p = 0,135$, $df = 1$
F	40 (52,6 %)	36 (47,4 %)	
f	20 (71,4 %)	8 (28,6 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа по поражению ЦНС.

Функциональные методы исследования внешнего дыхания являются основополагающим диагностическим инструментом при диагностике степени и характера изменения у пациентов с острой и хронической бронхолегочной патологией. Согласно статистическому анализу, у детей с легкими нарушениями ФВД идентифицировался генотип F/F, в то время как с умеренными и выраженными изменениями лидировал гетерозиготный вариант полиморфизма FOK1 – F/f (табл. 62).

Таблица 62 – Ассоциация генотипов и частот аллелей по полиморфизму FOK1 гена VDR в зависимости от характера микробиоты бронхиального дерева у детей с БЛД

Генотипы VDR FOK1	Характер микробиоты			Статистическая достоверность
	Грам+ флора (n = 8)	Грам– флора (n = 52)	Не идентифицирована (n = 24)	
F/F	8 (14,8 %)	32 (59,2 %)	16 (26,0 %)	$\chi^2_{F/F-F/f-f/f} = 6,564$, $p = 0,161$, $df = 4$
F/f	0	16 (66,6 %)	8 (33,4 %)	
f/f	0	4 (100 %)	0	
Аллели	n = 8	n = 68	n = 32	χ^2, p
F	8 (10,0 %)	48 (60,0 %)	24 (30,0 %)	$\chi^2 = 3,245$, $p = 0,198$, $df = 2$
f	0	20 (71,4 %)	8 (28,6 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генатипа по характеру микробиоты.

По данным литературы, витамин D поддерживает антибактериальный и противовирусный иммунитет в легочной ткани. На фоне дефицита повышаются уровни провоспалительных цитокинов, что существенно снижает эффективность иммунного ответа организма [79; 101; 181; 191]. При генетической вариабельности полиморфизма FOK1 гена VDR не получено статистически значимых различий по влиянию генотипов на характер микробиоты дыхательных путей у детей с БЛД ($\chi^2 = 6,564$, $p = 0,161$, $df = 4$) (табл. 63).

Таблица 63 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма FOK1 гена VDR в зависимости степени нарушения ФВД

Генотипы FOK1	Степень нарушения ФВД			Статистическая достоверность: $\chi^2_{F/F-F/f-f/f} = 12,009$, $p = 0,018$, $df = 4$
	Легкая (n = 12)	Умеренная (n = 32)	Выраженная (n = 36)	
F/F	12 (23 %)	20 (38,5 %)	20 (38,5 %)	$\chi^2 = 7,961$, $p = 0,019$, $df = 2$
F/f	0	12 (50,0 %)	12 (50,0 %)	
f/f	0	0	4 (100,0 %)	
Аллели	n = 12	n = 44	n = 48	χ^2, p
F	12 (15,4 %)	32 (42,3 %)	32 (42,3 %)	$\chi^2 = 5,426$, $p = 0,067$, $df = 2$
f	0	12 (35,7 %)	16 (64,3 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генатипа по степени нарушения ФВД.

Для визуализации структурных изменений в легких всем детям прово-

дили КТ ОГК. При анализе учитывали КТ-признаки эмфиземы, пневмофиброза (локального и распространенного), деформации и проходимости бронхиального дерева, наличие бронхиолоэктазов, булл, участков ателектаза, патологических образований.

Согласно данным, представленным в таблице 64, в группе пациентов-носителей гомозиготного генотипа F/F и гетерозиготного F/f преобладали изменения на КТ в виде локального пневмофиброза (69,2 и 60,1 % соответственно), в то время как в группе детей с генотипом f/f локальный пневмофиброз встречался в 33,3 % случаев. Изменения на КТ в виде булл определялись у детей с генотипом F/F и f/f, в то время как у детей с генотипом F/f не выявлены ни у одного пациента. Участки эмфиземы легких в виде «воздушных ловушек» встречались только у детей с аллелем f в гомозиготном состоянии.

Таблица 64 – Распределение генотипов и частот аллелей полиморфизма FOK1 гена VDR в зависимости изменений на КТ

Генотипы FOK1	Изменения на КТ						Статистическая достоверность: $\chi^2_{F/F-F/f-f/f} = 94,196$, $p < 0,01$, $df = 10$
	Без патологии (n = 4)	Эмфизема (n = 4)	Буллы (n = 8)	Локальный пневмофиброз (n = 52)	Распространенный пневмофиброз (n = 4)	Ателектаз (n = 12)	
F/F	4 (7,7 %)	0	4 (7,7 %)	36 (69,2 %)	4 (7,7 %)	4 (7,7 %)	$\chi^2 = 17,241$, $p < 0,01$, $df = 5$
F/f	0	0	0	12 (60,1%)	0	8 (40,0%)	–
f/f	0	4 (33,4%)	4 (33,3 %)	4 (33,3 %)	0	0	–
Аллели	(n = 4)	(n = 4)	(n = 8)	(n = 64)	(n = 4)	(n = 20)	$\chi^2 = 15,086$, $p < 0,01$, $df = 5$
F	4 (5,6 %)	0	4 (5,6 %)	48 (66,8 %)	4 (5,6 %)	12 (16,4 %)	
f	0	4 (12,5 %)	4 (12,5 %)	16 (50,0%)	0	8 (25,0 %)	

Примечание: p – уровень статистической значимости между носителями генотипа по изменениям на КТ.

Таким образом, в ходе проведенного исследования было доказано влияние генотипа F/f полиморфного локуса FOK1 гена VDR на вероятность реализации частых эпизодов ОРВИ, их старт на первом году жизни и модификацию чувствительности к инфекционным агентам с воплощением тяжелого БОС. Данный генотип ассоциирован с тяжелыми поражениями ЦНС.

Представляется оправданной рекомендация к генотипированию на наличие неблагоприятных аллелей полиморфизма FOK1 гена VDR для объективизации прогноза течения и формирования персонафицированных программ VD-терапии у данной категории больных.

Клинический пример 1. Больная М., 3 года.

Клинический диагноз: основной: Рецидивирующий бронхит, нестойкая ремиссия. Фиброзные изменения S1, S2, S4, S6 S10 правого легкого и S2, S5, S6, S8, S9 левого легкого.

Из анамнеза жизни: рожден от 5 беременности, протекавшей на фоне ОРВИ и угрозы прерывания во втором триместре, 2 преждевременных родов на 35 неделе, путем кесарево сечения. Вес при рождении 1450г., оценка по шкале Апгар 3/6 баллов. Вводился экзогенный сурфактант. Заинтубирована, на аппарате ИВЛ с применением «мягких» параметров ($FiO_2 \geq 0,35$, $PiP \geq 22$ см вод.ст.), переедена в ОРИТ с клиникой РДС, дыхательной недостаточности 3 степени, гипоксического поражения ЦНС. На 3-е сутки апноэ. На 5-е сутки респираторная поддержка прекращена. На 7 сутки жизни переведена на 2-й этап выхаживания с клиникой угнетения ЦНС. Через 2 недели в связи с повторными апноэ и тяжелой анемией ребенок переведен в ОРИТ с подозрением на пневмонию. С момента поступления ребенок переведен на аппаратную ИВЛ, проведена гемотрансфузия эритроцитарной взвеси. В течении 10 дней находился на ИВЛ, затем экстубирован. а искусственном вскармливании с рождения.

Аллергоанамнез: не отягачен.

Наследственность: не отягощена.

Анамнез заболевания: Наблюдется с диагнозом: БЛД, недоношенных, новая форма, легкое течение. Редкие эпизоды ОРЗ, обструктивных бронхитов (менее 5 раз в год). 2 раза получала стационарное лечение в пульмонологическом отделении ГБУЗ ГБКБ №2 с клиникой бронхита. Со

слов мамы заболела остро 7 дней назад, с подъема температуры, максимально до 38,1 °С. В начале отмечался частый сухой кашель, далее смена на влажный. Учитывая наличие изменений на Р-грамме направлен участковым педиатром для экстренной госпитализации.

При поступлении жалобы на: СБО на фоне ОРВИ

При поступлении: состояние ребенка соответствует средней степени тяжести, самочувствие не страдает. Не лихорадит. Правильного телосложения, достаточного питания. Рост 85 см, вес 12,2 кг. Кожные покровы обычной окраски, чистые. Видимые слизистые чистые, розовые. ЧДД 26–27 в мин. Форма грудной клетки бочкообразная. Кашель частый малопродуктивный. Носовое дыхание не затрудно. Перкуторно легочный звук, с коробочным оттенком. Аускультативно дыхание жесткое, выслушиваются сухие единичные хрипы в нижних отделах. Тоны сердца громкие, ритмичные, ЧСС 120 уд. в мин. Живот мягкий, безболезненный, доступен глубокой пальпации. Печень не увеличена, селезенка не пальпируется. Стул 1 раз в сутки, оформленный. Мочеиспускание не нарушено.

Лабораторное и инструментальное обследование

1. Общий анализ крови: Нв 119 г/л Эр $4,24 \times 10^{12}/л$; Тр $301 \times 10^9/л$; Л $10,4 \times 10^9/л$; с/я 53; Э 3; Лим 40; Мон 4; СОЭ 15
2. Общий анализ мочи: Le1-2-1 в п\зр, плоский эпителий 1-0-1 в п\зр
3. Биохимия крови – общ. белок 83,1 г/л, АЛТ - 13,6 ед/л, АСТ – 16,5 ед/л, глюкоза 5,04 ммоль/л, билирубин общий – 6,3 мкмоль/л, мочевины – 4,0 ммоль/л, креатинин – 58,2 ммоль/л.
4. Общий IgE – 48,8 МЕ/мл
5. Определение ММР-9 – 527,77 нг/мл
6. Определение уровня витамина D3 в сыворотке крови – 28,15 нг/мл (норма > 30 нг/мл)
7. ФВД (бронхофонограмма): умеренные нарушения проходимости средних и нижних путей.

8. МСКТ органов грудной клетки: Легкие воздушны и прилежат к грудной стенке по всей поверхности. Плевральные утолщения и скопления жидкости отсутствуют. Пневматизация легких неоднородная. В S3, S4, S5 правого легкого и S6 левого легкого отмечаются четко ограниченные эмфизематозные вздутия, размером 5-10мм. В S1, S2, S4, S6 S10 правого легкого и S2, S5, S6, S8, S9 левого тяжесть фиброзного характера (преимущественно субплеврально). Бронхиальный рисунок не изменен, сосудистый рисунок усилен. Корни легких не расширены. Главные бронхи выглядят обычно. Средостение правильно расположено, не расширено. Увеличение внутригрудных лимфатических узлов не определяется. Сердце имеет обычную конфигурацию, нормальных размеров. Костно-травматических и деструктивных изменений не выявлено. Заключение: эмфизематозные вздутия в S3, S4, S5 правого легкого и S6 левого легкого. Фиброзные изменения S1, S2, S4, S6 S10 правого легкого и S2, S5, S6, S8, S9 левого легкого.

9. ЭКГ ритм синусовый. Вертикальное направление электрической оси сердца.

10. Генетическое исследование: выявлены генотип C/C rs3918242 гена MMP-9, генотип полиморфизма rs721917 гена SFTPD и генотип F/f полиморфизма FOK1 гена VDR.

Клинический пример 2. Больной В., 3 года 2 месяца

Клинический диагноз: хронический бронхит, период нестойкой ремиссии. ДН 0-1 степени.

Из анамнеза жизни: ребенок от 6 беременности, протекавшей на фоне анемии, угрозы прерывания в первом триместре, ФПН, ХВУГП, многоводия и хориоамнионит, 2-х преждевременных родов на 30-31 неделе. Вес при рождении 1660г. Вводился экзогенный сурфактант. С рождения состояние ребенка тяжелое, адинамия, интубация трехеи, санация ТБД, по интубационной трубке густые, мутные околоплодные воды с примесью гноя, дыхательная недостаточность 3 степени. На ИВЛ переведен в ОРИТ с диагнозом: Врожден-

ная пневмония, ДН 3 степени. Недоношеность 3 степени. В течении 20 дней находился на ИВЛ с применением «средних» режимов (FiO₂ 0,35–0,45; P_{ip} 22–26 см вод.ст.). На 21 сутки жизни экстубирован. На искусственном вскармливании с рождения.

Аллергоанамнез: не отягачен.

Наследственность: не отягачена.

Анамнез заболевания: Наблюдается с диагнозом: БЛД, недоношенных, новая форма, средней степени тяжести. Получает базисную терапию ИГКС (Пульмикорт по 0,25 мг/мл x 1 раз в сутки). Ребенок из группы часто болеющих. Частые эпизоды ОРЗ, обструктивных бронхитов (более 8 раз в год). Неоднократно получал стационарное лечение в пульмонологическом отделении ГБУЗ ГБКБ №2 с клиникой обструктивного бронхита. Со слов мамы у мальчика частые эпизоды СБО, приступ купируется применением ИГКС + бронхолитик короткого действия. Поступет планово для пересмотра диагноза.

При поступлении жалобы на: кашель, малопродуктивного характера, одышку
При поступлении: состояние ребенка соответствует средней степени тяжести, самочувствие не страдает. Не лихорадит. Телосложение правильное, подкожно-жировой слой развит достаточно. Рост 100 см, вес 15 кг. Кожные покровы физиологической окраски, чистые. Видимые слизистые розовые, чистые. ЧДД 24-25 в мин. Грудная клетка имеет бочкообразную форму. Кашель сухой, частый, малопродуктивный. Носовое дыхание свободное. Перкуторно легочный звук, аускультативно дыхание жесткое, хрипов нет. Тоны сердца громкие, ритмичные, ЧСС 110 уд. в мин. Живот мягкий, безболезненный, доступен глубокой пальпации. Печень не увеличена, селезенка не пальпируется. Стул 1 раз в сутки, оформленный. Мочеиспускание не нарушено.

Лабораторное и инструментальное обследование

1. Общий анализ крови: Нв 138 г/л Эр $5,27 \times 10^{12}$ /л; Тр 305×10^9 /л; Л $10,1 \times 10^9$ /л; с/я 50; Э 7; Лим 40; Мон 4; СОЭ 12

2. Общий анализ мочи: Le1-2-2 в п/зр, плоский эпителий 1-0-0 в п/зр
3. Биохимия крови – общ. белок 80,1 г/л, АЛТ – 13,1 ед/л, АСТ – 15,5 ед/л, глюкоза 4,54 ммоль/л, билирубин общий – 6,8 мкмоль/л, мочевины – 4,3 ммоль/л, креатинин – 51,2 ммоль/л.
4. Общий IgE – 74,8 МЕ\мл
5. Определение MMP-9 – 557,77 нг/мл
6. Определение уровня витамина D3 в сыворотке крови – 15,1 нг/мл (норма > 30 нг/мл)
7. ФВД (бронхофонограмма): умеренные нарушения проходимости средних и нижних путей.
8. МСКТ органов грудной клетки: Грудная клетка правильной формы, не деформирована. Мягкие ткани грудной клетки без видимых изменений. Трахеобронхиальное дерево развито типично. Просвет трахеи и главных бронхов прослеживается, свободен. Легкие воздушны и прилежат к грудной стенке по всей поверхности, свежих очаговых и инфильтративных теней не выявлено. В S1, S2, S3 правого легкого и S1, S2, S3, S4, S5, S8, левого легкого имеются тяжи пневмофиброза. Легочный рисунок выражен обычно. Корни легких не расширены, структурны, увеличение л/узлов не выявлено. Средостение: не смещено, не расширено. Сердце расположено типично, соответствует возрасту. Аорта не изменена. Костно-деструктивных изменений не выявлено. Заключение: Костные КТ – признаки полисегментарного тяжистого пневмофиброза обеих легких. Хронический бронхит.
9. ЭКГ – ритм синусовый, умеренная брадикардия с ЧСС 88 ударов в минуту. Нормальное положение ЭОС.
10. Консультация ЛОР-врача: острой патологии ЛОР-органов на момент осмотра не выявлено.
11. Генетическое исследование: выявлены генотип С/С rs3918242 гена MMP-9, генотип полиморфизма rs721917 гена SFTPD и генотип F\f полиморфизма FOK1 гена VDR.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Бронхолегочная дисплазия – полиэтиологическое хроническое заболевание морфологически незрелых легких, развивающееся у новорожденных, главным образом глубоко недоношенных детей, в результате интенсивной терапии респираторного дистресс-синдрома и/или пневмонии. Технологии выхаживания младенцев и их респираторной поддержки непрерывно совершенствуются, давая возможность сохранения жизни маленьким пациентам. Тем не менее последнее десятилетие показывает, что уровень заболеваемости БЛД только растет [6; 18].

