DOI: https://doi.org/10.17816/rpoj656008 EDN: GQMBGE

Анализ патологических изменений в генах коллагенов у детей с ретинопатией недоношенных

Ю.Д. Кузнецова[1,2], М.Е. Винер[2], С.В. Лесовой[1,2], О.С. Кривовяз[1,2], А.В. Бахарев[2,3], Ж.М. Салмаси[4], Л.М. Балашова[2]

[1] Российская детская клиническая больница — филиал Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия;
[2] Международный научно-практический центр пролиферации тканей, Москва, Россия;
[3] Городская клиническая больница № 1 имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия;
[4] Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Коллаген — самый распространённый белок в организме человека, необходимый для поддержания каркаса различных тканей, включая глаз. Мутации или изменения в экспрессии генов коллагенов или связанных с ними генов могут нарушать нормальное развитие тканей и вызывать патологические изменения в структуре и функционировании внеклеточного матрикса сетчатки, наблюдаемые при ретинопатии недоношенных и других пролиферативных заболеваниях сетчатки.

Цель исследования. Изучить изменения экспрессии генов коллагенов и генов, вовлечённых в их интерактом, у пациентов с ретинопатией недоношенных, а также проанализировать влияние выявленных молекулярных нарушений на тяжесть течения заболевания.

Методы. Проведено обсервационное многоцентровое проспективное параллельное исследование. Критерии включения: дети, родившиеся до 32 нед. беременности или с массой тела при рождении менее 1800 г. Дополнительные критерии для включения в основную группу и сравнения — подтверждённый диагноз активной ретинопатии недоношенных 3–4В стадии и его отсутствие соответственно. Образцы венозной крови взяли у всех пациентов. Выделена геномная ДНК и проведено полногеномное секвенирование. Анализировали изменения в экспрессии генов коллагенов и связанных с ними генов, а также влияние выявленных нарушений на тяжесть течения заболевания.

Результаты. В основную группу вошли 35 детей с диагнозом активной ретинопатии недоношенных 3–4В стадии. В группу сравнения — 30 недоношенных детей без признаков ретинопатии. Проведён анализ 115 генов, в 50 из которых обнаружено статистически значимое изменение экспрессии у пациентов основной группы относительно группы сравнения. В частности, мутации в генах *COL1A1* и *COL2A1* ассоциированы с тяжёлыми стадиями ретинопатии недоношенных (p <0,01). Наиболее часто наблюдали вариант однонуклеотидного полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1*, демонстрирующий корреляцию с тяжестью данной патологии (p <0,005). С учётом проведённого логистического регрессионного анализа выявлена связь между генетическими вариантами и клиническими исходами ретинопатии недоношенных. Так, наличие мутаций в генах *COL1A1* и *COL2A1* сопряжено с высоким риском отслоения сетчатки и плохим прогнозом для зрения: коэффициент шансов — 4,5 (95% доверительный интервал 2,1–9,4), p <0,01. Кроме того, у пациентов с множественными полиморфизмами в этих генах выше вероятность активного прогрессирования заболевания, сопровождающегося высокой частотой неэффективности лечения и потребностью в хирургическом вмешательстве.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что изменения в генах коллагенов и генах, вовлечённых в их интерактом, не только способствуют развитию ретинопатии недоношенных, но и имеют потенциальную ценность в качестве прогностических биомаркёров её тяжести и исходов.

Ключевые слова: ретинопатия недоношенных; гены коллагенов; интерактом.

Как цитировать:
Кузнецова Ю.Д., Винер М.Е., Лесовой С.В., Кривовяз О.С., Бахарев А.В., Салмаси Ж.М., Балашова Л.М. Анализ патологических изменений в генах коллагенов у детей с ретинопатией недоношенных // Российская педиатрическая офтальмология. 2025. Т. 20, № 2. С. 113–121. DOI: 10.17816/rpoj656008 EDN: GQMBGE

Рукопись получена: 14.02.2025 **Рукопись одобрена:** 14.04.2025 **Опубликована online:** 30.06.2025

ЭКО • ВЕКТОР

Статья доступна по лицензии CC BY-NC-ND 4.0 International
© Эко-Вектор, 2025

DOI: https://doi.org/10.17816/rpoj656008 EDN: GQMBGE

Analysis of Pathological Changes in Collagen Genes in Children With Retinopathy of Premature

Yuliya D. Kuznetsova[1,2], Marianna E. Weener[2], Sergey V. Lesovoy[1,2], Olga S. Krivovyaz[1,2], Alexey V. Bakharev[2,3], Jean M. Salmasi[4], Larisa M. Balashova[2]

[1] Russian Children's Clinical Hospital — branch of the Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia;
[2] International Scientific and Practical Center for Tissue Proliferation, Moscow, Russia;
[3] City Clinical Hospital No. 1 named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia;
[4] The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: Collagen is the most ubiquitous protein in the human body; it is involved in maintaining the structure of various tissues, including the eye. Mutations or changes in the expression of genes encoding collagen or the related genes may hinder normal development of tissues and cause structural and functional abnormalities in the retinal extracellular matrix that are typical of retinopathy of prematurity and other proliferative retinal diseases.

