

на правах рукописи

МАРДАНОВ АЯЗ ЭЛЬХАНОВИЧ

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ АНАЛИЗА МАТРИКСНЫХ
МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ У ДЕТЕЙ С РАСЩЕЛИНОЙ ГУБЫ И НЕБА

14.01.14 – стоматология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2018

Работа выполнена в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет)

Научный руководитель:

Заслуженный врач России,

доктор медицинских наук, профессор

Мамедов Адиль Аскерович

Официальные оппоненты:

Надточий Андрей Геннадиевич – доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Минздрава России, отдел лучевой диагностики, заведующий отделом

Фоменко Ирина Валерьевна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра стоматологии детского возраста, заведующая кафедрой

Ведущая организация:

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки России

Защита диссертации состоится «___» _____ 2018 года в ___ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.040.14 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр.2.

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1 и на сайте организации www.sechenov.ru

Автореферат разослан « ___ » _____ 2018

Ученый секретарь

диссертационного совета, к.м.н.

Дикопова Наталья Жоржевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

По статистическим данным в Российской Федерации врожденная патология челюстно – лицевой области занимает 3–5 место среди врожденных пороков развития человека. В России в среднем рождается один ребенок с расщелиной верхней губы и неба на 600–1000 новорожденных (И.М. Юлдашев и соавт., 2009). В среднем по России 1:750 (Ад. А. Мамедов, 2015).

Врожденная патология челюстно – лицевой области оказывает отрицательное влияние на множество функций и органов челюстно – лицевой области. Оперативное вмешательство не всегда позволяет достичь желаемого результата. Расщелина губы и неба является проблемой не только для ребенка, но и для его родителей.

На сегодняшний день существует множество мнений о сроках проведения оперативного вмешательства у детей с расщелиной губы и неба (РГН). Одни хирурги рекомендуют проводить первое вмешательство в 3–6 месяцев, другие старше года. Оперативное вмешательство на твердом и мягком небе порождает аналогичные споры, в связи с возможным развитием дефектов и деформаций верхней челюсти.

Матриксные металлопротеиназы (ММП) играют важную роль как в физиологических процессах (ремоделирование ткани, морфогенез, репродукция, эмбриональное развитие,). При патологических состояниях – онкозаболеваниях, заболеваниях сердечно–сосудистой системы, дисплазией соединительной ткани. Данные о состоянии мягких тканей можно получить, при изучении изменения уровня ММП не только в системном кровотоке, а также непосредственно в мягких тканях зоны дефекта.

Изучение уровня матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов позволит нам определить состояние соединительной ткани у пациентов с расщелиной губы и неба. Знание об уровне матриксных металлопротеиназ при

разных формах патологии позволит нам скорректировать план лечения, что приведет к эффективной реабилитации детей с расщелиной губы и неба.

Цель исследования

Повышение эффективности лечения детей с расщелиной губы и неба за счет хирургического лечения в периоде новорожденности

Задачи исследования:

1. Обосновать ранние сроки оперативного вмешательства у детей с расщелиной губы и неба
2. Провести оценку экспрессии матричной металлопротеиназы 2,3 (ММП2, ММП3), тканевого ингибитора матричных металлопротеиназ 2 (ТИМП2), тканевого фактора роста бета 2 (TGF β 2) в зоне патологии.
3. Установить взаимосвязь экспрессии изучаемых биохимических показателей с разными типами РГН
4. Сравнить данные ММП2, 3, ТИМП2, TGF β 2 с мягкими тканями из области патологии с тканями вне очага патологии.

Научная новизна исследования

Впервые предложен новый подход к раннему оперативному лечению пациентов с расщелиной верхней губы и неба с использованием данных полученных о уровне матричных металлопротеиназ

Впервые изучен уровень матричных металлопротеиназ непосредственно 2, 3 в мягких тканях у детей с расщелиной губы и неба

Впервые изучен уровень трансформирующего фактора роста бета 2 непосредственно в мягких тканях у детей с расщелиной губы и неба

В ходе исследования доказано изменение уровня матричных металлопротеиназ 2, 3; тканевого ингибитора матричных металлопротеиназ 2, тканевого фактора роста бета 2 в мягких тканях из очага патологии по сравнению со здоровыми тканями вне очага патологии.

Впервые обоснованы ранние сроки оперативного вмешательства в зависимости от уровня матричных металлопротеиназ в мягких тканях расщелины губы и неба.

Практическая значимость работы

В ходе исследования содержания матричной металлопротеиназы 2, матричной металлопротеиназы 3, тканевого ингибитора матричных металлопротеиназ 2, трансформирующего фактора роста бета 2 в мягких тканях, полученных из зоны расщелины, а также исследование содержания данных ферментов вне зоны патологии, проведен сравнительный анализ содержания данных ферментов. Полученные результаты являются обоснованием к раннему проведению оперативного вмешательства у детей с расщелиной губы и неба, что способствует более быстрому и качественному (меньшее рубцеобразование) заживлению, профилактике структурных нарушений и сокращению сроков реабилитации.

Полученные в процессе исследования результаты были внедрены в рекомендации к хирургическому лечению пациентов с расщелиной губы и неба.