Сегодня БЛД выходит на первое место по частоте и клинической значимости как наиболее распространенная форма ХЗЛ у детей [65; 85]. Достигнутый прогресс в понимании механизмов развития заболевания, применение усовершенствованных методов его диагностики и лечения приносят хорошие плоды. Тем не менее недуг сопровождается частыми госпитализациями, снижением качества жизни пациента, существенными финансовыми затратами, инвалидизацией, что обеспечивает высокую медико-социальную значимость данной проблемы.

Главными предикторами тяжести БЛД признаны длительность режимов ИВЛ, сопутствующая патология, ГВ, РДС [4; 6; 7; 8; 33; 37; 52; 68; 86; 95; 112; 122; 124]. В то же время у ряда недоношенных детей, несмотря на идентичные условия выхаживания, режимы вентиляционной поддержки, диагностируются различные варианты тяжести течения и исходов БЛД, что диктует необходимость дальнейшего изучения патогенетических механизмов.

Изучение недугов на современном этапе невозможно без понимания генетических их основ. Буквально все звенья реализации БЛД у детей затронуты разными вариантами генетических полиморфизмов, чем можно объяс-

нить вариабельность клинического течения и исходов заболевания при идентичных условиях выхаживания.

Вышеизложенное обуславливает необходимость углубленного изучения патогенетических механизмов БЛД в фокусе фенотип-ассоциированных полиморфизмов кандидатных генов, что позволит конкретизировать варианты генетической изменчивости с учетом степени тяжести и исходов заболевания. Комплексный анализ клинико-лабораторных и генетических показателей позволит расширить представления о патогенетических звеньях БЛД и будет способствовать формированию персонифицированных терапевтических алгоритмов.

Целью данного исследования стало: на основе многокомпонентного анализа клинико-anamnestических, биохимических и молекулярно-генетических факторов установить предикторы тяжести течения и вариантов исходов бронхолегочной дисплазии у детей.

Работа проведена на кафедре факультетской педиатрии (заведующая кафедрой – д-р мед. наук, профессор О.А. Башкина) ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава РФ.

В исследование было включено 146 детей (основная группа) с ранее установленным диагнозом БЛД в возрасте от 2 лет 11 месяцев до 4 лет 1 месяца ($3,35 \pm 0,13$ года). Пациентов обследовали и лечили на этапе пересмотра и снятия диагноза «бронхолегочная дисплазия» на базе ГБУЗ АО ОДКБ им. Н.Н. Силищевой, отделения пульмонологии, в период с 2016 по 2019 гг. С учетом степени тяжести БЛД пациенты были разделены на 3 группы.

В первую группу вошли 14 (9,6 %) пациентов, которым диагностировали легкую форму заболевания; вторая группа включала в себя 72 (49,3 %) ребенка со среднетяжелым течением БЛД; третью группу составили 60 (41,1 %) детей с тяжелым течением БЛД.

Согласно клиническим рекомендациям по диагностике и лечению БЛД у детей, исход заболевания верифицируется к 3 годам жизни [30]. В зависи-

мости от варианта трансформации диагноза пациенты были разделены на две подгруппы:

- первая – 88 детей ($3,7 \pm 0,43$ года), у которых наблюдалось восстановление морфофункциональных структур с реализацией в виде выздоровления или РБ;
- вторая – 58 ($3,2 \pm 0,66$ года) пациентов, у которых произошло формирование неблагоприятных исходов заболевания в виде ХБ или ОБ.

Диагнозы (ХБ, РБ и ОБ) устанавливали, базируясь на полученных сведениях комплексного клинико-инструментального обследования, согласно классификации клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей, одобренной на специальном заседании XVIII Национального конгресса по болезням органов дыхания (Екатеринбург, 12.12.2008 г.). [30].

Контрольная группа для проведения дополнительного биохимического исследования (определения уровня ММР-9 и кальцидиола в сыворотке крови) и генетического типирования была представлена 93 детьми в возрасте от 3 до 5 лет ($3,9 \pm 0,26$ года), которые появились на свет недоношенными с гестационным сроком от 27 до 35 недель ($29,3 \pm 3,2$), но не сформировали БЛД.

Исследование осуществлено в соответствии со стандартами оказания медицинской помощи детям с БЛД:

- на основе собственных наблюдений и данных анализа медицинской документации, заключения узких специалистов;
- осуществлен полный комплекс клинико-лабораторных методов обследования (общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, в который входит определение С-реактивного белка, глюкозы, креатинина, общего белка, мочевины, аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, общего билирубина); определен характер микробиоты дыхательных путей (мазок с задней стенки глотки, мокрота, бронхоальвеолярная жидкость);

- спектр инструментальных исследований представлен данными бронхофонограммы, КТ, ультразвукового исследования органов брюшной полости, забрюшинного пространства и эхокардиографии.

Для решения поставленных задач в работу были включены дополнительные исследования:

- анкетирование посредством разработанной анкеты-опросника для анализа клинико-anamnestических особенностей течения заболевания;
- определение MMP-9 в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем фирмы «ELISA Kit for MMP-9» (Cloud-Clone Corp., США).
- определение кальцидиола в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем фирмы ЗАО «Техсистемс» (Россия);
- молекулярно-генетические методы с целью определения полиморфизмов rs721917 гена SFTPD, полиморфизма rs 3918242435 гена MMP-9 и FOK1 полиморфизма гена VDR. В целях осуществления представленного анализа выделяли тотальную ДНК из лейкоцитов венозной крови с использованием: SDS, ЭДТА, протеиназы К, фенола. Генотипирование полиморфных маркеров исследуемых генов осуществляли посредством применения ПЦР и анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов.

Статистическую обработку результатов исследования реализовали общепринятыми методами вариационной статистики (средняя арифметическая, среднее квадратическое отклонение, коэффициент корреляции r , ошибка средней арифметической, t -критерий Стьюдента), для распределения генотипов – критерий Пирсона χ^2 . Для сравнения двух независимых выборок по уровню какого-либо признака, измеренного количественно, использовали критерий Манна-Уитни. Для проверки равенства медиан нескольких выборок применяли критерий Краскела-Уоллиса [17; 49; 58]. Математическая обработка данных осуществлена с использованием программы «Excel» для «Windows XP».

В процессе работы детально исследован анамнез 146 пациентов, проанализирована динамика клинических проявлений заболевания с момента рождения до этапа пересмотра диагноза.

Проведена сравнительная гендерная характеристика, обнаружившая преобладание мальчиков ($n = 98$) вне зависимости от срока гестации.

Малый ГВ является общеизвестным фактором риска БЛД. Выявлено, что у детей, рожденных с IV степенью недоношенности (в ГВ до 29 недель), легкое течение БЛД отмечалось у 2 (14,8 %) обследованных, в то время как тяжелое диагностировано у 18 (30,0 %) пациентов. Полученные данные совпадают с литературными, согласно которым низкий ГВ является предрасполагающим фактором для развития тяжелой формы БЛД у недоношенных младенцев $OR = 2,204$ (ДИ 0,995–4,883). Несмотря на уверенную тенденцию к реализации тяжелого течения БЛД при низких сроках гестации, и при IV степени недоношенности часть детей сформировали легкую форму недуга, а пациенты с ГВ 32 недели и более в 36,7 % случаев реализовали тяжелое течение заболевания.

Согласно полученным данным, дети с легкой степенью тяжести БЛД были рождены с низкой (до 2000 г) или очень низкой массой тела (до 1500 г). Среди недоношенных пациентов со среднетяжелой формой заболевания наблюдалась гетерогенность показателей массы при рождении с превалированием от 1000 до 2000 г (64,6 % случаев). Тяжелую форму достоверно чаще диагностировали у детей, рожденных с ЭНМТ (менее 1000 г). Таким образом, анализ данных показал, что масса тела при рождении менее 1000 г является предрасполагающим фактором к тяжелому течению БЛД у недоношенных младенцев ($\chi^2 = 11,181$, $p = 0,011$, $df = 3$, $OR = 2,643$ (ДИ 1,161–6,017)).

В ходе исследования оценивали влияние сопутствующей патологии на тяжесть течения БЛД. Анализировали следующие состояния: врожденные пороки сердца, поражения ЦНС, врожденную пневмонию и хронические оппортунистические инфекции (цитомегаловирусная инфекция, вирус Эпштейна-Барр, герпес I–II типа). Выявлена высокая частота поражений нервной

системы (церебральная ишемия, внутрижелудочковые кровоизлияния I–III степени, перивентрикулярная лейкомаляция) и врожденных пороков сердца. Несмотря на то, что статистическая значимость зафиксирована на уровне 10 %, данные коморбидные состояния преобладали у детей со среднетяжелой и тяжелой формой заболевания. Хронические оппортунистические инфекции были реализованы исключительно у детей со среднетяжелой и тяжелой формой недуга.

С учетом степени тяжести ДН дети получали респираторную поддержку, продолжительность которой составила от 3 суток до 3,5 месяцев. Анализ статистических данных свидетельствует о том, что новорожденные с легким течением получали наиболее кратковременную по длительности вентиляционную поддержку ($3,6 \pm 1,2$ дней) по сравнению с пациентами со средним ($5,1 \pm 11,8$ дней) и тяжелым ($4,9 \pm 1,2$ дней) течением ($h_{\text{эмп.}} = 6,23608$, $p = 0,04424$) в пределах 1 недели. В группе больных, находившихся на ИВЛ более месяца, длительность аппаратного дыхания при тяжелом течении заболевания была выше ($80,4 \pm 11,8$ дней), чем у новорожденных со средней ($51,3 \pm 11,7$ дней) и легкой ($38,5 \pm 0,5$ дней) формой недуга ($h_{\text{эмп.}} = 14,5522$, $p = 0,00069$). Несмотря на лидерство пациентов с тяжелой формой заболевания при длительных сроках вентиляционной поддержки, часть больных после проведения ИВЛ реализовала легкую форму заболевания.

Исследование ФВД является одним из важнейших критериев диагностики заболеваний респираторного тракта при оценке их тяжести и степени эффективности терапии. В ходе статистической обработки показателей бронхофонограммы выявлено, что у детей с легкой степенью тяжести недуга на момент пересмотра диагноза преобладали легкие и умеренные нарушения проходимости дыхательных путей. При среднетяжелом течении БЛД достоверно чаще наблюдали умеренные нарушения бронхиальной проходимости ($OR = 4,790$ (ДИ 2,278–10,073)). В то же время среди обследуемых больных с тяжелым течением недуга у 44 пациентов из 60 степень нарушения дыхательной проходимости была определена как выраженная.

В отличие от других систем, дыхательные пути имеют гомогенную микробиоту, которая уменьшается в биомассе от верхних отделов к нижним. Здоровое легкое не имеет обособленного микробиома, вместо этого оно содержит низкие уровни бактериальных сиквенсов, которые в значительной степени неотличимы от микрофлоры верхних дыхательных путей [105]. У детей с БЛД из 146 назофарингеальных мазков результат был положительным в 80 (54,8 %) случаях, в 66 (45,2 %) мазках флора не определялась или соответствовала показателям условно-патогенной микробиоты.

При комплексной оценке характера микробиоты с учетом тяжести течения БЛД у детей были получены статистически значимые различия, а именно – у пациентов с тяжелым течением заболевания достоверно чаще выявлены представители грамотрицательной микрофлоры (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*) ($\chi^2 = 18,181$, $p < 0,001$, $df = 2$).

Анализ формирования БОС на фоне инфекционных заболеваний дыхательных путей выявил, что у пациентов с тяжелой формой БЛД чаще диагностировался БОС на фоне респираторной инфекции (χ^2 с поправкой Йейтса = 3,576, $p = 0,059$, $df = 1$). Общеизвестно, что БОС у детей младшего возраста приводит к повторным госпитализациям с включением в комплекс лечения системных глюкокортикостероидов с последующим назначением ИГКС [5; 31; 43; 90; 91]. Определено, что дети с тяжелым течением БЛД достоверно чаще нуждаются в длительном применении ИГКС по сравнению с пациентами со среднетяжелой формой дисплазии (χ^2 с поправкой Йейтса = 10,59, $p = 0,002$, $df = 1$, OR = 4,250 (ДИ 1,797–10,051)). Как правило, БОС у данной когорты пациентов носит затяжной и рецидивирующий характер, а респираторные инфекции являются наиболее частым триггером обострения.

Таким образом, согласно проведенному клинико-анамнестическому исследованию можно утверждать, что основными предикторами тяжести БЛД признаны низкий ГВ (менее 29 недель), ЭНМТ при рождении, длительные сроки респираторной поддержки. При этом тяжелое течение заболевания ха-

рактируется рецидивирующим БОС, грамотрицательной микробиотой дыхательных путей, необходимостью в длительных курсах ИГКС, а также выраженными нарушениями ФВД согласно данным бронхофонограммы. Наши данные в целом соответствуют литературным данным [[5; 31; 43; 90; 91].

Анализ литературных данных свидетельствует о том, что у большинства младенцев наблюдается постепенное восстановление дыхательных функций с купированием основных клинических симптомов, таких как одышка, дистанционные хрипы и кашель. В то же время пациенты с тяжелой формой БЛД могут нуждаться в длительной дотации кислорода и сохранять признаки дыхательных расстройств. Именно у данной когорты больных высока вероятность трансформации БЛД в хронические формы легочных заболеваний, таких как ХБ и ОБ [37; 41; 50; 57; 72; 75; 78; 99; 100].

Согласно определению Классификации клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей (2008) [29], диагноз БЛД устанавливается у детей до 3-летнего возраста. В последующем происходит трансформация заболевания в хронические формы (ХБ и ОБ) или восстановление морфофункциональных структур легочной ткани с реализацией в виде выздоровления и РБ [50; 57; 72; 75]. По гендерному признаку больные основной когорты распределились следующим образом: 58 (59,2 %) мальчиков и 30 (62,5 %) девочек в первой группе пациентов; 40 (40,8 %) мальчиков и 18 (37,5 %) девочек – во второй. Статистически значимых различий между группами с благоприятным (выздоровление или РБ) и неблагоприятным исходом заболевания (ХБ, ОБ). Таким образом, влияние гендерных различий на варианты исхода БЛД у детей не обнаружено.

При анализе влияния степени тяжести заболевания на исходы БЛД у детей были выявлены статистически значимые различия. У пациентов с тяжелым течением БЛД достоверно чаще формируются ХЗЛ (OR = 7,556 (ДИ 3,580–15,947)), в то время как у больных со средней степенью тяжести превалируют благоприятные исходы заболевания в виде выздоровления и РБ (OR = 3,529 (ДИ 1,748–7,126)). Однако около трети пациентов со среднетя-

желой степенью недуга сформировали хронические бронхолегочные формы, в то же время 33,3 % пациентов с тяжелой степенью заболевания демонстрировали полную морфофункциональную легочную реабилитацию.

При анализе влияния ГВ на частоту формирования хронических заболеваний (ХБ и ОБ) и благоприятных исходов в виде выздоровления или РБ как исхода БЛД было выявлено, что у детей, рожденных в ГВ менее 31 недели, достоверно чаще в катамнезе диагностированы ХЗЛ ($\chi^2 = 8,411$, $p = 0,004$, $df = 1$). Несмотря на небольшую статистическую достоверность в пределах 10 %, наблюдается отчетливая тенденция к преобладанию пациентов с выздоровлением в 3-летнем возрасте при сроках гестации более 32 недель.

