

Генетические предикторы риска развития сочетанного течения кариеса и хронического катарального гингивита у детей

И. А. Трубка¹, З. И. Россоха², С. П. Кирьяченко², Н. О. Савичук¹, Н. Г. Горovenko¹

¹Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украина,

²ГУ «Референс-центр по молекулярной диагностике МЗ Украины», г. Киев, Украина

Ключевые слова:

кариес, гингивит, полиморфизм генетический, дети.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 154–160

DOI: 10.14739/2310-1237.2018.2.141341

E-mail: itrubka@ukr.net

Цель работы – определение роли генетического компонента в развитии сочетанного течения кариеса и гингивита у детей.

Материалы и методы. В исследовании принимали участие 49 детей школьного возраста – 7–15 лет. Стоматологическое обследование провели по общепринятой методике. Дети были разделены в зависимости от активности кариозного процесса на две группы: КПУ 0–4 (компенсированный кариес – группа сравнения, n = 27) и КПУ 5–8 (субкомпенсированный кариес – основная группа, n = 22). В этих группах хронический генерализованный катаральный гингивит (ХГКГ) установлен у 8 (29,62 %) из 27 пациентов и 15 (68,18 %) из 22 пациентов соответственно. У детей провели биохимический анализ ротовой жидкости, который включал оценку содержания кальция, фосфора, активности кислой и щелочной фосфатаз, малонового диальдегида (МДА), каталазы. Молекулярно-генетическое исследование базировалось на выделении геномной ДНК из букального эпителия. Для определения полиморфных вариантов генов *GSTT1*, *GSTM1* использовали метод мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР), а для генов *IL-1β* (C3953T, rs1143634) и *MMP13* (A77G, rs2252070) – ПЦР с последующим анализом полиморфизма длины рестриционных фрагментов.

Результаты. Установлено, что вероятность развития кариеса у детей ассоциирована с наличием делеционного полиморфизма гена *GSTM1* в сочетании с полиморфным вариантом 3953CT по гену *IL-1β*. Показано, что развитие кариеса ассоциировано с ХГКГ, а указанную сочетанную стоматологическую патологию достоверно чаще диагностировали у пациентов с генотипами 3953CT и 3953TT по гену *IL-1β*. Наличие генотипа 3953CC по гену *IL-1β* у детей снижало вероятность развития данной сочетанной стоматологической патологии. Определено достоверное повышение показателя малонового диальдегида и снижение активности каталазы при наличии полиморфных вариантов 3953CT и 3953TT по гену *IL-1β*.

Выводы. Установлены генетические предикторы, повышающие вероятность развития сочетанной стоматологической патологии – субкомпенсированного кариеса и ХГКГ, которые патогенетически связаны с повышением активности и интенсивности поражения тканей пародонта у детей.

Ключові слова:

карієс, гінгівіт, поліморфізм генетичний, діти.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 154–160

Генетичні предиктори ризику розвитку поєднаного перебігу карієсу та хронічного катарального гінгівіту в дітей

І. О. Трубка, З. І. Россоха, С. П. Кир'яченко, Н. О. Савичук, Н. Г. Горovenko

Мета роботи – визначення ролі генетичного компонента в розвитку поєднаного перебігу карієсу та гінгівіту в дітей.

Матеріали та методи. В дослідженні брали участь 49 дітей шкільного віку – 7–15 років. Стоматологічне обстеження виконали за загальноприйнятою методикою. Дітей поділили залежно від активності каріозного процесу на дві групи: КПУ 0–4 (компенсований карієс – група порівняння, n = 27) і КПУ 5–8 (субкомпенсований карієс – основна група, n = 22). У цих групах хронічний генералізований катаральний гінгівіт (ХГКГ) виявили у 8 (29,62 %) із 27 пацієнтів і 15 (68,18 %) із 22 пацієнтів відповідно. У дітей виконали біохімічний аналіз ротової рідини, який включав оцінювання вмісту кальцію, фосфору, активності кислої та лужної фосфатаз, малонового діальдегіду (МДА), каталази. Молекулярно-генетичне дослідження базувалося на виділенні геномної ДНК із букального епітелію. Для визначення поліморфних варіантів генів *GSTT1*, *GSTM1* використовували метод мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), а для генів *IL-1β* (C3953T, rs1143634) і *MMP13* (A77G, rs2252070) – ПЛР із наступним аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів.

Результати. Встановили, що вірогідність розвитку карієсу в дітей асоційована з наявністю делеційного поліморфізму гена *GSTM1* в поєднанні з поліморфним варіантом 3953CT за геном *IL-1β*. Показано, що розвиток карієсу асоційований із ХГКГ, а зазначену поєднану стоматологічну патологию вірогідно частіше виявляли в пацієнтів із генотипами 3953CT і 3953TT за геном *IL-1β*. Наявність генотипу 3953CC за геном *IL-1β* у дітей знижувала вірогідність розвитку цієї поєднаної стоматологічної патології. Визначили вірогідне підвищення показника малонового діальдегіду та зниження активності каталази за наявності поліморфних варіантів 3953CT і 3953TT за геном *IL-1β*.

Висновки. Виявили генетичні предиктори, що підвищують імовірність розвитку поєднаної стоматологічної патології – субкомпенсованого карієсу та ХГКГ, які патогенетично пов'язані з підвищенням активності та інтенсивності ураження тканин пародонта в дітей.

Key words:

dental caries, gingivitis, polymorphism genetic, child.

Pathologia 2018; 15 (2), 154–160

Genetic predictors of development risk of combined caries and chronic catarrhal gingivitis course in children

I. O. Trubka, Z. I. Rossokha, S. P. Kyriachenko, N. O. Savychuk, N. G. Gorovenko

The purpose of this work was to determine the role of the genetic component in the development of the combined course of caries and gingivitis in children.

