

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

На правах рукописи

Гильманов Марсель Венерович

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ВРОЖДЁННОЙ РАСЩЕЛИНЫ ГУБЫ И НЁБА У
ДЕТЕЙ ПРИ ПЛАНИРОВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ В РЕГИОНЕ С
ЭКОТОКСИКАНТАМИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ГЕНЕТИЧЕСКИХ
МАРКЕРОВ**

3.1.7. Стоматология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Заслуженный врач РФ,
доктор медицинских наук,
профессор Чуйкин С. В.
Научный консультант:
доктор медицинских наук,
профессор Викторова Т.В.

Уфа – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1. Эпидемиология врождённой расщелины верхней губы и нёба.....	12
1.2 Этиологические факторы, патогенез врожденной расщелины верхней губы и нёба	15
1.3 Влияние уровня предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе на частоту рождения детей с врождённой расщелины верхней губы и нёба	18
1.4 Генетические факторы врождённой расщелины верхней губы и нёба	20
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	31
2.1 Клинические методы обследования.....	31
2.2 Методы оценки состояния окружающей природной среды.....	32
2.3 Молекулярно-генетические методы исследования.....	38
2.4 Статистическая обработка данных	43
2.5 Дизайн исследования	46
ГЛАВА 3 КЛИНИКО-АНАТОМИЧЕСКИЕ ФОРМЫ И СОПУТСТВУЮЩИЕ СОМАТИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЁННОЙ РАСЩЕЛИНЫ ГУБЫ И НЁБА, РОЖДЁННЫХ ЖЕНЩИНАМИ ИЗ РЕГИОНОВ С ПРЕВЫШЕНИЕМ ПРЕДЕЛЬНО-ДОПУСТИМОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ВЕЩЕСТВ НЕФТЕХИМИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ.....	49
3.1 Клинико-анатомические формы врожденной расщелины верхней губы и нёба у детей, рожденных женщинами из регионов с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе	49
3.2 Частота сопутствующих соматических заболеваний у детей с врождённой расщелиной губы и нёба, рожденных женщинами из регионов с превышением	

предельно-допустимой концентрации веществ нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе	52
ГЛАВА 4 МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ ДЕТОКСИКАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ И ГЕНОВ БЕЛКОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННОЙ РАСЩЕЛИНОЙ ГУБЫ И НЕБА И У МАТЕРЕЙ ДЕТЕЙ С ВРОЖДЁННОЙ РАСЩЕЛИНОЙ ГУБЫ И НЁБА.....	55
4.1 Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов <i>GSTP1</i> , <i>GSTT1</i> , <i>GSTM1</i> ; <i>MTHFR</i> , <i>MTR</i> , <i>MTRR</i> у детей	55
4.2 Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов <i>GSTP1</i> , <i>GSTT1</i> , <i>GSTM1</i> ; <i>MTHFR</i> , <i>MTR</i> , <i>MTRR</i> у матерей детей с врождённой расщелиной губы и нёба	59
4.3 Анализ ген-генных взаимодействий у больных ВРГН.....	62
ГЛАВА 5 РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ДИАГНОСТИКИ И ПРОФИЛАКТИКИ ВРОЖДЕННОЙ РАСЩЕЛИНЫ ГУБЫ И НЕБА В РЕГИОНЕ С ЭКОТОКСИКАНТАМИ НА ЭТАПЕ ПЛАНИРОВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ В УСЛОВИЯХ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ЦЕНТРА.....	68
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	69
ВЫВОДЫ	72
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	74
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	75
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	76
ПРИЛОЖЕНИЯ	97
ПРИЛОЖЕНИЕ 1	97
ПРИЛОЖЕНИЕ 2	98
ПРИЛОЖЕНИЕ 3	99
ПРИЛОЖЕНИЕ 4	100
ПРИЛОЖЕНИЕ 5	101

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

В настоящее время врожденные пороки развития (ВПР) имеют актуальное медицинское и социальное значение, что связано со сложностями их предупреждения, лечения и комплексной реабилитации (Виссарионов В. А., 2016; Чуйкин С.В., 2019). В Российской Федерации врожденные пороки челюстно-лицевой области (ЧЛО) занимает 3–5 место среди врожденных пороков развития человека (Топольницкий О. З., 2015; Мамедов Ад. А., 2017). Частота встречаемости врожденных пороков ЧЛО варьирует в диапазоне от 1:1100 до 1:600 жизнеспособных новорожденных (Чуйкин С. В., Персин Л. С., Топольницкий О. З., 2018; Мамедов Ад. А., 2019). По данным отечественной и зарубежной литературы врожденная расщелина губы и нёба (ВРГН) составляет 11-29% от всех врожденных пороков развития человека и 87 - 89% от аномалий ЧЛО (Гончаков Г. В., 2017; Фоменко И. В., 2018; Alois CI., 2020; Xu K., 2021).

К этиологическим факторам развития врожденных пороков ЧЛО относятся как экзогенные воздействия, особенно в первые 1,5–2 месяца гестации (вирусные инфекции, химические тератогены, стресс, облучение, авитаминозы), так и генетическая предрасположенность (Давлетшин Н. А., 2018; Askarian S., 2022). Так, проведенные Ge X, et al. (2019) близнецовые и семейные исследования показали, что при семейном наследовании риск рецидива ВРГН в первом поколении родственников примерно в 40 раз больше, чем в общей популяции, что свидетельствует о важной роли в этиологии ВРГН генетической составляющей.

Несмотря на выявление новых мутаций, идентифицированных в последнее время в результате полноэкзомного секвенирования при ВРГН, вопрос об их возможной функциональной роли в патогенезе заболевания остается открытым, поскольку большинство обнаруженных мутаций находятся в некодирующих областях генома (Yan, F., 2020).

Актуальным вопросом выяснения этиологии ВРГН является изучение влияния уровня предельно-допустимой концентрации (ПДК) экотоксикантов в атмосферном воздухе в регионе по бензопирену, бензолу, толуолу и другим выбросам нефтехимической промышленности на причину возникновения пороков развития ЧЛО. Известна роль ряда экотоксикантов, вносящих вклад в этиологию ВРГН, в частности, загрязнений среды обитания ароматическими углеводородами, сероводородами, пестицидами, тяжелыми металлами и т.д., которые могут долгое время накапливаться в организме человека, создавая неблагоприятный эндогенный фон (Билле Д. С., 2020; Чуйкин С. В., 2020). Кроме того, немаловажную роль на формирование ВРГН оказывают бытовые факторы образа жизни и вредные привычки: лекарственные препараты, пищевые добавки, курение, алкоголизм, профессиональные вредности и другие (Jamilian A., 2017). Карницкий А. В. с соавт. (2020) было показано, что наиболее важными тератогенными факторами, повышающими риск развития ВПР, являются табакокурение и употребление алкоголя у супругов, а также недостаток в организме женщины фолиевой кислоты и дисбаланс витаминов.

В настоящее время недостаточно изучена взаимосвязь между риском развития врожденной расщелиной губы и нёба и превышением уровня предельно-допустимой концентрации в атмосферном воздухе по бензопирену, бензолу, толуолу и другими выбросами нефтехимической промышленности, относящимся к эмбриотоксическим веществам первого класса опасности в совокупности с генетической предрасположенностью. Участие в процессе метаболизма экотоксикантов (возможных тератогенов) ферментов детоксикации ксенобиотиков и белков фолатного цикла указывает на целесообразность поиска генетических маркеров, контролирующих синтез этих ферментов, в комплексном прогнозировании ВРГН в регионе с экотоксикантами на этапе планирования беременности.

Цель работы

Разработка методов прогнозирования врождённой расщелины губы и нёба у детей при планировании беременности в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе с применением генетических маркеров.

Задачи исследования

1. Изучить распространённость врождённой расщелиной губы и нёба у детей, рожденных женщинами в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе.
2. Оценить клинико-анатомические формы у детей с врождённой расщелиной губы и нёба, рожденных женщинами, проживающими в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации веществ нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе.
3. Оценить частоту сопутствующих соматических заболеваний у детей с врождённой расщелиной губы и нёба, рожденных женщинами в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации веществ нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе.
4. Провести ретроспективный анализ влияния превышения предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе на частоту рождения детей с врожденной расщелиной губы и нёба.
5. У детей с врождённой расщелиной губы и нёба и их матерей провести анализ ассоциации полиморфных вариантов генов ферментов детоксикации ксенобиотиков и белков фолатного цикла и изучить эффективность генетических маркеров в комплексном прогнозировании риска врождённой расщелины губы и нёба в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе на этапе планирования беременности в условиях медико-генетического центра.

Научная новизна

Дана оценка влияния уровня превышения предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе на частоту рождения детей с врожденной расщелиной губы и нёба.

Впервые на основе проведенного молекулярно-генетического анализа ассоциации генов ферментов детоксикации ксенобиотиков GSTM, GSTP и GSTT и полиморфных локусов белков фолатного цикла MTHFR, MTR, MTRR у детей с ВРГН и их матерей выявлена взаимосвязь между делецией гена GSTM1 и генотипом AG гена GSTP1 у матерей и повышенным риском развития ВРГН у плода. По полученным результатам разработан патент на изобретение «Способ прогнозирования врожденной расщелины губы и нёба у ребёнка при планировании беременности в регионе с экотоксикантами с применением генетических маркеров».

Практическая значимость работы

На основании полученных результатов в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе, целесообразно включение молекулярно-генетического анализа полиморфных локусов генов ферментов детоксикации ксенобиотиков и белков фолатного цикла в комплекс обследования женщин, на этапе планирования беременности, с целью прогнозирования возникновения ВРГН у детей. Результаты исследования могут найти применение в клинической практике медико-генетических центров на этапе планирования беременности и прогнозирования рождения детей с ВРГН. Полученные результаты могут быть внедрены в медико-генетических центрах, в комплексе мер прогнозирования ВРГН у детей.

Положения, выносимые на защиту

1. У женщин, проживающих в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе, отмечается высокая частота рождения детей с тяжелыми клинико-

анатомическими формами врождённой расщелины губы и нёба и соматической заболеваемостью.

2. Установлена взаимосвязь между увеличением частоты рождения детей с врождённой расщелиной губы и нёба в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации веществ нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе.

3. Разработанный способ прогнозирования риска рождения ребёнка с врождённой расщелиной губы и нёба на этапе планирования беременности в регионе с экотоксикантами с применением генетических маркеров генов ферментов детоксикации ксенобиотиков и белков фолатного цикла позволяет повысить эффективность прогнозирования при обследовании в условиях медико-генетического центра и может быть рекомендован для использования у женщин в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе.

Апробация результатов исследования

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на XI сибирском конгрессе "Стоматология и челюстно - лицевая хирургия" с международным участием Всероссийского симпозиума "Новые технологии в стоматологии" (Новосибирск, 2016); на V Всероссийской научно - практической конференции «Врождённая и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения» (Москва, 2016); в Сборнике научных трудов, посвященный основателю кафедры ортопедической стоматологии КГМУ профессору Исааку Михайловичу Оксману (Казань, 2019); Materials of the 59 Annual meeting of the Japanese Teratology Society. The 13 World congress of the International Cleft Lip and Palate Foundation – CLEFT 2019 (Nagoya, Japan, 2019); в Международной научной конференции. (Великобритания, г. Шеффилд. 2019); American Scientific Journal (USA, 2019); на VI Всероссийской научно -

практической конференции «Врождённая и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения» (Москва, 2019).

Апробация работы проведена на заседании кафедры стоматологии детского возраста и ортодонтии с курсом института дополнительного профессионального образования Башкирского государственного медицинского университета (Уфа, 2022); на совместном заседании Проблемной комиссией по специальности «Стоматология» и кафедры стоматологии детского возраста и ортодонтии с курсом института дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Башкирского государственного медицинского университета Минздрава России» (Уфа, 2022).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс на кафедре биологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России и на кафедре стоматологии детского возраста и ортодонтии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Внедрение в практику ГБУЗ «Республиканский клинический перинатальный центр» Минздрава РБ.

Публикации

По материалам диссертационной работы опубликовано 18 научных работ, из них - 10 в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ; 2 Scopus и Патент на изобретение «Способ прогнозирования врожденной расщелины губы и нёба у ребёнка при планировании беременности в регионе с экотоксикантами с применением генетических маркеров» (Приложение 1).

Объем и структура диссертации

Диссертация представлена на русском языке, изложена на 106 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований и молекулярно-генетических исследований, заключения, выводов, практических

рекомендаций, списка литературы и приложений. Цифровой материал представлен в 10 таблицах, работа иллюстрирована 17 рисунками, список литературы содержит 167 ссылок, включающих 95 источников отечественной и 72 источников зарубежной литературы.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Эпидемиология врождённой расщелины верхней губы и нёба

В настоящее время врожденные пороки развития (ВПР) в популяции играют немаловажную роль в оценке состоянии здоровья населения в связи с их высокой частотой и тяжестью заболевания [9, 14, 36, 45, 149]. Это представляет одну из наиболее важных проблем для здравоохранения, в частности, челюстно-лицевой хирургии, и обосновывает необходимость продолжить изучение причин возникновения и особенности физиологических и функциональных нарушений в регионах Российской Федерации [33, 65, 71, 81, 158]. Мониторинг ВПР – один из индикаторов причинного влияния факторов окружающей среды на состояние здоровья населения. В Российской Федерации в структуре ВПР врождённые пороки челюстно-лицевой области (ЧЛО) занимают 3–5 место [18, 31, 43; 104]. Частота встречаемости ВПР варьирует в диапазоне от 1:1100 до 1:600 новорожденных [32, 105].

Расщелина верхней губы и нёба – это врожденный порок развития, характеризующийся несращением верхней губы или нёба; может быть изолированным пороком или одним из проявлений генетических синдромов [11, 70, 130]. Врожденная расщелина губы и нёба (ВРГН) — один из наиболее распространенных пороков развития ЧЛО с тенденцией к увеличению с более тяжелой патологией [4, 48, 66, 86, 129]. По статистическим данным Европейских государств, частота рождений ребенка с ВРГН составляет один на 500–1000 живорожденных. По данным Всемирного конгресса по врожденным аномалиям, ежедневно в мире появляется на свет около 700 детей с ВРГН [54, 118]. Это свидетельствует о рождении 17 детей каждые две минуты с ежегодным увеличением, нуждающимся в специализированной медицинской помощи. Частота рассматриваемой аномалии, в Шанхае, достигает 1,2/1000 живорожденных, на Филиппинах 1,5/1000 новорожденных, в Японии отмечается 2 случая на 1000

младенцев [10, 13, 22, 167]. По данным бразильских авторов, в этой стране ежегодно рождается 5800 новорожденных с врожденными аномалиями, что составляет 1/650 новорожденного [23, 111, 133, 155].

Ежегодно в России рождается около 20 000 детей с ВРГН. Данный врожденный порок, являясь не только косметическим, но и функциональным, приводит к инвалидизации ребенка с момента рождения до момента полного восстановления функции артикуляционного аппарата, а также основных социальных функций [4, 8, 45, 51, 95]. По данным эпидемиологических исследований в России, ВРГН возросла за последние 15 лет, что особенно выражено в крупных мегаполисах с нефтехимической промышленностью [12, 23, 93].

Изучение частоты и распространенности ВРГН является весьма актуальным в современной стоматологии. Проведено эпидемиологическое изучение распространенности детей с ВРГН в Волгоградской, Воронежской, Оренбургской, Самарской, Свердловской областях, в Башкирии, Якутии, Чувашской республике, республике Узбекистан и республике Казахстан, в Польше [29, 34, 39, 57, 61, 67, 73, 80, 93]. Мониторинг новорожденных с врожденными пороками неуклонно растет и в ближайшее десятилетие частота случаев станет в 2 раза больше, чем 100 лет назад [48, 58, 66, 100]. В Пермском крае частота врожденных пороков развития ЧЛО среди новорожденных детей варьирует в пределах 1:700 из общей доли [6, 33]. В серии работ по исследованию частоты и структуры ВРГН в Республике Саха (Якутия) установлен высокий региональный (местный) уровень распространенности врожденной патологии и выявлены циклические флуктуации частоты ВРГН, характеризующей нарастающей динамикой [21, 42, 82]. По результатам мониторинга частота рождаемости детей с врожденными пороками развития ЧЛО на территории г. Волгограда и Волгоградской области за 2010-2016 годы составляет в среднем 1:630 живорожденных [47]. Выявлена высокая частота рождений детей с пороками ЧЛО в промышленных зонах по сравнению с сельскими районами. Факторами риска по литературным данным выступают различные медико-биологические, экологические и социальные факторы. Так,

38,1% исследуемых женщин указали прием антибиотиков, противовирусных, салицилатов, сульфаниламидных и других лекарственных препаратов в время беременности во всех триместрах. Выявление и уточнение ведущих факторов риска способствует разработке профилактических, медицинских и государственных программ предупреждения развития ВРГН. В исследовании И.В. Фоменко по Волгоградской области установлено, что частота рождения детей с ВРГН за 2010-2016 годы составляет 0,36%. Врожденные расщелины левосторонние составляли 68,7%, а правосторонние – 31,3%. У мужского пола частота рождения была в 2,5 раза чаще, чем у женского пола (71,01% и 28,89% соответственно) [92]. Инфекционные болезни беременной матери, такие как ангина, герпангина, острые респираторные вирусные инфекции, острые и обострения хронических отитов и бронхитов, являются важными факторами риска развития врождённых пороков развития [34].

По данным Н.А. Давлетшина (2018), Республика Башкортостан, является промышленным регионом, имеет в составе крупные нефтехимические предприятия, которые загрязняют почву, воду и воздух отходами производства, содержащими экотоксиканты, с чем обусловлена рождаемость детей с ВРГН выше среднестатистической по стране [31, 85]. У детей с ВРГН в Республике Башкортостан преобладают тяжелые формы - врожденная расщелина нёба – 39,35%, комбинированные ВРГН, альвеолярного отростка, твердого и мягкого нёба – 34,92%. У детей с ВРГН регистрируется высокая распространенность соматических заболеваний [15, 46, 115]. Проведенный анализ заболеваемости детей в городах, проживающих в регионе с превышением ПДК веществ нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе выявил влияние нефтехимических выбросов предприятий на частоту рождения и показал высокое значение её показателей на 100 тыс. детей, что превышает среднее значение заболеваемости детей в Российской Федерации и является актуальной проблемой педиатрии и детской челюстно-лицевой хирургии и детской стоматологии [20, 72, 83, 86].

1.2 Этиологические факторы, патогенез врожденной расщелины верхней губы и нёба

В этиологическом аспекте ВРГН представляют собой сложную по клиническому и генетическому составу группу заболеваний, включающую моногенные, хромосомные, тератогенные, мультифакториальные формы, где имеют значение как, средовые влияния так и генетические и генно-средовые взаимодействия. Передовыми исследовательскими работами доказано влияние во время беременности экотоксикантов-диоксины, приводящие к развитию ВПР ЧЛЮ [16, 53, 161].

Известно, что в большинстве случаев (70%) случаев ВРГН представлен спорадической (несиндромной) формой, тогда как остальные 30% случаев являются частью синдромных фенотипов [44, 113, 116]. Синдромными случаями могут быть менделевские патологии или случаи с хромосомными aberrациями. Несиндромальная расщелина губы и/или неба является одним из наиболее распространенных полигенных заболеваний [126]. На развитие такой формы ВРГН оказывают влияние факторы окружающей среды. В сочетании определенных факторов внешней среды и генотипа формируется большинство случаев ВРГН, что усложняют осуществление генетического анализа несиндромальных форм ВРГН и раннее выявление таких случаев [30, 120, 153, 154]. Эпидемиологические исследования идентифицировали множество факторов экологического риска развития ВРГН, включая злоупотребление алкоголем, воздействие определенных наркотиков, дефицит питания, прием биологических активных добавок и лекарственных средств, курение матери [90, 164].

К этиологическим факторам развития ВРГН относятся как экзогенные воздействия, особенно в первые 1,5–2 месяца гестации (вирусные инфекции, химические тератогены, стресс, облучение, авитаминозы), так и генетическая предрасположенность [7, 64].

Недостаток кислорода оказывает токсическое действие на организм матери [63, 145]. Может дать тератогенный эффект неукротимая неоднократная рвота в

период беременности, что способствует появлению недостатка кислорода плоду с последующей гипогликемией [102, 121]. Патогенез поражения плода при гипоксии, видимо, обоснован нарушением активности ряда ферментных систем [39, 100]. Врожденные и приобретенные аномалии развития артериальных и венозных сосудов могут вызвать недостатка кислорода плоду [11, 103].

Чем старше по возрасту будущие родители, увеличивается риск возникновения врожденных пороков развития формирующего плода из-за появления доминантных мутаций и возрастает частота хромосомных аномалий (преимущественно трисомии) [17, 62, 167]. У женщин после 40 лет – рождаются дети с врожденными пороками развития ЧЛО в 3 раза чаще, чем в возрасте до 35 лет [52, 67, 135, 163].

Так же, отмечается взаимосвязь между повышенной физической нагрузкой матери в ранние периоды беременности (аэробная физическая нагрузка, анаэробная физическая нагрузка) и рождаемостью детей с ВРГН, между рождаемостью детей с ВПР и хроническими заболеваниями матери и отца [13, 37, 149].

На многочисленных примерах врожденных расщелин губы и неба различной этиологии прослеживаются одинаковые принципы, характерные для моногенных, хромосомных и мультифакториальных наследственных заболеваний [68, 103, 112]. При аутосомно-доминантном типе заболевание возникает при передаче мутантного гена от родителя, имеющего врожденную расщелину губы и неба, так и при возникновении спорадической мутации в половой клетке одного из будущих родителей [35, 49, 69, 119]. Однако в том и в другом случае риск рождения с расщелиной для потомства ребенка составит 50% [156, 166].

Проведенные близнецовые и семейные исследования выявили, что генетические факторы играют важную роль в этиологии ВРГН [56, 99, 146]. Показано, что при семейном наследовании риск рецидива в первом поколении родственников у лиц с ВРГН примерно в 40 раз больше, чем в общей популяции. В некоторых родословных можно установить менделевский тип наследования [3, 97]. Однако в большинстве случаев ВРГН представлен несиндромальной формой, т.е. является многофакторным заболеванием. Несиндромальная расщелина губы и/или

неба является одним из наиболее распространенных полигенных заболеваний [59, 79, 159]. На развитие такой формы ВРГН оказывают влияние факторы окружающей среды. В сочетании определенных факторов внешней среды и генотипа формируется большинство случаев ВРГН, что усложняет осуществление генетического анализа несиндромальных форм ВРГН и раннее выявление таких случаев.

Используя более узкий и функционально обоснованный метод анализа генетических изменений, так называемый ген-кандидатный подход, были выявлены гены, ассоциированные с ВРГН. В последнее время стали активно изучаться гены, участвующие в биотрансформации ксенобиотиков (CYP1A1, GSTM1, NAT2), принимающие участие в обезвреживании чужеродных соединений у человека. Вместе с тем, получаемые при этом ассоциации отличаются противоречивостью, что объясняется различными частотами полиморфных вариантов этих генов в различных популяциях [76, 94, 132].

Интересным представляется тот факт, что при одинаковом воздействии вредных факторов среды на организм беременных женщин не у всех рождаются дети с ВРГН. Это можно объяснить с точки зрения наличия генетически детерминированной индивидуальной чувствительности организма на действие среды. В данной связи актуальным представлялось провести анализ полиморфных вариантов генов детоксикации ксенобиотиков у матерей. До этого был описан способ прогнозирования возникновения ВРГН у детей, проживающих в регионе с нефтехимической промышленностью, установлена ассоциация мутантного аллеля Val полиморфного локуса Ile462Val гена CYP1A1 с риском развития расщелины верхней губы и неба. Основой нашего исследования явилось, что предыдущие методики имеют недостаточную точность прогноза, так как исследование проводили с использованием крови детей, локусы аллелей Val гена CYP1A1 и Val гена GSTP1 менее эффективны и менее изучены и проверены на практике. Прогнозирование врожденной расщелины губы и неба необходимо применять в медико-генетических центрах на этапах планирования рождения ребенка у

определенной семейной пары из группы риска, проживающих в регионе с нефтехимической промышленностью [60, 75, 122, 123].

