*УДК: 616.311.2/.3-002-007.17:616.314.16/.17-008.1]*

**ОЦІНКА ПРОГНОСТИЧНОЇ ЗНАЧИМОСТІ ПОЛІМОРФІЗМІВ ГЕНА ММР 20 (МАТРИКСНА МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗА) В ВИНИКНЕННІ ЕРОЗІЙ ЗУБІВ НА ТЛІ ЗАХВОРЮВАНЬ ТКАНИН ПАРОДОНТА В ОСІБ МОЛОДОГО ВІКУ.**

 **Н.І. Турянська**

**Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика**

**Інститут стоматології**

**кафедра терапевтичної стоматології, м.Київ**

**Резюме:** Особливістю стоматологічного статусу сучасної молоді є висока поширеність ураження карієсом, ерозіями зубів і захворюваннями тканин пародонта. Частота ерозій зубів коливається в межах 6-14%. Згідно з даними літератури відома домінуюча роль генетичних факторів у формуванні фізико-хімічних і морфологічних властивостей емалі зуба, що дозволяє вважати роль спадковості в розвитку карієсу і ерозій зубів суттєвою.

Перспективним по визначенню впливу на захворюваність ерозіями зубів серед молоді є MMP-20, який кодує утворення ферменту - кальцій-залежної протеїнази, впливає на утворення органічного матриксу емалі .

В результаті стоматологічного обстеження 60 студентів у віці 17-20 років, розподілені на групи: I (n = 20) - карієс на тлі гінгівіту; II (n = 21) - ерозії на тлі гінгівіту; III (n = 19) - ерозії на тлі інтактного пародонта.

Для проведення молекулярно-генетичного дослідження в усіх обстежених було взято буккальний епітелій з внутрішньої поверхні щоки з визначенням наявності гена MMP-20 [16]. Для молекулярно-генетичних досліджень гена MMP-20 використана алельспецифічна ПЛР. При проведенні стоматологічного обстеження були використані традиційні об'єктивні клінічні методи обстеження для оприділення наявності ерозій зубів і була проведена їх диференціація за класифікацією Ю.О. Федорова [15].

При проведенні порівняльного аналізу виявлено достовірні відмінності по гену MMP20.

При порівнянні даних III і I груп показані певні відмінності, особливо за генотипом ТТ (χ2 = 3,12, р = 0,077, OR = 0,25 95CI%: 0,07-0,94). Наявність алеля С в гомозиготному стані призводить до підвищеного в 3 рази ризику розвитку ерозій на тлі інтактного пародонта (χ2 = 4,55, р = 0,033, OR = 3,43 95CI%: 1,21-9,69), тоді як аллель Т навпаки проявляє захисну дію (OR = 0,29 95CI%: 0,10-0,82)

Наявність в буккальному епітелії генотипу АА гена ММР20 попереджає розвиток ерозій зубів, а наявність генотипу ТТ гена ММР20 вказує на можливість прогнозування виникнення ерозій зубів у осіб молодого віку і формування на цій основі групи ризику розвитку даної патології твердих тканин зуба.

**Ключові слова**: пацієнт молодого віку (18-25 років), ерозії, генотип, ген, пародонт, ММР-20, поліморфізм.

**Актуальність.** Молодь, в силу ряду причин, характеризується збільшенням загальної захворюваності, в тому числі і стоматологічної. Особливістю стоматологічного статусу сучасної молоді є висока поширеність ураження карієсом, ерозіями зубів і захворюваннями тканин пародонта [1]. Ерозії зубів є найбільш поширеною після карієсу групою захворювань. Якщо раніше ерозії зубів були клінічно виражені переважно у осіб середнього і літнього віку, то в наш час захворювання все частіше зустрічається в молодому віці (17-20 років) на тлі здорових тканин пародонта. Частота ерозій зубів коливається в межах 6-14% [3]. Однак, незважаючи на значущість проблеми, їй приділяється недостатньо уваги [9]. Основною клінічною ознакою даної патології, яка супроводжує захворювання тканин пародонта, є больові відчуття в ділянці шийок зубів під впливом різноманітних подразників (кисла, солодка, солона, холодна або гаряча їжа, холодне повітря, механічні фактори і т. д). Відчуття болю може виникати як в окремих зубах, так і в ділянці групи зубів і навіть охоплювати всі зуби. При цьому інтенсивність болю може варіювати від легкого відчуття дискомфорту до сильних больових відчуттів, що ускладнює чистку зубів, унеможливлює повноцінне харчування, негативно впливає на психоемоційний стан пацієнта, знижує працездатність. Больові відчуття в ділянці шийок зубів домінують в клінічній картині, будучи основною причиною страждання пацієнтів [18].

