

РОЛЬ МИКРОПРИЗНАКОВ У РОДИТЕЛЕЙ В ЭТИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ ВРОЖДЕННЫХ РАСЩЕЛИН ВЕРХНЕЙ ГУБЫ И НЁБА У ДЕТЕЙ

Пулатова Барно Журахоновна

Соискатель

Ташкентский государственный стоматологический институт

Узбекистан, Ташкент

info@stdi.uz

Ризаев Жасур Алимджанович

Доктор медицинских наук, профессор

Ташкентский государственный стоматологический институт

Узбекистан, Ташкент

dr.jasur@gmail.com

Сапарбаев Миржалол Кахрамонович

Самаркандский государственный медицинский институт

Узбекистан, Самарканд

sammi@sammi.uz

Комплексное молекулярно-генетическое обследование является одним из ключевых этапов медицинского сопровождения пациентов с врожденной расщелиной верхней губы и нёба (ВРГН), которое включает: постановку точного диагноза, выяснение риска повторения порока развития в семье и консультирование о прогнозе заболевания [1]. Результаты исследования явились основанием для усовершенствования алгоритма обследования детей с ВРГН [7, 11]. Принципиально новым в нашем исследовании явилась диагностика ВРГН, направленная при обнаружении у родителей орофациальных признаков содержание полиморфизма генов маркеров предрасположенности к ВРГН. Выявлено носительство гетерозиготного варианта гена GSTP1Val105 у родителей, которое в сочетании с неблагоприятными факторами внешней среды служит фактором риска развития ВРГН у детей; установлена взаимосвязь при обнаружении полиморфизма гена GSTP1Val105 –генотипов A/G у родителей и детей с ВРГН, фенотипически выраженное наличием таких орофациальных микропризнаков, как диастема, короткое нёбо, короткая уздечка языка и прогения, что существенно расширило представление о патогенезе заболевания [10].

Ключевые слова: *Микропризнаки; расщелина верхней губы и нёба; полиморфизм гена; генотипы; молекулярно-генетическое исследование.*

ROLE OF MICROSINGNS IN THE RISK OF CONGENITAL CLEFT UPPER LIP AND PALATE

Pulatova B.J.

Degree Seeker

Tashkent State Dental Institute,

Uzbekistan, Tashkent

info@stdi.uz

Rizaev J.A.

DD, Professor

Tashkent State Dental Institute

Uzbekistan, Tashkent

dr.jasur@gmail.com

Saparbaev M.K.

Samarkand State Medical Institute

Uzbekistan, Samarkand

sammi@sammi.uz

Comprehensive molecular genetic examination is one of the key stages of medical support for patients with congenital cleft lip and palate (CCLP), which includes: making an accurate diagnosis, determining the risk of repetition of malformation in the family and advising on the prediction of the disease [1]. The results of the study were the basis for improving the algorithm of the examination of children with CCLP [7, 11]. A fundamentally new feature of this study is the diagnosis of CCLP, which is aimed at detecting orofacial signs of the polymorphism of marker genes with a predisposition to CCLP in parents. Heterozygous variant of GSTP1Val105 gene was revealed to be carried by parents, which in combination with unfavorable environmental factors serves as a risk factor for the development of GSTP1Val105 gene A/G polymorphism in parents and children with GSTP1Val105 gene, phenotypically expressed by the presence of such orofacial micro indicators as: diastema, short palate, short frenulum of the tongue and progeny, which significantly expanded the understanding of the pathogenesis of the disease [10].

Keywords: *micro indications, cleft upper lip and palate, polymorphism of genes, genotypes, molecular genetic study.*

Цель исследования: Определить значение микроаномалий в популяции родителей в этиологии риска развития расщелины верхней губы и нёба у детей

Материалы и методы исследования:

Исследования проводились на кафедре детской челюстно-лицевой хирургии Ташкентского государственного стоматологического института, Самаркандского государственного медицинского института и молекулярно-генетической лаборатории Республиканского научно-практического центра

спортивной медицины. Образцы крови были взяты у 80 больных и их родителей на базе Республиканского научно-практического центра реабилитации детей с врожденными и приобретенными деформациями. Исследования проводились на основе выборки детей с ВРГН и изолированной ВРН в 2019 году. При отборе конкретных лиц учитывали их национальную принадлежность, исследуемые являлись этническими узбеками. Забор биологического материала для выделения ДНК осуществляли с учетом установленного порядка прав человека, который производили после медицинского осмотра с письменного согласия испытуемых. (*Всеобщая декларация о геноме человека и правах человека* (11 ноября 1997 г.).