Высокая частота рождения детей с ВРГН отмечены в зонах превышения предельно-допустимой концентрации в атмосферном воздухе по бензоперену, толуолу. Увеличение частоты рождения детей с ВРГН, взаимосвязь между генетическими факторами и превышением уровня предельно-допустимой концентрации выбросов промышленности в окружающую среду отмечают многие исследователи, однако эти вопросы недостаточно изучены [19, 23, 117].

До настоящего времени нет эффективной профилактики ВРГН, до конца не изучен патогенез этого заболевания, и до сих пор отмечается увеличение числа носителей расщелины губы и нёба. К пренатальной профилактике риска развития ВРГН можно отнести медико-генетическое консультирование матерей в медико-генетических центрах [78, 84].

1.3 Влияние уровня предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе на частоту рождения детей с врождённой расщелины верхней губы и нёба

Влияние экотоксикантов на организм ребенка изучено многими авторами, но особенно опасны химические вещества для беременной женщины. Химические вещества проникают через плацентарный барьер, воздействуют на плод и приводят к неблагоприятным последствиям его формирования и дальнейшего развития. В настоящее время организм матери и плода рассматривают как единую систему: мать-плод. Повреждающему действию токсических веществ подвергается тот орган эмбриона, который находится в стадии гистогенеза и онтогенеза. Одним из главных факторов увеличения рождения детей с врожденными пороками является усиление и ужесточения воздействия деятельности человека на находящуюся вокруг него окружающую среду, загрязнение её веществами и препаратами, обладающими мутагенными и тератогенными качествами [2, 91, 140]. Причина подъема числа больных с ВРГН во всем мире следует считать увеличение

количества и объёма экзогенных тератогенных качеств и увеличение количества носителей порока развития [77, 160]. В последние годы активно изучается роль генов детоксикации ксенобиотиков, биохимические продукты которых нейтрализуют действие тератогенов, участвующих в формировании врожденных пороков развития. Устойчивость организма к негативным воздействиям окружающей среды во многом зависит от работы ферментов детоксикации ксенобиотиков. Система детоксикации сложна, индивидуальна для каждого конкретного человека и генетически уникальна; она включает в себя большое количество звеньев, характеризующихся выраженными межиндивидуальными и популяционными различиями. На сегодняшний день установлена взаимосвязь нарушений в функционировании системы биотрансформации ксенобиотиков и возникновении различных заболеваний, в том числе и врожденных пороков развития. В связи с этим очевидна необходимость проведения молекулярно-генетических исследований, направленных на анализ взаимосвязей генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с риском развития ВРГН. Так, в Республике Беларусь, многие проживающие вблизи от Чернобыльской аварии пострадали, и наблюдается ежегодное увеличение количества новорожденных с врожденной челюстно-лицевой аномалией в 0,25 раза на 1000 новорожденных [45, 136]. Актуальна профилактика и диспансерное наблюдение людей с ВПР для Южного региона Кыргызстана, в связи с постоянным воздействием на здоровье проживающих там людей тяжелых металлов, оставшихся в почве после выработки урана и сурьмы [10, 80].

Среди административных районов Волгоградской области показатель частоты детей первого года жизни с ВРГН варьировал от 0,55‰ в промышленных районах до 0,19‰ ($p < 0,001$) в сельских районах, где антропогенное загрязнение минимально. Среди матерей, родивших ребенка с ВРГН: фактора риска в своей профессии отметили 55%, инфекционные заболевания в период беременности – 52,8%, выраженный токсикоз – 28% женщин [92].

Актуальным вопросом на причину возникновения ВПР является влияние экологии [128, 138]. Ярким примером является Республика Башкортостан с

высоким количеством нефтехимической промышленности [86, 114]. По данным анализа валовых выбросов загрязняющих веществ в атмосферный воздух на различные территории Республики Башкортостан проанализирована взаимосвязь между уровнем выбросов загрязняющих веществ в атмосферу и частотой рождения детей с врожденной расщелиной верхней губы и нёба в городах и районах РБ с нефтехимической промышленностью (НПХ). Оценивая частоту рождения детей с врожденной расщелиной верхней губы и нёба на 1000 родившихся в крупных городах (2,43), и районах (3,26) с нефтехимической промышленностью с превышением ПДК как повышенную, проведен сравнительный анализ этих данных с городами и районами без нефтехимической промышленности и без превышения ПДК. В экологически благополучных городах (1,12) и районах (0,96) частота рождения детей с врожденной расщелиной верхней губы и нёба была достоверно ниже ($p < 0,001$), чем в городах и районах с нефтехимической промышленностью [31, 86].

В связи с воздействием человека на находящуюся вокруг окружающую среду важное значение приобретают вопросы экологии и прогнозирования врожденных пороков развития последствий ее воздействия на организм плода, так же необходимо решать вопросы по оздоровлению окружающей среды.

1.4 Генетические факторы врожденной расщелины верхней губы и нёба

Известно, что здоровье населения, особенно частота встречаемости ВПР является, биологическим индикатором экологического состояния внешней среды [110]. Многочисленные эпидемиологические исследования указывают на то, что, в настоящее время, подавляющее число ВПР являются не только менделеевскими, но и имеют многофакторную природу, поэтому патогенез этих патологий обусловлен воздействием неблагоприятных факторов окружающей нас окружающей среды и генетической предрасположенностью. Различные химические токсины, так называемые ксенобиотики, находящиеся в продуктах переработки нефтехимических производств, табачный дым, продукты питания,

лекарственные и биологически активные добавки могут быть источником этих патологий. Генетические факторы предрасположенности к профессиональной патологии у рабочих нефтехимических производств [55, 122, 142].

Известно также, что ответная реакция организма и процессы детоксикации и интоксикации, т.е. метаболизм этих веществ, способных активироваться или инактивироваться могут зависеть от возраста, образа жизни, гендерной принадлежности и индивидуальной чувствительности. Данный момент обуславливает зависимость чувствительности к токсичным агентам от генетического полиморфизма генов ферментов участвующих в процессах метаболизма чужеродных веществ. В настоящее время уже существует база данных генетических систем, связанных с воздействием окружающей среды на человека, к которым относятся гены ферментов детоксикации ксенобиотиков, в частности, антиоксидантной защиты. Следовательно, полиморфизм генетических систем, задействованных в формировании защитных реакций вследствие воздействия на организм неблагоприятных внешнесредовых условий, является тем генетическим субстратом, на котором формируются индивидуальная восприимчивость или устойчивость к экологически обусловленным заболеваниям, к которым относят ВРГН [101, 110].

Кроме того, важно учитывать, что активность ферментов, скорость метаболических процессов в организме и, в конечном итоге, частота заболеваемости той или иной патологией в разных популяциях характеризуется широким разнообразием. Это связано не только с различными экологическими и социальными условиями проживания населения, образом жизни, диетой, но и с генетическими различиями, то есть тем генетическим фоном, который обуславливает вариабельность метаболических параметров. Следовательно, патогенетическая взаимосвязь отдельных генетических характеристик с особенностями ответных реакций организма человека на действие факторов окружающей среды может быть выявлена лишь при учете и анализе популяционных особенностей исследуемых групп населения, особенно этнически гетерогенного.

Анализ литературы при формировании генетической предрасположенности при развитии ВРГН

Многочисленные литературные данные, полученные в результате семейных и близнецовых исследований, свидетельствуют о существенной роли генетических факторов в развитии ВРГН [131, 151]. Показано, что при семейном наследовании риск рецидива в первом поколении родственников у лиц с ВРГН примерно в 40 раз больше, чем в общей популяции. В некоторых родословных можно установить менделевский тип наследования [137, 165]. Однако в большинстве случаев ВРГН представлен несиндромальной формой, т.е. является многофакторным заболеванием. Несиндромальная ВРГН является одним из наиболее распространенных полигенных заболеваний [106, 144]. На развитие такой формы ВРГН оказывает влияние факторы окружающей среды. В сочетании определенных факторов внешней среды и определённого генотипа формируются большинство случаев ВРГН, что усложняет осуществление генетического анализа несиндромальных форм ВРГН и раннее выявление таких случаев.

При изучении сложной этиологии несиндромальной ВРГН активно используются различные виды молекулярно-генетического анализа, таких как ген-кандидатный анализ, прямое секвенирование дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) индивидов с ВРГН, полногеномное и полноэкзомное секвенирование образцов ДНК больны, выявление хромосомных аномалий и микроделеций, а также исследования на животных моделях [134, 139].

Например, при проведении широкогеномного исследования (GWAS) Малайской популяции было идентифицировано несколько генов-кандидатов ВРГН, включая LPHN2, PVRL3 и SATB2 [142]. Проведенное широкоэкзомное секвенирование также выявило изменение структуры генов при несиндромальной форме ВРГН [108].

Главный вывод из проведенных работ по широкогеномному исследованию заключается в том, что ВРГН имеют значительную генетическую гетерогенность. В совокупности проведенные исследования GWAS идентифицировали по крайней

мере 15 генетических локусов, вносящих существенный вклад в развитие ВРГН. Однако эти локусы составляют лишь небольшую часть генетической изменчивости при этой патологии, что указывает на вероятное участие дополнительных генетических факторов риска. Кроме того, некоторые из выявленных полиморфных локусов, имеют сильные эффекты в некоторых популяциях, тогда как в других являются неинформативными, что может способствовать изменчивости показателей распространенности [124]. Несмотря на выявление новых генетических мутаций, идентифицированных в исследованиях полноэкзомного секвенирования при ВРГН, этиология этого заболевания остается неопределенной. Тем более, что обнаруживаемые варианты в основном находятся в некодирующих геномных областях, что затрудняет изучение функциональной роли вновь открываемых вариантов в патогенезе ВРГН [147].

Среди множества генетических факторов, играющих важную роль в развитии врожденной патологии человека, существенное значение отводится генетическим нарушениям метаболизма гомоцистеина и фолиевой кислоты [74, 98]. При этом подчёркивается особая роль фолиевой кислоты, которая участвует в качестве кофактора в большом количестве клеточных реакций, в их дифференцировке и жизнеобеспечении [76, 157]. Учитывая имеющиеся литературные данные о связи нарушений фолатного обмена с врожденными пороками и наследственными заболеваниями, дальнейшие исследования полиморфизма генов фолиевой кислоты при ВРГН является актуальным.

Анализ генов – кандидатов ВРГН

Используя более узкий и функционально обоснованный метод анализа генетических изменений, так называемый ген-кандидатный подход, были выявлены гены, ассоциированные с ВРГН. К наиболее известным генам-кандидатам при ВРГН относят гены *MTHFR*, *MTRR*, а также гены фактора роста (*TGF- α* , *TGF- β 3*) и транскрипционные факторов (*MSX1*, *IRF6*, *TBX22*). Вместе с тем, получаемые при этом ассоциации отличаются противоречивостью, что объясняется

различными частотами полиморфных вариантов этих генов в различных популяциях. В последнее время стали активно изучаться гены, участвующие в биотрансформации ксенобиотиков (*CYP1A1*, *GSTM1*, *NAT2*), принимающие участие в обезвреживании чужеродных соединений у человека.

Окислительный стресс и антиоксиданты

Глутатион-S-трансферазы (GSTs) Основная функция GSTs - защита клеток от ксенобиотиков и продуктов перекисного окисления липидов посредством их восстановления при нарушении. Является так же важным компонентом антиоксидантной защиты, особенно от эндогенных метаболитов, так как способен уничтожить продукты свободнорадикального повреждения [152, 161].

Внимания заслуживают глутатион-S-трансферазы M1, T1, P1. Мутация гена GSTT1 бывает фактором риска развития ряда заболеваний из-за возникающей повышенной чувствительности к вредным факторам окружающей среды: привычное невынашивание беременности, гестозы [131, 144].

Делеционный полиморфизм генов GST локусов M1 и T1 приводят к формированию некоторых ВПРПН врожденных пороков развития и новржденных (в том числе и ВПРПН расщелина губы и/или неба) [124].

Делеционный полиморфизм гена GSTM1 ассоциирован с высоким риском развития врожденных пороков развития у плода. Также этими авторами установлена, что делеционный полиморфизм гена *GSTM1* ассоциирован с антенатальной гибелью плода [32, 153].

Были показаны ассоциации полиморфизма гена GSTT1 с развитием ВРГН у плода при курении матери во время беременности [122, 137, 148].

В работе С. В. Чуйкина с соавт. (2015) был проведен анализ генов метаболизма ксенобиотиков *CYP1A1* и *GSTP1* у больных ВРГН. Ассоциации с риском развития патологии не выявлено [114].

В нашей стране работ, посвященных изучению генетической предрасположенности к ВРГН, немного. Известны работы изучения полиморфных вариантов генов CYP1A1 и GSTP1 при формировании лицевой расщелины, исследовали гены NQO1 и CYP1A2, которые также проявили взаимосвязь с развитием ВРГН [59, 90].

Таким образом, исследований генов метаболизма ксенобиотиков у больных ВРГН весьма малочисленны, как в России, так и в других странах.

Гены фолатного цикла

Продукт гена метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*) является внутриклеточным ферментом, играющим основную роль в превращении фолата и метионина, поскольку он необратимо преобразует 5,10-метилентетрагидрофолат в 5-метилтетрагидрофолат [68, 103]. Известно, что дефицит фермента *MTHFR* приводит к снижению уровня метилирования ДНК, что, в свою очередь, приводит к активизации многих клеточных генов, в том числе генов репарации, влияющих на механизмы апоптоза, а также обуславливает нарушение расхождения хромосом в процессе деления и формирование хромосомных аномалий [15].

Также при этом, происходит избыточное накопление гомоцистеина промежуточного продукта синтеза метионина. В случае сниженной активности *MTHFR* во время беременности усиливается влияние тератогенных и мутагенных факторов, приходящих из окружающей среды. По данным литературы известно, что гены метаболизма фолатного цикла активно анализировались при проведении ассоциативных исследований полиморфных вариантов с риском развития пороков развития плода, такими как дефекты нервной трубки и незаращение верхней губы и неба [85].

В работе Khan MFJ с соавт. (2019) было показано повышение уровня метилирования ретротранспозона LINE-1, участвующего в процессах эмбриогенеза у носителей аллелей С локуса с.677С>Т гена *MTHFR*, но не среди носителей аллеля Т, т.е. присутствие аллеля Т обуславливает дефицит метильных групп [139]. Также

показано, что у лиц, гомозиготных по генотипу ТТ фермент MTHFR проявляет чувствительность к температуре и теряет свою активность примерно на 65% [96]. Показано, что аллель Т ассоциирован с четырьмя группами заболеваний: сердечно-сосудистыми, дефектами развития плода, колоректальной аденомой и раком молочной железы и яичников. У женщин с генотипом ТТ во время беременности дефицит фолиевой кислоты может приводить к дефектам развития плода, в том числе, незаращению нервной трубки. Для носителей генотипа ТТ высоко появление риска развития побочных эффектов при приеме лекарственных средств, используемых в раковой химиотерапии, например, метотрексата. Неблагоприятное воздействие варианта Т полиморфизма С677Т сильно зависит от внешних факторов - низкого содержания в рационе фолатов, вредных привычек: курения, приема алкоголя [107].

Ген метионин-синтаза-редуктаза (*MTRR*) (A66G, Pе22Met) кодирует фермент метионин синтазу редуктазу, участвующую в фолатном обмене и, как следствие, в метилировании и синтезе ДНК и белков. Данный фермент осуществляет восстановительное метилирование метионин синтазы, отвечающей за превращение гомоцистеина в метионин. Также метионин синтаза редуктаза участвует в метаболизме антинеопластических и антиревматоидных препаратов (метотрексат и 5-фторурацил). Полиморфизм A66G (rs1801394) обусловлен заменой нуклеотида аденина на гуанин в кодирующей области гена, приводит к замене изолейцина на метионин в 22 позиции белковой молекулы [130, 166]. Считается, что в результате этой замены синтезируется белок, проводящий к снижению активности фермента *MTRR* (привести к синтезу фермента с пониженным сродством к *MTR*), нарушению биохимических превращений и увеличению уровня гомоцистеина в плазме крови [106]. Также известно, что белок *MTRR*, способен изменять биологическую активность ксенобиотиков. Фермент *MTRR* катализирует регенерацию метилкобаламина и играет важную роль в поддержании активации *MTR* [109, 134].

Анализ данных литературы показал, что полиморфный локус rs1801394 гена *MTRR* ассоциирован с риском развития онкологических заболеваний,

рождением детей с синдромом Дауна, тромбофлебией и привычным невынашиваем беременностью плода и дефектами нервной трубки плода [133]. Имеются данные о сочетанном воздействии варианта *G* одновременно у матери и у ребенка, в этом случае встречается врожденным порок, расщелиной позвоночника [143, 152]. Показана ассоциация локуса rs1801394 гена *MTRR* с несиндромной расщелиной губы и/или неба. В проведенном Li Q. с соавт. (2020) мета-анализе установлено, что генотип *GG* локуса rs1801394 гена *MTRR* является протективным при развитии несиндромной расщелины губы /неба только в популяциях Азии, для европейцев данный полиморфизм ассоциации не выявил [160]. Вместе с тем в мета-анализах Lei W. (2018) и Ouyang с соавт. (2015) ассоциации с локусом rs1801394 гена *MTRR* выявлено не было в популяции монголоидов. Мета-анализ другого порока развития показал, что полиморфизм rs1801394 гена *MTRR*, может увеличить риск развития дефектов нервной трубки у европеоидов, причем в качестве рискового в этом случае был генотип *GG* [106, 107].

В работе Murthy с соавт. (2015) было показано, что полиморфизм rs1801394 гена *MTRR*, может способствовать развитию ВРГН в индийских популяциях [148]. В исследовании Чуйкина О.С. с соавт. (2018) было установлено преобладание генотипа *AA* полиморфного локуса rs1801394 гена *MTRR* у больных с врожденными пороками челюстно-лицевой области [3], тогда как в исследовании Удиной И. Г. с соавт. (2019) для генотипа *GG* отмечен повышенный риск развития ВПР челюстно-лицевые пороки, вместе с тем генотип *AA* был выявлен в качестве рискового при развитии раннего кариеса в интенсивной форме среди детей с временным и смешанным прикусом, а генотип *AG* определен как генотип устойчивости к развитию кариеса [17].

Установлено, что частота генотипа *66GG* гена *MTRR* была достоверно выше у матерей, имеющих детей с врожденными пороками развития сердца и нервной трубки, для них же были более характерны беременности с врожденным пороком развития [55].

Таким образом, в мета-анализах и проведенных ген-кандидатных исследованиях показаны противоречивые результаты.

Ген метионин синтаза (MTR) кодирует фермент метионин синтазу, участвующую в фолатном обмене и, как следствие, в метилировании и синтезе ДНК, а также в метаболизме гомоцистеина. Данный фермент при участии кофактора метилкобаламина осуществляет реметилирование гомоцистеина в метионин. Также метионин синтаза участвует в метаболизме антинеопластических и антиревматоидных препаратов (метотрексат и 5-фторурацил). В случае высокой активности MTR происходит снижение гомоцистеина в плазме. В гене *MTR* наиболее изученным является полиморфизм 2756A>G, представляющий замену нуклеотида аденина на гуанин в кодирующей области гена, приводящая к замене аспарагиновой кислоты на глицин в молекуле белка (Asp919Gly). Считается, что данный полиморфизм играет ключевую роль в поддержании уровня гомоцистеина. Причем у носителей аллеля А определено более высокое содержание гомоцистеина по сравнению с аллелем G [134]. Эпигенетические механизмы имеет решающее значение в развитии несиндромной расщелины губы и/или неба. Mostowska A. с соавт. (2010) установили ассоциацию локуса rs1805087 гена MTR с риском развития ВРГН у поляков [109].

В другой работе Mostowska A. (2006) показано, что у матерей носительниц генотипов AG или GG локуса rs1805087 гена MTR более чем в 2 раза увеличен риск рождения ребенка с ВРГН. Авторы считают, что механизм, с помощью которого полиморфный локус гена MTR может увеличивать материнский риск рождения потомства CL/P, может базироваться на условиях метилирования генов при развитии черепно-лицевых структур у человека в процессах эмбриогенеза. Исследования роли гена MTR не многочисленны [143].

Механизм, с помощью которого полиморфный переход гена MTR может увеличить материнский риск рождения потомства с ВРГН неизвестен. Наши наблюдения согласуются со значительной ролью метилового цикла в развитии черепно-лицевых структур у человека.

Таким образом, определена важная роль генов MTHFR, MTRR и MTR в процессах метилирования и синтеза ДНК; изучена и обоснована их влияние на эффективность репарации ДНК и накопление повреждений хромосом, в связи с чем они способны модифицировать индивидуальную чувствительность организма человека к действию факторов окружающей среды и приводить к ВПР.

Предполагается, что прием беременной женщиной фолиевой кислоты и поливитаминов обеспечивает защиту от дефектов нервной трубки и врожденных дефектов ВПР [165]. Ряд исследований сообщают о том, что перинатальная добавка фолиевой кислоты снижает риск дефектов нервной трубки, а также снижает риск дефектов развития черепа, в том числе ВРГН [127].

Таким образом несмотря на проведенные исследования с использованием новейших технологий патогенез ВРГН остается дискуссионным. Учитывая, что значительную роль в формировании одной их форм ВРГН, относящейся к многофакторной патологии принадлежит генам метаболизма ксенобиотиков и генов фолатного цикла, экспрессия которых зависит от воздействия факторов внешней среды (прием препаратов, проживание в неблагоприятных условиях среды и т.д.). Актуальным и целесообразным представлялось проведение анализа полиморфных вариантов генов детоксикации ксенобиотиков и генов фолатного цикла.

Степень токсического воздействия на плод является результатом сложных генно-средовых взаимодействий, а определенные полиморфные варианты генов ФБК могут определять формирование фенотипов, которые в меньшей степени способны к детоксикации экзогенных соединений и накоплению токсичных промежуточных метаболитов.

Подводя итог аналитическому обзору проблемы, следует еще раз отметить, что в настоящее время уже существует база данных генетических систем, связанных с воздействием окружающей среды на человека, к которым относятся гены ферментов детоксикации ксенобиотиков, в частности, глутатион-S-трансфераз, а также генов белков фолатного цикла. Следовательно, полиморфизм генетических систем, задействованных в формировании защитных реакций

вследствие воздействия на организм неблагоприятных внешнесредовых условий, является тем генетическим субстратом, на котором формируются индивидуальная восприимчивость или устойчивость к экологически обусловленным заболеваниям.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Клинические методы обследования

По результатам мониторинга в Республике Башкортостан за 2011-2021 г.г., врождённая расщелина верхней губы и нёба в структуре врождённых пороков заняла ведущую позицию, и составила – 14,1-16,9%.

По результатам анализа медицинской документации 2058 детей с ВРГН в возрасте от 1 года до 18 лет включительно, находящихся на диспансерном учете в отделении челюстно-лицевой хирургии Республиканской детской клинической больницы г. Уфы, было выявлено, что 1198 детей (58,24%) рожденных женщинами из регионов с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе, а 860 детей (41,76%) из районов с отсутствием крупных промышленных предприятий (Рисунок 1).



Рисунок 1 – Данные о проживании детей с врожденной расщелиной губы и нёба в Республике Башкортостан.

