

ПОЛИМОРФИЗМ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ПРИ РАЗЛИЧНОЙ ТЯЖЕСТИ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА

Власова Т.И.¹, Кондюрова Е.В.¹, Акимов В.В.¹, Ташина Е.А.¹, Ал-Кубаиси И.С.¹, Федоськина А.С.¹

¹ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», Саранск, e-mail: vap.61@yandex.ru

Ретроспективно обследованы 76 пациентов с хроническим пародонтитом различной степени тяжести. Разделены на группы: первая (n=38) – среднетяжелая степень и вторая (n=38) – тяжелая степень. Для оценки тяжести пациентов использованы балльная классификация Энтина и Миллера и индекс Грин-Вермильона. Коагуляционно-литический гемостаз крови определен по показателям тромбоэластографии (TEG® 5000 Thrombelastograph®, США). Молекулярно-генетический тест полиморфизмов генов системы гемостаза (интегрин бета-3 (T1565C, ITGB3), интегрин альфа-2 (C807T, ITGA2) и фибриногена (G(-455)A, FGB) проведен с помощью метода полимеразной цепной реакции в реальном времени (Real-Time PCR Detection System, США). Установлено, что хронический пародонтит сопровождается большими расстройствами в системе гемостаза в виде увеличения скорости свертывания крови и снижения фибринолитического процесса, что подтверждается по данным тромбоэластографии. Одновременно результаты сравнительного анализа продемонстрировали, что выраженность гемостатических нарушений у пациентов тяжелой степени заболевания была более выраженной, чем группы сравнения на всех исследуемых этапах (до 6 суток) на 18,1–16,9% (p<0,05) (показатель R) и 31,4–47,6% (p<0,05) (показатель CI). При хроническом пародонтите полиморфизмы генов системы гемостаза (интегрин бета-3 (T1565C, ITGB3), интегрин альфа-2 (C807T, ITGA2) и фибриногена (G(-455)A, FGB) достоверно выше, чем в норме. Наличие данных мутаций в генотипе определяет снижение адапционных резервов, а также предрасположенность к гиперкоагулемии и угнетению фибринолиза вследствие дефектов рецепторов-интегринов тромбоцитов и фибриногена. Особенно выраженными указанные патологические явления оказываются у пациентов с тяжелой формой заболевания.

Ключевые слова: пародонтит, липопероокисление, гемостаз, ген, полиморфизм, T1565C, C807T, G(-455)A.

POLYMORPHISM OF SOME GENES OF THE HEMOSTATIC SYSTEM IN DIFFERENT SEVERITY OF CHRONIC PERIODONTITIS

Vlasova T.I.¹, Kondyurova E.V.¹, Akimov V.V.¹, Troshina E.A.¹, Al-Kubaisi I.S.¹, Fedoskina A.S.¹

¹National Research Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russia, e-mail: vap.61@yandex.ru

76 patients with chronic periodontitis of varying severity were retrospectively examined. They were divided into groups: the first (n=38) – moderate and the second (n=38) – severe. To assess the severity of patients, the Entin and Miller scores and the Green-Vermilion index were used. Coagulation-lytic hemostasis of blood was determined by thromboelastography (TEG® 5000 Thrombelastograph®, USA). It was found that chronic periodontitis is accompanied by major disorders in the hemostatic system in the form of an increase in the rate of blood clotting and a decrease in the fibrinolytic process, which is confirmed by thromboelastography. At the same time, the results of the comparative analysis showed that the severity of hemostatic disorders in patients with severe disease was more pronounced than the comparison groups at all the studied stages (up to 6 days) by 18.1–16.9% (p<0.05) (indicator R) and 31.4–47.6% (p<0.05) (indicator CI). In chronic periodontitis, polymorphisms of the hemostatic system genes (integrin beta-3 (T1565C, ITGB3), integrin alpha-2 (C807T, ITGA2) and fibrinogen (G(-455)A, FGB) is significantly higher than normal. The presence of these mutations in the genotype determines a decrease in adaptive reserves, as well as a predisposition to hypercoagulemia and inhibition of fibrinolysis due to defects in platelet integrin receptors and fibrinogen. These pathological phenomena are especially pronounced in patients with a severe form of the disease.

Keywords: periodontitis, lipid peroxidation, hemostasis, gene, T1565C, C807T, G(-455)A.