Основные положения, выносимые на защиту

1. При расщелине губы и неба наблюдается достоверное повышение уровня матричных металлопротеиназ 2 и 3 в зоне патологии по сравнению с здоровыми тканями.
2. При исследовании мягких тканей, полученных из зоны расщелины губы и неба наблюдается достоверное повышение уровня тканевых ингибиторов матричных металлопротеиназ 2 в зоне патологии по сравнению с здоровыми тканями.
3. При расщелине губы и неба наблюдается достоверное повышение уровня трансформирующего фактора роста бета 2 в зоне патологии по сравнению с здоровыми тканями.

4. Установлена достоверная связь уровня матричных металлопротеиназ 2,3, трансформирующего фактора роста бета 2 и тканевого ингибитора матричных металлопротеиназ 2, между двусторонней расщелиной неба и другой формой патологии.

5. В связи с высокой активностью биологически активных компонентов соединительной ткани при расщелине губы и неба необходимо проведение первичного хирургического вмешательства на первом месяце жизни ребенка, с дальнейшей реабилитацией.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно разработан план, определены цель и задачи исследования, вклад автора заключается в непосредственном участии на всех этапах процесса получения исходных данных, личное участие в хирургическом лечении и ведении пациентов с расщелиной губы неба, участие в проведении лабораторного этапа исследования, личном участии в апробации результатов исследования, в подготовке основных публикаций по выполненной работе.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты представленной работы используются в практической деятельности отделения хирургии и реанимации новорожденных ФГАУ «Научный центр здоровья детей» НИИ Педиатрии Министерства здравоохранения Российской Федерации, ГБУЗ Морозовская ДГКБ ДЗМ, отделение челюстно–лицевой хирургии, отделение неонатологии, отделение анестезиологии.

Апробация работы

Результаты исследования доложены и обсуждены на симпозиуме по хирургической стоматологии «Современные методы лечения врожденных и приобретенных деформаций челюстей» 20 апреля 2015; На конгрессах ортопедическая реабилитация дефектов средней зоны лица на краниальных имплантах. Круглый стол «Актуальные вопросы хирургии головы и шеи у детей»

в рамках III Междисциплинарного Конгресса по заболеваниям головы и шеи 26 мая 2015; «IX Всемирный конгресс Cleft2015». Всероссийская научно–практическая конференция по врожденной и наследственной патологии челюстно–лицевой области» 01 по 04 сентября 2015; На V Всероссийской научно–практической конференции «врожденная и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения», Москва, 24–25 ноября 2016.

Диссертационная работа апробирована 25 декабря 2017 года на заседании сотрудников кафедры стоматологии детского возраста и ортодонтии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Публикации

По материалам работы опубликовано 5 научных работ в отечественной литературе, из них 3 – в рецензируемых журналах, в том числе 1 обзор литературы, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование соответствует шифру специальности – 14.01.14 – Стоматология. Отрасль науки – медицинские науки.

Стоматология – область науки, занимающаяся изучением этиологии, патогенеза основных стоматологических заболеваний (кариес зубов, заболевания пародонта и др.), разработкой методов их профилактики, диагностики и лечения. Совершенствование методов профилактики, ранней диагностики и современных методов лечения стоматологических заболеваний будет способствовать сохранению здоровья населения страны.

Область исследования соответствует четвертому пункту – «изучение этиологии и патогенеза врожденных и приобретенных аномалий развития, дефектов и деформаций челюстно–лицевой области»

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 116 страницах машинописного текста, состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, приложений, список литературы включает 244 источников (129 отечественных и 115 зарубежных авторов). Работа иллюстрирована 15 таблицами и 31 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Для диссертационного исследования пациенты для исследования подбирались без ограничений по полу и возрасту, по весу, по типу родов и вскармливанию, и сопутствующей патологии. Всего приняли участие в исследовании 84 пациента из них девочек – 35, мальчиков – 49. Из 84 пациентов расщелина губы была у 64 пациентов, расщелина неба была у 75 пациентов в том числе односторонняя у 34, двусторонняя у 35, и частичная расщелина губы у 7. Расщелина губы и неба наблюдалась у 57 (68%) пациентов из 84. Расщелина губы, у 8 пациентов (7%).

Всем пациентам было проведено оперативное вмешательство – хейлопластика, уранопластика в зависимости от установленного диагноза во время которой был взят материал (биопсия) для иммуноферментного анализа. Уранопластика была проведена в 47 случаях, а хейлопластика в 37 случаях. Так же повторное взятие образца материала для исследования, было проведено у пациентов, госпитализированных для проведения уранопластики после первичной хейлопластики.

Иммуноферментный анализ ММП2, ММП3, ТИМП2, TGFβ2.

Для проведения иммуноферментного анализа необходимо было получить информированное согласие родителей, так как нам необходимо было проводить биопсию мягких тканей. Для проведения иммуноферментного анализа необходимо было провести биопсию мягких тканей у всех 84 пациентов. У каждого пациента с расщелиной губы и неба биопсия была проведена дважды.

Первая биопсия была проведена в области патологии (рис. 1,2,3,4 отмечено знаком плюс), вторая биопсия была проведена вне зоны патологии (рис.1,2,3,4 отмечено знаком минус).

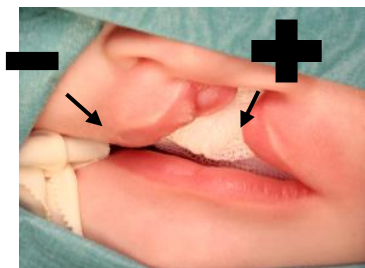


Рисунок 1 – Зоны биопсии при расщелине губы. Знак плюс – очаг патологии, знак минус – вне очага патологии.