Згідно з даними літератури відома домінуюча роль генетичних факторів у формуванні фізико-хімічних і морфологічних властивостей емалі зуба, що дозволяє вважати роль спадковості в розвитку карієсу і ерозій зубів суттєвою [19]. Нечисленні дослідження, присвячені молекулярній генетиці карієсу і ерозій зубів, стосувалися вивчення етіологічної ролі поліморфних ділянок генів білків, що беруть участь у формуванні зубної емалі (амелогенез), а також генів ферментів деструкції цих білків в процесі мінералізації тканин [14, 15].

До числа перспективних генетичних маркерів віднесені ММР (матриксні металопротеїнази). Матриксні металопротеїнази - сімейство позаклітинних протеїназ. Свою назву ММPs отримали за здатність специфічно гідролізувати основні білки позаклітинного матриксу; відносяться до сімейства цинкових металопротеїназ, так як містять в активному центрі Zn² [4]. Здатність регулювати широкий спектр біологічних реакцій і порушення балансу активності ММР обумовлюють їх участь в ряді патологічних процесів: запальних, аутоімунних, нейродегенеративних, серцево-судинних, інфекційних і онкологічних захворюваннях [16,2,4,5].

Зміна продукування ММР в різних тканинах виявлено при хворобах Альцгеймера і Паркінсона, розсіяному склерозі, аміотрофічному латеральному склерозі, гострих і хронічних захворюваннях нирок, остеоартриті і остеопорозі, ревматоїдному артриті, атопічному дерматиті, псоріазі, діабетичній нефропатії, хронічному гломерулонефриті, первинній відкритокутовій глаукомі, атеросклерозі і ряді інших захворювань.

Перспективним щодо визначення впливу на захворюваність ерозіями зубів серед молоді є MMP-20, який кодує утворення ферменту - кальцій-залежної протеїнази, впливає на утворення органічного матриксу емалі. Основна роль ММР 20, полягає в руйнуванні органічного матриксу емалі зубів для подальшого його заміщення мінеральними речовинами [6].

Показано, що експресія мРНК ММР-20 залежить від TGFβ1 і його рецептора (TGFBR1), так в ході формування емалі вони починають експресувати практично одночасно, і, крім того, TGFβ1 і активна форма TGFBR1 посилюють експресію MMP-20 [7]. Показана асоціація поліморфізму rs1711437 гена ММР-20 зі старінням нирок [8]. Також певну роль MMP-20 має при ураженнях спинного мозку, що було доведено на експериментальній моделі компресійного пошкодження спинного мозку у щурів [10].

Відповідно вибір даного гена для дослідження виникнення ерозій зубів на тлі захворювань тканин пародонта був доцільним.

**Метою** даного дослідження є оцінити прогностичну значимість поліморфізмів гена ММР 20 у виникненні ерозій зубів у осіб молодого віку і формування на цій основі групи ризику розвитку даної патології твердих тканин зуба.

**Методи.** В результаті стоматологічного обстеження 60 студентів у віці 17-20 років, розподілені на групи: I (n = 20) - карієс на тлі гінгівіту; II (n = 21) - ерозії на тлі гінгівіту; III (n = 19) - ерозії на тлі інтактного пародонта. Для проведення молекулярно-генетичного дослідження в усіх обстежених було взято буккальний епітелій з внутрішньої поверхні щоки з визначенням наявності гена MMP-20 [13].

