УДК: 616.034 - 002

Доржиева Н.Э., Витковский Ю.А., Судакова Л.Р. , Дагбаева О.Ф.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА IL-10 (C819T) У БОЛЬНЫХ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА В ЗАБАЙКАЛЬСКОМ КРАЕ

ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия, г.Чита

Представлены результаты исследования полиморфизма IL-10 (C819T) у больных воспалительными заболеваниями пародонта русской и бурятской национальностей в Забайкальском крае. Выявлено, что частота аномальной аллели выше среди больных, чем здоровых в бурятской этнической группе. Установлена ассоциативная связь между наличием мутантной аллели IL-10 и заболеваниями пародонта у резидентов обеих наций.
Ключевые слова: *полиморфизм, воспалительные заболевания пародонта, интерлейкин, аллель.*

Dorzhieva N.E., Vitkovsky Yu.A., Sudakova L.R., Dagbayeva O.F.

IL-10 (C819T) GENE PLYMORPHISM IN PATIENTS WITH INFLAMATORY PERIODONTAL DISEASES IN ZABAIKALSKY KRAI

The results of IL-10 polymorphism research in patients with inflammatory periodontal diseases of Russian and Buryat population in Zabaikalsky krai are presented. Frequency of abnormal allele was revealed to be higher in patients in comparison with healthy subjects of Buryat population. The association between mutant allele IL-10 and periodontal diseases in residents of both populations was established.
Key words: *polymorphism, inflammatory periodontal diseases, allele, interleukin*

Введение. Воспалительные заболевания пародонта (ВЗП) представляют серьезную медико-социальную проблему. По данным эпидемиологических исследований Всемирной организации здравоохранения, собранных в 35 странах у лиц в возрасте 31-44 лет, в 7 странах отмечена очень высокая (свыше 75%), в 13 странах - высокая (40-75%) и в 15 странах - умеренная (менее 40%) распространенность данных заболеваний [2]. Они сопровождаются деструкцией тканей пародонта и в итоге ведут к потере зубов. Основное внимание в патогенезе ВЗП уделяется пародонтопатогенным бактериям и факторам окружающей среды (таким как курение, стресс и др.), однако роль генетических факторов очевидна [7, 8, 12]. Генетические полиморфизмы в некоторых ситуациях могут вызвать изменения в белке или его экспрессии, что может приводить к нарушениям как во врожденном, так и в приобретенном иммунитете [8]. Наиболее изученными при ВЗП являются полиморфизмы некоторых цитокинов, таких как интерлейкин-1 (IL-1), IL-4, IL-10, TNF□ [5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12]. Важно понимать, что количество и типы генов, изменяющие болезнь при одних и тех же заболеваниях, могут быть не одинаковыми в различных этнических популяциях [8].

IL-10 - противовоспалительный цитокин, снижающий провоспалительную ответную реакцию. Известно, что при наличии генетически обусловленных нарушений в иммунной системе человека происходит избыточный синтез провоспалительных интерлейкинов, который приводит к быстрому развитию воспалительного процесса в мягких и костных тканях пародонта даже при отсутствии в очаге воспаления пародонтопатогенов [7, 8]. Полиморфизмы генов, в том числе IL-10 могут играть определенную роль в развитии восприимчивости к ВЗП, степени тяжести и клинических исходах заболевания [8]. Установлена большая вариабельность встречаемости гена IL-10 в локусе C819T в различных популяциях при ВЗП [8, 13, 14, 15]. Ассоциативная связь между ВЗП и полиморфизмом IL-10 выяв-

ляется лишь в единичных исследованиях [14].

На сегодняшний день отсутствуют достоверные маркеры как для оценки предрасположенности человека к развитию ВЗП, так и для определения прогноза заболевания. Это затрудняет раннюю диагностику заболеваний, и как следствие, эффективную своевременную терапию. Данные обстоятельства объясняют повышенный интерес к изучению генетических факторов риска к развитию ВЗП, в том числе полиморфизма IL-10 (C819T).

Целью исследования явилось изучение частоты встречаемости аллельных вариантов IL-10 (C819T) и оценка ассоциативной связи между ПФ IL-10 и ВЗП у резидентов русской и бурятской национальностей в Забайкальском крае.

Материалы и методы. Методом сплошной выборки обследовано 188 пациентов с ВЗП (127 женщин, 61 мужчин), обратившихся на прием к терапевту-стоматологу и проживающих на территории Забайкальского края . Исследования проведены на базе стоматологической клиники Читинской государственной медицинской академии и стоматологического кабинета "Денталь" пос. Агинское в период с 2008 по 2010 год. Диагнозы хронического генерализованного пародонтита, хронического генерализованного катарального гингивита сформулированы на основании жалоб, анамнеза заболевания, данных основных и дополнительных методов обследования, в том числе рентгенологического исследования [1]. Возраст больных колебался от 18 до 74 лет, в среднем составил 39±16 лет.

