

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

БИОЛОГИЯ

BIOLOGY

УДК 577.21:575.174.015.3:616.24-008.4
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-187-194>

Поступило в редакцию 04.04.2022
Received 04.04.2022

**О. М. Малышева¹, Е. П. Михаленко¹, А. П. Сухарева^{2,3}, М. В. Артюшевская³,
К. А. Гомолко^{2,3}, академик А. В. Кильчевский¹**

¹Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Клинический родильный дом Минской области, Минск, Республика Беларусь

³Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ БЕЛКОВ СУРФАКТАНТА SP-B И SP-C У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ С ДЫХАТЕЛЬНЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ

Аннотация. Синдром дыхательных расстройств (СДР) и бронхолегочная дисплазия (БЛД) являются заболеваниями легких, возникающими в основном у недоношенных новорожденных. Полиморфные варианты генов сурфактантных белков рассматриваются как кандидаты, вносящие вклад в патогенез СДР и БЛД. Изучена связь 5 полиморфных вариантов гена *SFTPB* (rs2077079, rs1130866, D2S388, D2S2232, VNTR 4 интрона) и 3 полиморфных замен гена *SFTPC* (rs4715, rs1124, rs2070687) у недоношенных новорожденных с СДР различной степени тяжести и БЛД. В исследование включены 555 новорожденных, среди которых 313 недоношенных младенцев со сроком гестации 28–36 недель. Генотипирование проводили секвенированием по Сэнгеру, микросателлитным анализом и ПЦР-РВ. Все недоношенные новорожденные характеризовались наличием СДР разной степени тяжести, у 36 новорожденных была выявлена БЛД. Микросателлитный маркер D2S388 гена *SFTPB* вносит вклад в этиологию СДР и может служить геном его предрасположенности. Аллель 256 п. н. увеличивает риск развития СДР тяжелой степени. В то же время генотип –18AA rs2077079 гена *SFTPB* ассоциирован с уменьшением риска развития СДР тяжелой степени. Полиморфный вариант с.413C>A р. T138N (rs4715) гена *SFTPC* ассоциирован с БЛД: генотип 413CC повышает, а генотип 413CA снижает риск развития заболевания.

Ключевые слова: полиморфизм генов, синдром дыхательных расстройств, бронхолегочная дисплазия, недоношенные новорожденные, сурфактант

Для цитирования. Генетический полиморфизм белков сурфактанта SP-B и SP-C у недоношенных новорожденных с дыхательными осложнениями / О. М. Малышева [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 187–194. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-187-194>

**Volha M. Malyshava¹, Alena P. Mikhalenka¹, Anastasiya P. Suharava^{2,3}, Maryna V. Artsiusheuskaya³,
Kseniya A. Gomolko^{2,3}, Academician Aleksandr V. Kilchevsky¹**

¹Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Clinical Maternity Hospital of Minsk Region, Minsk, Republic of Belarus

³Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

GENETIC POLYMORPHISM OF SP-B AND SP-C SURFACTANT PROTEINS IN PRETERM INFANTS WITH RESPIRATORY COMPLICATIONS

Abstract. The respiratory distress syndrome (RDS) and the bronchopulmonary dysplasia (BPD) are the lung diseases that occur mainly in preterm infants. Polymorphic variants of surfactant protein genes are considered as candidates contributing to the pathogenesis of RDS and BPD. The association of 5 polymorphic variants of the *SFTPB* gene (rs2077079, rs1130866, D2S388, D2S2232, VNTR 4 introns) and 3 polymorphic substitutions of the *SFTPC* gene (rs4715, rs1124, rs2070687) in newborns with the development risk and severity of RDS and BPD was studied. 555 newborns were included in the study, among which 313 premature babies with a gestational age of 28–36 weeks. Genotyping was performed by the Sanger sequencing, the microsatellite analysis, and the real-time PCR. All premature newborns were characterized by the presence of RDS of differ-

ent severity and BPD was detected in 36 newborns. The microsatellite marker D2S388 of the *SFTPB* gene contributes to the etiology of RDS and may serve as a gene for its predisposition. Allele 256 bp increases the risk of developing severe RDS. At the same time, the –18AA rs2077079 genotype of the *SFTPB* gene is associated with a reduced risk of developing severe RDS. The polymorphic variant c.413C>A p. T138N (rs4715) of the *SFTPC* gene is associated with BPD: the 413CC genotype increases, and the 413CA genotype reduces the risk of developing the disease.

