

УДК (616.31-084+577.217):66.05

**О. В. Деньга, д. мед. н.,¹ О. В. Ефремова,²
Т. Г. Вербицкая, к. б. н.³**

Государственное учреждение «Институт стоматологии
Национальной академии медицинских наук Украины»¹
Львовский медицинский институт²
ООО «Гермедтех»³

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ РАБОТНИКОВ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ К СТОМАТОЛОГИЧЕСКИМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ

Проведенные молекулярно-генетические исследования на клетках буккального эпителия у рабочих химического производства показали наличие 100 % нарушений в генах второй фазы детоксикации NAT2 (C481T) и гена CTR (C1377T), входящего в генную сеть метаболизма костной ткани. У 50 % рабочих наблюдался нормальный генотип I фазы детоксикации CYP1A1, а 30 % рабочих являлись носителями делеционной формы гена глутатион-трансферазы GSTM1, приводящей к инактивации фермента и снижению способности организма избавляться от вредных соединений. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости разработки специальных методов профилактики основных стоматологических заболеваний у них с учетом наследственной и приобретенной предрасположенности.

Ключевые слова: молекулярно-генетические исследования, буккальный эпителий, химическое производство, стоматологические заболевания.

О. В. Деньга,¹ О. В. Ефремова,² Т. Г. Вербицкая³

Державна установа «Інститут стоматології Національної академії медичних наук України»¹
Львівський медичний інститут²
ТОВ «Гермедтех»³

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНА ОЦІНКА СХИЛЬНОСТІ ПРАЦІВНИКІВ ХІМІЧНОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ ДО СТОМАТОЛОГІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

Проведені молекулярно-генетичні дослідження на клітинах буккального епітелію у робітників хімічного виробництва показали наявність 100 % порушень в генах другої фази детоксикації NAT2 (C481T) і гена CTR (C1377T), що входить в генну мережу метаболізму кісткової тканини. У 50 % робітників спостерігався нормальний генотип I фази детоксикації CYP1A1, а 30 % робітників були носіями делеційної форми гена глутатіон-трансферази GSTM1, що призводить до інактивзації ферменту і зниження здатності організму позбавлятися від шкідливих сполук. Отримані результати свідчать про необхідність розробки спеціальних методів профілактики основних стоматологічних захворювань з урахуванням спадкової та набутої схильності до них.

Ключові слова: молекулярно-генетичні дослідження, буккальний епітелій, хімічне виробництво, стоматологічні захворювання.

O. V. Deng, ¹ O. V. Efremova, ² T. G. Verbitskaya ³

State Establishment «The Institute of Stomatology
of the National academy of medical science of Ukraine»¹
Lviv Medical Institute²
LTD «Germedteh»³

MOLECULAR GENETIC EVALUATION OF PREDISPOSITION CHEMICAL WORKERS TO DENTAL DISEASES

Periodontal disease and dental caries as a multifactorial disease are the result of the interaction of many, both genetic factors and environmental factors. Assessment of individual sensitivity of workers exposed to toxic substances, based on the analysis of polymorphism of genes of xenobiotics biotransformation enzymes seems relevant.

The aim of this work was to study the genetic detoxification unit, gene polymorphism of bone metabolism and cytokine genes of chemical production workers.

Materials and methods. Workers of chemical production were studied functionally relevant polymorphisms of CYP1A1 gene locus A1506G, NAT2 590A, C481T, P-450 (CYP), GST, Sol1A1 Sp1 G>T, VDR T352C, CTR (CALCR) C1377T, IL1BC3954T, TNF G (-308) A (rs1800629), IL-6, G (-174) C.

Results. Conclusions. Conducted molecular genetic studies on buccal cells from chemical production workers showed the presence of 100 % of violations in the genes of the second phase of detoxification NAT2 (S481T) and gene CTR (C1377T), included in the genetic network of bone metabolism. In 50% of the workers had normal genotype phase I detoxification of CYP1A1, and 30% of the workers were carriers of the gene deletion forms of glutathione transferase GSTM1, leading to inactivation of the enzyme and reduce the body's ability to get rid of harmful compounds. The results indicate the need to develop special methods of preventing major dental diseases among them, taking into account the hereditary and acquired predisposition.

Keywords: molecular genetic studies, buccal epithelium, chemical manufacturing, dental disease.