Для молекулярно-генетичних досліджень гена MMP-20 використана алельспецифічна ПЛР. При проведенні стоматологічного обстеження були використані традиційні об'єктивні клінічні методи обстеження для визначення наявності ерозій зубів і була проведена їх диференціації за класифікацією Ю.О. Федорова [12]. Діагноз ставили на підставі класифікації пародонтальних і пери-імплантних захворювань (Чикаго 2017) [17].

Статистичний аналіз проведено за допомогою додатків Microsoft Office Excel.

**Результат.** При проведенні порівняльного аналізу виявлено достовірні відмінності по гену MMP20.

   При порівнянні даних III і I груп показані певні відмінності, особливо за генотипом ТТ (χ2 = 3,12, р = 0,077, OR = 0,25 95CI%: 0,07-0,94) і алелями (табл.1).

Таблиця 1. Розподіл генотипів за геном MMP20 rs1784423 T / C серед груп дослідження

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Групидослідження | TT | TC | CC | T | C |
| n | % | n | % | n | % | n | % | N | % |
| Група III (n=19) | 6 | 31,58 | 10 | 52,63 | 3 | 15,79 | 22 | 57,89 | 16 | 42,11 |
| Група I (n=20) | 13 | 65,00 | 7 | 35,00 | 0 | 0,00 | 33 | 82,50 | 7 | 17,50 |
| χ2 | 3,12 | 0,62 | 1,56 | 4,55 |
| p | 0,077 | 0,431 | 0,212 | 0,033 |
| OR | 0,25 | 2,06 |  - | 0,29 | 3,43 |
| 95%CI | 0,07-0,94 | 0,57-7,47 |  - | 0,10-0,82 | 1,21-9,69 |

 Наявність алеля С в гомозиготному стані призводить до підвищеного в 3 рази ризику розвитку ерозій на тлі інтактного пародонта (χ2 = 4,55, р = 0,033, OR = 3,43 95CI%: 1,21-9,69), тоді як алель Т навпаки проявляє захисну дію (OR = 0,29 95CI%: 0,10-0,82) (табл.1).Статистичних відмінностей між даними II і III груп по поліморфізму MMP20 rs1784423 T / C виявлено не було (р> 0,05) (табл.2).

Таблиця 2. Розподіл генотипів за геном MMP20 rs1784423 T / C серед груп дослідження

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Групидослідження | TT | TC | CC |
| n | % | N | % | N | % |
| Група II (n=21) | 5 | 23,81 | 10 | 47,62 | 6 | 28,57 |
| Група III (n=19) | 6 | 31,58 | 10 | 52,63 | 3 | 15,79 |
| χ2 | 0,04 | 0,01 | 0,35 |
| p | 0,845 | 0,975 | 0,557 |
| OR | 0,68 | 0,82 | 2,12 |
| 95%CI | 0,17-2,73 | 0,24-2,84 | 0,45-10,10 |

Примітка: р> 0,05

  По поліморфизму rs2245803 A / C гену MMP20 виявлено значні розбіжності між II і I групами (табл.3)

   Таблиця 3. Розприділення генотипів по гену MMP20 rs2245803 A / C серед груп дослідження

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Групидослідження | AA | AC | CC |
| n | % | n | % | n | % |
| Група II (n=21) | 2 | 9,52 | 13 | 61,90 | 6 | 28,57 |
| Група I (n=20) | 9 | 45,00 | 7 | 35,00 | 4 | 20,00 |
| χ2 | 4,88 | 1,19 | 0,08 |
| p | 0,027 | 0,158 | 0,783 |
| OR | 0,13 | 3,02 | 1,60 |
| 95%CI | 0,02-0,71 | 0,85-10,78 | 0,38-6,81 |

Встановлена проективна дія генотипу АА з поліморфізмом rs2245803 A / C гена ММР20 до розвитку ерозій на тлі захворювань тканин пародонту (χ2 = 4,88, р = 0,027, OR = 0,13 95CI%: 0,02-0,71).