Keywords: gene polymorphism, respiratory distress syndrome, bronchopulmonary dysplasia, premature newborns, surfactant

For citation. Malyshava V. M., Mikhalenka A. P., Suharava A. P., Artsiusheuskaya M. V., Gomolko K. A., Kilchevsky A. V. Genetic polymorphism of SP-B and SP-C surfactant proteins in preterm infants with respiratory complications. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 187–194 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-187-194>

Введение. Важнейшей функцией легочного сурфактанта является обеспечение механики дыхания легких. При дефиците или сниженной активности сурфактанта повышается проницаемость альвеолярных и капиллярных мембран для белка и жидкости, что вызывает застой крови в капиллярах, отек интерстициальной и альвеолярной тканей, снижение растяжимости и газообменной функции легких, происходит спадание альвеол и формирование ателектазов. Вследствие этого уменьшается функциональная остаточная емкость, дыхательный объем и жизненная емкость легких. Эти процессы приводят к появлению гипоксемии, гиперкапнии и острой дыхательной недостаточности. Основным осложнением синдрома дыхательных расстройств (СДР) у недоношенных новорожденных является бронхолегочная дисплазия (БЛД) [1; 2].

К мультифакторным патологическим состояниям недоношенных новорожденных относятся как СДР, так и БЛД, вклад в развитие которых помимо антенатальных и постнатальных предикторов, незрелости структур и органов из-за недоношенности вносят и генетические детерминанты. Понимание молекулярных механизмов их патогенеза позволяет выявлять гены, белковые продукты которых могут быть ассоциированы с возникновением болезни. Значительную роль в формировании дыхательной недостаточности играют белки сурфактанта SP-B и SP-C, кодируемые генами *SFTPB*, *SFTPC*, за счет участия в оптимизации реологических свойств поверхности сурфактанта при динамических изменениях в процессе легочного дыхания. Можно предположить, что полиморфные варианты в генах *SFTPB*, *SFTPC*, влияющие на уровень и активность сурфактанта, могут оказывать значимую роль в формировании и течении дыхательных расстройств у недоношенных новорожденных [1; 2].

Целью данного исследования является изучение связи полиморфных вариантов в генах *SFTPB* и *SFTPC* у недоношенных новорожденных с течением синдрома дыхательных расстройств и развитием бронхолегочной дисплазии.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 555 новорожденных детей, родившихся в УЗ «Клинический родильный дом Минской области» с 2015 по 2021 г. Эксперимент проводился с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности, получено письменное информированное согласие законного представителя пациента и разрешение Комитета по этике БелМАПО на проведение исследования.

В соответствии с поставленными задачами были сформированы 2 группы наблюдений: основная, состоящая из 313 недоношенных новорожденных, а также группа сравнения – 242 доношенных новорожденных, гестационный возраст которых был в пределах 37–40 недель и течение раннего неонатального периода характеризовалось отсутствием патологических признаков. Исследуемая группа недоношенных новорожденных была разделена на 3 подгруппы в зависимости от гестационного срока.

Критериями включения пациентов в основную группу исследования были следующие: срок гестации 28–36 недель, наличие СДР различной степени тяжести. При тяжелом течении СДР недоношенному ребенку проводилась сурфактантная терапия, респираторная поддержка более 1 суток, оксигенотерапия после перевода на спонтанное дыхание. У младенцев с СДР умеренной степени тяжести респираторная поддержка проводилась в течение первых суток. Диагноз бронхолегочная дисплазия был выставлен на основании клинических и рентгенологических данных.

Распределение пациентов по группам с учетом срока гестации, степени тяжести СДР и наличия БЛД показано на рис. 1.



Рис. 1. Распределение пациентов и критерии их включения в исследуемые группы

Fig. 1. Patients' distribution and criteria for their inclusion in the study groups

Геномную ДНК выделяли из пуповинной и венозной периферической крови методом фенол-хлороформной экстракции [3].

