

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
УЗБЕКИСТАН
ТАШКЕНТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ**

**На правах рукописи
УДК: 616.31-002-092:575**

ГУЛЬМУХАМЕДОВ ПУЛАТ БАХТИЕРОВИЧ

**КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ПАРОДОНТИТА**

(Монография)

14.00.21 – Стоматология

Ташкент – 2025

УДК: УДК: 616.31-082.3/.5-053.9(575.1)

БКБ:

Составители:

Гулмухамедов П. Б. — доцент кафедры госпиталь ортопедической стоматология Ташкентского государственного стоматологического института

Рецензенты:

Хабилов Б.Н. — доцент кафедры Факультетской ортопедической стоматологии, Ташкентского государственного стоматологического института, доктор медицинских наук

Саидов А. А. — БухМИ, заведующий кафедрой ортопедической стоматологии и ортодонтии, доктор медицинских наук, профессор.

Монография утверждена Ученым Советом Ташкентского государственного стоматологического института от « » 2025. Протокол №

Монография предназначена для врачей неврологов, клинических ординаторов, магистров и студентов старших курсов медицинских ВУЗов.

Ученый секретарь

Юлдашев А.А.

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	3
ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ... ..	13
§1.1. Распространенность воспалительно-деструктивных поражений пародонта.....	13
§1.2. Этиологические факторы и патогенетические аспекты формирования хронического пародонтита.....	14
1.2.1. Роль микроорганизмов в развитии хронического пародонтита.....	14
1.2.2. Ассоциация генов провоспалительных цитокинов с развитием хронического пародонтита	22
§1.3. Генетические методы исследования в стоматологии.....	28
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	36
§2.1. Материал исследования.	36
§2.2. Методы исследования.....	37
2.2.1. Методы клинического обследования пациентов ХП.....	37
2.2.2. Методы рентгенологического обследования пациентов ХП.....	39
2.2.3. Методы микробиологического обследования полости рта пациентов ХП	40
2.2.4. Молекулярно-генетические методы исследования.....	40
2.2.5. Методы статистического анализа.....	46
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	48
§3.1. Клинические особенности у больных хроническим пародонтитом.....	48
§3.2. Микробиологические особенности у больных хроническим пародонтитом	54

ГЛАВА 4. ОЦЕНКА АССОЦИАТИВНОЙ СВЯЗИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА.....	67
§4.1. Анализ распределения частот аллелей и генотипов –308G>A полиморфизма гена TNF-α в группах больных хроническим пародонтитом и контроле.....	68
§4.2. Анализ распределения частот аллелей и генотипов rs 1143634 полиморфизма гена IL-1β в группах больных хроническим пародонтитом и контроле.....	77
§4.3. Анализ распределения частот аллелей и генотипов rs 16944 полиморфизма гена IL-1β в группе больных хроническим пародонтитом и контроле.....	85
§4.4. Анализ распределения частот аллелей и генотипов rs 1143627 полиморфизма гена IL-1β в группе больных хроническим пародонтитом и контроле.....	95
§4.5. Прогностический алгоритм риска развития и тяжести клинического течения хронического пародонтита.	103
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	107
ВЫВОДЫ... ..	115
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	116
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ... ..	117

ТГСИ – Ташкентский государственный стоматологический институт

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

СОПР-слизистая оболочка полости рта

ВЧ - верхняя челюсть

НЧ – нижняя челюсть

ТГСИ – Ташкентский государственный стоматологический институт

МНИЛ – Межвузовская научно-исследовательская лаборатория

ИЭМ– индекс эффективности микроциркуляции

Kv– коэффициент вариации

ЛДФ– лазерная доплеровская флоуметрия

МЦ - микроциркуляция

ПМ– показатель микроциркуляции

СКО– слизистая оболочка протезного ложа

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и востребованность темы диссертации. Среди стоматологических патологий одно из первых мест по частоте своей встречаемости занимают заболевания пародонта. Заболевания пародонта представляют собой сложную проблему, которые имеют как медицинскую, так и социальную значимость. Связано это, прежде всего, с высоким уровнем заболеваемости пародонтитом, повсеместной широкой распространенностью и выраженным поражением пародонтальных тканей, тяжестью течения некоторых форм патологии пародонта, значительными изменениями в зубочелюстной системе, уменьшением работоспособности, снижением качества жизни населения. По данным ВОЗ, «... в различных возрастных группах распространенность заболеваний пародонта достигает 80-100%»¹. Вместе с этим, очаги инфекции в пародонтальных карманах отрицательно влияют на организм в целом. Активированные пародонтогенными микробами моноциты и макрофаги продуцируют каскад провоспалительных цитокинов, вызывая дисбаланс между их про- и противовоспалительным пулом, что способствует повреждению тканей пародонта и резорбции альвеолярной кости.

В мире, за последние годы проведено множество научных исследований по изучению этиопатогенеза пародонтита, в этой связи получены положительные результаты. Вместе с тем известно, что развитие патологического процесса у больных пародонтитом сопровождается дисбалансом цитокинов в жидкости десневых каналов. «... установлено, что наибольшее повреждающее действие при заболеваниях пародонта характерно для IL-1 β и TNF- α , в патогенезе воспаления и резорбции кости при генерализованном пародонтите продемонстрирована роль повышения

¹ <https://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/ru/>

² Пузырева Л.В., Сафонов А.Д. Генетический полиморфизм цитокинов: прошлое и будущее // Инфекция и иммунитет. - 2016. - Т. 6, № 2. – С.103-109.

продукции IL-6 ...»². Помимо этого, в развитии пародонтита важную роль также играет теория генетических факторов. Идентифицированы система генов и их полиморфные варианты, ассоциированные с формированием и развитием заболевания. В связи с этим, необходимо определить, прямое и опосредованное участие различных генотипических вариантов генов цитокинов участвующих в воспалительных процессах и в регуляции иммунной системы в молекулярном механизме деструктивных изменений пародонта.

В нашей стране определено новое перспективное направление по дальнейшему развитию медицинской помощи, адаптации медицинской системы к требованиям мировых стандартов, профилактике и ликвидации хронических заболеваний. В соответствии с пятью приоритетными стратегиями развития Республики на 2017-2021 годы, определены задачи по социальной защите населения и улучшению системы здравоохранения, в том числе «... реализации комплексных мер по улучшению здоровья населения, снижению уровня заболеваемости, профилактике генетических заболеваний и увеличению продолжительности жизни...».³ Реализация этих задач позволит повысить качество современных медицинских услуг, внедрить высокие технологии, выявить причины возникновения различных социально значимых заболеваний и, в конечном итоге, снизить общий уровень заболеваемости.

Данное диссертационное исследование, в определенной степени, служит выполнению задач, поставленных в Указе Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года УП-№4947 «О Стратегии действий по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан на 2017-2021 годы», Постановлениях Президента от 20 июня 2017 года ПП-3071 «О мерах по дальнейшему развитию специализированной медицинской помощи населению Республики Узбекистан», Указе Президента Республики Узбекистан

³ Указ Президента Республики Узбекистан № УП-4947 «О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан на 2017–2021 годы».

от 7 декабря 2018 года УП-№5590 «О комплексных мерах по коренному совершенствованию системы здравоохранения Республики Узбекистан», а также задач обозначенных в других нормативно-правовых документах касающихся данной деятельности.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

§1.1. Распространенность воспалительно-деструктивных поражений пародонта

Среди всех стоматологических патологий важное место, по своей частоте и распространенности занимают заболевания пародонта [5, с. 416-421; 74, с. 152-155], которые в настоящее время представляют собой весьма сложную проблему, приобретающие медико-социальную значимость [8; 99, с. 201-206].

