

А.З. Исамулаева,
к.м.н., доцент, зав. кафедрой
терапевтической стоматологии, врач-
стоматолог-терапевт высшей категории

Астраханский государственный
медицинский университет

Генетический полиморфизм как фактор риска воспалительных заболеваний пародонта у пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, проживающих в Астраханской области

Резюме. Система здравоохранения направляет свою активную деятельность в сферу проектов на профилактику болезней пародонта, но для снижения общего уровня риска воспалительных заболеваний необходимо принимать во внимание генетические факторы риска. Проведенное исследование анализов полиморфизма выявило распределение различных аллелей генов на выраженную дисрегуляцию воспаления и существенное влияние на общие особенности протекания воспалительного ответа в тканях пародонта у пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, принадлежащих к разным национальностям и проживающих в Астраханской области. Применение молекулярно-генетического метода в стоматологии позволит оптимизировать специфику пародонтологической помощи генетическим скринингом и тем самым выявлять на ранних стадиях патологию пародонта у пациентов.

Ключевые слова: воспалительные заболевания пародонта, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, молекулярно-генетический метод, анализ полиморфизма, генетический фактор риска

В настоящее время разрабатываются новые стратегии, основанные на выявлении индивидуальной предрасположенности к болезням пародонта на фоне соматической патологии и коррекции иммунологических изменений, ассоциированных полиморфизмами кодирующих генов посредством иммунокорректоров [1, 2, 4, 6, 8, 11]. Различия в генах, контролирующих защитные реакции организма, могут влиять на уровень продукции кодируемых белков и, следовательно, на характер протекания иммунного ответа. В связи с этим ведется активный поиск генов, кодирующих ключевые цитокины-регуляторы иммунного воспаления, а также местные факторы защиты полости рта, модулирующие степень поражения тканей пародонта [1–3, 7, 9, 10]. Поиск новых генетических предикторов воспалительных заболеваний пародонта (ВЗП) на фоне язвенной болезни желудка (ЯБЖ) и двенадцатиперстной кишки (ЯБДПК) является

Summary. The health care system directs its activity in the sphere of projects for the prevention of periodontal disease, but to reduce the overall level of risk of inflammatory diseases of the need to take into account the genetic risk factors. The study polymorphism analysis revealed the distribution of different alleles of the genes expressed in the dysregulation of inflammation and significant impact on the general features of the course of the inflammatory response in periodontal tissues in patients with gastric ulcer and duodenal ulcer, belonging to different nationalities and living in the Astrakhan region. Application of molecular genetic methods in dentistry will optimize the specificity of periodontal means of genetic screening, thereby to detect the early stages of the pathology of periodontal patients.

Key words: inflammatory periodontal disease, gastric ulcer and duodenal ulcer molecular genetic methods, the analysis of polymorphisms, the genetic risk factor

на сегодняшний день важной медико-генетической задачей, решение которой позволит не только выявить генетические факторы риска определенных осложнений, но и оптимизировать лечение.

Полиморфизм генов, кодирующих белки семейства IL-1, может влиять на предрасположенность к ВЗП и на характер протекания воспалительного ответа, на фоне сопутствующей соматической патологии. Однако изучение определенных полиморфизмов в инициации и устойчивости к ВЗП требует дальнейшего выявления, в частности, на различном генетическом фоне, который может являться этнически специфичным.

Цель исследования: изучить распределение генотипов и аллелей гена-антагониста рецептора интерлейкина 1b (IL-1RN) у больных воспалительными заболеваниями пародонта на фоне язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, проживающих в Астраханской

области, и проанализировать возможные ассоциации генотипов с генетическим риском развития заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе работы было обследовано 100 больных с ВЗП в сочетании с ЯБЖ (60 человек) и ЯБДПК (40 человек) в возрасте от 19 до 45 лет (средний возраст $33,17 \pm 5,59$), находящиеся на лечении в гастроэнтерологическом отделении Астраханской городской клинической больницы № 3 в период с 2012 по 2015 г. Группу сравнения составили 117 здоровых доноров. Критерии включения в исследование: пациенты в возрасте 19–45 лет, страдающие хроническим генерализованным катаральным гингивитом (ХГКГ), хроническим гипертрофическим гингивитом (ХГГ), хроническим генерализованным пародонтитом легкой степени (ХГПЛС), хроническим генерализованным пародонтитом средней степени (ХГПСС), хроническим генерализованным пародонтитом тяжелой степени (ХГПТС). Критерии исключения из исследования: пациенты с ортодонтическими конструкциями; зубочелюстной патологией зубных рядов; наличие осложнений язвенной болезни (кровотечение, перфорация); наличие сопутствующих заболеваний органов пищеварения (хронического панкреатита, хронического холецистита, хронического гепатита); сахарный диабет; онкологическая патология; аллергоанамнез.

