

УДК [616.314:616.71-018.44-002.3:57.088.7]-092:612.017.1

А.Г. Гулюк, Є.В. Желнін

**РОЛЬ ПОЛІМОРФІЗМІВ ГЕНІВ IL-1 β ТА TNFRSF11B
У ПАТОГЕНЕЗІ ГОСТРОГО ГНІЙНОГО ПЕРІОСТИТУ***ДУ «Інститут стоматології НАМН України»,
м. Одеса, Україна*

e-mail: tana_zv@list.ru

Резюме: Гострий гнійний періостит має високу поширеність і супроводжується важкими ускладненнями, що загрожують життю. Важливу роль в етіопатогенезі гострого гнійного періоститу відіграють генетичні чинники, що визначають фенотипові прояви даної патології. Проведене дослідження присвячене вивченню поліморфізмів генів-кандидатів IL1 β й TNFRSF11B та їх асоціації з гострим гнійним періоститом.

Ключові слова: ген інтерлейкіну 1 β , ген остеопротегерину, стоматологічний індекс, маркери кісткового метаболізму.

Вступ. У формуванні та регуляції захисних реакцій організму особлива роль належить медіаторам запалення – цитокінам, які здійснюють взаємозв'язок і координують роботу імунної, нервової, ендокринної, кровотворної та інших систем, у такий спосіб беручи участь в організації та регуляції захисних реакцій^{1,3,4,5}. Передбачається, що експресія генів цитокінів індукується у відповідь на проникнення в організм патогенів, антигенне подразнення або ушкодження тканин. Упродовж останніх років деякі вітчизняні та зарубіжні науковці приділяють пильну увагу пошуку асоціацій поліморфних варіантів генів про- і протизапальних цитокінів, що визначають баланс імунореактивності при розвитку запального процесу. У дослідженнях низки авторів виявлено асоціацію певних генотипів генів цитокінів із ризиком розвитку запальних захворювань, для яких є характерним хронічне запалення⁵. Водночас, відомості про особливості генетичного поліморфізму генів цитокінової мережі, що відіграють ключову роль у реалізації патологічного процесу при гострих гнійно-запальних захворюваннях щелепно-лицьової ділянки, дуже незначні. Розробка нових методів прогнозування важкості клінічного перебігу дозволила б ефективніше проводити профілактично-лікувальні заходи, що запобігають розвитку важкого клінічного перебігу захворювань і виникненню ускладнень.

Мета дослідження. Вивчення поліморфних варіантів генів цитокінового профілю, що беруть участь як в індукції запальної реакції та кісткової резорбції, так і у форму-

ванні кісткової тканини при гострому гнійному періоститі (ГГП).

Матеріали та методи дослідження. У дослідженні взяли участь 39 осіб з ГГП віком від 20 до 75 років обох статей. Контрольну групу склали 60 осіб без ознак деструктивно-запальних захворювань органів ротової порожнини, які перебували на профілактичному стоматологічному огляді. Оцінку стоматологічного статусу проводили з використанням оцінки стану твердих тканин зубів (індекс каріозних, пломбованих, видалених зубів (КПВ), враховували тривалість післяопераційного періоду (п/о) після розтину підокісного абсцесу. У пацієнтів обох груп були досліджені біохімічні маркери мінерального обміну і кісткового метаболізму в ротовій рідині: кальцій (Ca), фосфор (P), лужна фосфатаза (ЛФ), кисла фосфатаза тартратрезистентна (КФТ). Рівень Ca і P досліджували фотометричним методом за реакцією з ортокрезол-фталеїн комплексом і за реакцією з молібденовокислим амонієм відповідно з використанням тест-систем фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна); активність ЛФ і КФТ – кінетичним методом за реакцією з р-нітрофенілофосфатом і за швидкістю утворення азобарвника відповідно з використанням тест-систем фірми «Ольвекс Діагностика» (Росія).