AIM: To examine changes in the expression of collagen-encoding genes and genes involved in their interactome and to analyze the effect of the identified molecular disorders on the disease severity.

METHODS: It was an observational, multicenter, prospective, parallel-group study. Inclusion criteria: children born before week 32 of gestation or with a birth weigh of <1800 g. Additional inclusion criteria for the study group and control group: a confirmed diagnosis of active stage 3 to 4b retinopathy of prematurity or its absence, respectively. Venous blood samples were obtained from all patients. Genomic DNA was isolated and whole genome sequencing was performed. Changes in the expression of collagen genes and the related genes, as well as their effect on the disease severity, were analyzed.

RESULTS: The study group comprised 35 children diagnosed with active stage 3 to 4b retinopathy of prematurity. The control group included 30 preterm children without signs of retinopathy. A total of 115 genes were analyzed, and for 50 of them a statistically significant change in expression was found in the study group vs the control group. Particularly, mutations in *COL1A1* and *COL2A1* are associated with severe retinopathy of prematurity ($p < 0.01$). The most frequent variant of single-nucleotide polymorphism of the *COL1A1* gene was rs1800012, demonstrating correlation with the severity of retinopathy of prematurity ($p < 0.005$). Logistic regression identified an association between the genetic variants and the clinical outcomes of the disease. Mutations in *COL1A1* and *COL2A1* are associated with a high risk of retinal detachment and poor prognosis for vision, with an odds ratio of 4.5 (95% confidence interval: 2.1 to 9.4), $p < 0.01$. Besides, patients with multiple polymorphisms in these genes are more likely to develop active disease progression accompanied with high treatment failure rates and the need for surgery.

CONCLUSION: The results show that changes in collagen genes and the genes involved in their interactome do not just promote retinopathy of prematurity, but may also have potential value as predictive biomarkers of its severity and outcomes.

Keywords: retinopathy of prematurity; collagen genes; interactome.

To cite this article:
Kuznetsova YuD, Weener ME, Lesovoy SV, Krivovyaz OS, Bakharev AV, Salmasi JM, Balashova LM. Analysis of Pathological Changes in Collagen Genes in Children With Retinopathy of Premature. *Russian Pediatric Ophthalmology.* 2025;20(2):113–121. DOI: 10.17816/rpoj656008 EDN: GQMBGE

Submitted: 14.02.2025 **Accepted:** 14.04.2025 **Published online:** 30.06.2025

ECO•VECTOR

The article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 International license
© Eco-Vector, 2025

ОБОСНОВАНИЕ

Ретинопатия недоношенных (РН) — сложное многофакторное заболевание, которое в первую очередь поражает недоношенных детей, родившихся с низкой массой тела или крайней незрелостью. Оно характеризуется аномальным развитием кровеносных сосудов сетчатки, что может привести к её отслоению и прогрессивной потере зрения. Недавние исследования показали, что генетические факторы играют решающую роль в определении восприимчивости и прогрессировании заболевания [1–5]. Среди них ключевую роль заняли гены коллагенов, поскольку они участвуют в обеспечении структурной целостности и функциональности внеклеточного матрикса сетчатки. Коллаген — самый распространённый белок в организме человека, он необходим для поддержания каркаса различных тканей, включая глаз. Мутации или нарушения экспрессии генов коллагенов, а также связанных с ними генов могут приводить к аномальному развитию тканей и способствовать патологическим изменениям, характерным для различных видов пролиферативной витреоретинопатии, включая РН [6–11].

ЦЕЛЬ

Изучить изменения экспрессии генов коллагенов и генов, вовлечённых в их интерактом, у пациентов с РН, а также проанализировать влияние выявленных молекулярных нарушений на тяжесть течения заболевания.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено обсервационное многоцентровое проспективное параллельное исследование.

Критерии соответствия

Критерии включения

Общие критерии включения для двух групп:

- дети, родившиеся до 32 нед. беременности или с массой тела при рождении менее 1800 г;
- возраст от 3 мес. до 1,3 года в момент включения в исследование;
- заполненное и подписанное законными представителями детей информированное добровольное согласие в бумажной форме.

Дополнительные критерии включения в основную группу (патологии) — пациенты с клинически подтверждённым диагнозом активной РН 3–4В стадии, «плюс-болезнь» [выраженная сосудистая активность процесса, характеризующаяся расширением и извитостью центральных (зона I) и концевых сосудов сетчатки].

Дополнительные критерии включения в группу сравнения (недоношенные дети без офтальмопатологии) — отсутствие офтальмоскопических и клинических признаков РН по результатам осмотра офтальмолога в условиях медикаментозного мидриаза.

Критерии исключения

Критерий исключения из группы сравнения — развитие активной РН у детей из данной группы.