Вторая биопсия была проведена вне зоны патологии в связи с тем, что ткань в этой области не изменена патологическим состоянием, и структура ее не нарушена, одновременно с этим вторая биопсия являлась контролем в проводимом иммуноферментном анализе. Размер мягких тканей, полученных в ходе биопсии составлял приблизительно 2 на 2 миллиметра или размером в спичечную головку.

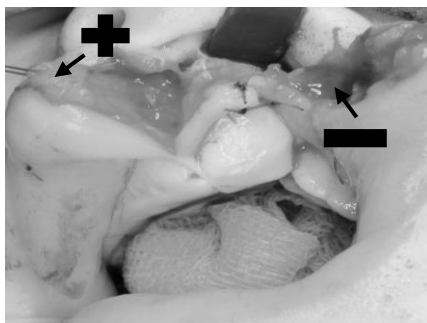


Рисунок 2 – Зоны биопсии при расщелине губы, во время оперативного вмешательства – хейлопластика. Знак плюс – очаг патологии, знак минус – вне очага патологии.

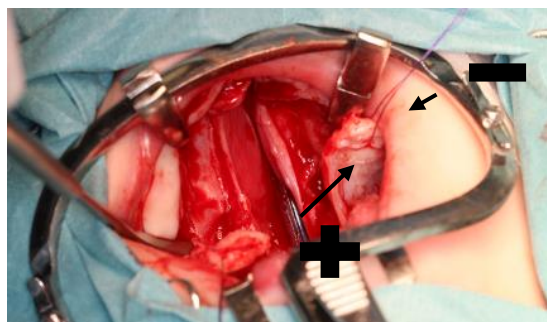


Рисунок 3 – Зоны биопсии во время оперативного вмешательства при уранопластике. Знак плюс – очаг патологии, знак минус – вне очага патологии.

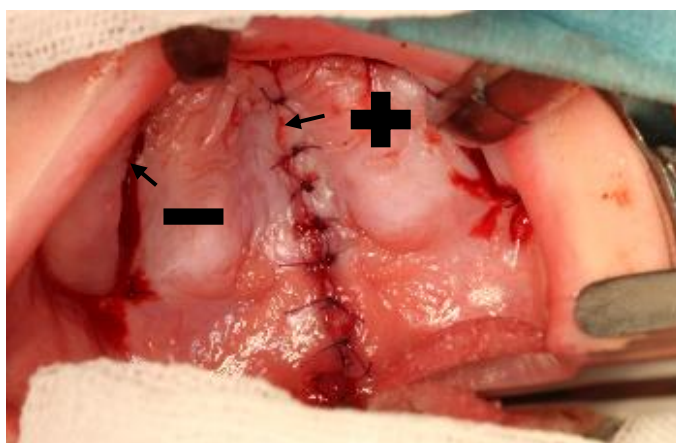


Рисунок 4 – Зоны биопсии после окончания оперативного вмешательства. Знак плюс – очаг патологии, знак минус – вне очага патологии.

Образцы мягких тканей, полученные в ходе биопсии, помещались в полипропиленовые пробирки (рис. 5) с 1мл физиологического раствора во время операции и сразу же помещались в холодильник и хранились при температуре 2–8°. Каждую пробирку маркировали знаком плюс или минус, где плюс означал образец из зоны патологии, а минус образец, взятый вне зоны патологии. Также на пробирке подписывались фамилией и клиническим диагнозом пациента.



Рисунок 5 – Хранение материала биопсии мягких тканей.

Холодильник располагался в лаборатории патологической физиологии Научного центра здоровья детей. Из материала полученного в ходе биопсии получали супернатант (Рисунок 6) в кратчайшие сроки. Супернатант хранился при температуре -80° . Срок хранения материала составлял от трех лет до трех месяцев. Из истории болезни, у пациентов, которые принимали участие в исследовании, была выписана информация приемного отделения, информация о оперативном вмешательстве, информация первичного обследования, анамнез жизни, анамнез заболевания, данные при рождении. Полученная информация систематизировалась в таблице.

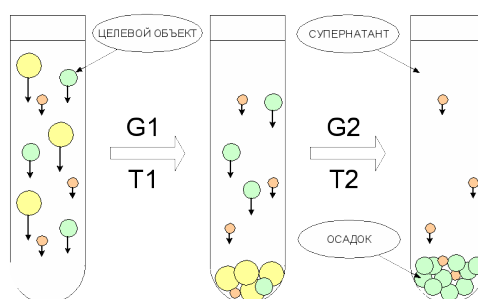


Рисунок 6 – Определение супернатанта.

Для исследования необходимо было приготовление супернатанта из полученных, в ходе биопсии мягких тканей. Приготовление супернатанта проводилось в течении 1–3 дней с момента оперативного вмешательства. После получения супернатанта в нем определено количество белка на 1 мл объема. для дальнейшего исследования штатив с образцами отправлен в Центр крови Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова. в переносном холодильнике

Для иммуноферментного анализа использованы реактивы ведущих мировых производителей такие как: HumanTIMP–2 QuantikineELISAKit – RnDSsystems, HumanMMP–2 QuantikineELISAKit – RnDSsystems, Bio–PlexProTGF– β Panel, 3–PlexBio–RadLaboratories, AESKULISAMMP3, (рис 7).