   При порівняльному аналізі даних II і I групи встановлено протективну дію генотипу АА (χ2 = 6,12, р = 0,013, OR = 0,07 95CI%: 0,01-0,61) і негативний вплив алелю С, при якому ризик розвитку ерозій зубів на тлі інтактного пародонту збільшився в 3 рази (χ2 = 5,16, р = 0,023, OR = 3,21 95CI%: 1,27-8,10). Достовірних відмінностей між даними II и III груп по гену ММР 20 виявлено не було (табл.4).

Таблиця 4. Розприділення генотипів по гену MMP20 rs2245803 A / C серед груп дослідження

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Групидослідження | AA | AC | CC |
| n | % | n | % | N | % |
| Група II (n=21) | 2 | 9,52 | 13 | 61,90 | 6 | 28,57 |
| Група III (n=19) | 1 | 5,26 | 11 | 57,89 | 7 | 36,84 |
| χ2 | 0,02 | 0,01 | 0,05 |
| p | 0,928 | 0,948 | 0,826 |
| OR | 1,89 | 1,18 | 0,69 |
| 95%CI | 0,16-22,75 | 0,33-4,20 | 0,18-2,59 |

Примітка: р> 0,05

 **Висновки**:Наявність в буккальному епітелії генотипу АА гена ММР20 попереджає розвиток ерозій зубів, а наявність генотипу ТТ гена ММР20 вказує на можливість прогнозування виникнення ерозій зубів у осіб молодого віку і формування на цій основі групи ризику розвитку даної патології твердих тканин зуба.

**Список літератури:**

1.Беляева А. В. Распространенность кариеса у студентов и его профилактика / А. В. Беляева, Х. Б. Юнусов, И. Ю. Лялина // Актуальные проблемы биологической и химической экологии : сб. материалов 5 междунар. науч.-практ. конф., 21-23 нояб. 2016 г. ‒ М., 2016. ‒ С. 192‒196.

2. Білоклицька Г. Ф., Копчак О. В. (2004) Структурна характеристика твердих тканин зубів при гіперестезії дентину, що виникла на фоні захворювань пародонта. Укр**.** мед. часопис. № 6, с. 67-72.

3.Герштейн ЕС, Огнерубов Н.А, Кушлинский Н.Е. Ассоциированные с опухолью протеазы и их тканевые ингибиторы. В: Кушлинский НЕ, Красильников М.А, ред. Биологические маркеры опухолей: фунда- ментальные и клинические исследования. М.: Издательство РАМН; 2017. с. 197–230.

4.Клишо Е.В. Кондакова И.В. Чойнзонов Е.Л. Матриксные металлопротеиназы в онкогенезе// Сибирский онкологический журнал.-2003.-№2.-С.63-70

5. Федоров Ю.А., Дрожжина В.А. Клиника, диагностика и лечение некариозных поражений зубов. Новые данные о распространенности, клинике и особенностях лечения некариозных поражений зубов // Новое в стоматологии.-1997.-№10. (специальный выпуск). –145 с.

6. Матриксные металлопротеиназы URL http//laboratory/rusmedserv/com/ files /43\_MMP/pdf.-( дата обращения 26.12.2011).

7. Richards D. Oral diseases affect some 3.9 billion people / D. Richards // Evid. Based Dent. ‒ 2013. ‒ Vol. 14, N 2. ‒ Art. No 35.

8. Richards D. Oral diseases affect some 3.9 billion people / D. Richards // Evid. Based Dent. ‒ 2013. ‒ Vol. 14, N 2. ‒ Art. No 35.

9. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease / K. S. Kornman, A. Crane, H. Y. Wang [et al.] // J. Clin. Periodontol. ‒ 1997. ‒ Vol. 24, N 1. ‒ P. 72‒77.