Статистический анализ данных установил, что исход определяется длительностью проводимой оксигенотерапии. Выявлено, что дети, сформировавшие в дальнейшем ХЗЛ, получали достоверно более длительно кислородную поддержку даже в пределах идентичных временных групп (до 3 недель и более месяца) ($p < 0,05$). Одновременно с анализом длительности, была проведена оценка параметров респираторной терапии. При анализе данных было выявлено, что 34 (58,6 %) пациента второй подгруппы вентилировали с использованием «жестких» параметров ($FiO_2 \geq 0,45$; $PiP \geq 26$ см вод.ст.) ($F = 0,00000$, $p < 0,05$), в то же время 24 (41,4 %) ребенка находились на ИВЛ «средних» режимов ($FiO_2 0,35-0,45$; $PiP 22-26$ см вод.ст.) ($\chi^2 = 7,470$, $p = 0,007$). В первой подгруппе только 18 (20,5 %) новорожденных находились на ИВЛ со «средними» параметрами, у остальных вентиляционные режимы определялись как «мягкие» ($FiO_2 \geq 0,35$, $PiP \geq 22$ см вод.ст.). Следовательно, одним из основных предикторов формирования исходов БЛД в виде ХЗЛ ($F = 0,00000$, $p < 0,05$) необходимо признать вентиляционную поддержку с «жесткими» параметрами, применяемую немедленно после рождения ребенка.

Коморбидная патология пациентов основной когорты была представлена врожденными пороками сердца, поражениями ЦНС гипоксическим ишемического генеза, оппортунистическими инфекциями, такими как цито-

мегаловирусная инфекция и вирус Эпштейна-Барр.

В данном исследовании врожденные пороки сердца у детей в исследуемых группах были представлены такими аномалиями как – гемодинамически значимый функционирующий артериальный проток, дефект межжелудочковой и межпредсердной перегородок, клапанный и надклапанный стеноз митрального и аортального клапанов, гипоплазия дуги аорты, транспозиция магистральных сосудов. При оценке частоты встречаемости пороков сердца и поражений ЦНС у детей с благоприятными и с неблагоприятными исходами заболевания достоверных различий между подгруппами не выявлено.

Дети с БЛД часто подвержены инфицированию респираторными вирусами [93].. Согласно результатам исследования, дети с ХЗЛ статистически значимо чаще переносили ОРВИ (более 8 раз в год, что соответствует показателю часто болеющего ребенка в возрасте до 3 лет), чем пациенты из первой подгруппы. У больных первой подгруппы ранний старт (на первом году жизни) заболеваний назофарингеальной зоны вирусной этиологии наблюдался достоверно реже, чем у детей с хроническими бронхолегочными заболеваниями легких в анамнезе. Таким образом, ранний старт (до года) и высокая частота респираторно-вирусных инфекций у детей с БЛД являются одними из предрасполагающих факторов неблагоприятного исхода БЛД в виде ХЗЛ, таких ХБ и ОБ ($\chi^2 = 5,655$, $p < 0,05$, $df = 1$; $\chi^2 = 14,067$, $p < 0,001$, $df = 1$).

Известно, что данные, полученные при проведении КТ легких, предоставляют подробную информацию о структурно-морфологических изменениях легочной ткани, бронхов, медиастанальных лимфатических узлов и аорты. При этом существует возможность оценки не только локализации процесса, но и степени повреждения [107]..

КТ легких у пациентов в возрасте 3 лет, а именно – на момент пересмотра диагноза, свидетельствует о том, что у детей с тяжелым и среднетяжелым течением заболевания изменения в виде эмфиземы, булл, ателектазов, локального и распространенного пневмофиброза встречаются достоверно чаще, чем у больных с легкой формой ($\chi^2 = 19,752$, $p < 0,01$, $df = 5$).

Таким образом, согласно проведенному исследованию, основными клиническими предикторами ХЗЛ у детей являются: тяжелое и среднетяжелое течение заболевания, низкий ГВ (до 31 недели), «жесткие режимы» и длительность респираторной поддержки, ранний старт (до года) и высокая частота респираторно-вирусных инфекций/.

Однако, несмотря на выявленные закономерности формирования степени тяжести и исходов заболевания, у ряда недоношенных детей с идентичными условиями выхаживания, режимами вентиляционной поддержки диагностировали различные варианты тяжести течения и исходов БЛД, что побудило к дальнейшему изучению патогенетических механизмов в фокусе фенотип-ассоциированных полиморфизмов кандидатных генов и факторов тканевого ремоделирования матричных металлопротеиназ.

Среди нерешенных вопросов развития, течения и вариантов исходов БЛД особое место занимает состояние внеклеточного матрикса, деградация которого осуществляется ферментами, обладающими протеолитической активностью, при этом ключевым фактором является система ММР. В ходе работы проведен анализ показателей содержания в сыворотке крови ММР-9 и варианты исходов БЛД. Достоверного различия показателей в обеих группах пациентов с БЛД старше 3-летнего возраста относительно друг друга и группы контроля не выявлено. В то же время прослеживается тенденция к пограничным максимальным значениям фермента в группе формирования хронических заболеваний.

Результаты данного исследования совпадают с рядом ранее проведенных работ. Так, согласно трудам М.А. Басаргиной с коллективом соавторов [9], наблюдалось достоверное снижение показателей желатиназы В как в сыворотке крови, так и в бронхоальвеолярном лаваже у детей с БЛД по мере взросления с достоверным снижением до референтных значений к 1,5–2 годам жизни. При этом тенденция к снижению показателей была более выражена у детей, получавших препараты сурфактанта при рождении. В данном исследовании все пациенты в раннем неонатальном периоде получили одно-

кратно или двукратно Poractant alfa, что, видимо, явилось одной из причин снижения воспалительной реакции и достижения показателей, сопоставимых с группой контроля к 3-летнему возрасту в обеих группах [9].

Вероятно, у детей с благоприятным исходом БЛД нормализация уровня ММР-9 по мере взросления связана с завершением процессов фиброзирования на фоне увеличения объема нормально функционирующей легочной ткани [1; 9]. Возможно, у детей с ХЗЛ процессы реорганизации тканей к 3-летнему возрасту частично завершены, следовательно, к моменту пересмотра диагноза наблюдается уверенная тенденция к снижению показателей ММР в сыворотке крови до пограничных референтных значений. В то же время это может быть и прогностически неблагоприятным фактором, а именно – предиктором резистентности к проводимой терапии, в том числе глюкокортикоидами, что прослеживается у больных бронхиальной астмой с низкими значениями данного фермента [45]. Однако подобные суждения требуют дальнейших исследований с динамическим мониторингом клинической картины и функциональных показателей у таких пациентов.

Таким образом, согласно проведенному исследованию, к моменту пересмотра диагноза у детей с новой формой БЛД наблюдаются референтные сывороточные значения ММР-9, что может быть связано с завершением процессов фиброзирования легочной ткани, с одной стороны, и благоприятным влиянием введения сурфактанта в неонатальном периоде, с другой. В то же время определены показатели желатиназы-В в зависимости от степени тяжести заболевания, периода заболевания и исходов, что с учетом клинической картины заболевания дает возможность истолковывать ее как еще один диагностический маркер воспаления.

Одним из перспективных кандидатов в регулировании процессов воспаления при хронических заболеваниях респираторного тракта является витамин D3 за счет мультифакториального влияния на систему воспаления. Согласно дизайну исследования, были проанализированы ассоциации VD-статуса в контексте степени тяжести, вариантов исходов, частоты ОРВИ у детей с БЛД на

этапе пересмотра диагноза, а также конкретизированы значения VD в сыворотке крови у недоношенных детей Астраханской области, не сформировавших БЛД, для сравнительной характеристики с основной когортой. Руководствуясь национальной программой «Недостаточность витамина D у детей и подростков РФ» 2018 г., дефицит VD определяли как концентрацию 25(OH)D в сыворотке крови < 20 нг/мл, недостаточность – от 20 до 30 нг/мл, адекватные уровни – 30–100 нг/мл [44].

Согласно результатам, в основной когорте пациентов статистически значимо чаще определяли недостаточность VD (χ^2 с поправкой Йейтса = 6,422, df = 1, p = 0,012, OR–3,143 (ДИ 1,351–7,313)), тогда как в контрольной группе – референтные значения.

Только у 54,9 % детей контрольной группы были выявлены референтные значения VD, в остальных случаях отмечалось снижение уровня кальцидиола различной степени, а именно – дефицит у 27,5 % пациентов и недостаточность витамина D у 17,6 % детей. Данные исследования отображают крайне неблагоприятную эпидемиологическую ситуацию гиповитаминоза D у детей в Астраханской области как части глобальной медико-социальной проблемы D-дефицита в стране и мире.

Согласно результатам статистического анализа, дефицит VD ассоциирован с вариантом тяжести течения БЛД. А именно – у детей с дефицитными значениями статистически значимо чаще регистрировалась тяжелая форма заболевания ($\chi^2 = 21,500$, df = 1, p < 0,001, OR–11,733 (ДИ 3,760–36,615)), в то время как при референтных значениях и уровне, соответствующим недостаточности VD, – среднетяжелое течение БЛД ($\chi^2 = 17,379$, df = 1, p < 0,001). Анализ результатов свидетельствует о том, что дефицит VD ассоциирован с развитием ХЗЛ у детей с БЛД в качестве исходов ($\chi^2 = 23,036$, df = 1, p < 0,001, OR–14,000 (ДИ 4,557–43,010)), в то время как при референтных значениях статистически чаще регистрируется выздоровление или РБ ($\chi^2 = 15,021$, df = 1, p < 0,001, OR–22,447 (ДИ 2,835–177,728)).

Проведенный анализ позволяет утверждать, что изменение показателей

сывороточного кальцидиола оказывает модифицирующее влияние на исходы БЛД и особенности ее течения.

В ходе работы определено, что концентрация сывороточного кальцидиола способна влиять на фенотипические характеристики БЛД, вероятно, за счет геномных и негеномных механизмов регуляции хронического воспаления. Выявлена связь между VD-статусом, тяжестью течения, кратностью респираторных инфекций и вариантами исходов заболевания. Результаты данной работы подтверждают мнение многих исследователей о непосредственном участии активных метаболитов VD в регулировании процессов воспаления. Доказано, 1,25(OH)₂D обладает рецепторами в нескольких типах клеток легких и способствует снижению интенсивности воспалительной реакции. Витамин D участвует в пролиферации и дифференцировке клеток крови и иммунокомпетентных клеток, регулирует иммуногенез и реакции иммунитета, активизирует выработку эндогенных антимикробных пептидов в эпителии и фагоцитах, ограничивает воспалительные процессы путем регуляции выработки цитокинов, модулирует врожденную иммунную систему и адаптивный иммунный ответ, регулирует апоптоз. Указанные свойства контролируют хроническое воспаление в легочной ткани, что способствует моделирующему влиянию на степень тяжести БЛД [44; 101; 169].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о необходимости назначения и мониторинга сывороточного уровня VD у детей с БЛД с динамической коррекцией дозы до достижения референтных показателей для улучшения прогноза и качества жизни данной категории больных.

В результате поиска однонуклеарных полиморфных замен с предполагаемым фенотипическим эффектом в промоторных и интронных областях с помощью методов биоинформатики выделены полиморфизм rs3918242 гена MMP-9, полиморфизм rs721917 гена SFTPD и полиморфизм FokI (rs2228570) гена рецептора витамина D. Чтобы оценить их влияние, проанализированы

ассоциации клинических проявлений БЛД и вариантов исхода с полиморфными вариантами представленных генов, изучена частота этих полиморфизмов в выборках пациентов с БЛД и в контрольной группе. При изучении данных больных с различными аллелями и генотипами рассматривали параметры: ГВ, пол, антропометрические данные, длительность проведения респираторной поддержки, характер коморбидной патологии, кратность и тяжесть БОС, наличие и объем базисной терапии, кратность и возраст старта ОРВИ, характер микробиоты дыхательных путей, функциональные показатели легких, согласно данным бронхофонограммы, морфологические изменения легочной ткани по результатам проведенной КТ легких.

В ходе исследования достоверных различий по частоте встречаемости частот аллелей С и Т и генотипов С/С, С/Т и Т/Т по полиморфизму MMP-9 rs3918242 в контрольной группе и у пациентов с БЛД не выявлено ($\chi^2 = 5,257$, $p = 0,073$, $df = 2$). В то же время анализ статистических данных показал гендерные различия по распределению генотипов: генотип С/С является протективным у мальчиков в основной группе больных ($\chi^2 = 5,049$, $p = 0,025$, $df = 1$, OR = 0,200 (ДИ 0,044–0,917))

Несмотря на то, что статистический анализ не выявил значимой связи данного полиморфизма со степенью тяжести заболевания ($\chi^2 = 3,89$, $p = 0,421$, $df = 4$) и вариантами исходов БЛД ($\chi^2 = 1,820$, $p = 0,403$, $df = 2$), определяется достоверное влияние генотипа С/С полиморфизма rs3918242 гена MMP-9 на длительность респираторной поддержки. А именно: гомозиготный мажорный генотип является предрасполагающим для краткосрочной ИВЛ ($\chi^2 = 7,185$, $p = 0,008$, $df = 1$, OR = 5,000 (ДИ 1,574–15,880)) и протективным по отношению к длительным срокам ИВЛ (более 1 месяца) (OR = 0,510 (ДИ 0,104–0,768)).

Известно, что повышение MMP-9 в сыворотке крови следует рассматривать как маркер неврологических нарушений, в частности гипоксически-ишемического поражения. MMP-9 способна действовать на ангиогенез, нарушать проницаемость гематоэнцефалического барьера и обеспечивать нейтрофильную инфильтрацию ЦНС [9; 35; 56]. Таким

образом, варианты полиморфизмов генов ММР-9, модулирующие экспрессию ММР, могут быть ассоциированы с перинатальным поражением у недоношенных детей [56]. В то же время в данном исследовании статистически значимых ассоциаций генотипов и аллелей с частотой поражения ЦНС у детей в раннем неонатальном возрасте, согласно анамнестическим данным, не выявлено ($\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 6,187$, $p > 0,05$, $p = 0,056$, $df = 2$).

Согласно полученной статистике, ассоциаций между полиморфизмом гена ММР-9 и частотой ОРВИ, а также наличием первых эпизодов ОРВИ до года не выявлено ($\chi^2 = 0,092$, $p = 0,955$, $df = 2$). Однако выявлено, что генотип С/С является предрасполагающим к развитию БОС у детей на фоне респираторной инфекции ($\chi^2 = 16,133$ ($p < 0,001$), $df = 1$, $OR = 7,200$ (ДИ 2,550–20,333)), тогда как совокупное влияние генотипов С/Т и Т/Т оказывает протективное действие по данному признаку ($\chi^2 = 6,318$, $p = 0,012$, $OR = 0,216$ (ДИ 0,071–0,662), $df = 1$; $\chi^2 = 7,038$, $p = 0,008$, $OR = 0,125$ (ДИ 0,021–0,731)). Анализ результатов свидетельствует о том, что генотип С/С является упреждающим к длительным срокам использования ИГКС у детей с БЛД ($\chi^2 = 4,203$, $p = 0,041$, $df = 1$, $OR = 3,429$ (ДИ 1,185–9,917)). Видимо, данная ассоциация может быть обусловлена способностью промоторной области ММР-9, имеющей в своем составе функциональные места к связыванию энхансеров, таких как NF-κB и AP-1 сайты, что обеспечивает индукцию ключевых цитокинов и медиаторов воспаления, влияя на уровень воспалительной реакции.

При генетической вариабельности полиморфизма rs3918242 гена ММР-9 получены статистически значимые различия по влиянию генотипов на характер микробиоты дыхательных путей у детей с БЛД. У пациентов с генотипом С/С и аллелем С достоверно чаще выявлялись представители грамотрицательной флоры (*P. aeruginosa*, *Klebsiella*, *E. coli*), ($\chi^2 = 9,708$, $p = 0,008$, $df = 2$), в то же время генотип Т/Т и минорный аллель являются предрасполагающими к грамположительной флоре ($\chi^2 = 9,373$, $p = 0,010$, $df = 2$). Выяв-

ленная закономерность может быть связана с модулирующим действием генотипа на способность ММР-9 к клеточной инвазии [2].