Условия проведения исследования

Набор пациентов, участвующих в исследовании, осуществляли в офтальмологическом отделении Российской детской клинической больницы — филиал ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Получено согласие от родителей в соответствии с принципами, одобренными этическим комитетом медицинского учреждения. Медико-генетическое исследование проводили на базе генетической лаборатории Международного научно-практического центра пролиферации тканей.

Продолжительность исследования

Исследование проведено с июня 2016 г. по август 2023 г. Анализ генетического материала участников выполняли в интервале от 1 до 5 мес. с момента включения в исследование.

Описание медицинского вмешательства

Всем пациентам проводили офтальмологическое обследование в условиях медикаментозного мидриаза с целью подтверждения или исключения диагноза, с обязательной офтальмоскопической верификацией стадии активной РН. Кроме того, для её уточнения, распространения экстраретинальной пролиферации, отслойки сетчатки, геморрагических изменений в полости стекловидного тела дополнительно проводили эхографическое исследование.

У всех пациентов произведён забор венозной крови, выделена геномная ДНК и выполнено полногеномное секвенирование. Забор биообразца осуществляли следующим образом: у детей до 3 мес. — методом сбора капиллярной крови из пяточки, у детей старше 3 мес. — путём взятия 1–3 мл периферической венозной крови. Все полученные образцы хранили в соответствующих условиях для последующего генетического и молекулярного анализа.

Выделение ДНК проводили с помощью набора Qiagen DNA Blood Kit® (QIAGEN GmbH, Германия). Полногеномное секвенирование (whole genome sequencing): для подготовки библиотек применяли реагенты для секвенирования (Illumina, Соединённые Штаты Америки) и протокол Whole Genome Sequencing of Human DNA Samples Using KAPA PCR free HyperPrep Kit and and TruSeq Unique Dual Indexes. Сиквенс проводили с помощью прибора Illumina Novaseq 6000® (Illumina, Соединённые Штаты Америки) со средним покрытием 60X. Хромосомный

микроматричный анализ выполняли с целью исключения больших хромосомных аномалий, делеций, дупликаций, перестроек с помощью платформы Affymetrix CytoScan HD Array (Affymetrix Inc., Соединённые Штаты Америки). В свою очередь, протяжённые делеции подтверждали либо исключали методом MLPA (Multiplex. Ligation-Dependent Probe Amplification) — мультиплексной амплификацией лигазно-связанных проб. Секвенирование по Сэнгеру проводили, чтобы подтвердить обнаруженные мутации. Также выполняли анализ сегрегации для доступных членов семьи, следуя протоколу Malaichamy.

Основной исход исследования

Идентификация мутаций и однонуклеотидных полиморфизмов в ключевых генах коллагенов и функционально связанных с ними генов, а также определение их экспрессии у недоношенных детей, включая пациентов с активной РН.

Дополнительные исходы исследования

Идентификация дифференциально экспрессируемых генов и аномалий сплайсинга. Анализ влияния выявленных молекулярных нарушений на тяжесть течения РН.

Анализ в группах

В данном исследовании проанализированы клинические данные и биообразцы двух групп.

- Основная группа — дети, родившиеся до 32 нед. беременности или с массой тела при рождении менее 1800 г, с подтверждённым диагнозом активной РН 3–4В стадии.
- В группу сравнения включены дети, родившиеся до 32 нед. беременности или с массой тела при рождении менее 1800 г, но без подтверждённого диагноза РН.

Методы регистрации исходов

Биоинформатический анализ проведён для идентификации мутаций и однонуклеотидных полиморфизмов в ключевых генах коллагенов, а также функционально связанных с ними генах, участвующих в морфогенезе сетчатки и сосудов. Отбор генов проводили с помощью инструмента GeneMANIA[1]. Полученные данные сопоставлены с референсным геномом человека (GRCh38[2]) и проанализированы с помощью программного обеспечения для определения вариантов с целью обнаружения однонуклеотидных полиморфизмов, небольших вставок или делеций, а также наличия структурных вариантов. Для анализа геномных данных проводили:

- контроль качества исходного сиквенса (числовые данные сиквенса, проверка удаления адаптерных последовательностей, удаление прочтений с низким качеством);
- выравнивание в соответствии с референсным геном (Burrows-Wheeler Aligner[3]), сортировка, слияние, удаление повторов;
- калибровка оценок качества оснований (Genome Analysis Toolkit[4]);
- формирование списка вариантов, отличных от референсных, фильтрация и отбор вариантов — использовали стандарт обозначения генетических вариантов HGVS (Human Genome Variation Society Nomenclature[5]), базы данных gnomAD[6] и ClinVar[7], веб-браузер генома UCSC[8], а также собственное проприетарное программное обеспечение;
- формирование заключения по результатам геномного секвенирования.

Проводили анализ экспрессии генов в основной группе и сравнения. Выделены гены, в которых статистически значимо чаще выявлены мутации и однонуклеотидные полиморфизмы. Для данных генов проводили анализ экспрессии на клеточной линии. В культуре модифицированной клеточной линии HEK 293 (Human Embryonic Kidney 293) проанализировано содержание РНК. Её ранее извлекли из тканей сетчатки для исследования паттернов экспрессии генов коллагенов и других связанных с ними генов [6]. Количественную полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в реальном времени провели для числовой оценки содержания матричной РНК (мРНК) генов коллагенов как в основной, так и в группе сравнения. Уровни экспрессии нормализованы по стандартным генам (например, *GAPDH*), проведено сравнение между группами.

