



<https://doi.org/10.34883/PI.2023.12.4.011>
УДК 616.314.17-002-036-078.088.7



Полуян О.С.✉, Костюк С.А., Мельникова Т.Ю., Юдина Н.А.

Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения
Белорусского государственного медицинского университета, Минск, Беларусь

Полиморфизмы генов коллагена и рецептора витамина D как молекулярно-генетические факторы риска формирования воспалительных заболеваний периодонта

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – Полуян О.С., Костюк С.А.; сбор материала – Мельникова Т.Ю., Юдина Н.А.; обработка материала, написание текста – Полуян О.С.; редактирование – Костюк С.А.

Подана: 28.03.2023

Принята: 13.11.2023

Контакты: olga.poluyan@mail.ru

Резюме

Цель. Установить молекулярно-генетические факторы риска формирования воспалительных заболеваний периодонта на основании изучения полиморфизмов генов коллагена и рецептора витамина D.

Материалы и методы. В исследование включено 123 образца биологического материала (соскоб клеток эпителия ротовой полости), в которых с использованием усовершенствованного метода ПЦР в реальном времени проводили выявление полиморфизмов Sp1 (G1546T) гена COL1A1, TaqI (+61968 T>C) и Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR. Для установления значимости различий исходов в зависимости от воздействия фактора риска использовали критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса. Для оценки силы связи между фактором риска и исходом использовали критерий ф. Для сравнения исследуемых групп по частоте выявления факторов риска развития заболевания использовали расчет относительного риска и отношения шансов со сведением данных в таблицу 2×2. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез принят уровень $p < 0,05$.

Результаты. Проведены молекулярно-генетические исследования по определению полиморфных вариантов Sp1 (G1546T) гена COL1A1, TaqI (+61968 T>C) гена VDR и Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR. Установлено разнообразие распределения исследуемых генов в зависимости от нозологической формы воспалительного заболевания периодонта. Осуществлен статистический анализ полученных результатов, на основании которого определены молекулярно-генетические факторы риска формирования хронического гингивита, хронического периодонтита, хронического сложного периодонтита и сложного агрессивного периодонтита.

Закключение. Риск формирования хронического гингивита увеличивается при выявлении в биологическом материале пациента T-аллеля и tt-генотипа TaqI (+61968 T>C) гена VDR, а также G-аллеля и GG-генотипа Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR. Риск развития хронического периодонтита связан с наличием у пациента G-аллеля и GG-генотипа

Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR. Риск развития хронического сложного периодонтита возрастает при выявлении G-аллеля и GG-генотипа Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR. Выявление в содержимом зубодесневого кармана T-аллеля и tt-генотипа TaqI (+61968 T>C) гена VDR, а также G-аллеля и GG-генотипа Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR увеличивает риск развития у пациента сложного агрессивного периодонтита.

Ключевые слова: ПЦР, ген α -1 цепи коллагена 1-го типа, ген рецептора витамина D, полиморфизм, аллель, генотип, относительный риск

Poluyan O.✉, Kostiuk S., Melnikova T., Yudina N.

Institute of Advanced Training and Retraining of Healthcare Personnel of the Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

Polymorphisms of Collagen and Vitamin D Receptor Genes as Molecular Genetic Risk Factors for the Inflammatory Periodontal Diseases Formation

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design of the study – Poluyan O., Kostiuk S.; collection of material – Melnikova T., Yudina N.; material processing, text writing – Poluyan O.; editing – Kostiuk S.

Submitted: 28.03.2023

Accepted: 13.11.2023

Contacts: olga.poluyan@mail.ru

Abstract

Purpose. To establish molecular genetic risk factors for the inflammatory periodontal diseases formation based on the study of polymorphisms of collagen and vitamin D receptor genes.

Materials and methods. The study included 123 samples of biological material (scraping of the epithelial cells of the oral cavity), in which polymorphisms Sp1 (G1546T) of the COL1A1 gene, TaqI (+61968 T>C) and Cdx2 (-3731 A>G) of the VDR gene were detected using an improved real-time PCR method. To establish the significance of the differences in outcomes depending on the impact of the risk factor, the χ^2 Pearson criterion was used. To assess the strength of the relationship between the risk factor and the outcome, the criterion ϕ was used. To compare the studied groups by the frequency of detection of risk factors for the development of the disease, the calculation of relative risk and odds ratio was used with the data being summarized in a 2x2 table. The critical level of significance when testing statistical hypotheses is assumed to be $p < 0.05$.