Геномную ДНК выделяли из цельной периферической венозной крови. Забор крови проводили с использованием вакуумной системы, содержащей в качестве антикоагулянта К2-ЭДТА. Выделение ДНК проводили в соответствии с инструкцией набора для выделения ДНК/РНК (Рибо-преп, Интерлабсервис, Россия). Генотипирование образцов ДНК по гену *GSTP1* проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием олигонуклеотидных праймеров и аллель-специфичных флуоресцентных зондов с использованием набора для проведения ПЦР-РВ (*производство набора* компании ООО «Литех» (г. Москва, Россия). Полученные результаты документировались в виде роста кривых по двум детекторам FAM и JOE в графическом режиме на соответствующей программе.

Для оценки соответствия распределений наблюдаемых генотипов и ожидаемым их значениям при равновесии уравнения Хайди-Вайнберга и для сравнения распределений частот генотипов и аллелей в группах больных и здоровых использовали критерий χ^2 Пирсона. Различия рассматривали как достоверные при уровнях значимости $p < 0,05$. Об ассоциации генотипов с предрасположенностью к заболеванию судили по величине шансов (OR) 95% доверительным интервалом (CI).[1,4]

Результаты исследования и их обсуждение. При проведении исследований в нашей работе были выявлены три генотипа по полиморфизму гена *GSTP1*: ILE/ILE-гомозиготы по нормальному аллелю, ILE/VAL-гетерозиготы, VAL/VAL-гомозиготы по мутантному аллелю.

У 80 исследованных было определено следующее распределение генотипов: ILE/ILE -16,8(21%), ILE/VAL-48 (60%), VAL/VAL-15,2(19%) .

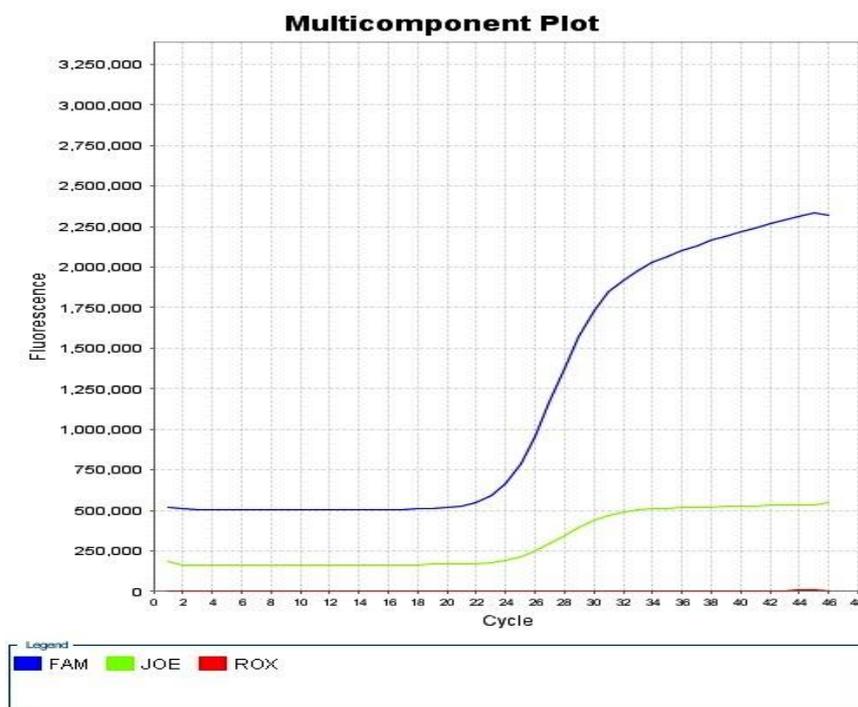


Рисунок 1 – Результат проведения ПЦР - амплификации в режиме реального времени. Представлен гетерозиготный генотип ILE/VAL гена *GSTP1*

Распределение частот генотипов изучаемого полиморфного варианта гена *A105G* гена проводилось отдельно в контрольной группе и в группе больных и соответствовало нормальному распределению уравнения Харди-Вайнберга в обеих группах [8, 9], что отражено в таблице 1.