По данным ВОЗ, в различных возрастных группах распространенность заболеваний пародонта достигает 80-100% [8, 19, 30]. В мире распространенность заболеваний пародонта в индексной возрастной группе 35-44 года составляет 65-98%, в США - 70% взрослого населения страдают воспалительными болезнями пародонта [48], в России - 82%, при этом зависимость поражения пародонта от возраста имеет региональные различия и особенности [30]. По данным ряда исследователей в 53% случаев у людей выявляются воспалительные процессы на начальных этапах, тогда как в 12% случаях— обнаруживаются более выраженные поражения. В возрастной группе 15-19 лет распространенность заболеваний пародонта составляет 55-99%. Вместе с этим, чаще всего среди лиц молодого возраста с патологиями тканей пародонта различной степени выраженности в этой группе, выявлен в Африке (90%) и Юго-Восточной Азии (95%). В Америке доля молодых людей с пораженным пародонтом составляет 82%, а в Европейском регионе – 80-81% [57, 74].

Одной из главных причин потери зубов в средней и старшей возрастных группах населения мира является пародонтит. Возникновение и интенсивность воспалительных процессов в тканях пародонта происходит под регулированием иммунных механизмов, их ответа на антигены биопленки и

зависит от многих факторов, таких как общие социальные, особенности индивидуума, генетических детерминант и др.

В Республике Узбекистан у жителей в возрасте от 12 до 44 лет этот показатель составляет до 83,3% и от 44 лет и выше - достигает 91,7% [3, 25, 79].

Таким образом, анализ изучения эпидемиологических аспектов заболеваний пародонта свидетельствует о широкой их распространенности, что еще раз подчеркивает высокую значимость данной проблемы для теоретического и практического здравоохранения.

§ 1.2. Этиологические факторы и патогенетические аспекты формирования хронического пародонтита

Во всем мире, пародонтит, является одной из основных причин, приводящих к потере зубов в средних и старших возрастных группах населения [46, 55, 59]. Развитие и прогрессирование инфекционно-воспалительных процессов в пародонте регулируется сложными механизмами реакции организма на антигены биопленки и зависит от многих экзо- и эндогенных факторов: факторы окружающей среды, индивидуальные особенности организма, социальные, поведенческие, системные, генетические факторы, состояние микрофлоры полости рта и др. [45, 47, 51, 52, 53, 63, 66]. Исходя из этих данных очевидно, что пародонтит относится к сложным мультифакторным заболеваниям, в развитии которого, имеет значение множество факторов [6, 11, 12, 13, 42, 54, 64].

1.2.1. Роль микроорганизмов в развитии хронического пародонтита

За последние годы проведено ряд исследований по изучению причинных факторов, в частности роли микроорганизмов в развитии пародонтита [60, 62, 150]. На их основании доказано, что пародонтопатогенные микроорганизмы проникая в кровеносное русло посредством эндотелия кровеносных сосудов, распространяются по всему организму [61, 65]. Данные утверждения

подтверждены результатами гистохимических и микробиологических исследований образцов атероматозных бляшек, в составе которых были обнаружены наличие ДНК и к тому же жизнеспособных бактерий полости рта, а именно, таких общепризнанных пародонтопатогенов как *Porphyromonas gingivalis* [102, 153, 154, 158, 165].

Российские ученые провели сравнительное исследование состава микрофлоры в биологическом материале пародонтальных карманов и ткани атриовентрикулярных клапанов, полученном у 15 больных с инфекционным эндокардитом во время операции на сердце. Посредством метода ПЦР в тканях атриовентрикулярных клапанов учеными выявлена ДНК четырех пародонтопатогенов: *A. actinomycetemcomitans*, *P.intermedia*, *T. forsythia*, *T.denticola*. При этом необходимо отметить, что их роль в качестве этиопатогенетического фактора в развитии инфекционного эндокардита ранее не была установлена [80, 101, 106, 108].

Доказано, что эти патогены обладают свойством инвазии внутрь эпителиоцитов и других клеточных элементов [136, 174], оставаясь жизнеспособными длительное время. Проникновение в эпителиальные клетки осуществляется путем взаимодействия главных фимбрий бактерий и интегринов на поверхности эпителиоцитов [90, 93, 133]. При разрушительных процессах в пародонтальных тканях клетки эпителия со слюной и пищевым комком попадают в нижние отделы ЖКТ и выступают в качестве транспортных элементов для патогенов [14, 34, 35, 75, 89]. Распространение пародонтопатогенов может происходить также в ходе незавершенного фагоцитоза, когда бактерия остается живой внутри фагоцитарной клетки [32,37,69].

По данным Р.Дж. Ламонт (2010) при разрушении тканей пародонта эпителиальные клетки вместе со слюной и пищевым комком попадают в нижние отделы ЖКТ, что в свою очередь выступает в роли транспортных элементов для патогенов [32].

K. Wada, Y. Kamisaki (2010), K.Nakano et al. (2011), Z.Armingohar et al. (2014), J.Mahendra et al. (2015) и др. ученые обнаружили живые бактерии *P. gingivalis* в биоптатах сосудистой стенки, тромбах и атеросклеротических бляшках пациентов с различными сосудистыми заболеваниями. Ими выявлено, что проникновение микроорганизмов в кровеносное русло чаще наблюдается у лиц с ХП [91, 112, 113, 139, 145, 153, 158, 163, 177].

Рядом исследований доказано, что распространение *P. gingivalis* происходит при ХП с количеством 10⁶-10⁹ КОЭ/мл. Наряду с этим выявлено, что концентрация *P. gingivalis* в слюне у пациентов с тяжелыми формами пародонтита может достигать 10⁶ КОЭ /мл. Следует отметить, что у человека секретируется в среднем 1-1,5 л слюны в день, и, исходя из этого, можно ожидать, что пациенты с тяжелым течением ХП могут проглотить до 10¹²-10¹³ КОЭ бактерий *P. gingivalis* ежедневно. Намного превышая численность нейтрофилов, которые служат защитным барьером для их проникновения, а также выделяя биоактивные вещества, повреждающие ткани, микроорганизмы способствуют развитию заболевания [109, 112, 140, 169].

Nakajima M. et al. (2015) в результате экспериментальных исследований на мышах, установили факт, что при однократном введении внутрь *P. gingivalis* приводит к значительному изменению микрофлоры кишечника у лабораторных животных [157].

Также известно, что в связи с высокими проникающими способностями патогенные для тканей пародонта бактерии могут проникать вглубь организма, приводя к поражению даже суставов. Так, зарубежные исследователи Brusca S.B. et al. (2014) показали, что микрофлора полости рта, в частности *P. gingivalis*, а также некоторые представители кишечного микробиома, причастны даже к развитию аутоиммунного артрита [103].

Исследователи Sandhya P. et al. (2016) благодаря внедрению высокотехнологичных молекулярно-генетических методов исследования выяснили, что ревматоидный артрит в значительной степени связан с

микрофлорой кишечника и полости рта [168]. Наряду с этим получены доказательства роли конкретных видов микроорганизмов в развитии аутоиммунных нарушений, таких как *Leptotricha*, *Prevotella*, *Porphyromonas* и др., однако механизм их влияния остается до конца не известен [56, 159, 161, 174, 181].

G. Hajishengallis (2014) отмечает, что *P. gingivalis* персистируя в полости рта даже в малых количествах может вызвать выраженные изменения микрофлоры полости рта, что приводит к резкому ускорению процессов разрушения тканей пародонта за счет выброса протеолитических ферментов [127].