Для оценки состояния пародонта нами использовалась модифицированная классификация ВЗП, принятая на заседании секции Президиума пародонтологии Стоматологической ассоциации России в 2001 г. Диагноз «язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки» устанавливался согласно действующим стандартам клинической диагностики и существующей международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). При выполнении исследования соблюдены этические принципы, получены письменные согласия пациентов на обработку персональных данных (№ 152-ФЗ) на обследование и на проведение медицинского вмешательства.

Клиническое изучение стоматологического статуса включало определение интенсивности кариеса по индексу КПУ и гигиенического состояния полости рта по индексу гигиены ОНІ-S (J.C. Green, J.R. Vermillion). Оценку количественного выражения распространенности процесса, характера и интенсивности ВЗП изучали по пародонтологическим индексам. Индексом папиллярно-маргинально-альвеолярным (РМА) оценивали тяжесть гингивита и отслеживали динамику клинического воспалительного процесса. Изучение распространенности и интенсивности поражения тканей пародонта проводилось по степени воспаления десны, глубине пародонтального кармана и по подвижности зуба с помощью модифицированного пародонтального индекса по Russel (А.А. Кунин, Ю.А. Ипполитов, Рацпредложение № 2612 от 19.02.2003 г.) [1, 4].

Генетическое обследование включало генотипирование VNTR-полиморфизма гена-антагониста IL-1

(IL-1RN). Выделение геномной ДНК проводилось из лейкоцитов венозной крови. Анализ генетических полиморфизмов осуществляли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, с последующим анализом полиморфизма длин рестриционных фрагментов (ПДРФ). Сравнение распределения генотипов и частот аллелей проводили с помощью критерия χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность при числе степеней свободы равном 1. Для анализа количественных признаков при сравнении трех и более независимых выборок применяли Н-критерий Краскела – Уоллиса.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

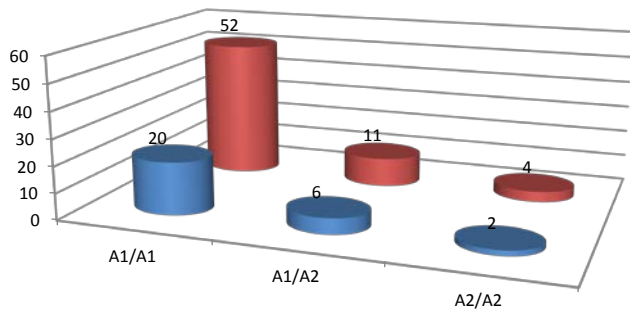
При изучении стоматологического статуса у 60% пациентов с ЯБЖ и 40% больных с ЯБДПК были диагностированы ВЗП. Из них соответственно в 29% выявлен ХГКГ, в 22% случаев – ХГГ. Проведенный анализ состояний тканей пародонта позволил установить преобладание ХГПЛС – 28%, ХГПСС – 18% случаев и ХГПТС – 3%. В ходе генотипирования VNTR-полиморфизма гена IL-1RN определены три аллеля: с двумя, тремя, четырьмя tandemными повторами соответственно. Генотипы, содержащие 5 tandemных повторов как в основной группе, так и в группе контроля, не определялись.

Анализ частоты встречаемости аллельных вариантов A1 и A2 в анализируемых группах не выявил достоверных различий ($\chi^2=0,115$; $p>0,05$). Ввиду низкой частоты встречаемости аллеля A3 и несущих его генотипов, поиск фенотипических ассоциаций не проводился. Достоверные различия по частоте встречаемости генотипов A1/A1, A1/A2 и A2/A2 между основной и контрольной группами не выявлены ($\chi^2=0,357$; $p>0,05$). Таким образом, по данному полиморфизму гена IL-1RN связи с развитием язвенной болезни получено не было.

Гендерные различия ($\chi^2=0,762$; $p>0,05$), а также ассоциации по локализации язвенного дефекта ($\chi^2=0,456$; $p>0,05$) с вариантными аллелями и генотипами по полиморфизму VNTR гена IL-1RN не выявлены.

Механизм развития поражения тканей пародонта на фоне системного соматического заболевания ЯБЖ и ЯБДПК был обусловлен взаимодействием экзогенных факторов и наследственной предрасположенностью, включающей особенности иммунного ответа и определенного типа метаболизма. В результате статистической обработки исследования было выявлено, что пациенты с различными генотипами по полиморфизму VNTR гена IL-1RN не отличаются по частоте встречаемости скрометрированного наследственного анамнеза по развитию ЯБЖ и/или ЯБДПК (см. рисунок).