Все больные разделены на две этнические группы: 1 группа - 100 пациентов (67 женщин, 33 мужчины) с ВЗП русской национальности (45±15 лет), 2 группа - 88 пациентов (60 женщин, 28 мужчин) с ВЗП бурятской национальности (32±15 лет).

В качестве контрольной группы обследовано 188 человек (125 женщин, 63 мужчины) в возрасте от 18 до 33 лет (20±4 лет) - 100 русских и 88 бурятов, не имеющих на момент исследования острых и хронических заболеваний пародонта и считающих себя относительно здоровыми.

Для молекулярно-генетического исследования выбрана точковая мутация IL-10 в позиции 819 (C>T). ДНК выделяли из буккального эпителия. Амплификацию проводили в термоцикле модель 110 (ООО "Биоком", Москва). В работе использовались стандартные наборы праймеров НПФ "Литех"-"SNP-экспресс". Визуализация продуктов амплификации выполнена с помощью электрофореза в 2% агарозном геле с добавлением бромистого этидия.

Полученные данные обработаны методом вариационной статистики с помощью программы "BIOSTAT" и электронных таблиц Microsoft Excel, версия XP, с определением статистической значимости различий при $p<0,05$. Для сравнения частот и групп по качественному бинарному признаку применялся критерий $\square^2$ (Пирсона). Для определения частот аллельных вариантов генов применялся закон Харди-Вайнберга. Для измерения силы и направления связи между изучаемыми явлениями использовался коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Вычислялся относительный риск (ОР) заболеваемости и отношение шансов (ОШ) [4].

Результаты и обсуждение. В группе пациентов русской национальности установлена 61 (61%) гомозигота по нормальной аллели (C), 34 (34%) гетерозогот и 5 (5%) гомозигот по аномальной аллели (T). В группе контроля C/C генотип выявлен у 76 (76%) лиц, C/T генотип - у 19 (19%), T/T - у 5 (5%) человек. Частота C-аллели IL-10 среди русских больных ВЗП составила 78%, а T-аллели - 22%, в контроле - 85,5% и 15,5% соответственно. В данной группе отсутствует статистически значимая разница в частоте генотипов и аллелей между больными и контрольными.

В группе пациентов бурятской национальности распределение генотипов IL-10 показано в таблице 1. Частота аномальной аллели выше среди больных ВЗП - 61 (35%), чем здоровых - 30 (17%), ($\square^2$ -тест, $p=0,005$)

Таблица 1

Распределение генотипов IL-10 (C819T) среди резидентов бурятской национальности

Генотип	Группа больных ВЗП (n=88)	Группа контроля (n=88)	p
C/C	32(36,36%)*	63(71,59%)	0,014
C/T	51(57,95%)*	20 (22,73%)	0,003
T/T	5(5,68%)	5(5,68%)	0,745

Установлена умеренная ассоциативная связь между наличием аномальной аллели и заболеваниями пародонта (r=0,4, p<0,001, коэффициент ранговой корреляции Спирмена) у лиц русской национальности. Относительный риск (ОР) развития ВЗП в группе русских носителей аномальной аллели в 1,6 раза выше, чем у носителей нормальной аллели. Отношение шансов (ОШ) равно 2.

В бурятской этнической группе относительный риск развития ВЗП среди носителей Т-аллели IL-10 в 2,2 раза выше, чем среди носителей С-аллели. Отношение шансов равно 4,4. У бурятов установлена более значительная ассоциация (r=0,5, p<0,01) между наличием мутантной аллели и ВЗП.

В группе русских резидентов выявлено 38 (38%) курильщиков среди больных ВЗП и 9 (9%) среди здоровых. У бурятов обнаружено 22 (25%) курильщика у пациентов с ВЗП и 13 (15%) - в группе контроля. Распределение аллелей гена IL-10 среди курящих и некурящих резидентов показано в таблице 2.

