

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Уфа - 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук,
профессор **Чуйкин Сергей Васильевич;**

Научный консультант:

доктор медицинских наук,
профессор **Викторова Татьяна Викторовна**

Официальные оппоненты:

Фоменко Ирина Валерьевна – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой стоматологии детского возраста

Блохина Светлана Ивановна – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры стоматологии детского возраста и ортодонтии

Ведущая организация - федеральное государственное бюджетное учреждение Национальный медицинский исследовательский центр "Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится « » 2022 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета 21.2.004.02 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте: <http://www.bashgmu.ru>.

Автореферат разослан « ___ » _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук

Валеев Марат Мазгарович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

В настоящее время врождённые 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 врождённые пороки челюстно-лицевой области (ЧЛО) занимает 3–5 место среди врождённых пороков развития человека (Топольницкий О. З., 2015; Мамедов Ад. А., 2017). Частота встречаемости врождённых 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 врождённая расщелина губы и нёба (ВРГН) составляет 11-29% от всех врождённых 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 врождённых 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 (Чуйкин С. В., 2019; Билле Д. С., 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 врожденной 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 врождённой 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 расщелины 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" (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 ИДПО БГМУ (Уфа, 2022); заседании Проблемной комиссией по специальности «Стоматология» и кафедры стоматологии детского возраста и ортодонтии с курсом ИДПО 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». (Патент РФ №2760786 от 26 марта 2021 г.).

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

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для решения поставленных задач было 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.

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 2015-2019 годы. Крупные города РБ (Уфа, Стерлитамак и Салават) мы отнесли с нефтехимической промышленностью (НХП), условно были определены как города с неблагоприятными экологическими факторами (НЭФ). Города без НХП (Давлеканово, Туймазы, Белебей), где отсутствуют промышленные предприятия, условно рассматривали как контрольный район. Это соответствовало данным экологического мониторинга.

Методы исследования

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.

Обследовались дети (N = 100) с ВРГН и в качестве контрольной группы студенты БГМУ, БГУ и БГПУ без данной патологии (N = 216, возраст контроля варьировал от 17 до 25 лет, средний возраст составил 21.3 ± 5.6 лет), проживающие в Республике Башкортостан. Также был проведен анализ родителей детей с ВРГН в количестве 100 человек. В группу сравнения 119 родителей вошли доноры Республиканской станции переливания крови (средний возраст составил 52.3 ± 6.3 лет), не имеющие данной патологии.

ДНК выделяли из периферической крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Анализ ассоциации полиморфных вариантов генов проводился с использованием методов полимеразной цепной реакции в автоматическом режиме с использованием локуспецифических олигонуклеотидных праймеров.

Таблица 1 - Дизайн исследования

Этапы и направление исследования	Методы исследования	Объем исследования
I этап: ретроспективный анализ частоты рождения детей с врожденной расщелины губы и нёба и сопутствующих соматических заболеваний	А) Истории болезни в архиве	А) 2058 историй болезни; из них 1198 историй проживающих в экологически неблагоприятных районах. 860 историй проживающих в районах с отсутствием крупных промышленных предприятий.

<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 согласие на обработку персональных данных. Проводится забор крови у ребенка с ВРГН и матери. Берется венозная кровь 5 мл в пробирку с ЭДТА. Для выделения ДНК использовался стандартный метод фенольно-хлороформной экстракции. Изучение полиморфных вариантов проводилось с использованием методов анализа полиморфизма длины рестриционных фрагментов (ПДРФ) и полимеразной цепной реакции в автоматическом режиме с использованием локуспецифических олигонуклеотидных праймеров. В ходе работы были 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).</p>	<p>100 детей с ВРГН; контрольная группы – 216 студентов БГМУ, БГУ и БГПУ без данной патологии проживающие в Республике Башкортостан. 100 матерей детей с ВРГН. Группа сравнения 119 родителей доноры Республиканской станции переливания крови не имеющие данной патологии.</p>
-----------------------------	--	---

Статистический анализ

Математическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакетов статистических программ: STATISTICA v.6.0, BIOSTAT (Primer of Biostatistics version 4.03).