Анализ функциональных показателей легких у детей с БЛД ($\chi^2 = 4,713$, $p = 0,095$, $df = 2$) и данных КТ легких ($\chi^2_{C/C-T/C-T/T} = 17,169$, $p > 0,05$, $df = 10$) в свете влияния генотипов полиморфизма rs3918242 гена ММР-9 достоверных различий не выявил.

Таким образом, в ходе работы было доказано, что, несмотря на ассоциацию генотипа C/C полиморфизма rs3918242 гена ММР-9 с краткосрочной респираторной поддержкой, при нем увеличивается частота развития БОС на фоне респираторных инфекций у детей, повышает риск инфицирования дыхательных путей грамотрицательной микрофлорой и ассоциирован с необходимостью длительного применения ИГКС.

Статистический анализ распределения генотипов и аллелей полиморфизма rs721917 гена SFTPD определил, что гетерозиготный генотип C/T является предрасполагающим для формирования БЛД у недоношенных детей ($\chi^2 = 5,807$, $p = 0,016$, $df = 1$, OR = 2,002 (ДИ 1,135–3,533)).

При осуществлении сравнительного анализа распределения частот аллелей (C, T) и генотипов (C/C, C/T, T/T) достоверных различий с учетом степени тяжести и гендерного признака не выявлено. В то же время прослежена связь полиморфизма с вариантами исходов заболевания. Определено, что у детей с генотипами C/C и аллелем C (OR = 1,923 (ДИ 1,022–3,617)) достоверно чаще формировались ХЗЛ, такие как ХБ и ОБ ($\chi^2 = 11,706$, $p < 0,001$, $df = 1$). Показано, что доля генотипа T/T существенно увеличена в группе пациентов с благоприятным исходом БЛД в виде выздоровления и рецидивирующего бронхита 83,3 % ($\chi^2 = 5,681$, $p = 0,018$). Таким образом, генотип C/C и аллель C являются маркерами предрасположенности к формированию ХЗЛ (OR = 4,400 (ДИ 1,833–10,563)), в то время как генотип T/T является протективным.

Возможно, именно данные генотипы ассоциированы с биохимической модификацией мультимерных SP-D, которые могут индуцировать провоспалительную и противовоспалительную сигнализацию SP-D в зависимости от высо-

комолекулярной или низкомолекулярной формы, что подтверждается данными литературы [60; 150; 158; 182].

Принимая во внимание биологическую активность сурфактантного протеина D в отношении неспецифического звена иммунитета, было изучено влияние генотипов SFTPD на частоту и старт вирусных инфекций у детей с БЛД. Согласно полученным статистическим данным, ассоциаций между генотипами полиморфизма rs721917 гена SFTPD и частотой ОРВИ, а также наличием первых эпизодов ОРВИ до года не выявлено ($\chi^2 = 0,281$, $p = 0,869$, $df = 2$ и $\chi^2 = 1,520$, $p = 0,468$, $df = 2$ соответственно). Кроме того, не установлено ассоциаций генотипов и аллелей с кратностью БОС у детей и сроками терапии ИГКС ($\chi^2 = 3,985$, $p > 0,05$, $p = 0,139$, $df = 2$).

Ряд исследователей доказал, что SP-D способствует санации легких от бактериальных и вирусных патогенов, связываясь с гликококконъюгатами и частью липидов. SP-D взаимодействует со специфическими рецепторами на поверхности иммунных клеток и трансформирует их функцию, увеличивает силу фагоцитоза микробов иммунными клетками (нейтрофилы и макрофаги). [59]. В ходе исследования выявлено, что у пациентов с генотипом T/T достоверно чаще отсутствует колонизация патогенной бактериальной флорой дыхательных путей ($\chi^2 = 6,238$, $p = 0,045$, $df = 2$). В то же время несмотря на отсутствие достоверных различий, у пациентов с аллелем C в генотипах микрофлора дыхательных путей чаще характеризовалась колонизацией грамотрицательных бактерий или патогенных грамположительных организмов (MRSA). Возможно, выявленные ассоциации связаны с модулирующим влиянием генотипов на уровень SP-D, который оказывает антимикробное действие и угнетает процесс воспаления за счет прямых микробных взаимодействий и модуляции реакций клеток хозяина через ряд клеточных рецепторов. Однако низкие концентрации белка, генетическая изменчивость, биохимическая модификация и протеолитический распад могут индуцировать разложение мультимерных SP-D в низкомолекулярные формы, которые могут индуцировать провоспалительную сигнализацию SP-D [59].

Анализ влияния генотипов на функциональные характеристики, согласно данным бронхофонограммы и морфологическим изменениям легких по результатам КТ легких, достоверных различий не выявил.

Известно, что ген VDR находится на коротком плече хромосомы 12 (12q13.1) и состоит из 9 экзонов и 8 интронов, обладает высокой вариабельностью полиморфных последовательностей, появляющихся в кодирующих и некодирующих частях гена. Это обуславливает трансформацию его функции посредством активации экспрессии гена.

Выявлено достоверное различие частот аллелей по модификации FOK1 гена VDR. У больных БЛД частота аллеля F составила 73,1 %, а минорного f – 26,9 %. Таким образом, полученная ассоциация полиморфизма FOK1 позволяет рассматривать его в качестве кандидатного полиморфизма в развитии БЛД: OR = 1,924 (ДИ 1,108–3,342).

В ходе сравнительного анализа распределения частот аллелей (F, f) и генотипов (F/F, F/f, f/f) было выявлено достоверное различие между группами пациентов с легкой, среднетяжелой и тяжелой формой БЛД. В группе детей со средней степенью тяжести преобладали пациенты с генотипом F/f ($\chi^2 = 7,561$, $p = 0,023$, $df = 2$, OR = 3,661 (ДИ 1,317–10,205)).

Анализ статистических данных показал неравномерное распределение генотипов по группам пациентов с различной длительностью ИВЛ. В группе детей с длительностью ИВЛ до 1 недели генотип F/F встречался достоверно чаще (OR = 5,625 (ДИ 2,050–15,436)). Помимо этого, статистический анализ демонстрирует, что в группе пациентов, нуждавшихся в наименьшей по длительности респираторной поддержке, предрасполагающее влияние оказывал аллель F (OR = 3,438 (ДИ 1,346–8,781)).

Согласно проведенному анализу, не выявлено влияние полиморфизма FOK1 гена VDR на исходы БЛД у детей ($\chi^2 = 3,718$, $p = 0,156$, $df = 2$), схемы ингаляционной поддержки глюкокортикостероидами ($\chi^2 = 5,519$, $p = 0,064$, $df = 2$), варианты дыхательной микробиоты ($\chi^2 = 6,564$, $p = 0,161$, $df = 4$).

Обострение БЛД, как правило, ассоциировано с присоединением ОР-

ВИ. Согласно данным многочисленных исследований, ядерный рецептор витамина D прямо воздействует на недифференцированные и инактивированные Т-хелперы, Т-регуляторы, активированные Т-клетки и дендритные клетки. [167; 175; 181; 191]. С учетом сказанного был проведен поиск ассоциации полиморфизма FOK1 гена VDR с частотой и стартом вирусных инфекций у детей с БЛД. При анализе полученных данных выявлена достоверная взаимосвязь гетерозиготного генотипа F/f полиморфного маркера FOK1 гена VDR с высокой частотой ОРВИ ($F = 0,00618$, $p < 0,05$, $df = 1$), а также их ранним стартом ($F = 0,00003$, $p < 0,05$, $df = 1$). Таким образом, F/f является генетическим предиктором раннего старта (до года) и высокой частоты ОРВИ у детей с БЛД (OR = 5,000 (ДИ 1,514–16,510)).

Согласно статистическому анализу, генотип F/f и мутантный аллель f являются предрасполагающими к тяжелому течению БОС во время обострения БЛД ($\chi^2 = 35,4676$, $p = 0,002$, OR = 18,000 (ДИ 4,728–68,533) и $\chi^2 = 17,578$, $p < 0,001$, OR = 5,000 (ДИ 3,011–33,209)).

Согласно данным литературы, уровень VD обеспечивает защиту от инфекции за счет генов, работа которых регулируется 25(OH)D₃. Такие участки названы VDRE (vitamin D response elements), они примыкают к генам, кодирующим пептиды кеталицидин и р2-дефензин антимикробных пептидов, обладающих противомикробной активностью. Кеталицидины представляют собой главные белки специфических гранул нейтрофилов, обладают прямой антимикробной активностью и оказывают синергический антибактериальный эффект с дефензинами. Инфекция дыхательных путей приводит к активации витамина D и увеличению концентрации мРНК кеталицидина [79; 101; 181; 191].

Сравнительный анализ данных показал, что у гетерозиготных носителей генотипа F/f полиморфного маркера FOK1 гена VDR достоверно чаще имелись тяжелые поражения ЦНС ($\chi^2 = 15,238$, $p < 0,001$, $df = 1$), в то время как в группе детей с гомозиготным генотипом f/f ни у одного пациента не выявлено поражений ЦНС.

Таким образом, генотип F/f является предрасполагающим генетическим фактором к развитию нейроваскулярных поражений у детей с БЛД (OR = 9,000 (ДИ 1,638–49,447)). У российских пациентов с артериальной гипертензией изучено распределение генотипов FokI гена VDR. Доказан более ранний старт заболевания у лиц с FF- и Ff генотипами в сопоставлении с лицами, обладающими генотипом ff. Описано, что неврологические расстройства, связанные с дефицитом витамина D, включают в себя цереброваскулярные патологии (сосудистая деменция, ишемический инсульт), рассеянный склероз (в том числе более высокую частоту рецидивов и большее число поражений, устанавливаемых по результатам магнитно-резонансной томографии), болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, атеросклероз сонных артерий и эпилепсию. Возможно, васкулярные изменения, ассоциированные с данным полиморфизмом FOK1 гена VDR являются одной из причин высокой частоты встречаемости поражения ЦНС у недоношенных младенцев с БЛД. Однако это предположение требует дальнейших исследований.

Функциональные методы исследования внешнего дыхания являются основополагающим диагностическим инструментом при диагностике степени и характера изменения у пациентов с острой и хронической бронхолегочной патологией. Согласно статистическому анализу, у детей с легкими нарушениями ФВД идентифицировался генотип F/F, в то время как с умеренными и выраженными изменениями лидировал гетерозиготный вариант полиморфизма FOK1 – F/f.

Таким образом, в ходе проведенного исследования было доказано влияние генотипа F/f полиморфного локуса FOK1 гена VDR на вероятность реализации частых эпизодов ОРВИ, их старт на первом году жизни и модификацию чувствительности к инфекционным агентам с воплощением тяжелого БОС. Данный генотип ассоциирован с тяжелыми поражениями ЦНС. .

Это позволяет сделать выводы, что, в ходе проведенного исследования было доказано влияние полиморфизма FOK1 на вероятность реализации заболевания и модификацию чувствительности к инфекционным агентам с во-

площением тяжелого БОС. Представляется оправданным рекомендовать генотипирование на наличие неблагоприятных аллелей полиморфизма FOK1 гена VDR для объективизации прогноза течения и выработки персонализированных программ VD-терапии у данной категории больных.

Проведенное генетическое исследование позволяет выявить возможные гены-кандидаты, осуществляющие вклад в реализацию заболевания, с одной стороны, и модифицирующие его течение и исходы, с другой, при сопоставимых антропометрических данных, сроках и методах кислородной поддержки, ГВ недоношенных детей. Результаты могут способствовать осуществлению спланированных мероприятий профилактического характера, повышению эффективности терапии, формированию новых этиопатогенетических подходов в лечении, что может улучшить качество жизни пациентов.

Анализ генетических полиморфизмов позволяет говорить о том, что исследование генетических основ БЛД – актуальная задача, так как в настоящее время трудно представить полноценную картину взаимодействия генетических и средовых факторов в реализации столь сложного патологического фенотипа. Выявление «полей действия» комплексов генов, их плеiotропных эффектов для патологических фенотипов даст возможность решить непростую задачу уточнения генетической основы заболевания и приблизит к пониманию механизмов взаимодействия полигенных систем в процессе реализации наследственной информации на уровне целостного организма.

ВЫВОДЫ

1. Основными факторами формирования тяжелого течения БЛД у детей являются: низкий гестационный возраст, масса тела менее 1000 г, грамотрицательный характер микробиоты дыхательных путей. Определено, что основными предикторами формирования ХЗЛ у детей с БЛД являются: тяжелое и средне-тяжелое течение заболевания, низкий гестационный возраст (до 31 недели), «жесткие режимы» и длительность респираторной поддержки, ранний старт (до года) и высокая частота респираторно-вирусных инфекций.

2. Уровень ММР-9 в сыворотке крови у детей с БЛД отражает остроту воспалительного процесса в легких, поэтому его определение может рассматриваться в качестве патогенетического маркера воспаления. На этапе трансформации диагноза БЛД статистически значимых различий уровня ММР-9 в зависимости от исходов и степени тяжести заболевания не выявлено. Дефицит кальцидиола в сыворотке крови ассоциирован с тяжелым течением БЛД, высокой кратностью респираторных инфекций дыхательных путей и развитием ХЗЛ в качестве исходов заболевания.

3. Установлено предрасполагающее влияние генотипа С/С полиморфизма rs3918242 гена ММР-9 на формирование БЛД у девочек. Генотип С/С ассоциирован с высокой частотой БОС на фоне респираторных инфекций, риском колонизации дыхательных путей грамотрицательной микрофлорой и длительной терапией ингаляционными глюкокортикостероидами.

4. Доказано, что присутствие генотипа С/С полиморфизма rs721917 гена SFTPD является генетическим предиктором реализации ХЗЛ у детей. Генотип Т/Т оказывает предрасполагающее действие на выздоровление детей и снижает риск инфицирования дыхательных путей патогенной микрофлорой.

5. Получена ассоциация полиморфизма FOK1 гена VDR с развитием БЛД у детей. Доказано предрасполагающее действие генотипа F/f полиморфного локуса FOK1 гена VDR на ранний старт, высокую частоту ОРВИ и на

реализацию более тяжелого течения БОС у детей с БЛД.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендовать использование клинико-anamnestических и молекулярно-генетических показателей формирования и неблагоприятного течения БЛД для персонифицированного подхода к терапии.

2. Целесообразно мониторирование уровня кальцидиола в сыворотке крови у детей с БЛД носителями неблагоприятных генотипов полиморфизма FOK1 гена VDR 1 раз в месяц, с динамической коррекцией дозы до достижения референтных показателей для улучшения прогноза заболевания и качества жизни данной категории больных.

3. Полученные данные по распределению полиморфизмов rs3918242 гена MMP-9, rs721917 гена SFTPD, FOK1 гена VDR в популяции недоношенных младенцев без формирования БЛД в Астраханской области могут быть рекомендованы как опорные для дальнейших эпидемиологических генетических исследований, а так же как предикторы тяжести течения и исходов БЛД.

