

УДК 575.113:[616.31+616-053.5]
ГРНТИ 76.29.55

**ВЕРОЯТНОСТЬ РАЗВИТИЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ У ДЕТЕЙ,
ПРОЖИВАЮЩИХ В ЗОНАХ РАЗЛИЧНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ НА ОСНОВЕ
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ПОЛИМОРФИЗМОВ I И II ФАЗ
ДЕТОКСИКАЦИИ**

DOI: [10.31618/ESU.2413-9335.2020.3.72.637](https://doi.org/10.31618/ESU.2413-9335.2020.3.72.637)

Скульская Светлана Васильевна

кандидат медицинских наук,

*Национальная медицинская академия последипломного образования
имени П. Л. Шупика*

Вербицкая Тамара Георгиена

Кандидат биологических наук,

Государственное учреждение

«Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии

НАМН Украины»

Шнайдер Станислав Аркадьевич.

д.мед. н.,

доктор медицинских наук,

Государственное учреждение

«Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии

НАМН Украины»

**PROBABILITY OF DENTAL PATHOLOGY DEVELOPMENT IN CHILDREN RESIDING IN ZONES
OF VARIOUS ANTHROPOGENIC LOADS BASED ON MOLECULAR GENETIC EVALUATION OF
POLYMORPHISMS OF I AND II PHASE OF DETOXICATION**

Skulskaya S.V.

candidate of medical

Sciences National Medical Academy

of Postgraduate Education named after P.L. Shupyk

Verbitskaya T.G.

candidate of biology

State Establishment

*"The Institute of Stomatology and Maxillofacial Surgery
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine"*

Shnaider S.A.

doctor of medicine

State Establishment

*"The Institute of Stomatology and Maxillofacial Surgery
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine"*

SUMMARY

Relevance. Adverse environmental conditions and man-made disasters are not considered as air, soil and groundwater oversaturated environmental pollutants and toxicants. They cause disturbances in biochemical reactions and metabolic processes in childhood and at a young age.

The aim of this study was to determine the effect of polymorphism of the detoxification gene of the first phase Cyp1A1 (A1506G) and the second phase genes GSTM1, GSTT1, on hard tissue indices of permanent teeth, periodontal indices and oral hygiene indices in children living in areas of different anthropogenic stress.

Materials and methods. We studied the polymorphism of the CYP1A1 gene (A1506G), polymorphisms GSTM1, GSTT1 in children living in areas of different anthropogenic stress. We evaluated the state of hard tissues of teeth, periodontal tissues and oral hygiene.

Findings. The results of a study of the dental status of children indicate a negative effect of polymorphisms of the GSTM1, GSTT1 genes on the state of hard tissues of teeth, periodontal tissues and oral hygiene, especially as a result of adverse environmental factors. To reduce the likelihood of adverse factors provoking the development of major dental diseases, it is necessary to develop prevention methods based on the study of hereditary predisposition to them.

АННОТАЦИЯ

Актуальность. Неблагоприятные условия окружающей среды и техногенный характер не учитываются, когда воздух, почва и грунтовые воды перенасыщены загрязнителями окружающей среды и токсикантами. Они вызывают нарушения биохимических реакций и метаболических процессов в детстве и в молодом возрасте.

Целью данного исследования было определение влияния полиморфизма гена детоксикации первой фазы Cyp1A1(A1506G) и генов второй фазы GSTM1, GSTT1, на показатели твёрдых тканей постоянных зубов, пародонтальных индексов и индексов гигиены полости рта у детей, проживающих в зонах различной антропогенной нагрузки.

Материалы и методы. В работе изучали полиморфизм гена CYP1A1(A1506G) (ген первой фазы детоксикации), делеционные полиморфизмы GSTM1, GSTT1 (гены второй фазы детоксикации) у детей, проживающих в зонах различной антропогенной нагрузки. Оценивали состояние твердых тканей зубов, тканей пародонта, гигиену полости рта.

Выводы. Полученные результаты исследования стоматологического статуса детей свидетельствует о негативном влиянии делеционных полиморфизмов генов GSTM1, GSTT1 на состояние твердых тканей зубов, тканей пародонта и гигиены полости рта, особенно в результате действия неблагоприятных экологических факторов. Для снижения вероятности влияния неблагоприятных факторов, провоцирующих развитие основных стоматологических заболеваний, необходима разработка методов профилактики, основанных на изучении наследственной предрасположенности к ним.

Ключевые слова: молекулярно-генетические исследования, антропогенная нагрузка, ротовая полость, дети.

Keywords: molecular genetic studies, anthropogenic load, oral cavity, children.