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>).

Использовали критерий χ^2 Пирсона, для сравнения распределения частот аллелей в исследованных группах (выборки больных и здоровых индивидов). 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. 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): $OR = (a \times d)/(b \times c)$ (Реброва О.Ю., 2002).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

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%.

Ситуационный анализ установил взаимосвязь между превышением 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 отмечается высокая частота рождения детей с ВРГН. Плотность выбросов загрязняющих веществ на 1 га на территории экологически неблагоприятных районах - 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 м превышением уровня предельно-допустимой концентрации экотоксикантов в атмосферном воздухе в регионе по бензопирену, бензолу, толуолу и другим выбросам 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 стандартного индекса наблюдались: по бенз(а)пирену – 2,1, по взвешенным веществам – 1,2, по этилбензолу – 8,0-9,5, по сероводороду и этилбензолу – 9,5. (Рис. 1)

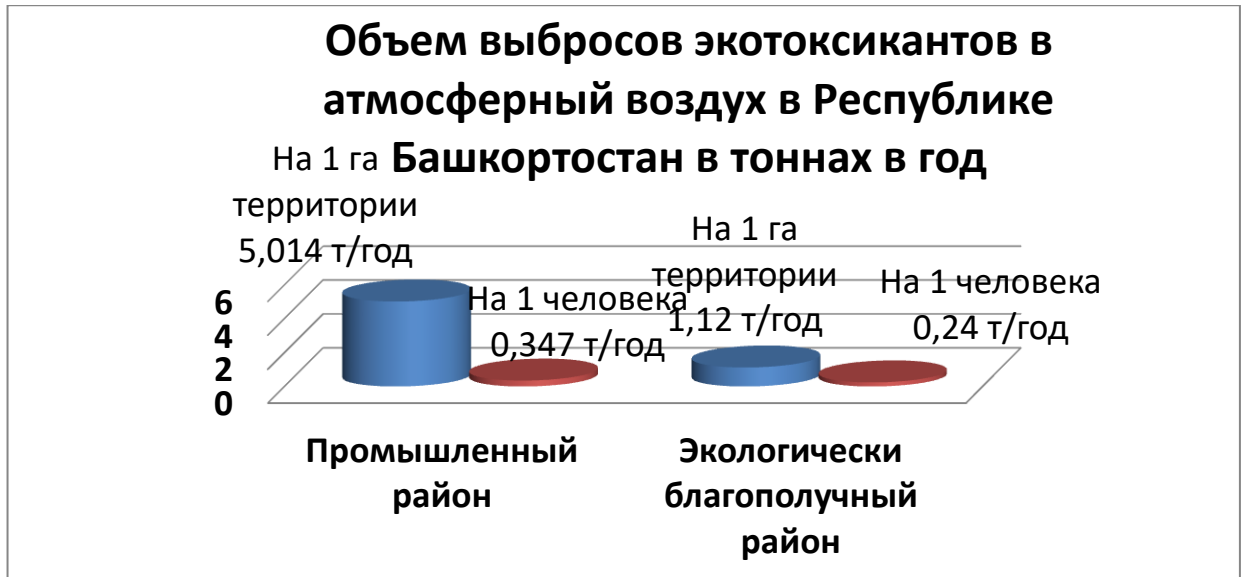


Рисунок 1- Объем выбросов экотоксикантов в Республике Башкортостан в атмосферный воздух в промышленных районах и в экологически благополучных районах в тоннах в год.

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 (Рис. 2).



Рисунок 2 - Данные проживающих детей с ВРГН 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%). 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%).

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%). 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%).

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.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ У ДЕТЕЙ С ВРГН

Распределение частот полиморфных маркеров генов ферментов глутатион-S- трансфераз и белков фолатного цикла соответствовало ожидаемому по уравнению Харди-Вайнберга.

Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов ферментов детоксикации ксенобиотиков *GSTP1*, *GSTT1*, *GSTM1*

При сравнении групп детей с ВРГН и контрольной группой статистически значимые различия были установлены для локуса *rs1695* гена *GSTP1* (рис. 3).

