

DOI: 10.18481/2077-7566-2024-20-4-161-167

УДК 616.31-08-039.71

## ПОВРЕЖДЕНИЕ ДНК У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННОЙ РАСЩЕЛИНОЙ ГУБЫ И НЕБА В РЕГИОНЕ С ЭКОТОКСИКАНТАМИ

Чуйкин О. С.<sup>1</sup>, Топольницкий О. З.<sup>2</sup>, Каримов Д. О.<sup>3</sup>, Каримов Д. Д.<sup>3</sup>, Кучук К. Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Россия

<sup>2</sup> Российский университет медицины, г. Москва, Россия

<sup>3</sup> Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека, г. Уфа, Россия

### Аннотация

**Предмет.** Многие исследователи подчеркивают, что большинство врожденных пороков имеют мультифакториальную природу и, наряду с рядом других заболеваний (новообразования, бронхиальная астма и т. д.), могут служить индикаторами неблагоприятного состояния окружающей среды. В числе ключевых мишеней негативного воздействия экологических и производственных факторов в организме человека выделяют молекулу ДНК.

**Цель.** Провести анализ выраженности нарушений целостности ДНК (фрагментации) у детей с врожденной расщелиной губы и неба из регионов с промышленными нефтехимическими экотоксикантами с применением гель-электрофореза одиночных лейкоцитов.

**Методология.** Всего было отобрано 60 детей с ВРГН из регионов с промышленными нефтехимическими экотоксикантами, а также 40 детей без соответствующей патологии из тех же регионов, включенных в контрольную группу. Оценку уровня повреждения ДНК проводили на лимфоцитах периферической крови доноров в возрасте 5–12 лет. Степень повреждения ДНК в одиночных лейкоцитах венозной крови определяли щелочным вариантом метода ДНК-комет путем проведения щелочного гель-электрофореза отдельных клеток.

**Результаты.** Анализ полученных данных свидетельствует о высоком уровне генотоксического стресса у детей с врожденной расщелиной губы и неба (ВРГН), существенно отличающемся от аналогичных показателей в контрольной группе. Достоверные различия по ряду ключевых параметров (длина хвоста, процент ДНК в хвосте, хвостовой момент) указывают на более интенсивные процессы фрагментации дезоксирибонуклеиновой кислоты у пациентов с врожденными аномалиями. В совокупности эти результаты позволяют предположить, что у данной когорты имеется повышенная чувствительность к неблагоприятным факторам внешней среды, в частности, к токсическим и мутагенным веществам, присутствующим в местах постоянного проживания этих пациентов.

**Выводы.** Полученные данные являются новым аспектом в патогенезе врожденной расщелины губы и неба и могут быть использованы для прогнозирования данного порока у детей, проживающих в регионе с промышленными нефтехимическими экотоксикантами.

**Ключевые слова:** врожденная расщелина губы, врожденная расщелина неба, врожденная расщелина губы и неба, регион с экотоксикантами, метод ДНК-комет, повреждение ДНК, прогнозирование

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Олег Сергеевич ЧУЙКИН** ORCID ID 0000-0003-4570-4477

к.м.н., доцент кафедры детской стоматологии и ортодонтии, Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Россия  
chuykin2014@yandex.ru

**Орест Зиновьевич ТОПОЛЬНИЦКИЙ** ORCID ID 0009-0004-7275-5872

д.м.н., профессор, заведующий кафедрой детской челюстно-лицевой хирургии, Российский университет медицины, г. Москва, Россия  
info@dental-studio.su

**Денис Олегович КАРИМОВ** ORCID ID 0000-0003-0039-6757

к.м.н., заведующий отделом токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных, Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека, г. Уфа, Россия  
karimovdo@gmail.com

**Денис Дмитриевич КАРИМОВ** ORCID ID 0000-0002-1962-2323

к.б.н., старший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных, Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека, г. Уфа, Россия  
karimovdo@gmail.com

**Кристина Николаевна КУЧУК** ORCID ID 0000-0003-0352-1533

к.м.н., доцент кафедры детской стоматологии и ортодонтии, Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Россия,  
christina.kuchuk@yandex.ru

**Адрес для переписки: Олег Сергеевич ЧУЙКИН**

450076, г. Уфа, ул. Гафури, д. 54, кв. 27

+7 (917) 3433432

chuykin2014@yandex.ru

### Образец цитирования:

Чуйкин О. С., Топольницкий О. З., Каримов Д. О., Каримов Д. Д., Кучук К. Н.

ПОВРЕЖДЕНИЕ ДНК У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННОЙ РАСЩЕЛИНОЙ ГУБЫ И НЕБА В РЕГИОНЕ  
С ЭКОТОКСИКАНТАМИ. Проблемы стоматологии. 2024; 4: 00.