Учитывая возможную роль генетических факторов в развитии стоматологической патологии у рабочих в процессе производственной деятельности, представляет интерес изучение полиморфизма генов, которые в первую очередь контролируют активность ферментов, ответственных за выведение из организма токсических метаболитов. Оценка индивидуальной чувствительности рабочих, подвергающихся воздействию токсичных веществ, на основе анализа полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков представляется актуальным [1]. Заболевания пародонта и кариес зубов, как мультифакториальные заболевания, являются результатом взаимодействия многих, как генетических факторов, так и неблагоприятных факторов внешней среды [2, 3].

Целью данной работы было создание детоксикационного блока генетического паспорта рабочих занятых непосредственно в химическом производстве, а также изучение полиморфизма генов метаболизма костной ткани и генов цитокринов.

Материалы и методы. В исследовании участвовали 10 рабочих химического производства завода «Азот» г. Черкассы. Были изучены функционально-значимые полиморфизмы генов первой фазы детоксикации CYP1A1 локус A1506G и полиморфизмы генов второй фазы детоксикации: арилами́н-М-ацетилтрансферазы 2 (NAT2) 590A, C481T, гена глутатион-S-трансферазы. Суперсемейство генов цитохромов C-450 (CYP) (фаза I) и глутатион-8-трансфераз (GST), а также арилами́н-М-ацетилтрансферазы 2 (NAT2) (фаза II), которые играют ключевую роль в процессах биотрансформации. Кроме того, были изучены функционально-значимые полиморфизмы генов Col1A1 Sp1 G>T, VDR T352C, CTR(CALCR) C1377T, входящие в генную сеть метаболизма костной ткани и полиморфизмы генов цитокинов IL1BC3954T, TNF G(-308)A (rs1800629), IL-6 G(-174)C.

Результаты исследования и их обсуждение. В табл. 1 представлены результаты оценки полиморфизма генов детоксикации.

Таблица 1

Полиморфизм генов детоксикации у рабочих химического предприятия «Азот» г. Черкассы

№	Гингивит	Пародонтит	Кариес	CYP1A1 A1506G	GSTM1 N/del	NAT2 G590A	NAT2 C 481T
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Генерализованный катаральный гингивит	—	средний кариес	A/A	0	G/A	C/T
2	—	—	средний кариес	A/A	1	G/G	T/T
3	Генерализованный катаральный гингивит	—	средний кариес	A/G	1	G/A	C/T
4	—	Хронический генерализованный пародонтит I-II ст.	средний кариес	A/A	1	G/A	C/T
5	—	Хронический генерализованный пародонтит I-II ст.	—	A/A	1	G/A	C/T
6	—	Хронический генерализованный пародонтит II-III ст.	средний кариес	A/G	1	G/A	T/T
7	—	Хронический генерализованный пародонтит I-II ст.	средний кариес	A/A	1	G/A	C/T

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7	8
8	—	Хронический генерализованный пародонтит I-II ст.	средний кариес	A/G	1	G/G	C/T
9	—	—	множественный кариес	A/G	0	G/A	C/T
10	—	Хронический генерализованный пародонтит I-II ст.	—	A/G	0	G/A	C/T

Ферменты первой фазы CYP1A1 связывают ксенобиотики с образованием мутагенных промежуточных метаболитов, таких как супероксид-анион-радикал и ароматические углеводороды, которые под действием ферментов второй фазы превращаются в нетоксичные продукты и выводятся из организма. Анализ распределения генотипов полиморфного локуса A1506G гена CYP1A1 показал наличие нормального генотипа у половины рабочих в исследуемой выборке. У другой половины рабочих исследуемый locus представлен гетерозиготной формой AG. Вариант G полиморфизма I462V (A1506G) приводит к повышению активности CYP1A1. Различия в составе изоэнзимов приводят к различной способности метаболизма чужеродных веществ у разных индивидов, что может обуславливать неодинаковую степень предрасположенности к заболеваниям в условиях влияния генотоксических факторов. По данным [4] наличие гетерозиготного варианта (A/G) гена CYP1A1 является критерием предрасположенности к развитию профессиональных заболеваний кожи от воздействия веществ раздражающего и сенсибилизирующего действия. Причем формирование заболевания происходит при небольшом (до 5 лет) стаже работы в условиях воздействия вредных производственных факторов.