В последние десятилетия в стоматологической практике отмечается неуклонный рост заболеваемости пародонтитом (81–90%) как в России, так и во всем мире [1; 2].

Пародонтит – это мультифакториальная воспалительная патология тканей пародонта, которая развивается при активации пародонтопатогенов и/или нарушении локальной иммунологической реактивности и сопровождается комплексом патологических изменений [3; 4]. При этом особое внимание уделяется свободнорадикальному процессу перекисного окисления липидов и истощению антиоксидантного потенциала, которые вызывают активацию свободнорадикальных реакций, развитие нарушения клеточного метаболизма, микроциркуляторных и гемостатического расстройства, снижение барьерной функции, что приводит к деструкции нормального строения альвеолярного отростка челюстей и его замещения ригидной грубой тканью [5; 6].

В последние годы разные авторы отмечают немаловажное значение полиморфных маркеров генов липопереокисления и системы гемостаза крови (эндотелиальная синтаза оксида азота (NOS3)), интегрин альфа-2 (C807T, ITGA2) и фибриногена (G(-455)A, FGB)) в патогенезе пародонтита [7; 8]. Эти исследования подтверждают генетическую роль персональной конституции в предрасположенности к прогрессированию течения заболевания и развития осложнений, с одной стороны, и определению эффективности используемой терапии – с другой [9; 10].

Цель исследования: оценить роль полиморфизма некоторых генов системы гемостаза (интегрин бета-3 (*T1565C*, *ITGB3*), интегрин альфа-2 (*C807T*, *ITGA2*) и фибриногена (*G(-455)A*, *FGB*)) у пациентов с хроническим пародонтитом различной степени тяжести.

Материалы и методы исследования

Клиническое исследование было проведено на базе пародонтологического отделения «Клиника» (г. Саранск, Россия).

В ретроспективной работе обследованы 76 стоматологических пациентов хроническим пародонтитом (ХПД) различной степени тяжести. Диагноз было верифицирован при госпитализации больных в клинику на клиническом, биохимическом и инструментальном основании.

Пациенты были разделены на две группы: первая (n=38) – пациенты со среднетяжелой степенью хронического пародонтита, их возраст составил $51,3 \pm 5,2$ года, мужчин было 16 (37,1%), женщин – 22 (62,9%), вторая (n=38) – пациентов с ХП тяжелой степени, возраст составил $51,2 \pm 5,3$ года, мужчин было 18 (47,3%), женщин – 20 (52,7%).

Обследованы 30 добровольцев обоих полов в возрасте $48,4 \pm 3,2$ года для проведения сравнительного анализа гомеостатических показателей с референтными (условно-нормальными) значениями.

Включающие критерии пациентов в исследование: письменное добровольное согласие; среднетяжелая и тяжелая степень тяжести больных, возраст от 34 до 62 лет; доброкачественные причины патологии.

Исключающие критерии: персональный отказ от участия, легкая степень тяжести, возраст больных старше 62 лет и моложе 34 лет; пародонтит опухолевого генеза; наличие тяжелой сопутствующей патологии; психические расстройства; оперативное вмешательство; беременность и лактация.

Оценка тяжести пациентов с хроническим пародонтитом проведена с помощью балльной классификации Энтина и Миллера и индекса Грин-Вермильона (ОHI-S). Количество полученных баллов в первой группе составило $2,41 \pm 0,03$, во второй – $3,5 \pm 0,24$, что определяется как среднетяжелая и тяжелая степени болезни [11; 12].

Причинами хронического пародонтита являлись кариес, зубная травма, бруксизм, неправильный прикус, которые в первой группе составили 14 (36,9%), 10 (26,3%), 8 (21,0%) и 6 (15,8%) соответственно, а во второй – 14 (36,9%), 9 (23,7%), 8 (21,0%), 7 (18,4%) соответственно.

Всем пациентам назначена стандартная терапия, в состав которой входили следующие компоненты: антисептический, антибактериальный, противовоспалительный и физиотерапевтический (электрофорез, дарсонвализация и др.).

Периодом исследования являлись 1, 3 и 6-е сутки госпитализации.

Использованы следующие методы.