Американские ученые A.E. Duran-Pinedo et al., (2011) провели корреляционный анализ взаимодействия бактерий в составе биопленок. Ученые предлагают методы исследования межвидовых ассоциаций в биопленке с применением технологий NGS, на основании применения которых им удалось идентифицировать два типа автономных микробных сообщества в поддесневой биопленке, характерные для здоровых лиц, и один тип, характерный для лиц с ХП. Особенностью является то, что эти бактериальные сообщества не встречались одновременно, в свою очередь это свидетельствует об их антагонизме друг к другу при любых условиях среды, встречающихся в ротовой полости. Наряду с этим основываясь на результатах метагеномного анализа, авторы выявили ранее неизвестный микроорганизм *Tannerella* sp. OT286 (клон - BU063), характерный для пациентов со здоровым пародонтом [116].

Несколько позже A.L. Griffen et al. (2011) применяя метод секвенирования генов 16S рРНК для сравнения поддесневых бактерий, которые были получены у 29 обследованных лиц без патологии пародонта, а также у 29 больных с ХП, из поддесневой бляшки выделили новый пародантоген *Peptidiphaga gingivicola*, который принадлежит к семейству Actinomycetaceae [123].

Другие ученые провели анализ изучения микробиоты полости рта у здоровых и пациентов с ХП, который выявил у них наличие различных микробных сообществ. Разнообразие видов было выше у пациентов с ХП, у которых было выявлено 123 вида, а у здоровых людей выявлено всего лишь 53 вида микробов. В частности *Spirochaetes*, *Synergistetes* и *Bacteroidetes* чаще встречались при ХП, в то время как *Proteobacteria* были обнаружены в более высоких количествах у здоровых лиц [143]. Наличие микроорганизмов типов *Firmicutes* из класса бацилл было ассоциировано со здоровым пародонтом, в то время как наличие *Negativicutes* и *Erysipelotrichia* ассоциировалось с пародонтитом и стоматитом. Кроме того, исследователями выявлен ряд бактерий (*Filifactoralocis* и другие спирохеты), которые ранее не были идентифицированы [129, 141, 142].

М.Е. Kirst et al. (2015) в своих исследованиях использовали 16S рРНК последовательность для изучения поддесневой микробиоты у 25 пациентов с ХП и 25 здоровых лиц. Результаты их исследований показали наличие весьма выраженных изменений состава микробов, а также функций бактерий находившихся в сообществе при поражении пародонта. В поддесневой микрофлоре, ученые смогли выделить два микробных кластера, среди которых преобладали: *Fusobacterium* и *Porphyromonas*, которые ассоциировались с клиническими проявлениями пародонтита, и преобладание *Rothia* и стрептококков, в большинстве случаев ассоциировавшие с интактным течением пародонта [146].

О.Н. Park et al. (2015) изучили состав сообществ поддесневых микроорганизмов с использованием 454 FLX Titanium пиросеквенирования у здоровых лиц, пациентов с гингивитом и пародонтитом в корейской популяции. Исследователями было выявлено 256 113 разновидностей, представляющих 26 типов, 433 родов и 1 016 видов микроорганизмов у обследованных лиц. У пациентов с пародонтитом микросообщество было представлено *Bacteroidetes*, *Fusobacteria*, *Synergistetes*, *Spirochaetes*

Porphyromonas, *Fusobacterium*, *Fretibacterium*, *Rothia*, *Filifactor* и *Treponema*, тогда как *Firmicutes* и *Proteobacteria* были идентифицированы как доминирующие типы у лиц с гингивитом и у здоровых лиц. Микроорганизмы рода *Streptococcus*, *Capnocytophaga*, *Leptotrichia* и *Haemophilus* с высокой частотой встречались у лиц с гингивитом. Интересно отметить, что в качестве преобладающего вида у здоровых субъектов был выявлен *Halomonas hamiltonii* [160].

В.У. Hong et al. (2015) изучили взаимосвязь сосуществования различных типов микробных сообществ с клиническими проявлениями у 34 пациентов с пародонтитом. Результаты их анализа показали наличие двух типов "А" и "В" микробных сообществ по профилю и количеству бактерий. При этом "В" тип состоял из нескольких таксонов, которые были связаны с развитием пародонтита, в том числе общепризнанные пародонтопатогены (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola*), а также новые виды, ассоциированные с развитием пародонтита. В отличие от этого, сообщества типа А содержали высокие соотношения пародонтопатогенных видов и с полезными микроорганизмами [131].

Таким образом, на основании вышеизложенного можно сформулировать следующие выводы. Пародонтит связан с воздействием ряда неблагоприятных факторов, а именно распространением патогенных бактерий [17, 23,31] и их токсинов за пределы полости рта, а также выработкой и выбросом в общий кровоток как медиаторов провоспалительного действия, так и иммунных комплексов [18,22, 29, 73], накоплением свободных радикалов и развитием эндотелиальной дисфункции [26, 27, 58, 67]. Вместе с этим установлена связь между пародонтитом и развитием атеросклеротических поражений сосудов, что не зависит от других факторов риска ССЗ и СД, в то время как лечение пародонтита не только улучшает состояние полости рта, но также значительно снижает риск сердечно-сосудистых осложнений, за счет снижения числа

патогенных для пародонта микробов, явлений оксидативного стресса и системного воспаления [15, 20, 21, 33, 36, 38].

Важной задачей современной фундаментальной медицины является изучение микробиома в различных отделах пищеварительного тракта человека, что способствует внесению решающего вклада в понимание этиологических механизмов многих заболеваний, включая мультифакторные [30, 77, 82, 95, 147, 155].

В ранних исследованиях с использованием клонирования и секвенирования ДНК по техническим и экономическим причинам отсутствовала возможность получения достаточной информации о совокупности микроорганизмов полости рта ввиду сложного состава данного микробиома [40, 41, 125]. Эти затруднения были решены благодаря разработке и внедрению современных и передовых методов молекулярной диагностики.

За последнее время интенсивное развитие получили молекулярные методы исследования бактерий, основанные на анализе их генетической информации [1, 2]. Следует отметить, что исследования микробиоценозов человека с помощью ПЦР с электрофоретической детекцией не позволяли объективно судить о количественных характеристиках состава микрофлоры [9,28]. Однако при переводе реакции в режим реального времени, когда детекция накопления ампликонов идет в ходе самого процесса амплификации, значительно расширилась возможность этого метода диагностики [4, 7]. В

частности, применение ПЦР «Real time» дает возможность точного анализа состава микрофлоры в биологических образцах, выявляя ДНК искомым микроорганизмов в сложной смеси нуклеиновых кислот [24, 31, 94, 100, 135].

Разработанная О.А. Зориной с соавт. (2011) диагностическая панель для проведения качественной, а также количественнооценки состава бактерий в ротовой полости путем применения метода ПЦР «Real time» позволяет провить, с диагностической точностью не менее 97%, одновременного качественного и количественного определения *A. Actinomycetem comitans*, *P.*

gingivalis, T. forshytia, P. intermedia, T. denticola, C. albicans. Такое выявление ДНК основных пародонтопатогенов методом ПЦР в реальном времени дает возможность проведению оценки степени нарушений в составе микрофлоры полости рта, и вместе с этим назначить адекватную терапию, а также оценить эффективность лечения [22, 83]. Но существует недостаток ПЦР-диагностики в том, что отсутствует возможность проводить детальный анализ всего состава микробных сообществ, так как знание последовательностей нуклеиновых кислот, которые характерны конкретному микроорганизму, и включение в набор реактивов специальных праймеров для их обнаружения, необходимы априори [87]. Это порождает риск предвзятой оценки относительной важности пародонтопатогенов. На сегодняшний день современными методами для определения бактерий являются перекрестная гибридизация ДНК-ДНК, а также флуоресцентная гибридизация *insitu*, клонирование и секвенирование гена 16S рРНК, пиросеквенирование [123, 124, 177]. Наряду с этим с учетом множества этапов и трудностей молекулярно-генетических анализов, на сегодня разработаны автоматизированные платформы для его проведения и программные средства для компьютерного анализа геномов [98, 114].