У детей с ВРГН достоверно значимо была 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 частоты 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).

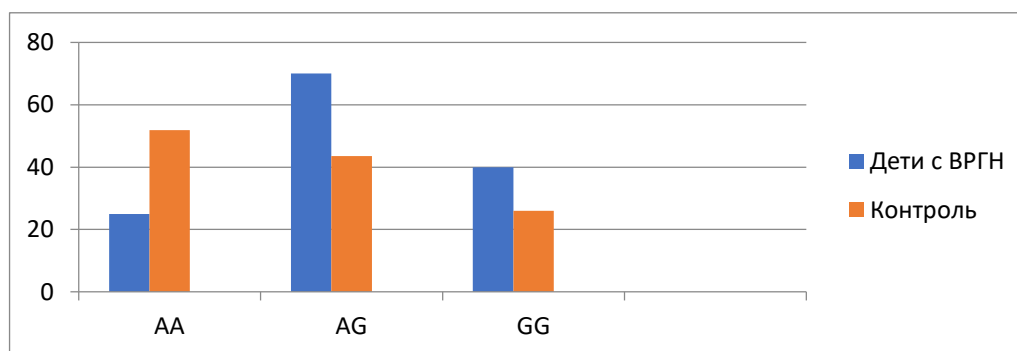


Рисунок 3 - Распространение частот генотипов локуса rs1695 гена GSTP1

Сравнительный анализ ассоциации распределения частот генотипов и аллелей генов *GSTT1* (делеция) и *GSTM1* (делеция) статистически значимых различий не выявил.

Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов белков фолатного цикла MTHFR, MTR, MTRR

У детей с ВРГН на уровне тенденции отмечено повышение частоты гомозигот GG и аллеля G локуса rs1801394 гена *MTRR* по сравнению с контролем (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 ассоциации 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 не выявил. Частоты генотипов в группе больных были сопоставимы с частотами контрольной выборки.

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

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ У МАТЕРЕЙ ДЕТЕЙ С ВРГН

Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов ферментов детоксикации ксенобиотиков *GSTP1*, *GSTT1*, *GSTM1*

Известно, что при одинаковом воздействии вредных факторов среды на организм беременной женщины не у всех рождаются дети с ВРГН. Это можно объяснить наличием генетически детерминированной индивидуальной чувствительностью организма на действие среды. В этой связи актуальным представлялось провести анализ полиморфных вариантов генов ферментов детоксикации ксенобиотиков и белков фолатного цикла у матерей детей с ВРГН.

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) (рис. 4).

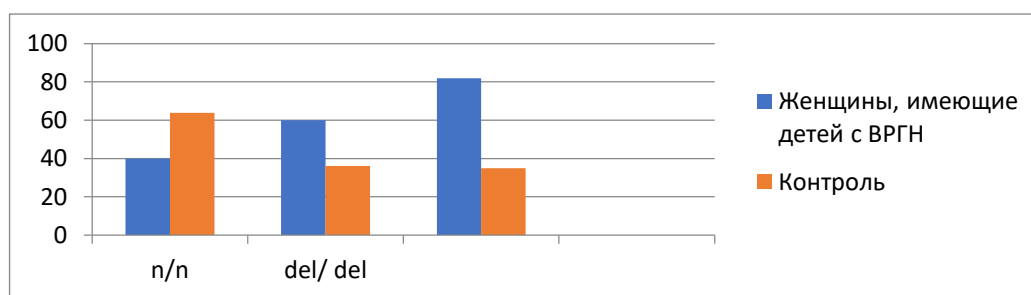


Рисунок 4 - Распространение частоты делеции гена *GSTM1*

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) (рис.4). Нами рассчитан показатель отношения шансов для данного полиморфного варианта *GSTM1*, который составил OR=5,3 (CI95% 1,4-20,6). Анализ делеции гена *GSTM1* в зависимости от места проживания матерей, существенных различий не выявил.