Оценка коагуляционно-литического потенциала системы крови проведена по биохимическим показателям с помощью тромбоэластографии (TEG® 5000 Thrombelastograph®, США).

Генетическая диагностика исполнена в научной лаборатории кафедры генетики МГУ Н.П. Огарева. Материалом являлись образцы ДНК, полученные из венозной крови пациентов. Генотипирование полиморфных вариантов исследуемых генов определено при помощи полимеразной цепной реакции методом Real-time ПЦР.

Полученные результаты исследования статистически обработаны с применением критерия χ^2 Пирсона и Фишера и расчета величины отношения шансов (OR, 95%) доверительным интервалом (95%, DI) по программе Statistica 13.3 Trial.

Результаты исследования и их обсуждение

При изучении состояния системы гемостаза у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом регистрирована активизация свертываемости крови (укорочение времени реактивного периода – R) и снижение фибринолитического процесса (удлинение срока растворения тромбов – CI).

У пациентов со среднетяжелой степенью болезни на фоне традиционной терапии эти изменения сохранились лишь в первые 3 суток: укорочение времени было на 18,4 и 14,0 и 84,2 и 52,6% ($p < 0,05$) соответственно, а с тяжелой – в первые 6 суток: укорочение было на 33,2–28,6 и 142,1–67,6% ($p < 0,05$) соответственно (рис. 1 и 2).

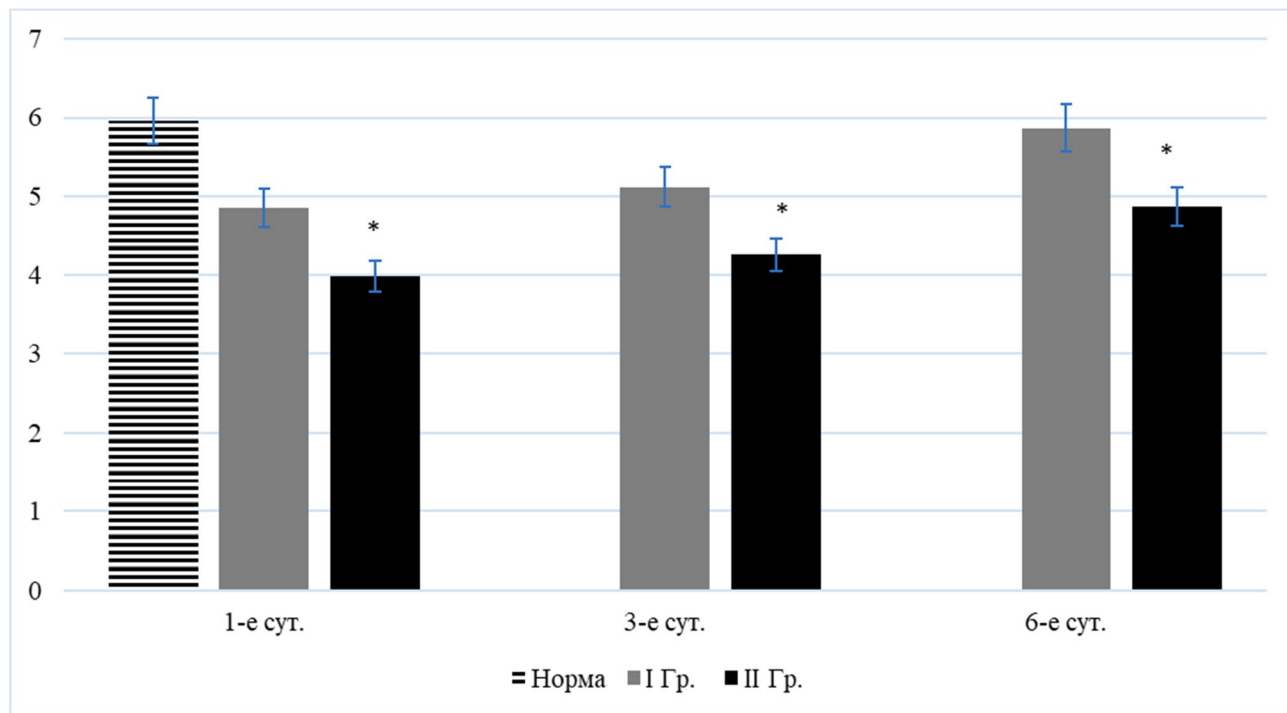


Рис. 1. Динамика показателя системы гемостаза R у пациентов первой и второй группы.