© Чуйкин О. С. и др., 2024

DOI: 10.18481/2077-7566-2024-20-4-161-167

Поступила 26.12.2024. Принята к печати 22.01.2025

DOI: 10.18481/2077-7566-2024-20-4-161-167

## DNA DAMAGE IN CHILDREN WITH CONGENITAL CLEFT LIP AND PALATE IN A REGION WITH ECOTOXICANTS

Chuykin O.S.<sup>1</sup>, Topolnitsky O.Z.<sup>2</sup>, Karimov D.O.<sup>3</sup>, Karimov D.D.<sup>3</sup>, Kuchuk K.N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

<sup>2</sup> Russian University of Medicine, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, Ufa, Russia

### Annotation

**Subject.** Many researchers emphasize that most congenital defects have a multifactorial nature and, along with a number of other diseases (neoplasms, bronchial asthma, etc.), can serve as indicators of an unfavorable state of the environment. Among the key targets of the negative impact of environmental and industrial factors in the human body, the DNA molecule is distinguished.

**Objective.** To analyze the severity of DNA integrity disorders (fragmentation) in children with congenital cleft lip and palate from regions with industrial petrochemical ecotoxics using gel electrophoresis of single leukocytes.

**Methodology.** A total of 60 children with congenital cleft lip and palate from regions with industrial petrochemical ecotoxics were selected, as well as 40 children without the corresponding pathology from the same regions included in the control group. The level of DNA damage was assessed on peripheral blood lymphocytes of donors aged 5–12 years. The degree of DNA damage in single leukocytes of venous blood was determined by the alkaline version of the DNA comet assay by performing alkaline gel electrophoresis of individual cells.

**Results.** The analysis of the obtained data indicates a high level of genotoxic stress in children with congenital cleft lip and palate (CLPP), which differs significantly from similar indicators in the control group. Reliable differences in a number of key parameters (tail length, percentage of DNA in the tail, tail moment) indicate more intense processes of fragmentation of deoxyribonucleic acid in patients with congenital anomalies. Taken together, these results suggest that this cohort has an increased sensitivity to adverse environmental factors, in particular, to toxic and mutagenic substances present in their places of permanent residence.

**Conclusions.** The obtained data are a new aspect in the pathogenesis of congenital cleft lip and palate and can be used to predict this defect in children living in a region with industrial petrochemical ecotoxics.

**Keywords:** congenital cleft lip, congenital cleft palate, congenital cleft lip and palate, region with ecotoxics, DNA comet assay, DNA damage, forecasting

The authors declare no conflict of interest.

**Oleg S. CHUYKIN** ORCID ID 0000-0003-4570-4477

PhD in Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia  
chuykin2014@yandex.ru

**Orest Z. TOPOLNITSKY** ORCID ID 0009-0004-7275-5872

Grand PhD in Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pediatric Maxillofacial Surgery, Russian University of Medicine, Moscow, Russia  
info@dental-studio.su

**Denis O. KARIMOV** ORCID ID 0000-0003-0039-6757

PhD in Medical Sciences, Head of the Department of Toxicology and Genetics with an Experimental Clinic of Laboratory Animals, Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, Ufa, Russia  
karimovdo@gmail.com

**Denis D. KARIMOV** ORCID ID 0000-0002-1962-2323

PhD in Medical Sciences, Senior Researcher, Department of Toxicology and Genetics with an Experimental Clinic of Laboratory Animals, Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, Ufa, Russia  
karimovdo@gmail.com

**Kristina N. KUCHUK** ORCID ID 0000-0003-0352-1533

PhD in Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia  
christina.kuchuk@yandex.ru

**Address for correspondence: Oleg S. CHUYKIN**

Gafuri str. 54–27, Ufa, Russia 450076

+7 (917) 3433432

chuykin2014@yandex.ru

### For citation:

Chuykin O.S., Topolnitsky O.Z., Karimov D.O., Karimov D.D., Kuchuk K.N.

DNA DAMAGE IN CHILDREN WITH CONGENITAL CLEFT LIP AND PALATE IN A REGION WITH ECOTOXICANTS. *Actual problems in dentistry*. 2024; 4: 00. (In Russ.)

© Чуйкин О. С. et al., 2024

DOI: 10.18481/2077-7566-2024-20-4-161-167

Received 26.12.2024. Accepted 22.01.2025

### Актуальность

Врожденные пороки у детей служат косвенным показателем экологического состояния региона. Врожденная расщелина губы и неба является одним из распространенных врожденных пороков, и средний уровень по России составляет 1 : 800 живорожденных детей, а в регионах с промышленными нефтехимическими экотоксикантами данный показатель составляет до 1 : 250–1 : 176 детей [16, 18–20].