У пациентов проведен анализ 8 полиморфных вариантов генов *SFTPВ*, *SFTPС*. Инсерционно-делеционный полиморфный локус, обусловленный вариабельностью числа tandemных повторов (VNTR – variable number tandem repeat) в интроне 4 гена *SFTPВ* определяли электрофорезом ПЦР-продукта в 1,5 %-ном агарозном геле сразу после проведения амплификации. Фрагменты более 510 п. н. соответствовали наличию инсерции длиной 20 п. н. Фрагменты менее 510 п. н. соответствовали наличию делеции. Для выявления полиморфных вариантов с.392C>T Thr131Ile (rs1130866), D2S388, D2S2232 гена *SFTPВ* и с.413C>A p.T138N (rs4715), с.557G>A p.S186N (rs1124), с.436-8 C>G (rs2070687) гена *SFTPС* использовали метод капиллярного электрофореза (секвенирование по Сэнгеру, микросателлитный анализ). Нуклеотидную замену –18A>C rs2077079 гена *SFTPВ* определяли методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ).

Последовательности праймеров, использованных в работе, подобраны по [4–8], а условия ПЦР – экспериментально для каждой пары праймеров.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью программного обеспечения GraphPad InStat Version 3.05 и онлайн-программы SNPStats (http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats_web). Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. У недоношенных новорожденных в сроке гестации 32–34 и 34–36 недель чаще встречается СДР умеренной степени тяжести (55,4 и 65,4 % соответственно).

Недоношенные новорожденные с БЛД чаще встречались в сроке гестации 28–32 недели (19,1 %), чем в сроке гестации 32–34 недели (2,4 %). В группе поздних недоношенных исследуемого осложнения выявлено не было. Поэтому в статистическом анализе корректно использовать в качестве группы сравнения для определения риска развития исследуемого осложнения молекулярно-генетические данные пациентов гестационного возраста 28–32 недели.

В исследовании была проанализирована связь 8 полиморфных вариантов генов *SFTPВ* и *SFTPС* с риском развития и тяжестью течения синдрома дыхательных расстройств, риском развития бронхолегочной дисплазии у недоношенных новорожденных. При проведении анализа

по микросателлитным маркерам D2S388 и D2S2232 гена *SFTPВ* обнаружено 9 (250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266 п. н.) и 10 (200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218 п. н.) аллелей, которые образуют 22 и 42 генотипа соответственно. Аллели с частотой встречаемости менее 5 % на всю исследуемую выборку из анализа были исключены.

Проведено попарное сравнение в следующих группах новорожденных (алгоритм пошагового сравнения групп новорожденных с увеличением тяжести респираторного осложнения: от отсутствия до БЛД):

- 1) контрольная группа (доношенные новорожденные) и пациенты с СДР умеренной степени тяжести (срок гестации – 28–36 недель);
- 2) пациенты с СДР умеренной степени тяжести и пациенты с СДР тяжелой степени (срок гестации – 28–36 недель для обеих групп);
- 3) пациенты с СДР тяжелой степени в сроке гестации 28–32 недели с БЛД и без исследуемого осложнения.

Распределение генотипов в группе доношенных новорожденных соответствовало равновесию Харди–Вайнберга.

Анализ распределения частоты встречаемости полиморфных вариантов генов *SFTPВ* и *SFTPC* не выявил существенных различий между группой недоношенных новорожденных с СДР умеренной степени тяжести и контрольной группой.

На следующем этапе проводился анализ связи изучаемых нуклеотидных замен и микросателлитных локусов с тяжестью течения синдрома дыхательных расстройств у недоношенных новорожденных в сроке гестации 28–36 недель, так как не было обнаружено достоверных различий в частотах распределения полиморфных вариантов изучаемых локусов в зависимости от гестационного срока пациентов в основной группе. Обнаружено, что в гене *SFTPВ* по микросателлитному маркеру SPBD388 аллель 256 п. н. встречается в 1,9 раза чаще в группе недоношенных новорожденных с тяжелой формой СДР ($p = 0,026$; OR (95 % CI): 2,00 (1,10–3,63)), а генотип –18АА rs2077079 в 1,4 раза реже ($p = 0,032$; OR (95 % CI): 0,60 (0,37–0,95)).