* – Достоверность отличия по сравнению с первой группой при $p < 0,05$

Одновременно результаты сравнительного анализа продемонстрировали, что выраженность гемостатических нарушений у пациентов второй группы была более сильной, чем группы сравнения на всех исследуемых этапах (до 6 суток) на 18,1–16,9% ($p < 0,05$) (показатель R) и 31,4–47,6% ($p < 0,05$) (показатель CI) (рис. 1 и 2).

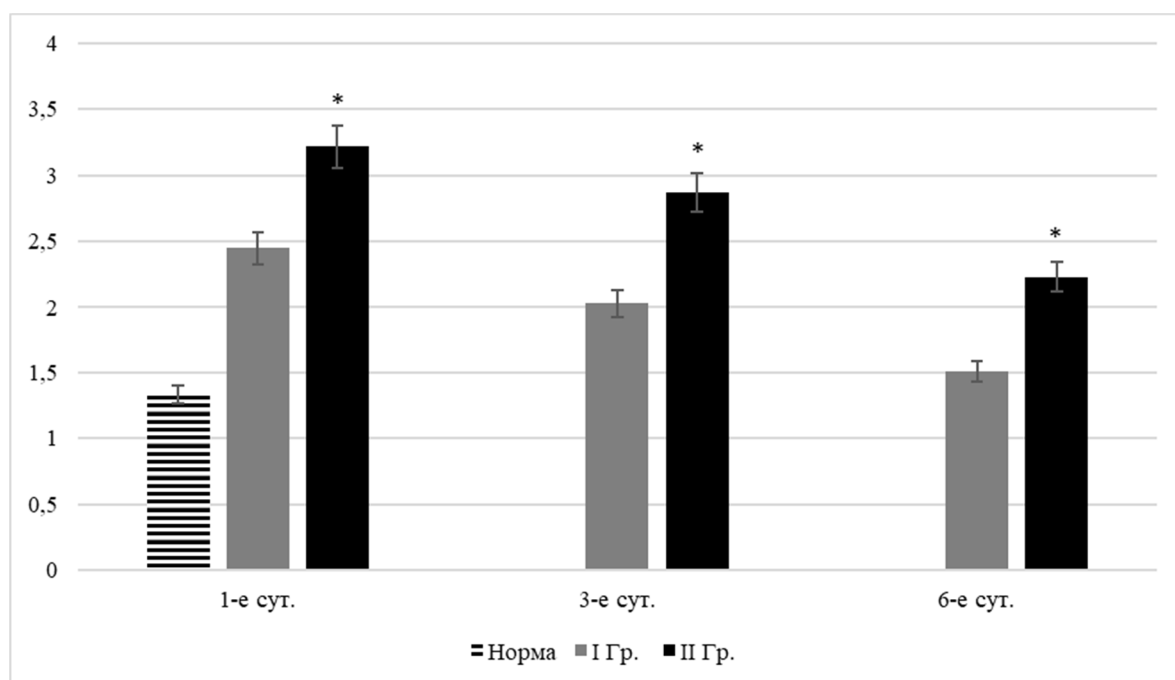


Рис. 2. Динамика показателя системы гемостаза CI у пациентов первой и второй группы.

* – Достоверность отличия по сравнению с первой группой при $p < 0,05$

Следующей задачей работы представилось выявление кинической и патогенетической роли полиморфизмов генов систем свертывания крови (интегрин бета-3 (*T1565C*, *ITGB3*), интегрин альфа-2 (*C807T*, *ITGA2*) и фибриногена (*G(-455)A*, *FGB*)) при хроническом пародонтите, и их сопряженность как с гемостатическими нарушениями, так и со степенью тяжести пациентов (табл. 1).

Результатами исследования установлено, что молекулярно-генетические изменчивости генов системы гемостаза (интегрин бета-3 (*T1565C*, *ITGB3*), интегрин альфа-2 (*C807T*, *ITGA2*), фибриногена (*G(-455)A*, *FGB*)) играют важную роль и в патогенезе хронического пародонтита и выраженности патологического процесса (табл. 1-3).