Таблица 1 – Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма *A105G* гена *GSTP1* в группах больных и контроля

Группы	Аллели				Генотипы					
	A		G		A/A		A/G		G/G	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1.Основная группа n=38	37	48,7	39	51,3	6	15,3	25	65,8	7	18,4
2.Контрольная группа n=131	185	70,6	77	29,4	61	46,6	63	48,1	7	5,3

Сравнительный анализ частот аллелей в группе больных с ВРГН по Таблице 2 отмечалась тенденция к накоплению гена мутантного аллеля G по сравнению с контрольной группой в 1,7 раза ($p=0.0004$, $OR=2,53$, $95\%CL=1.50-4.27$). Частота гомозигот по норматипу A/A в группе больных с ВРГН составила 48,7 % и встречалась реже в 1,4 раза по сравнению с контролем (70,6%); при этом различия приближались к уровню статистически значимых ($\chi^2=12,56$; $p=0.0004$, $OA=0.39$; $95\%CL=0.23 - 0.67$). Частота гетерозигот A/G в группе больных составила 65,8 % и встречалась реже в 1,4 раза по сравнению контролем (48,1%); при этом различия приближались к уровню статистически значимых ($\chi^2=14.89$; $p=0.0006$; $OA=2.08$; $95\%CL=0.98 - 4.41$). Частота гомозигот по дикому

аллелю в группе больных с ВРГН составила 18,4% и встречалась чаще в 3,5 раза по сравнению с контролем (5,3%) при достоверной разнице ($\chi^2=14.89$; $p=0.0006$; $OA=4.00$; $95\%CL=1.31 - 12.25$)

Таблица 2 – Различия в частоте аллельных и генотипических вариантов полиморфизма A105G гена *GSTP1* в основной группе больных и контрольной выборке

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов				χ^2	p	OA	95% CI
	Основная		Контроль					
	n	%	n	%				
A	37	48,7	185	70,6	12,56	0.0004	0.39	0.23 – 0.67
G	39	51,3	77	29,4			2.53	1.50 – 4.27
A/A	6	15,3	61	46,6	14.89	0.0006	0.22	0.08 – 0.55
A/G	25	65,8	63	48,1			2.08	0.98 – 4.41
G/G	7	18,4	7	5,3			4.00	1.31 – 12.25

df = 2

Частота гомозигот по аллелю А в группе родителей, как видно из Таблицы 3 составила 19 % и встречалась чаще почти в два раза по сравнению с родителями здоровых детей (11,3%); при этом различия приближались к уровню статистически значимых ($\chi^2=3.64$; $p=0.16$, $OA=1.85$; $95\%CL=0.79 - 4.31$). По полученным результатам, частота гетерозигот А/Г в группе родителей составила 54,8 % и встречалась чаще в 1,1 раза по сравнению контролем (49,7%); при этом различия приближались к уровню статистически значимых ($\chi^2=3,64$; $p=0.16$; $OA=1.23$; $95\%CL=0.64 - 2.34$) (Табл.4). Частота гомозигот по дикому аллелю в группе родителей составила 26,2% и встречалась реже в 1,5 раза по сравнению с контролем (5,3%) при достоверной разнице ($\chi^2=3.64$; $p=0.16$; $OA=0.55$; $95\%CL=0.27 - 1.14$).