Неблагоприятные условия окружающей среды и техногенный характер не учитываются, когда воздух, почва и грунтовые воды перенасыщены загрязнителями окружающей среды и токсикантами. Они вызывают фатальные нарушения биохимических реакций и метаболических процессов в детстве и в молодом возрасте [1]. При изучении факторов риска формирования здоровья детей необходимо учитывать влияние как факторов окружающей среды, так и роль генетических факторов.

В организме детоксиацию ксенобиотиков (промышленных загрязнений, сельскохозяйственных ядов и фармакологических препаратов) осуществляют специальные ферментные системы и мембраноассоциированные рецепторы, регулирующие их активность. В настоящее время известно существование генетического полиморфизма ферментов, ответственных за биотрансформацию в организме чужеродных химических соединений [2]. Основными ферментами метаболизма токсичных промышленных веществ в печени являются ферменты цитохрома (CYP), глутатионтрансфераз, микросомальной эпоксидгидролазы, N-ацетилтрансферазы [3].

Целью данного исследования было определение влияния полиморфизма гена детоксикации первой фазы Cyp1A1(A1506G) и генов второй фазы GSTM1, GSTT1, на показатели твёрдых тканей постоянных зубов, пародонтальных индексов и индексов гигиены полости рта у детей, проживающих в зонах различной антропогенной нагрузки.

Материалы и методы. В исследовании участвовало 20 детей возраста 6 и 12 лет. Дети были разделены на 2 группы по 10 человек в каждой: 1-я группа - дети, проживающие в зоне подверженной влиянию загрязняющих веществ атмосферного воздуха (г. Белая Церковь, школа № 20); 2-я группа – дети, проживающие в экологически благополучной зоне (г. Тетевен, школа №3).

В работе изучали полиморфизмы генов CYP1A1 (ген первой фазы детоксикации), GSTM1, GSTT1 (гены второй фазы детоксикации).

Выделение ДНК из клеток buccального эпителия проводили по модифицированной методике Chelex [4].

Аллельные варианты гена Cyp1A1(A1506G) выявляли методом ПЦР-ПДРФ, обрабатывая амплификаты ферментом рестрикции Msp1(фирма «Fermentas»). Полиморфный вариант генов глутатион-S-трансферазы M1 и T1 (гены GSTM1, GSTT1)-исследовали на наличие или отсутствие делеции. Полимеразную цепную реакцию проводили на амплификаторе BIO-RAD (США). Продукты амплификации анализировали в 2 % агарозном геле.

Состояние твёрдых тканей зубов оценивали с помощью индексов КПУз, КПУп и их составляющих. Состояние гигиены полости рта оценивалось с помощью индексов Silness-Loe и Stallard, а тканей пародонта — индексов Рагма, кровоточивости Мюллеманна и пробы Шиллера-Писарева [5].

Статистический анализ полученных результатов производился с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение. С целью создания детоксикационного блока генетического паспорта изучали функционально-значимые полиморфизмы гена первой фазы детоксикации CYP1A1 локус A1506G и полиморфизмы генов второй фазы детоксикации: генов глутатион-S-Трансферазы M1 и T1. 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. Ген CYP1A1 не обнаруживается в нормальной ткани, а экспрессируется лишь под воздействием ксенобиотиков — индукторов, к которым относятся, прежде всего, полициклические ароматические углеводороды и диоксины.

Анализ распределения генотипов полиморфного локуса A1506G гена CYP1A1 в исследуемых выборках показал наличие только

нормального генотипа A/A как у детей, подвергающихся влиянию загрязняющих веществ атмосферного воздуха, так и у детей из экологически благополучного района. В связи с отсутствием полиморфных вариантов гена исследование стоматологического статуса детей по отношению к гену CYP1A1 не проводили.

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.

Эти ферменты катализируют присоединение глутатиона к электрофильному центру как эндогенных, так и экзогенных соединений, что приводит к потере токсичности и образованию более гидрофильных продуктов, которые в дальнейшем могут быть метаболизированы и выведены из клетки. Мутантные аллели генов GSTT1 и GSTM1 характеризуются наличием протяженных делеций, следствием чего является полное отсутствие соответствующих ферментов. Нулевой вариант аллеля GSTM1 встречается у европейцев в 40–60 %, GSTT1 (нуль-аллель) встречается с частотой до 30 %. Частота нулевых генотипов GSTM1 и GSTT1 в Украине соответствует европейской [6]. Равновесие между ферментами I и II фаз необходимо для

осуществления детоксикации и элиминации ксенобиотиков. Тем самым осуществляется защита организма от повреждений, вызываемых внешнедоведыми воздействиями.