В Республике Башкортостан сосредоточены предприятия нефтехимической и нефтеперерабатывающей промышленности, которые выбрасывают в окружающую среду такие вещества, как бенз (а) пирен и формальдегид. Экологический мониторинг атмосферного воздуха показывает неоднократные превышения предельно допустимой концентрации (ПДК) по вышеуказанным веществам в регионах с нефтехимическими и нефтеперерабатывающими заводами [17]. Бенз (а) пирен и формальдегид относятся к веществам I и II класса опасности по влиянию на процессы в организме человека, в том числе на формирование плода в утробе матери, и характеризуются эмбриотоксическим и цитотоксическим свойством, вызывают врожденные пороки у плода при повышении предельно допустимой концентрации и накапливаются в организме матери при длительном проживании в регионе с нефтехимической и нефтеперерабатывающей промышленностью.

Ранее нами было обследовано 5570 детей с врожденными расщелинами губы и неба, среди которых 58,26% (3245 детей) родились в районах с высоким уровнем промышленных нефтехимических экотоксикантов в воздухе, и 41,74% (2325) — в районах с нормальным уровнем загрязняющих веществ в воздухе [16].

Тяжелые клинико-анатомические формы врожденных расщелин — расщелина неба и комбинированная расщелина губы, неба и альвеолярного отростка — были в 78,77% (2556 детей) случаев в районах с высоким уровнем промышленных нефтехимических экотоксикантов в атмосферном воздухе, и 68,0% (1581 детей) — в районах с нормальным уровнем загрязняющих веществ в воздухе [16].

Согласно определению Всемирной организации здравоохранения, врожденные пороки развития (ВПР) представляют собой любые морфологические, функциональные, биохимические или молекулярные аномалии, которые могут возникнуть в период от оплодотворения до рождения и обнаруживаются как при рождении, так и на более поздних этапах онтогенеза [1]. По данным статистики, ежегодно примерно 3 миллиона плодов и новорожденных появляются на свет с серьезными пороками развития. ВПР занимают одно из ведущих мест среди причин неонатальной смертности, мертворождений и инвалидизации населения в глобальном масштабе. Одной из наиболее значимых форм ВПР считаются врожденные расщелины губы и неба (ВРГН) [2].

Многие исследователи подчеркивают, что большинство врожденных пороков имеют мультифакториальную природу и, наряду с рядом других заболеваний (новообразования, бронхиальная астма и т. д.), могут служить индикаторами неблагоприятного состояния окружающей среды [3–5]. В числе ключевых мишеней негативного воздействия экологических и производственных факторов в организме человека выделяют молекулу ДНК. Хромосомная ДНК способна повреждаться под влиянием эндогенных и экзогенных генотоксических агентов, вызывающих окисление азотистых оснований и разрывы цепей, что, в свою очередь, приводит к снижению уровня спирализации и росту электрофоретической подвижности ДНК [6].

Для качественной и количественной оценки степени повреждения ДНК в клетках широко применяется метод ДНК-комет (гель-электрофорез одиночных клеток), позволяющий измерять расстояние миграции фрагментов хромосомной ДНК, которое непосредственно коррелирует с выраженностью повреждений [7–9]. Принцип данного метода основывается на том, что в условиях разрыва цепей ДНК нарушается структурная организация хроматина и утрачивается сверхспирализация, инициируя формирование релаксированных петель и фрагментов, мигрирующих к аноду в электрическом поле. Этот процесс визуализируется в виде характерной «ДНК-кометы» [10]. Методика ДНК-комет признана чувствительным и надежным способом выявления генотоксических изменений в различных тканях и органах человека, что делает ее востребованной в таких областях, как токсикология, биомониторинг, радиационная биология, а также исследования в сфере питания и онкологии [11–13].

Таким образом, при учете значимости повреждений ДНК как одного из центральных патогенетических механизмов при формировании врожденных дефектов, данное исследование было направлено на анализ степени фрагментации ДНК у детей с врожденной расщелиной губы и неба посредством метода гель-электрофореза единичных лейкоцитов.

**Цель исследования:** провести анализ выраженности нарушений целостности ДНК (фрагментации) у детей с врожденной расщелиной губы и неба с применением гель-электрофореза одиночных лейкоцитов.

### Материалы и методы

Объектом исследования послужили пациенты Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Республиканская детская клиническая больница». Всего было отобрано 60 детей с ВРГН из регионов с промышленными нефтехимическими экотоксикантами, а также 40 детей без соответствующей патологии из тех же регионов, включенных в контрольную группу. Оценку уровня повреждения ДНК проводили на лимфоцитах периферической крови доноров в возрасте 5–12 лет, давших письменное согласие родителей или законных представителей на участие в исследовании.