Таблица 1

Распределение частоты генетического полиморфизма ген *ITGB3* (*T1565C*) системы гемостаза при хроническом пародонтите

Группа	Генотип и его частота (n,%)			Аллель и его частота (n,%)	
	<i>T/T</i>	<i>T/C</i>	<i>C/C</i>	<i>T</i>	<i>C</i>
<i>ITGB3</i> (<i>T1565C</i>)					
Норма	30 (75,0)	7 (17,5)	3 (7,5)	33,5 (83,8)	6,5 (16,2)
I	13 (40,6)	12 (37,5)	7 (21,9)	19 (59,4)	13 (40,6)
II	5 (23,8)	7 (33,3)	9 (42,9)	8,5 (40,5)	12,5 (59,5)

Так, полиморфные генотипы генов системы гемостаза крови при среднетяжелом пародонтите (I группа) регистрировались следующим образом: генотипы (*T1565T*, *T1565C*, *C1565C*) гена *ITGB3* составили 40,6, 37,5 и 21,9% ($\chi^2=5,92$, $p=0,01$ и $OR=3,75$ (1,25–11,1)), гена *ITGA2* (*C807C*, *C807T*, *T807T*) – 53,1, 31,3 и 15,6% ($\chi^2=4,54$, $p=0,03$ и $OR=3,3$ (1,07–10,1)) и гена *FGB* (*G(-455)G*, *G(-455)A*, *A(-455)A*) – 56,4, 21,8 и 21,8 ($\chi^2=5,03$, $p=0,02$ и $OR=3,74$ (1,13–12,3)) соответственно (табл. 1-3).

Таблица 2

Распределение частоты генетического полиморфизма гена *ITGA2* (*C807T*) системы гемостаза при хроническом пародонтите

Группа	Генотип и его частота (n,%)			Аллель и его частота (n,%)	
	<i>T/T</i>	<i>T/C</i>	<i>C/C</i>	<i>T</i>	<i>C</i>
<i>ITGA2</i> (<i>C807T</i>)					
	<i>C/C</i>	<i>C/T</i>	<i>T/T</i>	<i>C</i>	<i>T</i>
Норма	33 (82,5)	6 (15,0)	1 (2,5)	36 (95,0)	2 (5,0)
I	17 (53,1)	10 (31,3)	5 (15,6)	22 (68,8)	10 (31,2)
II	5 (23,8)	9 (42,9)	7 (33,3)	9,5 (45,2)	11,5 (54,8)

При изучении частоты распространения полиморфизмов свертывающей системы крови в условиях тяжелой формы установлено, что генотипы гена интегрин бета-3 тромбоцитов (*T1565T*, *T1565C* и *C1565C*) составили 23,8, 33,3 и 42,9% при $\chi^2=10,9$, $p=0,01$, $OR=6,9$ (2,08–23,2), генотипы (*C807C*, *C807T* и *T807T*) гена интегрин альфа-2 тромбоцитов – 23,8, 42,9 и 33,3% ($\chi^2=18,3$, $p=0,01$ и $OR=11,6$ (3,48–39,1)), и гена фибриногена (*G(-455)G*, *G(-455)A* и *A(-455)A*) – 19,1, 47,6 и 33,3 ($\chi^2=18,0$, $p=0,01$ и $OR=12,0$ (3,4–41,9)) (табл. 1-3).

Таблица 3

Распределение частоты генетического полиморфизма гена *FGB* (*G(-455)A*) системы гемостаза при хроническом пародонтите

Группа	Генотип и его частота (n,%)			Аллель и его частота (n,%)	
	<i>T/T</i>	<i>T/C</i>	<i>C/C</i>	<i>T</i>	<i>C</i>
<i>FGB</i> (<i>G(-455)A</i>)					
	<i>G/G</i>	<i>G/A</i>	<i>A/A</i>	<i>G</i>	<i>A</i>
Норма	34 (85,0)	6 (15,0)	-	37 (92,5)	3 (7,5)
I	18 (56,4)	7 (21,8)	7 (21,8)	27,5 (68,8)	12,5 (31,2)
II	4 (19,1)	10 (47,6)	7 (33,3)	9 (42,9)	12 (57,1)

Для оценки статистической значимости распределения патологических аллелей в группах пациентов с хроническим пародонтитом средней степени тяжести и тяжелой, а также здоровых добровольцев проводили расчет критерия χ^2 .