Results. Molecular genetic studies were carried out to determine polymorphic variants of Sp1 (G1546T) of the COL1A1 gene, TaqI (+61968 T>C) of the VDR gene and Cdx2 (-3731 A>G) of the VDR gene. The diversity of the distribution of the studied genes has been established depending on the nosological form of inflammatory periodontal disease. A statistical analysis of the results obtained was carried out, on the basis of which the molecular genetic risk factors for the formation of chronic gingivitis, chronic periodontitis, chronic complex periodontitis and complex aggressive periodontitis were determined.



Conclusion. The risk of developing chronic gingivitis increases when the T-allele and tt-genotype TaqI (+61968 T>C) of the VDR gene, as well as the G-allele and GG-genotype Cdx2 (-3731 A>G) of the VDR gene are detected in the patient's biological material. The risk of developing chronic periodontitis is associated with the presence in the patient of the G-allele and GG genotype Cdx2 (-3731 A>G) of the VDR gene. The risk of developing chronic complex periodontitis increases when the G-allele and GG-genotype Cdx2 (-3731 A>G) of the VDR gene are detected. Detection of the T-allele and tt-genotype TaqI (+61968 T>C) of the VDR gene in the contents of the dentoalveolar pocket, as well as the G-allele and GG-genotype Cdx2 (-3731 A>G) of the VDR gene increases the risk of developing complex aggressive periodontitis in the patient.

Keywords: PCR, type 1 collagen α -1 gene, vitamin D receptor gene, polymorphism, allele, genotype, relative risk

■ ВВЕДЕНИЕ

Распространенность изменений минеральной плотности зубов и периодонта составляет 80%, а у людей в возрасте старше 40 лет изменения выявляются в 100% случаев [12]. Встречаемость патологии твердых тканей зубов и периодонта увеличивается с возрастом. Существенный «прирост» данной патологии отмечен у женщин в пре- и постменопаузальном периоде [2]. После 45 лет частота заболеваний периодонта у женщин составляет 58,7% по сравнению с 26,6% в возрасте 20–30 лет [3]. Исследованиями стоматологов и остеологов определена роль гипоестрогенемии у женщин в постменопаузальном периоде в развитии системного остеопороза и патологических процессов в зубочелюстной системе [4].

К настоящему времени выделена группа генов-кандидатов, отвечающих за снижение минеральной плотности костей, к перечню которых отнесен и ген α -1 цепи коллагена 1-го типа (COL1A1). Мутации в генах, участвующих в образовании коллагена, могут быть причиной структурно-функциональных изменений основного компонента соединительной ткани и приводить к развитию ряда заболеваний, в том числе остеопороза. Одной из таких мутаций является полиморфизм Sp1 в гене COL1A1 (rs1800012), который приводит к увеличению соотношения α -1 и α -2 цепей коллагена и в конечном итоге к ухудшению костной микроархитектуры [5].

Ген α 1-цепи коллагена 1-го типа (COL1A1) расположен на 17-й хромосоме в области q21.3-22. В первом интроне гена COL1A1 существует сайт узнавания для транскрипционного фактора Sp1, в котором обнаружена замена гуанина на тимин (1546G>T; af017178), приводящего к возникновению Col1A1*s аллеля, функциональная активность которого составляет не более 16% по сравнению с Col1A1*S аллелем [6].

Влияние полиморфизма Sp1 гена COL1A1, а также уровней экспрессии данного гена на минеральную плотность костной ткани изучалось и ранее. Однако имеющиеся данные свидетельствуют о противоречивости полученных результатов. Кроме того, проводимые ранее немногочисленные [7, 8] исследования по определению роли структурного и функционального состояния гена альфа-1 цепи коллагена 1 в развитии нарушений минеральной плотности тканей не позволяют в достаточной мере раскрыть накопившиеся вопросы и сделать достаточно обоснованные выводы.

Витамин D является стероидным соединением, обладающим такими биологическими эффектами, как участие в фосфорно-кальциевом обмене, влияние на дифференцировку клеток костной ткани, процессы остеосинтеза и резорбции, регуляция костного метаболизма [9]. Рецептор витамина D входит в суперсемейство стероидных ядерных рецепторов и обязателен для реализации большинства известных биологических эффектов витамина D [9, 10]. В гене рецептора витамина D (VDR) существует более 200 однонуклеотидных замен, обуславливающих функциональное состояние рецептора.