Критерии невключения в исследование: врожденные пороки лица в анамнезе у близких родственников ребенка, соматические заболевания у ребенка, острые инфекционные и воспалительные заболевания на момент забора крови.

Проект был рассмотрен и одобрен локальным этическим комитетом.

Размер выборки рассчитывали по формуле для бесповторного отбора с помощью программы StatTech (Россия, Казань), учитывая генеральную совокупность (N) в 3000 случаев. Формально расчет выполняли по формуле:

$$n = \frac{t^2 \times \sigma^2}{\Delta^2},$$

где:  $n$  — расчетный объем выборки,  $t$  — значение доверительного коэффициента,  $\sigma$  — значение среднего квадратического отклонения,  $\Delta$  — предельно допустимая ошибка.

Мы подсчитали, что для обнаружения минимальной клинически значимой разницы ( $\delta$ ) повреждения ДНК в 3 микрометра потребуется 10 пациентов. Расчеты были основаны на мощности 80%;  $\alpha = 0,05$  и 95% доверительном интервале, с предельно допустимой ошибкой ( $\Delta$ ) 2 и среднего квадратического отклонения ( $\sigma$ ) 2 при случайном формировании выборки [14]. Расчетная численность генеральной совокупности (N) была принята за 3000 случаев.

Степень повреждения ДНК в одиночных лейкоцитах венозной крови определяли щелочным вариантом метода ДНК-комет, согласно методическим рекомендациям МР 4.2.0014–10 с небольшими изменениями [15]. Лимфоциты выделяли из периферической крови доноров с помощью стандартного метода седиментации в градиенте плотности фиколла.

Уровень фрагментации ДНК в лимфоцитах периферической крови определяли путем проведения щелочного гель-электрофореза отдельных клеток (метод ДНК-комет). Образцы лимфоцитов в объеме 50 мкл вносили в пробирки с 500 мкл 1% раствора легкоплавкой агарозы, ресуспендировали и наносили на предварительно подготовленные предметные стекла. Микропрепараты лизировали охлажденным соевым буфером (10 mM Tris-HCl [pH 10], 2,5 M NaCl, 100 mM EDTA-Na<sub>2</sub>, 1% TritonX-100, 10% DMSO) не менее 1 часа. После окончания лизиса микропрепараты инкубировали с щелочным буфером для электрофореза, содержащим 300 mM NaOH, 1 mM EDTA-Na<sub>2</sub>, pH > 13 в течение 20 минут для выявления щелочнолабильных сайтов и одонитетивных разрывов ДНК. Электрофорез проводили в течение 20 минут при напряженности поля 1 V/cm и силе тока ~300 mA. Микропрепараты ДНК-комет окрашивали красителем SYBR Green I (Lumiprobe, 1 : 10000 в TE-буфере) в течение 30 мин. и анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа Zeiss Axio Imager.D2 под 100-кратным увеличением с использованием цифровой фотокамеры AxioCam MRc5.

Статистическая обработка исходных данных проводилась в среде Visual Studio Code (VS Code) на языке программирования Python 3.9 с использованием библиотеки SciPy для проверки нормальности распределения (критерий Д'Агостино и Пирсона, функция normaltest). В случае, если распределение показателей (например, Tail DNA Percent или Tail Moment) в обеих группах оказывалось близким к нормальному, для сравнения средних значений применялся t-тест (тест Стьюдента), при ненормальном распределении использовался критерий Манна–Уитни. Дополнительно, в целях более точной оценки доверительных интервалов, в анализ был включен бутстрап-метод (Monte-Carlo bootstrap) с 10000 итерациями, позволяющий вычислять разницу средних значений двух независимых групп и ее 95%-й доверительный интервал. В процессе описательной статистики для каждой из групп (дети с врожденной расщелиной губы и неба и контрольная группа) рассчитывались среднее арифметическое (Mean), стандартная ошибка (SE), Mean  $\pm$  SE, медиана, а также квартильный размах [Q1–Q3]. Кроме того, в ходе исследования определяли основные параметры, связанные с уровнем повреждения ДНК: среднее содержание фрагментов поврежденной ДНК в хвосте кометы (Tail DNA Percent, %), хвостовой момент (Tail Moment) [Kuchařová, 2019] и модифицированный показатель по Оливе (Olive tail moment, OTM) [Olive PL, 2005]. Для иллюстрации результатов выводились вычисленные значения средней длины хвоста (Tail Length) и соответствующих процентов ДНК во фрагментах, а также оцениваемые статистические критерии (р-значения) для выявления возможных статистически значимых различий между группами.

### Результаты и обсуждение

Анализ показал достоверно более высокую степень повреждения ДНК у детей с ВРГН из регионов с промышленными нефтехимическими экотоксикантами.