Materials and methods. The study involved 49 schoolchildren aged 7–15 years. Dental examination was carried out according to the generally accepted method. The children were divided according to the carious process activity into two groups: 0–4 (compensated caries-comparison group) and 5–8 (subcompensated caries – main group). Chronic generalized catarrhal gingivitis (CGCG) was detected in these groups with frequency: 8 (29.62 %) of 27 patients and 15 (68.18 %) of 22 patients, respectively. Biochemical analysis of the oral fluid parameters, which included an assessment of calcium, phosphorus content, the activity of acid and alkaline phosphatases, malondialdehyde (MDA), catalase, was carried out for children. Molecular genetic research was based on the genomic DNA isolation from the buccal epithelium. To determine the polymorphic variants of *GSTT1*, *GSTM1* genes the method of multiplex polymerase chain reaction (PCR) was used and for the *IL-1 β* (C3953T, rs1143634) and *MMP13* (A77G, rs2252070) gene s– PCR followed by restriction fragment length polymorphism analysis.

Results. The development chance of caries in children was associated with the *GSTM1* gene deletion polymorphism in combination with the 3953CT polymorphic variant in the *IL-1 β* gene. It was shown, that the development of caries was associated with CGCG, and this combined dental pathology was more reliably detected in patients with 3953CT and 3953TT genotypes in the *IL-1 β* gene. Significantly increased index of malonic dialdehyde and decreased catalase activity in the presence of 3953CT and 3953TT polymorphic variants in the *IL-1 β* gene are determined.

Conclusions. Genetic predictors of increased development chance of combined dental pathology – subcompensated caries and CGCG, pathogenetically combined with increased activity and intensity of periodontal tissue damage among children, were revealed.

Распространенность кариеса во всех возрастных группах детей в Украине остается стабильно высокой: у 12-летних детей этот показатель достигает 72,7–91,4 %, а у 15-летних – 81,3–94,3 % [1]. К сожалению, в последнее время показателям распространенности кариеса не уступают показатели распространенности заболеваний тканей пародонта. Наличие заболеваний пародонта отмечают у 46,7–74,3 % при клиническом обследовании детей 9–15 лет, в 90,0–96,3 % случаев диагностируют хронический катаральный гингивит [2]. Из этого следует, что у 70–80 % детей школьного возраста одновременно диагностируют кариес и заболевания тканей пародонта. Сочетанное формирование этих заболеваний обусловлено единством патогенетических механизмов, прежде всего чрезмерной контаминацией поверхности зубов и десневой борозды патогенной микрофлорой и общими факторами риска: плохой гигиеной полости рта, микро- и макроэлементозами, отягощенной наследственностью [3]. Многофакторность развития кариеса и заболеваний тканей пародонта обосновывает современную концепцию профилактики этих заболеваний, которая включает разработку прогностических моделей их развития с учетом факторов риска. Применение молекулярно-генетических методов для понимания причин повышенного риска развития этих заболеваний вызывает интерес у многих исследователей. Развитие молекулярной биологии инициировало исследования генетических механизмов, которые модулируют развитие тканей зубов и пародонта, иммунный ответ, функции слюны или углеводный обмен, определяющих роль наследственных признаков в возникновении стоматологических заболеваний [4,5]. Несмотря на многочисленные исследования последних двух десятилетий, ни для одного гена не установили высоко достоверную и постоянно воспроизводимую ассоциацию с риском развития заболеваний тканей пародонта или кариеса. Учитывая факт, что большинство исследований обычно фокусируются на одном из этих компонентов, последующие работы должны основываться на изучении многофакторных взаимодействий, поскольку они могут влиять на развитие сочетанной патологии [6].

Цель работы

Определение роли генетического компонента в развитии сочетанного течения кариеса и гингивита у детей.

Материалы и методы исследования

В исследовании принимали участие 49 детей школьного возраста – от 7 до 15 лет. Стоматологическое обследование провели по общепринятой методике: жалобы, данные анамнеза, стоматологический статус. Индекс КПУ, гигиенические и пародонтальные индексы определяли в соответствии с возрастом ребенка. Детей разделили в зависимости от активности кариозного процесса на две группы: КПУ 0–4 (компенсированный кариес – группа сравнения, n = 27) и КПУ 5–8 (субкомпенсированный кариес – основная группа, n = 22). В этих группах хронический генерализованный катаральный гингивит (ХГКГ) установлен у 8 (29,62 %) из 27 пациентов и 15 (68,18 %) из 22 пациентов соответственно. Исходя из достоверного увеличения частоты распространения ХГКГ в основной группе ($\chi^2 = 7,23$, p = 0,008, OR=5,08; CI 95 % (1,51–17,23)) на момент включения в исследование, становится очевидным, что актуально изучение именно сочетанного течения данных стоматологических патологий у детей. У включенных в исследование детей проведен биохимический анализ показателей ротовой жидкости, который предусматривал оценку содержания кальция, фосфора, активности кислой и щелочной фосфатазы, малонового диальдегида (МДА), каталазы [7].