Процесс биотрансформации ксенобиотиков включает в себя две последовательные фазы. Ключевую роль во второй фазе биотрансформации ксенобиотиков играют глутатион-S-трансферазы (GST), которые широко экспрессируются в тканях. Было изучено распределение делеционного полиморфизма гена глутатион-трансферазы GSTM1. Исследование показало, что в 70 % данной группы рабочих преобладает функционально полноценный аллель гена глутатион S-трансферазы M1, а 30 % рабочих являются носителями делеционной формы гена GSTM1, приводящей к инактивации фермента. В случае делеции (отсутствия) гена GSTM1 фермент мю-1 глутатион S-трансфераза не образуется, в результате чего способность организма из-

бавляться от некоторых вредных соединений значительно снижается.

Изучение генетического полиморфизма гена N-ацетил-трансферазы (NAT-2) показало наличие мутантных генотипов C/T, T/T локуса 481C >T и G/A локуса G590A в изучаемой группе рабочих, т.е. они являются преимущественно промежуточными ацетиляторами по исследуемым полиморфизмам. Ген NAT-2 кодирует аминокислотную последовательность цитозольного фермента N-ацетил-трансферазы II типа, который вырабатывается в печени, кишечнике и некоторых других органах и участвует во второй фазе метаболизма ксенобиотиков – детоксикации посредством ацетилирования (присоединения) ацетил-группы. Аллельные варианты, 341T>C, 481C >T, 590G>A, 803A>G, 857G>A, характеризуются различной активностью фермента.

Деструктивные процессы в тканях пародонта, обменные процессы в костной ткани альвеолярного отростка тесно взаимосвязаны со структурно-функциональным состоянием костной системы, а также с активностью метаболических процессов и интенсивностью внутренней перестройки (ремоделирования) костей скелета.

Результаты анализа генов Colla1, VDR и CALCR представлен в табл. 2.

В исследуемой выборке 66 % рабочих имели нормальные аллели GG (или SS) гена коллагена Colla1, остальная часть представлена гетерозиготами GT (или Ss). Частота встречаемости вариантов полиморфизма в популяции: T/T 5-8 %; G/T 45-50 %.

Во многих исследованиях была установлена связь полиморфизма гена VDR с такими заболеваниями, как сахарный диабет, остеопороз, уролитиаз, гиперпаратиреоз, псориаз, почечная остеодистрофия, новообразования, заболевания пародонта [5], а также различные сердечно-сосудистые заболевания [6]. Аллельные варианты полиморфизма гена VDR в данном исследовании представлены в 50% TT (норма), в 25% CC (мутантные) и 25%- TC (гетерозиготы). Аллельные варианты функционального полиморфизма

гена CTR (CALCR) представлены в 30 % мутантными и в 70 % случаев – гетерозиготами. CTR (CALCR) – кальцитонин – гормон щитовидной железы, регулирующий обмен кальция. Рецептор кальцитонина обеспечивает устойчивость соединительной ткани к внешним воздействиям.

Активизация кальцитониновых рецепторов остеокластов приводит к ингибированию их активности и снижению скорости костной резорбции. Нарушение функции кальцитониновых рецепторов может приводить к увеличению костной резорбции и развитию остеопороза.

Таблица 2

Полиморфизм генов метаболизма костной ткани у рабочих химического предприятия «Азот» г. Черкассы

№	Гингивит	Пародонтит	Кариес	COL1A1 Sp1, G2046T	VDR T352C	CTR C1377T	MMP1 160insG/GGr s 1799750
1	Генерализованный катаральный гингивит	—	средний кариес	G/T	T/C	C/T	-
2	—	—	средний кариес	G/G	T/C	T/T	2G/2G
3	Генерализованный катаральный гингивит	—	средний кариес	G/T	C/C	T/T	2G/2G
4	—	Хронический генерализованный пародонтит I-II ст.	средний кариес	G/T	T/T	C/T	1G/2G
5	—	Хронический генерализованный пародонтит I-II ст.	—	G/G	T/T	T/T	-
6	—	Хронический генерализованный пародонтит II-III ст.	средний кариес	G/G	T/C	T/T	1G/2G
7	—	Хронический генерализованный пародонтит I-II ст.	средний кариес	G/T	C/C	C/T	-
8	—	Хронический генерализованный пародонтит I-II ст.	средний кариес	G/G	T/T	T/T	1G/2G
9	—	—	множественный кариес	G/G	T/T	T/T	1G/2G
10	—	Хронический генерализованный пародонтит I-II ст.	—	G/G	T/T	T/T	-

В исследуемой группе рабочих выявлен также гетерозиготный полиморфизм гена MMP1, что приводит к повышенному расщеплению белков межклеточного матрикса и, как следствие, к деструкции тканей поддерживающего аппарата зуба.