Известно, что рецепторы витамина D кодируются одноименным геном VDR (также известным как NR1I1), локализованным на хромосоме 12q12-q14. Для данного гена характерен полиморфизм, то есть существование различных аллельных вариантов этого гена в популяции [11]. Наиболее значимые полиморфизмы гена VDR, участвующие в развитии заболеваний: Cdx2 (расположен в 1-м экзоне), BsmI и ApaI (расположены в 8-м интроне), FokI (расположен во 2-м экзоне), TaqI (расположен в 9-м экзоне) [11]. Во многих исследованиях была установлена связь полиморфизма гена VDR с такими заболеваниями, как сахарный диабет, остеопороз, уролитиаз, псориаз, почечная остеодистрофия, различные новообразования, заболевания периодонта, а также различные сердечно-сосудистые заболевания [11, 12].

Полиморфные генотипы гена VDR, с одной стороны, играют важную роль в минерализации кости и метаболизме костной ткани. Доказано, что кинетика кальция и темпы накопления минерала в кости в пубертатный период связаны с полиморфными вариантами гена VDR [9, 13]. Частота гиперкальциурии была выше у носителей аллеля t и генотипа tt TaqI VDR [9, 14].

При этом роль полиморфизма гена VDR в процессах метаболизма костной ткани остается неоднозначной. Из четырех полиморфизмов (BsmI, FokI, ApaI и TaqI) гена VDR, исследованных у 395 детей из Польши в возрасте 6–18 лет, только «a»-аллель ApaI VDR был ассоциирован с более высокими показателями костной минеральной плотности и содержания минерала в кости, причем только в группе детей, у которых показатель костной минеральной плотности (BMD Z-score) находился в промежутке от -1,1 до -2,0 SD [9, 15]. В исследовании, выполненном в Нидерландах, изучалась роль BsmI-, ApaI-, TaqI-полиморфных генотипов гена VDR в костном метаболизме у 148 детей и молодых взрослых на протяжении 4-летнего периода. Не было выявлено роли каждого полиморфизма по отдельности, но комбинированный гаплотип bAT, содержащий аллель T TaqI-VDR, оказывал влияние на линейный рост и размеры позвонков. В свою очередь, увеличение числа аллелей риска в гаплотипе было ассоциировано с задержкой линейного роста ($p=0,006$) и задержкой размера позвонков ($p=0,001$) [9, 16]. В датском исследовании, в которое были включены 223 девочки в возрасте 11–12 лет, не было выявлено влияния FokI и TaqI VDR-полиморфизмов на минерализацию кости и ее метаболизм. Только ff-генотип был ассоциирован с большим линейным ростом, роль TaqI-полиморфных генотипов в этом исследовании осталась невыясненной [9, 17]. В близнецовых исследованиях Австралии ($n=3906$) и Нидерландов ($n=1689$) не было обнаружено влияния BsmI-, FokI-, TaqI- и (-1521) VDR-полиморфных генотипов на линейный рост [9, 18]. У носителей аллеля G (Cdx2) VDR транскрипционная активность гена снижена до 70% от уровня носителей аллеля A. В работах по изучению данного полиморфизма также было отмечено, что наличие мутантного аллеля A обеспечивает устойчивость носителя к потере минеральной плотности костной ткани в условиях сниженного потребления кальция [19, 20].



Изучение влияния молекулярно-генетических факторов на риск развития тяжелых форм воспалительных заболеваний периодонта является основой современной персонифицированной медицины, поскольку дает возможность прогнозировать развитие заболевания, характер течения и риск возможных осложнений.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установить молекулярно-генетические факторы риска формирования воспалительных заболеваний периодонта на основании изучения полиморфизмов генов коллагена и рецептора витамина D.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве биологического материала для установления структурного полиморфизма генов COL1A1 и VDR использовали содержимое периодонтального кармана 108 пациенток с заболеваниями периодонта, проходивших амбулаторное лечение на базе кафедры общей стоматологии ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», а также 15 практически здоровых женщин, составивших группу контроля.

На основании установленного этиологического диагноза были сформированы следующие группы пациентов с заболеваниями периодонта: группа 1 (n=26) – пациентки с хроническим гингивитом; группа 2 (n=22) – пациентки с хроническим периодонтитом; группа 3 (n=35) – пациентки с хроническим сложным периодонтитом; группа 4 (n=25) – пациентки со сложным агрессивным периодонтитом; группа 5 (n=15) – контрольная группа.

Выделение ДНК из образцов биологического материала, основанное на принципе связывания нуклеиновых кислот с силикатными сорбентами в присутствии хаотропных солей и их последующей элюции в низкосолевого буфера, проводили с использованием наборов реагентов «АртДНК MiniSpin» (производитель «АртБиоТех», Республика Беларусь).

Для определения концентрации и степени чистоты выделенной ДНК проводили спектрофотометрические исследования (NanoDrop 1000, ThermoScientific, США), при этом определяли отношение поглощения на длинах волн 260 и 280 нм (A260/280).