4. Рекомендовать прием витамина D по 3000 МЕ в сутки в когорте детей с БЛД с дефицитом и 2000МЕ в сутки с недостаточностью витамина Д, с контролем показателя через 1 месяц, до достижения целевых значений, с последующим переходом на 1000 МЕ в сутки.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БЛД	- бронхолегочная дисплазия
БОС	- бронхообструктивный синдром
ГВ	- гестационный возраст
ДН	- дыхательная недостаточность
ИВЛ	- искусственная вентиляция легких
ИГКС	- ингаляционные глюкокортикостероиды
КТ	- компьютерная томограмма
ОБ	- облитерирующий бронхит
ОГК	- органы грудной клетки
ОРВИ	- острая респираторная вирусная инфекция
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РБ	- рецидивирующий бронхит
РДС	- респираторный дистресс-синдром
ФВД	- функция внешнего дыхания
ФНО	- фактор некроза опухоли
ХБ	- хронический бронхит
ХДН	- хроническая дыхательная недостаточность
ХЗЛ	- хроническое заболевание легких
ХОБЛ	- хроническая обструктивная болезнь легких
ЦНС	- центральная нервная система
ЭДТА	- этилендиамидтетраацетат Na
ЭНМТ	- экстремально низкая масса тела
IL-4	- интерлейкин-4
IL-5	- интерлейкин-5
IL-8	- интерлейкин-8
IL-10	- интерлейкин-10
ММР	- матриксная металлопротеиназа
OR(odd ratio)	- отношение шансов
SFTPD	- сурфактантный белок D
ТИМР	- тканевые или эндогенные ингибиторы металлопротеиназ
VDR	- рецептор витамина D
VDBPs	- витамин-D-связывающие белки

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аверьянов, П. Ф. Взаимосвязь синдрома дыхательных расстройств и морфологии легочной ткани в различные сроки гестации [Текст] / П. Ф. Аверьянов, Л. М. Федорова // Сборник резюме XIII Национального конгресса по болезням органов дыхания (Санкт-Петербург, 9–13 ноября 2003 г.) / под ред. А. Г. Чучалина. – М. : ДизайнПресс, 2003. – С. 11.
2. Амосов, В. И. Лучевая диагностика интерстициальных заболеваний легких [Текст] / В. И. Амосов, А. А. Сперанская. – СПб. : Элби, 2015. – 176 с.
3. Ахмадеева, Э. Н. Соматическое здоровье детей на первом году жизни с низкой и экстремально низкой массой тела при рождении, перенесших респираторный дистресс-синдром [Текст] / Э. Н. Ахмадеева, Н. Н. Кривкина, О. А. Брюханова // Вестник РГМУ. – 2008. – № 63 (4). – С. 11–12.
4. Байбарина, Е. Н. Современный взгляд на условия выхаживания новорожденных [Текст] : методические рекомендации / Е. Н. Байбарина, И. И. Рюмина, А. Г. Антонов, Д. Мур, А. А. Ленюшкина. – М. : Эники, 2010. – 54 с.
5. Балашова, Е. Д. Эффективность ингаляционных β -2-агонистов и глюкокортикоидов при бронхообструктивном синдроме у новорожденных детей с «ИВЛ-ассоциированной» пневмонией и бронхолегочной дисплазией [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.09 / Е. Д. Балашова. – М., 2008. – 26 с.
6. Баранов, А. А. Современные подходы к профилактике, диагностике и лечению бронхолегочной дисплазии [Текст] / под ред. А. А. Баранова, Л. С. Намазовой-Барановой, И. В. Давыдовой. – М. : ПедиатрЪ, 2013. – 176 с.
7. Басаргина, Е. Ю. Современные методы клинико-инструментального обследования и прогнозирования течения бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.08 / Е. Ю. Басаргина. – М., 2016. – 24 с.

8. Басаргина, М. А. Диагностика врожденных бронхолегочных заболеваний у детей, перенесших ИВЛ в неонатальном периоде [Текст] / М. А. Басаргина, Г. В. Яцык, И. В. Давыдова // Практика педиатра. – 2008. – № 3. – С. 62–65.

9. Басаргина, М. А. Значение матриксных металлопротеиназ в формировании и течении бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.09 / М. А. Басаргина. – М., 2009. – 23 с.

10. Батман, Ю. А. Морфологические особенности легочной ткани у недоношенных детей, обусловленные бронхолегочной дисплазией [Текст] / Ю. А. Батман, К. В. Поляков, Д. А. Бессонов, В. В. Павлюченко // Неонатология, хірургія та перинатальна медицина. – 2012. – Т. 2, № 1 (3). – С. 59–65.

11. Беляева, И. А. Роль генетических факторов в формировании бронхолегочной дисплазии у детей [Текст] / И. А. Беляева, И. В. Давыдова // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2012. – Т. 4, № 5. – С. 5–9.

12. Беляшова, М. А. Молекулярно-генетические механизмы развития бронхолегочной дисплазии [Текст] / М. А. Беляшова, Д. Ю. Овсянников, Л. М. Огородова // Неонатология : новости, мнения, обучение. – 2015. – № 3. – С. 50–68.

13. Богданова, А. В. Система оказания помощи детям с бронхолегочной дисплазией на различных этапах ведения больных [Текст] : методические рекомендации МЗ РФ / А. В. Богданова, Е. В. Бойцова, С. В. Старевская. – СПб. : Издательский дом СПбМАПО, 2004. – 16 с.

14. Бойцова, Е. В. Последствия бронхолегочной дисплазии для респираторного здоровья детей, подростков и молодых взрослых [Текст] / А. В. Богданова, Е. В. Бойцова, Д. Ю. Овсянников // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2013. – Т. 5, № 1. – С. 5–11.

15. Бойцова, Е. В. Респираторные, неврологические и структурно-функциональные последствия бронхолегочной дисплазии у детей и взрослых

[Текст] / Е. В. Бойцова, Е. Ю. Запелова, Д. Ю. Овсянников // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2014. – № 1. – С. 71–79.

16. Бойцова, Е. В. Хронический бронхиолит у детей (истоки формирования, критерии диагностики, клиничко-функциональные и иммунологические особенности) [Текст] : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.43 / Е. В. Бойцова. – СПб., 2003. – 34 с.

17. Болибок, А. М. Оптимизация ведения пациентов с бронхолегочной дисплазией на основании изучения патоморфоза заболевания [Текст] : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.08 / А. М. Болибок. – М., 2017. – 142 с.

18. Бронхолегочная дисплазия у детей. Научно-практическая программа [Электронный ресурс] / Российское респираторное общество. Российская ассоциация специалистов перинатальной медицины. Федерация педиатров стран СНГ. Педиатрическое респираторное общество. – М., 2012. – Режим доступа: <http://www.raspm.ru/index.php/metodicheskie-rekomendatsii/36-bronholjogochnaya-displaziya-u-detej-nauchno-prakticheskaya-programma>, свободный. – Загл. с экрана. – Дата обращения :10.10.2019.

19. Брыксина, Е. Ю. Особенности коморбидной патологии у детей с бронхолегочной дисплазией на фоне микроаспирации желудочного содержимого в неонатальном периоде [Текст] / Е. Ю. Брыксина, В. С. Брыксин, А. П. Савченко // Педиатрия. – 2015. – № 4. – С. 224.

20. Валиулина, А. Я. Проблемы и перспективы успешного выхаживания и реабилитации детей, родившихся с низкой и экстремально низкой массой тела [Текст] / А. Я. Валиулина, Э. Н. Ахмадеева, Н. Н. Кривкина // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – Т. 6, вып. 1. – С. 34–41.

21. Виноградова, И. В. Нарушения адаптации кардиальной и респираторной систем у детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела. Подходы к диагностике, лечению, профилактике [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук / И. В. Виноградова. – Нижний Новгород, 2015. – 47 с.

22. Воеводина, Е. В. Течение неонатального периода у недоношенных с очень низкой и экстремально низкой массой тела [Текст] / Е. В. Воеводина,

Т. И. Зубцова, Н. В. Костычев // Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии : мат-лы IX Российского конгресса (Москва, 19–21 октября 2010 г.). – М. : Российская ассоциация педиатрических центров, 2010. – С. 184.

23. Володин, Н. Н. Бронхолегочная дисплазия [Текст] : методические рекомендации / под ред. Н. Н. Володин. – М. : ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, 2010. – 56 с.

24. Воляник, Е. В. Современные подходы к диагностике и лечению бронхолегочной дисплазии [Текст] / Е. В. Воляник, А. И. Сафина, С. А. Любин // Практическая медицина. – 2010. – № 6 (45). – С. 80–83.

25. Ворошилкина, К. И. Показатели здоровья недоношенных детей с низкой, очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении и исходы перенесенной перинатальной патологии по результатам катамнестического наблюдения в условиях перинатального центра [Электронный ресурс] / К. И. Ворошилкина, Ю. И. Ровда // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3. – Режим доступа : <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=19906>, свободный. – Загл. с экрана. – Дата обращения : 05.09.2020.

26. Гаймоленко, И. Н. Динамика заболеваемости бронхолегочной дисплазией в Забайкальском крае [Текст] / И. Н. Гаймоленко, А. В. Игнатьева // Актуальные проблемы педиатрии : мат-лы XV Конгресса педиатров России с международным участием (Москва, 14–17 февраля 2011 г.) / под ред. А. А. Баранова. – М. : ПедиатрЪ, 2010. – С. 164.

27. Генетика бронхолегочных заболеваний [Текст] / под ред. В. П. Пузырева, Л. М. Огородовой. – М. : Атмосфера, 2010. – 160 с.

28. Гепел, В. Малоинвазивное введение сурфактанта приводит к улучшению респираторных исходов у недоношенных на самостоятельном дыхании [Текст] / В. Гепел, А. Крибз, Х. Чэртел, С. Авенариус, Н. Тайг, П. Гронек, Д. Олбертц, К. Ролл, М. Вокхем, У. Веллер, А. вон дер Венсе, Х. Вииг, Дж.

Винтгенс, М. Преусс, А. Цииглер, Б. Ротч, Е. Хертинг // Неонатология : новости, мнение, обучение. – 2015. – № 2 (8). – С. 34–41.

29. Геппе, Н. А. Новая рабочая классификация бронхолегочных заболеваний у детей [Текст] / Н. А. Геппе, Н. Н. Розина, И. К. Волков, Ю. Л. Мизерницкий, Р. Г. Артамонов, И. К. Ашерова, А. В. Богданова, А. Е. Богорад, Е. И. Васильева, И. В. Давыдова, Д. Н. Дегтярев, Г. М. Дементьева, Я. И. Жаков, О. В. Зайцева, Н. А. Ильенкова, Н. И. Капранов, Н. Ю. Каширская, Т. Н. Кожевникова, Л. В. Козлова, Е. Г. Кондюрина, Н. С. Лев, А. Б. Малахов, Ф. К. Манеров, Н. Г. Машукова, И. М. Мельникова, Н. А. Мокина, А. Ф. Неретина, Д. Ю. Овсянников, Н. С. Побединская, С. С. Постников, В. А. Ревякина, В. А. Романенко, А. И. Рывкин, Г. А. Самсыгина, Е. В. Середа, Н. Д. Сорока, Т. В. Спичак, В. К. Таточенко, А. Н. Узунова, А. М. Федоров, Р. М. Файзуллина, С. А. Царькова, М. М. Чепурная, Н. П. Шабалов, В. И. Шилко // Доктор. Ру. – 2009. – № 1. – С. 7–13.

30. Геппе, Н. А. Рабочая классификация основных клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей [Текст] / Н. А. Геппе, Н. Н. Розина, И. К. Волков, Ю. Л. Мизерницкий // Трудный пациент. – 2009. – № 7 (1–2). – С. 35–39.

31. Геппе, Н. А. Современные подходы к выбору медикаментозного комплекса неотложной терапии обструктивного синдрома при заболеваниях органов дыхания у детей и подростков [Текст] / Н. А. Геппе, А. Б. Малахов // Эффективная фармакотерапия. Педиатрия. – 2012. – № 1. – С. 32–36.

32. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (пересмотр 2002 г.) [Текст] / под ред. А. Г. Чучалина. – М. : Атмосфера, 2002. – 160 с.

33. Гулямова, М. А. Респираторный дистресс-синдром у новорожденных [Текст] : методические рекомендации / М. А. Гулямова, С. В. Рудницкая, М. А. Исмаилова, Ш. Х. Ходжиметова, Н. М. Амизян, З. Ж. Рахманкулова. – Ташкент : ТашПМИ, 2010. – 16 с.

34. Давыдова, И. В. Бронхолегочная дисплазия в постсурфактантную эру : результаты объективной оценки течения заболевания [Текст] / И. В. Давыдова, А. В. Аникин, О. В. Кустова, А. В. Сиденко, Е. Ю. Басаргина, Е. В. Павлюкова, В. К. Пожарищенская // Вопросы современной педиатрии. – 2015. – № 4. – С. 514–518.

35. Давыдова, И. В. Матриксные металлопротеиназы как маркеры формирования бронхолегочной дисплазии [Текст] / И. В. Давыдова, Т. В. Яцык, М. А. Бершова, М. А. Басаргина // Пульмонология. – 2009. – № 4. – С. 80–84.

36. Давыдова, И. В. Профилактические стратегии на этапах формирования и течения бронхолегочной дисплазии [Текст] / И. В. Давыдова, Л. С. Намазова-Баранова, Г. В. Яцык, Н. А. Маянский, Е. П. Зими́на, А. С. Островская // Педиатрическая фармакология. – 2014. – № 11 (2). – С. 34–40.

37. Давыдова, И. В. Формирование, течение и исходы бронхолегочной дисплазии у детей [Текст] : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.08 / И. В. Давыдова. – М., 2010. – 49 с.

38. Давыдова, И. В. Функциональная оценка респираторных нарушений у детей с бронхолегочной дисплазией при катамнестическом наблюдении [Текст] / И. В. Давыдова, Л. С. Намазова-Баранова, В. В. Алту́нин, О. В. Кожевникова, Е. П. Зими́на, Е. В. Чурбанова, Е. В. Павлюкова, Е. Ю. Басаргина // Педиатрическая фармакология. – 2014. – № 6. – С. 42–51.

39. Дударева, М. В. Патогенетические механизмы иммунной дисфункции у новорожденных с респираторными нарушениями [Текст] : дис. ... д-ра мед. наук : 14.03.03 / М. В. Дударева. – Ростов-н/Д., 2012. – 311 с.

40. Дука, Е. Д. Патоморфологические и клинические особенности бронхолегочной дисплазии у детей в современных условиях [Текст] / Е. Д. Дука, В. И. Чергинец, С. И. Ильченко // Таврический медико-биологический вестник. – 2010. – Т. 13, № 4 (52). – С. 47–50.

41. Дыга́й, А. М. Противофибротическая и противовоспалительная активность нейролептика при пневмофиброзе [Текст] / А. М. Дыга́й, Е. Г. Скурихин, Т. В. Андреева, О. В. Першина, Л. А. Ермолаева, Е. С. Хмелевская, В.

А. Крупин, А. М. Резцова, И. Э. Степанова // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2011. – № 4. – С. 206–210.

42. Жирнов, В. А. Синдром дыхательных расстройств как фактор высокого риска развития бронхолегочной патологии у детей [Текст] / В. А. Жирнов, И. В. Ружейникова, Д. А. Шугуров // Актуальные проблемы педиатрии : мат-лы XV конгресса педиатров России с международным участием (Москва, 14–17 февраля 2011 г.) / под ред. А. А. Баранова. – М. : ПедиатрЪ, 2010. – С. 288.

43. Загаштокова, А. Х. Влияние глюкокортикоидов и контрикала на активность протеолиза и его ингибиторов при бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.08 / А. Х. Загаштокова. – М., 2010. – 24 с.

44. Захарова, И. Н. Национальная программа «Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации : современные подходы к коррекции» (обзор основных положений документа) [Текст] / И. Н. Захарова, Л. Я. Климов, В. А. Курьянинова, С. В. Долбня, А. Н. Касьянова, С. В. Долбня, А. Н. Касьянова // Медицинский оппонент. – 2018. – № 1. – С. 5–45.

45. Иванова, Н. А. Рецидивирующая обструкция бронхов и бронхиальная астма у детей первых пяти лет жизни [Текст] / Н. А. Иванова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2016. – Т. 61, № 5. – С. 64–69.

46. Игнатьева, А. В. Бронхолегочная дисплазия : факторы риска формирования и диагностика [Текст] / А. В. Игнатьева, И. Н. Гаймоленко, А. С. Панченко // ЭНИ Забайкальский медицинский вестник. – 2012. – № 2. – С. 42–46.

47. Измерение оксида азота в выдыхаемом воздухе для диагностики бронхолегочных заболеваний [Текст] // Пульмонология. – 2012. – № 1. – С. 11–26. (По материалам: Dweik, R. A. An official ATS clinical practice guideline : interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. [Text] / R. A. Dweik, P. B. Boggs, S. C. Erzurum et al. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2011. – № 184, 5. – P. 602–615).

48. Клименко, Т. М. Новое в дефиниции патогенеза бронхолегочной дисплазии у новорожденных [Текст] / Т. М. Клименко, В. С. Агашков // Здоровье ребенка. – 2011. – № 1. – С. 115–120.

49. Козарезов, С. Н. Клинико-патогенетические аспекты бронхолегочной дисплазии в стадии хронической болезни [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук / С. Н. Козарезов. – Минск, 2010. – 20 с.