Ведущая роль в развитии остеопенического синдрома принадлежит разнородной по составу группе цитокинов, включающих в настоящее

время около 200 веществ [7]. Среди всех известных в настоящее время цитокинов наибольшее значение в развитии патологического процесса имеют интерлейкин-1, -4, -6, фактор некроза опухоли и родственные ему молекулы [8]. В нашем исследовании были изучены функционально - значимые полиморфизмы генов IL1BC3954T, TNF G (-308) A (rs1800629), IL-6 G (-174) C (табл. 3).

Полиморфизм генов цитокинов у рабочих химического предприятия «Азот» г. Черкассы

№	Гингивит	Пародонтит	Кариес	IL1B C3954T	IL-6 G(-174)C	TNF G(-308)A
1	Генерализованный катаральный гингивит	—	средний кариес	T/T	G/G	G/G
2	—	—	средний кариес	T/T	G/C	G/G
3	Генерализованный катаральный гингивит	—	средний кариес	T/T	G/G	G/G
4	—	Хронический генерализованный пародонтит I-II ст.	средний кариес	C/T	G/C	G/G
5	—	Хронический генерализованный пародонтит I-II ст.	—	T/T	G/C	G/G
6	—	Хронический генерализованный пародонтит II-III ст.	средний кариес	T/T	G/C	G/G
7	—	Хронический генерализованный пародонтит I-II ст.	средний кариес	C/T	G/G	G/G
8	—	Хронический генерализованный пародонтит I-II ст.	средний кариес	T/T	G/C	G/G
9	—	—	множественный кариес	T/T	G/C	G/G
10	—	Хронический генерализованный пародонтит I-II ст.	—	T/T	G/C	G/G

Результаты исследования показали, что цитокин фактор некроза опухолей-альфа (TNF- α) - 308G/A в данной выборке рабочих не выявил полиморфизма. В то же время интерлейкин-1(IL-1B) обладал значительным полиморфизмом – 86 % составляли мутантные гомозиготы, гетерозиготы -14 %. Гомозиготность для гена IL-1b-3954 T аллеля связана с четырехкратным увеличением вырабатываемого IL-1b по сравнению с гомозиготностью по аллелю C [9].

Выводы. Проведенные молекулярно-генетические исследования показали в данной группе рабочих наличие 100 % нарушений в генах второй фазы детоксикации NAT2 (C481T) и гена CTR (C1377T), входящего в генную сеть метаболизма костной ткани. У 50 % рабочих наблюдался нормальный генотип I фазы детоксикации CYP1A1, а 30 % рабочих являлись носителями делеционной формы гена глутатион-трансферазы GSTM1, приводящей к инактивации фермента и снижению способности организма избавляться от вредных соединений.

Список литературы

1. **Ревазова Ю. А.** Методологические проблемы генетического мониторинга качества окружающей среды и генетического здоровья населения / Ю. А. Ревазова, В. С. Журков, И. Е. Сидорова // Влияние загрязнения окружающей среды на здоровье человека : материалы I Всерос. науч. конф. с междунар. участием, 9—11 дек. 2002 г. : материалы конференции. — Новосибирск, 2002. — С. 28—29.
2. **Генетические параллели** в мультифакторных моделях пародонтита с агрессивным течением и остеопороза / А. И. Зиновьева, В. Г. Атрушкевич, А. В. Поляков [и др.] // Российская Стоматология. — 2011. — № 6. — С. 34—40.
3. **Аверьянов С. В.** Взаимосвязь стоматологической и соматической заболеваемости с неблагоприятными экологическими факторами / С. В. Аверьянов, С. В. Чуйкин // Ортодонтия. — 2009. — № 1. — С. 38.
4. **Полиморфизм генов** системы биотрансформации ксенобиотиков у больных профессиональными аллергическими дерматозами / Н. Ф. Измеров, Л. П. Кузьмина, М. М. Коляскина [и др.] // Вестник РАМН. — 2012. — № 7. — С. 39—43.
5. **Association between** vitamin D receptor gene polymorphisms and severe chronic periodontitis in a Chinese population / C. Wang, H. Zhao, L. Xiao [et al.] // J Periodontol. — 2009. — Apr 80 (4) : P. 603—612.