Разработка и внедрение новых методов секвенирования (NGS) (платформы Solid, Illumina/454 и Proton) стало поворотным событием в молекулярной диагностике, потому что внесло существенный вклад в расшифровку геномов [88, 104, 149, 151]. Проведение процесса секвенирования ДНК позволило проведение оценки совокупность микробов в образцах биологической среды, которая называется метабеном. Это привело к появлению нового направления в биологии – метабеномики, в сферу которой входит получение и изучение геномных последовательностей [50]. Из поддесневой бляшки выдели новый парадантоген *Peptidiphaga gingivicola* gen., который принадлежит к семейству Actinomycetaceae. Геном был секвенирован, содержит GC GC на уровне 64% [94].

Благодаря наличию многочисленных метагеномных исследований, в настоящее время имеется возможность составления наиболее полноценного представления о вкладе и роли микробов в организме человека. По результатам проведенных исследований сформированы обширные базы данных, доступные пользователям во всем мире – GenBank, HMP, MetaHIT, KEGG. В них систематизируется информация о нуклеотидных последовательностях и целых геномах бактерий, вирусов, грибов, простейших, обитающих в различных биотопах организма человека [95, 96, 107, 162]. Одной из наиболее полных общедоступных баз данных геномных последовательностей является GenBank®, которая постоянно обновляется и пополняется [96]. По данным 2014 года в базе содержались геномные последовательности в количестве более 174 миллионов, которые принадлежат более 100000 микроорганизмов. К августу 2015 года число расшифрованных последовательностей составило 187 миллионов, а в августе 2016 – превысило 196 млн [105].

Полученные результаты могут быть полезны для понимания патогенеза заболеваний пародонта, совершенствования методов их диагностики и лечения [130, 132].

Таким образом, на основании вышеизложенного можно обобщить, что при пародонтите наблюдается цепь неблагоприятных системных нарушений, обусловленных распространением пародонтопатогенов и их токсинов, как в полости рта, так и за ее пределами по всему организму [84, 128]. Необходимо отметить, что отношение шансов развития ХП повышается при колонизации тканей пародонта сообществом микробов, которое включает несколько типов патогенных микроорганизмов [172, 173, 175]. Наряду с этим вероятность развития ХП, определяется целым рядом факторов локального и общего характера, наследственной устойчивостью тканей пародонта к воздействию патогенов [157].

1.2.2. Ассоциация генов провоспалительных цитокинов с развитием хронического пародонтита

Развитие молекулярно-генетических технологий, а также их широкое внедрение в процессы изучения патогенетических механизмов развития заболеваний позволило выявить ранее неизвестные аспекты ассоциации различных генов, в частности генов провоспалительных цитокинов с формированием патологии пародонта [72, 76, 121, 126, 166]. Учитывая тот факт, что цитокины являются медиаторами воспаления, то изучение генов, контролирующих активность цитокинов, является важной задачей при исследовании механизмов развития и течения пародонтита [1, 81, 92, 171].

Выполнено ряд работ по изучению ассоциативной роли генов цитокинов в патогенезе пародонтита [10,179]. Согласно исследованиям, неблагоприятные генотипические варианты данных генов приводят к увеличению транскрипции мРНК, что, в свою очередь, обуславливает повышение концентрации цитокинов в слюне и сыворотке крови, способствующее поддержанию воспалительного процесса в ткани пародонта. Поэтому перспективной группой генов-кандидатов, которые потенциально могут быть связаны с формированием риска пародонтита, считаются гены провоспалительных цитокинов TNF- α и интерлейкина-1 β (IL-1 β), их сравнительное исследование в разных популяциях мира признается весьма актуальным в стоматологии [10, 19, 70].

Исследованиями И.Г. Романенко, Д.Ю. Крючков (2011) установлено, что наибольшее повреждающее действие при заболеваниях пародонта характерно для таких генов как IL-1 β и TNF- α [68]. Существенную роль TNF- α и IL-1 β в инициации и поддержании хронического воспалительного процесса полости рта определили также и зарубежные ученые [161, 164, 167, 179].

В литературе приводятся результаты исследований, указывающие на то, что содержание провоспалительного цитокина TNF- α у пациентов с пародонтитом в 3,8 раза достоверно выше относительно соответствующего

параметра у лиц без патологии пародонта. Концентрация цитокина IL-1 в жидкости пародонтальных карманов у больных с ХП была также повышена в 4,8 раза, по сравнению с аналогичным параметром у людей с интактным пародонтом [70].

Фактор некроза опухоли- α (TNF- α) - провоспалительный цитокин, который вовлечен в регуляцию весьма большого спектра процессов, даже таких как клеточная пролиферация и их дифференциация, процессы апоптоза, метаболизм липидов, процессов свертывания крови. TNF- α , главным образом, секретируется макрофагами, дендритными клетками и Т-лимфоцитами. TNF- α синтезируется эпидермальными кератиноцитами наряду с другими цитокинами [70].

Известно, что этот цитокин является мощным ингибитором пролиферации, первичным медиатором в патогенезе бактериальных, вирусных и грибковых инфекций. Как медиатор воспаления он активирует фагоциты, нейтрофилы, осуществляет рост и дифференцировку эндотелиальных клеток, гемопоэтической стволовой клетки. Цитокин способствует усилению роста сосудов в неизмененных тканях, при этом он обладает выраженным иммуномодулирующим, а также и воспалительным эффектом. При нормальном ответе на любой инфекционный процесс основной задачей для TNF- α является защита организма от чужеродного антигена - бактерий. В "В"-клетках человека показано, что 308G>A полиморфизм гена фактора некроза опухоли ассоциирован с повышенной экспрессией гена TNF - α in vitro: присутствие аллеля TNF - α *A связано с вдвое повышенной продукцией цитокина по сравнению с аллелем TNF - α *G [148].

С.Ю. Тытюк (2016) утверждает, что генетически обусловленная способность к увеличенной продукции провоспалительного цитокина TNF- α в значительной мере определяет состояние воспалительных и иммунных реакций организма, в том числе заболеваний полости рта. Установлена более высокая частота встречаемости (92,3% - 99,1%) и интенсивность течения

кариеса зубов, повышенная их стираемость, эрозии и клиновидные дефекты, генерализованный пародонтит, другие воспалительных заболеваниях полости рта [77].

Некоторые ученые приводят данные о том, что при развитии ХП изменяется уровень экспрессии десятков генов иммунного ответа, в том числе генов интерлейкинов IL-1 α , IL-1 β , IL-8. При этом известны гены, уровень транскрипции которых повышается при ХП, так и гены, уровень транскрипции которых наоборот снижается [97, 98, 110].