Изучено распределение делеционного полиморфизма гена глутатионтрансфераз GSTM1 и GSTT1 в исследуемых группах детей. В группе детей, подвергающихся влиянию загрязняющих веществ атмосферного воздуха 60% детей, имеют функциональные аллели генов GSTM1 или GSTT1, сочетание функционально полноценных аллелей генов GSTM1 и GSTT1 выявлено у 30 % детей. 40 % детей данной группы являются носителями делеционных форм или одного, или второго исследуемых генов, приводящими к инактивации фермента, 10 % из них имеют делеции обоих ферментов.

Исследование показало, что у 80 % детей из экологически благополучного района преобладает функционально полноценный аллель гена глутатион S-трансферазы M1 и у 40 % детей гена глутатион S-трансферазы T1, дети, имеющие функционально полноценные аллели генов как GSTM1, так и GSTT1 составляли 20 %. Носителями делеционной формы генов GSTM1 и GSTT1 в исследуемой группе являются 20 % и 40 % детей соответственно.

Таблица 1

Оценка влияния полиморфных вариантов генов второй фазы детоксикации GSTM1 и GSTT1 на показатели твёрдых тканей постоянных зубов у детей, проживающих в зонах различной антропогенной нагрузки, $M \pm m$

	GSTM1 (+)/()				GSTT1 (+)/()			
	1-я группа, n = 10		2-я группа, n = 10		1-я группа, n = 10		2-я группа, n = 10	
Генотип	(+)	(0)	(+)	(0)	(+)	(0)	(+)	(0)
n	6	4	8	2	6	4	4	6
%	60	40	80	20	60	40	40	60
КПУз	0.67± 0.74	5.5±1.06 $p<0.001$ $p_1<0.001$	3.25± 1.13	0	2.83± 1.53	2.25± 1.61 $p>0.1$ $p_1>0.1$	2.00± 1.50	2.33± 1.34 $p_2>0.1$
КПУп	0.67± 0.74	5.5±1.06 $p<0.001$ $p_1<0.001$	3.25± 1.13	0	2.83± 1.53	2.25± 1.61 $p>0.1$ $p_1>0.1$	2.00± 1.50	2.33± 1.34 $p_2>0.1$
Кариес	0.33± 0.37	4.5±0.61 $p<0.001$ $p_1<0.001$	2.5± 0.9	0	2.17± 1.13	1.75± 1.44 $p>0.1$ $p_1>0.1$	1.75± 1.26	2.17± 1.37 $p_2>0.1$
Пломба	0.33± 0.37	1±0.86 $p>0.1$ $p_1<0.001$	0.75± 0.44	0	0.67± 0.55	0.5± 0.61 $p>0.1$ $p_1>0.1$	0.25± 0.31	0.17± 0.19 $p_2>0.1$

Примечание: р – показатель достоверности отличий от детей группы 1 без полиморфизма генов; p_1 – показатель достоверности отличий от детей группы 2 с полиморфизмом генов; p_2 – показатель достоверности отличий от детей группы 2 без полиморфизма генов.

При сопоставлении средних значений твердых тканей постоянных зубов у обследованных групп

детей видно, что у детей, проживающих в зоне антропогенной нагрузки с полиморфизмом гена

GSTM1 индексы КПУз и КПУп были достоверно выше по сравнению с детьми первой группы без полиморфизма генов в 8,2 раза ($p<0,001$) и с детьми, проживающими в экологически благоприятном районе имеющими, как функционально полноценный ген (в 1,69 раза), так и делеционную форму ($p_1<0,001$). Показатели КПУз и КПУп у детей второй группы с делецией в гене GSTT1 были выше на 16,5 % чем у детей этой группы без полиморфизма. Необходимо отметить, что подобной негативной тенденции в показателях твердых тканей зубов у детей первой группы с делецией в гене GSTT1 не наблюдалось (табл. 1).

При сопоставлении средних значений пародонтальных индексов и индексов гигиены у обследованных детей видно, что тяжесть воспалительного процесса (PMA %) у детей,

проживающих в зоне подверженной влиянию загрязняющих веществ атмосферного воздуха и детей, проживающих в экологически благополучной зоне с полиморфизмом гена GSTM1 была выше в 1,5 и 1,82 раза соответственно, чем у детей этих групп без нарушений в данном гене (табл. 2). Подобная тенденция наблюдалась и в остальных пародонтальных индексах у детей первой группы с полиморфизмом гена GSTM1 по сравнению с детьми той же группы без полиморфизма. Индекс «Кровоточивость» был выше на 50 %, «Проба Шиллера-Писарева» – на 52 %, «Зубной камень» – на 50 %. У детей второй группы с полиморфизмом GSTM1 превышение наблюдалось только у индекса «Кровоточивость» на 27,5 % по сравнению с детьми той же группы без полиморфизма данного гена (табл. 2).