Молекулярно-генетическое исследование проведено в молекулярно-генетической лаборатории ГУ «Референс-центр по молекулярной диагностике МЗ Украины» и базировалось на выделении геномной ДНК из буккального эпителия. ДНК экстрагировали с использованием набора Quick-DNA Universal Kit согласно протоколу производителя («ZymoResearch», США). Для определения полиморфных вариантов генов *GSTT1*, *GSTM1* использовали метод мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР), а для генов *IL-1 β* (C3953T, rs1143634) и *MMP13* (A77G, rs2252070) – ПЦР с последующим анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов. ПЦР про-

Таблиця 1. Олигонуклеотидные праймеры

Ген (полиморфизм)	Последовательность праймеров (5–3)	Размер амплифицированного участка ДНК
<i>MMP (A77G)</i>	F: GACAAATCATCTTCATCACC R: GATACGTTCTTACAGAAGGC	445 п.н.
<i>IL-1β (C3953T)</i>	F: GTTGCATCAGACTTTGACC R: TTCAGTTCATATGGACCAGA	249 п.н.
<i>GSTT1</i>	F: TTCCTTACTGGTCTCACAATCTC R: TCACCGGATCATGGCCAGCA	480 п.н.
<i>GSTM1</i>	F: GAACTCCCTGAAAAGCTAAAAGC R: GTTGGGCTCAAATATACGGTGG	215 п.н.
Фрагмент гена альбумина	F: GCCCTCTGCTAACAGTCCTAG R: GCCCTAAAAGAAAATCGCCAATC	350 п.н.

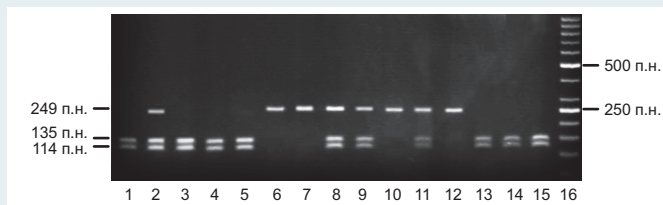


Рис. 1. Электрофорезграмма распределения рестриционных фрагментов гена *IL-1 β* (C3953T). Образцы 1, 3, 4, 5, 13–15 – генотип СС; образцы 2, 8, 9, 11 – генотип СТ; образцы 6, 7, 10, 12 – генотип ТТ, образец 16 – маркер молекулярного веса.

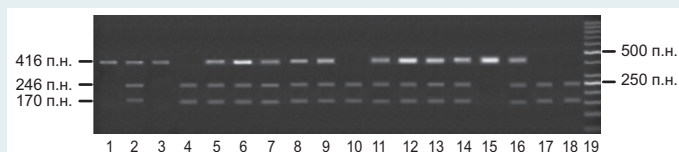


Рис. 2. Электрофорезграмма распределения рестриционных фрагментов гена *MMP13* (A77G). Образцы 1, 3, 15 – генотип АА; образцы 2, 5–9, 11–14, 16 – генотип АГ; образцы 4, 10, 17, 18 – генотип ГГ; образец 19 – маркер молекулярного веса.

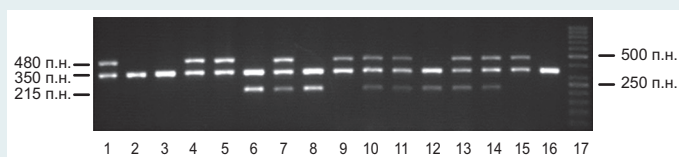


Рис. 3. Электрофорезграмма распределения продуктов амплификации генов *GSTT1*, *GSTM1*. Образцы 1, 4, 5, 9, 15 – генотип *GSTT1* «аллель»/ *GSTM1* «делеция»; образцы 6, 8, 12 – генотип *GSTT1* «делеция»/*GSTM1* «аллель»; образцы 2, 3, 16 – генотип *GSTT1* «делеция»/*GSTM1* «делеция»; образцы 7, 10, 11, 13, 14 – генотип *GSTT1* «аллель»/*GSTM1* «аллель».

водили на термоциклере «FlexCycler» (AnalyticJena, ФРГ) с соблюдением температурного режима реакции. Исследуемые участки генов амплифицировали с помощью специфических олигонуклеотидных праймеров («Metabion», ФРГ) указанных в таблице 1.

Продукты амплификации фрагментов ДНК генов *MMP13* (A77G) и *IL-1 β* (C3953T) подлежали гидролитическому расщеплению с помощью эндонуклеаз рестрикции *BsrI*, *TaqI* («ThermoScientific», США) соответственно. Реакцию рестрикции участка гена *IL-1 β* (C3953T) и *MMP13* (A77G) проводили в микротермостате TDB-120 Dry Block Thermostat («Biosan», Латвия) при 65 °C в течение 12 часов. Реакцию ре-

стрикции участка гена *IL-1 β* (C3953T) останавливали перемещением пробирок в штатив при комнатной температуре, а гена *MMP13* (A77G) – повышением температуры до 80 °C в течение 20 минут. Состояние фрагментов анализировали в 3 % агарозном геле (агароза фирмы «Cleaver Scientific», Великобритания) с добавлением бромистого этидия. Для оценки размера фрагментов использовали маркер молекулярного веса Gene Ruler 50bp DNALadder («Thermo Scientific», США) с визуализацией в системе геле-документации microDOC с УФ трансиллюминатором CLEAVER («Cleaver Scientific», Великобритания). Как видно на рис. 1, ампликоны гена *IL-1 β* (C3953T) подлежали гидролитическому расщеплению по имеющемуся сайту рестрикции 5'-T ↓ CGA-3', в результате чего образовывались фрагменты с молекулярным весом 135 п.н. и 114 п.н. – генотип СС. Сайт рестрикции исчезал при нуклеотидной замене С на Т в позиции 3953, поэтому при нуклеотиде Т размер фрагмента амплифицированного участка ДНК после воздействия рестриктазы оставался неизменным – 249 п.н. Соответственно при генотипе СТ на электрофорезграмме наблюдали все три длины фрагментов одновременно: 249 п.н., 135 п.н. и 114 п.н.