Дополнительные транскриптомные анализы выполнены с использованием секвенирования РНК для идентификации дифференциально экспрессируемых генов и аномалий сплайсинга.

---

[1] The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function [Internet]. GeneMANIA: Canada; 2010–2024. Режим доступа: https://genemania.org/ Дата обращения: 13.10.2024.

[2] Genome assembly GRCh38 [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2013–2024. Режим доступа: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_000001405.26/ Дата обращения: 13.10.2024.

[3] Burrows-Wheeler Aligner [Internet]. University of South Florida; 2009–2024. Режим доступа: https://wiki.rc.usf.edu/index.php/Burrows-Wheeler_Alignment_(BWA) Дата обращения: 13.10.2024.

[4] Genome Analysis Toolkit [Internet]. GATK: Broad Institute; 2010–2024. Режим доступа: https://gatk.broadinstitute.org/hc/en-us Дата обращения: 13.10.2024.

[5] HGVS Nomenclature [Internet]. HGVS Variant Nomenclature Committee: Human Genome Organization. 2016–2024. Режим доступа: https://hgvs-nomenclature.org/stable/recommendations/general/ Дата обращения: 13.10.2024.

[6] gnomAD v3.1.2 [Internet]. gnomeAD browser: Board Institute; –2024. Режим доступа: https://gnomad.broadinstitute.org/ Дата обращения: 13.10.2024.

[7] ClinVar [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2013–2024. Режим доступа: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/ Дата обращения: 13.10.2024.

[8] USCS [Internet]. Genome Browser: University of California Santa Cruz; 2000–2024. Режим доступа: https://genome.ucsc.edu/ Дата обращения: 13.10.2024.

Этическая экспертиза

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (редакция 2013 год) и одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол заседания № 52 от 05.06.2016). Получено письменное информированное согласие от законных представителей пациентов.

Статистический анализ

Размер выборки предварительно не рассчитывали.

Геномные данные анализировали на предмет частот аллелей, а ассоциации между вариантами генов коллагенов и тяжестью РН определяли с помощью тестов χ^2 и моделей логистической регрессии. Дифференциальную экспрессию генов анализировали с помощью пакета DESeq2[9], в то время как гистологические данные количественно определяли и сравнивали с помощью t-тестов или однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) в зависимости от количества сравниваемых параметров. Различия считали статистически значимыми при p <0,05.

Статистический анализ данных проводили с использованием программного обеспечения SPSS 10.0® (SPSS Inc., Соединённые Штаты Америки) и свободной среды для статистических вычислений R.

[9] DESeq2 [Internet]. Bioconductor: Open source software for bioinformatics; 2013–2024. Режим доступа: https://bioconductor.org/packages/release/bioc/html/DESeq2.html Дата обращения: 13.10.2024.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Участники исследования

В основную группу включены 35 пациентов с диагнозом активной РН 3–4В стадии, из них мальчиков и девочек — 19 и 16 соответственно, в возрасте от 3 мес. до 1,3 года на момент включения в исследование.

В группу сравнения вошли 30 детей сопоставимого возраста, родившихся до 32 нед. беременности или с массой тела при рождении менее 1800 г, но без РН.

Основные результаты исследования

Проведён анализ 115 генов (рис. 1), в 50 из которых обнаружено статистически значимое изменение экспрессии у пациентов основной группы относительно группы сравнения (приложение 1).

Выявлено, что мутации в генах *COL1A1* и *COL2A1* ассоциированы с тяжёлыми стадиями РН. В основной группе у 32% пациентов обнаружены патогенные варианты в этих генах, тогда как в группе сравнения — у 10% (p <0,01). Мутации включали однонуклеотидные варианты, приводящие к заменам аминокислот, а также небольшие вставки и делеции, которые влияют на функцию белка. Среди них наиболее часто наблюдали вариант однонуклеотидного