Yucel et al. (2013) описали специфический генотип кластера генов интерлейкина-1 (IL - 1), который ассоциировался с тяжестью течения пародонтита. Ученые отмечают, что полиморфизм гена IL - 1 β - в позиции +3953. В обоих случаях аллель 1 содержит цитозин (C), тогда как аллель 2 — тимин (T) в соответствующих позициях. Аллель 2 в позиции +3953 гена IL - 1 β обуславливает изменение функций белков, что проявляется в избыточной продукции IL - 1 β ассоциирующееся с формированием пародонтита. Роль данного гена в развитии пародонтита заключается в том, что в присутствии интерлейкина 1 IL - 1 β повышается уровень транскрипции генов воспалительных цитокинов, хемокинов, металлопротеиназ, молекул клеточной адгезии и транскрипционного фактора NF-kappa, контролирующего экспрессию генов иммунного, антиапоптотического ответа и клеточного цикла [179].

Из литературных данных известно, что интерлейкин-1 (IL-1) способствует костной резорбции путем активации остеокластов и подавления их апоптоза. На сегодня выявлено, что интерлейкин -1 имеет две изоформы - IL-1 α и IL-1 β . Антагонист рецептора интерлейкина - 1 (IL-1rd), конкурирует с IL-1 α и IL- 1 β за связывание с рецептором и полностью подавляет их влияние на костную резорбцию. Активность IL-1 увеличивается при эстрогендефицитных состояниях и уменьшается при проведении гормонозаместительной терапии [70].

Одно из фундаментальных исследований по изучению генетических аспектов воспалительных заболеваний пародонта было выполнено российскими учеными [22, 70]. В результате оценена роль полиморфизма генов IL – 1 α и IL - 1 β у больных генерализованным пародонтитом тяжелой степени в различных возрастных группах и у лиц со здоровым пародонтом, а также проведен анализ роли вирусов семейства Herpesviridae (HSV 1 и HSV 2 типа, EBY и CMV) в этиопатогенезе генерализованного пародонтита. Кроме того были изучены особенности аллельного полиморфизма генов HLA класса II (DRB1, DQA1, DQB1), у чувствительных и резистентных к пародонтиту представителей смешанной популяции г. Москвы [22, 23, 70].

Результаты исследований зарубежных ученых свидетельствуют о несомненной генетической роли в этиологии воспалительных заболеваний пародонта. В частности, ученые определили, что пациенты в возрасте до 35 лет с полиморфным генотипом IL относятся к группе риска заболевания с тяжелым течением пародонтита. Так же, из полученных авторами результатов следует, что IL могут выступать в качестве маркеров риска развития ХП [111].

В последние годы все чаще отмечается роль IL-4 в развитии воспалительных заболеваний пародонта. IL-4 являясь многофункциональным цитокином, играет важную роль в воспалительном ответе на инфекционные агенты, в частности в отношении грамотрицательных микроорганизмов. Существуют исследования, в которых продемонстрирована роль повышения продукции IL-4 в патогенезе воспаления и резорбции кости при генерализованном пародонтите [118]. Наряду с этими данными ряд исследований по изучению ассоциации этих генов с заболеваниями пародонта получили противоречивые результаты. Так, при анализе ассоциации IL6-(174) с развитием ХП в европейской популяции, в трех исследованиях ассоциация была выявлена [121], а в других она не подтвердилась [135].

Роль генов интерлейкинов проявляется участием их в регуляции воспалительных ответов, а также в различии носителей разных генотипов по спектру патогенов ротовой полости. Так имеются данные, что у носителей определенных генотипов по полиморфизму IL6-174 в сублингвальных биопленках чаще обнаруживаются патогенные бактерии *A. Actinomycetae comitans* и *P. Gingivalis* [122, 127].

Известен ряд полиморфизмов гена IL -6, ассоциированных с костным фенотипом: полиморфизма G 634 C, G 572 C, G 174 C и др. G174C полиморфизм ассоциирован с маркерами костной резорбции, что согласуется с данными о стимулирующем влиянии IL-6 на остеокласты. Обнаружено, что генотип IL-6 C 174 C связан с более низким уровнем костной резорбции и с меньшей потерей костной массы у женщин постменопаузального возраста [119].

Соединительная ткань пародонта в основном состоит из стромальных клеток, таких как фибробласты, и богатой коллагеном внеклеточной матрицы (ЕСМ). Фибробласты управляют формированием и реконструкцией ЕСМ десны, через отрегулированную экспрессию компонентов ЕСМ и ЕСМ-реконструкции ферментов, таких как матричные металлопротеиназы (MMPs). Увеличение деструкции белков ЕСМ, таких как коллаген, может быть необратимым и являться особенностью общего хронического пародонтита воспалительного характера. Цитокин IL-6 oncostatin-м (OSM), и IL-1 синергично увеличивает секрецию MMP-1 человеческими десневыми фибробластами (HGFs). Экзогенные провоспалительные стимуляторы, такие как бактериальный липополисахарид (ЛПС) также вовлекаются в патогенез пародонтита [115].

P. Venugopal et all (2017) сосредоточились на эффекте микро-РНК 125a и -499a как потенциальном регуляторе периодонтальных стволовых клеток, поскольку они оказывают влияние на гомеостаз во время воспалительных заболеваний. Авторами выявлена их высокая экспрессия в периодонте, на

основании которого ими установлено, что микро-РНК 125а и -499а ингибитор можно использовать как потенциальное терапевтическое средство для профилактики потери костной массы, связанной с хроническим пародонтитом [176].

IL-17F является провоспалительным цитокином, который может быть одним из важных цитокинов, который участвует в развитии различных патологических процессов приводящих к деструкции пародонтальных тканей. IL-17F синтезируется макрофагами/моноцитами и клетками ротового эпителия, стимулирует клеточный иммунитет и индуцирует продукцию IFN- γ . Уровень IL-18 повышен при различных хронических воспалительных заболеваниях. Содержание IL-17F в десневой жидкости увеличивается пропорционально тяжести воспаления пародонта и снижается до исходного уровня после излечения [111].

Таким образом, обобщая вышеуказанные данные, можно заключить, что развитие патологического процесса у больных с ХП сопровождается повышением концентрации в десневой жидкости цитокинов TNF- α и IL, регулируемые генами провоспалительных цитокинов.

§ 1.3. Генетические методы исследования в стоматологии

За последние годы в сфере генетики, в месте с этим и геномики человека вместе с биохимическими и иммунологическими результатами исследований привели к накоплению огромного объема информации о взаимосвязи между наличием у каждого человека определенных аллельных вариантов генов и состоянием его здоровья. Различия между людьми на уровне отдельных генетических признаков определяют индивидуальную предрасположенность к наследственным и воспалительным заболеваниям, к развитию тех или иных физических и умственных способностей, возможность длительной работы на вредных производствах, реакцию на фармакологические препараты и т.д. [85,

86]. Поэтому крайне актуальным является поиск новых взаимосвязей генотипа человека и его фенотипических особенностей [120].

За последние годы отмечено возрастание тенденции к росту частоты зубочелюстных аномалий среди лиц всех возрастных групп, при этом их распространенность колеблется в среднем от 11,4% до 71,7% [170]. Для эффективной диагностики заболеваний у людей с патологией зубочелюстной системы необходимо определить факторы риска развития заболеваний пародонта. Определение их возможно лишь с использованием современных клинико-лабораторных и молекулярно-генетических методов. Результаты этих методов исследования позволяют получить обширный объем информации, позволяющий понять механизмы развития заболевания, проводить своевременную их диагностику с последующим определением прогноза и индивидуализации профилактических программ патологии [43].

Российскими учеными с использованием диагностических тестов MicroDent, GenoType, LCL-biokey и CarioCheck plus, BuffCheck (Hain-lifescience, Германия) у 22 пациентов ХП в возрасте от 20-25 лет изучена роль IL-1 в развитии воспалительных заболеваний пародонта. В частности, у 73% обследованных лиц результаты теста-GenoType были позитивными в отношении полиморфизмов IL-1A-889; IL-1RN±2018 и IL-1B±3953, что позволило заключить о наследственной предрасположенности изученных лиц к развитию заболеваний пародонта [9].