Подобная тенденция наблюдается и при сравнении по аллелям ($\chi^2=0,028$; $p>0,05$). По характеру течения (впервые выявленное заболевание или хроническое рецидивирующее) статистически значимых различий между генотипами и аллельными вариантами по полиморфизму VNTR гена IL-1RN не выявлено ($\chi^2=0,145$; $p>0,05$ и $\chi^2=0,110$; $p>0,05$ соответственно).



■ наследственность по ЯБ выявлена ■ наследственность по ЯБ не выявлена

Наследственная предрасположенность к язвенной болезни в зависимости от VNTR-полиморфизма гена IL-1RN

Стоматологический статус у пациентов с ВЗП на фоне ЯБЖ и ЯБДПК отличался не только выраженностью отягощения, но и многогранностью реализации патогенетического влияния. Снижение местных защитных механизмов тканей пародонта способствовало развитию полимикробиоты, длительной ее персистенции, снижению репаративных процессов, проявлению воспалительных и воспалительно-деструктивных изменений. Учитывая единые иммунные механизмы воспаления заболеваний пародонта и язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, провели дальнейший генетический поиск фенотипических ассоциаций полиморфизма VNTR гена IL-1RN с индексными показателями, характеризующими состояние пародонта у данной категории больных.

Аллельная частота полиморфизма VNTR гена IL-1RN с длиной фрагмента 230 (аллель A1) при хроническом генерализованном катаральном гингивите встречалась в 38 случаях, в то время как аллель A2 — у 11 больных, что было сопоставимо с распределением по аллелям при хроническом гипертрофическом гингивите. Статистически значимых отличий в частоте встречаемости VNTR-полиморфизма гена IL-1RN между аллелями и генотипами не определялось ($\chi^2=0,309$; $p>0,05$ и $\chi^2=0,563$; $p>0,05$ соответственно), а следовательно, и его ассоциации с вариантом течения гингивитов не было выявлено (табл. 1).

В ходе исследования проведен поиск ассоциаций изучаемого полиморфизма с тяжестью хронического генерализованного пародонтита. При легкой степени хронического генерализованного пародонтита мутантный аллель A2 был выявлен у 4 пациентов, причем во всех случаях в гетерозиготном состоянии. При средней степени тяжести мутантный аллель выявлен у 3 больных, причем у одного в гомозиготном состоянии. Независимо от степени тяжести пародонтита в генотипе пациентов превалировала аллель A1, однако достоверность различий статистически не значима (табл. 2). Таким образом, ассоциации VNTR-полиморфизма гена IL-1RN со степенью тяжести хронического генерализованного пародонтита не было выявлено ($\chi^2=5,904$; $p>0,05$).

Оценку возможного влияния VNTR-полиморфизма гена IL-1RN на клиническое проявление

Таблица 1. Частота встречаемости гингивитов у больных с различными генотипами и аллелями по полиморфизму VNTR гена IL-1RN

Гингивит	VNTR гена IL-1RN			χ^2 (d.f.=2)	p
	A1/A1	A1/A2	A2/A2		
Катаральный	31	7	4	0,563	>0,05
Гипертрофический	10	1	1		
	VNTR гена IL-1RN		χ^2 (d.f.=1)	p	
	Аллель A1	Аллель A2			
Катаральный	38	11	0,309	>0,05	
Гипертрофический	11	2			

Таблица 2. Распределение больных от степени тяжести хронического генерализованного пародонтита с различными генотипами и аллелями по полиморфизму VNTR гена IL-1RN при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки

Степень тяжести	VNTR гена IL-1RN			χ^2 (d.f.=4)	p
	A1/A1	A1/A2	A2/A2		
Легкая	14	4	0	5,904	>0,05
Средняя	12	2	1		
Тяжелая	2	3	0		
	VNTR гена IL-1RN		χ^2 (d.f.=2)	p	
	Аллель A1	Аллель A2			
Легкая	18	4	1,517	>0,05	
Средняя	14	3			
Тяжелая	5	3			

стоматологического статуса вычисляли по средним значениям показателей индексов КПУ, ОНI-S, РМА, пародонтальный индекс (ПИ) у носителей каждого генотипа. Значимые различия между средними показателями индексов носителей разных генотипов у больных с воспалительными заболеваниями пародонта на фоне ЯБЖ и ЯБДПК указывали на возможное влияние гена и на количественные показатели, которые представлены в табл. 3.

При исследовании тандемных вариабельных повторов (variable number of tandem repeats, VNTR) в интронной зоне 2 гена IL-1RN у больных в исследуемых группах было выявлено влияние данного полиморфизма на ПИ у больных с ЯБЖ и ЯБДПК ($\chi^2=6,97$; $p=0,031$).