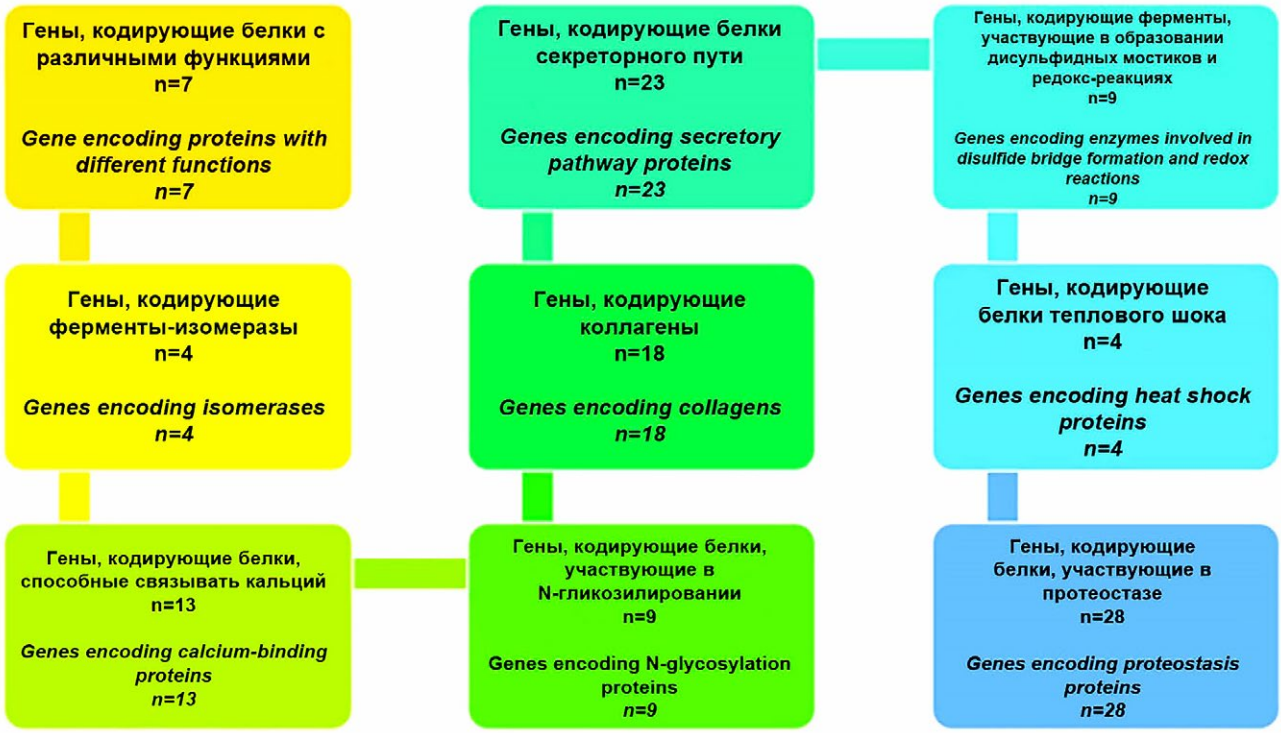

Рис. 1. Схематическое представление групп генов, функция которых связана с генами коллагенов: *n* — количество проанализированных генов.
Fig. 1. Diagram showing gene groups that are functionally related to the collagen genes: *n*, number of genes analyzed

полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1*, коррелирующий с тяжестью РН (p <0,005).

Дополнительные результаты исследования

Анализ дифференциальной экспрессии генов коллагенов и генов, вовлечённых в их интерактом, выполненный с помощью количественной ПЦР в реальном времени, продемонстрировал изменённую экспрессию некоторых генов коллагенов в сравнении с референсными значениями (см. приложение 1).

Содержание мРНК генов *COL1A1, COL2A1* и *COL18A1* значительно снижены у пациентов основной группы (p <0,05).

Анализ результатов секвенирования РНК позволил выявить дополнительные гены коллагена, такие как *COL4A1* и *COL4A2*, уровень экспрессии которых был снижен у пациентов с РН.

Кроме того, у пациентов основной группы наблюдают повышение экспрессии следующих генов: *FKBP10, GANAB, ANXA2, TGM2, COL2A1, CKAP4, ATP5A1, HSP90AB1, PARP4* (см. приложение 1). Следует добавить, что у пациентов с РН отмечают, напротив, снижение экспрессии таких генов, как *PLOD3, PLOD1, PDIA6, PRDX1, ERP44, HYOU1, COL1A2, RPSA* (см. приложение 1).

Мы провели логистический регрессионный анализ с целью оценки связи между конкретными вариантами генов интерактома коллагенов и клиническими проявлениями у пациентов с РН. Наличие полиморфизма в генах *COL1A1* и *COL2A1* ассоциированы с высоким риском отслоения сетчатки и плохим прогнозом для зрения: коэффициент шансов — 4,5 (95% доверительный интервал 2,1–9,4), p <0,01. Кроме того, у пациентов с множественным полиморфизмов этих генах наблюдают более агрессивное течение РН, со снижением эффективности терапии и повышением потребности в хирургическом вмешательстве.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме результатов исследования

Мы проанализировали 115 различных генов у пациентов с РН. Результаты исследования демонстрируют изменения экспрессии 50 генов у пациентов основной группы относительно группы сравнения. В частности, экспрессия генов коллагена показала выраженные различия, подчёркивая роль внеклеточного матрикса в патогенезе РН. Выявлены ключевые локусы, ассоциированные с генами коллагенов, включая *COL9A1, COL9A2, COL9A3, COL2A1, COL11A1, COL4A1, NDP, FZD4, CETP, PDGF-A, PDGF-B, SOX9* и *ADAM*, что подчёркивает сложные молекулярные взаимодействия, лежащие в основе сосудистой патологии сетчатки.