На рис. 2 представлена электрофорезграмма рестриктогенных фрагментов гена *MMP13* (A77G). Гидролитическое расщепление амплифицированного участка ДНК рестриктазой происходило при наличии сайта рестрикции TGAC ↓ CN, вследствие чего образовывались фрагменты с молекулярным весом 246 п.н., 170 п.н. и 29 п.н. (генотип GG). Наличие амплифицированного фрагмента 416 п.н. и 29 п.н. (генотип AA). Размер фрагмента амплифицированного участка ДНК после воздействия рестриктазы – 416 п.н., 246 п.н., 170 п.н. и 29 п.н. (генотип AG).

На рис. 3 представлена электрофорезграмма фрагментов ДНК после проведения мультиплексной ПЦР генов *GSTT1*, *GSTM1*. При наличии амплифицированного фрагмента ДНК 480 п.н. регистрировали генотип *GSTT1* «аллель» (аллельный полиморфизм), а при наличии фрагмента длиной 215 п.н. – *GSTM1* «аллель» (аллельный полиморфизм). При отсутствии фрагментов ДНК для генов *GSTT1* и *GSTM1* результат учитывали как «делеция» (делеционный полиморфизм). Качество выделения ДНК и условия постановки ПЦР контролировали, амплифицируя фрагмент гена альбумина с молекулярным весом 350 п.н. При отсутствии фрагмента альбумина в амплифицированном образце результаты не учитывали.

Статистическую обработку полученных данных провели с использованием программных пакетов SPSS17.0 («IBM SPSS Statistics 17 Free PC Software Full Version», USA) и MS Excel 2010 (лицензионный номер K93660931 2016). Биохимические и клинико-лабораторные показатели представлены в виде средние значения (M) ± стандартная ошибка среднего (SEM). Для сравнения средних использовали критерий Стьюдента. Достоверными считали различия при уровне значимости <0,05. Для оценки рисков использовали показатель OR – «отношение шансов» и его 95 % доверительный интервал (CI).

Таблица 2. Частота распределения полиморфных вариантов в группах сравнения

Ген / Полиморфизм	Генотипы	Группа сравнения (n = 27)		Основная группа (n = 22)		Результаты статистического анализа			
		n	%	n	%	χ^2	OR	95 % CI	p
GSTT1	allele	22	81,48	18	81,82	0,12	0,98	0,23–4,19	0,733
	deletion	5	18,52	4	18,18		1,02	0,24–4,38	
GSTM1	allele	9	33,33	11	50,00	0,79	0,50	0,16–1,59	0,374
	deletion	18	66,67	11	50,00		2,00	0,63–6,36	
IL-1 β C3953T	3953CT	8	29,63	10	45,45	0,71	0,51	0,16–1,64	0,398
	3953TT	2	7,41	2	9,09	0,10	0,80	0,10–6,19	0,756
	3953CT+TT	18	33,33	22	50,00	2,14	0,50	0,20–1,13	0,143
MMP13 A77G	77AA	10	37,04	10	45,45	0,09	0,71	0,22–2,22	0,761
	77AG	12	44,44	8	36,36	0,08	1,40	0,44–4,44	0,779
	77GG	5	18,52	4	18,18	0,12	1,02	0,24–4,38	0,733
	77AG+GG	17	62,96	12	54,55	0,09	1,42	0,45–4,46	0,761

Таблица 3. Частота распределения полиморфных вариантов в группах сравнения

Ген / Полиморфизм	Генотипы	Группа сравнения КПУ 0–4 без ХГКГ (n = 19)		Основная группа КПУ 5–8 с ХГКГ (n = 15)		Результаты статистического анализа			
		n	%	n	%	χ^2	OR	95CI	p
GSTT1	allele	19	100	11	73,33	3,46	-	-	0,063
	deletion	0	0,00	4	26,67		-	-	
GSTM1	allele	6	31,58	5	33,33	0,07	0,92	0,22–3,92	0,792
	deletion	13	68,42	10	66,67		1,08	0,26–4,60	
IL-1 β C3953T	3953CC	13	68,42	5	33,33	4,14	0,23	0,05–0,98	0,042*
	3953CT+TT	8	21,05	18	60,00	5,76	5,85	1,55–22,02	0,016*
MMP13 A77G	77AA	7	36,84	7	46,67	0,01	0,73	0,18–2,91	0,925
	AG+GG	19	50,00	13	43,33	1,60	0,36	0,10–1,29	0,205

*: p < 0,05.

Результаты

Проведен анализ генетического риска, обусловленного влиянием исследованных генов *GSTT1*, *GSTM1*, *IL-1 β* (C3953T) *MMP13* (A77G), в развитии активности кариеса у детей (табл. 2).

При сравнительном анализе частот полиморфных вариантов исследуемых генов в основной и группе сравнения достоверные отличия не установили, хотя другие исследования показывают наличие определенных ассоциаций. Так, для носителей мутантных аллелей гена *MMP13* продемонстрировано значительное снижение вероятности развития кариеса (OR = 0,538, 95 % CI 0,313–0,926) [8]. Многочисленные исследования подтверждают существующие представления о генетической склонности к кариесу и предполагают, что диапазон наследственности составляет от 40 % до 70 % [9]. Описано возможное влияние генов-кандидатов на восприимчивость к кариесу посредством контроля структуры твердых тканей зубов, свойств эмали и слюны, иммунитета, кальциево-фосфорного обмена, композиции микроорганизмов в полости рта, алиментарных предпочтений и других факторов [10–13]. Их идентификация и знание механизмов влияния имеют важное значение для полного понимания сущности кариозной болезни [14,15]. В то же время, несмотря на понимание важности геномики в развитии кариеса, из результатов исследований становится очевидным, что отдельные гены не могут быть представлены в качестве маркеров. Кариес – мультифакторное заболевание, природа которого

обусловлена комплексом экзогенных и эндогенных факторов риска [9].