Согласно данным литературы, носительство аллеля IL1-RN*2 связано с повышенным уровнем циркулирующей IL-1Ra экспрессии мРНК в ходе воспаления. Известно, что аллель A2 VNTR-полиморфизма гена IL-1RN в гетерозиготном состоянии многократно усиливает секрецию кодируемого продукта, что приводит к выраженному противовоспалительному эффекту [3]. По всей видимости, неадекватный иммунный ответ приводит к хронизации воспалительного процесса, а повышение уровня IL-1 в ответ на низкие значения IL-1Ra — к усиленной пролиферации остеокластов и резорбции костной ткани, что нашло свое отражение в высоких значениях пародонтального индекса.

Таблица 3. Средние показатели стоматологических индексов у больных ВЗП при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки с генотипами по полиморфизму VNTR гена IL-1RN

Показатель	A1/ A1	A1/ A2	A2/ A2	H-критерий Краскелла—Уоллиса
КПУ	3,5 (2,0–7,0)	4,0 (2,0–9,0)	3,9 (2,0–6,0)	$\chi^2=0,74; p=0,59$
ОНИ-S	1,9 (1,5–2,6)	2,7 (1,4–5,0)	1,8 (1,5–2,3)	$\chi^2=2,75; p=0,25$
РМА	22,65 (13,1–26,1)	12,2 (5,0–21,0)	21,6 (15,8–27,0)	$\chi^2=2,97; p=0,22$
ПИ	0,3 (0,23–2,8)	0,35 (0,25–2,9)	0,23 (0,21–0,33)	$\chi^2=6,97; p=0,031$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты позволяют рассматривать VNTR-полиморфизм гена IL-1RN в качестве эндогенного фактора, определяющего тренд интенсивности поражения тканей пародонта. В то же время данный полиморфизм не ассоциирован с развитием

язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки.

Проведенное исследование вносит вклад в развитие представлений о едином иммуногенетическом компоненте развития поражения тканей пародонта и язвенной болезни. Вовлечение в исследования новых полиморфизмов генов цитокинов и их рецепторов позволит существенно увеличить информативность индивидуальных прогностических критериев, что в свою очередь даст возможность оценивать предрасположенность человека к развитию язвенной болезни с вовлечением поражения пародонта по характеру его течения. Это прогнозирование позволит ориентировать в профессиональной деятельности врача-стоматолога к созданию новых этиопатогенетических подходов к лечению ВЗП, проведению целенаправленных профилактических мероприятий, что будет способствовать улучшению экосистемы полости рта у пациентов с ЯБЖ и ЯБДПК, тем самым улучшая показатели заболеваемости пародонта.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Арутюнов С.Д., Сафонова А.В., Петрин А.Н., Акуленко Л.В., Боринская С.А. Генетические факторы предрасположенности к пародонтиту. — *Стоматолог.* — 2009; 4: 32—7.
2. Вольф Г.Ф., Ратейцхак Э.М., Ратейцхак К. Пародонтология. — М.: МЕДпресс-информ, 2010. — 548 с.
3. Громова А.Ю., Симбирцев А.С. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека. — *Цитокины и воспаление.* — 2005; 5: 10—2.
4. Грудянов А.И. Заболевания пародонта. — М.: МИА, 2009. — 328 с.
5. Медик В.А., Токмачев М.С. Математическая статистика в медицине: учебное пособие. — М.: Финансы и статистика, 2007. — 800 с.
6. Николаева Е.Н., Царев В.Н., Щербо С.Н. Применение молекулярно-генетических методов исследования в диагностике пародонтита. — *Институт Стоматологии.* — 2004; 4 (25): 63—6.
7. Сафонова А.В., Петрин А.Н., Арутюнов С.Д., Царев В.Н., Акуленко Л.В., Зорина О.А., Ребриков Д.В., Рубанович А.В., Боринская С.А., Янковский Н.К. Ассоциация генов цитокинов с заболеваниями пародонта у человека. — *Acta Naturae.* — 2010; 1(8): 123—9.
8. Machado J.C., Pharoah P., Sousa S., Carvalho R., Oliveira C., Figueiredo C. et al. Interleukin-1b and interleukin-1RN polymorphisms are associated with increased risk of gastric carcinoma. — *Gastroenterology.* — 2001; 121: 823—9.
9. Parhill J.M., Henning B.J., Chapple I.L., Heasman P.A., Taylor J.J. Association of interleukin-1 gene polymorphism with early-onset periodontitis. — *J Clin Periodontol.* — 2000; 27 (9): 68.
10. Menezes-Silva et al. Genetic susceptibility to periapical disease: conditional contribution of MMP2 and MMP3 genes to the development of periapical lesions and healing response. — *Journal of Endodontics.* — 2012; 38 (5): 604—7.
11. Tarannum F., Faizuddin M. Effect of gene polymorphisms on periodontal diseases. — *Indian J Hum Genet.* — 2012; 18 (1): 9—19.