50. Кузнецова, А. В. Перспективы снижения частоты респираторно-синцитиальной вирусной инфекции и хронизации респираторной патологии у детей раннего возраста с бронхолегочной дисплазией [Текст] / А. В. Кузнецова, М. В. Потапова, К. З. Закиров, Л. Ф. Нетфуллова, Ф. С. Пирогова, И. В. Ситдикова, А. Р. Хаертынова // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – № 6 (2). – С. 60.

51. Лебедева, О. В. Клинико-иммунологические маркеры тяжелой бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела [Текст] / О. В. Лебедева, Н. С. Черкасов // Астраханский медицинский журнал. – 2014. – Т. 9, № 3. – С. 127–133.

52. Лебедева, О. В. Особенности течения периода новорожденности у детей с экстремально низкой массой тела [Электронный ресурс] / О. В. Лебедева, Р. И. Нургалиев, А. В. Колмакова, Т. А. Кулемина // Актуальные проблемы педиатрии : сб. мат-лов XII Конгресса педиатров России (Москва, 19–22 февраля 2008 г.) / под ред. А. А. Баранова. – М. : ПедиатрЪ, 2008. – С. 192.

53. Лебедева, О. В. Факторы риска формирования бронхолегочной дисплазии у новорожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении [Текст] / О. В. Лебедева // Педиатрическая фармакология. – 2014. – № 3. – С. 37–41.

54. Лебедева, О. В. Цитокины как предикторы перинатальных осложнений у глубоконедошенных новорожденных [Текст] / О. В. Лебедева // Цитокины и воспаление. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 68–72.

55. Малахов, А. Б. Современные подходы к диагностике и лечению заболеваний, сопровождающихся синдромом бронхиальной обструкции в ран-

нем детском возрасте [Текст] / А. Б. Малахов, Н. А. Геппе, Л. С. Старостина // Трудный пациент. – 2011. – Т. 9, № 4. – С. 3–7.

56. Малинина, У. И. Концентрация матриксных металлопротеиназы-2,9 у новорожденных с перинатальной гипоксией [Электронный ресурс] / У. И. Малинина, Т. В. Чернышова, О. А. Рычкова, М. В. Мазалова, Н. Ю. Южакова // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 2. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=28636/>, свободный. – Загл. с экрана. – Дата обращения : 23.08.2020.

57. Овсянников, Д. Ю. Бронхолегочная дисплазия: естественное развитие, исходы и контроль [Текст] / Д. Ю. Овсянников // Педиатрия. – 2011. – Т. 90, № 1. – С. 141–150.

58. Овсянников, Д. Ю. Бронхолегочная дисплазия у детей первых трех лет жизни [Текст]: дис. ... д-ра. мед. наук : 14.01.08 / Д. Ю. Овсянников. – М., 2010. – 49 с.

59. Овсянников, Д. Ю. Возможности высокоразрешающей компьютерной томографии в диагностике бронхолегочной дисплазии у детей первых двух лет жизни [Текст] / Д. Ю. Овсянников, Л. Г. Кузьменко, Е. А. Дегтярева, О.В. Кустова, А.М. Болибок, О.В. Маркарян, Н.П. Пагадаева, Д.В.Полянин // Педиатрия. – 2010. – Т. 89, № 1. – С. 56–60.

60. Овсянников, Д. Ю. Врожденный дефицит сурфактанта : генетика, патология, диагностика, терапия [Текст] / Д. Ю. Овсянников, М. А. Беляшова, А. А. Крушельницкий // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2013. – Т. 5, № 1. – С. 12–20.

61. Овсянников, Д. Ю. Легочная гипертензия и легочное сердце – осложнение бронхолегочной дисплазии [Текст] / Д. Ю. Овсянников, Е. А. Дегтярева // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2013. – Т. 5, № 4. – С. 5–13.

62. Овсянников, Д. Ю. Организация медицинской помощи детям с бронхолегочной дисплазией : проблемы и решения [Текст] / Д. Ю. Овсянников // Вопросы практической педиатрии. – 2011. – Т. 6, № 4. – С. 37–45.

63. Овсянников, Д. Ю. Система оказания медицинской помощи детям, страдающим бронхолегочной дисплазией [Текст] : руководство для практических врачей / Д. Ю. Овсянников; под ред. проф. Л. Г. Кузьменко. – М. : МДВ, 2010. – 152 с.

64. Овсянников, Д. Ю. Эпидемиология бронхолегочной дисплазии : данные отечественных и зарубежных исследований [Текст] / Д. Ю. Овсянников // Педиатрия. – 2012. – Т. 91, № 2. – С. 102–107.

65. Павлинова, Е. Б. Обоснование системной профилактики, диагностики и прогнозирования бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей [Текст] : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Е. Б. Павлинова. – М., 2012. – 48 с.

66. Павлинова, Е. Б. Полиморфизм генов антиоксидантных ферментов и формирование бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей [Текст] / Е. Б. Павлинова, Н. А. Геппе // Доктор. Ру. – 2012. – № 9. – С. 14–20.

67. Павлинова, Е. Б. Прогнозирование риска развития бронхолегочной дисплазии у недоношенных новорожденных [Текст] / Е. Б. Павлинова, Л. А. Кривцова, О. Ю. Синевич // Педиатрия. – 2012. – Т. 91, № 2. – С. 23–29.

68. Панов, П. В. Дифференциальные подходы к профилактике бронхолегочной дисплазии с учетом HLA-фенотипа и перинатального анамнеза [Текст] / П. В. Панов, Л. Д. Панова, Э. Н. Ахмадеева // Врач. – 2014. – № 9. – С. 39–43.

69. Панов, П. В. Перинатальные и иммуногенетические факторы риска бронхолегочной дисплазии [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.08 / П. В. Панов. – М., 2015. – 22 с.

70. Панов, П. В. Перинатальные факторы риска бронхолегочной дисплазии у детей [Текст] / П. В. Панов, Э. Н. Ахмадеева, Д. Э. Байков, Л. Д. Панова // XXI Национальный конгресс по болезням органов дыхания : сборник трудов (Уфа, 25–28 октября 2011 г.) / под ред. акад. А. Г. Чучалина. – М. : ДизайнПресс, 2011. – С. 120–121.

71. Панов, П. В. Перинатальный анамнез и генетические аспекты формирования бронхолегочной дисплазии у глубоко недоношенных младенцев

[Текст] / П. В. Панов, Э. Н. Ахмадеева, Л. Д. Панова, Д. Э. Байков // Практическая медицина. – 2013. – Т. 76, № 2. – С. 131–134.

72. Панченко, А. С. Бронхолегочная дисплазия: клиника, диагностика, исходы [Текст] / А. С. Панченко, И. Н. Гаймоленко, О. А. Тихоненко, А. В. Игнатъева // Забайкальский медицинский вестник: электронное научное издание. – 2013. – № 1. – С. 175–183.

73. Панченко, А. С. Бронхолегочная дисплазия: причины формирования и морфология лёгочной ткани [Текст] / А. С. Панченко, И. Н. Гаймоленко, О. А. Тихоненко, А. В. Игнатъева // Сибирский международный журнал. – 2013. – № 2. – С. 61–64.

74. Панченко, А. С. Бронхолегочная дисплазия у детей: факторы риска и иммунобиохимические маркеры [Текст] / А. С. Панченко, И. Н. Гаймоленко, А. В. Игнатъева // Пульмонология. – 2015. – № 1. – С. 86–91.

75. Панченко, А. С. Морфология легочной ткани у детей, сформировавших бронхолегочную дисплазию [Текст] / А. С. Панченко, И. Н. Гаймоленко, О. А. Тихоненко, А. В. Игнатъева // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2013. – № 4. – С. 70–73.

76. Панченко, А. С. Некоторые факторы риска и маркеры тяжести бронхолегочной дисплазии у детей [Текст] / А. С. Панченко // Дальневосточный медицинский журнал. – 2014. – № 4. – С. 59–62.

77. Панченко, А. С. Роль полиморфизма генов в формировании бронхолегочной дисплазии у новорожденных детей [Текст] / А. С. Панченко // Сибирский медицинский журнал. – 2014. – Т. 128, № 5. – С. 93–95.

78. Петрова, Н. А. Особенности регуляции дыхания у новорожденных детей с формирующейся хронической бронхолегочной патологией [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.08 / Н. А. Петрова. – СПб., 2010. – 25 с.

79. Потрохова, Е. А. Витамин D и аутоиммунные заболевания [Текст] / Е. А. Потрохова, Н. В. Соболюк, С. В. Бочанцев, В. П. Гапоненко // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2017. – № 62 (1). – С. 26–32.

80. Практическая пульмонология [Текст] : руководство для врачей / ред. : В. В. Салухов, М. А. Харитонов. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 416 с.

81. Пятеркина, О. Г. Течение и исходы бронхолегочной дисплазии у детей в Республике Татарстан [Текст] / О. Г. Пятеркина, Д. С. Шагиахметова, Л. В. Храмова // XIX Национальный конгресс по болезням органов дыхания : сборник трудов (Москва, 10–13 сентября 2009 г.) / под ред. А. Г. Чучалина. – М. : Дизайн Пресс, 2009. – С. 95.

82. Романова-Салмина, В. Д. Оценка антиоксидантной системы в развитии бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей с различным гестационным возрастом [Текст] / В. Д. Романова-Салмина // Аспирантский вестник Поволжья. – 2009. – № 7–8. – С. 127–129.

83. Самохин, П. А. Морфологические проявления бронхолегочных дисплазий новорожденных и клеточное обновление в легких при ней [Текст] / П. А. Самохин, Ю. В. Цветкова // Архив патологии. – 2010. – Т. 72, № 1. – С. 30–32.

84. Сенаторова, А. С. Особенность течения бронхолегочной дисплазии у детей на современном этапе [Текст] / А. С. Сенаторова, О. Л. Ловгинова, Л. Н. Черненко, Г. Р. Муратов // Клінічна педіатрія. – 2011. – Т. 3 (30). – С. 55–61.

85. Сенаторова, А. С. Рецидивирующий бронхит у детей : тактика ведения пациентов на современном этапе [Текст] / А.С. Сенаторова, О. Л. Логвинова // Детский доктор. – 2009. – Т 2, № 2. – С. 12–19.

86. Серебрякова, Е. Прогнозирование бронхолегочной дисплазии у новорожденных с синдромом полиорганной недостаточности [Текст] / Е. Серебрякова, Д. Волосников // Врач. – 2015. – № 9. – С. 32–34.

87. Сидельникова, В. М. Невынашивание беременности : современный взгляд на проблему [Текст] / В. М. Сидельникова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2007. – № 2. – С. 62–64.

88. Снопов, С. А. Механизмы действия витамина D на иммунную систему [Текст] / С. А. Снопов // Медицинская иммунология. – 2014. – Т. 16, № 6. – С. 499–530.

89. Солдатова, И. Г. Оптимизация оказания медицинской помощи детям с неонатальными инфекциями [Текст] : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / И. Г. Солдатова. – М., 2011. – 38 с.

90. Соловьева, Н. А. Клинико-anamнестические особенности бронхообструктивного синдрома инфекционного и аллергического генеза у детей грудного возраста [Текст] / Н. А. Соловьева, Н. А. Смирнова, Н. А. Ильенкова // Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири : мат-лы 10-й Межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых с международным участием (Красноярск, 5–6 июня 2012 г.) / под ред. С. В. Смирновой, О. В. Смирновой. – Красноярск : Спектр, 2012. – С. 103–105.

91. Соловьева, Н. А. Маски бронхообструктивного синдрома у детей грудного возраста : диагностика с применением нейросетевого анализа [Текст] / Н. А. Соловьева, Н. А. Ильенкова, О. В. Алексеева // Врач-аспирант. – 2014. – № 2.1 (63). – С. 226–231.

92. Соловьева, Н. А. Оценка иммунологических показателей при различных вариантах течения бронхообструктивного синдрома у детей грудного возраста [Текст] / Н. А. Соловьева, Н. А. Ильенкова, С. В. Смирнова // Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири : мат-лы 12-й Региональной научно-практической конференции молодых ученых (Красноярск, 4–5 июня 2014 г.) / под ред. В. Т. Манчука, С. В. Смирновой, О. В. Смирновой. – Красноярск : ФГБУ «НИИ медицинских проблем Севера» СО РАМН, 2014. – С. 56–57.

93. Старевская, С. В. Бронхолегочная дисплазия : результаты длительного наблюдения [Текст] / С. В. Старевская // XVII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство» : сборник мат-лов конгресса (Москва, 12–16 апреля 2010 г.) / под ред. А. Г. Чучалина. – М. : ООО «Видокс», 2010. – С. 464.

94. Старостина, Л. С. Функция внешнего дыхания у детей раннего возраста с различными заболеваниями бронхолегочной системы [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Л. С. Старостина. – М., 2009. – 21 с.

95. Степанова, О. А. Респираторный дистресс-синдром недоношенных новорожденных : современная тактика терапии и профилактики [Текст] / О. А. Степанова // Практическая медицина. – 2010. – № 45. – С. 84–87.

96. Струков, А. И. Патологическая анатомия [Текст] : учебник / А. И. Струков, В. В. Серов. – М. : Литтерра, 2010. – 848 с.

97. Струтынская, А. Д. Недоношенность и перенесенная в раннем детстве респираторная инфекция как факторы риска развития хронической патологии в молодом возрасте [Текст] / А. Д. Струтынская, Д. Ю. Овсянников, М. А. Карнаушкина // Клинические и теоретические аспекты современной медицины : материалы VII Международной научной конференции SCIENCE4HEALTH 2016 (Москва, РУДН, 12–15 апреля 2016 г.) / под ред. А. Ю. Абрамова. – М. : РУДН, 2016. – С. 121–122.

98. Супрун, С. В. Перинатальные вопросы в педиатрии [Текст] / С. В. Супрун, В. К. Козлов // Сборник научных трудов II Дальневосточного симпозиума по актуальным проблемам перинатальной медицины (Хабаровск, 29–31 мая 2012 г.) / под ред. Г. В. Чижова. – Хабаровск : Изд-во ДВГМУ, 2012. – С. 160–162.

99. Сычева, М. Г. Физическая реабилитация больных хроническими респираторными заболеваниями : оптимальная организация при ограниченных ресурсах [Текст] / М. Г. Сычева // Пульмонология. – 2018. – № 28 (1). – С. 110–117.

100. Трунцова, Е. С. Факторы риска и неспецифической защиты у детей с рецидивирующими и хроническими заболеваниями нижних дыхательных путей [Текст] : монография / Е. С. Трунцова, Г. Р. Сагитова. – Астрахань : АГМА 2012. – 110 с.

101. Угай, Л. Г. Витамин D и болезни органов дыхания : молекулярные и клинические аспекты [Текст] / Л. Г. Угай, Е. А. Кочеткова, В. А. Невзорова // Дальневосточный медицинский журнал. – 2012. – № 3. – С. 115–119.

102. Федеральные клинические рекомендации [Текст] : стандарты по оказанию медицинской помощи детям с последствиями перинатального поражения центральной нервной системы с гидроцефальным и гипертензионным синдромом / ред. совет : А. А. Баранов. – М. : ГЭОТАРД-Медиа, 2013. – 12 с.

103. Хаитов, Р. М. Иммунология. Норма и патология [Текст] / Р. М. Хаитов, Г. А. Игнатъева, И. Г. Сидорович // Иммунология. – М. : Медицина, 2010. – С. 548–566.

104. Хамидуллина, Л. И. Генетические маркеры предрасположенности к развитию дыхательных нарушений у новорожденных [Текст] / Л. И. Хамидуллина, К. В. Данилко, Т. В. Викторова, Р. М. Файзуллина, В. В. Викторов // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2012. – Т. 4, № 5. – С. 26–30.

105. Холодок, Г. Н. Биоценоз дыхательных путей при бронхолегочных заболеваниях у детей в Хабаровском крае [Текст] / Г. Н. Холодок, И. Н. Алексеева, Н. В. Морозова, Н. П. Блощинская, В. К. Козлов // Вопросы современной педиатрии. – 2005. – № 4. – Приложение № 1. – С. 573–574.