Проведены сравнительные анализ влияния уровня ПДК экотоксикантов в атмосферном воздухе в регионе по бензоптрону, бензолу, толуолу и другим выбросам нефтехимической промышленности, относящимся к эмбриотоксическим вещества первого класса опасности на частоту рождения детей с ВРГН. Заполнялась карта историй болезни детей с ВРГН, в которой фиксировались данные о ребенке: клинический диагноз ребенка, соматические заболевания (ЛОР-органов, органов дыхательной системы, сердечно-сосудистой системы и др.) и матери ребенка во время беременности: заболевания во время беременности, прием лекарственных препаратов, возраст, место жительства, профессиональная деятельность. Среди соматической патологии у матери мы выделяли заболевания ЛОР-органов, дыхательных путей, анемии, а также с другие сопутствующие соматические заболевания.

2.2 Методы оценки состояния окружающей природной среды

Основным документальным материалом о состоянии окружающей среды являлся «Государственный доклад о состоянии природных ресурсов и окружающей среды Республики Башкортостан» Министерства природопользования и экологии Республики Башкортостан за последние 5 лет, подготовлен в соответствии с постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2012 года № 966 «О подготовке и распространении ежегодного государственного доклада о состоянии и об охране окружающей среды» и приказом Министерства природопользования и экологии Республики Башкортостан от 25 февраля 2020 года № 163 «О подготовке и издании Государственного доклада о состоянии природных ресурсов и окружающей среды Республики Башкортостан в 2019 году» [24-28].

В представленном докладе изложена информация об экологической ситуации на территории Республики Башкортостан за 2015-2019 годы [24-28].

Республика Башкортостан сохраняет лидирующие позиции по производству отдельных видов промышленности и является один из крупных среди регионов России по объему нефти, поступившей на переработку, автомобильного топлива,

листового стекла, занимает 2-е место по производству древесно-стружечных плит, бензола, этилена, ксилола, стирола, пластмасс в первичных формах, 3-е место – по производству синтетических каучуков, серы технической газовой, талей. Наиболее высокие средние уровни загрязнения были отмечены:

- диоксидом азота – 0,8 ПДК в г. Уфа;
- формальдегид – 0,9 ПДК г. Благовещенск;
- бенз(а)пиреном – 0,7 ПДК в г. Уфа.

В целом в течение года на территории республики преобладали метеорологические условия, благоприятные для накопления вредных выбросов в атмосфере. Количество дней, в которые объявлялись штормовые предупреждения об ожидаемых неблагоприятных метеоусловиях, для городов Стерлитамак, Салават в целом за год составило 211, для г. Уфа – 205, для городов Туймазы и Благовещенск – 158, для остальных городов – (119-131). Объемы выбросов загрязняющих веществ в атмосферу за период 2015 – 2019 гг. городов республики представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Объемы выбросов загрязняющих веществ в атмосферу в 2015–2019 годах, тыс. тонн

Города республики	2015 г.	2016 г.	2017 г.	2018 г.	2019 г.
г.Уфа					
Всего по городу, в т. ч.	222,2	234,6	225,1	211,8	214,2
от стационарных источников	140,6	153,0	143,5	130,2	175,6
г.Стерлитамак					
Всего по городу, в т. ч.	66,0	63,3	54,2	60,8	48,1
от стационарных источников	51,0	48,3	39,2	45,8	48,1
г.Салават					
Всего по городу, в т. ч.	47,9	51,4	53,1	49,2	34,3
от стационарных источников	38,4	41,9	43,6	39,7	34,3

Изменение количества выбросов загрязняющих веществ в атмосферу по Республике Башкортостан за 2015 – 2019 годы представлено на рисунке 2.

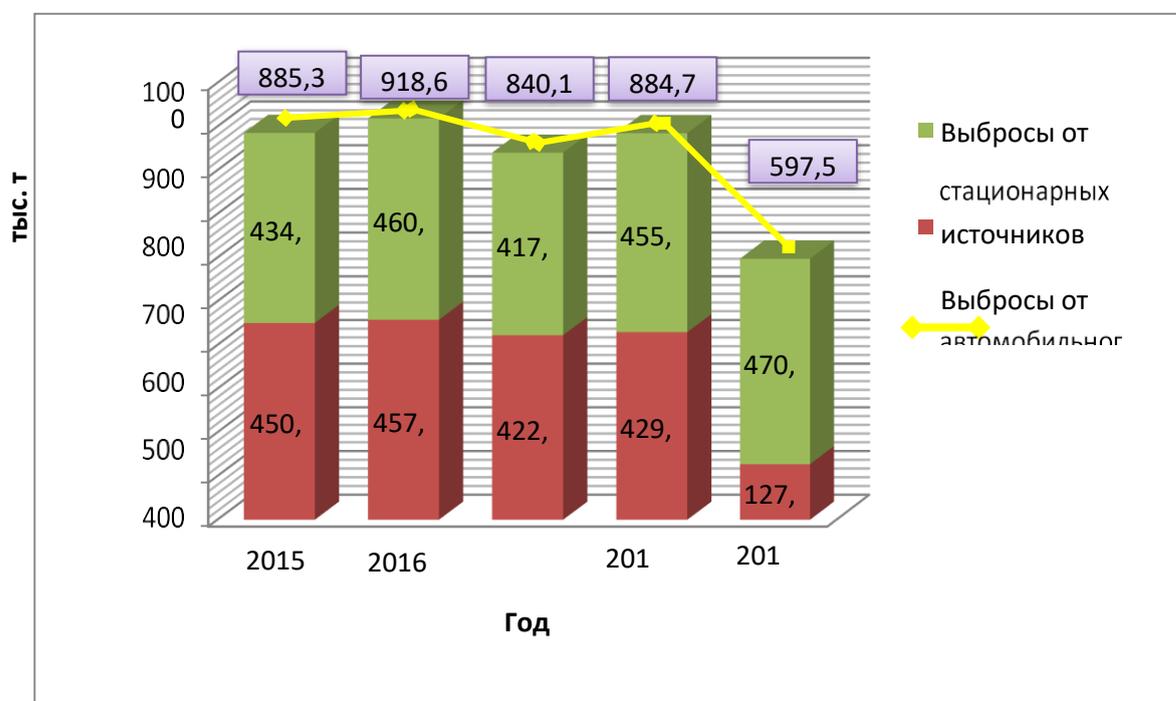


Рисунок 2 – Изменение количества выбросов загрязняющих веществ в атмосферу за 2015 – 2019 годы, тыс. тонн.

Руководствуясь «Государственным докладом», к регионам с нефтехимической промышленностью (НХП) мы отнесли крупные города РБ (Уфа, Стерлитамак и Салават), города без НПХ (Давлеканово, Туймазы, Белебей). В таблице 2 представлены города Республики Башкортостан (РБ) условно разделенные в зависимости от наличия или отсутствия в них НХП.

Динамика количества основных загрязняющих веществ, выбрасываемых в атмосферный воздух по Республике Башкортостан за 2015 – 2019 гг., представлена на диаграмме (Рисунок 3).

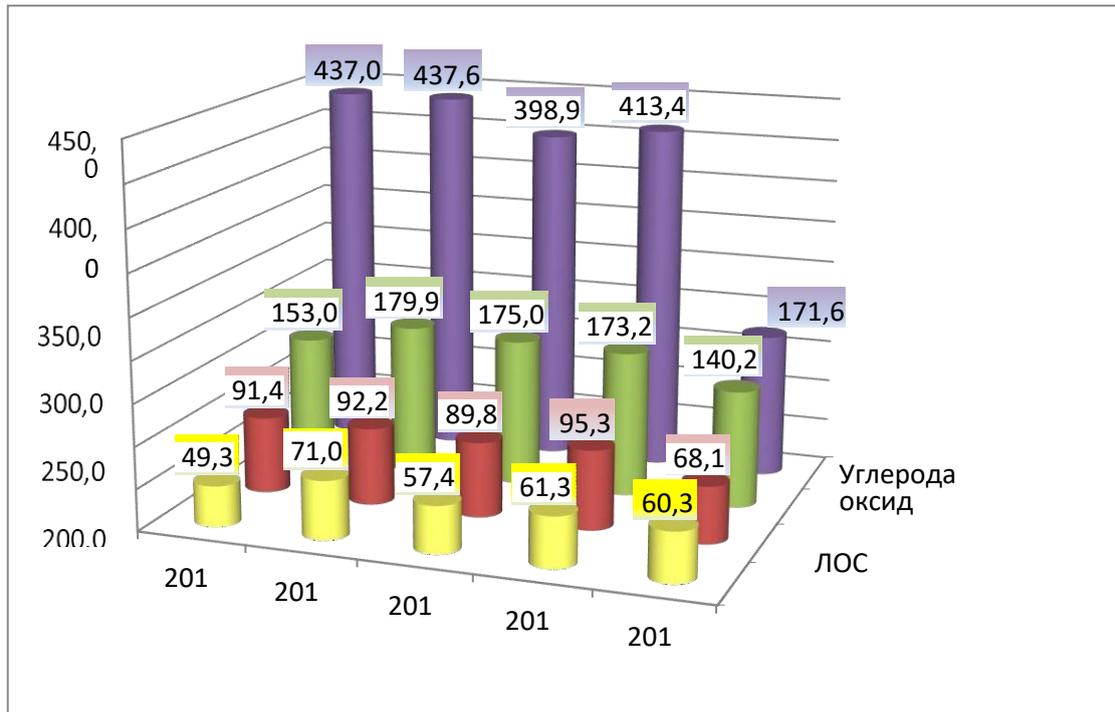


Рисунок 3 – Динамика количества выбрасываемых в атмосферный воздух загрязняющих веществ по Республике Башкортостан за 2015 – 2019 годы, тыс. тонн.

Таблица 2 – Города Республики Башкортостан с НХП и без НХП

Города с нефтехимической промышленностью	Уфа Стерлитамак Салават
Города без нефтехимической промышленности	Давлеканово Туймазы Белебей

В городах с НПХ– наиболее насыщены промышленными предприятиями. Основной вклад в выбросы от стационарных источников вносят предприятия нефтеперерабатывающей промышленности и энергетики. В Уфе максимальные разовые концентрации достигали: бенз(а)пирена – 2,8 ПДК (на станции 17, май).

Средние за год концентрации специфических веществ: ксилолов – 0,009 мг/м³, толуола – 0,056 мг/м³, этилбензола – 0,002 мг/м³, сероводород – 0,000 мг/м³, остальных примесей – ниже допустимых норм. Максимальные из разовых концентраций составили: ксилолов – 3,0 ПДК, фенола – 1,6 ПДК (по данным Центра гигиены и эпидемиологии в Республике Башкортостан). В Стерлитамаке максимальные разовые концентрации достигали: бенз(а)пирена 2,0 ПДК (январь ПНЗ № 2), диоксида азота на уровне 1 ПДК. Средняя за год концентрация специфических веществ: ксилолов – 0,008 мг/м³, толуола – 0,051 мг/м³, этилбензола – 0,006 мг/м³, остальных примесей – ниже допустимых норм. В Салавате средняя за год концентрация специфических веществ сероводорода равна 0,001 мг/м³, ксилолов – 0,011 мг/м³, толуола 0,066 мг/м³, этилбензола – 0,023 мг/м³, остальных примесей ниже 1 ПДК.

По данным управления Роспотребнадзора бенз(а)пирен (C₂₀H₁₂) химическое соединение, I (высший) класса опасности, чрезвычайно токсичен, вызывающее онкологические заболевания, способный проникать в организм через кожу, органы дыхания, желудочно-кишечный тракт, плаценту. Помимо канцерогенного, бенз(а)пирен оказывает мутагенное, эмбриотоксическое и гематотоксическое действие. Он опасен для человека даже при малой концентрации, поскольку обладает свойством биоаккумуляции.

Ситуационный анализ влияния превышения предельно-допустимой концентрацией в атмосферном воздухе в регионе по бензоперену, бензолу, толуолу другим выбросам нефтехимической промышленности на частоту возникновения ВРГН у детей показал следующие результаты: в городах с промышленным производством отмечены наиболее высокие величины валовых выбросов в атмосферу в тоннах в год - от 135.11 до 180.12 тонн в год - и высокая частота наиболее тяжелых форм рождения детей с ВРГН. Плотность выбросов загрязняющих веществ на 1 га на территории превышения предельно-допустимой концентрацией в атмосферном воздухе - 5,01 т. и в расчете на 1 человека - 0,34 т.,

по сравнению с экологически благополучными городами - 1,12 т, и в расчете на 1 человека - 0,24 т.

Количественная оценка загрязнения атмосферного воздуха с превышением уровня предельно-допустимой концентрации экотоксикантов в атмосферном воздухе в регионе с выбросами нефтехимической промышленности показала высокий уровень загрязняющих веществ (диоксида азота, оксида азота, бензопирена, хлористого водорода и др.). В валовых выбросах преобладают: оксид углерода – 398,8 тыс. т, летучие органические соединения – 175 тыс. т, диоксид азота – 89,8 тыс. т., сернистый ангидрид – 57,5 тыс. т. В расчете на одного жителя республики поступление экотоксикантов в атмосферу составило 0,2 тонны. Наибольшие значения СИ (стандартный индекс, наибольшая измеренная в городе максимальная разовая концентрация любого вещества, деленная на предельно допустимую концентрацию) наблюдались: в по бенз(а)пирену – 2,1 СИ, в по взвешенным веществам – 1,2 СИ, по этилбензолу – 8,0-9,5 СИ, по сероводороду и этилбензолу – 9,5 СИ (Рисунок 4).

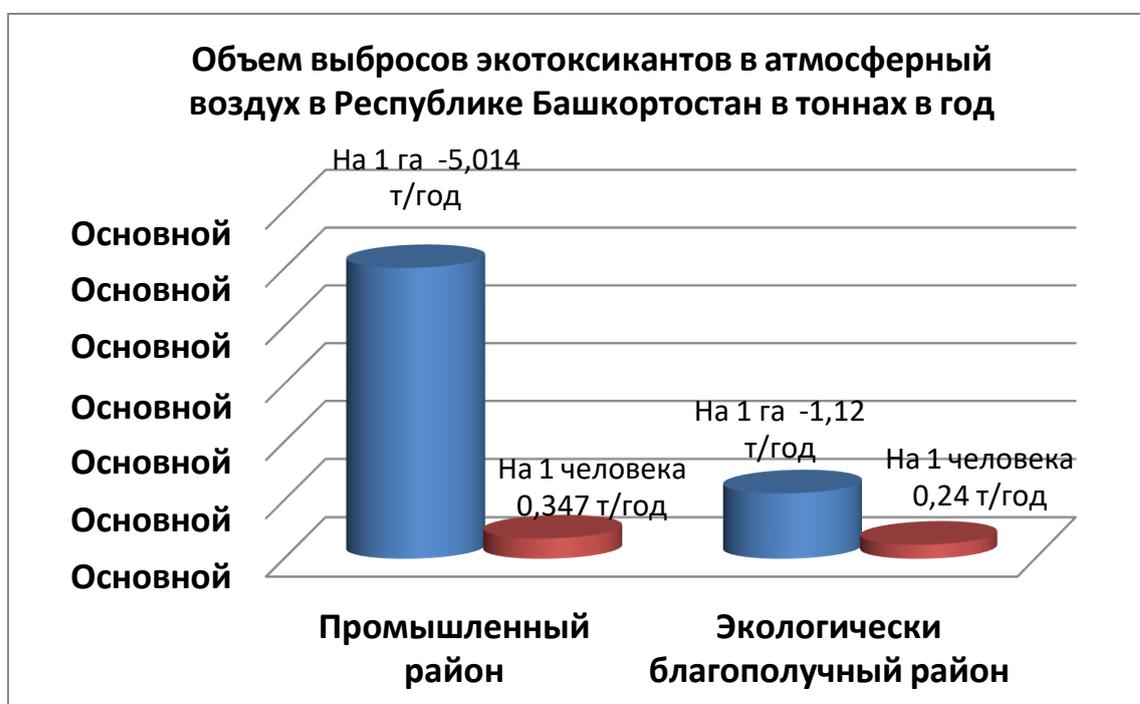


Рисунок 4 – Объем выбросов экотоксикантов в Республике Башкортостан в атмосферный воздух в расчете на 1 га территории и на 1 человека в промышленных районах и в экологически благополучных районах в тоннах в год.

В результате исследования, отмечена взаимосвязь между превышением уровня предельно-допустимой концентрации в атмосферном воздухе по бензопирену, бензолу, толуолу и другими выбросами нефтехимической промышленности, относящимся к эмбриотоксическим веществам первого класса опасности на частоту рождения детей с врождённой расщелиной губы и нёба в регионе с экотоксикантами.

2.3 Молекулярно-генетические методы исследования

Генетический анализ проведен у 100 детей с ВРГН в возрасте от 1 года до 18 лет (средний возраст $5,59 \pm 0,31$), находившихся на стационарном лечении в отделении челюстно-лицевой хирургии Республиканской детской клинической больницы г. Уфы в период с 2017 по 2021 год, и в качестве контрольной группы студенты университета без данной патологии ($N = 216$, возраст контроля варьировал от 17 до 25 лет, средний возраст составил $21,3 \pm 5,6$ лет), проживающие в Республике Башкортостан. Также была обследована группа родителей детей с ВРГН в количестве 100 человек. В группу сравнения для родителей вошли доноры Республиканской станции переливания крови (средний возраст составил $52,3 \pm 6,3$ лет), не имеющие данной патологии.

Критерии включения пациентов в исследование:

1. Наличие письменного информированного согласия пациента (родителей/усыновителей) на участие в исследовании;
2. Анкета мамы во время беременности;
3. Анкета пациента;
4. Согласие на обработку персональных данных;
5. Возраст ребенка: более 1 года, не более 18 лет;
6. Родители ребенка с врожденной расщелиной губы и нёба
7. Пол: мужской, женский;
8. Установленный диагноз - врожденная расщелина губы и нёба.

Критерии не включения пациентов в исследование:

1. Возраст ребенка: менее 1 года и более 18 лет;
2. Отказ пациента от участия в исследовании.
3. Отсутствие письменного информированного согласия пациента (родителей/усыновителей) на участие в исследовании;

Критерии исключения пациентов из исследования:

1. Отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании.

Для детей с ВРГН дополнительно к карте амбулаторной истории болезни заполняли матери детей разработанные анкеты (приложение 2,3,4, 5), которая включала следующие сведения:

- анкета мамы во время беременности (заболевания во время беременности: ОРВИ, анемия, артериальная гипертензия, токсикозы, гипоксия; медикаментозное лечение; наличие абортов или выкидышей в анамнезе; вредные привычки; прием фолиевой кислоты в составе витаминов, доношенность).

- сведения о ребенке и родителях (адрес проживания, национальность, наследственная отягощенность, врожденные заболевания, профессиональная вредность).

- согласие на обработку персональных данных и информированное согласие на генетическое исследование (при заборе биологического материала- венозной крови получено письменное информированное согласие на обработку персональных данных и информированное согласие на генетическое исследования от законных представителей обследованных детей).

Выделение ДНК из периферической крови

Для получения ДНК необходимой степени чистоты и достаточного молекулярного веса используют метод выделения ДНК из крови фенольно-хлороформной экстракцией. Кровь ребенка и матери набирают в пробирки со стандартным консервантом (ЭДТА) в соотношении 4:1.

В дальнейшем полученную ДНК используют в качестве матрицы для полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ПДРФ-анализа.

Анализ полиморфных локусов изученных генов глутатион-S-трансфераз и фолатного цикла проводили методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК (ПЦР) на термоциклере «Терцик» в автоматическом режиме с использованием локуспецифических олигонуклеотидных праймеров. Перечень исследованных полиморфных локусов, последовательности специфических праймеров, способы детекции полиморфных локусов представлен в таблице 3. Общая схема проведения ПЦР была следующей. Состав реакционной смеси для ПЦР следующий: 1,25 мкл 10X ПЦР-буфера (60 мМ Tris-HCl, pH 8,5, 1,5 мМ MgCl₂, 25 мМ KCl, 10 мМ 2-меркаптоэтанол, 0,1% тритон X-100), 1,0 мкл смеси 5 мМ dNTP («Сибэнзим»), около 200 нг геномной ДНК, 1 ед Taq-полимеразы («Сибэнзим»), необходимое количество деионизированной воды до объема 12,5 мкл, а также по 0,5 мкл соответствующих праймеров, предварительно разбавленных до концентрации 1 ОЕ/мл.

Режим амплификации следующий: предварительная денатурация (94°C, 5-7 мин), 30-32 цикла амплификации: денатурация – 94°C, 40 сек; отжиг – 55°C (температура варьирует от 54°C до 60°C) 40 сек; синтез – 72°C, 1 мин, завершающий синтез (72°C, 5 - мин).

После амплификации ПЦР-продукты всех полиморфизмов подвергают гидролизу соответствующими эндонуклеазами рестрикции. Для этого 5 мкл амплификата смешивают с 5 ед. фермента в соответствующем буфере, смесь выдерживают согласно рекомендациям производителей («Сибэнзим», «Fermentas», «Promega») в течение ночи.

Проведение электрофореза и визуализация результатов.

Амплифицированные фрагменты ДНК разделяют электрофоретически в 7-8%-ном полиакриламидном неденатурированном геле (ПААГ). Электрофорез проводят в однократном трисборатном буфере (0,089 М Tris-HCl pH=7,8; 0,089 М борная кислота; 0,002 М ЭДТА с pH=8,0) в вертикальных стеклянных пластинах при постоянном напряжении 250-300 вольт после 30-минутного преэлектрофореза.

Таблица 3 – Последовательность праймеров, полиморфизм, эндонуклеазы рестрикции, температура отжига

№	Полиморфный локус гена		Праймеры (5'→3')	t° C отжига	Длина продукта, пн	Рестриктаза	Аллели, пн
	SNP	Замена					
Гены семейства цитохрома P 450							
1	GSTM1 1p13.3	large deletion	5'- GAACTCCCTGAAAAGC TAAAGC-3' 5'- GTTGGGCTCAAATATA CGGTGG-3'	55	271	-	N-271 Del- отсутствует
2	GSTT1 rs717483092 2q11.23	large deletion	5'- TTCCTTACTGGTCCTC ACATCTC-3' 5'- CACCGGATCATGGCCA GCA-3'	59	480	-	N-480 Del- отсутствует
3	GSTP1 11q13.2 rs1695	c.313A>G, I105V	5'- ACCCAGGGCTCTATG GGAA-3' 5'- TGAGGGCACAGAAG CCCCT-3'	54	176	BsoMA I	A - 176 G - 91+85
Гены фолатного цикла							
4	MTHFR rs1801133 1p12	c.665C>TAla 292Val	5'- TGAAGGAGAAGGTGT CTGCGGGA3' 5'- AGGACGGTGCGGT(GA GTCT)GGG3''	58, 62	198	HinfI	C – 182+16 T - 159+23 +16
5	MTR rs1805087 1p12	c.1535A>G p.Asp512Gly	5'-TGT TCC CAG CTG TTA GAT GAA AAT C-3' 5'-GAT CCA AAG CCT TTT ACA CTC CTC-3	60	211	HaeIII	A – 211 G – 80, 131
6	MTRR rs1801394 5p13	c.66A>G p.Ile22Met	F 50 -CAA AGG CCA TCG CAG AAG ACA T- 30 , R 50 -CCC AAC CAA AAT TCT TCA AAG CA- 30	60	151	Nde I	A - 151 G - 126

2.4 Статистическая обработка данных

Математическую обработку полученных данных проводили на персональном компьютере с использованием пакетов статистических программ: STATISTICA v.6.0, BIOSTAT (Primer of Biostatistics version 4.03).

Вычислялись средние величины и их стандартные ошибки ($M \pm m$). Для сравнения средних величин совокупностей использовали t-критерий Стьюдента, а в случаях отсутствия нормального распределения данных – непараметрический U-тест Манна-Уитни.

Частоты аллелей и генотипов изученных локусов, соответствие распределения частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга (χ^2) определяли по стандартным формулам при помощи он-лайн программы (<https://ihg.gsf.de>).