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=0,01). Показатель отношения шансов для данного полиморфного варианта *GSTP1*, который составил OR=6,1 (CI95% 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 ассоциаций полиморфных вариантов генов белков фолатного цикла MTHFR, MTR, MTRR

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

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

Анализ ген-генных взаимодействий у больных ВРГН

В своем исследовании мы применяли алгоритм всестороннего поиска (Exhaustive search algorithm), оценивающий все возможные комбинации полиморфных локусов генов глутинон -S –трансфераз, включенных в анализ. Статистически значимые модели межгенных взаимодействий приведены в таблице 2 и рисунках 5, 6.

Таблица 2 - Значимые модели межгенных взаимодействий полиморфных локусов генов глутинон -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> (<i>rs1695</i>)	4,9 (1,9-12,6)	0,64	0,003	10/10
<i>GSTT1</i> (del), <i>GSTP1</i> (<i>rs1695</i>)	4,5 (1,-11,7)	0,62	0,007	10/10

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 выбросов нефтехимической промышленности в атмосферном воздухе: 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Чуйкин С.В. Использование генетических маркеров для прогнозирования возникновения врожденной расщелины губы и нёба у детей [Текст] / Чуйкин С.В., Викторова Т.В., Чуйкин О.С., Гильманов М.В. // Врождённая и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения. Материалы V Всероссийской научно - практической конференции. - 2016. -С. 279-286.
2. Чуйкин С.В. Прогностическая значимость полиморфных вариантов -1298A>C И -677C>T гена MTHFR при врожденной патологии челюстно-лицевой области [Текст] /Чуйкин С.В., Гильманов М.В., Чуйкин О.С., Викторова Т.В. // Стоматология и челюстно-лицевая хирургия. Новые технологии в стоматологии. Материалы двенадцатого сибирского конгресса с международным участием, Всероссийского симпозиума. -2017. - С. 321-327.

3. Чуйкин О.С. Значение определения полиморфных вариантов -1298A>C И -677C>T гена метилентетрагидрофолатредуктазы в прогнозировании врожденной патологии челюстно-лицевой [Текст] / Чуйкин О.С., Топольницкий О.З., Гильманов М.В., Викторова Т.В., Макушева Н.В. // Проблемы стоматологии. - 2018. - Т. 14. - № 2. - С. 126-130.
4. Чуйкин О.С. Анализ полиморфизма гена метионинсинтазы-редуктазы в прогнозировании врожденной патологии челюстно-лицевой области [Текст] / Чуйкин О.С., Топольницкий О.З., Гильманов М.В., Викторова Т.В., Макушева Н.В. // Стоматология детского возраста и профилактика. - 2018. - Т. 18.- № 4-18 (67). - С. 57-60.
5. Чуйкин С.В. Алгоритм реабилитации детей с врожденной расщелиной губы и неба в регионе с экотоксикантами [Текст] / Чуйкин С.В., Давлетшин Н.А., Чуйкин О.С., Кучук К. Н., Джумартов Н. Н., Гринь Э. А., Гильманов М.В., Муратов А. М. // Проблемы стоматологии. -2019. - Т. 15. -№ 2. - С. 89-96.
6. Чуйкин С.В. Клинико-анатомические формы врожденной расщелины губы и неба в регионе с экотоксикантами [Текст] / Чуйкин С.В., Джумартов Н.Н., Чуйкин О.С., Кучук К.Н., Чуйкин Г.Л., Муратов А.М., Гильманов М.В., Гринь Э. А. // Проблемы стоматологии. -2019. -Т. 15. -№ 3. -С. 127-132.
7. Чуйкин С.В. Применение генетических маркеров детоксикации ксенобиотиков и фолатного цикла в прогнозировании врожденной расщелины губы и неба [Текст] / Чуйкин С.В., Викторова Т.В., Чуйкин О.С., Гильманов М.В. // Dental Forum. -2019. -№ 4. -С. 108-109.
8. S. V. Chuykin. RIZIKOVÁ STUDIE KONGENITÁLNÍHO MLÁDEŽSKÉHO LIPU A KOMORY S ANALÝZOU GSTP1 A MTRR GENE / S. V. Chuykin, O. S. Chuykin, T. V. Viktorova, M. V. Gilmanov, A. M. Muratov // News of Science and Education. - 2019. -Т. 11. -№ 6. -С. 13-16.
9. S. V. Chuykin. Prediction of cleft lip and palate with the application of genetic markers of folic acid and genes of detoxication of xenobiotics in regions with ecotoxicants / S. V. Chuykin, O. S. Chuykin, T. V. Viktorova, M. V. Gilmanov, O. S. Tselousova, A. M. Muratov // 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, -165 с.