Статистическая обработка полученных результатов.

Статистический анализ фактических данных проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics 21.0. Доверительные границы для частоты рассчитывались на основе биномиального распределения. Достоверность различия частот определялась при помощи критерия «хи-квадрат», для таблиц 2 на 2 – в точном решении Фишера. Для числовых показателей рассчитывали среднее арифметическое M , среднеквадратичное отклонение, статистическую погрешность среднего m , медиану Me , а также минимум, максимум и квартили. Достоверность различия среднего между группами определяли при помощи дисперсионного анализа, связь между числовыми показателями искали при помощи корреляции Пирсона. Для большей показательности для ряда биохимических показателей наряду с их исходными значениями использовали логарифм значений.

Ввиду не компактности распределения ряда показателей также использовали методы непараметрической статистики» критерии Колмогорова–Смирнова и Манн–Уитни и коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Различия считали статистически достоверными (статистически значимыми) при $p < 0,05$.

Имуноферментный анализ матриксных металлопротеиназ 2 типа в мягких тканях при различных типах расщелины губы и неба.

Содержание ММП2 в биопсии мягких тканях оценено у 84 пациентов с расщелиной губы и неба или расщелиной губы.

ММП2 из зоны расщелины имеет значения от 0,07 до 26,83 нг/мл, где среднее значение равно 1,57 нг/мл, 75% значений меньше или равно 4,29 нг/мл, 25% равно или ниже 0,45 нг/мл. Содержание ММП2 в зоне патологии колебалось от 0,074 нг/мл до 26,829 нг/мл. ММП2 из зоны без патологии имеет значения от 0,02 до 20,17 нг/мл, где среднее значение равно 0,59 нг/мл, 75% значений меньше или равно 2,05 нг/мл, 25% равно или ниже 0,30 нг/мл.

Установлено, что при РГН количество ММП2 в мягких тканях, отличается в зоне патологии. Наблюдается достоверный рост по всем рассматриваемым ферментам, от небольшого увеличения до увеличения в несколько раз. Широкий разброс объясняется различным состоянием соединительной ткани при разных видах патологии, тяжестью общего состояния при различных типах РГН, травматичностью и количеством белка в образце.

Таблица 1 – Медианы биохимических показателей при различных типах патологии (НП – нет патологии).

	ММП2 нг/мл	ММП2 нг/млНП
Двусторонняя расщелина (n35)	5,09	2,64
Односторонняя (n=34)	3,95	2,6
Расщелина губы (n=8)	1,01	0,9
Частичная расщелина неба (n=7)	1,4	0,97

Таким образом, показатели ММП2 (табл. 1) области расщелины достоверно отличались от зоны вне расщелины ($p > 0,01$).

Наивысший показатель уровня ММП2 зафиксирован в зоне расщелины при двусторонней расщелине губы и неба. При других типах патологии показатели так же заметно были выше чем в образцах вне расщелины.

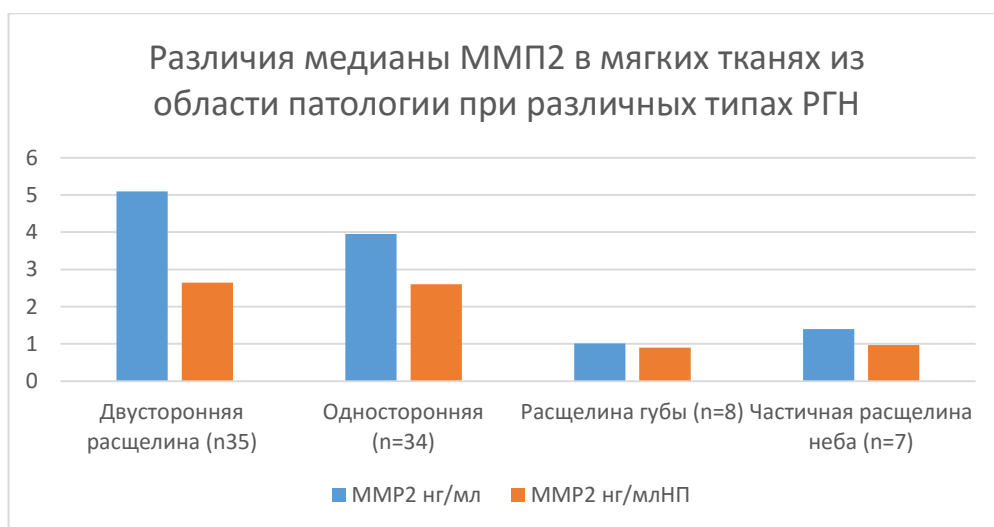


Рисунок 7 – Медианы содержания ММП2 при различных типах патологии РГН (НП – нет патологии).

Кроме максимальных значений ММП2 при двусторонней расщелине губы и неба, оценили так же содержание данных параметров для других типов рассматриваемой патологии (рис. 7).

Таким образом по результатам проведенного иммуноферментного анализа ММП2 в мягких тканях при различных типах РГН мы сделали следующие выводы:

- Экспрессия ММП2 достоверно повышалась при всех типах РГН в мягких тканях, взятых из зоны патологии по сравнению с тканями, взятыми в зоне вне патологии ($p < 0,001$).
- Наибольшей экспрессия ММП2 была при двусторонней расщелине губы и неба, наименьшей при частичной расщелине губы, при которой показатели ММП2 лишь незначительно увеличивались (рис. 7).