Для сравнения распределения частот аллелей в исследованных группах (выборки больных и здоровых индивидов), использовали критерий χ^2 Пирсона. Логистическую регрессию использовали для выявления ассоциации полиморфных вариантов изученных генов с развитием расщелины; экспоненту отдельного коэффициента регрессии (beta) интерпретировали как отношение шансов (OR) с расчетом 95% доверительного интервала SNPStats [26]. Для выбора лучшей модели использовали информационный критерий Акайке (AIC). Для каждого локуса из статистически значимых выбирались модели с наименьшим значением AIC.

Относительный риск заболевания по конкретному признаку вычисляли как соотношение шансов (OR -odds ratio): $OR = (a \times d) / (b \times c)$,

где a -- частота аллеля (генотипа) в выборке больных, b -- частота аллеля (генотипа) в контрольной выборке, c -- сумма частот остальных аллелей (генотипов) в выборке больных, d -- сумма частот остальных аллелей (генотипов) в контрольной выборке. Доверительный интервал для относительного риска рассчитывали по следующей формуле:

$$OR' = \exp \left(\ln OR - 1.96 \sqrt{1/a + 1/b + 1/c + 1/d} \right)$$

$$OR'' = \exp\left(\ln OR + 1.96 \sqrt{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}}\right)$$

В случае, когда один из показателей был равен 0, показатель OR вычислялся по формуле: $((2a+1)*(2d+1))/((2b+1)*(2c+1)) / \dots /$.

Значение $OR=1$ показывало отсутствие ассоциации, значение $OR>1$ рассматривали как положительную ассоциацию заболевания с признаком («фактор риска»), $OR<1$ – как отрицательную ассоциацию («фактор устойчивости»).

Для выявления статистически значимой ассоциации полиморфных вариантов генов глутинон S трансфераз и генов фолатного цикла с риском развития расщелины верхней губы и неба использовали результаты, полученные в различных моделях:

Первая модель - аддитивная оценивала влияние генетического полиморфизма на риск формирования расщелины в зависимости от дозы редкого аллеля. Так при описании гомозигот по частому аллелю доза аллеля будет обозначена как 0, для гетерозигот будет обозначена – 1 (единицей), для гомозигот по редкому аллелю – 2 (два). Таким образом, если представить, что редкий аллель - G, частый аллель – A, то аддитивная модель на дозу редкого аллеля будет следующей - увеличение дозы редкого аллеля в ряду: AA (0) - AG (1) - GG (2). Данная модель хорошо объясняет выявленные ассоциативные закономерности, когда одновременно увеличена доля редких гомозигот и гетерозигот в группе пациентов.

Вторая модель – доминантная. В этом случае одной копии редкого аллеля достаточно, чтобы изменить увеличить или уменьшить риск развития патологии. В этом случае риск связан как с гомозиготой по редкому аллелю, так и с гетерозиготой. Если редкий аллель - G, а частый аллель – A, то доминантная модель представляет собой противопоставление суммированных генотипов AG + GG против AA.

Третья модель – рецессивная. В этом случае тестируется ассоциация с гомозиготой по редкому аллелю, т.е. для изменения (увеличения / уменьшения) риска нужны две копии редкого аллеля, тогда как одной копии недостаточно. Если

редкий аллель - G, частый аллель – A, то рецессивная модель представляет собой сравнение GG против AG + TT.

Анализ межгенных взаимодействий проводили методом MDR (Multifactor Dimensionality Reduction).

При проведении ген-кандидатного исследования целесообразно вести расчет комплекса полиморфных локусов, т.е. осуществлять мультилокусный анализ данных, а не одного полиморфного локуса. В настоящее время для этой цели используют метод MDR (Multifactor Dimensionality Reduction), данная методика снижает размерность, уменьшает число включаемых в анализ параметров, но при этом учитывает взаимодействия множества полиморфных вариантов. Этот анализ позволяет одновременно оценивать большое число полиморфных локусов, что позволяет суммировать сочетания различных генотипов в комбинации генотипов пониженного или повышенного риска развития патологии. Использование метода Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) и его модификаций для анализа ген-генных и генно-средовых взаимодействий при генетико-эпидемиологических исследованиях.

Таким образом, метод MDR подразумевает деление общей выборки (включающей больных и контроль) на две, которые называют - обучающая (training), в нее входит 9/10 материала и тестируемую (testing), включающую 1/10 используемого материала. В дальнейшем происходит расчет параметров соотношения больной - здоровый с определенной комбинацией генотипов, при этом комбинации подразделяются в сочетания высокого и низкого риска развития заболевания. В этом случае среди всех возможных сочетаний генотипов выделяются комбинации сочетания высокого и низкого риска формирования заболевания. Наиболее валидированная модель считается та, которая имеет наибольший показатель согласованности (CVC) и наименьшую ошибку предсказания (наибольшую точность предсказания модели - Testing Balanced Accuracy с согласованностью 9/10 и выше).

Также можно построить дендрограмму в программе MDR и визуализировать рассматриваемые межгенные взаимодействия, определить характер взаимодействий (synergy, additive, redundancy) и энтропию.

2.5 Дизайн исследования

Этапы и направление исследования	Методы исследования	Объем исследования
<p>I этап: ретроспективный анализ частоты рождения детей с клинико-анатомическими формами врожденной расщелины губы и нёба и сопутствующих соматических заболеваний</p>	<p>А) Истории болезни в архиве</p>	<p>А) 2058 историй болезни; из них 1198 историй у детей, рожденных женщинами из регионов с превышением ПДК выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе. 860 историй проживающих в районах с отсутствием крупных промышленных предприятий.</p>
<p>II этап: забор крови</p>	<p>Осмотр, сбор анамнеза. Заполнение анкеты пациента Заполнение анкета мамы во время беременности Информированное согласие на генетическое исследование и</p>	<p>100 детей с ВРГН в возрасте от 1 года до 18 лет; контрольная группы – 216 студентов университета без данной патологии, проживающие</p>

	<p>согласие на обработку персональных данных.</p> <p>Проводится забор крови у ребенка с ВРГН и матери. Берется венозная кровь 5 мл в пробирку с ЭДТА.</p> <p>Для молекулярно – генетического исследования служили образцы ДНК, выделенные из лимфоцитов периферической венозной крови.</p> <p>Для выделения ДНК использовался стандартный метод фенольно-хлороформной экстракции. Изучение полиморфных вариантов проводилось с использованием методов анализа полиморфизма длины рестриционных фрагментов и полимеразной цепной реакции в автоматическом режиме с использованием локуспецифических олигонуклеотидных праймеров.</p> <p>В ходе работы были изучены полиморфные локусы генов детоксикации ксенобиотиков rs1048943 (CYP1A1); rs366631</p>	<p>в Республике Башкортостан.</p> <p>100 матерей детей с ВРГН. Группа сравнения 119 родителей доноры Республиканской станции переливания крови, не имеющие данной патологии.</p>
--	--	--

	<p>(GSTM1) и rs1695 (GSTP1) и генов фолиевой кислоты rs1801394 (MTRR); rs1801133 и rs1801131 (MTHFR); rs1805087 (MTR).</p>	
--	--	--

ГЛАВА 3 КЛИНИКО-АНАТОМИЧЕСКИЕ ФОРМЫ И СОПУТСТВУЮЩИЕ СОМАТИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЁННОЙ РАСЩЕЛИНЫ ГУБЫ И НЁБА, РОЖДЁННЫХ ЖЕНЩИНАМИ ИЗ РЕГИОНОВ С ПРЕВЫШЕНИЕМ ПРЕДЕЛЬНО- ДОПУСТИМОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ВЕЩЕСТВ НЕФТЕХИМИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ

3.1 Клинико-анатомические формы врожденной расщелины верхней губы и нёба у детей, рожденных женщинами из регионов с превышением предельно- допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе

Изучена медицинская карта пациента в отделении челюстно-лицевой хирургии ГБУЗ Республиканская детская клиническая больница, г. Уфа, за период с 1 января 1991 по 31 декабря 2021 года. За анализируемый период проходили лечение и диспансерное наблюдение 2058 детей от 1 года до 18 лет с ВРГН. У детей с данной патологией частота с ВРГН (Рисунок 6) в соответствии с классификацией ММСИ распределились:

- 1) изолированная расщелина нёба – у 883 (42,90%) детей;
- 2) комбинированная расщелина верхней губы, альвеолярного отростка, мягкого и твердого неба – у 629 (30,57%);
- 3) изолированная расщелина верхней губы – у 546 (26,53%) детей.

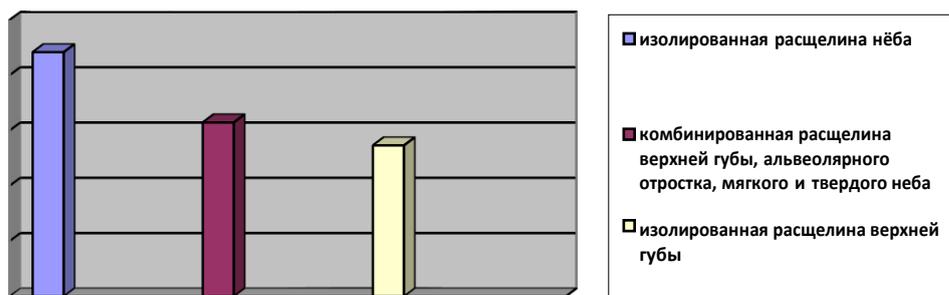


Рисунок 6 – Частота врожденной расщелины губы и нёба у детей.

По результатам исследования, у детей с ВРГН по частоте преобладали более тяжелые формы – врожденные расщелины нёба и комбинированные расщелины, что составило в сумме 73,77%. Выявлено больше односторонних расщелин верхней губы 81,31%, а среди односторонних расщелин левосторонние расщелины верхней губы (60,28%) преобладают над правосторонними – 39,72% . Среди врождённых расщелин нёба преобладали расщелины мягкого и твёрдого нёба – 927 (71,31%), затем врождённая расщелина мягкого нёба – 192 (14,77%), затем врождённая полная расщелина мягкого и твердого нёба и альвеолярного отростка – 133 (10,23%), затем врождённая расщелина альвеолярного отростка и переднего отдела неба – 48 (3,69%). В структуре комбинированных расщелин верхней губы, альвеолярного отростка, мягкого и твердого нёба преобладали неполные расщелины – 513 (55,15%), затем следовали полные – 324 (35,34%) и скрытые расщелины – 89 (9,52%).

По результатам анализа медицинской документации 2058 детей с ВРГН, находящихся на диспансерном учете челюстно-лицевого хирурга в ГБУЗ Республиканская детская клиническая больница, г. Уфа, было выявлено, что 1198 детей (58,24%) рожденных женщинами из регионов с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе, а 860 детей (41,76%) проживающих в районах с отсутствием крупных промышленных предприятий.

Выявлена взаимосвязь между высокой частотой рождения детей с тяжелыми клинико-анатомическими формами ВРГН, рожденных женщинами проживающих в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе (Рисунок 7).

Таким образом, в районе с отсутствием крупных промышленных предприятий частота ВРГН:

изолированная расщелина нёба – у 382 (44,5%) детей;

комбинированная расщелина верхней губы, альвеолярного отростка, мягкого и твердого неба – у 209 (24,2%);

изолированная расщелина верхней губы – у 269 (31,3%) детей.

Врожденная расщелина нёба и комбинированные расщелины (тяжелые формы) составили в сумме 591 ребенка (68,7%).

Частота ВРГН у детей, рожденных женщинами из регионов с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе:

изолированная расщелина нёба – у 505 (42,2%) детей;

комбинированная расщелина верхней губы, альвеолярного отростка, мягкого и твердого неба – у 424 (35,3%);

изолированная расщелина верхней губы – у 269 (22,5%) детей.

Врожденная расщелина нёба и комбинированные расщелины (тяжелые формы) составили в сумме 929 ребенка (77,5%) (Рисунок 7).

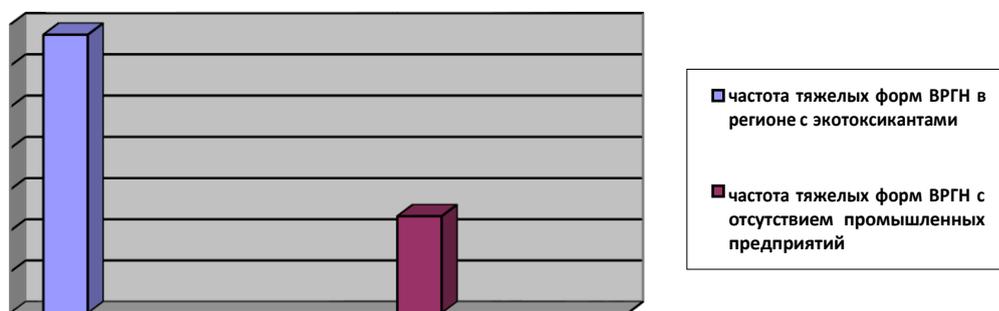


Рисунок 7 – Сравнение частоты тяжелых форм ВРГН в районе с экотоксикантами и в районе с отсутствием крупных промышленных предприятий.

В результате исследования, выявлен процент тяжелых форм ВРГН выше (77,7%), в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе, чем в районе с отсутствием промышленных предприятий (68,7%). В результате исследования отмечена, что у женщин, проживающих в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в

атмосферном воздухе, отмечается высокая частота рождения детей с тяжелыми клино-анатомическими формами врожденной расщелины губы и нёба.

3.2 Частота сопутствующих соматических заболеваний у детей с врожденной расщелиной губы и нёба, рожденных женщинами из регионов с превышением предельно-допустимой концентрации веществ нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе

По результатам анализа медицинской документации 2058 детей с ВРГН, находящихся на диспансерном учете в отделении челюстно-лицевой хирургии в ГБУЗ Республиканская детская клиническая больница, г. Уфа, было выявлено, что 1198 детей (58,24%) рожденных женщинами из регионов с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе, а 860 детей (41,76%) проживающих в районах с отсутствием крупных промышленных предприятий (Рисунок 8).

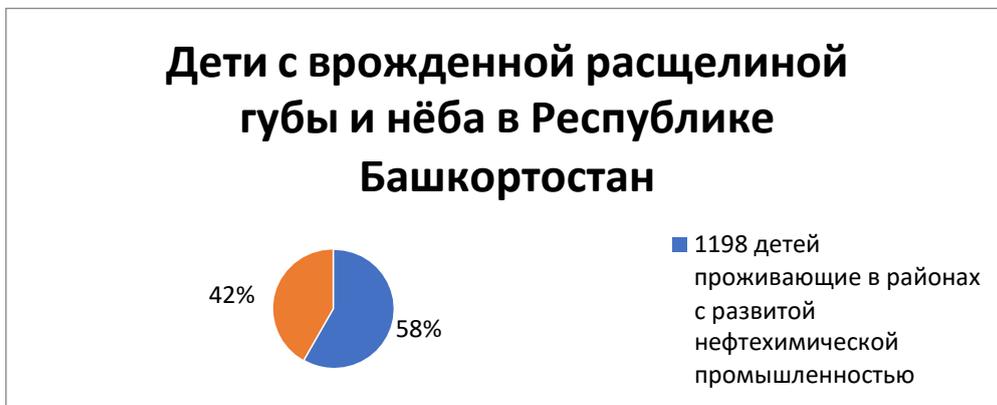


Рисунок 8 – Данные проживающих детей с врожденной расщелиной губы и нёба в Республике Башкортостан.

В районе, где отсутствуют промышленные предприятия заболевания ЛОР-органов были выявлены у 622 детей (72,33%). Частые рецидивы острой респираторной вирусной инфекции встречались у 591 детей (68,71%). Заболеваниями дыхательной системы страдали 305 детей (35,52%). Патология

центральной нервной системы была отмечена у 249 детей (29,02%). Заболевания сердечно-сосудистой системы, в том числе врожденные пороки сердца были диагностированы у 146 детей (17,12%). Заболевания желудочно-кишечного тракта имели 86 ребенка (10,18%). Железодефицитная анемия по анализам крови отмечена у 73 детей (8,43%). Пищевая и лекарственная аллергия встречалась у 68 детей (7,89%). Пороки развития органов зрения были обнаружены у 43 детей (4,95%). Патология мочевыводящей системы, в том числе инфекционного характера была отмечена у 32 детей (3,71%). Гипотрофией, сниженной массой тела обладали 27 детей (3,16%). Сочетанные заболевания различных органов и систем имели 484 детей (56,31%) (Рисунок 9).

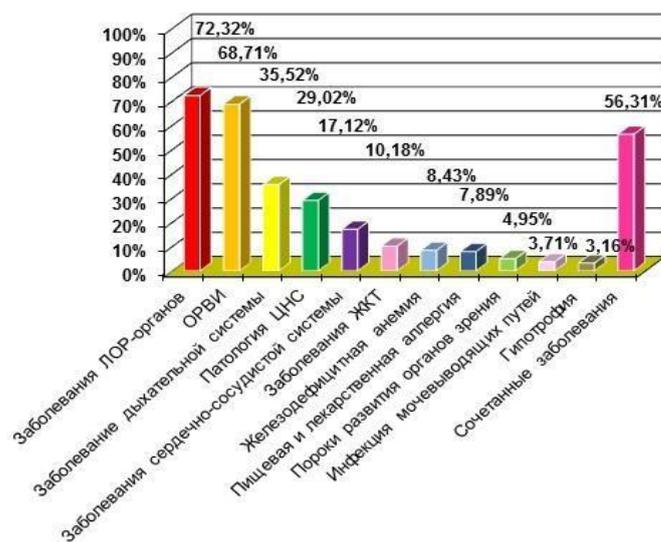


Рисунок 9 – Частота сопутствующих заболеваний у 860 детей с ВРГН, проживающих в районах, где отсутствуют промышленные предприятия по данным мониторинга в период с 1 января 1991 г. по 31 декабря 2021 г.

В регионе с превышением уровня предельно-допустимой концентрации экотоксикантов в атмосферном воздухе в регионе по бензопирену, бензолу, толуолу и другим выбросам нефтехимической промышленности, заболевания ЛОР-органов были выявлены у 952 детей (79,49%). Частые рецидивы острой респираторной вирусной инфекции встречались у 897 детей (74,93%). Заболеваниями дыхательной системы страдали 490 детей (40,91%). Патология

центральной нервной системы была отмечена у 340 детей (28,38%). Заболевания сердечно-сосудистой системы, в том числе врожденные пороки сердца были диагностированы у 202 детей (16,86%). Заболевания желудочно-кишечного тракта имел 167 ребенок (13,94%). Железодефицитная анемия по анализам крови отмечена у 142 детей (11,86%). Пищевая и лекарственная аллергия встречалась у 95 детей (7,91%). Пороки развития органов зрения были обнаружены у 62 детей (5,14%). Патология мочевыводящей системы, в том числе инфекционного характера была отмечена у 42 детей (3,49%). Гипотрофией, сниженной массой тела обладали 36 детей (2,97%). Сочетанные заболевания различных органов и систем имели 722 детей (60,29%) (Рисунок 10).

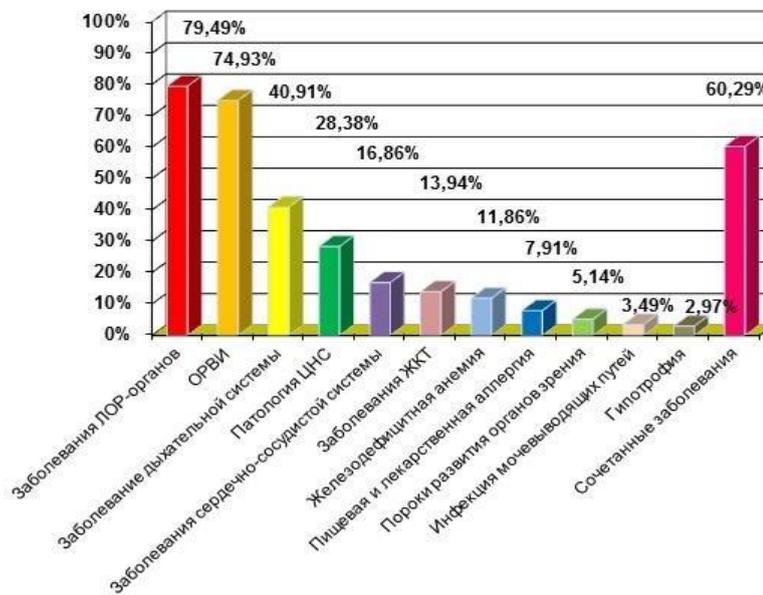


Рисунок 10 – Частота сопутствующих заболеваний у 1198 детей с ВРГН, проживающих в экологически неблагополучных районах по данным мониторинга в период с 1 января 1991 г. по 31 декабря 2021 г.

Клинический анализ состояния сопутствующих соматических заболеваний у детей с ВРГН, рожденных женщинами из регионов с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе показал высокую степень частоты заболеваемости ЛОР-органов, дыхательных путей, а также с другими сопутствующими соматическими заболеваниями.

**ГЛАВА 4 МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ ДЕТОКСИКАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ И ГЕНОВ
БЕЛКОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННОЙ
РАЩЕЛИНОЙ ГУБЫ И НЁБА И У МАТЕРЕЙ ДЕТЕЙ С ВРОЖДЁННОЙ
РАЩЕЛИНОЙ ГУБЫ И НЁБА**

**4.1 Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов *GSTP1*, *GSTT1*,
GSTM1, *MTHFR*, *MTRR*, *MTR* с врождённой расщелиной губы и нёба у детей**

Учитывая, что ВРГН является многофакторным заболеванием, в развитии которого принимает участие как средовые, так и генетические факторы целесообразным представлялся анализ распределения частот генотипов и аллелей генов – кандидатов в группах пациентов и контроля.

На первоначальном этапе был проведен расчет соответствия распределения частот аллелей и генотипов в выборке равновесию Харди-Вайнберга. Полученное при этом значение $p > 0,05$ говорит о выполнении условий данного равновесия и дает возможность интерпретировать результаты, полученные при обследовании данной выборки. Распределение частот полиморфных маркеров генов фолатного цикла и глутатион- S- трансфераз соответствовало ожидаемому по уравнению Харди-Вайнберга в контрольных выборках ($P=0.08$ для *GSTP1*, $P=0.27$ для *MTRR* (*rs1801394*), $P=0.94$ для *MTR* (*rs1805087*), $P=0.50$ для *MTHFR* (*rs1801133*)) среди детской группы и ($P=0.52$ для *GSTP1*, $P=0.18$ для *MTRR* (*rs1801394*), $P=0.34$ для *MTR* (*rs1805087*), $P=0.40$ для *MTHFR* (*rs1801133*)) для взрослого контроля.

Анализ генов глутатион-S-трансфераз

Результат анализа полиморфных вариантов генов *GSTP1 rs1695*, *GSTT1* (делеция), *GSTM1* (делеция) представлен в таблице 6. При сравнении групп детей с ВРГН и контрольной группой статистически значимые различия были установлены для локуса *rs1695* гена *GSTP1* (Рисунок 11). У детей с ВРГН достоверно значимо

было бы увеличена частота генотипа *AG*, так в группе контроля на долю гетерозигот приходилось 43.52%, тогда как среди пациентов 70.0% ($P=0.0053$, показатель отношения шансов $OR=3.34$ (CI 95% 1.54-7.22)). Также было показано увеличение аллеля *G* среди пациентов 40.0% против 26.39% в контроле ($P=0.019$, $OR=1.86$ (CI 95% 1.13-3.05)). Наиболее значимая ассоциация была получена в доминантной модели $OR=3.23$ (CI 95% 1.51-6.93), $P=0.0014$).