Таблица 2

Распределение аллельных вариантов гена IL-10 (C819T) среди резидентов русской и бурятской национальностей с учетом фактора курения

Аллель	Русские				Буряты			
	Группа больных ВЗП (n=200)		Группа контроля (n=200)		Группа больных ВЗП (n=176)		Группа контроля (n=176)	
	Курящие (n=76)	Некурящие (n=124)	Курящие (n=18)	Некурящие (n=182)	Курящие (n=44)	Некурящие (n=132)	Курящие (n=26)	Некурящие (n=150)
C	52	106	16	155	18	92	16	10
T	24	18*	2	27	26	40**	10	20***

Примечание *- статистическая значимость различий между показателями курящих и некурящих лиц p=0,034; ** - статистическая значимость различий между аналогичными показателями p=0,041; ***- статистическая значимость различий между аналогичными показателями p=0,027

Таким образом, аномальная аллель встречается чаще среди курящих больных ВЗП обеих национальностей. Вероятно, что сочетание мутации и

На следующем этапе исследования мы оценили гендерные особенности распределения аллельных вариантов гена ИЛ-10. Группу русских больных составили 33 (33%) мужчины и 67 (67%) женщин, контрольную - 29 (29%) и 71 (71%) соответственно. У бурятов в группе пациентов с ВЗП 28 (32%) мужчин и 60 (68%) женщин, в контроле - 34 (39%) и 54 (61%) соответственно. Распределение аллельных вариантов IL-10 в зависимости от пола среди пациентов обеих национальностей показано в таблице 3.

Выявлено, что в группе русских больных нормальная аллель больше встречается у женщин, чем у мужчин (p=0,04), а аномальная - у мужчин (p=0,001). Аллель Т чаще наблюдается у женщин русской национальности в группе контроля (p=0,04).

Установлено, что у бурятских пациентов с ВЗП частота нормальной аллели выше у мужчин (p=0,04), мутантной - у женщин (p=0,005).

Таблица 3

Распределение аллельных вариантов гена IL-10 (C819T) среди резидентов русской и бурятской национальностей с учетом полового признака

Аллель	Русские				Буряты			
	Группа больных ВЗП (n=200)		Группа контроля (n=200)		Группа больных ВЗП (n=176)		Группа контроля (n=176)	
	Курящие (n=66)	Некурящие (n=200)	Курящие (n=58)	Некурящие (n=142)	Курящие (n=56)	Некурящие (n=120)	Курящие (n=68)	Некурящие (n=108)
C	30	106 p=0,04	40	122 p=0,43	46	56 p=0,04	54	92 p=0,85
T	36	28 p=0,001	18	20 p=0,04	10	64 p=0,005	14	16 p=0,53

Примечание: p-статистическая значимость различий между показателями у мужчин и женщин

Мы выявили, что в русской этнической группе аллель T гена IL-10 встречается в 22% у больных ВЗП и 15,5% у здоровых, а в бурятской - в 35% и 17% соответственно. Согласно данным других исследователей частота аномальной аллели IL-10 (C819T) у кавказского населения составляет 26-76% среди пациентов и 32-51% - среди контрольных, у турецкого - 56% и 45% соответственно [13, 14, 15]. Однако корреляционная связь между полиморфизмом IL-10 и ВЗП установлена только в смешанной этнической группе (около 80% кавказцев) бразильской популяции [14]. Полученные нами данные подтверждают возможную ассоциативную связь между генетическим полиморфизмом IL-10 и воспалительными заболеваниями пародонта у резидентов русской и бурятской национальностей Забайкальского края. Выявление генетических маркеров заболевания позволит нам прогнозировать последующее течение ВЗП.

Полиморфизм IL-10 связан с нарушением экспрессии данного цитокина, при этом патологический процесс может носить различный характер [13]. При увеличении выработки IL-10 происходит подавление продукции IFN□Th1-клетками. Кроме того, он тормозит пролиферативный ответ Т-клеток на антигены и митогены, а также подавляет секрецию провоспалительных цитокинов. В то же время IL -10 стимулирует секрецию иммуноглобулинов В-клетками (Th-2 тип реагирования). В своем ингибирующем действии на клеточный иммунитет IL -10 синергичен с IL -4. При этом ослабление провоспалительного иммунного ответа приводит к затяжному течению воспалительного процесса в тканях пародонта [3]. При снижении продукции IL-10 не блокируется продукция провоспалительных цитокинов: IL-1, IL-6, TNFa моноцитами и макрофагами и происходит переключение иммунного ответа на Th1-тип реагирования (клеточный иммунитет). Длительное сохранение повышенного содержания провоспалительных цитокинов в ротовой жидкости способствует пролонгации воспалительно-деструктивных изменений в пародонте, резорбции костной ткани и быстрому прогрессированию процесса [3].

На этом фоне курение выступает модифицирующим фактором, не вызывающим сам процесс, а изменяющим механизм развития заболевания. Он усиливает имунно-воспалительные реакции в тканях пародонта и способствует развитию ВЗП. По данным разных авторов сочетание курения и полиморфизма ИЛ-1 увеличивает восприимчивость к заболеваниям пародонта в некоторых популяциях [9, 10, 11].