На представленном флуоресцентном изображении визуализированы пять лейкоцитарных ядер (обозначенные цифрами 19, 21, 24, 26, 27) после проведения гель-электрофореза в рамках метода «ДНК-комет» (рис. 1). Каждое ядро окружено контуром (красная окружность), указывающим границы «головы» кометы, а протяженная область флуоресценции, выходящая за пределы ядра, формирует «хвост». Объект под номером

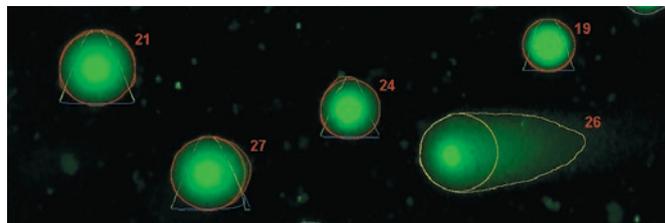


Рис. 1. Микропрепарат ДНК-комет, окрашенный флуоресцентным красителем SYBR Green I (Увеличение  $\times 400$ )

Fig. 1. Microscopic preparation of DNA comets stained with fluorescent dye SYBR Green I (Magnification  $\times 400$ )

19 демонстрирует относительно небольшую деформацию ядра, при этом хвостовая часть практически отсутствует или крайне мала, что обычно свидетельствует о низком уровне повреждения ДНК. Клетки под номерами 21, 24 и 27 имеют слегка вытянутую форму кометы: в каждой из них флуоресцентная «голова» ядра

сохранена, однако к ней примыкает отчетливо различимый, но умеренный «хвост», указывающий на определенную степень разрывов ДНК.

Клетка под номером 26 наиболее заметна благодаря выраженному «хвосту» — вытянутой и хорошо контрастирующей области флуоресценции, значительно превышающей размеры «головы». Такой феномен характерен для существенного уровня повреждения ДНК (однонитевых или двунитевых разрывов), когда значительная часть генетического материала выходит за пределы ядра и формирует длинный «шлейф».

Анализ полученных данных продемонстрировал, что у детей с ВРГН, проживающих в одних и тех же районах с промышленными нефтехимическими экотоксикантами совместно с детьми контрольной группы, средняя длина хвоста кометы (Mean ± SE) оказалась статистически выше ( $115,42 \pm 0,24$  мкм) по сравнению с контрольными значениями ( $106,49 \pm 0,23$  мкм) (рис. 2). При этом медиана длины хвоста у пациентов с ВРГН достигала 111,73 [90,50–136,52], в то время как в контрольной группе данный показатель составил 103,67 [83,45–125,82]. По результатам непараметрического критерия Манна–Уитни разница между двумя группами оказалась статистически значимой ( $U = 227434186$ ,  $p = 0,000$ ), что согласуется с итогами бутстрап-анализа (Monte-Carlo bootstrap), в ходе которого расчетная разница средних значений длины хвоста кометы (8,92 мкм) также была признана достоверной (95% CI 8,283–9,564;  $p = 0,000$ ).

Анализ распределения процентного содержания фрагментов поврежденной ДНК (Tail DNA Percent) и хвостового момента (Tail Moment) у детей с врожденной расщелиной губы и неба (ВРГН) и в контрольной группе, проживающих в регионе с промышленными нефтехимическими экотоксикантами, продемонстрировал существенные различия, указывающие на более высокий уровень генетических повреждений в группе ВРГН (рис. 3). Так, в распределении процентного содержания ДНК в хвосте (Tail DNA Percent) в обеих группах выявлено отклонение от нормального закона ( $p = 0,000$ ), что стало основанием для использования непараметрического критерия Манна–Уитни ( $U = 331938530,50$ ,  $p = 0,000$ ), подтвердившего статистически достоверное превышение средних значений в группе ВРГН ( $7,87 \pm 0,02\%$ ) по сравнению с контролем ( $5,15 \pm 0,01\%$ ). Бутстрап-анализ (Monte-Carlo bootstrap) с 10000 итерациями продемонстрировал, что разница средних двух выборок по показателю Tail DNA Percent составляет 2,72 единицы (95% ДИ: 2,683–2,761;  $p = 0,000$ ), что еще раз указывает на выраженную неоднородность двух групп.

Аналогичные выводы подтверждаются при рассмотрении хвостового момента: критерием Манна–Уитни ( $U = 314963790,00$ ,  $p = 0,000$ ) выявлено статистически значимое различие средних значений (908,19 против 549,14 в группе ВРГН и контроле соответственно); бутстрап-процедура позволила оценить разницу средних на уровне 359,05 (95% ДИ: 352,75–365,426;  $p = 0,000$ ) (рис. 4).