10. S. V. Chuykin. Prevalence and clinical and anatomic forms of cleft lip and palate in regions with ecotoxicants / S. V. Chuykin, O. S. Chuykin, N. A. Davletshin, M. V. Gilmanov, N. N. Dzhumartov, E. A. Grin // 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, -221 с.

11. S. V. Chuykin. Studying the risk of congenital cleft lip and palate with analysis of the GSTP1 and MTRR gene / S. V. Chuykin, O. S. Chuykin, T. V. Viktorova, M. V. Gilmanov, A. M. Muratov // Международная научная конференция. - Великобритания, г. Шеффилд. -2019, -№ 11 том 6. -С. 13-17.

12. O. S. Chuykin. Risk factors for congenital malformations of the maxillofacial region / O. S. Chuykin, T. V. Viktorova, M. V. Gilmanov, A. M. Muratov, I. Sh. Galiakberov // American Scientific Journal - № (31)/2019 - Vol. 2 - С. 11 – 14.

13. Чуйкин С.В. Применение генетических маркеров фолиевой кислоты и генетических маркеров детоксикации ксенобиотиков в прогнозировании врожденной расщелины губы и неба [Текст] / Чуйкин С.В., Гильманов М.В., Викторова Т.В., Чуйкин О.С., Муратов А. М. // Материалы 6-ой Международной научно-практической конференции «Врожденная и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения», 21-22 ноября 2019, - С. 219-222.

14. Чуйкин С.В. Анализ частоты рождения детей с врожденными пороками развития в городе с нефтехимической промышленностью [Текст] / Чуйкин С.В., Андрианова Ю. В., Чуйкин О.С., Кучук К.Н., Макушева Н. В., Гильманов М.В. // Проблемы стоматологии. -2020. -Т. 16. -№ 1. -С. 139-142.

15. Чуйкин О.С. Соматические заболевания у детей с врожденной расщелиной губы и неба в регионе с промышленными нефтехимическими экотоксикантами [Текст] / Чуйкин О.С., Акатьева Г.Г., Макушева Н.В., Кучук К.Н., Гильманов М.В. // Проблемы стоматологии. -2021. -Т. 17. № 2. -С. 121-126.

16. Чуйкин С.В. Сопутствующие заболевания у детей с врожденной расщелиной губы и неба в регионе с промышленными экотоксикантами [Текст] / Чуйкин С. В., Акатьева Г. Г., Кучук К. Н., Чуйкин О. С., Макушева Н. В., Гильманов М. В., Муратов А. М. // Вопросы практической педиатрии. Scopus -2021. – Т. 16. - № 5. – С. 44-49.

17. Чуйкин О.С. Прогнозирование врожденной расщелины губы и нёба при планировании беременности с применением генетических маркеров в регионе с экотоксикантами [Текст] / Чуйкин О. С., Викторова Т. В., Гильманов М. В., Кочетова О. В., Кучук К. Н. // Вопросы практической педиатрии. Scopus -2022. – Т. 17. - № 2. – С. 41-46.

ПАТЕНТЫ:

Патент РФ №RU2760786 26.03.2021 Способ прогнозирования врожденной расщелины губы и нёба у ребенка при планировании беременности в регионе с экотоксикантами с применением генетических маркеров. / Чуйкин О. С., Гильманов М. В., Викторова Т. В., Кучук К. Н., Кочетова О. В. // Бюл. №34.- 30.11.2021.

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук

Подписано к печати _____

Отпечатано на цифровом оборудовании с готового
оригинал-макета, представленного авторами.

Формат 60x84 ¹/₁₆. Усл.-печ. л. 1,4. Тираж

120 экз. Заказ № ____.

450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

Тел.: (347)272-86-31, e-mail: izdat@bashgmu.ru

ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России