Таблица 2

Оценка влияния полиморфных вариантов генов второй фазы детоксикации GSTM1 и GSTT1 на показатели пародонтальных индексов и индексов гигиены полости рта у детей, проживающих в зонах различной антропогенной нагрузки, $M\pm m$

	GSTM1 (+)/()				GSTT1 (+)/()			
	1-я группа, n = 10		2-я группа, n = 10		1-я группа, n = 10		2-я группа, n = 10	
Генотип	(+)	(0)	(+)	(0)	(+)	(0)	(+)	(0)
n	6	4	8	2	6	4	4	6
%	60	40	80	20	60	40	40	60
PMA %	1.16± 0.53	1.75± 0.58 $p>0.1$ $p_1>0.1$	1.37± 0.28	2.5± 0.5 $p_2>0.05$	1.17± 0.53 $p>0.1$ $p_1>0.1$	1.75± 0.59 $p>0.1$ $p_1>0.1$	1.25± 0.92 $p>0.1$ $p_2>0.1$	1.17± 0.19 $p>0.1$ $p_1>0.1$
Крово- точивость, баллы	0.77± 0.29	1.16± 0.20 $p>0.1$ $p_1>0.1$	0.98± 0.09	1.25± 0.25 $p_2>0.1$	0.78± 0.30	1.17± 0.20 $p>0.1$ $p_1>0.1$	0.67± 0.50 $p>0.1$ $p_1>0.1$	0.95± 0.06 $p>0.1$
Проба Ш-П, баллы	0.61± 0.28	0.92± 0.31 $p>0.1$ $p_1>0.1$	1.89± 0.15	1.25± 0.25 $p_2>0.1$	0.61± 0.28	0.92± 0.31 $p>0.1$ $p_1>0.1$	0.59± 0.48 $p>0.1$ $p_1>0.1$	0.89± 0.12 $p>0.1$
З.камень, баллы	0.08± 0.09	0.12± 0.15 $p>0.1$ $p_1>0.1$	0.12± 0.09	0 $p_2>0.1$	0.08± 0.09 $p>0.1$ $p_1>0.1$	0.13± 0.15 $p>0.1$ $p_1>0.1$	0.13± 0.15 $p>0.1$ $p_1>0.1$	0.08± 0.09 $p>0.1$
Silness-Loe, баллы	0.77± 0.30	1.16± 0.20 $p>0.1$ $p_1>0.1$	1.06± 0.07	1.25± 0.25 $p_2>0.1$	0.78± 0.30	1.17± 0.20 $p>0.1$ $p_1>0.1$	0.67± 0.50 $p>0.1$ $p_1>0.1$	1 $p_2>0.1$
Stallard, баллы	0.47± 0.20	0.70± 0.21 $p>0.1$ $p_1>0.1$	0.52± 0.18	1± 0.33 $p_2>0.1$	0.50± 0.20	0.67± 0.24 $p>0.1$ $p_1>0.1$	0.50± 0.35 $p>0.1$ $p_1>0.1$	0.42± 0.13 $p>0.1$

Примечание: p – показатель достоверности отличий от детей группы 1 без полиморфизма генов; p_1 – показатель достоверности отличий от детей группы 2 с полиморфизмом генов; p_2 – показатель достоверности отличий от детей группы 2 без полиморфизма генов.

Индексы гигиены полости рта «Silness-Loe» и «Stallard» также были выше у детей обеих групп с полиморфизмом гена GSTM1 по сравнению с детьми этих групп без полиморфизма гена. Для детей первой группы в 1,5 и 1,52 раза

соответственно. Для детей второй группы в 1,18 и 1,92 раза соответственно (табл. 2).

Из таблицы 2 видно, что у детей, проживающих в зоне с повышенной антропогенной нагрузкой с делецией в гене GSTT1

пародонтальные индексы и индексы гигиены полости рта были хуже чем у детей этой группы без нарушений в данном гене. Индекс РМА % был выше в 1,49 раза, индекс «Кровоточность» – в 1,5 раза, «Проба Шиллера-Писарева» – в 1,51 раз, «Зубной камень» – в 1,62 раза, «Silness-Loe» – в 1,5 раза и «Stallard» – в 1,34. У детей, проживающих в экологически благополучной зоне с полиморфизмом гена GSTT1 также наблюдались более высокие показатели пародонтальных индексов и индексов гигиены полости рта по сравнению с детьми этой группы без нарушений в данном гене, но в меньшей мере. Индекс «Кровоточивость» был выше в 1,42 раза, «Проба Шиллера-Писарева» – в 1,51 раза, а индекс гигиены полости рта «Silness-Loe» – в 1,49 раза.