106. Цыгина, Е. Н. Радиологические исследования при бронхолегочной дисплазии у детей [Текст] / Е. Н. Цыгина, И. В. Давыдова, О. В. Кустова, Т. Д. Малахова // Медицинская визуализация. – 2008. – № 2. – С. 116–121.

107. Шаповалова, В. В. Значения спиральной компьютерной томографии в определении степени тяжести бронхолегочной дисплазии у детей раннего возраста [Текст] / В. В. Шаповалова // ScienceRise. – 2015. – № 3 (11). – С. 100–105.

108. Abman, S. H. Bronchopulmonary dysplasia [Text] / S. H. Abman, J. M. Davis // In: Kendig's disorders of the respiratory tract in children. Ed. by V. Chernick, T. Boat, R. Wilmott, A. Bush. – Philadelphia : ELSEVIER, 2006. – P. 342–358.

109. Adair, L. S. Developing world perspective : the importance of growth for short term health [Text] / L. S. Adair // Nestle Nutr Inst Workshop Ser Pediatr Program. – 2010. – № 65. – P. 71–83.

110. Aghai, Z. H. IFN- γ and IP-10 in tracheal aspirates from premature infants: relationship with bronchopulmonary dysplasia [Text] / Z. H. Aghai, J. G. Saslow, K. Mody, R. Eydelman, V. Bhat, G. Stahl, K. Pyon, V. Bhandari // Pediatr Pulmonol. – 2013. – Vol. 48, № 1. – P. 8–13.

111. Albertine, K. H. Progress in understanding the pathogenesis of BPD using the baboon and sheep models [Text] / K. H. Albertine // Semin Perinatol. – 2013. – № 37 (2). – P. 60–68.

112. Alexandrou, G. White matter microstructure is influenced by extremely preterm birth and neonatal respiratory factors [Text] / G. Alexandrou, G. Mertensson, B. Skiöld, M. Blennow, U. Ådén, B. Vollmer // Acta Paediatr. – 2014. – Vol. 103, № 1. – P. 48–56.

113. Alphonse, R. S. Lung injury in preterm neonates : The role and therapeutic potential of stemcells [Text] / R. S. Alphonse, S. Rajabali, B. Thebaud // Antioxid Redox Signal. – 2012. – № 17. – P. 1013–1040.

114. Altınsoy, C. Effect of induced hypothermia on lipopolysaccharide-induced lung injury in neonatal rats [Text] / C. Altınsoy, F. Tuzun, N. Duman, A. H. Sever, M. Dilek, S. Ozbal, B. U. Ergur, D. C. Yesilirmak, O. Yılmaz, A. Kumral, H. Ozkan // Fetal Neonatal Med. – 2013. – Vol. 27, № 4. – P. 421–429.

115. An, H. S. Pulmonary Hypertension in Preterm Infants With Bronchopulmonary Dysplasia [Text] / H. S. An, E. J. Bae, G. B. Kim, B. S. Kwon, J. S. Beak, E. K. Kim, H. S. Kim, J. H. Choi, C. I. Noh, Y. S. Yun // Korean Circ J. – 2010, Mar. – № 40 (3). – P. 131–136.

116. Austeng, D. Incidence of and risk factors for neonatal morbidity after active perinatal care : extremely preterm infants study in Sweden [Text] / D. Austeng, M. Blennow // Acta Paediatr. – 2010. – Vol. 99, № 7. – P. 978–992.

117. Avanzini, M. A. Generation of mesenchymal stromal cells in the presence of platelet lysate : A phenotypic and functional comparison of umbilical cord

blood- and bone marrow-derived progenitors [Text] / M. A. Avanzini, M. E. Bernardo, A. M. Cometa, C. Perotti, N. Zaffaroni, F. Novara, L. Visai, A. Moretta, C. Del Fante, R. Villa, L. M. Bal, W. E. Fibbe, R. Maccario, F. Locatelli // *Haematologica*. – 2009. – № 94. – P. 1649–60.

118. Backstrom, E. Developmental stage is a major determinant of lung injury in a murine model of bronchopulmonary dysplasia [Text] / E. Backstrom, A. Hogmalm, U. Lappalainen, K. Bry // *Pediatr Res*. – 2011. – № 69 (4). – P. 312–318.

119. Balasubramaniam, V. Bone marrow-derived angiogenic cells restore lung alveolar and vascular structure after neonatal hyperoxia in infant mice [Text] / V. Balasubramaniam, S. L. Ryan, G. J. Sedorf, E. V. Roth, T.R. Heumann, M. C. Yoder, D.A. Ingram, C. J. Hogan, N. E. Markham, S. H. Abman // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* – 2010, № 298. – P. 315–323.

120. Bancalari, E. Bronchopulmonary dysplasia : changes in pathogenesis, epidemiology, and definition [Text] / E. Bancalari, N. Claure, I. Sosenko // *Semin Neonatol*. – 2003. – Vol. 8. – P. 63–71.

121. Bandari, V. Familial and genetic susceptibility to major neonatal morbidities in preterm twins [Text] / V. Bandari, M. J. Bizzaro, A. Shetty, X. Zhong, G. P. Page, H. Zhang, L. R. Ment, J. R. Gruen // *Pediatrics*. – 2006. – Vol. 117. №16. – P. 1901–1906.

122. Bates, M. L. Ventilatory control in infants, children, and adults with bronchopulmonary dysplasia [Text] / M. L. Bates, D. A. Pillers, M. Palta, E. T. Farrell, M. W. Eldridge // *Respir Physiol Neurobiol*. – 2013. – № 189 (2). – P. 329–337.

123. Beam, K. S. A systematic review of randomized controlled trials for the prevention of bronchopulmonary dysplasia in infants [Text] / K. S. Beam, S. Aliaga, S. K. Ahlfeld, M. Cohen-Wolkowicz, P. B. Smith, M. M. Laughon // *J. Perinatol*. – 2014. – № 34 (9). – P. 705–710.

124. Been, J. V. Preterm birth and childhood wheezing disorders : a systematic review and meta-analysis [Text] / J. V. Been, M. J. Lugtenberg, E. Smets,

C. P. van Schayck, B. W. Kramer, M. Mommers, A. Sheikh // *PLoS Med.* – 2014. – № 11 (1). – P. 1–17.

125. Bell, E. F. Comparative analysis of the impact of limited and liquid significant burden on morbidity and mortality of preterm infants [Text] / E. F. Bell, M. J. Acarregui // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2014. – doi: 10.1002/14651858.CD000503.pub3 PMID: 25473815.

126. Berkelhamer, S. K. Pulmonary hypertension in bronchopulmonary dysplasia [Text] / S. K. Berkelhamer, K. K. Mestan, R. H. Steinhorn // *Semin Perinatol.* – 2013, Apr. – № 37 (2). – P. 124–131.

127. Bhandari, A. Pitfalls, problems, and progress in bronchopulmonary dysplasia [Text] / A. Bhandari, V. Bhandari // *Pediatrics.* – 2009. – № 123 (6). – P. 1562–1573.

128. Bhanushali, A. A. Frequency of fokI and taqI polymorphism of vitamin D receptor gene in Indian population and its association with 25-hydroxyvitamin D levels [Text] / A. A. Bhanushali, N. Lajpal, S. S. Kulkarni, S. S. Chavan, S. S. Bagadi, B. R. Das // *Indian J. Hum Genet.* – 2009. – № 15 (3). – P. 108–113. – doi: 10.4103/0971-6866.60186.

129. Bhattacharya, S. Genome-wide transcriptional profiling reveals connective tissue mast cell accumulation in bronchopulmonary dysplasia [Text] / S. Bhattacharya, D. Go, D. L. Krenitsky, H. L. Huyck, S. K. Solleti, V. A. Lungler, L. Metlay, S. Srisuma, S. E. Wert, T. J. Mariani, G. S. Pryhuber // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* – 2012. – № 186 (4). – P. 349–358.

130. Borghesi, A. Stem Cell Therapy for Neonatal Diseases Associated with Preterm Birth [Text] / A. Borghesi, C. Cova, D. Gazzolo, M. Stronati // *J. Clin. Neonatol.* – 2013 (Jan). – Vol. 2 (1). – P. 1–7.

131. Bose, C. L. Bronchopulmonary dysplasia and inflammatory biomarkers in the premature neonate [Text] / C. L. Bose, C. E. Dammann, M. M. Laughon // *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* – 2008. – № 93 (6). – P. 455–461.

132. Bosse, Y. Asthma and genes encoding components of the vitamin D pathway [Text] / Y. Bosse, M. Lemire, A. H. Poon, D. Daley, J-Q. He, A. Sand-

ford, J. H. White, A. L. James, A. W. Musk, L. J. Palmer, B. A. Raby, S. T. Weiss, A. L. Kozyrskyj, A. Becker, T. J. Hudson, C. Laprise // *Respir Res.* – 2009. – № 10 (1). – P. 98–109. – doi: 10.1186/1465-9921-10-98.

133. Bourbon, J. R. Bronchopulmonary dysplasia and emphysema : in search of common therapeutic targets [Text] / J. R. Bourbon, O. Boucherat, J. Boczkowski, B. Crestani, C. Delacourt // *Trends Mol. Med.* – 2009. – № 15 (4). – P. 169–179.

134. Brent, R. Mechanisms of Injury to the Preterm Lung and Airway : Implications for Long Term Pulmonary Outcome [Text] / R. Brent, J. M. Richard, Y. S. Prakash, W. Peter // *Neonatology.* – 2012. – № 101 (4). – P. 345–352.

135. Bresson, E. Gene expression profile of androgen modulated genes in the murine fetal developing lung [Text] / E. Bresson, T. Seaborn, M. Cote, G. Cormier, P. R. Provost, B. Piedboeuf, Y. Tremblay // *Reproductive Biology and Endocrinology.* – 2010. – Vol. 8, № 2. – doi: 10.1186/1477-7827-8-2.

136. Cakmak, B. C. Association between bronchopulmonary dysplasia and MBL2 and IL1-RN polymorphisms [Text] / B. C. Cakmak, S. Calkavur, F. Ozkinay, O. A. Koroglu, H. Onay, G. Itirli, E. Karaca, M. Yalaz, M. Akisu, N. Kultursay // *Pediatr. Int. (Official Journal of the Japan Pediatric Society).* – 2012. – Vol. 54, № 6. – P. 863–868.

137. Carroll, J. L. Development of ventilatory control in infants [Text] / J. L. Carroll, A. Agarwal // *Paediatr Respir Rev.* – 2010. – № 11 (4). – P. 199–207.

138. Carroll, K. N. The severity-dependent relationship of infant bronchiolitis on the risk and morbidity of early childhood asthma [Text] / K. N. Carroll, P. Wu, T. Gebretsadik, M. R. Griffin, W. D. Dupont, E. F. Mitchel, T. V. Hartert // *J. Allergy. Clin. Immunol.* – 2009. – № 123 (5). – P. 1055–1061.

139. Cazzato, S. Lung function outcome at school age in very low birth weight children [Text] / S. Cazzato, L. Ridolfi, F. Bernardi, G. Faldella, L. Bertelli // *Pediatr Pulmonol.* – 2013. – № 48 (8). – P. 830–837.

140. Cerro, M. J. A consensus approach to the classification of pediatric pulmonary hypertensive vascular disease: Report from the PVRI Pediatric. Task-

force, Panama 2011 [Text] / M. J. del Cerro, S. Abman, G. Diaz, A. H. Freudenthal, F. Freudenthal, S. Harikrishnan, S. G. Haworth, D. Ivy, A. A. Lopes, J. U. Raj, J. Sandoval, K. Stenmark, I. Adatia // *Pulmonary Circulation*. – 2011. – Vol. 1, № 2. – P. 286–298.

141. Checchia, P. A. Mortality and morbidity among infants at high risk for severe respiratory syncytial virus infection receiving prophylaxis with palivizumab : A systematic literature review and meta-analysis [Text] / P. A. Checchia, L. Nalysnyk, A. W. Fernandes, P. J. Mahadevia, Y. Xu, K. Fahrback, R. C. W. Sr // *Pediatr. Crit. Care Med*. – 2011. – № 12 (5). – P. 580–588.

142. Choo-Wing, R. Hyperoxia and interferon- γ -induced injury in developing lungs occur via cyclooxygenase-2 and the endoplasmic reticulum stress-dependent pathway [Text] / R. Choo-Wing, M. A. Syed, A. Harijith, B. Bowen, G. Pryhuber, C. Janér, S. Andersson, R. J. Homer, V. Bhandari // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol*. – 2013. – № 48 (6). – P. 749–757.

143. Dik, W.A. Localizatiion and potential role of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitors of metalloproteinase-1 and -2 in different phases of bronchopulmonary dysplasia [Text] / W.A. Dik, R.R. Krijger, L. Bonelcamp // *Pediatr. Res.*-№5.-2001. -P.761-766.

144. Doyle, L. W. Later appointment (after the 7th day) of corticosteroids in bronchopulmonary dysplasia in premature infants [Text] / L. W. Doyle, R. A. Ehrenkranz, H. L. Halliday // *Cochrane Database Syst. Rev*. – 2014. – № 5: CD001145.

145. Drysdale, S. B. Lung function of preterm infants before and after viral infections [Text] / S. B. Drysdale, J. Lo, M. Prendergast, M. Alcazar, T. Wilson, M. Zuckerman, M. Smith, S. Broughton, G. F. Rafferty, J. L. Peacock, S. L. Johnston, A. Greenough // *Eur. J. Pediatr*. – 2014. – № 173 (11). – P. 1497–1504.

146. Drysdale, S. B. Respiratory outcome of prematurely born infants following human rhinovirus A and C infections [Text] / S. B. Drysdale, M. Alcazar, T. Wilson, M. Smith, M. Zuckerman, I. L. Lauinger, C. Y. Tong, S. Broughton, G. F. Rafferty, S. L. Johnston // *Eur. J. Pediatr*. – 2014. – № 173 (7). – P. 913–919.

147. Fawke, J. Lung Function and Respiratory Symptoms at 11 Years in Children Born Extremely Preterm [Text] / J. Fawke, L. Sooky, J. Kirkby, E. Hennesy, N. Marlow, V. Rowell, S. Thomas, J. Stocks // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2010. – № 182. – P. 237–245.

148. Fujioka, K. Association of a vascular endothelial growth factor polymorphism with the development of bronchopulmonary dysplasia in Japanese premature newborns [Text] / K. Fujioka, A. Shibata, T. Yokota // *Sci. Rep.* – 2014. – Vol. 4, № 4459. – P. 1–5.

149. Gortner, L. Bronchopulmonary dysplasia in a double-hit mouse model induced by intrauterine hypoxia and postnatal hyperoxia : closer to clinical features? [Text] / L. Gortner, D. Monz, C. Mildau, J. Shen, M. Kasoha, M. W. Laschke, T. Roolfs, A. Schmiedl, C. Meier, E. Tutdibi // *Ann Anat.* – 2013. – № 195 (4). – P. 351–358.

150. Gower, W. A. Candidate gene analysis of the surfactant protein D gene in pediatric diffuse lung disease [Text] / W. A. Gower, L. M. Noguee // *J. Pediatr.* – 2013. – № 63 (6). – P. 1778–1780. doi: 10.1016/j.jpeds.2013.06.063.

151. Groothuis, J. R. The definition and treatment of bronchopulmonary dysplasia in infants with very low body weight at birth of newborns [Text] / J. R. Groothuis, D. Makari // *Pediatr. Pulmonol.* – 2013. – Vol. 48, № 1. – P. 8–13.

152. Guimaraes, H. Respiratory outcomes and atopy in school-age children who were preterm at birth, with and without bronchopulmonary dysplasia [Text] / H. Guimaraes, G. Rocha, S. Pissarra, M. B. Guedes, T. Nunes, B. Vitor // *Clinics.* – 2011. – № 66 (3). – P. 425–430.

153. Hallman, M. The surfactant system protects both fetus and newborn [Text] / M. Hallman // *Neonatology.* – 2013. – Vol. 103 (4). – P. 320–326.