6. **Decreased bioavailability** of vitamin D in obesity / J. Wortsman, L. Y. Matsuoka, T.C. Chen [et al.] // *Am J Clin Nutr.* — 2000. — № 72. — P. 690—693.
7. **Leonard M. B.** Glucocorticoid-induced osteoporosis in children: impact of the underlying disease / M. B. Leonard // *Pediatrics.* — 2007. — Vol. 119. — P. 166—174.
8. **Lerner U. H.** Inflammation-induced bone remodeling in periodontal disease and the influence of post-menopausal osteoporosis / U. H. Lerner // *J. Dental Res.* — 2006. — Vol. 85. — P. 596—607.
9. **The genetic** correlation between IL-1 with periodontitis in clinical practice / M. McDevitt, H. Y. Wang, C. Knobelman [et al.] *J Periodontol.* — 2000. — № 71. — P. 156—163.

Поступила 03.11.14



УДК: 616.314.17+616.72-002.77]-092-02-07-039.11

Н. А. Юдина, д. мед. н.

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

ЗАБОЛЕВАНИЯ ПАРОДОНТА И РЕВМАТОИДНЫЙ АРТРИТ: ЭТИОПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ СХОДСТВО И ВОЗМОЖНОСТИ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ

В последние годы наблюдается повышенный интерес к установлению связей между пародонтитом и различными хроническими системными заболеваниями. Проведены пилотные исследования с участием 48 пациентов с заболеваниями пародонта. У пяти пациентов установлено превышение уровня антител к циклическому цитруллин-содержащему пептиду (АЦЦП) и доклиническая стадия ревматоидного артрита. Требуется дальнейшие комплексные клинико-лабораторные исследования в данном направлении.

Ключевые слова: пародонтит, ревматоидный артрит, *P. gingivalis*.

Н. А. Юдіна

ДУО «Білоруська медична академія післядипломної освіти»

ЗАХВОРЮВАННЯ ПАРОДОНТУ І РЕВМАТОЇДНИЙ АРТРИТ: ЕТИОПАТОГЕНЕТИЧНА СХОЖІСТЬ І МОЖЛИВОСТІ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ

Останніми роками спостерігається підвищений інтерес до встановлення зв'язків між пародонтитом і різними хронічними системними захворюваннями. Проведені пилотні дослідження за участю 48 пацієнтів із захворюваннями пародонту. У п'яти пацієнтів встановлено перевищення рівня антитіл до циклічного цитруліну, що містить пептид (АЦЦП) і доклінічну стадію ревматоїдного артриту. Потрібні подальші комплексні клініко-лабораторні дослідження в даному напрямі.

Ключові слова: пародонтит, ревматоїдний артрит, *P. gingivalis*.

N. A. Yudina

SEE «Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education»

PERIODONTAL DISEASE AND RHEUMATOID ARTHRITIS: ETIOPATHOGENETICAL SIMILARITIES AND OPPORTUNITIES EARLY DIAGNOSIS

In recent years there has been increased interest in establishing links between periodontal disease and a variety of chronic systemic diseases. Periodontal disease and rheumatoid arthritis are multifactorial diseases having a many common characteristics

The aim. *To establish the relationship of periodontal disease with rheumatoid arthritis and identify the most important markers for diagnosis*

Materials and methods. *In pilot study were involved 48 patients with periodontal disease. Carried out: a detailed examination of periodontal tissues with capturing information in a map of the state of periodontal tissues in the area of each tooth, radiodiagnostics, genetic diagnosis DNA Pg, Aa, Pi, Tf, Td in the contents of periodontal pockets, biochemical blood, immunological evaluation of anti-CCP enzyme immunoassay.*

Results. *For patients with aggressive periodontitis type III B was more frequent of mono-infection caused by Aa or Tf, which were resistant to antibiotics. DNA diagnostics Pg allowed to establish its existence in 25% of patients. De-*