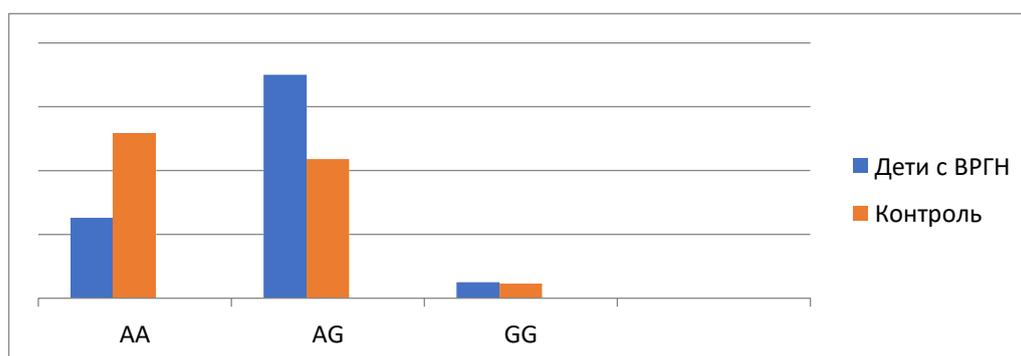


Рисунок 11 – Распространение частот генотипов локуса rs1695 гена *GSTP1*.

Сравнительный анализ распределения частот генотипов и аллелей генов *GSTT1* (делеция) и *GSTM1* (делеция) статистически значимых различий показано не было (Таблица 4).

В таблице 5 представлено сравнение групп детей и контроля с патологией расщелины верхней губы и неба и без таковой. У детей с ВРГН отмечено повышение частоты гомозигот *GG* и аллеля *G* локуса rs1801394 гена *MTRR*, по сравнению с контролем, вместе с тем различия не достигли уровня статистической значимости ($P=0.14$ и $P=0.087$, соответственно. Анализ ассоциаций локуса rs1801394 гена *MTRR* выявил тенденцию к увеличению частоты аллеля *G* в группе детей с ВРГН. Наиболее значимые различия были получены в лог-аддитивной модели OR составил 1.56 (CI 95% 0.99-2.53) ($P=0.055$).

Анализ полиморфного локуса rs1805087 гена *MTR* в группах детей и контроля статистически значимых различий не выявил.

Анализ распределения частот генотипов и аллелей локуса rs1801133 гена *MTHFR* в группах детей и контроля статистически значимых различий выявлено не было. Частоты генотипов в группе больных были сопоставимы с частотами контрольной выборки. Анализ ассоциаций с использованием моделей также статистически значимых различий не выявил (Таблица 4, 5).

Таким образом, установлены различия на уровне тенденции были установлены для локуса rs1801394 гена *MTRR*, rs1805087 гена *MTR*.

Таблица 4 – Анализ распределения частоты генотипов и аллелей полиморфных локусов генов-кандидатов и у детей с ВРГН и здоровых

Ген	Генотип	Контроль дети (N=216), n (%)	Дети с ВРГН (N=100), n (%)	OR (CI95%)	P
Гены фолатного цикла					
<i>MTRR</i> <i>rs1801394</i>	AA	78 36,11	11 27,50	1.00	0.14
	AG	97 44,91	16 40,00	0.81 (0.42-1.62)	
	GG	41 18,98	13 32,50	2.30 (1.1-4.92)	
	A	253 58,56	38 47,50	1.56 (0.97-2.52)	0.087
G	179 41,44	42 52,50			
<i>MTR</i> <i>rs1805087</i>	AA	130 60,19	28 70,00	1.00	0.49
	AG	77 35,65	11 27,50	0.68 (0.32-1.44)	
	GG	9 4,17	1 2,50	0.59 (0.07-4.78)	
	A	337 78,01	67 83,75	0.69 (0.36-1.30)	0.31
G	95 21,99	13 16,25			
<i>MTHFR</i> <i>rs1801133</i>	CC	108 50,00	18 45,00	1.00	0.84
	CT	93 43,06	19 47,50	1.19 (0.60-2.35)	
	TT	15 6,94	3 7,50	1.08 (0.30-3.94)	
	C	309 71,53	55 68,75	1.114 (0.68-1.92)	0.72
T	123 28,47	25 31,25			
Гены глутатион-S-трансфераз					
<i>GSTP1</i> <i>rs1695</i>	AA	112 51,85	10 25,00	1.00	0.0053
	AG	94 43,52	28 70,00	3.34 (1.54-7.22)	
	GG	10 4,63	2 5,00	2.24 (0.43-11.67)	
	A	318 73,61	48 60,00	1.86 (1.13-3.05)	0.019
G	114 26,39	32 40,00			

Продолжение таблицы 4

<i>GSTT1</i> Делеция	n/n del/del	181 83,80 35 16,20	34 85,00 6 15,00	1.00 0.91 (0.36-2.34)	0.85
	n del	362 83,80 70 16,20	68 85,00 12 15,00	0.91 (0.47-1.77)	0.92
<i>GSTM1</i> Делеция	n/n del/del	115 53,24 101 46,76	25 62,50 15 37,50	1.00 0.68 (0.34-1.37)	0.28
	n del	230 53,24 202 46,76	50 62,50 30 37,50	0.68 (0.42-1.12)	0.63

Таблица 5 – Анализ ассоциаций генов –кандидатов у детей с ВРГН

Ген	Генотип	Контроль (N=216) n (%)	Дети с ВРГН (N=100) n (%)	OR (CI95%)	P
Гены фолатного цикла					
<i>MTRR</i> rs1801394	AA AG-GG Dominant	78 (36,1) 138 (63.9)	11 (27.5) 29 (72.5)	1.49 (0.71-3.14)	0.29
	AA-AG GG Recessive	175 81.0 41 19.0	27 (67.5) 13 (32.5)	2.06 (0.99-4.32)	0.07
	Log-additive	-	-	1.56 (0.99-2.53)	0.08
<i>MTR</i> rs1805087	AA AG-GG Dominant	130 (60,2) 86 (39.8)	28 (70) 12 (30)	0.65 (0.31-1.34)	0.23
	AA-AG GG Recessive	207 95.8 9 4,2	39 (97.5) 1 (2.5)	0.59 (0.07-4.78)	0.6
	Log-additive	---	---	0.69 (0.36-1.30)	0.23
<i>MTHFR</i> rs1801133	CC CT-TT Dominant	108 50.0 108 50.0	18 (45%) 22 (55%)	1.22 (0.62-2.40)	0.56
	CC-CT TT Recessive	201 93.0 15 7.0	37 (92.5%) 3 (7.5%)	1.09 (0.30-3.94)	0.90
	Log-additive	---	---	1.14 (0.68-1.97)	0.60
Гены глутатион-S-трансфераз					
<i>GSTP1</i> rs1695	AA AG-GG Dominant	112 (51.9%) 104 (48.1%)	10 (25%) 30 (75%)	1.00 3.23 (1.51-6.93)	0.0014
	AA-AG GG Recessive	206 (95.4%) 10 (4.6%)	38 (95%) 2 (5%)	1.00 1.08 (0.23-5.14)	0.92
	Log-additive			1.86 (1.13-3.05)	0.007
<i>GSTT1</i> Делеция	n/n del/del	181 (83.8%) 35 (16.2%)	34 (85%) 6 (15%)	1.00 0.91 (0.36-2.34)	0.85
<i>GSTM1</i> Делеция	n/n del/del	115 (53.2%) 101 (46.8%)	25 (62.5%) 15 (37.5%)	1.00 0.68 (0.34-1.37)	0.28

4.2 Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов *GSTP1*, *GSTT1*, *GSTM1*, *MTHFR*, *MTRR*, *MTR* у матерей детей с врожденной расщелиной губы и нёба

Учитывая, что при одинаковом воздействии вредных факторов среды на организм беременной женщины не у всех рождаются дети с ВПР. Это можно объяснить с точки зрения наличия генетически детерминированной индивидуальной чувствительностью организма на действие среды. В данной связи актуальным представлялось привести анализ полиморфных вариантов генов фолатного цикла и генов детоксикации ксенобиотиков.

Распределение частот полиморфных маркеров генов фолатного цикла и глутатион- S- трансфераз соответствовало ожидаемому по уравнению Харди-Вайнберга в контрольной взрослой выборке ($P=0.52$ для *GSTP1*, $P=0.18$ для *MTRR* (*rs1801394*), $P=0.34$ для *MTR* (*rs1805087*), $P=0.40$ для *MTHFR* (*rs1801133*)).

Анализ распределения генотипов и аллелей генов ферментов глутатион-S-трансфераз показал, что делеция гена *GSTM1* существенно чаще встречалась в группе матерей детей с ВРГН (60,0%) по сравнению с контрольной группой (36%) ($OR= 2.65$ (CI 95% 1.10-6.41), $P=0.028$) (Рисунок 12).

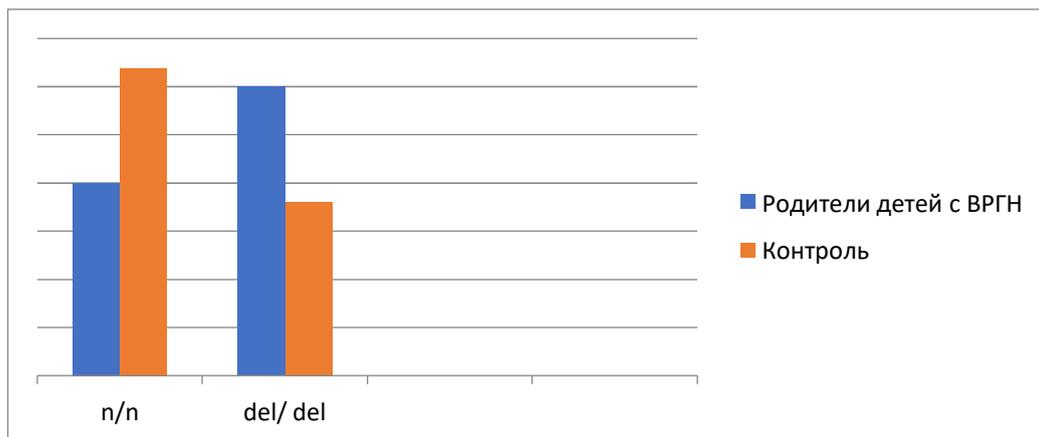


Рисунок 12 – Распространение частоты делеции гена *GSTM1*.

Кроме того, проведенный анализ делеции гена *GSTM1* позволил обнаружить, что частота этого варианта у женщин, имеющих детей с ВРГН, и отягощенных вредными факторами (курение и/или принимавших лечение на фоне сопутствующих заболеваний во время беременности) оказалась существенно выше (81,82%), чем в контрольной группе (36,1%) ($p=0,021$) (Рисунок 11). Нами рассчитан показатель отношения шансов для данного полиморфного варианта *GSTM1*, который составил $OR=5,3$ ($CI_{95\%} 1,4-20,6$). Анализ делеции гена *GSTM1* в зависимости от места проживания матерей, существенных различий не выявил (Таблица 6).

Далее мы провели анализ распределения генотипов и аллелей локуса *rs1695* гена *GSTP1* у матерей, имеющих детей с ВРГН. Было показано на уровне тенденции увеличение частоты гетерозиготного генотипа AG, гомозиготного генотипа GG и аллеля G у матерей (ВРГН) по сравнению с контролем ($P=0.11$), также наблюдалось увеличение числа носителей аллеля G в родительской группе до 30.0% по сравнению с 17.23% в контроле ($OR= 2.05$ ($CI 95\% 1.03-4.11$), $P=0.06$). Статистически значимые различия были получены в аддитивной модели ($OR= 2.21$ ($CI 95\% 1.05-4.67$), $P=0.038$).

Проведенный анализ полиморфизма гена *GSTP1* позволил обнаружить, что частота этого варианта у матерей (ВРГН) и отягощенных вредными факторами (курение и/или принимавших лечение на фоне сопутствующих заболеваний во время беременности) также оказалась в 4,35 раз выше (75,0%), чем в контрольной группе (17,23%) ($p<0,05$). Показатель отношения шансов для данного полиморфного варианта *GSTP1*, который составил $OR=6,1$ ($CI_{95\%} 1,6-24,01$). Анализ полиморфизма гена *GSTP1* в зависимости от места проживания матерей, существенных различий не выявил.

Анализ полиморфизма гена *GSTT1* статистически значимых различий не выявил.

Анализ полиморфных вариантов генов *MTRR* (*rs1801394*), *MTR* (*rs1805087*), *MTHFR* (*rs1801133*) статистически значимых различий не выявил (Таблица 6,7).

Таблица 6 – Анализ распределения частоты генотипов и аллелей полиморфных локусов генов-кандидатов и у родителей и в контроле

Ген	Генотип	Контроль (N=119) n (%)	Родители (N=100) n (%)	OR (CI95%)	P
Гены фолатного цикла					
<i>MTRR</i> rs1801394	AA	43 36,13	3 30,00	1.00	0.38
	AG	51 42,86	3 30,00	0.57 (0.14-2.31)	
	GG	25 21,01	4 40,00	2.51 (0.66-9.57)	
	A	137 57,56	9 45,00	1.66 (0.67-4.10)	0.39
	G	101 42,44	11 55,00		
<i>MTR</i> rs1805087	AA	75 63,03	7 70,00	1.00	0.31
	AG	41 34,45	2 20,00	0.48 (0.1-2.34)	
	GG	3 2,52	1 10,00	4.29 (0.40-45.62)	
	A	191 80,25	16 80,00	1.01 (0.32-3.18)	0.79
	G	47 19,75	4 20,00		
<i>MTHFR</i> rs1801133	CC	69 57,98	5 50,00	1.00	0.44
	CT	40 33,61	5 50,00	1.97 (0.54-7.23) 0.00	
	TT	10 8,40	0	(0.00-NA)	
	C	178 74,79	15 75,00	0.99 (0.34-2.83)	0.81
	T	60 25,21	5 25,00		
Гены глутатион-S-трансфераз					
<i>GSTP1</i> rs1695	AA	80 67,23	12 48,00	1.00	0.11
	AG	37 31,09	11 44,00	1.98 (0.80-4.91) 6.67	
	GG	2 1,68	2 8,00	(0.86-51.88)	
	A	197 82,77	35 70,00	2.05 (1.03-4.11)	0.06
	G	41 17,23	15 30,00		
<i>GSTT1</i> Делеция	n/n	87 (73.1)	21 (84.0)	1.00	0.23
	del/del	32 (26.9)	4 (16.0)	0.52 (0.17-1.62)	
	n	174 (73.0)	42 (84.0)	0.52 (0.23-1.16)	0.15
	del	64 (27.0)	8 (16.0)		
<i>GSTM1</i> Делеция	n/n	76 (63.9%)	10 (40%)	1.00	0.028
	del/del	43 (36.1%)	15 (60%)	2.65 (1.10-6.41)	
	n	152 63,87	20 40,00	2.65 (1.42-4.95)	0.003
	del	86 36,13	30 60,00		

Таблица 7 – Анализ ассоциаций генов –кандидатов у родителей

Ген	Генотип	Контроль (N=119) n (%)	Родители (N=100) n (%)	OR (CI95%)	P
Гены фолатного цикла					
<i>MTRR</i> rs1801394	AA AG-GG Dominant	43 (36.1) 76 (63.9)	3 (30.0) 7 (70.0)	1.32 (0.32-5.37)	0.96
	AA-AG GG Recessive	94 79.0 25 21.0	6 60.0 4 40.0	2.51 (0.66-9.57)	0.32
	Log-additive	-	-	1.66 (0.66-4.15)	0.28
<i>MTR</i> rs1805087	AA AG-GG Dominant	75 (63%) 44 (37%)	7 (70%) 3 (30%)	1.00 0.73 (0.18-2.97)	0.66
	AA-AG GG Recessive	116 (97.5%) 3 (2.5%)	9 (90%) 1 (10%)	1.00 4.30 (0.40-45.62)	0.28
	Log-additive	---	---	1.02 (0.32-3.28)	0.98
<i>MTHFR</i> rs1801133	CC CT-TT Dominant	69 (58%) 50 (42%)	5 (50%) 5 (50%)	1.00 1.38 (0.38-5.02)	0.63
	CC-CT TT Recessive	109 (91.6%) 10 (8.4%)	10 (100%) 0 (0%)	1.00 0.00 (0.00-NA)	0.19
	Log-additive	---	---	0.99 (0.36-2.73)	0.98
Гены глутатион-S-трансфераз					
<i>GSTP1</i> rs1695	AA AG-GG Dominant	80 (67.2%) 39 (32.8%)	12 (48%) 13 (52%)	1.00 2.22 (0.93-5.32)	0.074
	AA-AG GG Recessive	117 (98.3%) 2 (1.7%)	23 (92%) 2 (8%)	1.00 5.09 (0.68-37.98)	0.13
	Log-additive	---	---	2.21 (1.05-4.67)	0.038

4.3 Анализ ген-генных взаимодействий у больных ВРГН

Для выявления комбинаций полиморфных локусов, ассоциированных с риском развития ВРГН использовали метод – Multifactor Dimensionality Reduction (MDR). В своем исследовании мы применяли алгоритм всестороннего поиска (Exhaustive search algorithm), оценивающий все возможные комбинации полиморфных локусов генов глутатион -S –трансфераз, включенных в анализ. Статистически значимые модели межгенных взаимодействий приведены в таблице 8, 9 и рисунках 13, 14.

Таблица 8 – Значимые модели межгенных взаимодействий

Ген	Хромосома	RefSNP	Замена	Эффект
Гены фолатного цикла				
<i>MTRR</i>	5	rs1801394	c.66A>G	p.Ile22Met
<i>MTR</i>	1	rs1805087	2756A>G	Asp919Gly
<i>MTHFR</i>	1	rs1801133	677 C/T	Ala222Val
Гены глутатион-S-трансфераз				
<i>GSTP1</i>	11	rs1695	c.313A>G	Ile > Val
<i>GSTT1</i>	22	Делеция	del	54 kb whole gene deletion
<i>GSTM1</i>	1	Делеция	del	gene deletion

Таблица 9 – Значимые модели межгенных взаимодействий полиморфных локусов генов глутатион -S -трансфераз с риском развития ВРГН

Модель генно-средовых взаимодействий	OR (95%CI)	Test Bal. Acc.	Sign Test (P)	CVC
<i>GSTM1</i> (del), <i>GSTT1</i> (del), <i>GSTP1</i> (rs1695)	4,9 (1,9-12,6)	0,64	0,003	10/10
<i>GSTT1</i> (del), <i>GSTP1</i> (rs1695)	4,5 (1,-11,7)	0,62	0,007	10/10

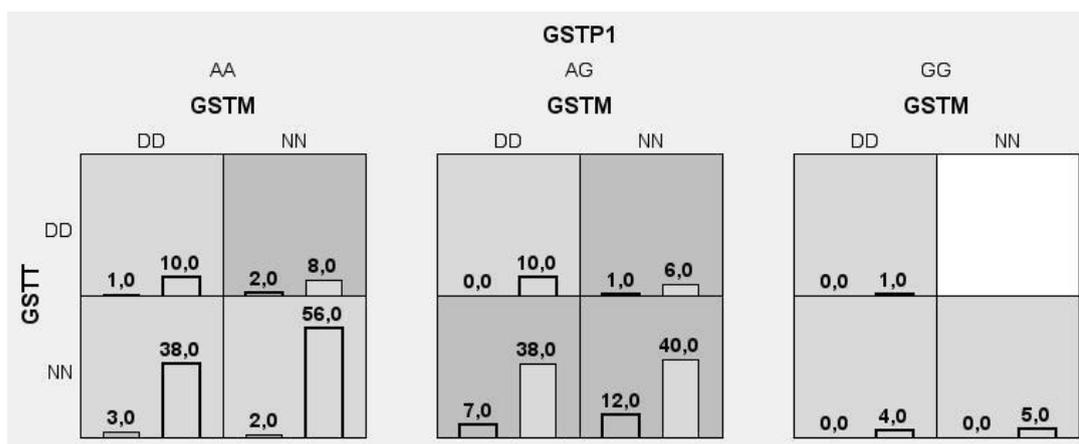


Рисунок 13 – Диаграмма взаимодействий полиморфных локусов генов глутатион-S- трансфераз с риском развития ВРГН.

Примечание: темно-серые ячейки – сочетания генотипов повышенного риска, светло-серые – сочетания генотипов сниженного риска, белые - комбинации генотипов отсутствуют (И.В. Пономаренко, 2019).

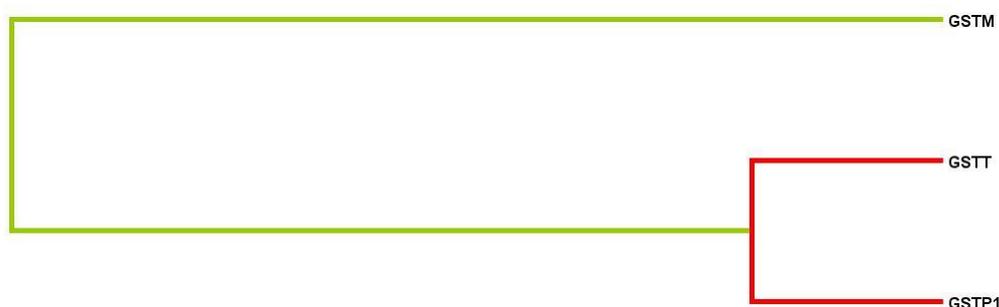


Рисунок 14 – Дендрограмма ген-генных взаимодействий развития ВРГН у детей.

Примечание: На дендрограммах короткие линии указывают на наличие сильного взаимодействия между локусами исследованных генов; длинные линии указывают на слабую межгенную связь; красный и оранжевый цвета свидетельствуют о синергизме или взаимном усилении взаимодействий между маркерами генов (красный - выраженный синергизм, оранжевый - умеренный синергизм); синим и зеленым - дублирование взаимодействий между локусами.

Наиболее значимой моделью межгенных взаимодействий, связанной с риском развития ВРГН у детей является модель взаимодействия генов *GSTM1* (del), *GSTT1* (del), *GSTP1* (rs1695). Анализ показал взаимное усиление эффектов (синергизм) между локусами *GSTT1* (del), *GSTP1* (rs1695), тогда как полиморфный локус гена *GSTM1* (del) дублирует действия генов *GSTT1* (del), *GSTP1* (rs1695) (Рисунок 15).

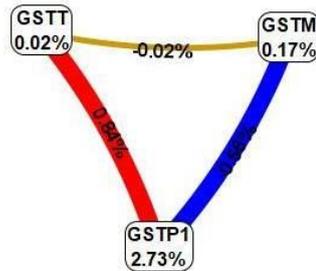


Рисунок 15 – Дендрограмма межгенных взаимодействий генов глутатион S трансфераз при формировании ВРГН.

Показано, что наибольший вклад в развитие ВРГН выявлен для локуса *GSTP1* (del) (Н (энтропия) =2,73%).

Вторая модель ген-генных взаимодействий при формировании ВРГН включала локусы *MTRR* (rs1801394), *MTR* (rs1805087), *MTFHR* (rs1801133). Описание модели представлено в таблице 10.

Таблица 10 – Наиболее значимые модели ген-генных взаимодействий полиморфных локусов генов фолатного цикла с риском развития ВРГН

Модель межгенных взаимодействий	OR (95%CI)	Test Bal. Acc.	Sign Test (P)	CVC
<i>MTRR</i> (rs1801394), <i>MTFHR</i> (rs1801133)	2,4 (1,02-5,7)	0,42	0,04	6/10
<i>MTRR</i> (rs1801394), <i>MTR</i> (rs1805087), <i>MTFHR</i> (rs1801133)	3,9 (1,7-9,2)	0,48	0,007	10/10

Как видно из рисунка 16 между локусами генов *MTR* (rs1805087), *MTFHR* (rs1801133) наблюдается синергизм, тогда как локус гена *MTRR* (rs1801394) оказывает независимое влияние (Рисунок 15). В данной модели наибольший вклад в развитие заболевания определен для локуса *MTRR* (rs1801394) ($H=1,06\%$) (рисунок 16).