Генетичні дослідження проведені з урахуванням інформованої згоди пацієнтів обох груп. Дезоксирибонуклеїнову кислоту (ДНК) виділяли з біологічного матеріалу (ротової рідини) за допомогою реагенту «ДНК-експрес» НВФ «ЛІТЕХ» (Росія). Використовували діагностичні тест-системи «ДНК-експрес» Т-31С

гена *IL-1 β* і *Lys3Asn* гена *TNFRSF11B* Т-31С гена *IL-1 β* і *Lys3Asn* гена *TNFRSF11B*, виробництва НВФ «ЛІТЕХ» (Росія). Аналіз поліморфних ДНК-локусів здійснювали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) синтезу ДНК у реальному часі з подальшою візуалізацією за кривими плавлення. Ампліфікацію проводили на ампліфікаторі «Rotor-Gene 6000» (Австралія). Статистичну обробку здійснювали за допомогою програми *Statistica 6*. Частоту кожного з поліморфізмів визначали за допомогою аналізу таблиць зв'язаності (критерій χ^2), відмінності кількісних показників між групами обчислювали за допомогою дисперсійного аналізу (*F*-крит) з рівнем значущості $p \leq 0,05$. Асоціації алелей і генотипів з ознаками ГПП оцінювали за допомогою відношення шансів (*odds ratio*, OR) з 95% довірчим інтервалом. Міру асоціації оцінювали в значеннях показника OR, за формулою: $OR = (a \times d) / (b \times c)$, де *a* – частота алеля (генотипу) у вибірці хворих, *b* – частота алеля (генотипу) в контрольній вибірці, *c* – сума частот останніх алелей (генотипів) у вибірці хворих, *d* – сума частот останніх алелей (генотипів) у контрольній вибірці².

Результати дослідження та їх обговорення. За результатами генетичного дослідження було виявлено 3 варіанти генотипів ТТ, ТС і СС гена *IL-1 β* , що зустрічались із різною частотою (табл.1). Розподіл частоти виявлення генотипів гена *IL-1 β* , що спостерігався у групі обстежених осіб із ГПП і в контрольній групі відповідав рівновазі Харді-Вайнберга.

Таблиця 1. Розподіл поліморфізмів гена *IL-1 β* у досліджуваних групах

Генотипи	ГПП		Контроль		χ^2
	N (n=39)	%	N (n=60)	%	
ТТ	13	33,3	25	41,7	$\geq 0,05$ ($p=0,4$)
ТС	19	48,7	31	51,7	$\geq 0,05$ ($p=0,77$)
СС	7	17,9	4	6,7	$\geq 0,05$ ($p=0,079$)

Частота виявлення генотипу СС, пов'язаною із збільшеним синтезом білка *IL-1 β* у групі з ГПП (17,9%) була вищою порівняно з контролем (6,7%) в 2,67 рази, проте статистично достовірної відмінності цього показника виявлено не було. Частоти виявлення генотипів ТТ і ТС практично не мали відмінностей у групі пацієнтів з ГПП і контролем (табл.1).

Під час дослідження розподілу показників мінерального обміну, кісткового метаболізму

і стоматологічного статусу всередині групи пацієнтів, які страждали ГПП, залежно від генотипу статистично достовірні результати ($p \leq 0,05$) виявлено за значеннями індексу КПУ і тривалості п/о лікування. Пацієнти з СС генотипом мали найбільш виражений індекс КПУ, що характеризує ураження твердих тканин зубів і перевищує значення для ТТ генотипу в 3 рази. В осіб із СС генотипом п/о період був значно тривалішим, мав уповільнений характер, приєднувалися ускладнення порівняно з ТТ і ТС генотипами.

За результатами генетичного дослідження було виявлено 3 варіанти генотипів *Lys/Lys*, *Lys/Asn*, *Asn/Asn* поліморфізму гена *TNFRSF11B*, що зустрічались з різною частотою (табл. 2).

Таблиця 2. Розподіл поліморфізмів гена *TNFRSF11B* у досліджуваних групах

Генотипи	ГПП		Контроль		χ^2
	N (n=39)	%	N (n=60)	%	
<i>Lys/Lys</i>	20	51,3	16	26,7	$\leq 0,05$ ($p=0,012$)
<i>Lys/Asn</i>	17	43,6	29	48,3	$\geq 0,05$ ($p=0,64$)
<i>Asn/Asn</i>	2	5,1	15	25,0	$\leq 0,05$ ($p=0,01$)

Статистично значущі відмінності були отримані між групою з ГПП і контрольною групою за генотипами *Lys/Lys* і *Asn/Asn*. Кількість пацієнтів з ГПП з генотипом *Asn/Asn* достовірно знижувалася в 5 разів порівняно з контролем, при цьому вдвічі збільшувалося число осіб із генотипом *Lys/Lys* (табл. 2).

У пацієнтів з ГПП вивчено зв'язок поліморфізму *Lys/Asn* гена *TNFRSF11B* із станом мінерального обміну, кісткового метаболізму і стоматологічного статусу.