Имуноферментный анализ матриксных металлопротеиназ 3 типа в мягких тканях при различных типах расщелины губы и неба.

В биопсии всех прооперированных детей наблюдалось разное по степени выраженности содержания ММП3. А так же в супернатанте содержалось разное количество белка. Расчеты содержания ММП3, велись с учетом отношения

количества биохимических показателей к количеству белка. Соответствующие расчеты были проведены и для материала полученного в ходе биопсии из зоны с патологией для сравнения с зоной без патологии.

ММПЗ из зоны расщелины имеет значения от 0,05 до 16,48 нг/мл, где среднее значение равно 1,45 нг/мл, 75% значений меньше или равно 3,53 нг/мл, 25% равно или ниже 0,50 нг/мл. ММПЗ из зоны без патологии имеет значения от 0,02 до 13,38 нг/мл, где среднее значение равно 0,72 нг/мл, 75% значений меньше или равно 1,78 нг/мл, 25% равно или ниже 0,21 нг/мл.

Установлено, что при РГН количество ММПЗ, отличаются в зоне патологии от количества в зоне без патологии. Содержание ММПЗ в зоне патологии колебалось от 0,054 нг/мл до 16,479 нг/мл.

Таблица 2 – Медианы ММПЗ в мягких тканях при различных типах патологии (НП – нет патологии).

	ММПЗ нг/мл	ММПЗ нг/млНП
Двусторонняя расщелина (n=35)	3,37	1,66
Односторонняя (n=34)	3	1,54
Расщелина губы (n=8)	2	1,88
Частичная расщелина неба (n=7)	1,49	0,87

Из таблицы 2 следует, что достоверное увеличение концентрации, ММПЗ, по медианам при двусторонней расщелине губы и неба, что является наивысшим показателем среди других видов патологии.

При частичной расщелине неба медиана содержания ММПЗ в области патологии равнялось 1,49 нг/мл, что было меньше чем при расщелине губы, односторонней и двусторонней расщелине губы и неба. Максимальным содержание ММПЗ в мягких тканях при частичной расщелине неба из зоны

патологии составляло 4,146 нг/мл, а из зоны без патологии составляло 1,576 нг/мл.

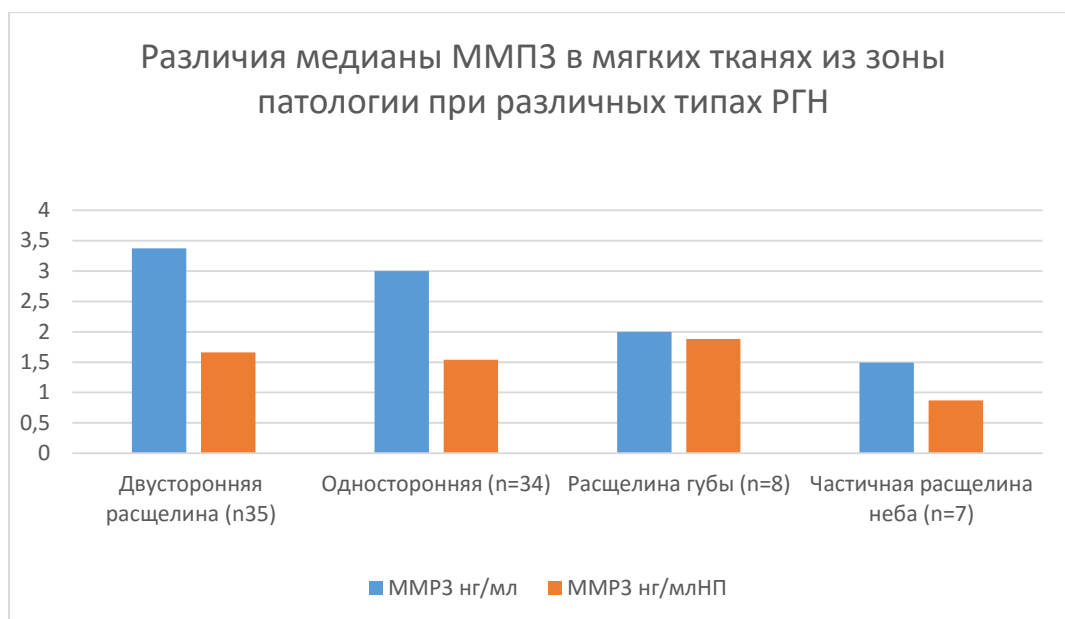


Рисунок 8 – Медианы ММПЗ при различных типах расщелины губы и неба (НП – нет патологии).

Максимальное значение медианы для ММПЗ было в зоне патологии при двусторонней расщелине губы и неба у 35 пациентов 3,373 нг/мл. Отношение содержания ММПЗ в мягких тканях из зоны патологии к мягким тканям вне зоны патологии, различия достоверное по критерию Манн Уитни $p=0,001$. Абсолютным значением ММПЗ в мягких тканях при двусторонней расщелине губы и неба составляло 16,479 нг/мл, которому соответствовало значение 13,376 нг/мл из зоны вне очага патологии.