В качестве мишеней для дизайна специфических олигонуклеотидных праймеров выбраны ген, кодирующий α -1 цепь коллагена 1-го типа (COL1A1), и ген рецептора витамина D (VDR).

Для выявления полиморфизма Sp1 (G1546T) гена COL1A1 использовали следующие пары специфических олигонуклеотидных праймеров:

C-01-F 5'-CCAATCAGCCGCTCCCATTC-3';

C-01-R 5'-CATCGGGAGGGCAGGCTC-3'.

Для выявления полиморфизмов TaqI (+61968 T>C) и Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR использовали следующие пары специфических олигонуклеотидных праймеров:

Taq-F 5'-GACCTAGGTCTGGATCCTAA-3';

Taq-R 5'-GTCCTAGTCAGGAGATCTCA-3' (для выявления TaqI (+61968 T>C));

Cdx-F 5'-ACTCTCTTATTTATGTTCCAGA-3';

Cdx-R 5'-GGAACCTATATATATTCCTGAGTAACTA-3' (для выявления Cdx2 (-3731 A>G)).

Состав реакционной смеси для выявления полиморфизма Sp1 (G1546T) гена COL1A1: 1 мкл геномной ДНК (100 мг/л), 0,4 мкл каждого праймера (5 мМ), 0,2 мкл Taq-полимеразы (1 Ед/мкл), 5 мкл Master-Mix, 13,0 мкл воды, обработанной диэтилпи-рокарбонатом (DEPC); конечный объем – 20 мкл. Условия термоциклирования для выявления полиморфизма Sp1 (G1546T) гена COL1A1: 94 °С 4 мин. (горячий старт); 35 циклов – 94 °С 45 с. (денатурация), 57 °С 45 с. (отжиг), 72 °С 5 с. (элонгация); 72 °С 1 мин. Амплификат, наработанный при ПЦР полиморфного локуса гена COL1A1, под-вергали ферментативному гидролизу с использованием рестриктазы BseNI (к 20 мкл амплификата добавляли 5 ед. активности рестриктазы и инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 12 часов). Полиморфизм Sp1 (G1546T) гена COL1A1 характеризовался наличием нуклеотидной замены G→Т в позиции 1546, для выяв-ления которой ПЦР-продукт предварительно обрабатывался рестриктазой BseNI. Детекцию полученных результатов проводили электрофоретически в 3%-ном ага-розном геле.

Состав реакционной смеси для выявления полиморфизма TaqI (+61968 T>C) гена VDR: 1 мкл геномной ДНК (60 мг/л), 0,4 мкл каждого праймера (5 мМ), 0,2 мкл Taq-полимеразы (1 Ед/мкл), 5 мкл Master-Mix, 13,0 мкл воды, обработанной диэтилпи-рокарбонатом (DEPC); конечный объем – 20 мкл. Условия термоциклирования для выявления полиморфизма TaqI (+61968 T>C) гена VDR: 94 °С 5 мин. (горячий старт); 40 циклов – 94 °С 30 с. (денатурация), 62 °С 40 с. (отжиг), 72 °С 10 с. (элонгация); 72 °С 1 мин. Амплификат, наработанный при ПЦР полиморфного локуса TaqI гена VDR, под-вергали ферментативному гидролизу с использованием рестриктазы TaqI (к 5 мкл амплификата добавляли 8 мкл дистиллированной воды, 1,5 мкл 10×SE-буфера Y с BSA, 0,5 мкл рестриктазы и инкубировали при температуре 65 °С в течение 16 часов). Полиморфизм TaqI (+61968 T>C) гена VDR характеризовался наличием нуклеотидной замены Т→С в позиции 61968, для выявления которой ПЦР-продукт предвари-тельно обрабатывался рестриктазой TaqI. Детекцию полученных результатов проводили электрофоретически в 3%-ном агарозном геле.

Состав реакционной смеси для выявления полиморфизма Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR: 1 мкл геномной ДНК (65 мкг/мкл), 0,4 мкл каждого праймера (5 мМ), 0,2 мкл Taq-полимеразы (1 Ед/мкл), 5 мкл Master-Mix, 13,0 мкл воды, обработанной диэтилпи-рокарбонатом (DEPC); конечный объем – 20 мкл. Условия термоциклирования для выявления полиморфизма Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR: 95 °С 5 мин. (горячий старт); 45 циклов – 95 °С 30 с. (денатурация), 60 °С 30 с. (отжиг), 72 °С 10 с. (элонгация); 72 °С 1 мин. Амплификат, наработанный при ПЦР полиморфного локуса Cdx2 гена VDR, под-вергали ферментативному гидролизу с использованием рестриктазы Bst4C I (к 5 мкл амплификата добавляли 8 мкл дистиллированной воды, 1,5 мкл 10×SE-буфера Y, 0,5 мкл рестриктазы и инкубировали при температуре 65 °С в течение 16 часов). По-лиморфизм Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR характеризовался наличием нуклеотидной замены А→G в позиции 3731, для выявления которой ПЦР-продукт предварительно обрабатывался рестриктазой Bst4C I. Детекцию полученных результатов проводили электрофоретически в 3%-ном агарозном геле.