Статистично достовірні результати ($p \leq 0,05$) отримані для індексу КПУ й тривалості п/о лікування. У групі осіб з *Asn/Asn* генотипом був найвищий індекс КПУ, що свідчить про ушкодження твердих тканин зубів і перевищує значення для *Lys/Lys* генотипу в 2 рази. У пацієнтів з *Asn/Asn* генотипом п/о період збільшений удвічі порівняно з пацієнтами з *Lys/Lys* генотипом, тривалий час зберігалася гнійне відокремлювання, порожнина абсцесу повільно заповнювалася грануляційною тканиною.

Можна передбачити, що в групі хворих з *Asn/Asn* генотипом остеорезорбтивні процеси переважали над остеосинтезом. З одного боку, ушкодження окістя й порушення процесів остеоформування обумовлене гнійно-запаль-

ними змінами, а з іншого – генетична регуляція активації остеокластів поліморфним варіантом *Asn/Asn* гена *TNFRSF11B* спричинює деструкцію кістки і затяжний гнійно-септичний перебіг ГПП.

При аналізі ступеня асоціації поліморфних варіантів гена *IL1β* з ГПП статистичної достовірності не було виявлено ($\chi^2=3,176$; $p=0,21$) (табл. 3).

Таблиця 3. Розподіл частот генотипів поліморфізму $-31T>C$ гена *IL1β* та ступінь асоціації з ГПП

Генотипи	ГПП (N=39)		Контроль (N=60)		OR	95% CI	χ^2	p (χ^2)
	n	%	n	%				
TT	13	33,3	25	41,7	0,700	0,302–1,623	3,176	0,21
TC	19	48,7	31	51,7	0,889	0,397–1,991		
CC	7	17,9	4	6,7	3,063	0,832–11,271		

Носійство генотипу CC ($OR=3,1$, CI 0,832–11,271) є чинником підвищеного ризику розвитку патології, а носійство генотипу TT ($OR=0,7$, CI 0,302–1,623) і TC ($OR=0,89$, CI 0,397–1,99) не відображали зв'язку з ГПП. Генотип CC гена *IL1β* пов'язаний з активним синтезом прозапального цитокіну, що є ін-

дуктором кісткової резорбції та прогресування запальних ускладнень ГПП.

Зв'язок поліморфізму *Lys3Asn* гена *TNFRSF11B* з ГПП був статистично достовірним ($\chi^2=9,49$; $p=0,009$) (табл. 4). При цьому ризик розвитку ГПП вищий при генотипі *Lys/Lys* ($OR=2,9$, DI 1,238–6,769).

Таблиця 4. Розподіл частот генотипів поліморфізму *Lys3Asn* гена *TNFRSF11B* та ступінь асоціації з ГПП

Генотипи	ГПП (N=32)		Контроль (N=60)		OR	95% CI	χ^2	p (χ^2)
	n	%	n	%				
<i>Lys/Lys</i>	20	51,3	16	26,7	2,895	1,238–6,769	9,49	0,009
<i>Lys/Asn</i>	17	43,6	29	48,3	0,826	0,367–1,858		
<i>Asn/Asn</i>	2	5,1	15	25	0,162	0,035–0,755		

Аналіз результатів проведеного дослідження і пошуку генетичних маркерів ГПП показав, що асоціація з алельним поліморфізмом $-31T>C$ гена *IL1β* відсутня. Пояснити цей факт можна мультифакторним характером ГПП, і, відповідно, тим, що поодинокі поліморфізми не можуть бути маркером захворювання.

Проте, кількісне вираження стоматологічного індексу КПУ й тривалість лікування при ГПП мають максимальні значення у пацієнтів із генотипом CC гена *IL1β*, що супроводжується активним синтезом прозапального цитокіну *IL1β* та агресивним перебігом ГПП. Вивчивши можливий зв'язок поліморфних варіантів *Lys3Asn* гена *TNFRSF11B* з показниками стоматологічного статусу, ми виявили статистично значущу залежність між генотипом *Asn/Asn* і високими показниками КПУ, затяжним періодом лікування після видалення окісного абсцесу. Встановлено ви-

сокий ступінь асоціації генотипу *Lys/Lys* ($OR=2,9$, CI 1,238–6,769) із ГПП. Цей факт має важливе значення для прогнозу перебігу ГПП. Достатній синтез остеопротегерину, пов'язаний з поліморфним варіантом *Lys/Lys* гена *TNFRSF11B* при гнійно-запальних захворюваннях зубо-щелепної ділянки, має протективний ефект, перешкоджаючи остеокластогенезу і сприяючи остеосинтезу та заміщенню запального вогнища кістковою тканиною.