Максимальное значение медианы для ММПЗ было в зоне патологии при двусторонней расщелине губы и неба у 35 пациентов 3,373 нг/мл. Отношение содержания ММПЗ в зоне патологии к мягким тканям вне зоны патологии различия достоверное по критерию Манн Уитни $p=0,001$. Абсолютным значением ММПЗ в мягких тканях при двусторонней расщелине губы и неба составляло 16,479 нг/мл, которому соответствовало значение 13,376 нг/мл из зоны вне очага патологии. Кроме максимальных значений $TGF\beta 2$ при двусторонней расщелине губы и неба, оценили так же содержание данных параметров для других типов рассматриваемой патологии.

У 34 пациентов с односторонней расщелиной губы и неба медиана количества ММПЗ в зоне патологии составляла 3 нг/мл. Когда для 7 пациентов с частичной расщелиной губы и неба данный параметр был равен 1,49 нг/мл. Для 8 детей с расщелиной губы 2 нг/мл. Медиана значения ММПЗ при односторонней расщелине губы и неба вне очага патологии составляла 2,6 нг/мл. Для частичной расщелины неба составляла 0,87 нг/мл. При расщелине губы данный параметр составлял 1,88 нг/мл. Минимальные же значения, ММПЗ, наблюдались у 7 детей с частичной расщелиной губы без вовлечения в патологический процесс неба, тем не менее полученные результаты также были выше чем в зоне без патологии.

ММПЗ равнялось 2,002 нг/мл, а у 34 детей с односторонней расщелиной равнялось 2,995 нг/мл, когда в области вне патологического процесса показатель равнялся при расщелине губы 1,879 нг/мл, а при односторонней расщелине губы и неба 1,538 нг/мл (рисунок 8).

Таким образом по результатам проведенного иммуноферментного анализа ММПЗ в мягких тканях при различных типах РГН мы сделали следующие выводы:

- Экспрессия ММПЗ достоверно повышалась при всех типах РГН в мягких тканях, взятых из зоны патологии по сравнению с мягкими тканями, взятыми из зоны вне очага патологии.
- Наибольшей экспрессия ММПЗ была при двусторонней расщелине губы и неба, наименьшей при частичной расщелине губы, при которой показатели ММПЗ в мягких тканях в зоне патологии лишь незначительно увеличивались.

Имуноферментный анализ тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ 2 типа в мягких тканях при различных типах расщелины губы и неба.

В биопсии всех прооперированных детей наблюдалось разное по степени выраженности содержание ТИМП2. А так же в супернатанте содержалось разное количество белка. Расчеты содержания ТИМП2 велись с учетом отношения количества биохимических показателей к количеству белка. Соответствующие

расчеты были проведены и для материала полученного в ходе биопсии из зоны с патологией для сравнения с зоной без патологии. Содержание ТИМП2, в биопсии мягких тканях оценено у 84 пациентов с расщелиной губы и неба или расщелиной губы.

ТИМП2 из зоны расщелины имеет значения от 0,04 до 34,25 нг/мл, где среднее значение равно 3,29 нг/мл, 75% значений меньше или равно 8,75 нг/мл, 25% равно или ниже 0,45 нг/мл. ТИМП2 из зоны без патологии имеет значения от 0,02 до 23,75 нг/мл, где среднее значение равно 1,38 нг/мл, 75% значений меньше или равно 5,91 нг/мл, 25% равно или ниже 0,36 нг/мл.

Таблица 3 – Медианы содержания ТИМП2 при различных типах патологии.

	ТИМП2 нг/мл	ТИМП2 нг/млНП
Двусторонняя расщелина (n=35)	8,098	3,94
Односторонняя (n=34)	5,475	3,02
Расщелина губы (n=8)	7,021	5,61
Частичная расщелина неба (n=7)	4,041	2,38

При сравнительном анализе значений медиан биохимических показателей в зоне патологии и вне зоны патологии все значения были выше в зоне патологии.

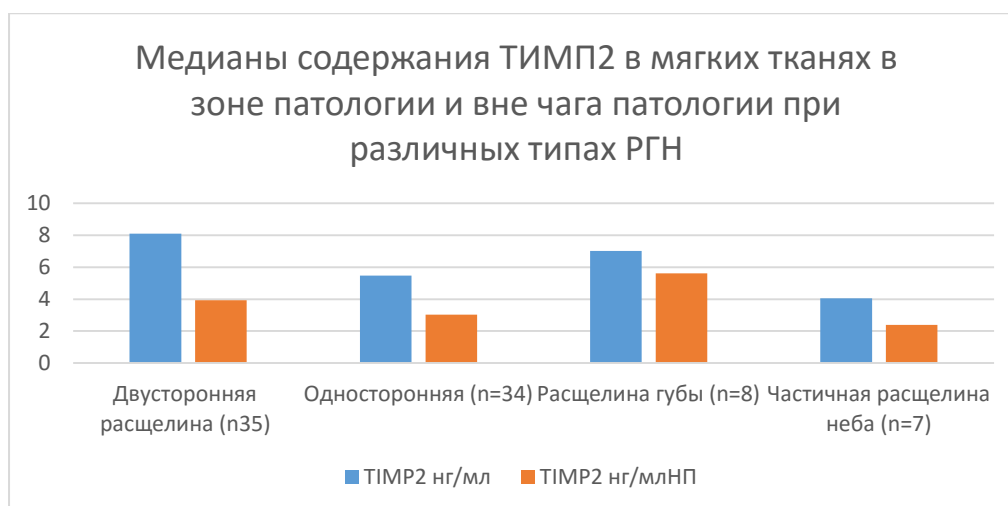


Рисунок 9 – Медианы содержания ТИМП2 при различных типах РГН (НП – нет патологии).