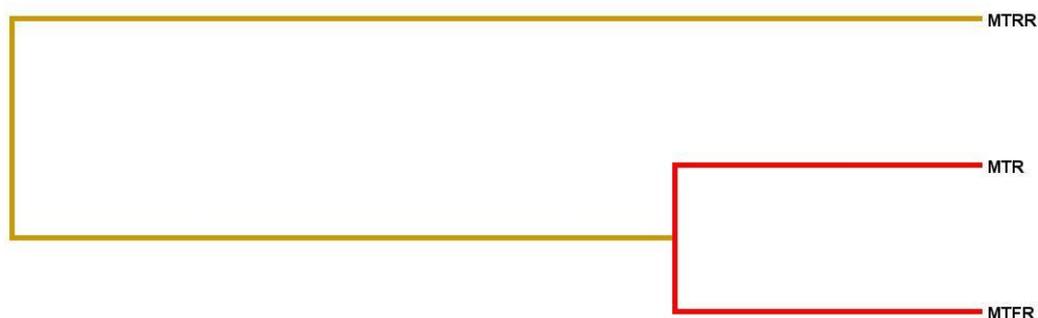


Рисунок 16 – Дендрограмма ген-генных взаимодействий развития ВРГН.

Примечание: На дендрограммах короткие линии указывают на наличие сильного взаимодействия между локусами генов; длинные линии указывают на слабую межгенную связь; красный и оранжевый цвета свидетельствуют о синергизме взаимном усилении взаимодействий между локусами генов (красный - выраженный синергизм, оранжевый - умеренный синергизм); синим и зеленым - дублирование взаимодействий между локусами (Рисунок 17).

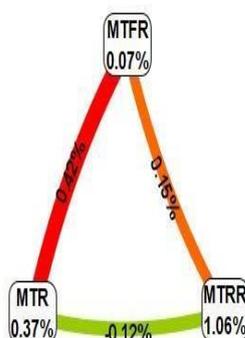


Рисунок 17 – Дендрограмма межгенных взаимодействий генов фолатного цикла при формировании ВРГН.

Сущность молекулярно-генетического исследования поясняется следующими клиническими примерами.

Пример 1. Пациентка И., 29 лет, имеет наследственную отягощенность по ВРГН (в анамнезе ВРГН у сестры). Обратилась по вопросу определения генетического риска развития будущего ребенка. У матери было взято 4 мл венозной крови с последующим выделением ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции и амплификацией фрагментов генов GSTP1 и GSTM1 в реакционной смеси.

Было осуществлено расщепление полученного амплификата локуса rs1695 гена GSTP1 с добавлением фермента BsoMAI. Получен гетерозиготный генотип AG, определяющий повышенный риск ВРГН.

При исследовании полиморфного локуса GSTM1 был выявлен генотип del/del, при котором показатель соотношения шансов развития ВРГН составляет 2.65. Вывод: учитывая повышенный генетический риск ВРГН у ребёнка матери, родителям были предложены превентивные мероприятия: прием фолиевой кислоты и поливитамины, отказ от вредных привычек. Данные рекомендации не были выполнены в полном объеме, дочь пациентки родилась с ВРГН.

Пример 2. Пациентка Я., 35 лет, имеющая факторы риска ВРГН - работа во вредных условиях труда. Было предложено проведение молекулярно-генетического исследования для определения риска развития ВРГН при следующих беременностях. У пациентки Я. было взято 4 мл венозной крови с последующим выделением ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции и амплификацией фрагментов генов GSTP1 и GSTM1 в реакционной смеси. При исследовании полиморфного локуса rs1695 гена GSTP1 был выявлен генотип пониженного риска AA (показатель соотношения шансов развития ВРГН составляет 0,45), а при исследовании полиморфного локуса гена GSTM1 был выявлен генотип NN. Прогноз в отношении развития ВРГН благоприятный. В дальнейшем пациентка к врачу не обращалась.

Пример 3. Пациентка А. имеет первого ребенка с ВРГН, причем пациентка работает во вредных условиях труда нефтехимического производства. Обратилась по вопросу определения генетического риска развития будущего ребенка. У матери было взято 4 мл венозной крови с последующим выделением ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции и амплификацией фрагментов генов GSTP1 и GSTM1 в реакционной смеси. Было осуществлено расщепление полученного амплификата локуса rs1695 гена GSTP1 с добавлением фермента BsoMAI. Получен гомозиготный GG генотип, определяющий высокий риск ВРГН.

При исследовании полиморфного локуса GSTM1 был выявлен генотип del/del.

Вывод: учитывая высокий генетический риск ВРГН у ребенка матери, родителям были предложены превентивные мероприятия: прием фолиевой кислоты и поливитамины, отказ от вредных привычек и отказ от работы на вредном производстве. Данные рекомендации не были выполнены в полном объеме, ребёнок пациентки родился с ВРГН.

ГЛАВА 5 РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ДИАГНОСТИКИ И ПРОФИЛАКТИКИ ВРОЖДЕННОЙ РАСЩЕЛИНЫ ГУБЫ И НЁБА В РЕГИОНЕ С ЭКОТОКСИКАНТАМИ НА ЭТАПЕ ПЛАНИРОВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ В УСЛОВИЯХ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ЦЕНТРА

I этап (диагностический) - обследование беременных группы риска:

- Изучение анамнеза (место рождения, место жительства, наследственная отягощенность, сопутствующие соматические заболевания матери, вредные привычки)
- Консультация смежных специалистов (генетика, токсиколога)
- По показаниям - исследование крови у женщин;
- Молекулярно-генетическое исследование – ДНК-анализ полиморфных вариантов генов (GSTP1, GSTM1) с целью выявления генетических маркеров риска и прогнозирования вероятности развития ВРГН
- УЗИ-диагностика с 22 недели в специализированных центрах

II этап (профилактический):

- Проведение беседы с женщинами о результатах исследования и необходимости принятия мер по профилактике ВРГН
- Смена места жительства
- Детоксикационная терапия

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По данным литературы врождённая расщелина губы и нёба (ВРГН) составляет 11-29% от всех пороков развития человека и 87 - 89% от аномалий ЧЛЮ (Гончаков Г. В., 2017; Alzain I., 2017; Smarius B., Loozen C., Manten W., 2018).

Актуальным вопросом выяснения этиологии врождённой расщелины губы и нёба (ВРГН) является изучение влияния в регионе превышения предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе (экотоксикантов) на причину возникновения пороков развития челюстно-лицевой области. Известна роль ряда экотоксикантов, вносящих вклад в этиологию ВРГН, в частности, загрязнений среды обитания ароматическими углеводородами, сероводородами, пестицидами, тяжёлыми металлами и т.д., которые могут долгое время накапливаться в организме человека, создавая неблагоприятный эндогенный фон. В настоящее время недостаточно изучена взаимосвязь между риском развития врождённой расщелиной губы и нёба и превышением уровня предельно-допустимой концентрации в атмосферном воздухе по бензопирену, бензолу, толуолу и другими выбросами нефтехимической промышленности, относящимся к эмбриотоксическим веществам первого класса опасности в совокупности с генетической предрасположенностью. Участие в процессе метаболизма экотоксикантов (возможных тератогенов) ферментов детоксикации ксенобиотиков и белков фолатного цикла указывает на целесообразность поиска генетических маркеров, контролирующих синтез этих ферментов, в комплексном прогнозировании ВРГН в регионе с экотоксикантами на этапе планирования беременности.

Целью исследования являлось поиск генетических маркеров прогнозирования рождения детей с врождённой расщелины губы и нёба на этапе планировании беременности в регионе с экотоксикантами на основе изучения полиморфизма генов ферментов детоксикации ксенобиотиков и белков фолатного цикла.

В соответствии с вышеуказанной целью были сформулированы конкретные задачи: Провести ретроспективный анализ влияния уровня предельно-допустимой концентрации экотоксикантов в атмосферном воздухе в регионе по бензопирену, бензолу, толуолу и другим выбросам нефтехимической промышленности; Изучить распространённость и оценить клинико-анатомические формы у детей с врождённой расщелиной губы и нёба, рожденных женщинами из регионов с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе, провести анализ ассоциации полиморфных вариантов ферментов системы детоксикации ксенобиотиков и фолиевой кислоты (MTHFR, MTRR, MTR, GSTP1, GSTT1, GSTM1) у детей с ВРГН и их матерей; изучить эффективность генетических маркеров в комплексном прогнозировании риска врождённой расщелины губы и нёба в регионе с экотоксикантами.

Представленная работа имеет новизну:

- Впервые на основе проведенного молекулярно-генетического анализа ассоциации генов ферментов детоксикации ксенобиотиков GSTM, GSTP и GSTT и полиморфных локусов белков фолатного цикла MTHFR, MTR, MTRR у детей с ВРГН и их матерей выявлены генетические маркеры ВРГН
- Разработан способ прогнозирования врождённой расщелины губы и нёба у ребёнка при планировании беременности в регионе с экотоксикантами с применением генетических маркеров.
- В процессе выполнения работы проведено стоматологическое обследование 1198 детей в возрасте от 1 года до 18 лет включительно с ВРГН, рожденных женщинами из регионов с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе. В контрольную группу вошли 860 детей с ВРГН, проживающих в районах с отсутствием крупных промышленных предприятий.

С учётом поставленной цели и задач исследования была проанализирована частота рождения детей с ВРГН и сопутствующие соматические заболевания у

детей с врождённой расщелиной губы и нёба, рожденных женщинами из регионов с превышением предельно-допустимой концентрации веществ нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе. В работе представлены данные медицинской документации 2058 детей в возрасте от 1 года до 18 лет включительно с ВРГН, из них 1198 детей проживающие в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе, а 860 детей из районов с отсутствием крупных промышленных предприятий.

Генетический анализ проведен у 100 детей с ВРГН в возрасте от 1 года до 18 лет, и контрольная группа 216 человек, проживающие в Республике Башкортостан. Также была обследована группа родителей детей с ВРГН в количестве 100 человек, и группа сравнения 119 человек, не имеющие данной патологии. Исследование проводилось на базе: ГБУЗ «Республиканская детская клиническая больница» МЗ РБ; ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, кафедра биологии; Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физики молекул и кристаллов Уфимского научного центра Российской академии наук (ИФМК УНЦ РАН). Разработанный способ прогнозирования риска рождения ребёнка с врождённой расщелины губы и нёба на этапе планирования беременности в регионе с экотоксикантами с применением генетических маркеров позволяет повысить эффективность прогнозирования при обследовании в условиях медико-генетического центра и может быть рекомендован для использования у женщин в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе.

ВЫВОДЫ

1. В результате исследования, выявлен процент тяжелых форм ВРГН выше (77,7%) в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе, чем в регионе с отсутствием промышленных предприятий (68,7%). В результате исследования отмечена, что у женщин, проживающих в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе отмечается высокая частота рождения детей с тяжелыми клинико-анатомическими формами врожденной расщелины губы и нёба.

2. Клинический анализ состояния сопутствующих соматических заболеваний у детей с ВРГН, рожденных женщинами из регионов с превышением предельно-допустимой концентрации веществ нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе показал высокую степень частоты заболеваемости ЛОР-органов, дыхательных путей, острыми респираторными вирусными инфекциями. Установлено, что частота рождения детей с ВРГН, рожденных женщинами из регионов с превышением предельно-допустимой концентрации веществ нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе составила 58,24%, что существенно выше, чем в районах без промышленных предприятий – 41,76% ($\chi^2=0,01$; $p<0,05$).

3. В результате исследования, отмечена взаимосвязь между превышением в регионе уровня предельно-допустимой концентрации веществ нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе на частоту рождения детей с врожденной расщелиной губы и нёба.

4. Выявлено статистически значимое повышение частоты делеции гена GSTM1 у матерей детей с врожденной расщелиной губы и нёба, (60,00%) по сравнению с группой контрольной группой (36,10%). Установлено, что у матерей,отягощенных вредными факторами, и имеющих детей с ВРГН, частота делеции

гена GSTM1 (81,82%) и гетерозиготного генотипа AG гена GSTP1 (75,0%) оказалась существенно выше, чем в контрольной группе (36,1% и 17,23%, соответственно) ($p < 0,05$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Необходимо решать вопросы по оздоровлению окружающей среды в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации экотоксикантов в атмосферном воздухе по бензопирену, бензолу, толуолу и другим выбросам нефтехимической промышленности, относящимся к эмбриотоксическим веществам первого класса опасности: о закрытии или переносу за пределы жилой зоны экологически вредных производств, переходу на безотходные технологии, установлении современных фильтров и очистных сооружений, оздоровлении населения в регионе с экотоксикантами.

2. Для практического здравоохранения целесообразно применять способ прогнозирования риска рождения ребенка с врожденной расщелины губы и нёба на этапе планирования беременности в регионе с экотоксикантами с применением генетических маркеров генов ферментов детоксикации ксенобиотиков, что позволяет повысить эффективность прогнозирования при обследовании в условиях медико-генетического центра и может быть рекомендован для использования у женщин в регионе с превышением предельно-допустимой концентрации выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе. Высокий риск рождения ребёнка с врождённой расщелиной губы и нёба можно прогнозировать при выявлении у беременной, отягощенной вредными факторами (курение и/или принимавших лечение во время беременности), делеции гена GSTM1 и гетерозиготного генотипа AG гена GSTP1.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВПР – врождённые пороки развития

ВРГН – врождённая расщелина верхней губы и нёба

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

НХП – нефтехимическая промышленность

ОРВИ – острая респираторно-вирусная инфекция

ОРЗ – острая респираторная инфекция

ПДРФ – полиморфизм длины рестрикционных фрагментов

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ССС – сердечно-сосудистая система

ФБК – ферменты биотрансформации ксенобиотиков

ЧЛО – челюстно-лицевая область

GSTM1 – глутатион-S-трансфераза M1

GSTP1 – глутатион-S-трансфераза P1

GSTT1 – глутатион-S-трансфераза T1

N – объем выборки

χ^2 – критерий Фишера

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акатьева, Г.Г. Стоматологическое просвещение родителей детей с врожденной расщелиной губы и неба по профилактике стоматологических заболеваний / Г.Г. Акатьева, Э.А. Гринь, К.Н. Кучук // Исследования в сфере естествознания и технических наук: экспериментальный и теоретический поиск : сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции, Белгород, 27 сентября 2019 года / Агентство перспективных научных исследований (АПНИ). – Белгород: Агентство перспективных научных исследований, 2019. – С. 4-6.
2. Алгоритм обследования пациентов с деформацией назолабиального комплекса после устранения врожденной двусторонней расщелины губы и неба / Т.З. Чкадуа, Л.В. Агеева, В.А. Павлович, В.М. Якубов // Российская стоматология. – 2019. – Т. 12, № 1. – С. 14-22.
3. Алгоритм реабилитации детей с врожденной расщелиной губы и неба / О.С. Чуйкин, Н.Н. Джумартов, А.Г. Билак [и др.] // Материалы тринадцатого сибирского конгресса: "Стоматология и челюстно-лицевая хирургия с международным участием"; Всероссийского симпозиума: "Новые технологии в стоматологии", Новосибирск, 10–12 октября 2018 года. – Новосибирск: Новосибирский государственный медицинский университет, 2018. – С. 245-248.
4. Александрова, Л.И. Комплексная оценка результатов ранней предоперационной ортопедической терапии с учетом динамических стоматологических показателей качества жизни детей с врожденной расщелиной губы и неба: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Александрова Лариса Игоревна. – Пермь, 2018. – 24 с.
5. Анализ деятельности центра лечения детей с врожденной патологией челюстно-лицевой области в Краснодарском крае за 2012 - 2014 годы / Е.О. Любомирская [и др.] // Врожденная и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения : материалы V

- Всероссийской научно-практической конференции, Москва, 24–25 ноября 2016 года / Гл. ред. О.З. Топольницкий. – Москва: Московский государственный медико-стоматологический университет, 2016. – С. 182-184.
6. Баландина, Е.А. Факторы риска рождения детей с расщелиной верхней губы и неба в Пермском крае / Е.А. Баландина // Логопед. – 2010. – № 4. – С. 6-11.
 7. Баранов, В.С. Генетический паспорт вчера, сегодня и завтра / В.С. Баранов, Е.В. Баранова // Вестник Росздравнадзора. – 2018. – № 2. – С. 22-29.
 8. Беляков, Ю.А. Наследственные болезни и синдромы в стоматологической практике : руководство для врачей / Ю.А. Беляков ; под ред. акад. Н.П. Бочкова. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : Медицина, 2008. – 237 с.
 9. Бессонов, С.Н. Устранение деформации средней зоны лица у пациентов с врожденной расщелиной верхней губы и неба / С.Н. Бессонов, А.О. Мельник // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. – 2020. – Т. 10, № 5. – С. 32.
 10. Билле, Д.С. Анализ современных аспектов этиологических факторов возникновения расщелины губы и неба и их взаимосвязь с частотой данной патологии в различных странах / Д.С. Билле, А.А. Мамедов, О.В. Дудник // Applied science of today: problems and new approaches : сборник статей IV Международной научно-практической конференции. – Петрозаводск: Новая Наука, 2020. – С. 29-34.
 11. Блиндер, Ж.А. Междисциплинарный подход к лечению детей с двусторонней расщелиной губы и неба: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Блиндер Жанна Аркадьевна. – Москва, 2017. – 23 с.
 12. Блохина, С.И. Особенности хирургического лечения ассиметричных расщелин верхней губы и неба / С.И. Блохина, Ю.С. Рогожина, Е.С. Бимбас // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2021. – Т. 21, № 1 (77). – С. 23-31.
 13. Блохина, С.И. Центр Бонум: от истоков до наших дней / С.И. Блохина, Е.С. Набойченко // Системная интеграция в здравоохранении. – 2022. – № 3 (56). – С. 101-107.

14. Виссарионов, В.А. Комплексный подход к организации медико-педагогической помощи детям с врожденной челюстно-лицевой патологией в современных условиях / В.А. Виссарионов, М.Ш. Мустафаев // *Метаморфозы*. – 2016. – № 14. – С. 70-74.
15. Виссарионов, В.А. Реконструктивная хейлоринопластика в системе мероприятий по медицинской реабилитации больных с врожденными расщелинами верхней губы: дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.21 / Виссарионов Владимир Алексеевич. – М., 1988. – 308 с.
16. Влияние пренатальной диагностики и селективных прерываний беременности на частоту врожденных пороков развития / Н.С. Демикова, М.А. Подольная, А.С. Лапина, А.Ю. Асанов // *Акушерство и гинекология*. – 2017. – № 7. – С. 130-135.
17. Влияние эколого-генетических факторов на формирование врожденных расщелин губы и неба в Краснодарском крае / И.Г. Удина, В.С. Учаева, Ю.А. Васильев [и др.] // VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы : сборник тезисов Международного Конгресса, Санкт-Петербург, 18–22 июня 2019 года. – Санкт-Петербург: Издательство ВВМ, 2019. – С. 785.
18. Водолацкий, М.П. Сопутствующие врожденные пороки развития у детей с расщелиной верхней губы и неба: случайность или закономерность / М.П. Водолацкий, В.М. Водолацкий // *Врожденная и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения : материалы IV Всероссийской научно-практической конференции, Москва, 24–26 октября 2012 года*. – Москва: Московский государственный медико-стоматологический университет, 2012. – С. 17-21.
19. Врожденная расщелина верхней губы и неба: учебное пособие / А.С. Серегин, Г.Н. Беланов, Н.В. Ногина [и др.]. – Самара: Слово, 2020. – 152 с.

20. Гвоздева, Л.М. Оценка прогностических факторов, влияющих на качество жизни детей с врожденной расщелиной губы и неба / Л.М. Гвоздева, М.А. Данилова, Л.И. Александрова // *Стоматология*. – 2020. – Т. 99, № 3. – С. 57-59.
21. Генетические предикторы развития врожденных расщелин губы и неба в якутской популяции / Н.И. Павлова, Х.А. Куртанов, А.Т. Дьяконова [и др.] // *Естественные и технические науки*. – 2020. – № 7 (145). – С. 46-53.
22. Гончаков, Г.В. Врожденные расщелины неба: сравнительная оценка результатов хирургического лечения / Г.В. Гончаков, С.Г. Гончакова, А.В. Вологжанина // *Кремлевская медицина. Клинический вестник*. – 2017. – № 4-1. – С. 40-44.
23. Гончакова, С.Г. Врожденные расщелины альвеолярного отростка верхней челюсти: тактика хирургического лечения / С.Г. Гончакова, Г.В. Гончаков, Д.Г. Гончаков // *Кремлевская медицина. Клинический вестник*. – 2017. – № 4-1. – С. 45-49.
24. Государственный доклад о состоянии окружающей природной среды Республики Башкортостан в 2015 году. – Уфа, 2016 – 310 с.
25. Государственный доклад о состоянии окружающей природной среды Республики Башкортостан в 2016 году. – Уфа, 2017. – 316 с.
26. Государственный доклад о состоянии окружающей природной среды Республики Башкортостан в 2017 году. – Уфа, 2018. – 330 с.
27. Государственный доклад о состоянии окружающей природной среды Республики Башкортостан в 2018 году. – Уфа, 2019. – 276 с.
28. Государственный доклад о состоянии окружающей природной среды Республики Башкортостан в 2019 году. – Уфа, 2020. – 286 с.
29. Губина, Л.К. Анализ влияния экзогенных и эндогенных факторов на частоту врожденных расщелин губы и неба по архивным данным города Воронежа / Л.К. Губина, О.П. Красникова // Юбилейный сборник работ, посвященный 60-летию кафедр госпитальной хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии и госпитальной терапевтической стоматологии : сборник научных трудов / Московский медицинский стоматологический институт. – Москва :

- Издательский отдел Московского медицинского стоматологического института, 1998. – С. 193-195.
30. Губина, Л.К. Эпидемиология, биометрический анализ послеоперационных деформаций верхней челюсти, внедрение двухэтапной методики хейлопластики при врожденных расщелинах губы и неба / Л.К. Губина, О.П. Красникова, М.Э. Коваленко // Врожденная и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения. – Москва: МГМСУ, 2002. – С.66-70.
31. Давлетшин, Н.А. Особенности структуры клинико-анатомических форм врожденной расщелины верхней губы и неба у детей, проживающих в Республике Башкортостан / Н.А. Давлетшин, А.Г. Билак, Е.Г. Егорова // Материалы тринадцатого сибирского конгресса: "Стоматология и челюстно-лицевая хирургия с международным участием"; Всероссийского симпозиума: "Новые технологии в стоматологии", Новосибирск, 10–12 октября 2018 года. – Новосибирск: Новосибирский государственный медицинский университет, 2018. – С. 106-110.
32. Давыдов, Б.Н. Антропометрические особенности челюстно-лицевой области у детей с врожденной патологией в периоде прикуса молочных зубов / Б.Н. Давыдов, Д.А. Доменюк, С.В. Дмитриенко // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2018. – Т. 17, № 2 (65). – С. 5-12.
33. Данилова, М.А. Сорокалетний опыт комплексного лечения и реабилитации детей с врожденной патологией челюстно-лицевой области в стоматологической поликлинике ПГМУ / М.А. Данилова, О.В. Поздеева, Л.И. Александрова // Актуальные вопросы педиатрии : материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием, Пермь, 08 апреля 2017 года. – Пермь: Книжный формат, 2017. – С. 55-58.
34. Диагностика и лечение детей с врожденной двусторонней полной расщелиной губы и неба в периоде прикуса временных зубов / И.В. Фоменко, И.Е. Тимаков, Д.И. Фурсик [и др.]. – Волгоград: Изд-во ВолгГМУ, 2019. – 46 с.