Виявлення поліморфізму гена *TNFRSF11B* дозволить визначати подальшу тактику при веденні хворих із запально-деструктивними захворюваннями зубо-щелепної системи тканин ротової порожнини. Із сучасних позицій лікування гнійних процесів, пов'язаних з ураженням кісткової тканини, з формуванням порожнин і загрозою переломів щелепи, буде ефективним за умови застосування засобів генної терапії, у даному випадку – остеопротегерину.

Висновки:

1. У хворих на гострий гнійний періостит виявлено зв'язок поліморфізмів генів *IL-1β* та *TNFRSF11B* із стоматологічним статусом пацієнтів. У пацієнтів із CC ге-

нотипом поліморфізму гена *IL-1β* та з *Asn/Asn* генотипом поліморфізму гена *TNFRSF11B* захворювання має важчий перебіг.

2. Виявлено статистично значущі відмінності зв'язку поліморфізму гена *TNFRSF11B* між групою з гострим гнійним періоститом і контролем за генотипом *Lys/Lys* і *Asn/Asn*.
3. Виявлено статистично достовірний зв'язок поліморфізму *Lys3Asn* гена *TNFRSF11B* з гострим гнійним періоститом. У хворих цієї групи переважають пацієнти з генотипом *Lys/Lys*.

Література:

1. Мубаракова Л.Н. Алгоритм диагностики поражения костной ткани челюстей при гнойно-воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области / Л.Н. Мубаракова // *Стоматология*. – 2008. – № 3. – С. 52–54.
2. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2003. – 312 с.
3. Тобоев Г.В. Оценка иммунологического статуса больных с пролонгированным течением острой одонтогенной инфекции и его значение в прогнозе заболевания / Г.В. Тобоев, Н.Г. Коротких // *Российский онкологический журнал*. – 2009. – № 1. – С.32–33.
4. Multiple odontogenic abscesses. Thoracic and abdomino-perineal extension in an immunocompetent patient / B. Arias-Chamorro, M. Contreras-Morillo, A. Acosta-Mo-yano [et al.] // *Med. Oral. Patol. Oral. Cir. Bucal*. – 2011. – Vol. 16. – № 6. – P. 772–775.
5. Polymorphisms of the IL1-receptor antagonist gene (IL1RN) are associated with multiple markers of systemic inflammation / A.P. Reiner, M.M. Wurfel, L.A. Lange [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vase. Biol*. – 2008. – Vol. 28, № 7. – P. 1407–1412.

УДК [616.314:616.71-018.44-002.3:57.088.7]-092:612.017.1

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ IL-1 β И TNFRSF11B В ПАТОГЕНЕЗЕ ОСТРОГО ГНОЙНОГО ПЕРИОСТИТА

А.Г. Гулюк, Е.В. Желнин

ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины», г. Одесса, Украина

Резюме: Острый гнойный периостит имеет высокую распространенность и сопровождается тяжелыми осложнениями, угрожающими жизни. Важную роль в этиопатогенезе острого гнойного периостита играют генетические факторы, определяющие фенотипические проявления данной патологии. Проведенное исследование посвящено изучению полиморфизмов генов-кандидатов *IL1 β* и *TNFRSF11B* и их ассоциации с острым гнойным периоститом.

Ключевые слова: ген интерлейкина 1 β , ген остеопротегерина, стоматологический индекс, маркеры костного метаболизма.

UDC [616.314:616.71-018.44-002.3:57.088.7]-092:612.017.1

ROLE OF IL-1 β AND TNFRSF11B GENE POLYMORPHISMS IN PATHOGENESIS OF ACUTE PURULENT PERIOSTITIS

A.G. Guliuk, Ye. V. Zhelnin

SE «The Institute of Dentistry of the NAMS of Ukraine», Odesa, Ukraine

Summary: Acute purulent periostitis is characterized by high incidence and is accompanied by severe life-threatening complications. Genetic factors determining phenotypic signs of this disorder play an important role in etiopathogenesis of acute purulent periostitis. The polymorphisms of *IL1 β* and *TNFRSF11B* candidate genes and their association with acute purulent periostitis were studied.

Keywords: interleukin 1 β gene, osteoprotegrin gene, dental status, bone metabolism markers.

Надійшла до редакції 23.09.2015 р.