Из таблицы 3, следует достоверное увеличение концентрации ТИМП2 по медианам при двусторонней расщелине губы и неба, что является наивысшим показателем среди других видов патологии.

Показатель медианы содержания ТИМП2 составлял 4,041 нг/мл, что было меньше чем при расщелине губы, расщелине губы и неба односторонней и двусторонней. Максимальное содержание ТИМП2 в зоне расщелины составляло 2,48 нг/мл, которому соответствовало содержание 2,703 нг/мл в мягких тканях из зоны без патологии (рисунок 9). При этом следует отметить, что показатели вне зоны патологии при всех рассматриваемых видах расщелины примерно равны.

Из выше сказанного следует, что наибольший показатель ТИМП2 наблюдается в мягких тканях у пациентов с двусторонней расщелиной губы и неба, а минимальный при частичной расщелине неба.

Таким образом, по результатам проведенного иммуноферментного анализа ТИМП2 в мягких тканях при различных типах РГН, мы сделали следующие выводы:

- Экспрессия ТИМП2, достоверно повышалась при всех типах РГН в мягких тканях, взятых из зоны патологии по сравнению с мягкими тканями, взятыми из зоны вне очага патологии ($p < 0,001$).
- Наибольшей экспрессия ТИМП2 была при двусторонней расщелине губы и неба, наименьшей при частичной расщелине губы.

Иммуноферментный анализ тканевого фактора роста бета 2 в мягких тканях при различных типах расщелины губы и неба.

Содержание TGFβ2 в биопсии мягких тканях оценено у 84 пациентов с расщелиной губы и неба или расщелиной губы.

TGFβ2 из зоны расщелины имеет значения от 0,10 до 133,97 пг/мл, где среднее значение равно 9,54 пг/мл, 75% значений меньше или равно 20,57 пг/мл, 25% равно или ниже 5,58 пг/мл. TGFβ2 из зоны без патологии имеет значения от 0,06 до 54,78 пг/мл, где среднее значение равно 6,25 пг/мл, 75% значений меньше или равно 11,11 пг/мл, 25% равно или ниже 4,24 пг/мл. Установлено, что при РГН количество TGFβ2 отличаются в зоне патологии от количества в зоне без патологии.

При сравнительном анализе значений медиан биохимических показателей в зоне патологии и вне зоны патологии все значения были выше в зоне патологии.

Таблица 4 – Медианы содержания TGFβ2 в мягких тканях в зоне патологии при различных типах патологии (НП – нет патологии).

	TGF-β2 пг/мл	TGF-β2 пг/млНП
Двусторонняя расщелина (n35)	20,12	9,42
Односторонняя (n=34)	13,69	8,13
Расщелина губы (n=8)	4,625	6,53
Частичная расщелина неба (n=7)	8,084	6,16

Из таблицы 4, следует достоверное увеличение концентрации TGFβ2 по медианам при двусторонней расщелине губы и неба, что является наивысшим показателем среди других видах патологии.

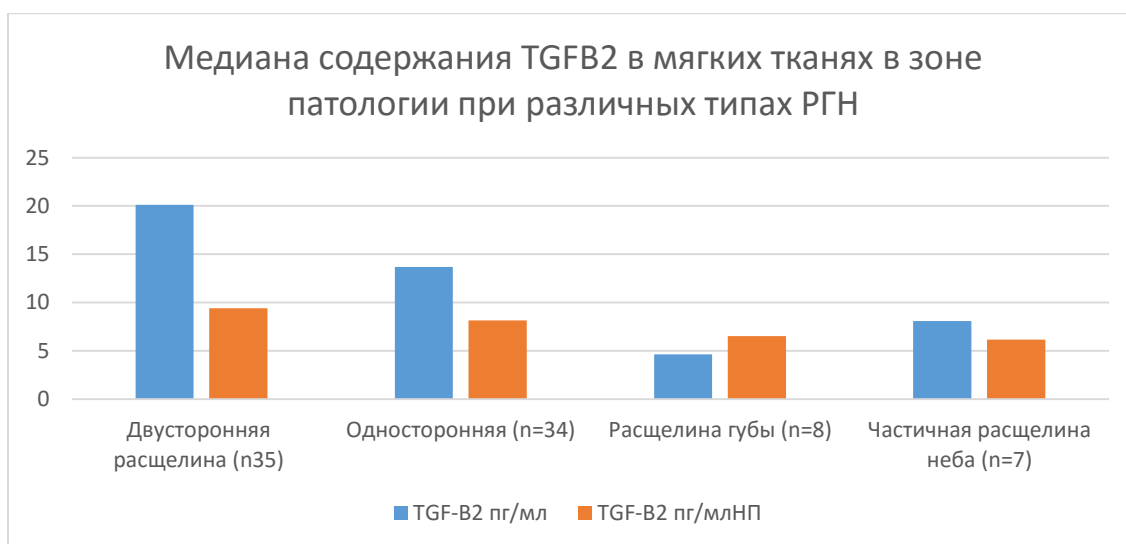


Рисунок 10 – Медианы содержания TGFβ2 в зоне патологии при различных типах расщелины губы и неба (НП – нет патологии).

При частичной же расщелине, медиана содержания TGFβ2 в зоне патологии составляла 8,084 пг/мл, что было больше чем при расщелине губы, но меньше чем при расщелине односторонней и двусторонней. Следует отметить, что содержание TGFβ2 вне патологии при расщелине губы, было выше, чем содержание TGFβ2 в зоне патологии (рисунок 10).