Поэтому провели сравнительный анализ возможного влияния комбинаций полиморфных вариантов исследованных генов на вероятность развития кариеса, учитывая его мультифакторный патогенез. Из 124 возможных комбинаций генотипов по генам *GSTT1*, *GSTM1*, *IL1 β* , *MMP13* значимым было только сочетание делеционного полиморфизма гена *GSTM1* с полиморфным вариантом 3953CT по гену *IL-1 β* ($\chi^2 = 4,55$, $p = 0,033$, OR = 4,85, 95% CI (1,29–18,15)), которое превалировало в основной группе и свидетельствует о возрастании вероятности развития кариеса при данной комбинации почти в 5 раз. Можно предположить, что влияние такого сочетания полиморфизма генов реализуется посредством свойств ротовой жидкости, которая, как известно, имеет различные защитные механизмы: иммунологические, ферментативные и система антиоксидантов [16,17].

Дальнейшее сравнение исследуемых групп в зависимости от сочетанного течения кариеса с хроническим генерализованным катаральным гингивитом показало достоверное отличие в частоте распространения полиморфных вариантов (табл. 3).

Среди детей группы сравнения без ХГКГ достоверно чаще отмечен полиморфный вариант 3953CC по гену *IL-1 β* ($\chi^2 = 4,14$, $p = 0,042$, OR = 0,23, 95 % CI (0,05–0,98)), а у детей основной группы с ХГКГ была увеличена частота распространенности полиморфных вариантов 3953CT и 3953TT

Таблица 4. Оценка влияния полиморфных вариантов гена *IL-1β* на биохимические показатели у детей с сочетанной патологией

Биохимические показатели	Генотипы	Группа сравнения КПУ 0–4 без ХГКГ (n = 19)	Основная группа КПУ 5–8 с ХГКГ (n = 15)
Кальций	3953СС	0,61 ± 0,16	0,65 ± 0,15
	3953СТ+ ТТ	0,54 ± 0,15	0,74 ± 0,18
Фосфор	3953СС	4,98 ± 0,29	5,42 ± 0,52
	3953СТ+ ТТ	5,00 ± 0,16	4,63 ± 0,56
Кислая фосфатаза	3953СС	0,30 ± 0,04	0,36 ± 0,10
	3953СТ+ ТТ	0,31 ± 0,08	0,65 ± 0,11*
Щелочная фосфатаза	3953СС	0,35 ± 0,05	0,49 ± 0,10
	3953СТ+ТТ	0,29 ± 0,08	0,61 ± 0,08*
Каталаза	3953СС	9,48 ± 1,15	8,39 ± 2,66
	3953СТ+ТТ	10,54 ± 1,05	7,92 ± 0,58*
МДА	3953СС	0,21 ± 0,10	0,40 ± 0,11
	3953СТ+ТТ	0,20 ± 0,06	0,95 ± 0,18*

*: p < 0,05.

($\chi^2 = 5,76$, $p = 0,016$, $OR = 5,85$, 95 % CI (1,55–22,02)). Полученные результаты свидетельствуют о наличии ассоциации полиморфного варианта 3953СС со снижением шансов развития ХГКГ, а у детей с полиморфными вариантами 3953СТ и 3953ТТ увеличивается вероятность развития ХГКГ, то есть для реализации неблагоприятного эффекта достаточно даже одной аллели гена. В ряде исследований отмеченный эффект также нашел подтверждение. У носителей аллеля 3953Т по гену *IL1β* в гомо- и гетерозиготном состояниях синтезируется повышенный уровень цитокина в ответ на определенные стимулы и развивается более интенсивная воспалительная реакция со склонностью к хронизации [18,19].

Для данных групп пациентов оценили комплексное влияние полиморфных вариантов по генам *GSTT1*, *GSTM1*, *IL-1β*, *MMP13* на шанс возникновения сочетанной патологии. Установлено, что аллель 3953Т по гену *IL-1β* взаимосвязана с повышенным риском сочетанной стоматологической патологии у детей, и в комбинации с делеционным полиморфизмом гена *GSTT1* также был повышен ($\chi^2 = 4,48$, $p = 0,035$, $OR = 5,42$; 95 % CI (1,08–12,14)). Полученные результаты дают возможность утверждать, что комбинации полиморфизма генов глутатион-S-трансферазы *GSTT1*, *GSTM1* и *IL-1β*, играя важную роль в антиоксидантной, антиоксической и противовоспалительной защите, могут выступать в роли предикторов развития сочетанного течения кариеса и хронического катарального генерализованного гингивита.

Оценивали взаимосвязь полиморфных вариантов генов с клиническими показателями проявления воспаления в тканях пародонта и биохимическими показателями ротовой жидкости. В основной группе детей отмечена зависимость повышения показателя РМА от полиморфных вариантов генов *IL1β* и *MMP13*. Установлено, что при наличии полиморфного варианта 3953ТТ показатель РМА был достоверно хуже (24,10 ± 3,08), чем при полиморфном варианте 3953СС (14,20 ± 3,46) по гену *IL1β*. При полиморфном варианте 77GG (28,14 ± 2,88) показатель РМА был достоверно худшим по сравнению с полиморфным ва-

риантом 77AA (13,78 ± 4,54) по гену *MMP13*. Учитывая, что индекс РМА является показателем степени воспаления тканей пародонта, установленная взаимосвязь между РМА и полиморфным вариантом гена *IL1β* еще раз подтверждает, что наличие полиморфного варианта 3953ТТ увеличивает вероятность развития ХГКГ у детей. Наличие полиморфного варианта 77GG по гену *MMP13*, который регулирует процессы организации органической матрицы эмали, дентина и челюстных костей, увеличивает риск развития именно тяжелых форм заболеваний пародонта.