Снижение микробной нагрузки в пародонте является важным в процессе санации ротовой полости от патогенной флоры для пародонта, вместе с этим и в отношении грибов и вирусов. Длительный стабильный результат невозможен без коррекции изменений в иммунной системе полости рта [7]. Однако нередко в данной ситуации у пациентов происходит развитие рефрактерного пародонтита, зачастую сопровождающийся возникновением дисбиотических нарушений в карманах пародонта, при этом спектр микроорганизмов является фактом, свидетельствующим о развитии

локального иммунодефицитного состояния. С учетом этих фактов В.М. Моргунова (2012) изучая роль провоспалительных цитокинов в формировании пародонтита определил, что уровень IL -1 при остром пародонтите (ОП) достоверно выше в 3 раза по сравнению с интактным пародонтом и в 1,5 – по сравнению с ХП; тогда как уровень TNF- α повышался соответственно в 10,8 и 1,9 раза. Наряду с этими данными выявлено снижение противовоспалительного IL-10 соответственно в 4,2 и 1,6 раз. Частота выделенного ДНК пародонтогенов, грибов кандиды и вирусов при ОП в 1,3 – 1,6 раз чаще, чем при ХП [44].

Имеются сведения о том, что у пациентов с деструктивными формами хронической одонтогенной инфекции (пародонтит, периодонтит, остеомиелит) выявляется высокая частота полиморфизмов генов SOD2 (VI6A), Colla1 (+G 1245T), VDR (BsmI), которые участвуют в контроле отдельных фаз репаративного остеогенеза, неблагоприятно влияя на процесс ремоделирования костной ткани, и способствуют развитию редукции альвеолярной части челюстей. Эти данные являются подтверждением того, что у больных хроническим пародонтитом и периодонтитом с генотипом SOD2 (VI6A), Colla1 (+1245G-+T), VDR (BsmI) достаточно высокий риск развития редукции альвеолярной области челюстей, что приводит к существенному снижению морфологического показателя функциональной сохранности зубочелюстного отдела. В связи с этим больным при оперативных вмешательствах (удаление зубов, цистэктомия, радикальные лоскутные операции по поводу пародонтита и др.) целесообразно восполнить костный дефект препаратами остеотропного действия для оптимизации условий для репаративного остеогенеза, а также включать в группы диспансерного наблюдения [7].

Изучение молекулярно-генетической предрасположенности к развитию стоматологических заболеваний у больных с СД 2 типа (стоматит, пародонтит, кариес и др.) показала, что среди них в 70 % случаев отмечена делеционная

форма гена второй (GSTM1) фазы детоксикации , которая отвечает за выведение продуктов промежуточной фазы из организма , а в 50 % случаев выявлены гетерозиготы в гене FTO, отвечающего за жировой обмен, а также в PON1 гене, отвечающего за проницаемость сосудов, и нарушение онтогенеза. Полученные результаты свидетельствуют, о необходимости учета этих данные при формировании профилактических комплексов стоматологической заболеваемости [71].

А.В. Сафонова и др. (2011), В.В. Волкова и др. (2017), в плане проведения диагностических и прогностических аспектов при ХГП предлагает проводить изучение генов, кодирующих провоспалительные цитокины TNF- α G 308 A, IL-1 C 511 T, IL-2 T 330G, IL-6 G 174) C, IL-8 A 251 T, а также рецепторы CD14 C 260 T, TLR-2 Arg 753 Gly, TLR-4 Asp 299 Gly и TLR-6 Ser 249 Pro, которые в виде мутантных аллелей определяют риск тяжёлого течения заболевания [10,70].

D.A. Benson et al. (2013) идентифицировали гены-кандидаты, участвующие в развитии пародонтита, используя интегральный генный метод реоранжировки. В результате анализа авторами был определен геном из 21 составляющих. Среди них IL -18, CD 44, CXCL1, IL6 ST, MMP 3, MMP 7, CCR 1, MMP 13, и TLR 9 был ассоциирован с развитием пародонтита. Однако роль других генов, таких как CSF3, CD40, TNF SF14, IFN β 1, TIRAP, IL2 R α , ETS1, GADD 45B, BIRC3, VAV1, COL5A1, и C3 до конца не изучены в процессе развития пародонтита. Эти гены, главным образом, вовлекаются в бактериальную инфекцию, иммунный ответ и воспалительную реакцию, и предположительно, что изучение их ассоциации с риском развития пародонтита весьма важна [96].

T. Do (2013) выявили, что альтерация IL - 6 в десневой жидкости при ХП значительно ниже, чем в периферической крови. Увеличенная экспрессия транскрипции генов IL-6 может быть связана с риском развития ХП [114].

Известно, что полиморфизмы в генах рецептора иммуноглобулина FcGR и фактора некроза опухоли - α (TNF- α) влияют на патогенез и тяжесть воспалительных заболеваний. Ассоциация генных полиморфизмов TNF- α при ХП разнообразна среди различных этнических групп. Так российские ученые (2017) изучили полиморфизмы: TNFA-1031T/C (rs1799964) и TNFA-863C/A (rs1800630) среди лиц со здоровым пародонтом и с ХП. С помощью метода ПЦР RT получены данные, показывающие их отчетливую связь с развитием ХП в группе пациентов [10].

D. Ishaan et al. (2017) выявили, что наблюдается ассоциация CD14 rs 2569190 с развитием воспалительных заболеваний пародонта. В исследованиях ученых обнаружено существенных различий в распределении его носительства в группе пациентов с пародонтитом и с заболеваниями дыхательных путей [137].

G. Lucarini et al. (2009) доказали, что эндотелиальный фактор роста, CD44 и CD133 являются главными причинами отдельной восприимчивости к патологии пародонта и диабету. Они исследовали их генные полиморфизмы и выявили, что эти маркеры предрасполагают развитию гингивита и пародонтита. Эти в свою очередь дает возможность определять его в качестве биомаркера пародонтита [152].

O. O. Yucel et al. (2013) и F. Messa et al. (2017) определил ассоциации между IL-1 β (+3954) и антагонистом рецептора IL-1 (RN), и отношение связи с пародонтитом [156, 179].

X. Wu et al. (2014) проанализировали наличие ассоциации полиморфизма гена IL-1 с развитием агрессивного пародонтита. Результаты их исследований показали, что IL-1 ассоциируются с риском развития агрессивного пародонтита в изучаемых группах [178].

M. Ricci (2010) определяли возможные отношения между двумя генетическими полиморфизмами кластера генов IL-1 α (rs1143634) и IL-1 α (rs1800587) SNPs с риском развития агрессивного и хронического

пародонтита. Существенные различия были выявлены на уровне носительства полиморфизмов генов IL-1 α (rs1143634) и IL-1 α (rs1800587) при агрессивном течении заболевания по сравнению со здоровыми лицами. При этом существенных различий не обнаружено при хроническом течении пародонтита [167].

Yu-Feng Hsiao (2016) в результате проведенных молекулярно-генетических исследований, выполненной среди пациентов с пародонтитом, выявили увеличение ассоциацию ММЗ-2 с развитием болезни, на что указывают результаты их исследований. Данное исследование подчеркивает значение ММЗ-2 (матричной металлопротеиназы-2) в развитии воспалительных процессов пародонта [180].