В дальнейшем проанализирована ассоциация полиморфных вариантов генов *SFTPВ* и *SFTPC* с развитием БЛД у недоношенных новорожденных со сроком гестации 28–32 недели, группу сравнения для которых составили недоношенные сроком гестации 28–32 недели без БЛД с СДР тяжелой степени. Установлено влияние полиморфных вариантов rs4715 гена *SFTPC* на риск развития БЛД у недоношенных с СДР тяжелой степени. В группе недоношенных новорожденных с БЛД достоверно чаще встречались носители генотипа 413СС ($p = 0,026$; OR (95 % CI): 2,60 (1,13–5,98)) и достоверно реже – носители генотипа 413СА ($p = 0,023$; OR (95 % CI): 0,30 (0,11–0,80)).

Полученные данные об аллелях и генотипах полиморфных вариантов генов *SFTPВ* и *SFTPC*, достоверно ассоциированных с риском развития респираторных нарушений у недоношенных новорожденных, представлены на рис. 2.

По микросателлитному маркеру D2S2232, инсерционно-делеционному полиморфизму, нуклеотидным заменам rs1130866 гена *SFTPВ*, rs1124 и rs2070687 гена *SFTPC* не было выявлено ассоциаций со степенью тяжести СДР и риском развития БЛД.

Молекулярные нарушения в генах *SFTPВ* и *SFTPC* могут приводить к изменению процесса образования сурфактанта либо к нарушению его метаболизма. Первый патогенный вариант в гене *SFTPВ* был выявлен у доношенного новорожденного с дефицитом белка SP-B и альвеолярным протеинозом, так называемая 121ins2 – мутация, расположенная в 4 экзоне гена. Инсерция вызывает сдвиг рамки считывания и появление преждевременного стоп-кодона в 6 экзоне гена, что приводит к нестабильности транскрипта, а также к отсутствию мРНК и белка SP-B [9]. В настоящее время известно примерно о 50 различных мутациях по всему гену, из которых мутация 121ins2 является наиболее распространенной и может составлять более половины случаев синдрома дыхательных расстройств среди европеоидного населения.

Патогенный эффект мутаций в гене *SFTPC* в первую очередь является результатом ошибочного процессинга мутантного белка, который оказывает токсическое воздействие на альвеолоциты. Среди более 60 замен в гене *SFTPC* наиболее распространенной мутацией как

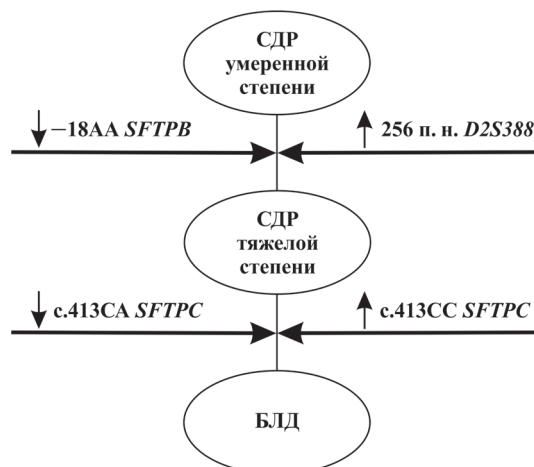


Рис. 2. Генотипы и аллели полиморфных вариантов генов *SFTPВ* и *SFTPС*, ассоциированные с риском развития респираторных нарушений (↑ – повышенный риск развития осложнения, ↓ – пониженный риск развития осложнения)

Fig. 2. Genotypes and alleles of polymorphic variants of the *SFTPВ* and *SFTPС* genes associated with the risk of developing respiratory disorders (↑ – increased risk of complications, ↓ – reduced risk of complications)

у детей, так и у взрослых является мутация линкерного домена – I73T, в результате чего нарушается транспорт пропептида в эндосомы и регуляция протеостаза в альвеолоцитах. Кроме того, при наличии этой мутации происходит изменение липидного состава сурфактанта. Другие мутации, расположенные в С-концевом BRICHOS-домене, вызывают токсическое внутриклеточное накопление пробелка и апоптоз клетки [9].

Помимо патогенных мутаций в генах описано множество полиморфных локусов, расположенных в кодирующей части, регуляторной и нетранслируемой области гена, которые могут влиять на уровень и активность сурфактанта, тем самым оказывая модифицирующую роль в формировании и течении дыхательных расстройств у недоношенных новорожденных.