При анализе встречаемости патологического аллеля *C* гена *ITGB3* было установлено, что в группе пациентов второй группы патологический аллель встречается достоверно чаще ($\chi^2=5,94$, $p=0,015$) (рис. 3).

В первой группе вероятность наличия патологического аллеля статистически достоверно не отличается от таковой в группе здоровых добровольцев.

Патологический аллель *T* гена *ITGA2* тромбоцитов при хроническом пародонтите встречается достоверно чаще, причем как при среднетяжелой ($\chi^2=6,22$, $p=0,013$), так и при тяжелой форме ($\chi^2=10,99$, $p<0,001$) (рис. 3).

Оценка частоты встречаемости патологического аллеля *A* гена фибриногена (*FGB*) показала, что при хроническом пародонтите данный аллель достоверно больше распространен: в первой группе $\chi^2=6,28$, $p=0,013$, во второй группе – $\chi^2=10,18$, $p=0,002$ (рис. 3).

Таким образом, полученные результаты молекулярного, генетического и биохимического тестов при хроническом пародонтите позволяют заключить, что полиморфизмы генов системы гемостаза (интегрин бета-3 (*T1565C*, *ITGB3*), интегрин альфа-2 (*C807T*, *ITGA2*) и фибриногена (*G(-455)A*, *FGB*) достоверно выше, чем в норме. Наличие данных мутаций в генотипе определяет снижение адаптационных резервов, а также предрасположенность к гиперкоагулемии и угнетению фибринолиза вследствие дефектов рецепторов-интегринов тромбоцитов и фибриногена.

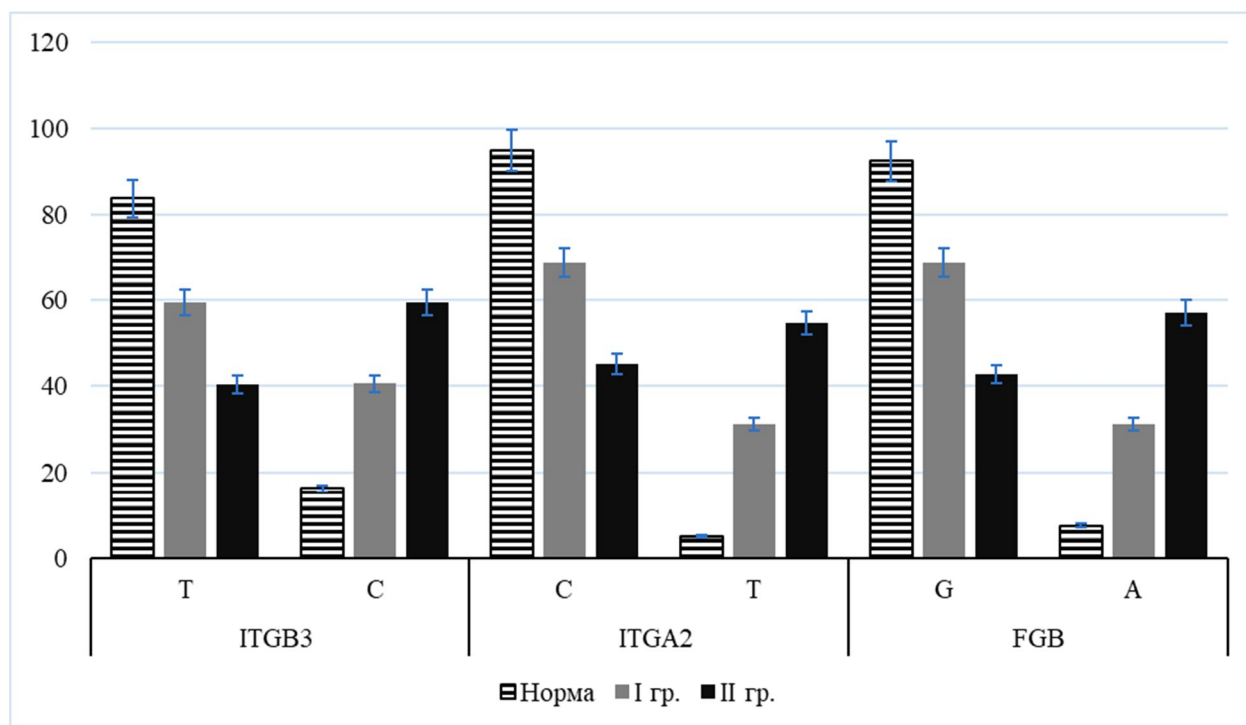


Рис. 3. Распределение частоты генетических аллелей генов системы гемостаза при хроническом пародонтите