Определение генотипов (установление спектров гомо- и гетерозигот) полиморф-ных вариантов генов проводили с применением метода анализа кривых плавления продуктов ПЦР высокого разрешения (high resolution melting analysis – HRM-анализ) с использованием интеркалирующего красителя EvaGreen. В пробирки вносили: 10 мкл



SsoFast EvaGreen, 2 мкл прямого праймера, 2 мкл обратного праймера, 6 мкл выделенной ДНК. Общий объем пробы составил 20 мкл. Пробы помещали в амплификатор. Программировали прибор по следующей программе: 98 °С – 3 мин. (активация фермента); 40 циклов 98 °С – 5 сек. (денатурация), 55 °С – 5 сек. (отжиг/элонгация). Снятие кривых плавления, представляющее собой повышение температуры от 75 °С до 95 °С с регистрацией интенсивности флуоресценции, проводили с шагом 0,5 °С (5 сек. на шаг).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием онлайн-калькулятора – <https://medstatistic.ru>. Для установления значимости различий исходов в зависимости от воздействия фактора риска использовали критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса. Для оценки силы связи между фактором риска и исходом использовали критерий ϕ . Для сравнения исследуемых групп по частоте выявления факторов риска развития заболевания использовали расчет относительного риска и отношения шансов со сведением данных в таблицу 2×2. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез принят уровень $p < 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Учет данных проведенных молекулярно-генетических исследований по распределению аллельных вариантов (табл. 1), а также по определению генотипного профиля (табл. 2) проводили в контексте групп исследования.

Таблица 1

Распределение аллельных вариантов в зависимости от группы исследования

Table 1

Distribution of allelic variants depending on the study group

Полиморфизм Sp1 (G1546T) гена COL1A1				
Группа исследования	Аллель S		Аллель s	
	n	%	n	%
Пациентки с хроническим гингивитом (n=26)	36	69,23	16	30,77
Пациентки с хроническим периодонтитом (n=19)	24	63,16	14	36,84
Пациентки с хроническим сложным периодонтитом (n=35)	42	60,00	28	40,00
Пациентки со сложным агрессивным периодонтитом (n=25)	27	54,00	23	46,00
Контрольная группа практически здоровых женщин (n=15)	22	73,33	8	26,67
Полиморфизм TaqI (+61968 T>C) гена VDR				
Группа исследования	Аллель T		Аллель t	
	n	%	n	%
Пациентки с хроническим гингивитом (n=26)	39	75,00	13	25,00
Пациентки с хроническим периодонтитом (n=19)	22	57,89	16	42,11
Пациентки с хроническим сложным периодонтитом (n=35)	44	62,86	26	37,14
Пациентки со сложным агрессивным периодонтитом (n=25)	10	20,00	40	80,00
Контрольная группа практически здоровых женщин (n=15)	15	50,00	15	50,00
Полиморфизм Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR				
Группа исследования	Аллель G		Аллель A	
	n	%	n	%
Пациентки с хроническим гингивитом (n=26)	38	73,08	14	26,92
Пациентки с хроническим периодонтитом (n=22)	35	79,55	9	20,45
Пациентки с хроническим сложным периодонтитом (n=35)	42	60,00	28	40,00
Пациентки со сложным агрессивным периодонтитом (n=25)	33	66,00	17	34,00
Контрольная группа практически здоровых женщин (n=15)	10	33,33	20	66,67

Примечание: n – количество пациентов.

При анализе генетической структуры пациентов с воспалительными заболеваниями периодонта была установлена неравномерность распределения аллельных вариантов исследуемых генов в зависимости от нозологической формы заболевания.

При анализе данных молекулярно-генетических исследований по изучению полиморфизма Sp1 (G1546T) гена COL1A1 нами не было выявлено статистически значимых ($p>0,05$) достоверных факторов риска формирования воспалительных заболеваний периодонта.