Установленные генетические эффекты указывают на известные по данным специализированной литературы патогенетические механизмы, вовлеченные в патологический процесс. У носителей одновременно мутантных аллелей -511Т, +3953Т гена *IL-1* и аллеля 2R гена *IL-1RN* клинические проявления заболеваний тканей пародонта имеют более выраженный характер, что, возможно, свидетельствует о возможном сочетанном генетическом влиянии, тогда как эффект одного гена может быть незначительным [18,20,21]. Согласно некоторым авторам, при наличии гетерозиготного полиморфного варианта А77G по гену *MMP13* наблюдают повышение расщепления белков межклеточного матрикса и, как следствие, возрастает склонность к повышенной деструкции тканей пародонта [19,22].

В нашем исследовании у детей основной группы с ХГКГ отмечено достоверное повышение показателей уровней кислой и щелочной фосфатазы при полиморфных вариантах 3953СТ и 3953ТТ гена *IL1β*, в отличие от группы сравнения без ХГКГ (табл. 4). Кислая и щелочная фосфатазы принимают участие в фосфорно-кальциевом обмене, тем самым обеспечивая минерализацию костей и зубов. Общеизвестно, что активность этих ферментов при воспалительных заболеваниях полости рта, в том числе некоторых форм гингивитов, резко повышается. Это связано, прежде всего, с нарушением стабилизации лизосомальных и клеточных мембран и выходом гидролитических ферментов в процессе воспаления под действием его медиаторов, активируемых микробными агентами [23,24].

Для основной группы детей с ХГКГ характерно достоверное повышение показателя МДА и снижение каталазы при наличии полиморфного варианта 3953СТ+ТТ (0,95 ± 0,18 и 7,92 ± 0,58 соответственно) в отличие от группы сравнения без ХГКГ. Повышенный уровень МДА – одно из неблагоприятных последствий перекисного окисления липидов, накопление которого отражает степень оксидативного стресса в организме, о чем свидетельствуют низкие значения активности каталазы (табл. 4). Оценка этого показателя необходима для определения причин и механизмов развития того или иного патологического процесса [25].

Исследованные гены могут выступать в качестве предикторов, повышающих вероятность возникновения сочетанного течения субкомпенсированного кариеса и хронического катарального гингивита у детей, но, учитывая мультифакторную природу кариеса и заболеваний тканей пародонта, реализация их влияния определяется изменяемыми экзогенными и эндогенными факторами риска.

Выводы

1. Установлено, что вероятность развития кариеса возрастала при наличии у пациента комбинации делеционного полиморфизма гена *GSTM1* и полиморфного варианта 3953CT по гену *IL-1β* ($\chi^2 = 4,55$, $p = 0,033$, OR = 4,85, 95 % CI (1,29–18,15)).

2. Показано, что развитие кариеса ассоциировано с ХГКГ, а указанную сочетанную стоматологическую патологию достоверно чаще диагностировали у пациентов с генотипами 3953CT и 3953TT по гену *IL-1β* ($\chi^2 = 5,76$, $p = 0,016$, OR = 5,85, 95 % CI (1,55–22,02)), наличие генотипа 3953CC по гену *IL-1β* ($\chi^2 = 4,14$, $p = 0,042$, OR = 0,23, 95 % CI (0,05–0,98)) у детей свидетельствовало о протективном влиянии на сочетанную стоматологическую патологию.

3. Установлено, что аллель 3953T по гену *IL-1β* взаимосвязана с повышенным риском сочетанной стоматологической патологии у детей и в комбинации с делеционным полиморфизмом гена *GSTT1* повышает вероятность развития данной патологии.

4. Отмечено достоверное повышение показателя малонового диальдегида и снижение каталазы при наличии полиморфных вариантов 3953CT и 3953TT по гену *IL-1β*, а также повышение активности и интенсивности поражения тканей пародонта (индекс РМА) у детей с сочетанной стоматологической патологией.

Перспективы дальнейших исследований состоят в разработке индивидуализированных схем профилактики и лечения кариеса и хронического генерализованного катарального гингивита у детей с учетом генетических предикторов сочетанной стоматологической патологии у детей.

Конфликт интересов: отсутствует.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Сведения об авторах:

Трубка И. А., канд. мед. наук, доцент, зав. каф. стоматологии детского возраста, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украина.

Россоха З. И., канд. мед. наук, директор ГУ «Референс-центр по молекулярной диагностике МЗ Украины», г. Киев.

Кирияченко С. П., канд. биол. наук, биолог молекулярно-генетической лаборатории, ГУ «Референс-центр по молекулярной диагностике МЗ Украины», г. Киев.

Савичук Н. О., д-р мед. наук, профессор каф. стоматологии детского возраста, проректор по научной работе, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украина.

Горovenko Н. Г., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. медицинской и лабораторной генетики, чл.-корр. НАМН Украины, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украина.

Відомості про авторів:

Трубка І. О., канд. мед. наук, доцент, зав. каф. стоматології дитячого віку, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Россоха З. І., канд. мед. наук, директор ДЗ «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України», м. Київ.

Кири'яченко С. П., канд. біол. наук, біолог молекулярно-генетичної лабораторії, ДЗ «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України», м. Київ.