Обсуждение результатов исследования

В нашем исследовании у пациентов с РН наиболее часто наблюдали мутации в генах коллагенов типа I и IV, особенно в случае 3 и 4B стадии. Эти результаты указывают на структурные дефекты внеклеточного матрикса, способствующие отслоению сетчатки и формированию аномальной васкуляризации. Выраженность мутационных изменений в генах коллагенов коррелировала с тяжестью РН.

Подобные явления наблюдают и при других нозологиях, включая коллагенопатии: синдромы Маркезани, Марфана, Стиклера, спондилоэпифизарная дисплазия и др., а также при высокой степени миопии, ассоциированной с нарушениями коллагенового метаболизма [11].

Мутации в генах *COL1A1* и *COL2A1* взаимосвязаны с тяжёлыми стадиями РН. Они, включая варианты одиночных нуклеотидов и небольшие вставки или делеции, вероятно, влияют на функцию белка и стабильность внеклеточного матрикса, которые имеют решающее значение для поддержания структуры сетчатки. В частности, как мы уже отметили выше, вариант однонуклеотидного полиморфизма rs1800012 гена *COL1A1* продемонстрировал сильную корреляцию с тяжёлыми стадиями РН (p <0,005). Эти результаты свидетельствуют о том, что генетическая предрасположенность и изменённая целостность коллагена способствуют прогрессированию заболевания, что согласуется с предыдущими исследованиями, изучающими патологии, связанные с коллагеном [6–10].

Так, роль протеостаза коллагена при РН продемонстрирована в исследовании A.S. DiChiara и соавт. [6]. Авторы картировали сеть протеостаза коллагена типа I и определили ключевые регуляторные механизмы. Их выводы показывают, что нарушения его синтеза, сворачивания и деградации могут иметь глубокие последствия для целостности тканей, потенциально усугубляя течение РН. Наши результаты подтверждают данный факт, поскольку у пациентов с РН выявлены значительные изменения в генах коллагена.

Изменения экспрессии гена *COL4A1* и его мутации связаны с нарушением целостности сосудов, что подтверждено в исследовании I. Volonghi и соавт. [7]. Авторы обнаружили, что мутации данного гена ассоциированы с констрикцией мелких сосудов головного мозга, что подчёркивает более широкое влияние аномалий внеклеточного матрикса за пределами сетчатки. Эта связь указывает на возможные общие патогенетические механизмы, лежащие в основе как РН, так и других сосудистых заболеваний, что делает актуальным дальнейшее изучение системных эффектов мутации генов коллагена.

S. Okazaki и соавт. [8] выявили интронные однонуклеотидные полиморфизмы в гене *COL2A1*, связанные с решётчатой дегенерацией сетчатки, что подтверждает представление о его ключевой роли в обеспечении структурной целостности сетчатки за счёт своей каркасной функции в склере. Учитывая результаты, которые мы получили, вероятно, что эти генетические вариации способствуют развитию различных патологий сетчатки, потенциально предрасполагая людей к более тяжёлым проявлениям заболевания.

M.V. Alavi и соавт. [9] продемонстрировали, что мутации в гене *COL4A1* вызывают прогрессирующую ретинальную неоваскуляризацию и ретинопатию во взрослом состоянии. Наши выводы о мутационном спектре гена *COL4A1* у пациентов с РН подтверждают их данные и предполагают, что нарушения эластичности коллагенов базальной мембраны вследствие мутаций могут усугубить ретинальную неоваскуляризацию, которая характерна для РН.

По данным A.M. Valencia и соавт. [10], в эксперименте на крысах интравитреальное введение бевацизумаба изменяет активность коллагеназы IV типа, что может способствовать подавлению альвеологенеза в лёгких новорождённых животных. Это вызывает опасения относительно потенциальных нецелевых эффектов анти-VEGF[10]-терапии на ремоделирование коллагена у людей. Учитывая его критическую роль в развитии и восстановлении сетчатки, необходимы дальнейшие исследования в отношении методов лечения, влияющих на гомеостаз внеклеточного матрикса в контексте РН [10].

Ограничения исследования

При анализе литературных данных мы не выявили предварительных исследований, посвящённых вопросу изменения экспрессии генов коллагена и его интеркома при РН, а также их влияния на течение заболевания, что обусловило необходимость включения в исследование расширенного набора генов. Однако полученные результаты могут поспособствовать сокращению спектра поиска и более прицельному анализу генетических изменений генов коллагена и его интеркома в будущих исследованиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что изменения в генах коллагенов и генах, включённых в их интерактом, не только способствуют развитию РН, но и имеют потенциальную ценность в качестве прогностических биомаркёров тяжести заболевания и его исходов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Приложение 1. Сравнительная характеристика экспрессии генов коллагенов и генов, включённых в их интерактом, в группах. doi: 10.17816/rpoj656008-4365464

Вклад авторов. Ю.Д. Кузнецова — обследование и наблюдение пациентов, редактирование текста рукописи; М.Е. Винер — дизайн исследования, проведение основных этапов исследования (генетический анализ), общее руководство; С.В. Лесовой, О.С. Кривовяз — обследование и наблюдение пациентов, сбор и анализ данных, написание текста рукописи; А.В. Бахарев — сбор и анализ данных, написание текста рукописи; Ж.М. Салмаси — концепция и дизайн исследования, редактирование текста рукописи; Л.М. Балашова — концепция и дизайн исследования, общее руководство, редактирование текста рукописи. Все авторы одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все аспекты работы, гарантируя надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой её части.