35. Дудник, О.В. Проведение ортодонтического лечения детям с расщелиной губы и нёба в период постоянного прикуса / О.В. Дудник, А.А. Мамедов, А.В. Зубков // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2020. – Т. 22, № 5. – С. 39-43.
36. Замураева, А.У. Мультидисциплинарный подход к лечению и реабилитации детей с врожденной расщелиной губы и неба / А.У. Замураева, А.Б. Кульмурзаева, Б.Д. Кенжин // International Scientific and Practical Conference World science. – 2018. – Т. 3, № 2 (30). – С. 11-13.
37. Зангиева, О.Т. Ортодонтико-хирургическое лечение детей с двусторонней расщелиной губы и нёба: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Зангиева Ольга Таймуразовна. – М., 2019. – 133 с.
38. Иванова, М.Д. Деформация носа у взрослых пациентов с односторонней расщелиной губы и неба: эстетическая и функциональная реабилитация: автореф. дис. ...канд. мед. наук: 14.01.14 / Иванова Мария Дмитриевна. – Москва, 2016. – 25 с.
39. Игнатьева, О.В. Врожденные расщелины верхней губы и неба у детей в Чувашской республике и оптимизация их лечения. / О.В. Игнатьева, М.В. Краснов, А.В. Анохина // Acta Medica Eurasica. – 2015. – № 3. – С. 16-22.
40. Изучение врождённой патологии челюстно-лицевой области у детей крупного региона РФ с учетом пространственно-временной динамики и факторов загрязнения окружающей среды / Ю.А. Васильев, В.С. Учаева, А.С. Грачева [и др.] // Новые технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии : материалы Международной конференции NT + M&Eс`2019. Весенняя сессия, Гурзуф, 01–11 июня 2019 года. – Гурзуф: Институт новых информационных технологий, 2019. – С. 128-132.
41. Инояттов, А.Ш. Клиническая характеристика детей с врожденными пороками челюстно-лицевой области / А.Ш. Инояттов, И.И. Мукимов, С.У. Гафарова // Вестник Совета молодых учёных и специалистов Челябинской области. – 2016. – Т. 1, № 2 (13). – С. 11-14.
42. Исаков, Л.О. Врожденные аномалии челюстно-лицевой области в республике Саха (Якутия) / Л.О. Исаков, И.Д. Ушницкий, Р.П. Егоров // Актуальные

- проблемы и перспективы развития стоматологии в условиях Севера : сборник статей межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 95-летию стоматологической службы Республики Саха (Якутия), Якутск, 15 июня 2015 года / под ред. И.Д. Ушницкого. – Якутск: Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, 2015. – С. 252-256.
43. Карницкий, А.В. Влияние эндогенных факторов, месяца зачатия, рациона питания, перенесенных заболеваний и курения на рождение детей с врожденными расщелинами верхней губы и неба в городе Омске / А.В. Карницкий, Г.И. Скрипкина, Ю.Г. Романова // Стоматология вчера, сегодня, завтра : сборник научных трудов юбилейной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 60-летию стоматологического факультета, Минск, 02–03 апреля 2020 года / под ред. Т.Н. Тереховой. – Минск: Белорусский государственный медицинский университет, 2020. – С. 206-210.
44. Карницкий, А.В. Патогенные факторы, влияющие на рождение детей с врожденными расщелинами верхней губы и неба в крупном индустриальном центре / А.В. Карницкий, Г.И. Скрипкина // Здоровье, демография, экология финно-угорских народов. – 2020. – № 3. – С. 21-23.
45. Касимовская, Н.А. Врожденная расщелина губы и неба у детей: распространенность в России и мире, группы факторов риска / Н.А. Касимовская, Е.А. Шатова // Вопросы современной педиатрии. – 2020. – Т. 19, № 2. – С.142-145.
46. Клинико-анатомические формы врожденной расщелины верхней губы и неба / С. В. Чуйкин, А. Г. Билак, Н. А. Давлетшин, Н. Н. Джумартов // Уральский медицинский журнал. – 2014. – № 5 (119). – С. 85-87.
47. Клинико-рентгенологические особенности зубочелюстно-лицевой системы у больных с врожденной расщелиной верхней губы и неба / И.В. Фоменко, Е.В. Филимонова, Н.С. Краевская, И.Е. Тимаков // 21 век: фундаментальная наука и технологии : материалы XI международной научно-практической

- конференции, North Charleston, 23–24 января 2017 года. – North Charleston: CreateSpace, 2017. – С. 25-29.
48. Коледаева, Е.В. Встречаемость врожденных расщелин верхней губы и неба у новорожденных в Кировской области / Е.В. Коледаева, К.А. Сайдяков, Е.М. Мельков // Наука молодых - будущее России : сборник статей III Всероссийской научно-практической конференции, Пенза, 20 июня 2022 года. – Пенза: Наука и Просвещение, 2022. – С. 181-185.
49. Кулаков, А.А. Челюстно-лицевая хирургия / под ред. А.А. Кулакова. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 692 с.
50. Кучук, К.Н. Оценка состояния полости рта у детей с врожденной расщелиной верхней губы и неба в регионе с неблагоприятными экологическими факторами / К.Н. Кучук, Э.А. Гринь // Молодая наука - практическому здравоохранению : материалы 92-й итоговой научно-практической конференции студентов, ординаторов, аспирантов, молодых ученых (до 35 лет) ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера, Пермь, 15–16 апреля 2019 года / Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера. – Пермь, 2019. – С. 247-249.
51. Мамедов, А.А. Междисциплинарный подход лечения детей с расщелиной губы и неба, осложненной небо-глочной недостаточностью / А.А. Мамедов, О.В. Дудник, Е.А. Завгородная // Знание. – 2019. – № 4-1 (68). – С. 50-59.
52. Мамедов, А.А. Пренатальная диагностика и ее значение в комплексном лечении детей с расщелиной губы и неба в периоде новорожденности / А.А. Мамедов, А.Б. Макленнан // Dental Magazine. – 2017. – № 7 (163). – С. 28-35.
53. Матчин, А.А. Факторы риска рождения детей с врожденными расщелинами губы и неба / А.А. Матчин, Е.С. Порубова, А.Г. Сетко // Новые технологии в стоматологии : материалы конференции, Санкт-Петербург, 14–15 мая 2019 года / Министерство здравоохранения Российской Федерации, Российская Академия наук (СЗО), Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Стоматологическая Ассоциация России (СТАР), Ассоциация

- стоматологов Санкт-Петербурга, Компания MVK, офис в Санкт-Петербурге. – Санкт-Петербург, 2019. – С. 69.
54. Междисциплинарный подход к лечению детей с расщелиной губы и неба в периоде новорожденности / А.А. Мамедов, А.Б. Макленнан, М.Г. Рябкова [и др.] // Системная интеграция в здравоохранении. – 2017. – № 2 (31). – С. 52-59.
55. Молекулярно-генетическое изучение ассоциации SNP A66G гена MTRR с кариесом зубов у детей с врожденными расщелинами губы и/или неба и у детей без патологии / И.Г. Удина, В.С. Учаева, В.В. Волобуев [и др.] // Генетика. – 2019. – Т. 55, № 12. – С. 1491-1496.
56. Мусаходжаева, Д.А. Цитокиновый профиль у детей с врожденной расщелиной верхней губы и неба / Д.А. Мусаходжаева, С.Г. Шаропов // Евразийский союз ученых. – 2019. – № 8-1 (65). – С. 50-54.
57. Негаметзянов, Н.Г. Экологические факторы различных регионов республики Казахстан и их влияние на заболеваемость врожденной расщелиной верхней губы и неба / Н.Г. Негаметзянов // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2012. – Т. 11, № 1 (40). – С. 21-28.
58. Нехорошкина, М.О. Роль генетических факторов в развитии врождённых расщелин губы и нёба среди населения Краснодарского края : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.02.07 / Нехорошкина Мария Олеговна. – Белгород, 2014. - 18 с.
59. Новоселов, Р.Д. Эмбриологические предпосылки патогенеза врожденных расщелин верхней губы / Р.Д. Новоселов, А.П. Гладкий // Стоматология. – 1985. – № 3. – С. 6-9.
60. Обухова, Н.В. Этапы логопедической работы с детьми раннего возраста, имеющими врожденную расщелину губы и неба / Н.В. Обухова, Ю.С. Рогожина // Специальное образование. – 2019. – № 2 (54). – С. 128-145.
61. Патологии развития челюстно-лицевой системы среди детского населения в Чувашской республике / А.С. Питиримова, А.В. Московский, Е.М. Лузикова, О.И. Московская // Сборник научных трудов молодых ученых и специалистов :

- Сборник статей. – Чебоксары : Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, 2020. – С. 322-326.
62. Пренатальная диагностика наследственных болезней. Состояние и перспективы / В.С. Баранов, Т.Э. Иващенко, Т.К. Кашеева, Т.В. Кузнецова. – 2-е изд., испр. и доп. – Санкт-Петербург : Эко-Вектор, 2017. – 471 с.
63. Притыко, А.Г. Раннее лечение детей с врожденными расщелинами верхней губы и неба / А.Г. Притыко, А.Б. Сулейманов // Московская медицина. – 2019. – № 6 (34). – С. 84.
64. Профилактика стоматологических заболеваний у беременных женщин и детей раннего возраста / А.М. Хамадеева, А.П. Мышенцева, О.Г. Авраамова [и др.]. – Самара: Право, 2018. – 171 с.
65. Разработка алгоритма диагностики и профилактики врожденной расщелины губы и неба в республике Башкортостан с учётом воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды / О.З. Топольницкий, О.С. Чуйкин, А.Г. Билак, Н.Н. Джумратов // Материалы республиканской конференции стоматологов "Актуальные вопросы стоматологии", Уфа, 21–23 октября 2014 года. – Уфа: Без издательства, 2014. – С. 67-69.
66. Распространенность врожденных расщелин верхней губы, альвеолярного отростка верхней челюсти, твердого и мягкого неба в Красноярском крае / В.Г. Галонский, А.А. Радкевич, А.А. Шушакова [и др.] // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2012. – Т. 11, № 3 (42). – С. 28-34.
67. Редкая врожденная патология челюстно-лицевой области по Самарской области / Т.М. Косырева, Н.И. Куликова, А.С. Серегина, Л.Н. Сидорова // Врожденная и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения : материалы IV Всероссийской научно-практической конференции, Москва, 24–26 октября 2012 года. – Москва: Московский государственный медико-стоматологический университет, 2012. – С. 130-133.
68. Рогинский, В.В. Устранение недоразвития верхней челюсти у детей после хейлоуранопластики / В.В. Рогинский, О.И. Арсенина, Н.В. Старикова //

- Врожденная и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения. – М., 2002. – С. 232-234.
69. Рогова, Л.Н. Иммунологическая и микробиологическая характеристика слизистой полости рта у детей с врожденной расщелиной верхней губы и нёба / Л.Н. Рогова, И.В. Фоменко, А.Н. Тимошенко // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2016. – № 3. – С. 19-22.
70. Рогожина, Ю.С. К вопросу детализации классификаций врожденной расщелины верхней губы и неба / Ю.С. Рогожина, С.И. Блохина, Е.С. Бимбас // Проблемы стоматологии. – 2019. – Т. 15, № 4. – С. 162-169.
71. Рубежова, И.С. Этапы и объем комплексного лечения детей с различными формами врожденных расщелин верхней губы и неба в Санкт Петербургском диспансерном центре / И.С. Рубежова, Э.С. Керод, М.В. Трушко // Материалы II международной конференции челюстно-лицевых хирургов. – СПб., 2002. – С.41-42.
72. Салихов, А.А. Изучение стоматологической заболеваемости детей с врожденной расщелиной губы и неба в регионе с нефтехимическими экотоксикантами / А.А. Салихов, К.Н. Кучук, Э.К. Байбурина // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2021. – Т. 24, № 1. – С. 18-25.
73. Салмина, Е.А. Расщелина верхней губы и неба, частота встречаемости в г. Борисоглебск Воронежской области / Е.А. Салмина // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2018. – Т. 8, № 9. – С. 432.
74. Сандакова, Е.А. Эффективность препаратов фолиевой кислоты при беременности у женщин с врожденными пороками развития плода в анамнезе / Е.А. Сандаков, Е.О. Гостева // Лечение и профилактика. – 2013. – № 2. – С. 20-15.
75. Старикова, Н.В. Пренатальная диагностика расщелины нёба по структурным особенностям и функции языка / Н.В. Старикова // Стоматология. – 2013. – № 1. – С.70–75.

76. Степанова, Ю.В. Случай редкой врожденной патологии челюстно-лицевой области / Ю.В. Степанова, М.С. Цыплакова // Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста. – 2014. – Т. 2, № 3. – С. 64-67.
77. Стоматологическая заболеваемость у детей с врожденной расщелиной верхней губы и неба в регионе с экотоксикантами / С.В. Чуйкин, Г.Г. Акатьева, О.С. Чуйкин [и др.] // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2019. – Т. 19, № 4 (72). – С. 15-19.
78. Стоматологические составляющие качества жизни детей с врожденной расщелиной губы и неба / А.П. Щеглова, Н.И. Захарова, М.А. Данилова [и др.] // Актуальные вопросы медицины. Инновационные технологии в хирургии, Пермь, 21–22 сентября 2018 года. – Пермь: Типография Издательства Книжный формат, 2018. – С. 153-156.
79. Супиев, Т.К. Врожденная расщелина верхней губы и неба / Т.К. Супиев, А.А. Мамедов, Н.Г. Негаметзянов. – Алматы: КазНМУ, 2013. – 496 с.
80. Таалайбеков, Н.Т. Ретроспективное изучение истории болезни больных с врожденной патологией верхней губы твердого и мягкого неба, получивших стационарное лечение в Ошской межобластной объединенной клинической больнице в период с 2013 года по 2018 год / Н.Т. Таалайбеков, А.М. Ешиев // Евразийское Научное Объединение. – 2020. – № 7-3 (65). – С. 197-199.
81. Тактика ведения пациентов со скрытой расщелиной неба / А.В. Богородицкая, Е.Ю. Радциг, М.Е. Сарафанова, А.Г. Притыко // Quantum Satis. – 2017. – Т. 1, № 3-4. – С. 37-40.
82. Томская, К.А. Клиническая характеристика особенностей частоты и структуры врожденных расщелин губы и неба у детей, проживающих в условиях высоких широт / К.А. Томская, И.Д. Ушницкий, Л.С. Миронова // Актуальные проблемы и перспективы развития стоматологии в условиях Севера : сборник статей межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 60-летию ГАУ РС (Я) «Якутский специализированный стоматологический центр», Якутск, 14 ноября 2019 года. – Якутск: Издательский дом СВФУ, 2019. – С. 135-137.

83. Топольницкий, О.З. Реабилитация детей с врождённой расщелиной верхней губы и нёба в республике Башкортостан / О.З. Топольницкий, О.С. Чуйкин // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 4. – С. 45-49.
84. Цыплакова, М.С. Консервативные и профилактические мероприятия в алгоритме ранней медико-социальной реабилитации детей с расщелиной губы и неба / М.С. Цыплакова, Ю.В. Степанова, Е.А. Пономарева // Новые технологии в травматологии и ортопедии детского возраста : сборник научных статей, посвященный 125-летию Научно-исследовательского детского ортопедического института имени Г.И. Турнера. – СПб., 2017. – С. 240-247.
85. Чуйкин, С.В. Врождённая расщелина верхней губы и нёба / С.В. Чуйкин, Л.С. Персин, Н.А. Давлетшин. – М.: МИА, 2008. – 363 с.
86. Чуйкин, С.В. Врождённая расщелина верхней губы и нёба / С.В. Чуйкин, О.З. Топольницкий, Л.С. Персин. – М.: LAP Lambert Academic Publishing, 2018. – 592 с.
87. Чуйкин, С.В. Лечение врождённой расщелины губы и нёба / С.В. Чуйкин, О.З. Топольницкий. – Москва : Московский издательский дом, 2017. – 584 с.
88. Шаропов, С.Г. Полиморфизм C677T гена метилентетрагидрофолатредуктазы при врожденной расщелине губы и неба / С.Г. Шаропов, А.Ш. Иноятов, Д.А. Мусаходжаева // Журнал теоретической и клинической медицины. – 2018. – № 4. – С. 13-15.
89. Шаропов, С.Г. Содержание ил-18 и мср-1 у детей с врожденной расщелиной верхней губы и неба / С.Г. Шаропов, А.Ш. Иноятов // Российский иммунологический журнал. – 2020. – № 22 (2-1). – С. 647-649.
90. Шатова, Е.А. Вопросы распространенности врожденной патологии губы и неба у детей, инвалидности и современной организации комплексной реабилитации детей с врожденной расщелиной губы и неба / Е.А. Шатова // Евразийское Научное Объединение. – 2020. – № 9-3 (67). – С. 232-243.
91. Шульженко, В.И. Вариант изучения и анализа протоколов реабилитации детей с несращением губы и неба, применяемых в мире / В.И. Шульженко, М.Н.

- Митропанова, Н.И. Чечула // Кубанский научный медицинский вестник. – 2011. – № 2 (125). – С.196-199.
92. Эпидемиологические аспекты врожденных пороков челюстно-лицевой области у детей Волгоградской области за 2010-2016 гг. / И.В. Фоменко, А.Л. Касаткина, И.Е. Тимаков [и др.] // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2018. – Т. 17, № 3 (66). – С. 58-61.
93. Эпидемиология, клинико-анатомические формы врожденной расщелины верхней губы и неба / С.В. Чуйкин, Н.А. Давлетшин, А.Г. Билак [и др.] // Врожденная и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения. – М: МГМСУ, 2016. – 346 с.
94. Этиологические и патогенетические аспекты врожденных расщелин верхней губы и/или неба у детей / И.Д. Ушницкий, И.С. Пинелис, Л.С. Миронова, К.А. Томская // Забайкальский медицинский вестник. – 2019. – № 2. – С. 188-195.
95. Ядгарова, Г.С. Улучшение жизненного статуса с врожденными расщелинами губы и неба / Г.С. Ядгарова // Молодой специалист. – 2022. – Т. 1, № 2. – С. 24-27.
- 96.5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T/A1298C polymorphisms in patients with nonsyndromic cleft lip and palate / Y. Komiyama, S. Koshiji, W. Yoshida [et al.] // Biomed. Rep. – 2020. – Vol. 13, № 6. – P. 57.
97. A new classification approach: Center of integral care of cleft lip palate "SUMA" center / M.B. Jose, L.G. Daniel, M.C. Rodrigo, T.Z. Silverio // J. Cleft Lip Palate Craniofac. Anomal. – 2017. – Vol. 4. – P. 20-24.
98. Accumulation of rare coding variants in genes implicated in risk of human cleft lip with or without cleft palate / N.J. Marini, K. Asrani, W. Yang [et al.] // Am. J. Med. Genet. A. – 2019. – Vol. 179, № 7. – P. 1260-1269.
99. Alois, C.I. An overview of cleft lip and palate / C.I. Alois, R.A. Ruotolo // JAAPA. – 2020. – Vol. 33, № 12. – P. 17-20.
100. Alonso, R.R.H. Analysis of the prevalence and incidence of cleft lip and palate in colombia / R.R.H. Alonso, G.P.S. Brigetty // Cleft Palate Craniofac. J. – 2020. – Vol. 57, № 5. – P. 552-559.

101. An integrative, genomic, transcriptomic and network-assisted study to identify genes associated with human cleft lip with or without cleft palate / F. Yan, Y. Dai, J. Iwata [et al.] // *BMC Med. Genomics*. – 2020. – Vol. 13, № Suppl. 5. – P. 39.
102. Analysis of clinical pathway for patients with cleft lip and palate / K. Xu, Y. Lin, Y. Gao, Y. Wang // *J. Craniofac. Surg.* – 2021. – Vol. 32, № 2. – P. 461-465.
103. Analysis of dermal fibroblasts isolated from neonatal and child cleft lip and adult skin: Developmental implications on reconstructive surgery / V. Živicová, L. Lacina, R. Mateu [et al.] // *Intern. J. Molecul. Med.* – 2017. – Vol. 40, № 5. – P. 1323-1334.
104. Angeborene spalten der oberlippe und/oder des gaumens / R.I. Faskhutdinova, M.Yu. Dmitrieva, A.V. Alendeev, N.I. Vargina // *Проблемы научной мысли*. – 2021. – Vol. 12, № 7. – P. 22-24.
105. Assessment of regional asymmetry of the face before and after surgical correction of unilateral cleft lip / D. Al-Rudainy, X. Ju, S. Stanton [et al.] // *J. Craniomaxillofac. Surg.* – 2018. – Vol. 46, № 6. – P. 974-978.
106. Association between MTR A2756G and MTRR A66G polymorphisms and maternal risk for neural tube defects: a meta-analysis / S. Ouyang, Y. Li, Z. Liu [et al.] // *Gene*. – 2015. – Vol. 515, № 2. – P. 308–312.
107. Associations between MTR A2756G, MTRR A66G, and TCN2 C776G polymorphisms and risk of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate: a meta-analysis / W. Lei, Y. Xia, Y. Wu [et al.] // *Genet. Test. Mol. Biomarkers*. – 2018. – Vol. 22, № 8. – P. 465-473.
108. Association of fetal MTHFR 677C>T polymorphism with non-syndromic cleft lip with or without palate risk: a systematic review and meta-analysis / A. Amooee, S.A. Dastgheib, S.M. Niktabar [et al.] // *Fetal. Pediatr. Pathol.* – 2021. – Vol. 40, № 4. – P. 337-353.
109. Associations of folate and choline metabolism gene polymorphisms with orofacial clefts / A. Mostowska, K.K. Hozyasz, P. Wojcicki [et al.] // *J. Med. Genet.* – 2010. – Vol. 47, № 12. – P. 809-815.
110. Association of MTHFR 1298A>C polymorphism with susceptibility to non-syndromic cleft lip with or without palate: a case-control study and meta-analysis /

- S.M. Niktabar, H. Aarafi, S.A. Dastgheib [et al.] // *Fetal. Pediatr. Pathol.* – 2021. – Vol. 40, № 1. – P. 1-17.
111. Bekele, K.K. Anatomical patterns of cleft lip and palate deformities among neonates in Mekelle, Tigray, Ethiopia; implication of environmental impact / K.K. Bekele, P.E. Ekanem, B. Meberate // *BMC Pediatr.* – 2019. – Vol. 19, № 1. – P. 254.
112. Bibliometric analysis of cleft lip and palate-related publication trends from 2000 to 2017 / Q. Zhang, Y. Yue, B. Shi, Z. Yuan // *Cleft. Palate Craniofac. J.* – 2019. – Vol. 56, № 5. – P. 658-669.
113. Brusati, R. Evolution of my philosophy in the treatment of unilateral cleft lip and palate / R. Brusati // *J. Cran. Maxillo-Fac. Surg.* – 2016. – № 44. – P. 901-911.
114. Chuykin, S.V. Application of genetics markers in prognoses of congenital cleft lip and palate / S.V. Chuykin, O.S. Chuykin, T.V. Viktorova // *Cleft. Palate J.* – 2015. – Vol. 31. – P. 53.
115. Cleft lip and palate treatment of 530 children over a decade in a single centre / I.M. Vlastos, E. Koudounakis, M. Houlakis [et al.] // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* – 2009. – Vol. 73, № 7. – P. 993-997.
116. Cleft lip and palate in ectodermal dysplasia / I.M. Ganske, T. Irwin, O. Langa [et al.] // *Cleft. Palate Craniofac. J.* – 2021. – Vol. 58, № 2. – P. 237-243.
117. Cleft lip and palate repair / G.L. Gatti, N. Freda, A. Giacomina [et al.] // *J. Craniofac. Surg.* – 2017. – Vol. 28, № 8. – P. 1918-1924.
118. Copy number changes identified using whole exome sequencing in nonsyndromic cleft lip and palate in a honduran population / Y. Cai, K.E. Patterson, F. Reinier [et al.] // *Birth. Defects. Res.* – 2017. – Vol. 109, № 16. – P. 1257–67.
119. Current concepts on cleft lip and palate etiology / V. Candotto, L. Oberti, F. Gabrione [et al.] // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* – 2019. – Vol. 33, № 3 Suppl. 1. – P. 145-151.
120. David, A.M. Cleft lip/palate [Electronic resource] / A.M. David // *Maxfacts: Information on all aspects of oral and maxillofacial surgery for patients, carers and professionals.* – 2018. – URL: <https://maxfacts.uk/diagnosis/a-z/cleft-lip-palate/detailed> (01.02.2018).