Российские ученые установили, что IL-6 отрицательно коррелирует с развитием пародонтита (у носителей аллели С генетического полиморфизма IL-6-572G/C отмечены более высокие уровни серологического IL-6 по сравнению с носителями аллели G) [1, 2, 4].

С учетом информативности молекулярных методов в исследовании микрофлоры полости рта, число опубликованных работ по изучению микробиоценоза пародонта существенно возросло, однако эти исследования проводились среди разной выборки пациентов.

Опубликованы результаты исследования, свидетельствующие о том, что в развитии генетической предрасположенности к формированию пародонтита, имеют клиническую информативность полиморфизм (С 260 Т) гена CD 14. В частности, в группе женщин с пародонтитом, наблюдается достоверное ($p < 0,01$) увеличение частоты гомозиготных полиморфизмов Т/Т и С/С аллельного варианта С(-260)Т по сравнению с аналогичным показателем у женщин группы сравнения (примерно в 2 раза), а доля гетерозиготного генотипа С/Т у больных, наоборот, весьма значимо снижается ($p < 0,0001$). В группе мужчин отмечается статистически значимое ($p < 0,001$) повышение частот генотипов С/Т и С/С. [22, 23, 24].

А.С. Григорьян (2009) приводит данные об изучение носительства полиморфных аллелей генов цитокинов-интерлейкинов IL-1 β , IL-1RN, TNF- α , IL-4. Результаты генетических анализов показали, что наличие полиморфных аллелей генов IL-1 β -511 C> T и +3953 C> T, IL-1RN (интрон VNTR 2), IL-4 (интрон VNTR 3), TNF- α -308 G> A ассоциируется с тяжестью заболевания. Также имеются исследования по идентификации наиболее значимых гены в риске развития пародонтита IL- 8, IL-1 β , VEGFA, VCAM 1, PTGS2 и CXCL10, которые ассоциируются с развитием пародонтита [16].

Таким образом, внедрение молекулярно-генетических методов исследования в научную и практическую стоматологическую позволяет получить наиболее информативные результаты, раскрывающие неизвестные механизмы развития ХП, что в свою очередь способствует оценке роли тех или иных генетических маркеров в формировании, в прогнозировании клинического течения, проведению своевременных профилактических и патогенетически направленных лечебных мероприятий заболевания.

Заключение

Изучение механизмов формирования хронического пародонтита (ХП) показало следующие аспекты проблемы:

- литературный анализ свидетельствует о наличии многочисленных исследований в плане изучения ассоциации генетических полиморфизмов с риском развития ХП, однако они носят противоречивый характер;
- многие авторы утверждают о роли генов-кандидатов в прогнозировании развития ХП, однако такие работы находятся в сфере активных дискуссий; существует необходимость изучения возможного влияния полиморфизмов генов TNF- α полиморфизма (G 308A), IL-1 β (rs 1143634), IL-1 β (rs 16944) и IL-1 β (rs 1143627) на формирование ХП в узбекской популяции.

Таким образом, изучение литературных источников посвященных изучению проблемы формирования ХП показало, что, несмотря на наличие исследований, посвященных изучению механизмов формирования, диагностики и лечения воспалительных заболеваний пародонта, увеличивается с каждым годом, вопросы этиологии и патогенеза остаются актуальными и требуют дальнейшего изучения на новом методическом уровне с использованием молекулярно-генетических технологий.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

§2.1. Материал исследования.

Для проведения клинического исследования проведен подбор больных с хроническим пародонтитом в количестве 141 человек в возрасте от 15 до 71 лет (средний возраст больных составил $34,2 \pm 1,2$ лет), а также лица не предъявляющие никаких жалоб на состояние полости рта и не имеющие клинических изменений тканей пародонта в количестве 138 лиц, средний возраст которых составил $36,4 \pm 1,3$ лет. Все обследуемые составили лица узбекской национальности.

В соответствии с МКБ – 10(2007) и рекомендациям ВОЗ (2012) по результатам клинико-инструментальных исследований все обследуемые распределены на 2 группы: в 1-ю - основную группу (группу пациентов ХП) было включено 141 общее, из них 90 находящихся на диспансерном наблюдении и лечении в клинике Ташкентского стоматологического института и 51 научно-исследовательского института Гематологии и переливания крови МЗ РУз. Эта группа была подразделена на 3 подгруппы: А - пациенты с ХП легкой степени ($n=61$), Б - пациенты со средней степенью тяжести ХП ($n=58$) и В - пациенты с тяжелой степенью тяжести ХП ($n=22$). 2-ю - контрольную группу составили 138 лиц без патологии пародонта, соответствовавшие по полу и возрасту основной группе больных ХП.

Диагноз хронического пародонтита верифицирован на основании комплексного клинико-лабораторного и инструментального обследования.

Таблица 2.1

Распределение пациентов по степеням тяжести.

Общее количество пациентов ХП	Пациенты с легкой степенью ХП	Пациенты со средней степенью ХП	Пациенты с тяжелой степенью ХП
N=141	N=61	N=58	N=22

§2.2. Методы исследования

2.2.1. Методы клинического обследования пациентов ХП

Клиническое обследование больных включало:

1. Подробный специализированный сбор анамнеза с детализацией жалоб, наличием подобных жалоб у близких родственников, вредных привычек (курение табака, употребление алкоголя), режим употребления пищи, наличие хронических очагов инфекции и сопутствующих соматических заболеваний.
2. Общий осмотр пациента: общее состояние пациента, форму лица, осмотр кожных покровов и видимых слизистых оболочек, пальпацию лимфатических узлов лица, подчелюстных и позади ушных, осмотр, пальпацию и движение височно-нижнечелюстного сустава справа и слева.
3. Осмотр рта: оценка состояния слизистой оболочки полости рта, десен и языков (цвет, влажность, отечность, кровоточивость десен); гигиены ротовой полости по наличию зубного налета и камней; состояния зубов (их расположение, отсутствие зубов, наличие кариеса).

Для оценки степени тяжести ХП применяли стандартные методики:

1. Определения кровоточивости по Mühlemann-Cowell (1975): пародонтальный зонд вводили со стороны щеки и языка прижимая к стенке десневой бороздки и медленно вели от медиальной стороны зуба к дистальной. Результаты оценивали в зависимости от реакции десны (0 — если после раздражения кровотечение отсутствует; 1 — если кровотечение появляется не раньше 30 секунд после воздействия, 2 — если кровоточивость появляется сразу или в ближайшие секунды; 3 — если у больного кровоточивость наблюдается во время чистки зубов или приема пищи .
2. Определение подвижности зубов осуществляли вручную при попеременном надавливании на вестибулярную и язычную поверхности зуба нерабочими концами двух ручных инструментов и определяли по шкале Miller

в модификации Flezar (1980): 0 – устойчивый зуб, имеется только физиологическая подвижность; 1 – смещение зуба относительно вертикальной оси несколько больше, но не превышает 1 мм; 2 – зуб смещается на 1–2 мм в щечно–язычном направлении, функция не нарушена; 3 – подвижность резко выражена, при этом зуб движется во всех направлениях с нарушением его функции.

3. Определение разрушения зубодесневого прикрепления проводили ручным методом, плотно охватив исследуемый зуб пинцетом, производили движения в вертикальном и горизонтальном направлениях (Л.М.Цепов, А.И.Николаев, Е.А.Михеева, 2008). Далее величину отклонения зуба оценивали визуально. Немецким обществом пародонтологов предложена следующая схема оценки подвижности зубов:

- 0 степень: физиологическая подвижность;

- 1 степень: повышенная подвижность зуба в горизонтальном направлении, ощутимая ощупь и осмотре, при этом отклонение не должно превышать 1 мм;

- 2 степень: характеризуется выраженной подвижностью зуба в горизонтальном направлении, которая заметная визуально, при этом отклонение зуба превышает 1 мм;

- 3 степень: повышенная подвижность зуба, зуб подвижен при дотрагивании зуба губой или языком.