В промоторной области гена *SFTPВ* между ТАТА-боксом и сайтом инициации транскрипции расположен полиморфный вариант –18С/А, который может функционально воздействовать на промотор. Транскрипционный фактор Sp1 связывается более тесно с последовательностью аллеля С, чем с последовательностью аллеля А. Транскрипционный и иммуноферментный анализ жидкости бронхоальвеолярного лаважа показали, что присутствие аллеля С коррелирует с большей активностью промотора гена *SFTPВ* и белка SP-B. Наблюдалась примерно трехкратная разница в количестве SP-B в жидкости бронхоальвеолярного лаважа в сравнении с лицами, обладающими генотипами –18СА и –18АА [10]. Генотип –18АА, достоверно чаще встречаемый у недоношенных новорожденных с СДР умеренной степени тяжести в нашем исследовании, снижает экспрессию гена *SFTPВ*, что должно повышать степень тяжести респираторных осложнений. Обнаруженное защитное свойство данного генотипа вероятно связано с другими факторами.

VNTR 4 интрона гена *SFTPВ* состоит из повторяющихся мотивов, включающих консервативную последовательность длиной 20 п. н., за которой следуют различные динуклеотидные повторы (СА-повторы). Вариантные аллели состоят либо из инсерций мотивов, либо из делеций мотивов. Длина 4 интрона гена влияет на сплайсинг в области экзон 4/интрон 4 и появление не полностью сплайсированной мРНК при наличии делеции в интроне. Длина 4 интрона играет роль в регуляции транскрипции гена *SFTPВ*, что приводит к изменению мРНК. Гомозиготный вариант генотипа с делецией в 4 интроне может быть связан с развитием БЛД за счет наличия аномального белка SP-B [11].

Микросателлитные маркеры D2S388 и D2S2232 гена *SFTPВ* расположены в некодирующей области примерно на расстоянии 191 и 105 т. п. н. от центромерного конца гена соответственно, и представляют собой последовательности двух основных повторов (AC)*n*. По литературным данным известно о корреляции между полиморфизмами D2S388 и D2S2232 и предрасположенностью к острому респираторному дистресс-синдрому и восприимчивостью к хронической

обструктивной болезни легких (ХОБЛ) у мексиканцев [5]. Так, в локусе D2S388 аллель 254 п. н. достоверно чаще встречается у китайцев с ХОБЛ, аллель 256 п. н. – у детей с СДР, аллель 258 п. н. – у недоношенных новорожденных с БЛД [5; 12; 13], а в локусе D2S2232 аллель 222 п. н. повышает, а 220 п. н. снижает риск развития БЛД у недоношенных детей [13].

Полиморфный вариант с.392С>Т Thr131Ile расположен в 4 экзоне гена, замещение цитозина тиминном приводит к замене аминокислоты треонина на изолейцин в положении 131 белка, что может блокировать потенциальные сайты N-связанного гликозилирования. При наличии аллеля С в сайте Asn129-Gln-Thr131 происходит гликозилирование, тогда как при аллеле Т – нет. Нарушение процессинга, секреции и фолдинга белка SP-B в результате N-связанного гликозилирования может привести к изменению качественного и количественного уровней белка. По литературным данным генотип СС может быть связан с повышенным риском заболевания легких [10; 11]. В проведенном исследовании не выявлено ассоциации с развитием и тяжестью респираторных осложнений у недоношенных детей.

Литературные данные об участии полиморфных вариантов гена *SFTPC* в развитии и течении СДР и БЛД малочисленны и противоречивы. Полиморфный вариант с.413С>А р. T138N rs4715 в 4 экзоне гена *SFTPC* приводит к аминокислотной замене треонина на аспарагин. Замена гуанина на аденин в полиморфном варианте rs1124 в 5 экзоне гена приводит к замене аминокислоты серин на аспарагин. Механизм влияния этих полиморфных вариантов на риск развития различных заболеваний легкого до сих пор не ясен. Однако обе замены расположены в экзонах, кодирующих С-концевой BRICHOS-домен белка, который имеет решающее значение в процессинге proSP-C до зрелого сурфактантного белка С [14]. Известно, что обе несинонимичные замены ассоциированы с развитием СДР, муковисцидоза, интерстициальной болезни легких. В районе альтернативного сайта сплайсинга 4 интрона гена *SFTPC* расположен полиморфный вариант rs2070687 (436-8 С→G), замена нуклеотидов в котором может привести к образованию двух разных видов мРНК, за счет вставки или делеции 18 нуклеотидов [15].