Савичук Н. О., д-р мед. наук, професор каф. стоматології дитячого віку, проректор з наукової роботи, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Горovenko Н. Г., д-р мед. наук, професор, зав. каф. медичної та лабораторної генетики, чл.-кор. НАМН України, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Information about authors:

Trubka I. O., MD, PhD, Associate Professor, Head of the Department of Children's Dentistry, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine. Rossokha Z. I., MD, PhD, Director of State Institution "Reference-Centre for molecular diagnostic of Public Health Ministry of Ukraine", Kyiv.

Kyriachenko S. P., PhD in Biology, Biologist of Molecular-Genetic laboratory, State Institution "Reference-Centre for molecular diagnostic of Public Health Ministry of Ukraine", Kyiv.

Savychuk N. O., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Children's Dentistry, Pro-Rector for Science, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Gorovenko N. G., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Medical and Laboratory Genetics, Corresponding Member of the NAMS of Ukraine, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 09.04.2018

Після доопрацювання / Revised: 23.04.2018

Прийнято до друку / Accepted: 26.04.2018

Список литературы

- Хоменко Л.О. Екологічні аспекти стоматологічних захворювань у дітей / Л.О. Хоменко, О.І. Остапко, О.В. Дуда // Клінічна стоматологія. – 2011. – №1–2. – С. 53–63.
- Попович З.Б. Поширеність захворювань пародонту у дітей, які проживають на екологічно забруднених територіях / З.Б. Попович, Г.В. Кіндрат, Г.О. Трушич // Вісник стоматології. – 2010. – №2. – С. 32–37.
- Савичук Н.О. Дисбіоз и воспаление в комплексной терапии хронического генерализованного катарального гингивита у детей школьного возраста / Н.О. Савичук, О.А. Марченко // Современная стоматология. – 2015. – №3. – С. 46–50.
- Genome-wide association scan for childhood caries implicates novel genes / J.R. Schaffer, X. Wang, E. Feingold, et al // Journal of Dental Research. – 2011. – Vol. 90(12). – P. 1457–1462.
- Penes N.O. Role of genetic polymorphism in nutritional supplementation therapy in personalized medicine / N.O. Penes, B. Weber, S.D. Paun // Rom J Morphol Embryol. – 2017. – Vol. 58(1). – P. 53–58.
- Piekoszewska-Ziętek P. Single Nucleotide Polymorphism in the Aetiology of Caries: Systematic Literature Review / P. Piekoszewska-Ziętek, A. Turska-Szybka, D. Olczak-Kowalczyk // CariesRes. – 2017. – Vol. 51(4). – P. 425–435.
- Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / А.М. Горячковский. – 3-е изд., испр. и доп. – Одесса: Экология, 2005. – 607 с.
- MMP13 polymorphism decreases risk for dental caries / P.N. Tannure, E.C. Küchler, P. Falagan-Lotsch et al. // Caries Research. – 2012. – Vol. 46. – P. 401–407.
- Divaris K. Precision Dentistry in Early Childhood The Central Role of Genomics / K. Divaris // Dent Clin N Am. – 2017. – Vol. 61(3). – P. 619–625.
- Gene-environment interactions in the Etiology of Dental Caries / G. Yildiz, R.B. Ermis1, N.S. Calapoglu, et al. // Journal of Dental Research. – 2016. – Vol. 95(1). – P. 74–79.
- A Polymorphism in the MTRR Gene Is Associated with Early Childhood Caries and Underweight / L.A.A. Antunes, C.M.C. Machado, A.C.K. Couto, et al. // Caries Res. – 2017. – Vol. 51. – P. 102–108.
- Genes Involved in the Enamel Development Are Associated with Calcium and Phosphorus Level in Saliva / E.C. Küchler, G.D. Pecharki, M.L. Castro et al. // Caries Res. – 2017. – Vol. 51. – P. 225–230.
- Piekoszewska-Ziętek P. Single Nucleotide Polymorphism in the Aetiology of Caries: Systematic Literature Review / P. Piekoszewska-Ziętek, A. Turska-Szybka, D. Olczak-Kowalczyk // Caries Res. – 2017. – Vol. 51. – P. 425–435.
- Opal S. Genetic factors affecting dental caries risk / S. Opal, S. Garg, J. Jain, I. Walia // Aust Dent J. – 2015. – Vol. 60. – P. 2–11.