У всех обследованных нами детей выявлена высокая активность первой фазы процесса детоксикации ксенобиотиков, но часть из них имеет низкую активность ферментов второй фазы (делеции генов GSTM1, GSTT1), в результате чего формируется максимально неблагоприятный вариант, который может послужить пусковым механизмом развития токсического поражения организма.

В условиях нормального состояния окружающей среды риск развития заболевания, обусловленный данными ферментами, может быть минимальным. Дисбаланс системы ксенобиотиков в сочетании с повышенной антропогенной нагрузкой приводит к более длительному сохранению в организме промежуточных продуктов биотрансформации ксенобиотиков, которые могут провоцировать и способствовать развитию патологических процессов, в частности стоматологической патологии.

Выходы. У всех обследованных детей выявлена высокая активность первой фазы процесса детоксикации ксенобиотиков CYP1A1 локус A1506G, но часть из них имеет низкую активность ферментов второй фазы (делеции генов GSTM1, GSTT1), в результате чего формируется максимально неблагоприятный вариант. У детей, проживающих в зонах различной антропогенной нагрузки делеционный полиморфизм генов GSTM1, и GSTT1 негативно влияет на развитие твердых тканей зубов и состояние пародонта. Для снижения вероятности влияния неблагоприятных факторов, провоцирующих развитие основных стоматологических заболеваний, необходима разработка методов профилактики, основанных на изучении наследственной предрасположенности к ним.

Список литературы

1. Васильев В. В. Вклад факторов окружающей среды в формирование здоровья детского населения / В. В. Васильев, Ю. В. Корочкина // Медицина труда и экология человека. – 2015. – №3. – С 71-74.
2. Ревазова Ю. А., Журков В. С. Генетические подходы к оценке безопасности факторов среды обитания человека // Вестн. РАМН. – 2001. – № 10. – С. 77–80.
3. Землянова М. А. Современные подходы к оценке нарушений метаболизма ксенобиотиков при поступлении в организм из внешней среды / М. А. Землянова, Ю. В. Кольдикбекова // Экология человека. – 2012. – №8 – С.1-14.
4. Sean Walsh P. 100 as a Medium for Simple Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic / P. Sean Walsh, David A. Metzger, Russell Higuchi // Chelex Material.BioTechniques, – 2013. Vol. 54, № 3. – Р. 134–139.
5. Хоменко Л. О. Терапевтична стоматологія дитячого віку / Хоменко Л.О., Чайковський Ю. Б., Смоляр Н. І. [та ін.]. – Київ: Книга плюс, 2014. – 432 с.
6. Горовенко Н.Г. Частота полиморфных вариантов генов II фазы биотрансформации ксенобиотиков GSTM1 и GSTT1 у новорожденных Ивано-Франковской области Украины / Н.Г. Горовенко, С.В. Подольська, З.Р. Кочерга // ЗР. – 2014. – №5 (56), – С. 50-55.

REFERENCES

1. Vasiliev V. V., Korochkina Yu. V. Contribution of environmental factors to the formation of children's health. Medicina truda i jekologija cheloveka. 2015; 3: 71-74.
2. Revazova Yu. A., Zhurkov V. S. Genetic approaches to assessing the safety of human environmental factors. Vestnik RAMN. 2001;10: 77–80.
3. Zemlyanova M. A., Koldibekova Yu. V. Modern approaches to the assessment of metabolic disorders of xenobiotics when ingested from the environment. Jekologija cheloveka. 2012; 8: 1-14.
4. P. Sean Walsh, David A. Metzger, and Russell Higuchi Chelex 100 as a Medium for Simple Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material.BioTechniques. 2013;3(54):134–139.
5. Khomenko L. O., Chaykovskyy Y. B., Smolyar N. I. at al. Terapevtychna stomatolohiya dytyachoho viku [Therapeutic dentistry for childhood] – Kyiv: Knyha plyus, 2014:432.
6. Gorovenko N.G., Podolska S.V., Kocherga Z.R. The frequency of polymorphic variants of genes of the second phase of biotransformation of xenobiotics GSTM1 and GSTT1 in newborns of the Ivano-Frankivsk region of Ukraine. ZR. 2014;5:56.