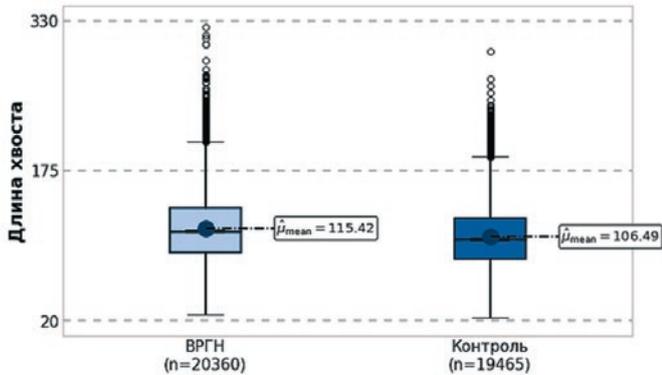


Рис. 2. Распределение и средние значения длины хвоста в группах ВРГН и контрольной группе

Fig. 2. Distribution and mean values of tail length in the VRGN and control groups

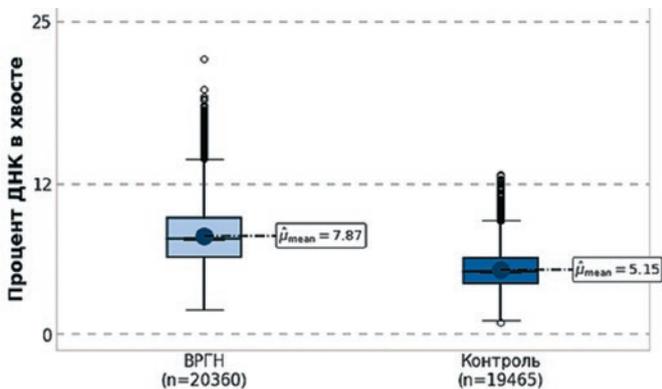


Рис. 3. Распределение и средние значения процента ДНК в хвосте в группах ВРГН и контрольной группе

Fig. 3. Distribution and mean values of the percentage of DNA in the tail in the CRGN and control groups

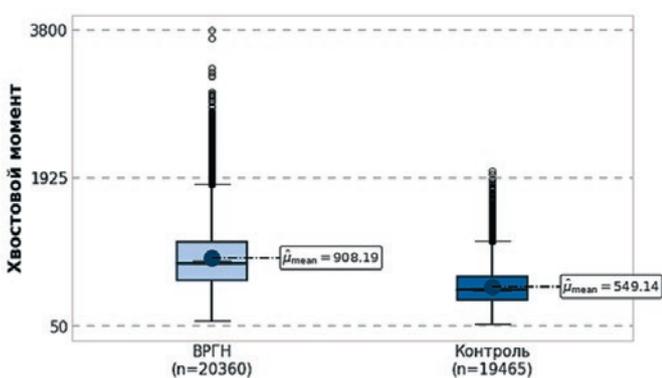


Рис. 4. Распределение и средние значения момента хвоста в группах ВРГН и контрольной группе

Fig. 4. Distribution and mean values of tail moment in the VRGN and control groups

Анализ полученных данных свидетельствует о высоком уровне генотоксического стресса у детей с врожденной расщелиной губы и неба (ВРГН), существенно отличающемся от аналогичных показателей в контрольной группе. Достоверные различия по ряду ключевых параметров (длина хвоста, процент ДНК в хвосте, хвостовой момент) указывают на более интенсивные процессы фрагментации дезоксирибонуклеиновой кислоты у пациентов с врожденными аномалиями. В совокупности эти результаты позволяют предположить, что у данной когорты имеется повышенная чувствительность к неблагоприятным факторам внешней среды — в частности, к токсическим и мутагенным веществам, присутствующим в местах их постоянного проживания.

Высокая степень повреждения генетического материала у детей с ВРГН на фоне аналогичной экологической нагрузки в виде промышленных нефтехимических экотоксикантов, испытываемой и в контрольной группе, демонстрирует важность наследственной предрасположенности и/или специфических генетических особенностей. Вполне вероятно, что формирование расщелины губы и неба сопряжено с более уязвимыми системами репарации ДНК или недостаточной антиоксидантной защитой, результатом чего становится значительное усиление окислительных и других видов генотоксических повреждений. Данный феномен может объяснять наблюдаемую разницу между группами даже при одинаковых условиях загрязнения окружающей среды, тем самым подчеркивая роль индивидуальных генотипических факторов в развитии врожденных пороков и в реакции организма на экологические стрессы.

Полученные данные указывают на то, что дети с врожденной расщелиной губы и неба, прожива-

ющие в регионах с промышленными нефтехимическими экотоксикантами, демонстрируют существенно более высокий уровень поврежденной ДНК, нежели их условно здоровые сверстники из того же региона. Подобная уязвимость отражает сложное взаимодействие наследственных детерминант и экологических стрессовых факторов, способствующее формированию патологической симптоматики и повышающее вероятность последующих осложнений.