Анализ данных, полученных при исследовании полиморфизма TaqI (+61968 T>C) гена VDR, позволил установить, что частота выявления аллельного варианта Т (а также генотипного профиля ТТ) статистически значимо ($p<0,05$) отличалась для группы пациентов с хроническим гингивитом (0,75 и 0,62 соответственно)

Таблица 2
Распределение генотипов в зависимости от группы исследования
Table 2
Distribution of genotypes depending on the study group

Полиморфизм Sp1 (G1546T) гена COL1A1						
Группа исследования	Генотип GG		Генотип GT		Генотип TT	
	n	%	n	%	n	%
Пациентки с хроническим гингивитом (n=26)	18	69,23	–		8	30,77
Пациентки с хроническим периодонтитом (n=19)	11	57,89	2	10,53	6	31,58
Пациентки с хроническим сложным периодонтитом (n=35)	19	54,29	4	11,43	12	34,28
Пациентки со сложным агрессивным периодонтитом (n=25)	13	52,00	1	4,00	11	44,00
Контрольная группа практически здоровых женщин (n=15)	11	73,33	–		4	26,67
Полиморфизм TaqI (+61968 T>C) гена VDR						
Группа исследования	Генотип TT		Генотип tt		Генотип Tt	
	n	%	n	%	n	%
Пациентки с хроническим гингивитом (n=26)	16	61,54	3	11,54	7	26,92
Пациентки с хроническим периодонтитом (n=19)	7	36,84	4	21,05	8	42,11
Пациентки с хроническим сложным периодонтитом (n=35)	14	40,00	5	14,29	16	45,71
Пациентки со сложным агрессивным периодонтитом (n=25)	1	4,00	16	64,00	8	32,00
Контрольная группа практически здоровых женщин (n=15)	2	13,33	2	13,33	11	73,34
Полиморфизм Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR						
Группа исследования	Генотип AA		Генотип GG		Генотип AG	
	n	%	n	%	n	%
Пациентки с хроническим гингивитом (n=26)	3	11,54	15	57,69	8	30,747
Пациентки с хроническим периодонтитом (n=22)	–		13	59,09	9	40,91
Пациентки с хроническим сложным периодонтитом (n=35)	5	14,28	12	34,29	18	51,43
Пациентки со сложным агрессивным периодонтитом (n=25)	3	6,00	11	44,00	11	44,00
Контрольная группа практически здоровых женщин (n=15)	6	40,00	1	8,67	8	53,33



по сравнению с другими группами, в частности с группой контроля. Обращает на себя внимание и факт достоверно ($p < 0,05$) более частой встречаемости аллеля *t* и генотипа *tt* в группе пациентов со сложным агрессивным периодонтитом (0,80 и 0,64 соответственно) по сравнению с другими группами.

Проведенный анализ данных показал наиболее широкое разнообразие частоты встречаемости аллельных вариантов и генотипного профиля полиморфизма *Cdx2* (-3731 A>G) гена *VDR* в исследуемых группах. Частота выявления аллеля *G* и генотипа *GG* статистически значимо ($p < 0,05$) различалась между всеми группами пациентов с воспалительными заболеваниями тканей периодонта по сравнению с контрольной группой.

На основании полученных данных нами было выдвинуто предположение о влиянии аллельных вариантов и генотипного профиля полиморфизмов *TaqI* (+61968 T>C) и *Cdx2* (-3731 A>G) гена *VDR* на риск формирования воспалительных заболеваний периодонта. Анализ значимости различий по частоте встречаемости признаков проводили с помощью критерия χ^2 в таблице сопряженности 2×2 .

При хроническом гингивите для *T*-аллеля *TaqI* (+61968 T>C) гена *VDR* критерий χ^2 с поправкой Йейтса составил 4,234 ($p = 0,040$), критерий $\phi = 0,254$ (средняя сила связи), относительный риск $OR = 1,556$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,011–2,393), отношение шансов $ОШ = 3,000$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,158–7,772). Для *tt*-генотипа χ^2 с поправкой Йейтса составил 7,706 ($p = 0,006$), критерий $\phi = 0,520$ (относительно сильная сила связи), относительный риск $OR = 2,286$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,252–4,172), отношение шансов $ОШ = 12,571$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 2,187–72,270). Для *G*-аллеля *Cdx2* (-3731 A>G) гена *VDR* критерий χ^2 с поправкой Йейтса составил 10,798 ($p = 0,002$), критерий $\phi = 0,398$ (средняя сила связи), относительный риск $OR = 1,923$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,254–2,974), отношение шансов $ОШ = 5,429$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 2,046–14,400). Для *GG*-генотипа χ^2 с поправкой Йейтса составил 7,648 ($p = 0,006$), критерий $\phi = 0,646$ (сильная сила связи), относительный риск $OR = 2,813$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,107–7,147), отношение шансов $ОШ = 30,000$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 2,580–348,787).