Полиморфные варианты генов, кодирующих белки сурфактанта В и С, являются важными генетическими компонентами полиэтиологической структуры СДР и БЛД недоношенных новорожденных. Необходимы дальнейшие исследования для валидации полученных результатов с использованием большей популяции для выявления факторов, способствующих развитию БЛД с целью прогнозирования развития и степени тяжести этого заболевания.

Заключение. Микросателлитный маркер D2S388 гена *SFTPB* вносит вклад в этиологию СДР и может служить геном его предрасположенности. Аллель 256 п. н. увеличивает риск развития СДР тяжелой степени. В то же время генотип –18АА rs2077079 гена *SFTPB* ассоциирован с уменьшением риска развития СДР тяжелой степени.

Полиморфный вариант с.413С>А р. T138N (rs4715) гена *SFTPC* ассоциирован с БЛД: генотип 413СС повышает, а генотип 413СА понижает риск развития заболевания.

По микросателлитному маркеру D2S2232, инсерционно-делеционному полиморфному локусу, нуклеотидным заменам rs1130866 гена *SFTPB*, rs1124 и rs2070687 гена *SFTPC* не было выявлено ассоциаций со степенью тяжести СДР и риском развития БЛД.

Список использованных источников

1. Jackson, J. C. Respiratory distress in the preterm infant / J. C. Jackson // *Avery's Diseases of the Newborn: 9th ed.* / ed. C. A. Gleason, S. U. Devaskar. – 2012. – Ch. 46. – P. 633–646. <https://doi.org/10.1016/b978-1-4377-0134-0.10046-0>
2. Bronchopulmonary dysplasia / B. Thébaud [et al.] // *Nat. Rev. Dis. Primers.* – 2019. – Vol. 5, N 1. – P. 1–23. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0127-7>
3. Sambrook, J. Isolation of highmolecular-weight DNA from mammalian cells / J. Sambrook, E. F. Fritsch, T. Maniatis // *Molecular Cloning: a laboratory manual.* – 2nd ed. – N. Y., 1989. – P. 9.14–9.23.
4. Surfactant protein B deficiency and gene mutations for neonatal respiratory distress syndrome in China Han ethnic population / X. Yin [et al.] // *J. Clin. Exp. Pathol.* – 2013. – Vol. 6, N 2. – P. 267–272.
5. Relationship between the microsatellite D2S388-5 and D2S2232 polymorphisms and chronic obstructive pulmonary disease in the Chinese Kazakh population / J. Gu [et al.] // *Respirology.* – 2013. – Vol. 18, N 2. – P. 303–307. <https://doi.org/10.1111/resp.12000>
6. Surfactant proteins A and B as interactive genetic determinants of neonatal respiratory distress syndrome / R. Haataja [et al.] // *Hum. Mol. Gen.* – 2000. – Vol. 9, N 18. – P. 2751–2760. <https://doi.org/10.1093/hmg/9.18.2751>