Выводы:

1. Частота аномальной аллели выше среди больных ВЗП, чем здоровых в бурятской этнической группе.
2. Существует умеренная ассоциативная связь между наличием мутантной аллели IL-10 и заболеваниями пародонта в обеих этнических группах.

3.Аномальная аллель встречается чаще среди курящих больных ВЗП по сравнению с некурящими русскими и бурятами. Сочетание ПФ IL-10 и курения увеличивает риск развития ВЗП в этих нациях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грудянов А.И. Диагностика в пародонтологии / А.И. Грудянов, А.С. Григорьян, О.А. Фролова // - М.: Медицинское информационное агентство, 2004. - 104 с.
2. Дмитриева Л. А. Роль полиморфизмов гена рецептора кальцитонина (CALCR) и □1-цепи коллагена I типа (COLIA1) в патогенезе хронического генерализованного пародонтита с агрессивным течением / Л.А. Дмитриева, А.В. Поляков // Пародонтология. - 2009. - №2. - С.14-20.
3. Еремин О.В. Клинико-лабораторные тесты в оценке течения и эффективности лечения хронического генерализованного пародонтита у пациентов с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки / О.В. Еремин, Д.В. Каргин, А.В. Лепилин, И.В. Козлова // Вестник ВолГМУ. - 2008. - №4. - С.41-44.
4. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. - М.: МедиаСфера, 2006. - 312 с.
5. Царев В. Н. Аллельный полиморфизм генов ИЛ-1□ и ИЛ-1□ у больных с хроническими воспалительными заболеваниями пародонта / В.Н. Царев, Е.Н. Николаева // Вестник Росс. АМН. - 2007. - №3. - С.43-47.
6. Dashash M. Interleukin-10 haplotype frequencies in children with gingivitis / M. Dashash, D.B. Drucker, A.S. Blinkhorn // J. Periodontol. - 2006. - Vol. 77, №9. - P. 1503-1509.
7. Kornman K.S. Genetic variations in cytokine expression: a risk factor for severity of adult periodontitis / K.S. Kornman, F.S. di Giovine // Ann. Periodontol. - 1998. - Vol. 3, №1. - P. 327-338.
8. Laine M.L. Gene polymorphisms in chronic periodontitis / M.L. Laine, B.G. Loos, and W. Crielaard // International Journal of Dentistry. - 2010. - Vol. 20, №10. - P. 1-22.
9. Li Q.Y. Association analysis between interleukin-1 family polymorphisms and generalized aggressive periodontitis in a Chinese population / Q.Y. Li, H.S. Zhao, H.X. Meng, L. Zhang, L. Xu, Z.B. Chen, D. Shi, X.H. Feng, X.L. Zhu // J. Periodontol. - 2004. - vol. 75(12). - P. 1627-1635
10. Meisel P. Dose-effect relation of smoking and the interleukin-1 gene polymorphism in periodontal disease / P. Meisel, C. Schwahn, D. Gesch, O. Bernhardt, U. John, T. Kocher // J. Periodontol. - 2004. - vol. 75(2). - P. 236-242.
11. Meisel P. Smoking and polymorphisms of the IL-1 gene cluster (IL-1 alpha, IL-1 beta, and IL-1RN) in patients with periodontal disease / P. Meisel, A. Siegemund, S. Dombrowa, H. Sawaf, J. Fanghaenel, T. Kocher // J. Periodontol. - 2002. - vol. 73(1). - P. 27-32.
12. Michalowicz B.S. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis / B.S. Michalowicz, S.R. Diehl, J.C. Gunsolley // J. Periodontol. - 2000. - Vol. 71, №11. - P. 1699-1707.
13. Reichert S. The interleukin-10 promoter haplotype ATA is a putative risk factor for aggressive periodontitis / S. Reichert, H.K. Machulla, J. Klapproth, U. Zimmermann, Y. Reichert, C.N. Glaser, H.G. Schaller, J. Stein, S. Schulz // J. Periodontal Res. - 2008. - Vol. 43, №1. - P. 40-47.
14. Scarel-Caminaga R.M. Interleukin 10 gene promoter polymorphisms are associated with chronic periodontitis / R.M. Scarel-Caminaga, P.C. Trevilatto, A.P. Souza, R.B. Brito, L.E.A. Camargo, and S.R.P. Line // J. Clin. Periodontol. - 2004. - Vol. 31, №6. - P. 443-48.
15. Sumer A.P. Association of interleukin-10 gene polymorphisms with severe generalized chronic periodontitis / A.P. Sumer, N. Kara, G.S. Keles, S. Gunes, H. Koprulu, H. Bagci // J. Periodontol. - 2007. - Vol. 78, №3. - P. 493-497.