Увеличение при патологии составляет более чем в 2 раза. При этом следует отметить, что показатели вне зоны патологии при всех рассматриваемых видах расщелины примерно равны.

Таким образом по результатам иммуноферментного анализа TGFβ2 в мягких тканях, при различных типах РГН, мы сделали следующие выводы:

- Экспрессия TGFβ2, достоверно, повышалась при всех типах РГН, кроме частичной расщелины неба, в мягких тканях, взятых из зоны патологии по сравнению с мягкими тканями, взятыми из зоны вне очага патологии ($p = 0,027$).
- Наибольшей экспрессия TGFβ2 была при двусторонней расщелине губы и неба, наименьшей при частичной расщелине неба. Напротив, уменьшение экспрессии TGFβ2 наблюдалось при частичной расщелине губы.

ВЫВОДЫ

1. На основании данных о экспрессии матриксной металлопротеиназы 2,3 (ММП2,3), тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы 2 (ТИМП2), тканевого фактора роста бета 2 (TGFβ2), полученных из мягких тканей зоны патологии, для снижения вероятности дальнейших осложнений со стороны регенерации мягких тканей рекомендовано проведение первичной хейлопластики в периоде новорожденности.
2. Отмечалось повышенная экспрессия ММП2,3, ТИМП2, TGFβ2 ($p < 0,001$) в мягких тканях из зоны патологии
3. Установлена взаимосвязь изучаемых биохимических показателей с разными типами РГН. Наибольшая экспрессия в мягких тканях в зоне патологии ММП2, 3, ТИМП2, TGFβ2 отмечалась при двусторонней расщелине губы и неба, наименьшая при частичной расщелине губы. Разница в экспрессии объясняется степенью изменений соединительной ткани.
4. Уровень экспрессии ММП2, 3, ТИМП2, TGFβ2 повышался в зоне патологии по сравнению с тканями вне очага патологии ($p < 0,001$). Наибольшее увеличение по сравнению с зоной вне патологии наблюдалось при двусторонней расщелине губы и неба, наименьшее при частичной расщелине губы.
5. Повышение уровня экспрессии ММП2, 3, ТИМП2, TGFβ2 в зоне патологии свидетельствует о патологическом состоянии соединительной ткани, что доказывает необходимость раннего хирургического вмешательства. Раннее хирургическое вмешательство положительно влияет на регенерацию послеоперационных тканей.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При двусторонней и односторонней полной расщелине губы и неба рекомендовано проводить первичную хейлопластику в периоде новорожденности это связано с максимальной активностью матриксных металлопротеиназ 2, 3, ТИМП 2, TGFβ2.
2. При расщелине губы проводить хейлопластику в периоде новорожденности в сроки до 29 дней. В связи с изменением уровня ММП2,

ММП3, ТИМП2, TGFβ2 в мягких тканях при данном виде патологии. Оперативное вмешательство в возрасте до 29 дней позволит привести в норму концентрацию ММП2, ММП3, ТИМП2, TGFβ2, а также предотвратить патологическое влияние на мягкие ткани повышенного уровня данных проферментов, что улучшит качество заживления и послеоперационную реабилитацию.

3. Необходимо проводить сравнительный иммуноферментный анализ при проведении операции направленной на коррекцию верхней губы и неба.

4. При расщелине губы и неба у детей первичную операцию на губе необходимо проводить в периоде новорожденности (до 29 дней), проведение уранопластики рекомендовано проводить в возрасте до одного года.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИСЕРТАЦИИ

1. **Марданов А.Э.**, Смирнов И.Е., Мамедов А.А. Врожденная расщелина верхней губы и неба у детей: патогенетическое значение матриксных металлопротеиназ // Российский педиатрический журнал. 2016; 19(2): С. 106–113.

2. Мамедов Ад.А., Кучеров Ю.И., Жиркова Ю.В., Макленан А.Б., Морозова Н.С., Блиндер Ж.А., Рехвиашвили М.Г., **Марданов А.Э.**, Мазурина Л.А., Донин И.М., Волков Ю.О., Новиков П.В., Калинина А.И. Междисциплинарный подход в лечении детей с расщелиной губы и неба в современных условиях развития здравоохранения России //Материалы VВсероссийской научно–практической конференции / Врожденная и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения. 24–25 ноября 2016г., Москва. С. 185–192.

3. **Марданов А.Э.**, Мамедов А.А., Морозова Н.С., Мазурина Л.А., Зангиева О.Т. Взаимосвязь уровня матриксных металлопротеиназ с различными формами расщелины губы и неба // **Медицинский Алфавит**. 2017; 36 (333): С. 28–35.
4. **Марданов А.Э.**, Мамедов А.А., Рагимов А.А., Дашкова Н.Г., Матвеев А.В. Обоснование хирургического вмешательства у детей с расщелиной губы и неба в периоде новорожденности // **Стоматология для всех**. 2017; 4(81): С. 42–47.
5. **Марданов А.Э.**, Мамедов А.А., Рагимов А.А., Дашкова Н.Г., Матвеев А.В., Османова Т.Т. Диагностическое значение анализа матриксных металлопротеиназ у детей с расщелиной губы и неба // **Dental Magazine**. 2017; 5(161): С. 42–50.