При хроническом периодонтите для *G*-аллеля *Cdx2* (-3731 A>G) гена *VDR* критерий χ^2 с поправкой Йейтса составил 13,073 ($p < 0,001$), критерий $\phi = 0,550$ (относительно сильная сила связи), относительный риск $OR = 2,506$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,425–4,408), отношение шансов $ОШ = 7,778$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 2,708–22,336). Для *GG*-генотипа χ^2 с поправкой Йейтса составил 4,158 ($p = 0,042$), критерий $\phi = 0,348$ (относительно сильная сила связи), относительный риск $OR = 1,754$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,095–2,810), отношение шансов $ОШ = 11,556$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,223–109,190).

При хроническом сложном периодонтите для *G*-аллеля *Cdx2* (-3731 A>G) гена *VDR* критерий χ^2 с поправкой Йейтса составил 4,962 ($p = 0,026$), критерий $\phi = 0,245$ (средняя сила связи), относительный риск $OR = 1,385$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,053–1,820), отношение шансов $ОШ = 3,000$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,223–7,358). Для *GG*-генотипа χ^2 с поправкой Йейтса составил 4,266 ($p = 0,039$), критерий $\phi = 0,514$ (относительно сильная сила связи), относительный риск $OR = 2,031$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,043–3,953), отношение шансов $ОШ = 14,400$ (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,359–152,533).

При сложном агрессивном периодонтите для Т-аллеля TaqI (+61968 T>C) гена VDR критерий χ^2 с поправкой Йейтса составил 6,520 ($p=0,011$), критерий $\phi=0,313$ (средняя сила связи), относительный риск ОР=1,818 (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,095–3,018), отношение шансов ОШ=4,000 (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,477–10,832). Для tt-генотипа χ^2 с поправкой Йейтса составил 6,943 ($p=0,009$), критерий $\phi=0,490$ (относительно сильная сила связи), относительный риск ОР=2,111 (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,216–3,666), отношение шансов ОШ=11,000 (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,952–62,001). Для G-аллеля Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR критерий χ^2 с поправкой Йейтса составил 6,788 ($p=0,010$), критерий $\phi=0,317$ (средняя сила связи), относительный риск ОР=1,670 (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,135–2,458), отношение шансов ОШ=3,882 (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,489–10,124). Для GG-генотипа χ^2 с поправкой Йейтса составил 5,469 ($p=0,020$), критерий $\phi=0,612$ (сильная сила связи), относительный риск ОР=2,750 (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,075–7,037), отношение шансов ОШ=22,000 (нижняя – верхняя границы 95% ДИ 1,261–1,857).

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных молекулярно-генетических исследований по определению полиморфизмов Sp1 (G1546T) гена COL1A1, TaqI (+61968 T>C) гена VDR и Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR установлено, что различные нозологические формы воспалительных заболеваний периодонта характеризуются разнообразием полиморфных вариантов указанных генов.

В ходе исследования выявлена тенденция увеличения риска формирования хронического гингивита в 1,56 раза при выявлении в биологическом материале пациента Т-аллеля TaqI (+61968 T>C) гена VDR; в 2,29 раза – при выявлении tt-генотипа TaqI (+61968 T>C) гена VDR. При выявлении G-аллеля Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR тенденция риска развития данного заболевания увеличивается в 1,92 раза, при выявлении GG-генотипа – в 2,81 раза.

Риск развития хронического периодонтита связан с наличием у пациента G-аллеля (риск увеличивается в 2,51 раза) и GG-генотипа (риск увеличивается в 1,75 раза) Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR.

Риск развития хронического сложного периодонтита возрастает в 1,39 раза при выявлении в биологическом материале пациента G-аллеля Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR и в 2,03 раза при выявлении GG-генотипа Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR.

Выявление в содержимом зубодесневого кармана Т-аллеля TaqI (+61968 T>C) гена VDR увеличивает риск развития у пациента сложного агрессивного периодонтита в 1,82 раза, tt-генотипа TaqI (+61968 T>C) гена VDR – в 2,11 раза; выявление G-аллеля Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR – в 1,67 раза, GG-генотипа Cdx2 (-3731 A>G) гена VDR – в 2,75 раза.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Arutyunov S.D., Pleskanovskaya N.V., Naumov A.V. Periodontal disease and "systemic diseases": the known past. promising future. *Parodontologiya*. 2009;1:3–6. (in Russian)
2. Atrushkevich V.G. Osteoporosis and periodontitis. *Periodontitis: monograph*. Moscow: MedPress. 2004:350–355. (in Russian)
3. Udovitskaya E.V. *Endocrinological aspects of dentistry*. Moscow: Meditsina. 1975; 192 p. (in Russian)
4. Povoroznyuk V.V., Mazur I.P. Osteoporosis and periodontal diseases. *Zdorov'ye Ukrainy*. 2003;7:3–7. (in Russian)