Выводы

1. У пациентов с хроническим пародонтитом по мере утяжеления патологии возникают большие расстройства в системе гемостаза, что подтверждается по данным тромбоэластографии.
2. При хроническом пародонтите полиморфизмы генов системы гемостаза (интегрин бета-3 (*T1565C*, *ITGB3*), интегрин альфа-2 (*C807T*, *ITGA2*) и фибриногена (*G(-455)A*, *FGB*) достоверно выше, чем в норме, особенно при тяжелой форме.

Список литературы

1. Даренская М.А., Гребенкина Л.А., Мокренко Е.В., Сусликова М.И., Губина М.И., Гончаров И.С., Мокренко М.Е., Колесникова Л.И., Колесников С.И. Коррекция метаболических нарушений при воспалительных заболеваниях пародонта у крыс с помощью иммуномодулятора // Современные проблемы науки и образования. 2019. № 2. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=28742> (дата обращения: 05.09.2020).
2. Масляков В.В., Ерокина Н.Л., Ильюхин А.В., Низовцева С.А. Состояние иммунитета при хроническом генерализованном пародонтите // Вестник медицинского института "РЕАВИЗ": реабилитация, врач и здоровье. 2019. № 2(38). С. 105-109.
3. Орлова Е.С. Характеристика основных стоматологических индексов у пациентов с хроническим пародонтитом // Медицинская наука и образование Урала. 2019. Т. 20. № 1 (97). С. 62-65.
4. Петрухина Н.Б., Зорина О.А., Абаев З.М., Картышева Е.В., Салтовец М.В. Влияние гендерных, возрастных и метаболических факторов на течение хронического генерализованного пародонтита у пациентов с метаболическим синдромом // Стоматология. 2019. Т. 98. № 2. С. 31-36.
5. Петрухина Н.Б., Зорина О.А., Ших Е.В., Картышева Е.В., Кудрявцев А.В. Прогностическая модель для оценки хронического генерализованного пародонтита у пациентов с метаболическим синдромом // Вестник Российского государственного медицинского университета. 2019. № 2. С. 48-52.
6. Пуризахидан С.В., Гурбанов Р.Я., Алиева Г.Г. Лечение пародонтита комбинацией антибактериальных средств // Современная стоматология. 2019. № 1(95). С. 38.
7. Саркисов А.К., Зеленский В.А., Полунина Е.А., Саркисов К.А. Прогнозирование прогрессирования хронического генерализованного пародонтита у пациентов с

бронхоэктатической болезнью // Кубанский научный медицинский вестник. 2020. № 27(1). С. 72-84.

8. Тамарова Э.Р., Швец К.Ю., Мавзютов А.Р., Баймиев Ал.Х., Булгакова А.И. Создание молекулярно-генетической тест-системы для ранней диагностики и оценки эффективности лечения воспалительных заболеваний пародонта // Клиническая лабораторная диагностика. 2020. Т. 65. № 1. С. 55-60.

9. Степанова А.И., Нагаева М.О., Дзюба Е.В. Динамика качества жизни больных хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести на фоне традиционного лечения // Проблемы стоматологии. 2019. Т. 15. № 2. С. 32-36.

10. Мамедов Р.М., Садыгова Н.Н., Ибрагимова Л.К. Оптимизация методов профилактики и лечения воспалительных заболеваний пародонта // Проблемы стоматологии. 2019. Т. 15. № 2. С. 114-121.

11. Ibragimova M.Kh. Features diagnostics of periodontal diseases in patients with chronic cholecystitis. European research: innovation in science, education and technology xlix international correspondence scientific and practical conference. 2019. P. 75-77.

12. Pechkovska I., Nesin O., Pechkovsky K., Viderska A., Timokhina T. The use of Tantum Verde® at the stages of complex treatment of patients with generalized periodontitis // Современная стоматология. 2019. № 1(95). С. 26.