Данное исследование имеет клиническое значение в прогнозировании ВРГН у детей с нарушениями ДНК, проживающих в регионах с промышленными нефтехимическими экотоксикантами.

### Выводы

У детей с врожденной расщелиной губы и неба, проживающих в условиях неблагоприятной экологической обстановки в виде промышленных нефтехимических экотоксикантов, выявлен статистически достоверный более высокий уровень повреждений ДНК (по длине хвоста кометы, проценту ДНК в хвосте и хвостовому моменту), чем у детей из контрольной группы.

Обнаруженные различия в показателях ДНК-комет подчеркивают значение детального изучения генетических, эпигенетических и экологических факторов, влияющих на риск врожденных аномалий, а также подтверждают необходимость разработки комплексных профилактических и реабилитационных мероприятий для детей с врожденной расщелиной губы и неба.

Полученные данные являются новым аспектом в патогенезе врожденной расщелины губы и неба и могут быть использованы для прогнозирования данного порока у детей, проживающих в регионе с промышленными нефтехимическими экотоксикантами.

### Литература/References

1. Levels & Trends in Child Mortality: Report 2019: Estimates developed by the UN Inter-agency Group for Child Mortality Estimation. Available from: <https://childmortality.org/wp-content/uploads/2019/10/UN-IGME-Child-Mortality-Report-2019.pdf>
2. Swer R.T., D'Silva M.H., Datta D. Estimation of DNA damage in non syndromic congenital skeletal malformations using comet assay. National Journal of Basic Medical Sciences. 2016;IV(1):5-10. [https://www.researchgate.net/publication/358425993\\_Non\\_Syndromic\\_Congenital\\_Skeletal\\_Malformations](https://www.researchgate.net/publication/358425993_Non_Syndromic_Congenital_Skeletal_Malformations)
3. Антонова И.В., Богачева Е.В., Китаева Ю.Ю. Роль экзогенных факторов в формировании врождённых пороков развития (обзор). Экология человека. 2010;(6):30-35. [Antonova I.V., Bogacheva E.V., Kitayeva Yu.Yu. Role of exogenous factors in malformations forming. Humane ecology. 2010;(6):30-35. (In Russ.)]. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=14435195>
4. Kucharova M., Hronek M., Rybakova K., Zadak Z., Stetina R., Juskova V., et al. Comet assay and its use for evaluating oxidative DNA damage in some pathological states. Physiological research. 2019;68(1):1-15. <https://doi.org/10.33549/physiolres.933901>
5. Vidya G., Suma H.Y., Vishnu Bhat B., Parkash Chand, Ramachandra Rao K., Harichandrakumar K.T. Estimation of DNA damage through Comet Assay in children with Congenital Heart Disease - Case-control study. Current Pediatric Research. 2014;18(1):1-4. [https://www.researchgate.net/publication/262107682\\_Estimation\\_of\\_DNA\\_damage\\_through\\_Comet\\_Assay\\_in\\_children\\_with\\_Congenital\\_Heart\\_Disease\\_-\\_Case-control\\_study](https://www.researchgate.net/publication/262107682_Estimation_of_DNA_damage_through_Comet_Assay_in_children_with_Congenital_Heart_Disease_-_Case-control_study)
6. Langie S.A., Koppen G., Desaulniers D., Al-Mulla F., Al-Temaimi R., Amedei A., et al. Causes of genome instability: the effect of low dose chemical exposures in modern society. Carcinogenesis. 2015;36(Suppl 1):S61-S88. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgv031>
7. Артюхов В.Г., Трубицына М.С., Наквашина М.А., Соловьева Е.В. Фрагментация ДНК лимфоцитов человека в динамике развития апоптоза, индуцированного воздействием УФ-излучения и активных форм кислорода. Цитология. 2011;53(1):61-67. [Artyukhov V.G., Trubitsyna M.S., Nakvasina M.A., Solov'eva E.V. DNA fragmentation of human lymphocytes in dynamics of development of apoptosis induced by action of uv radiation and reactive oxygen species. Cytology. 2011;53(1):61-67. (In Russ.)]. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=16500374>
8. Савельев В.В., Винокуров М.М., Кершенгольц Б.М. Прединформационная значимость повреждения ДНК мононуклеарных клеток крови в ранней диагностике инфицированного панкреонекроза. Вестник хирургии имени И.И. Грекова. 2018;177(1):25-30. [Saveliev V.V., Vinokurov M.M., Kershengolts B.M. Prediktory significance of DNA damage to mononuclear blood cells in early diagnostics of infected pancreatic necrosis. Grekov's bulletin of surgery. 2018;177(1):25-30. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.24884/0042-4625-2018-177-1-25-30>
9. Алексеева Л.А., Вишняков Н.И., Гончаренко В.Л. и др. Общественное здоровье и здравоохранение: учебн. для студентов. 6-е изд. Москва: МЕДпресс-информ; 2012. 655 с. [Alekseeva L.A., Vishnyakov N.I., Goncharenko V.L. et al. Public health and healthcare: textbook for students. 6th ed. Moscow: MEDpress-inform; 2012. 655 p. (In Russ.)]. <https://contmed.ru/upload/books/pdf/62c64621908746d052d2b99ce8416efa.pdf>
10. Филиппов Э.В. Использование метода «ДНК-комета» для детекции и оценки степени повреждений ДНК клеток организмов растений, животных и человека, вызванных факторами окружающей среды. Наука и образование. 2014;(2):72-78. [Filippov E.H.V. Use of the DNA comet assay to detect and assess the extent of DNA damage to cells of plants, animals and humans caused by environmental factors. Nauka i obrazovanie. 2014;(2):72-78. (In Russ.)]. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22309402>
11. Karbaschi M., Ji Y., Abdulwahed A.M.S., Alohaly A., Bedoya J.F., Burke S.L., Boulos T.M., et al. Evaluation of the Major Steps in the Conventional Protocol for the Alkaline Comet Assay. International journal of molecular sciences. 2019;20(23):6072. <https://doi.org/10.3390/ijms20236072>
12. Møller P. The comet assay: ready for 30 more years. Mutagenesis. 2018;33(1):1-7. <https://doi.org/10.1093/mutage/gex046>