Этическая экспертиза. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова (протокол № 52 от 05.06.2016). Законные представители всех участников исследования до включения в исследование подписали форму информированного согласия, утверждённую в составе протокола исследования этическим комитетом.

Источники финансирования. Отсутствуют.

Раскрытие интересов. Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Оригинальность. При создании настоящей работы авторы не использовали ранее опубликованные сведения (текст, иллюстрации, данные).

Доступ к данным. Исходные данные анализа могут быть запрошены у Винер М.Е. и предоставлены после обоснования целей их использования. Исходные данные секвенирования не могут быть запрошены в целях сохранения персонализированных биометрических данных. Репозиторий, содержащий исходные данные секвенирования, отвечает требованиям безопасности в соответствии с ФЗ 242 от 03.12.2008 (с изм. вступ. в силу от 01.01.2025).

Генеративный искусственный интеллект. При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Рассмотрение и рецензирование. Настоящая работа подана в журнал в инициативном порядке и рассмотрена по обычной процедуре. В рецензировании участвовали два члена редакционной коллегии и научный редактор издания.

ADDITIONAL INFORMATION

Supplement 1. Comparative characteristics of expression of collagen genes and genes involved in their interactome by groups. doi: 10.17816/rpoj656008-4365464

Author contributions: Yu.D. Kuznetsova: patient examination and follow-up, writing—editing; M.Ye. Viner: study design, major stages of investigation (genetic testing), general supervision; S.V. Lesovoy, O.S. Krivoyaz: patient examination and follow-up, data collection and formal analysis, writing—original draft; A.V. Bakharev: data collection and formal analysis, writing—original draft; Zh.M. Salmasi: conceptualization and design, writing—editing; L.M. Balashova: conceptualization and design, general supervision, writing—editing. All authors approved the version of the manuscript to be published and agree to be accountable for all aspects of the work, ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Ethics approval: The study was authorized by the local ethics committee of the Pirogov Russian National Research Medical University (Protocol No. 52 dated June 05, 2016). Prior to enrolment, legal representatives of all study

[10] VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) — фактор роста эндотелия сосудов.

participants signed an informed consent form approved as part of the protocol by the ethics committee.

Funding sources: No funding.

Disclosure of interests: The authors have no relationships, activities, or interests for the last three years related with for-profit or not-for-profit third parties whose interests may be affected by the content of the article.

Statement of originality: No previously published material (text, images, or data) was used in this work.

Data availability statement: The source data may be requested from M.Ye. Viner (please state the purpose in the request). Source sequencing data are not available upon request as they contain personalized biometric data. The repository where the source sequencing data are stored meets the safety requirements in accordance with FZ 242 dated December 03, 2008 (as amended on January 01, 2025).

Generative AI: No generative artificial intelligence technologies were used to prepare this paper.

Provenance and peer review: This paper was submitted unsolicited and reviewed following the standard procedure. The review process involved two members of the editorial board and the in-house scientific editor.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Винер М.Е., Бакунина Н.А., Салмаси Ж.М., и др. Подходы к молекулярно-генетической диагностике глазных проявлений пролиферативного синдрома для патофизиологически направленного лечения // РМЖ. Клиническая офтальмология. 2022. Т. 22, № 1. С. 16–22. / Weener ME, Bakunina NA, Salmasi JM, et al. Genetic testing of ocular manifestations of proliferative syndrome to provide pathophysiology-oriented treatment. *Russian Journal of Clinical Ophthalmology.* 2022;22(1):16–22. doi: 10.32364/2311-7729-2022-22-1-16-22 EDN: DQYLZU

2. Ovali F, Hakbilen M, Akalin I, et al. The association of microRNAs in the development of retinopathy of prematurity. *Journal of Neonatal-Perinatal Medicine.* 2024;17(1):49–55. doi: 10.3233/npm-230029 EDN: OZELYZ

3. Li Y, Zhou H, Huang Q, et al. Potential biomarkers for retinopathy of prematurity identified by circular RNA profiling in peripheral blood mononuclear cells. *Frontiers in Immunology.* 2022;13:953812. doi: 10.3389/fimmu.2022.953812 EDN: LRUCWY

4. Gimenez LG, Gili JA, Elias DE, et al. Genetic susceptibility for retinopathy of prematurity and its associated comorbidities. *Pediatric Research.* 2024;96(5):1325–1331. doi: 10.1038/s41390-024-03068-9 EDN: HCENYV

5. Fevereiro-Martins M, Guimarães H, Marques-Neves C, Bicho M. Retinopathy of prematurity: contribution of inflammatory and genetic factors. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 2022;477(6):1739–1763. doi: 10.1007/s11010-022-04394-4 EDN: SLANEY