121. Early or delayed palatoplasty in complete unilateral cleft lip and palate patients? A systematic review of the effects on maxillary growth / K.R. Salgado, A.R. Wendt, N.C.F. Fagundes [et al.] // *J. Craniomaxillofac. Surg.* – 2019. – Vol. 47. – P. 1690-8.
122. Environmental and genetic risk factors of congenital anomalies: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses / K.S. Lee, Y.J. Choi, J. Cho [et al.] // *J. Korean Med. Sci.* – 2021. – Vol. 36, № 28. – P. e183.
123. Factors affecting high caries risk in children with and without cleft lip and/or palate: a cross-sectional study / P.K. Chaudhari, O.P. Kharbanda, R. Chaudhry [et al.] // *Cleft. Palate Craniofac. J.* – 2021. – Vol. 58, № 9. – P. 1150-1159.
124. Family history and risk factors for cleft lip and palate patients and their associated anomalies / A. Jamilian, F. Sarkarat, J. Mehrdad [et al.] // *Stomatologija.* – 2017. – Vol. 19, № 3. – P. 78–83.
125. Funktionelle veränderungen des gaumenfelsverschlusses bei gaumenspalten / D.M. Zinov'eva, E.V. Kiyashko, K.V. Migunov, V.V. Trubin // *Проблемы научной мысли.* – 2021. – Vol. 3, № 5. – P. 22-24.
126. Genetics of syndromic and nonsyndromic cleft lip and palate / L. Stuppia, M. Capogreco, G. Marzo [et al.] // *J. Craniofac. Surg.* – 2011. – Vol. 22, № 5. – P. 1722–6.
127. Global prevalence of cleft palate, cleft lip and cleft palate and lip: A comprehensive systematic review and meta-analysis / N. Salari, N. Darvishi, M. Heydari [et al.] // *J. Stomatol. Oral. Maxillofac. Surg.* – 2022. – Vol. 123, № 2. – P. 110-120.
128. Hlongwa, P.J. Epidemiology and clinical profile of individuals with cleft lip and palate utilisingspecialised academic treatment centres in South Africa / P. Hlongwa, J. Levin, L.C. Rispel // *PLoS One.* – 2019. – Vol. 9, № 14 (5). – P. e0215931.
129. Imai, Y. The birth prevalence of cleft lip and/or cleft palate after the 2011 tōhoku earthquake and tsunami / Y. Imai, T. Sanada, M. Tachi // *Cleft. Palate Craniofac. J.* – 2019. – Vol. 15, № 56 (9). – P. 1133-1138.
130. Impact of educational and socioeconomic status of parents on healthcare access in cleft patients / N.U. Divya, P.R. Guru, K.M. Raj, K.S. Arun // *J. Cleft. Lip. Palate Craniofac. Anomal.* – 2017. – Vol. 4. – P. 109-113.

131. Interaction between glutathione S-transferase M1-null/present polymorphism and adjuvant chemotherapy influences the survival of breast cancer / S. Li, G.T. Lang, Y.Z. Zhang [et al.] // *Cancer Med.* – 2018. – Vol. 7, № 9. – P. 4202-4207.
132. Investigation of candidate genes of non-syndromic cleft lip with or without cleft palate, using both case-control and family-based association studies / X. Ge, J.W. Hong, J.Y. Shen [et al.] // *Medicine (Baltimore).* – 2019. – Vol. 98, № 26. – P. e16170.
133. IRF6 polymorphisms in Brazilian patients with non-syndromic cleft lip with or without palate / J.F. Bezerra, H.P. Vital da Silva, R.H. Bortolin [et al.] // *Braz. J. Otorhinolaryngol.* – 2020. – Vol. 86, № 6. – P. 696-702.
134. Johnson, M.M. Prenatal imaging for cleft lip and palate / M.M. Johnson // *Radiol. Technol.* – 2019. – Vol. 90, № 6. – P. 581-596.
135. Kambarova, Sh.A. Identification of the morphometric parameters of the cranio-fascial region of children with congenital cleft and palate reflections using a developed research map / Sh.A. Kambarova // *Centr. Asian J. Med. and Nat. Sci.* – 2021. – Vol. 2, № 3. – P. 286-290.
136. Liao, I.Y. Hard palate repair timing and facial growth in cleft lip and palate: a systematic review / I.Y. Liao, M. Mars // *Cleft. Palate Craniofac. J.* – 2006. – Vol. 43. – P. 563-570.
137. Lie, R.T. A population-based study of the risk of recurrence of birth defects / R.T. Lie, A.J. Wilcox, R. Skjærven // *N. Engl. J. Med.* – 1994. – Vol. 331, № 1. – P. 1-4.
138. Lie, R.T. Survival and reproduction among males with birth defects and risk of recurrence in their children / R.T. Lie, A.J. Wilcox, R. Skjaerven // *JAMA.* – 2001. – Vol. 285. – P. 755–60.
139. LINE-1 methylation in cleft lip tissues: Influence of infant MTHFR c.677C>T genotype / M.F.J. Khan, J. Little, V. Aleotti [et al.] // *Oral Dis.* – 2019. – Vol. 25, № 6. – P. 1668-1671.
140. Maxillofacial growth and speech outcome after one-stage or two-stage palatoplasty in unilateral cleft lip and palate. A systematic review / R.R. Reddy, S. Gosla Reddy,

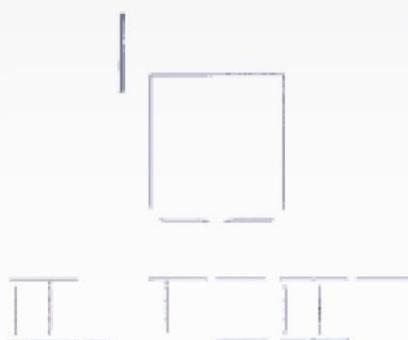
- A. Vaidhyathan [et al.] // *J. Craniomaxillofac. Surg.* – 2017. – Vol. 45, № 6. – P. 995-1003.
141. Methoden der chirurgischen behandlung von angeborenen bilateralen spalt der oberlippe / A.V. Miheeva, N.G. Mihaylova, V.M. Shlyonskaya, O.A. Sorkina // *Проблемы научной мысли.* – 2021. – Vol. 11, № 6. – P. 41-47.
142. Methylenetetrahydrofolate reductase rs1801133 C>T polymorphism is association with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate susceptibility: A meta-analysis / Y. Wang, G. Zheng, M. Kang [et al.] // *Internat. J. Clin. Exper. Med.* – 2017. – Vol. 10, № 2. – P. 1734-1749.
143. Mostowska, A. Maternal MTR genotype contributes to the risk of non-syndromic cleft lip and palate in the Polish population / A. Mostowska, K.K. Hozyasz, P.P. Jagodzinski // *Clin. Genet.* – 2006. – Vol. 69, № 6. – P. 512-517.
144. MTR, MTRR, and MTHFR gene polymorphisms and susceptibility to nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate / W. Wang, X.H. Jiao, X.P. Wang [et al.] // *Genet. Test. Mol. Biomarkers.* – 2016. – Vol. 20, № 6. – P. 297-303.
145. Murray, J.C. Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences / J.C. Murray, M.J. Dixon, M.L. // *Marazita Nat. Rev. Genet.* – 2011. – Vol. 12, № 3. – P. 167-78.
146. Murray, J.K. Gene/environment causes of cleft lip and/or palate / J.K. Murray // *Clin. Genet.* – 2002. – Vol. 61, № 4. – P. 248-56.
147. Murthy, J. Current concepts in genetics of nonsyndromic clefts / J. Murthy, L. Bhaskar // *Indian J. Plast. Surg.* – 2009. – Vol. 42, № 1. – P. 68-81.
148. Murthy, J. Genetic variant in MTRR A66G, but not MTR A2756G, is associated with risk of non-syndromic cleft lip and palate in Indian population / J. Murthy, V.B. Gurramkonda, B.V. Lakkakula, // *J. Oral Maxillofac. Surg. Med. Pathol.* – 2015. – Vol. 27, № 6. – P. 782-785.
149. Nolte, F.M. Quality of life among dutch children with a cleft lip and/or cleft palate: a follow-up study / F.M. Nolte, A. Bos, C. Prah // *Cleft Palate Craniofac. J.* – 2019. – Vol. 29, № 56 (8). – P. 1065-1071.

150. Parental Genetic Variants, MTHFR 677C>T and MTRR 66A>G, associated differently with fetal congenital heart defect / Q.N. Guo, H.D. Wang, L.Z. Tie [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2017. – Vol. – P. 3043476.
151. Polymorphisms in folate metabolism genes are associated with susceptibility to presbycusis / S.K. Manche, M. Jangala, D. Dudekula [et al.] // *Life Sci.* – 2018. – Vol. 196. – P. 77-83.
152. Polymorphisms in folate metabolism genes as maternal risk factor for neural tube defects: an updated meta-analysis / U. Yadav, P. Kumar, S.K. Yadav [et al.] // *Metab. Brain.* – 2015. – Vol. 30, № 1. – P. 7–24.
153. Prenatal diagnosis of cleft lip and cleft lip palate - a case series / C. Marginean, V. Sasarean, C.O. Marginean [et al.] // *Med. Ultrason.* – 2018. – Vol. 20, № 4. – P. 531-535.
154. Secondary correction of nasal deformities in cleft lip and palate patients: surgical technique and outcome evaluation / G. Vass, G. Mohos, Z. Bere [et al.] // *Head. Face Med.* – 2016. – Vol. 12, № 1. – P. 34.
155. Shatova, E.A. The prevalence and structure of congenital abnormalities of the maxillofacial area development / E.A. Shatova // *Eur. J. Biomed. Life Sci.* – 2020. – № 1. – P. 8-11.
156. Shaye, D. Update on outcomes research for cleft lip and palate / D. Shaye // *Curr. Opin. Otolaryngol. Head. Neck. Surg.* – 2014. – Vol. 22. – P. 255-259.
157. Shu, X. Association between methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and non-syndromic cleft lip with or without palate susceptibility: an updated systematic review and meta-analysis / X. Shu, S. Shu, L. Yang // *Br. J. Oral. Maxillofac. Surg.* – 2019. – Vol. 57, № 9. – P. 819-830.
158. Sitzman, T.J. Measuring outcomes in cleft lip and palate treatment / T.J. Sitzman, A.C. Allori, G. Thorburn // *Clin. Plast. Surg.* – 2014. – Vol. 41, № 2. – P. 311-319.
159. Skjaerven, R. A population-based study of survival and childbearing among female subjects with birth defects and the risk of recurrence in their children / R. Skjaerven, A.J. Wilcox, R.T. Lie // *N. Engl. J. Med.* – 1999. – Vol. 340. – P. 1057-62.

160. SNPs in folate pathway are associated with the risk of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate, a meta-analysis / Q. Li, L. Xu, X. Jia [et al.] // *Biosci. Rep.* – 2020. – Vol. 40, № 3. – P. BSR20194261.
161. The genetic factors contributing to the risk of cleft lip-cleft palate and their clinical utility / S. Askarian, M. Gholami, G. Khalili-Tanha [et al.] // *Oral Maxillofac. Surg.* – 2022. – DOI: 10.1007/s10006-022-01052-3.
162. The prevalence of dentofacial anomalies and the prognosis of morbidity of the population living in the zone of ecological distress of the Republic of Dagestan / T.F. Kosyreva, F.I. Astarkhanova, I.R. Astarkhanov [et al.] // *E3S Web of Conferences*, Wrocław, 09–12 июня 2019 года. – Wrocław, 2019. – P. 00037.
163. Two novel genes TOX3 and COL21A1 in large extended Malay families with nonsyndromic cleft lip and/or palate / N.S. Mohamad Shah, S. Sulong, W.A. Wan Sulaiman, A.S. Halim // *Mol. Genet. Genomic. Med.* – 2019. – Vol. 7, № 5. – P. e635.
164. Updating the epidemiology of cleft lip with or without cleft palate / S.A. Tanaka, R.C. Mahabir, D.C. Jupiter, J.M. Menezes // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2012. – Vol. 129. – P. 511–8.
165. Vanderas, A.P. Incidence of cleft lip, cleft palate, and cleft lip and palate among races: a review / A.P. Vanderas // *Cleft. Palate J.* – 1987. – Vol. 24. – P. 216–25.
166. Worley, M.L. Cleft lip and palate / M.L. Worley, K.G. Patel, L.A. Kilpatrick // *Clin. Perinatol.* – 2018. – Vol. 45, № 4. – P. 661-678.
167. Yang, I.Y. The effect of 1-stage versus 2-stage palate repair on facial growth in patients with cleft lip and palate: a review / I.Y. Yang, Y.F. Liao // *Int. J. Oral. Maxillofac. Surg.* – 2010. – Vol. 39. – P. 945-950.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение 1



НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2760786

**Способ прогнозирования врожденной расщелины губы
и нёба у ребёнка при планировании беременности в
регионе с экотоксикантами с применением генетических
маркеров**

Патентообладатель: *федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Башкирский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Чуйкин Олег Сергеевич (RU), Гильманов Марсель Венерович (RU), Викторова Татьяна Викторовна (RU), Кучук Кристина Николаевна (RU), Кочетова Ольга Владимировна (RU)*

Заявка № 2021108298

Приоритет изобретения **26 марта 2021 г.**

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации **30 ноября 2021 г.**

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает **26 марта 2041 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Г.П. Ивлиев

Анкета пациента.

Ф.И.О. ребенка _____

Дата рождения __. __. _____. Учащийся (№ школы или д/сада) _____ класс _____

Ф.И.О. родителя _____ Кон.тел. _____

Домашний адрес _____

1) Пол _____

2) Этническая принадлежность: мать _____

отец _____

3) Наследственная отягощенность _____

4) Болеет ли ваш ребенок инфекционными заболеваниями да/нет

5) Есть ли у Вашего ребенка заболевания сердечно-сосудистые системы? да/нет

6) Есть ли у Вашего ребенка заболевания эндокринной системы? да/нет

7) Есть ли у Вашего ребенка бронхиальная астма? да/нет

8) Есть ли у Вашего ребенка психические, неврологические заболевания? да/нет

Анкета мамы во время беременности

Ф.И.О. мамы _____

1. Ребенок родился: доношенный/ недоношенный
2. Заболевания во время беременности: ОРВИ, анемия, артериальная гипертензия,-

3. Медикаментозное лечение: _____
4. Принимали ли вы фолиевую кислоту: да/нет
5. Вредные привычки: курение, алкоголь.

Подпись _____ расшифровка _____

Я _____,

в соответствии с требованиями статьи Федерального закона от 27.07.06 г. «О персональных данных» №152-ФЗ, подтверждаю своё согласие на обработку персоналом БГМУ моих персональных данных, включающих: фамилию, имя, отчество, пол, дату рождения, адрес места жительства, контактные телефоны, реквизиты полиса ОМС, данные о состоянии моего здоровья и иные персональные данные в медико-профилактических целях, в целях установления медицинского диагноза.

В процессе оказания мне медицинского обследования я предоставляю право медицинским работникам передавать мои персональные данные, содержащие сведения, составляющие врачебную тайну, другим лицам в интересах моего обследования и лечения.

Я информирован о проведении молекулярно-генетических исследований с использованием моих образцов ДНК.

Я согласен _____

на использование ДНК в научных целях, использовать эти сведения в учебном процессе.

ФГБОУ ВО БАШКИРСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ МЗ РФ
Кафедра стоматологии детского возраста
и ортодонтии с курсом ИДПО
Зав. кафедрой Чуйкин С.В.

ИНФОРМИРОВАННОЕ СОГЛАСИЕ НА ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Уважаемый пациент!

Имеются клинические симптомы/признаки, позволяющие предположить, что Ваш ребенок может быть носителем генетических изменений. Эти изменения могут быть причиной имеющихся у него симптомов, либо они могут увеличивать риск для Вас или Ваших будущих детей заболеть некоторыми наследственными заболеваниями.

Исследование образца биологического материала - крови, может помочь выявить эти изменения.

Подписывая данную форму, Вы подтверждаете, что даете свое согласие на генетическое исследование добровольно, обладая достаточной информацией, и что у Вас была возможность задать все вопросы, которые могли у Вас возникнуть относительно генетического тестирования. Все личные данные, касающиеся Вас или Вашего ребенка, являются конфиденциальными, и не могут быть переданы другим лицам. Вы можете отозвать свое согласие в любое время без дополнительных объяснений.

Цель работы: оптимизация прогнозов врожденных пороков челюстно-лицевой области на основе изучения генов детоксикации ксенобиотиков.

Настоящим я выражаю свое согласие на то, что следующее генетическое исследование «полиморфных систем генов детоксикации ксенобиотиков у детей и их родителей с врожденными пороками челюстно-лицевой области» будет выполнено:

1) Моему ребенку _____
(Фамилия, имя, отчество) (Дата рождения)

2) Законному представителю ребенка _____
 (Фамилия, имя, отчество) (Дата рождения)

Биологический материал может быть сохранен до получения и оценки результатов, а также для выполнения других дополнительных (в том числе, научных) исследований, если это потребуется для уточнения результатов ДА НЕТ

Я согласен (согласна) с тем, что при необходимости врач-генетик может связаться со мной, используя контактную информацию. ДА НЕТ

 (дата подписи)

 (Подпись пациента/родителя)

 (Ф. И. О. врача)

 (Подпись врача)

Информация для пациента (родителей/усыновителей)

Уважаемые родители!

Вас приглашают принять участие в исследовании в рамках диссертационной работы ««Прогнозирование врожденной расщелины губы и нёба у детей при планировании беременности в регионе с экотоксикантами с применением генетических маркеров»».

Исследование проводит соискатель кафедры, врач-стоматолог детский Гильманов Марсель Венерович, под руководством профессора кафедры стоматологии детского возраста и ортодонтии с курсом ИДПО стоматологического факультета ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, д.м.н., профессора Чуйкина Сергея Васильевича.

Пожалуйста, внимательно ознакомьтесь с этим согласием, в нем содержится информация об исследовании, возможных рисках при заборе крови. Все

интересующие Вас вопросы Вы можете обсудить с врачом. После того, как Вы ознакомитесь с данным согласием и примете решение участвовать в исследовании, Вам нужно будет поставить подпись и дату в «Информированное согласие на генетическое тестирование» в двух экземплярах. Один подписанный экземпляр останется у Вас.

Участие в исследовании добровольное, если Вы откажетесь, или, подписав согласие, измените свое решение в любое время в ходе исследования без объяснения причин, это не повлияет на качество оказания Вам медицинской помощи.

Вас приглашают участвовать в этом исследовании для повышения эффективности профилактики и лечения стоматологических заболеваний у детей с врожденной расщелиной губы и неба.

Цель исследования:

Оптимизация прогнозов прогнозирования врожденной расщелины губы и неба на основе изучения полиморфизма генов детоксикации ксенобиотиков и генов фолатного цикла. В исследовании планируется к участию 100 детей с врожденной расщелиной губы и неба, находящихся на лечении в ГБУЗ РДКБ МЗ РБ (отделение ЧЛХ).

Методы исследования:

1) Для исследования будет взят биологический материал – кровь у ребенка и его родителя объемом 5 мл в пробирку с ЭДТА. Забор крови проводится в поликлинике ГБУЗ РДКБ в процедурном кабинете после подписания Информированного согласия на генетическое тестирование и ответив на вопросы в анкетах пациента и мамы во время беременности. Прием пищи не влияет на исследование.

После сбора материала доставляется в Федерального бюджетного учреждения науки «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека». Для выделения ДНК использовался стандартный метод фенольно-хлороформной экстракции. Изучение полиморфных вариантов проводится с использованием методов анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ) и полимеразной цепной реакции в автоматическом режиме с

использованием локуспецифических олигонуклеотидных праймеров. В ходе работы будут изучены полиморфные локусы генов детоксикации ксенобиотиков rs1048943 (CYP1A1); rs366631 (GSTM1) и rs1695 (GSTP1) и генов фолиевой кислоты rs1801394 (MTRR); rs1801133 и rs1801131 (MTHFR); rs1805087 (MTR).

Продолжительность участия в исследовании: осмотр, забор крови сразу после подписания информированного согласия.

Возможная польза для пациента от участия в исследовании: позволяет предположить, что Вы или Ваш ребенок может быть носителем генетических изменений. Эти изменения могут быть причиной имеющихся симптомов, либо они могут увеличивать риск своих будущих детей заболеть некоторыми наследственными заболеваниями.

Возможные/Дополнительные риски и неудобства для пациента, связанные с участием в исследовании:

Положение сидя.

Ребенок и мать ребенка удобно сидят в кресле, положив руку на подлокотник так, чтобы она была почти прямой и имела хорошую опору. Ее чуть - чуть сгибают в локте. Простудная сестра находится перед пациентом.

Осложнения и возможные затруднения при взятии крови.

- Обморок. Чтобы избежать осложнения, необходимо проводить забор крови, когда пациент находится в положении лежа на кушетке.
- Гематома. При появлении гематомы, необходимо снять жгут и вынуть иглу из вены, после чего необходимо наложить давящую повязку на место пункции.
- Ожирение. У людей с ожирением при западании вен трудно найти вену и произвести забор крови. При заборе в пробирку может попасть много межтканевой жидкости и активаторов свертывания крови.
- Гемолиз. Частая ошибка гемолиза может быть слишком тонкая игла для пункции, очень быстрый забор крови, интенсивное перемешивание

(встряхивание) пробирки, длительное положение жгута (более 2 мин) на верхней конечности.

- Спавшиеся вены –обычно мелкие, хрупкие и небольшие вены, из которых быстро набирают («выкачать») кровь шприцем.
- Тромбоз вен после пункции обычно возникает у пациентов со склонностью к гиперкоагуляции, он также может появиться при повторных пункциях в одно и том же месте.

Расходов со стороны пациентов нет.

С Вами сразу свяжутся по телефону и сообщат, если при проведении медико-генетического анализа появится дополнительная информация, которая может повлиять на Ваше согласие продолжать участие в исследовании.

Ваши персональные данные и данные ребенка не будут указываться в научных статьях и публикациях, докладах, связанных с этим исследованием. Вы имеете право получить доступ к информации о состоянии своего здоровья и вашего ребенка.

Конфиденциальность информации о Вас и Вашего ребенка будет защищена действующими законодательными и нормативными актами Российской Федерации.

Контактные телефоны, по которым Вы можете получить интересующую информацию:

соискатель - Гильманов Марсель Венерович 89173453203;

научный руководитель – Чуйкин Сергей Васильевич (кафедра стоматологии детского возраста и ортодонтии с курсом ИДПО, ул. Заки Валиди, д.45/1, 2 этаж).

Исследование проводится на базе:

- ГБУЗ «Республиканская детская клиническая больница» МЗ РБ
450106, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Степана Кувыкина, 98

Телефон: +7 (347) 229-08-15 / +7 (347) 229-08-17

- ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, кафедра биологии
450008, г. Уфа, ул. Пушкина 96/98

Телефон: +7(347) 253–31–53

- Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физики молекул и кристаллов Уфимского научного центра Российской академии наук (ИФМК УНЦ РАН)

450054, Республика Башкортостан, г. Уфа, пр. Октября, 71

Спасибо за Ваше внимание к этой информации.