Таблица 3 – Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма A105G гена *GSTP1* в группах родителей больных и контроля

Группы	Аллелей				Генотипы					
	A		G		A/A		A/G		G/G	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1.Основная группа n=42	39	46,4	45	53,6	8	19	23	54,8	11	26,2
2.Контрольная группа n=226	224	49,5	228	51,5	35	11,3	154	49,7	121	39

Таблица 4 – Различия в частоте аллельных и генотипических вариантов полиморфизма A105G гена *GSTP1* в основной группах родителей больных и контроля

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов				χ^2	p	ОА	95% CI
	Основная		Контроль					
	n	%	n	%				
A	39	46,4	224	49,5	3.35	0.07	1.53	0.97 – 2.42
G	45	53,6	228	51,5			0.65	0.41 – 1.03
A/A	8	19	35	11,3	3.64	0.16	1.85	0.79 – 4.31
A/G	23	54,8	154	49,7			1.23	0.64 – 2.34
G/G	11	26,2	121	39			0.55	0.27 – 1.14

df = 2

Примечания: n-абсолютное число; %-процент лиц с исследуемым генотипом; χ^2 Хи-квадрат

p-значение (df = 2); OR(95% CI) – отношение шансов с 95 % доверительными интервалами;

Данные, полученные другими исследователями, также обнаруживают ассоциацию исследуемого гена с повышенным риском развития ВРГН [1, 6].

Данный ген входит в суперсемейство генов цитохромов, которые участвуют в метаболизме ксенобиотиков, в том числе соединений, которые могут оказывать токсическое воздействие на плод [2, 3]. Возможно, носительство вариантного аллеля данного гена может влиять на механизмы детоксикации экзогенных соединений и приводить к накоплению токсичных промежуточных метаболитов, обладающих тератогенными свойствами [4, 5]

Выводы. В результате проведенного нами анализа можно сделать вывод о том, что в структуре ВРГН у детей, родившихся в Узбекистане, преобладают пороки развития мультифакториального генеза, а также анализ ассоциации полиморфизма A105G гена *GSTP1* с риском развития ВРГН показал, что в популяции исследуемый ген может быть ассоциирован с повышенным риском развития ВРГН при рождении детей у родителей с орофациальными микропризнаками. Мы наблюдали существенное снижение частоты носителей нормального аллеля в группе больных ВРГН.

Список литературы:

а. Мещерякова, Т. И. Анализ генетических причин развития врожденной расщелины губы и/или нёба : Дис. кандмед. наук / Т. И. Мещерякова. – Москва, 2015. – 117 с.

2. Куценко, С.А. Основы токсикологии. / С. А. Куценко. – СПб, 2002. – С. 395.

3. Iqbal, M. Placent drug transporters and their role in fetal protection / M. Iqbal // Placenta. – 2012. – Vol. 33. – P.137-142.

4. Чуйкин, С. В. Влияние неблагоприятных факторов окружающей среды на распространенность врожденных пороков челюстно-лицевой области у детей в Республике Башкортостан / С. В. Чуйкин, Ю. В. Андрианова, И. М. Габзалилов // Современные методы профилактики лечения заболеваний пародонта : Матер. Всерос. симпозиума. – Уфа, 2004. – С. 295.

5. Геном человека и гены «предрасположенности». Введение в предиктивную медицину / В. С. Баранов [и др.]. – СПб : Интермедика, 2000. – С. 272.

6. Fetal polymorphisms at the ABCB1-transporter gene locus are associated with susceptibility to non-syndromic oral cleft malformations / A. Omouni [et al] // Eur J Hum Genet. – 2013. – Vol.27

7. Introduction in clinical practice of the basic principles of complex rehabilitation of children with congenital cleft of the upper lip and palate / В. Pulatova [et al] // Journal of Research in Health Science. – 2019. – Vol. 3-4, issue 3. – P. 4-7

8. <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GSTP1&keywords=GSTP1>

9. Association between glutathione S-transferase P1Ile (105) Val gene polymorphism and chronic obstructive pulmonary disease: A meta-analysis based on seventeen case-control studies / Y. Lingjing [et al] // Elsevier. Meta Gene. – 2015. – Vol. 6. – P. 59-64

10. Пулатова, Б. Ж. Диагностическое значение микропризнаков у родителей в этиологии развития расщелин верхней губы и нёба у детей. / Б. Ж. Пулатова, Ж. А. Ризаев, Ш. М. Бокиев // Актуальные проблемы стоматологии : Матер. V Междунар. научно-практ. конф. – Санкт-Петербург, 2019. – С. 33-41.

11. Azamatovich S. R. The functional state of platelets in children with congenital cleft palate with chronic foci of infection in the nasopharynx and lungs / S. R. Azamatovich, R. Z. Alimdzhанovich // International scientific review, 2019.