10. Raffetto J.D, Khalil R.A. Matrix metalloprotein- ases and their inhibitors in vascular remodel- ing and vascular disease. Biochem Pharmacol. 2008;75(2):346–59

11. Freitas-Rodríguez S, Folgueras AR, López- Otín C. The role of matrix metalloproteinases in aging: Tissue remodeling and beyond. Biochim Biophys Acta. 2017. pii: S0167-4889(17)30118- 0. doi: 10.1016/j.bbamcr.2017.05.007.

12. Cheng Z, Limbu MH, Wang Z, Liu J, Liu L, Zhang X, Chen P, Liu B. MMP-2 and 9 in Chron- ic Kidney Disease. Int J Mol Sci. 2017;18(4). pii: E776. doi: 10.3390/ijms18040776.

13.Functions of KLK4 and MMP‑20 in dental enamel forma-tion / Papagerakis L. Y. [et al.] // Biol. Chem. — 2008. — Vol. 389, N 6. — P. 695–700.

14. TGF-beta1 and TGFBR1 are Expressed in Ameloblasts and Pro-mote MMP20 Expression / Gao Y. [et al.] // Anatomical Record. — 2009. — Vol. 292. — P. 885–890.

15. Sequential use of transcriptional profiling, expression quantitative trait mapping and gene association implicates MMP20 in human kidney aging / Wheeler H. E. [et al.] // PLoS Genet. — 2009.— Vol. 10. — e1000685.

16. Role of Matrix Metalloproteinases and Therapeutic Benefits of Their Inhibition in Spinal Cord Injury / Zhang H. [et al.] // Neuro-therapeutics. — 2011. — Vol. 8. — P. 206–220.

17. Maurizio S. Tonetti. Proceedings of the World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri‐Implant Diseases and Conditions / Mauzizio S. Tonetti, Kenneth S. Kornman // Journal of Clinical Periodontology. – 2018. – V. 45. – S.1-8

18.Белоклицкая Г. Ф., Копчак О. В. (2006) Клинико-лабораторное обоснование алгоритма диагностических и лечебных действий при цервикальной гиперестезии, сопутствующей заболевания тканей пародонта. Соврем. стоматология. № 3, с. 49-53.

19. Горбунова И. Л. Генетическая детерминация тканевой резистентности пародонта и зубной эмали у населения Омской области / И. Л. Горбунова, И. К. Лукашевич, А. В. Ефименко // Соврем. проблемы науки и образования. ‒ 2016. ‒ № 3. ‒С. 57‒64.

**Резюме:** Особенностью стоматологического статуса современной молодежи является высокая распространенность поражения кариесом, эрозиями зубов и заболеваниями тканей пародонта. Эрозии зубов является наиболее распространенной после кариеса группой заболеваний. Частота эрозий зубов колеблется в пределах 6-14%. Согласно данным литературы известна доминирующая роль генетических факторов в формировании физико-химических и морфологических свойств эмали зуба, что позволяет считать роль наследственности в развитии кариеса и эрозий зубов существенной. Перспективным по определению влияния на заболеваемость эрозиями зубов среди молодежи является MMP-20, который кодирует образование фермента - кальций-зависимой протеиназы, влияет на образование органического матрикса эмали.

В результате стоматологического обследования 60 студентов в возрасте 17-20 лет, распределены на группы: I (n = 20) - кариес на фоне гингивита; II (n = 21) - эрозии на фоне гингивита; III (n = 19) - эрозии на фоне интактного пародонта. Для проведения молекулярно-генетического исследования во всех обследованных был взят буккальный эпителий с внутренней поверхности щеки с определением наличия гена MMP-20 [16]. Для молекулярно-генетических исследований гена MMP-20 использована алельспецифическая ПЦР. При проведении стоматологического обследования были использованы традиционные обьективные клинические методы обследования для определения наличия ерозий зубов и была проведена их диференциация по класификации Ю.О. Федорова[15].

При проведении сравнительного анализа выявлены достоверные различия по гену MMP20.