7. Genetic association of pulmonary surfactant protein genes, *SFTPA1*, *SFTPA2*, *SFTPB*, *SFTPC*, and *SFTPD* with cystic fibrosis / Z. Lin [et al.] // *Front. Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 1–17. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02256>
8. Two novel mutations in surfactant protein-C, lung function and obstructive lung disease / M. Bækvad-Hansen [et al.] // *Respiratory Medicine.* – 2010. – Vol. 104, N 3. – P. 418–425. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2009.10.012>
9. Moorsel, C. Genetic disorders of the surfactant system: focus on adult disease / C. Moorsel, J. Vis, J. Grutters // *Eur. Respir. Rev.* – 2021. – Vol. 30, N 159. – Art. 200085. <https://doi.org/10.1183/16000617.0085-2020>
10. Surfactant protein B gene polymorphisms is associated with risk of bronchopulmonary dysplasia in Chinese Han population / S. Zhang [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2015. – Vol. 8, N 3. – P. 2971–2978.
11. Association of surfactant protein B gene polymorphisms (C/A-18, C/T1580, intron 4 and A/G9306) and haplotypes with bronchopulmonary dysplasia in Chinese Han population / B. Cai [et al.] // *J. Huazhong Univ. Sci. Technol.* – 2013. – Vol. 33, N 3. – P. 323–328. <https://doi.org/10.1007/s11596-013-1118-7>
12. Family-based association tests suggest linkage between surfactant protein B (SP-B) (and flanking region) and respiratory distress syndrome (RDS): SP-B haplotypes and alleles from SP-B-linked loci are risk factors for RDS / J. Floros [et al.] // *Pediatr. Research.* – 2006. – Vol. 59, N 4, part 1. – P. 616–621. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000203145.48585.2c>
13. Genetic variants of surfactant proteins A, B, C, and D in bronchopulmonary dysplasia / J. Pavlovic [et al.] // *Disease Markers.* – 2006. – Vol. 22, N 5–6. – P. 277–291. <https://doi.org/10.1155/2006/817805>
14. Association of SP-C gene codon 186 polymorphism (rs1124) and risk of RDS / N. Fatahi [et al.] // *Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine.* – 2016. – Vol. 30, N 21. – P. 2585–2589. <https://doi.org/10.1080/14767058.2016.1256994>
15. Clinical biological and genetic heterogeneity of the inborn errors of pulmonary surfactant metabolism / M. Tredano [et al.] // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2001. – Vol. 39, N 2. – P. 90–108. <https://doi.org/10.1515/cclm.2001.018>

References

1. Jackson J. C. Respiratory distress in the preterm infant. Gleason C. A., Devaskar S. U., ed. *Avery's Diseases of the Newborn: 9th ed.* 2012, ch. 46, pp. 633–646. <https://doi.org/10.1016/b978-1-4377-0134-0.10046-0>
2. Thébaud B., Goss K. N., Laughon M., Whitsett J. A., Abman S. H., Steinhorn R. H., Aschner J. L., Davis P. G., McGrath-Morrow S. A., Soll R. F., Job A. H. Bronchopulmonary dysplasia. *Nature Reviews Disease Primers*, 2019, vol. 5, no. 1, pp. 1–23. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0127-7>
3. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. Isolation of highmolecular-weight DNA from mammalian cells. *Molecular Cloning: a laboratory manual, 2nd ed.* N. Y., 1989, pp. 9.14–9.23.
4. Yin X., Meng F., Wang Y., Xie L., Kong X., Feng Z. Surfactant protein B deficiency and gene mutations for neonatal respiratory distress syndrome in China Han ethnic population. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2013, vol. 6, no. 2, pp. 267–272.
5. Gu J., Liu X.-S., Xu Y.-J., Xu X.-L., Yang Y.-S., Wang R. Relationship between the microsatellite D2S388-5 and D2S2232 polymorphisms and chronic obstructive pulmonary disease in the Chinese Kazakh population. *Respirology*, 2013, vol. 18, no. 2, pp. 303–307. <https://doi.org/10.1111/resp.12000>
6. Haataja R., Ramet M., Marttila R., Hallman M. Surfactant proteins A and B as interactive genetic determinants of neonatal respiratory distress syndrome. *Human Molecular Genetics*, 2000, vol. 9, no. 18, pp. 2751–2760. <https://doi.org/10.1093/hmg/9.18.2751>
7. Lin Z., Thorenoor N., Wu R., DiAngelo S. L., Ye M., Thomas N. J., Liao X., Lin T. R., Warren S., Floros J. Genetic association of pulmonary surfactant protein genes, *SFTPA1*, *SFTPA2*, *SFTPB*, *SFTPC*, and *SFTPD* with cystic fibrosis. *Frontiers in Immunology*, 2018, vol. 9, pp. 1–17. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02256>
8. Bækvad-Hansen M., Nordestgaard B. G., Tybjaerg-Hansen A., Dahl M. Two novel mutations in surfactant protein-C, lung function and obstructive lung disease. *Respiratory Medicine*, 2010, vol. 104, no. 3, pp. 418–425. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2009.10.012>
9. Moorsel C., Vis J., Grutters J. Genetic disorders of the surfactant system: focus on adult disease. *European Respiratory Review*, 2021, vol. 30, no. 159, art. 200085. <https://doi.org/10.1183/16000617.0085-2020>
10. Zhang S., Zhang X., Li Q., Kong X., Zhang Y., Wei X., Song J., Feng Z. Surfactant protein B gene polymorphisms is associated with risk of bronchopulmonary dysplasia in Chinese Han population. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2015, vol. 8, no. 3, pp. 2971–2978.
11. Cai B., Chang L., Li W., Liu W., Wang X., Mo L., Zhao L., Xu H., Yang H. Association of surfactant protein B gene polymorphisms (C/A-18, C/T1580, intron 4 and A/G9306) and haplotypes with bronchopulmonary dysplasia in Chinese Han population. *Journal Huazhong University of Science and Technology*, 2013, vol. 33, no. 3, pp. 323–328. <https://doi.org/10.1007/s11596-013-1118-7>
12. Floros J., Thomas N. J., Liu W., Papagaroufalos C., Xanthou M., Pereira S., Fan R., Guo X., DiAngelo S., Pavlovic J. Family-based association tests suggest linkage between surfactant protein B (SP-B) (and flanking region) and respiratory distress syndrome (RDS): SP-B haplotypes and alleles from SP-B-linked loci are risk factors for RDS. *Pediatric Research*, 2006, vol. 59, no. 4, part 1, pp. 616–621. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000203145.48585.2c>
13. Pavlovic J., Papagaroufalos C., Xanthou M., Liu W., Fan R., Thomas N. J., Apostolidou I., Papatoma E., Megaloyianni E., DiAngelo S., Floros J. Genetic variants of surfactant proteins A, B, C, and D in bronchopulmonary dysplasia. *Disease Markers*, 2006, vol. 22, no. 5–6, pp. 277–291. <https://doi.org/10.1155/2006/817805>
14. Fatahi N., Dalili H., Kalani M., Niknafs N., Shariat M., Tavakkoly-Bazzaz J., Amini E., Shirvani T. E., Hardani A., Taheritafti R., Ghasemi-Fakhr N., Ghadami M., Nayeri F., Rashidi-Nezhad A. Association of SP-C gene codon 186 polymor-