- [15] Genetic and environmental factors associated with dental caries in children: the Iowa Fluoride Study / X. Wang, M.C. Willing, M.L. Marazita, et al. // *Caries Res.* – 2012. – Vol. 46. – P. 177–184.
- [16] Spinei A. State of antioxidant system glutathione – glutathione S-transferase in deep fluoridation of tooth enamel in children with high risk of dental caries / A. Spinei, L. Gavriluc, Iu. Spinei // *Curierul medical.* – 2015. – Vol. 58(3). – P. 3–5.
- [17] Total antioxidant capacity of saliva and dental caries / F. Ahmadi-Motamayel, M.T. Goodarzi, S.S. Hendi et al. // *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* – 2013. – Vol. 18(4). – P. 553–556.
- [18] Karimbux N.Y. Interleukin-1 Gene Polymorphisms and Chronic Periodontitis in Adult Whites: A Systematic Review and Meta-Analysis / N.Y. Karimbux, V.M. Saraiya // *J. Periodontology.* – 2012. – Vol. 83. – №11. – P. 1407–1419.
- [19] Prioritization of Candidate Genes for Periodontitis Using Multiple Computational Tools / Y. Zhan, R. Zhang, X. Song, et al. // *J. Periodontology.* – 2014. – Vol. 85(8). – P. 1059–1069.
- [20] Гасюк Н.В. Сучасні уявлення про етіологію та патогенез хвороб пародонту / Н.В. Гасюк, Г.А. Єрошенко, О.В. Палій // *Світ медицини та біології.* – 2013. – №2(38). – С. 207–211.
- [21] Interleukin-1 Genetic Association With Periodontitis in Clinical Practice / M.J. McDevitt, Dr. H.-Y. Wang, C. Knobelmann, et al // *Journal of Periodontology February.* – 2000. – Vol. 71(2). – P. 156–163.
- [22] Jain A. Role of matrix metalloproteinase in dental caries, pulp and periapical inflammation: an overview / A. Jain, R. Bahuguna // *Journal of oral biology and craniofacial research.* – 2015. – Vol. 5. – P. 212–218.
- [23] Dabra S. Evaluating the levels of salivary alkaline and acid phosphatase activities as biochemical markers for periodontal disease: A case series / S. Dabra, P. Singh // *Dent Res J (Isfahan).* – 2012. – Vol. 9(1). – P. 41–45.
- [24] Сирак С.В. Динамика биохимических показателей ротовой жидкости у детей и подростков при использовании разработанного зубного эликсира / С.В. Сирак, А.Г. Сирак, И.М. Быков // *Стоматология детского возраста и профилактика.* – 2013. – Т. 12. – №4(47). – С. 61–65.
- [25] Tóthová L. Salivary markers of oxidative stress in oral diseases / L. Tóthová, N. Kamodyová, T. Červenka, P. Celec // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2015. – Vol. 5. – P. 73.
- [12] Kuchler, E. C., Pecharki, G. D., Castro, M. L., Ramos, J., Barbosa, Jr. F., Brancher, J. A., et al. (2017) Genes Involved in the Enamel Development Are Associated with Calcium and Phosphorus Level in Saliva. *Caries Res*, 51(3), 225–230 doi: 10.1159/000450764.
- [13] Piekoszewska-Ziętek, P., Turska-Szybka, A., & Olczak-Kowalczyk, D. (2017) Single Nucleotide Polymorphism in the Aetiology of Caries: Systematic Literature Review. *Caries Res*, 51(4), 425–435. doi: 10.1159/000476075.
- [14] Opal, S., Garg, S., Jain, J., & Walia, I. (2015) Genetic factors affecting dental caries risk. *Aust Dent J*, 60(1), 2–11. doi: 10.1111/adj.12262.
- [15] Wang, X., Willing, M. C., Marazita, M. L., Wendell, S., Warren, J. J., Broffitt, B., et al. (2012) Genetic and environmental factors associated with dental caries in children: the Iowa Fluoride Study. *Caries Res*, 46(3), 177–184. doi: 10.1159/000337282.
- [16] Spinei, A., Gavriluc, L., & Spinei, Iu. (2015) State of antioxidant system glutathione – glutathione S-transferase in deep fluoridation of tooth enamel in children with high risk of dental caries. *Curierul medical*, 58(3), 3–5.
- [17] Ahmadi-Motamayel, F., Goodarzi, M. T., Hendi, S. S., Kasraei, S., & Moghimbeigi, A. (2013) Total antioxidant capacity of saliva and dental caries. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 18(4), 553–556. doi: 10.4317/medoral.18762.
- [18] Karimbux, N. Y., & Saraiya, V. M. (2012). Interleukin-1 Gene Polymorphisms and Chronic Periodontitis in Adult Whites: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Periodontology*, 83(11), 1407–1419. doi: 10.1902/jop.2012.110655.
- [19] Zhan, Y., Zhang, R., Lv, H., Song, X., Xu, X., Chai, L., et al. (2014) Prioritization of Candidate Genes for Periodontitis Using Multiple Computational Tools. *J Periodontology*, 85(8), 1059–1069. doi: 10.1902/jop.2014.130523.
- [20] Gasyuk, N. V., Yeroshenko, G. A., & Paliy, E. V. (2013) Suchasni uiaavlennia pro etiologiiu ta patohenez khvorob parodontu [Modern idea about etiology and pathogenesis of parodontal tissues' diseases]. *Svit medytsyny ta biologii*, 2(38), 207–211. [in Ukrainian].
- [21] McDevitt, M. J., Wang, H. -Y., Knobelmann, C., Newman, M. G., di Giovine, F. S., Timms, J., et al. (2000) Interleukin-1 Genetic Association With Periodontitis in Clinical Practice. *Journal of Periodontology*, 71(2), 156–163. doi: 10.1902/jop.2000.71.2.156.
- [22] Jain, A., & Bahuguna, R. (2015) Role of matrix metalloproteinase in dental caries, pulp and periapical inflammation: an overview. *Journal of oral biology and craniofacial research*, 5(3), 212–218. doi: 10.1016/j.jobcr.2015.06.015.
- [23] Dabra, S., & Singh, P. (2012) Evaluating the levels of salivary alkaline and acid phosphatase activities as biochemical markers for periodontal disease: A case series. *Dent Res J (Isfahan)*, 9(1), 41–45. doi: 10.4103/1735-3327.92942.
- [24] Sirak, S. V., Sirak, A. G., & Bykov, I. M. (2013) Dinamika biokhimicheskikh pokazatelej rotovoj zhidkosti u detej i podrostkov pri ispol'zovanii razrabotannogo zubnogo e'leksira [Dynamics of biochemical parameters oral liquid of children and youth from the use of the newly developed mouth wash]. *Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika*, 12(47), 61–65. [in Russian].
- [25] Tóthová, L., Kamodyová, N., Červenka, T., & Celec, P. (2015) Salivary markers of oxidative stress in oral diseases. *Front. Cell. Infect. Microbiol*, 5, 73. doi: 10.3389/fcimb.2015.00073.

References