5. Dytfeld J., Marcinkowska M., Drwęska-Matelska N. Association analysis of the COL1A1 polymorphism with bone mineral density and prevalent fractures in Polish postmenopausal women with osteoporosis. *Arch. Med. Sci.* 2016;12(2):288–294. doi: 10.5114/aoms.2016.59253
6. Berg J.P., Lehmann E.H., Stakkestad J.A. The Sp1 binding site polymorphism in the collagen type I alpha 1 (COL1A1) gene is not associated with bone mineral density in healthy children, adolescents, and young adults. *Eur J Endocrinol.* 2000;143:261–265. doi: 10.1530/eje.0.1430261
7. Khusainova R.I., Selezneva L.I., Valiev R.R. Study of the molecular genetic basis for the development of postmenopausal osteoporosis in the Volga-Ural region. *Meditsinskaya genetika.* 2009;5:12–19. (in Russian)
8. Dehghan M., Pourahmad-Jaktaji R. Sp1 binding site polymorphism of a collagen gene (rs 1800012) in women aged 45 and over and its association with bone density. *Turk. J. Med. Sci.* 2015;45(3):644–650. doi: 10.3906/sag-1405-80
9. Gabrusskaya T.V., Kostik M.M., Nasykhova Yu.A. Influence of TaqI-genetic polymorphism of the vitamin D receptor gene on the state of bone metabolism in children with inflammatory bowel diseases. *Pediatrics.* 2017;3(8):111–119. doi: <https://doi.org/10.17816/PED83111-119>. (in Russian)
10. Xue L.N., Xu K.Q., Zhang W. Associations between vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to ulcerative colitis and crohn's disease: a meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis.* 2013;19(1):54–60. doi: 10.1002/ibd.22966
11. Holick M.F., Binkley N.C., Bischoff-Ferrari H.A. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(7):1911–1930. doi: 10.1210/jc.2011-0385
12. Uitterlinden A.G., Fang Y., Van Meurs J.B. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms: Review. *Gene.* 2004;338:143–156. doi: 10.1016/j.gene.2004.05.014
13. Abrams S.A., Griffin I.J., Hawthorne K.M. Vitamin D receptor FokI polymorphisms affect calcium absorption, kinetics, and bone mineralization rates during puberty. *J Bone Miner Res.* 2005;20:945–953. doi: 10.1359/JBMR.050114
14. Seyhan S., Yavascaoglu I., Kilicarslan H. Association of vitamin D receptor gene Taq I polymorphism with recurrent urolithiasis in children. *Int J Urol.* 2007;14:1060–1062. doi: 10.1111/j.1442-2042.2007.01899.x
15. Jakubowska-Pietkiewicz E., Młynarski W., Klich I. Vitamin D receptor gene variability as a factor influencing bone mineral density in pediatric patients. *Mol Biol Rep.* 2012;16. doi: 10.1007/s11033-012-1444-z
16. van der Sluis I.M., de Muinck Keizer-Schrama S.M., Krenning E.P. Vitamin D receptor gene polymorphism predicts height and bone size, rather than bone density in children and young adults. *Calcif Tissue Int.* 2003;73:332–338. doi: 10.1007/s00223-002-2130-2
17. Cusack S., Molgaard C., Michaelsen K.F. Vitamin D and estrogen receptor- α genotype and indices of bone mass and bone turnover in Danish girls. *J Bone Miner Metab.* 2006;24:329–336. doi: 10.1007/s00774-006-0691-2
18. Macgregor S., Hottenga J.J., Lind P.A. Vitamin D receptor gene polymorphisms have negligible effect on human height. *Twin Res Hum Gen.* 2008;11:488–494. doi: 10.1375/twin.11.5.488
19. Palshina A.M., Palshina S.G., Safonova S.L. Note to the clinician: a modern view on vitamin D metabolism and vitamin D receptor gene polymorphism. *Vestnik Severo-Vostochnogo federal'nogo universiteta im. M.K. Ammosova. Seriya: Meditsinskiye nauki.* 2018;3(12):34–42. doi: 10.25587/SVFU.2018.3(13).18855. (in Russian)
20. Zhang L., Yin X., Wang J. Associations between VDR Gene Polymorphisms and Osteoporosis Risk and Bone Mineral Density in Postmenopausal Women: A systematic review and Meta-Analysis. *Sci Rep.* 2018;8(1):981. doi: 10.1038/s41598-017-18670-7