phism (rs1124) and risk of RDS. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, 2016, vol. 30, no. 21, pp. 2585–2589. <https://doi.org/10.1080/14767058.2016.1256994>

15. Tredano M., Blic J., Griese M., Fournet J.-C., Elion J., Bahuau M. Clinical biological and genetic heterogeneity of the inborn errors of pulmonary surfactant metabolism. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2001, vol. 39, no. 2, pp. 90–108. <https://doi.org/10.1515/cclm.2001.018>

Информация об авторах

Мальшиева Ольга Михайловна – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: O.Malysheva@igc.by.

Михаленко Елена Петровна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: E.Michalenko@igc.by.

Сухарева Анастасия Павловна – аспирант. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, Минск, Республика Беларусь); врач-неонатолог. Клинический родильный дом Минской области (ул. Ф. Скорины, 16, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: nstbor@tut.by.

Артюшевская Марина Владимировна – канд. мед. наук, ассистент кафедры. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, Минск, Республика Беларусь). E-mail: 6579542@bk.ru.

Гомолко Ксения Александровна – аспирант. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, Минск, Республика Беларусь); врач-неонатолог. Клинический родильный дом Минской области (ул. Ф. Скорины, 16, 220114, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kseniagomolko@tut.by.

Кильчевский Александр Владимирович – академик, д-р биол. наук, профессор, научный руководитель лаборатории. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kilchev@presidium.bas-net.by.

Information about the authors

Malyshava Volha M. – Junior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: O.Malysheva@igc.by.

Mikhalenka Alena P. – Ph. D. (Biology), Leading Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: E.Michalenko@igc.by.

Suharava Anastasiya P. – Postgraduate Student. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus); Neonatologist. Clinical Maternity Hospital of Minsk Region (16, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nstbor@tut.by.

Artsiusheuskaya Maryna V. – Ph. D. (Medicine), Assistant. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: 6579542@bk.ru.

Gomolko Kseniya A. – Postgraduate Student. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus); Neonatologist. Clinical Maternity Hospital of Minsk Region (16, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kseniagomolko@tut.by.

Kilchevsky Aleksandr V. – Academician, D. Sc. (Biology), Professor, Scientific Head of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kilchev@presidium.bas-net.by.