   При сравнении данных III и I групп показаны определенные различия, особенно по генотипу ТТ (χ2 = 3,12, р = 0,077, OR = 0,25 95CI%: 0,07-0,94) и аллелями. Наличие аллеля С в гомозиготном состоянии приводит к повышенному в 3 раза риску развития эрозий на фоне интактного пародонта (χ2 = 4,55, р = 0,033, OR = 3,43 95CI%: 1,21-9,69), тогда как аллель Т наоборот проявляет защитное действие (OR = 0,29 95CI%: 0,10-0,82).

Наличие в буккальном эпителии генотипа АА гена ММР20 предупреждает развитие эрозий зубов, а наличие генотипа ТТ гена ММР20 указывает на возможность прогнозирования возникновения эрозий зубов у лиц молодого возраста и формирование на этой основе группы риска развития данной патологии твердых тканей зуба.

**Ключевые слова:** пациенты молодого возраста (18-25 лет), ерозии, генотип, ген, пародонт, ММР-20, полиморфизм.

Оценка прогностической значимости полиморфизмов гена MMP 20 (металлопротеиназа) в возникновении эрозий зубов на фоне заболеваний тканей пародонта у лиц молодого возраста.

Н.И.Турянская

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, г.Киев

**Summary:** The peculiarity of the stomatological status of modern youth is the high prevalence of defeat by caries, erosion of teeth and diseases of periodontal tissues. The frequency of erosion of teeth varies within 6-14%. According to the literature, the dominant role of genetic factors in the formation of the physico-chemical and morphological properties of the enamel of the tooth is known, which suggests that the role of heredity in the development of caries and erosion of teeth is significant.

Promising on determining the effect on morbidity with teeth erosion among young people is MMP-20, which encodes the formation of an enzyme - calcium-dependent proteinase, affects the formation of an organic matrix of enamel.

As a result of stomatological examination, 60 students aged 17-20 years are divided into groups: I (n = 20) - caries against gingivitis; II (n = 21) - erosion against the background of gingivitis; III (n = 19) - erosion on the background of an intact periodontal disease.

For conducting a molecular genetic study in all subjects, buccal epithelium from the inside surface of the cheek was identified with the presence of the MMP-20 gene [16]. For molecular genetic studies of the MMP-20 gene, allelic-specific PCR has been used. During the dental examination, traditional objective clinical methods of examination were used to preserve the presence of erosions of teeth and their differentiation was performed according to the classification of Yu.O. Fedorova [15].

Comparative analysis revealed significant differences in the MMP20 gene.

When comparing data of groups III and I, certain differences are shown, especially according to the genotype TT (χ2 = 3,12, p = 0.077, OR = 0.25 95CI%: 0.07-0.94). The presence of allele C in the homozygous state leads to a 3-fold increase in the risk of erosion in the context of an intact periodontal disease (χ2 = 4.55, p = 0.033, OR = 3.43 95CI%: 1.21-9.69), whereas the allele T, on the contrary, has a protective effect (OR = 0.29 95CI%: 0.10-0.82)

The presence in the buccal epithelium of the genotype AA gene MMP20 prevents the development of erosion of teeth, and the presence of the genotype TT gene MMP20 indicates the possibility of predicting the emergence of erosion of teeth in young people and the formation of a risk group on the development of this pathology of solid tissues of the tooth.

**Key words:** patients of young age (18-25 years), erosion, genotype, gene, periodontal disease, ММР-20.

Estimation of prognostic significance of the gene MMP 20 (matrix metalloproteinase) in the occurrence of erosion of teeth against the background of diseases of periodontal tissues in young people.

N.I.Turianska

National Medical Academy of postgraduate education named P.L.Shupyk

***Турянська Наталія Ігорівна***, аспірант кафедри терапевтичної стоматології

 Інституту стоматології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика.

Адреса:м. Київ, вул.Дорогожицька,9. тел.:+38 (044) 235-63-94

e-mail: kmapo14@ua.fm

|  |
| --- |
|  |
|  |