13. Azqueta A., Ladeira C., Giovannelli L., Boutet-Robinet E., Bonassi S., Neri M., et al. Application of the comet assay in human biomonitoring: an hCOMET perspective Mutation research. *Reviews in mutation research*. 2020;783:108288. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2019.108288>
14. Susai S., Chand P., Ballambattu V.B., Hanumanthappa N., Veeramani R. DNA Damage Analysis in Children with Non-syndromic Developmental Delay by Comet Assay. *Journal of clinical and diagnostic research*. 2016;10(5):AC06-AC8. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/19578.7806>
15. МР 4.2.0014–10. Оценка генотоксических свойств методом ДНК-комет in vitro: Методические рекомендации. Москва: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2011. 16 с. [MP 4.2.0014–10. Evaluation of genotoxic properties by the in vitro DNA comet assay: Methodological recommendations. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rosпотребнадзор; 2011. 16 p. (In Russ.)]. <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293808/4293808552.pdf>
16. Чуйкин О.С., Давлетшин Н.А., Билак А.Г., Кучук К.Н. Предикторы врожденных расщелин губы и неба у детей в регионе экологического неблагополучия. *Проблемы стоматологии*. 2024;20(3):139-144. [Chuykin O.S., Davletshin N.A., Bilak A.G., Kuchuk K.N. Predictors of congenital cleft lip and palate in children in a region of environmental disadvantage. *Actual problems in dentistry*. 2024;20(3):139-144. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.18481/2077-7566-2024-20-3-139-144>
17. Государственный доклад о состоянии природных ресурсов и окружающей среды Республики Башкортостан в 2023 году. Доступно на: <https://ecology.bashkortostan.ru/presscenter/lectures/1920/> [State report on the state of natural resources and the environment of the Republic of Bashkortostan in 2023. Available from: <https://ecology.bashkortostan.ru/presscenter/lectures/1920/> (In Russ.)].
18. Чуйкин С.В. Персин Л.С., Давлетшин Н.А. Врожденная расщелина верхней губы и неба. Москва: Медицинское информационное агентство; 2008. 362 с. [Chuíkin S.V., Persin L.S., Davletshin N.A. Congenital cleft lip and palate. Moscow: Medical Information Agency; 2008. 362 p. (In Russ.)].
19. Чуйкин С.В., Топольницкий О., Персин Л.С. Врожденная расщелина верхней губы и неба. Saarbrücken: LAP LAMBERT; 2012. 584 с. [Chuíkin S.V., Topol'nitskii O., Persin L.S. Congenital cleft lip and palate. Saarbrücken: LAP LAMBERT; 2012. 584 p. (In Russ.)].
20. Абрамян С.В., Аржанцев А.П., Арутюнов А.С. и др. Челюстно-лицевая хирургия: национальное руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2019. 692 с. [Abramyan S.V., Arzhantsev A.P., Arutyunov A.S. et al. Maxillofacial surgery: national guidelines. Moscow: GEOTAR-Media; 2019. 692 p. (In Russ.)].