6. DiChiara AS, Taylor RJ, Wong MY, et al. Mapping and exploring the Collagen-I proteostasis network. *ACS Chemical Biology.* 2016;11(5):1408–1421. doi: 10.1021/acschembio.5b01083

7. Volonghi I, Pezzini A, Del Zotto E, et al. Role of *COL4A1* in basement-membrane integrity and cerebral small-vessel disease. The *COL4A1* stroke syndrome. *Current Medicinal Chemistry.* 2010;17(13):1317–1324. doi: 10.2174/092986710790936293

8. Okazaki S, Meguro A, Ideta R, et al. Common variants in the *COL2A1* gene are associated with lattice degeneration of the retina in a Japanese population. *Molecular Vision.* 2019;25:843–850.

9. Alavi MV, Mao M, Pawlikowski BT, et al. *Col4a1* mutations cause progressive retinal neovascular defects and retinopathy. *Scientific Reports.* 2016;6(1):18602. doi: 10.1038/srep18602

10. Valencia AM, Cai CL, Tan J, et al. Intravitreal bevacizumab alters type IV collagenases and exacerbates arrested alveologenesis in the neonatal rat lungs. *Experimental Lung Research.* 2017;43(3):120–133. doi: 10.1080/01902148.2017.1306897

11. Винер М.Е., Обрубов С.А., Барх Д., и др. Особенности мутаций в генах у детей с высокой близорукостью, сочетающейся с периферическими витреохориоретинальными дистрофиями // Вестник офтальмологии. 2024. Т. 140, № 1. С. 19–24. / Weener ME, Obrubov SA, Barh D, et al. Features of genetic mutations in children with high myopia combined with peripheral retinal degenerations. *Russian Annals of Ophthalmology.* 2024;140(1):19–24. doi: 10.17116/oftalma202414001119 EDN: VQBYYE

12. Jørgensen AEM, Agergaard J, Schjerling P, et al. The regional turnover of cartilage collagen matrix in late-stage human knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2022;30(6):886–895. doi: 10.1016/j.joca.2022.03.007 EDN: HIHMAQ

ОБ АВТОРАХ

*** Балашова Лариса Маратовна,** д-р мед. наук, профессор;
адрес: Россия, 119034, Москва, ул. Пречистенка, д. 29/14;
ORCID: 0000-0001-9349-7092;
eLibrary SPIN: 8314-7638;
e-mail: blm1962@yandex.ru

Кузнецова Юлия Дмитриевна, канд. мед. наук;
ORCID: 0000-0003-4985-7198;
eLibrary SPIN: 9251-6263;
e-mail: kuznecovay2011@mail.ru

Винер Марианна Евгеньевна, д-р мед. наук;
ORCID: 0000-0002-1089-4293;
eLibrary SPIN: 8098-6078;
e-mail: marianna.e.ivanova@gmail.com

Лесовой Сергей Валерьевич;
ORCID: 0009-0006-9249-5013;
eLibrary SPIN: 6033-6471;
e-mail: sergforester1@mail.ru

AUTHORS' INFO

*** Larisa M Balashova,** MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor;
address: 29/14 Prechistenka st, Moscow, Russia, 119034;
ORCID: 0000-0001-9349-7092;
eLibrary SPIN: 8314-7638;
e-mail: blm1962@yandex.ru

Yuliya D. Kuznetsova, MD, Cand. Sci. (Medicine);
ORCID: 0000-0003-4985-7198;
eLibrary SPIN: 9251-6263;
e-mail: kuznecovay2011@mail.ru

Marianna E. Weener, MD, Dr. Sci. (Medicine);
ORCID: 0000-0002-1089-4293;
eLibrary SPIN: 8098-6078;
e-mail: marianna.e.ivanova@gmail.com

Sergey V. Lesovoy, MD;
ORCID: 0009-0006-9249-5013;
eLibrary SPIN: 6033-6471;
e-mail: sergforester1@mail.ru

Кривовяз Ольга Сергеевна;
ORCID: 0009-0001-3768-6283;
eLibrary SPIN: 6115-0644;
e-mail: olga-eye@mail.ru

Бахарев Алексей Викторович;
ORCID: 0009-0005-3832-8532;
eLibrary SPIN: 4989-9467;
e-mail: Bakharev8@bk.ru

Салмаси Жеан Мустафаевич, д-р мед. наук, профессор;
ORCID: 0000-0001-8524-0019;
eLibrary SPIN: 9350-1266;
e-mail: profjms@yandex.ru

Olga S. Krivovyaz, MD;
ORCID: 0009-0001-3768-6283;
eLibrary SPIN: 6115-0644;
e-mail: olga-eye@mail.ru

Alexey V. Bakharev, MD;
ORCID: 0009-0005-3832-8532;
eLibrary SPIN: 4989-9467;
e-mail: Bakharev8@bk.ru

Jean M. Salmasi, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor;
ORCID: 0000-0001-8524-0019;
eLibrary SPIN: 9350-1266;
e-mail: profjms@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author