154. Hamvas, A. Respiratory consequences of prematurity : evolution of a diagnosis and development of a comprehensive approach [Text] / A. Hamvas, N. L. Maitre, R. A. Ballard, H. J. Ellenberg, S. D. Davis, J. M. Greenberg, G. S. Pryhuber // *J. Perinatol.* – 2015, May. – Vol. 35 (5). – P. 313–331.

155. Harding, D. Angiotensin-converting enzyme DD genotype is associated with worse perinatal cardiorespiratory adaptation in preterm infants [Text] / D. Harding, S Dhamrait, N. Marlow // *J. Pediatr.* – 2013. – Vol.143, № 6. – P.746-749.

156. Harijith, A. A role for matrix metalloproteinase 9 in IFN γ -mediated injury in developing lungs : relevance to bronchopulmonary dysplasia. *The American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* [Text] / A. Harijith, R. Choo-Wing, S. Cataltepe, R. Yasumatsu, Z. H. Aghai, J. Janér, S. Andersson, R. Homer, V. Bhandari // *Biology.* – 2011. – Vol. 44 (5). – P. 621–630.

157. Henderson-Smart, D. J. Prophylactic methylxanthines for endotracheal extubation in preterm infants [Text] / D. J. Henderson-Smart, P. G. Davis // *Cochrane Data-base Syst. Rev.* – 2010. CD000139.

158. Hilgendorff, A. Association of polymorphisms in the human surfactant protein-D (SFTPD) gene and postnatal pulmonary adaptation in the preterm infant [Text] / A. Hilgendorff, K. Heidinger, A. Bohner, A. Kleinsteiber, I. König, A. Ziegler, U. Lindner, G. Frey, C. Merz, B. Lettgen, T. Chakraborty, L. Gortner, G. Bein // *Acta Paediatr.* – 2009. – Vol. 98, № 1. – P. 112–117.

159. Hilgendorff, A. Chronic lung disease in the preterm infant. Lessons learned from animal models [Text] / A. Hilgendorff, I. Reiss, H. Ehrhardt, O. Eickelberg, C. M. Alvira // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2014. – № 50 (2). – P. 233–245.

160. Horne, S.L. Possible protective effect against chronic obstructive airways disease by the GC2 allele [Text] / S.L. Horne, D.W. Cockcroft, J.A. Dosman // *Hum Hered.* -1990. -V. 40. -№ 3.-P. 173-176.

161. Hjalmarson, O. Persisting hypoxaemia is an insufficient measure of adverse lung function in very immature infants [Text] / O. Hjalmarson, H. Brynjarsson, S. Nilsson, K. L. Sandberg // *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* – 2014. – № 99 (4). – P. 257–262.

162. Hyödynmaa, E. Frequency and clinical correlation with radiologic changes of bronchopulmonary dysplasia in infants with very low birth weight

[Text] / E. Hyödynmaa, P. Korhonen, S. Ahonen, T. Luukkaala, O. Tammela // Eur. J. Pediatr. – 2012. – Vol. 171, № 1. – P. 95–102.

163. Ionescu, L. Stem cell conditioned medium improves acute lung injury in mice : In vivo evidence for stem cell paracrine action [Text] / L. Ionescu, R. N. Byrne, T. van Haften, A. Vadivel, R. S. Alphonse, G. J. Rey-Parra, G. Weissmann, A. Hall, F. Eaton, B. Thébaud // Am. J. Physiol Lung Cell Mol Physiol. – 2012. – № 303 (11). – P. 967–977.

164. Kaplan, E. Encouraging pulmonary outcome for surviving, neurologically intact, extremely premature infants in the postsurfactant era [Text] / E. Kaplan, E. Bar-Yishay, D. Prais, G. Klinger, M. Mei-Zahav, H. Mussaffi, G. Steuer, S. Hananya, Y. Matyashuk, N. Gabarra, L. Sirota, H. Blau // Chest. – 2012. – № 142 (3). – P. 725–733// Chest. – 2012. – № 142 (3). – P. 725–733.

165. Kim, D. H. Risk factors for pulmonary artery hypertension in preterm infants with moderate or severe bronchopulmonary dysplasia [Text] / D. H. Kim, H. S. Kim, C. W. Choi, E. K. Kim, B. I. Kim, J. H. Choi // Neonatology. – 2012. – Vol. 101 (1). – P. 40–46.

166. Konefał, H. School-age spirometry in survivors of chronic lung disease of prematurity in the surfactant era [Text] / H. Konefał, M. B. Czeszyńska, T. A. Merritt // Ginekol Pol. – 2013. – Vol. 84 (4). – P. 286–292.

167. Koroglu, O. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms and bronchopulmonary dysplasia [Text] / O. Koroglu, H. Onay, B. Cakmak, B. Bilgin, M. Yalaz, S. Tunc, F. Ozkinay, N. Kultursay // Pediatr Res. – 2014. – Vol. 76 (20). – P. 171–176.

168. Kueppers F. Genetic and environmental determinants of chronic obstructivepulmonary disease [Text] / F. Kueppers, R.K. Larson, M.L. Barman, H. H. fudenberg // Ann. Intern. Med.-1970. Vol. 72. – P. 627-632.

169. Kusuda S. Morbidity and Mortality of Infants with Very Low Birth Weight in Japan [Text] / S.Kusuda, M.Fujimura, I.Sakuma, H.Aotani, K. Kabe, Y. Itani, H. Ichiba, K. Matsunami, H. Nishida //Center Variation, Pediatrics. 2006. Vol. 118. P. 1130–1138

170. Kwinta, P. The prevalence and risk factors of allergic and respiratory symptoms in a regional cohort of extremely low birth weight children (< 1000 g) [Text] / P. Kwinta, G. Lis, M. Klimek, A. Grudzien, T. Tomasik, K. Poplawska, J. J. Pietrzyk // *Italian J. of Pediatrics*. – 2013. – Vol. 39 (4). – P. 1–11.

171. Landry, J. S. Long-term impact of bronchopulmonary dysplasia on pulmonary function [Text] / J. S. Landry, T. Chan, L. Lands, D. Menzies // *Can Respir J*. – 2011. – Vol. 18 (5). – P. 265–270.

172. Lemyre, B. Nasal intermittent positive pressure ventilation (NIPPV) versus nasal continuous positive airway pressure (NCPAP) for preterm neonates after extubation [Text] / B. Lemyre, P. G. Davis, A. G. De Paoli, H. Kirpalani // *Cochrane Database. Syst Rev*. – 2014. – 9. – CD003212.

173. Madurga, A. Recent advances in late lung development and the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia [Text] / A. Madurga, I. Mizikova, J. Ruiz-Camp, R. E. Morty // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol*. – 2013. – Vol. 305 (12). – P. 893–905.

174. Masik, N. P. Vitamin-D metabolism disturbances : one more extrapulmonary effect of systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. [Text] / N. P. Masik // *Ukrajinskij Pulmonologichnij Zhurnal*. – 2015. – № 3. – P. 39–43.

175. May, C. Lung function abnormalities infants developing bronchopulmonary dysplasia [Text] / C. May, C. Kennedy, A. D. Milner, G. F. Rafferty, J. L. Peacock, A. Greenough // *Arch Dis Child*. – 2011. – Vol. 96. – P. 1014–1019.

176. Northway, W. H. Jr. Pulmonary disease following respirator therapy of hyaline-membrane disease. Bronchopulmonary dysplasia [Text] / W. H. Jr. Northway, R. C. Rosan, D. Y. Porter // *N. Engl. J. Med*. – 1967. – Vol. 276 (7). – P. 357–368.

177. O'Reilly, M. Altered small airways in aged mice following neonatal exposure to hyperoxic gas [Text] / M. O'Reilly, R. Harding, F. Sozo // *Neonatology*. – 2014. – Vol. 105 (1). – P. 39–45.

178. Pierro, M. Mesenchymal stem cells for the prevention and treatment of bronchopulmonary dysplasia in preterm infants (Protocol) [Text] / Pierro, M. Mesenchymal stem cells for the prevention and treatment of bronchopulmonary dysplasia in preterm infants (Protocol) [Text] / M. Pierro, B. Thébaud, R. Soll // The Cochrane Library. – 2017. – Issue 11 (5). – doi: 10.1002/14651858.CD011932.pub2.

179. Pierro, M. Short-term, long-term and paracrine effect of human umbilical cord-derived stem cells in lung injury prevention and repair in experimental bronchopulmonary dysplasia [Text] / M. Pierro, L. Ionescu, T. Montemurro, A. Vadivel, G. Weissmann, G. Oudit, D. Emery, S. Bodiga, F. Eaton, B. Péault, F. Mosca, L. Lazzari, B. Thébaud // Thorax. – 2013. – Vol. 68 (5). – P. 475–484.

180. Poggi, C. Genetic polymorphisms of antioxidant enzymes in preterm infants [Text] / C. Poggi, B. Giusti, A. Vestri, E. Pasquini, R. Abbate, C. Dani // J. Matern. Fetal Neonatal Med. – 2012. – Vol. 25 (4). – P. 131–134. doi: 10.3109/14767058.2012.714976.

181. Putylyn, A. M. Study of the polymorphism of the vitamin D receptor gene for glucocorticoid-induced osteoporosis in patients with severe bronchial asthma [Text] / A. M. Putylyn, M. V. Moskalenko, Y. A. Baranova, V. S. Baranov, M. V. Aseev, N. V. Demin, A. G. Chuchalin // Pulmonologija. – 2006. – № 1. – P. 68–73.

182. Rova M., Haataja R., Marttila R. et al. Data mining and multiparameter analysis of lung surfactant protein genes in bronchopulmonary dysplasia [Text] / M. Rova, R. Haataja, R. Marttila, V. Ollikainen, O. Tammela, M. Hallman // Hum. Mol. Genet. 2004; Vol. 13 (11). – P. 1095-1104.

183. Ryckman, K. K. Genetic associations of surfactant protein D and angiotensin-converting enzyme with lung disease in preterm neonates [Text] / K. K. Ryckman, J. M. Dagle, K. Kelsey, A. M. Momany, J. C. Murray // J. Perinatol. – 2012. – Vol. 32, № 5. – P. 349–355. – doi: 10.1038/jp.2011.104.

184. Sandri, F. Prophylactic or early selective surfactant combined with nCPAP in very preterm infants [Text] / F. Sandri, R. Plavka, G. Ancora, U.

Simeoni, Z. Stranak, S. Martinelli, F. Mosca, J. Nona, M. Thomson, H. Verder, L. Fabbri, H. Halliday // *Pediatrics*. – 2010. – Vol. 125. – P. 1402–1409. – doi: 10.1542/peds.2009-2131.

185. Schneibel, K. R. Inflammatory mediator patterns in tracheal aspirate and their association with bronchopulmonary dysplasia in very low birth weight neonates [Text] / K. R. Schneibel, A. M. Fitzpatrick, X. D. Ping, B. S. Lou-Ann, S. Brown, T. W. Gauthier // *J. Perinatol.* – 2013. – Vol. 33 (5). – P. 383–387. – doi: 10.1038/jp.2012.125.

186. Shennan, A.T, Abnormal pulmonary outcomes in premature infants: prediction from oxygen requirement in the neonatal period [Text] / A.T. Shennan, M.S, Dunn, A. Ohlsson, K. Lennox, E.M. Hoskins / *Pediatrics*. – 1988. – Vol. 82 (4). – P. 527 – 532.

187. Shah, P. S Outcomes of preterm infants <29 weeks gestation over 10-year period in Canada: a cause for concern [Text] / P. S. Shah, K. Sankaran, K. Aziz, A. C. Allen, M. Seshia, A. Ohlsson, S. K. Lee // *J. Perinatol.* – 2012. – Vol. 32. – P. 132–138. – doi: 10.1038/jp.2011.68.

188. Shin, S. M. Bronchopulmonary dysplasia : new high resolution computed tomography scoring system and correlation between the high resolution computed tomography score and clinical severity [Text] / S. M. Shin, W. S. Kim, J. E. Cheon, H. S. Kim, W. Lee, A. Y. Jung, I-O. Kim, J. H. Choi // *Korean J. Radiol.* – 2013 (Mar-Apr). – № 14 (2). – P. 350–360.

189. Sorensen G. L, Husby S, Holmskov U. Surfactant protein A and surfactant protein D variation in pulmonary disease [Text] / G.L Sorensen, S.,Husby U. Holmskov // *Immunobiology*. 2007 – Vol. 212 (4-5). P. 381 – 416.

190. Stoll, B. J. Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network [Text] / B. J. Stoll, N. I. Hansen, E. F. Bell, S. Shankaran, A. R. Laptook, M. C. Walsh, E. C. Hale, N. S. Newman, K. Schibler, W. A. Carlo, K. A. Kennedy, B. B. Poindexter, N. N. Finer, R. A. Ehrenkranz, S. Duara, P. J. Sánchez, T. M. O’Shea, R. N. Goldberg, K. P. Van Meurs, R. G. Faix,

D. L. Phelps, I. D. Frantz, K. L. Watterberg, S. Saha, A. Das, R. D. Higgins // *Pediatrics*. – 2010. – Vol. 126. – P. 443–456. – doi: 10.1542/peds.2009-2959.

191. Swarz, G. Ya. Vitamin D, D-hormone and alfacalcidolum : medical, molecular-biologic and pharmacological aspects [Text] / G. Ya. Swarz // *Ukrajinskij Revmatologichnij Zhurnal*. – 2009. – Vol. 3. – P. 63–69.

192. Sweet, D. G. European consensus guidelines on the management of neonatal respiratory distress syndrome in preterm infants – 2013 update [Text] / D. G. Sweet, V. Carnielli, G. Greisen, M. Hallman, E. Ozek, R. Plavka, O. D. Saugstad, U. Simeoni, C. P. Speer, M. Vento, H. L. Halliday // *Neonatology*. – 2013. – Vol. 103. – P. 353–368. – doi: 10.1159/000349928.

193. Usuda, T. Interleukin-6 polymorphism and bronchopulmonary dysplasia risk in very low-birthweight infants [Text] / T. Usuda, T. Kobayashi, S. Sakakibara, A. Kobayashi, T. Kaneko, M. Wada, J. Onozuka, O. Numata, K. Torigoe, H. Yamazaki, T. Sato, Y. Nagayama, M. Uchiyama // *Pediatr. Int.* – 2012. – Vol. 54. – P. 471–475. – doi : 10.1111/j.1442-200X.2012.03625.x.

194. Walsh, M.C. Impact of a physiologic definition on bronchopulmonary dysplasia rates [Text] / M.C. Walsh , Q. Yao, P., et al. *Pediatrics*. -2004. –V. 114(5). –P.1305–1311.

195. Wang, X. GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms as major risk factors for bronchopulmonary dysplasia in a Chinese Han population [Text] / X.Wang, W. Liu, B. Cai, T. Cheng, C. Gao, L. Mo, H. Yang, L. Chang // *Gene*. – 2013. – Vol. 533, № 1. –P. 48–51. – doi : 10.1016/j.gene.2013.10.004.

196. Weber B., Polymorphisms of surfactant protein A genes and the risk of bronchopulmonary dysplasia in preterm infants [Text] / B. Weber, A. Borkhardt , S. Stoll-Becker, I. Reiss, L. Gortner // *Turk. J. Pediatr.* 2000. Vol. 42, N 3. P. 181-185.

197. Weintraub, Z. The association between stage 3 or higher retinopathy of prematurity and other disorders of prematurity [Text] / Z. Weintraub, N. Carmi, H. Elouti, S. Rumelt // *Can. J. Ophthalmol.* – 2011. – № 46 (5). – P. 419–424.

198. Yang J.Y., The relationship between eosinophilia and bronchopulmonary dysplasia in premature infants at less than 34 weeks' gestation. [Text] / J. Y. Yang, J. Cha, S-Y. Shim, S. J. Cho, E. A. Park// Korean J Pediatr. 2014; 57 (4): 171-177

199. Zarqa, A. Predictors of bronchopulmonary dysplasia and pulmonary hypertension in newborn children [Text] / A. Zarqa, P. Schmidt, J. Dodd // Dan Med J. – 2013. – № 60 (8). – P. 520–523.