4. Глубину пародонтальных карманов измеряли с помощью градуированного пуговчатого пародонтального, который вводили в пародонтальный карман или в десневую борозду. Глубину в области пародонта каждого зуба определяли, в четырех местах: с мезио-щечной, щечной, дистально-щечной и язычной поверхностей. На пародонтальных зондах имеется цветная маркировка или миллиметровая шкала (зонды Вильямса-Фокса).

5. Определение степени деструкции костной ткани по данным ортопантомографии (Fona XPan DG («Fona dental s.r.o.» Bratislava slovakia)) с помощью классификации D.Tarnow end P.Fletcher (1984) :

- 1 — в области фуркаций вертикальная убыль кости от 1 до 3 мм;
- 2 — в области фуркаций вертикальная убыль кости от 4 до 6 мм;
- 3 — в области фуркаций вертикальная убыль кости от 7 мм и выше.

2.2.2. Методы рентгенологического обследования пациентов ХП

С целью верификации диагноза и определение степени деструкции костной ткани использовали цифровую ортопантомографию. Съёмку проводили на аппарате Fona XPan DG («Fona dental s.r.o.» Bratislava slovakia) (рис. 2.2.2.1.). Оценка состояния зубов, а также периапикальных тканей, распространенность и степень выраженности деструкции костной ткани у обследуемых пациентов проведены с помощью рентген исследования.



Рис. 2.1. Ортопантомограф Fona XPan DG («Fona dental s.r.o.» Bratislava Slovakia).

2.2.3. Методы микробиологического обследования полости рта пациентов ХП

До исследования всем обследуемым пациентам за 1 час до обследования рекомендовали: воздержание от чистки зубов, приема пищи и жидкостей.

Забор материала для микробиологического исследования проводился с помощью стерильных бумажных штифтов из пародонтального кармана, со слизистой оболочки рта, с миндалин, которые помещались в стерильные пробирки. Наряду с этим в отдельные пробирки также производился забор 1 мл слюны пациента. Пробирки с биоматериалом в специальном холодильном контейнере доставлялись в микробиологическую лабораторию НИИ Гематологии и переливания крови МЗ РУз, где производился посев материала на стандартные микробиологические среды с последующим выделением чистой культуры микроорганизмов.

2.2.4. Молекулярно-генетические методы исследования

Молекулярно-генетические методы включали в себя: выделение ДНК из лимфоцитов периферической крови и из эпителиальных клеток ротовой полости (слюны), проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР) учет результатов ПЦР.

В качестве сравнения послужили образцы ДНК (n=138) условно-здоровых доноров (без каких-либо признаков пародонтита) из банка ДНК отдела «Молекулярная медицина и клеточная технология» НИИ Гематологии и переливания крови МЗ РУз.

Реактивы и ферменты

При исследовании применялись следующие реактивы и ферменты: агароза, бромфенол, бычий сывороточный альбумин, протеиназа К, ксилोलцианол, фикол, ТЕМЕД, крезол, додецилсульфат натрия, 10-кратный буфер BlueJuice™ («Invitrogen», США), этидиум бромид («Sigma», США);

агароза («Invitrogen», США) борная кислота, персульфат аммония, сульфат аммония, тритон X100, трис-HCl, хлорид магния, хлорид натрия, ЭДТА («Serva», Германия); 2-меркаптоэтанол («Ferax», Германия); дезоксинуклеотид-трифосфаты, термостабильная ДНК-полимераза («Сибэнзим», Новосибирск, Россия; «Invitrogen», США); олигонуклеотидные праймеры («Литех», Москва, Россия; «Invitrogen», США); фенол («Вектон», Санкт-Петербург, Россия), хлороформ, этанол, эндонуклеазы MnlI, Hind III и HinfI (НПО «Сибэнзим», г. Новосибирск), термостабильная ДНК-полимераза *Thermus aquaticus* (НПО «Биотекс»).

Экстракция геномной ДНК из лимфоцитов периферической крови

И СЛЮНЫ

Выделение ДНК из ядер лимфоцитов проводили в соответствии с методикой, приведенной в руководстве Sambrook et al. (1989) с некоторыми модификациями.

1. К 10 мл крови добавляли 3 мл глюгицира (антикоагулянт, содержащий 20 гр. двузамещенного гидроцитрата Na и 30 г глюкозы в 1 л).
2. Смешивали цитратную кровь с равным объемом сахарозного буфера., который лизирует эритроциты, а также лимфоцитарную клеточную мембрану и при этом оставляет интактной ядерную мембрану.
3. Центрифугировали при 3000 об/мин и 40С в течение 15 мин. Далее мы производили слив супернатанта, после чего ядерный осадок ресуспензировали в 400 мкл буфера (для К протеиназы).

Добавляли 10% SDS («Serva», Германия) до конечной концентрации 0,5%, после производили инкубацию в присутствии Кпротеиназы («Sigma», США) в конечной концентрации 250 мкг/мл, в течение 16 часов при 370С. Лизис мембраны ядра происходил при добавлении SDS , тем самым осуществлялся выход ядерного ДНК, что подтверждалось визуальным

увеличением вязкости полученного раствора. После инкубации проводили экстракцию белков.

1. Добавляли 400 мкл забуференного фенола pH 8.0, осторожно перемешивали в течение 10-15 мин. и центрифугировали 5 мин. при 5000 об/мин.

2. Далее переносили верхнюю фазу в другую пробирку, добавляли 400 мкл смеси фенол-хлороформ (1:1).

Перемешивали 5 мин, центрифугировали. Экстрагировали фенол из верхней обводненной фазы равным объемом хлороформа. К раствору с ДНК последовательно производили добавление 3М ацетата Na (40 мкл) и охлажденного 96% этанола (800 мкл). Перемешивали и центрифугировали 15 мин. при 14000 об/мин, промывали преципитат 1 мл 70% этанола. Повторно производили центрифугирование, после осадок высушивали, затем ДНК растворяли в буфера TE / деионизованной воды (50-150 мкл).

4. Концентрация и чистота ДНК оценивалась при измерении оптической плотности при длине волны 260 и 280 нм против TE. При этом отношение ОД 260/ОД 280 характеризовалось равенством или же превышало 1.8. ДНК хранили в TE при температуре -200С.

Выделение ДНК из эпителиальных клеток ротовой полости (слюны)

Выделение ДНК и слюны проводили только с помощью коммерческого набора «РИБО-преп» (Интерлабсервис, Россия). После гигиены полости рта пациент должен прополоскать ротовую полость 10 мл изотоническим раствором хлористого натрия (0.9%) и в течение 45 сек энергично полоскать. К собранной в пробирку 1- 2 мл слюне по инструкции добавляли 30 мкл необходимого сорбента. Полученную смесь перемешивали на приборе вортексе и оставляли на 5 мин при 60 °С. Затем, центрифугировали 1 мин при 12000 об/мин. После этого, надосадочной жидкости сливали и ресуспензировали с 400 мкл лизирующим буфером. Снова перемешивали на

вортексе и центрифугировали 30 сек. при 13000 об/мин. и добавляли по 800 мкл раствора отмывки. Перемешивали на вортексе до полного нейтрализация сорбента, центрифугировали 30 с при 10000 об/мин и удаляли надосадочную жидкость. Инкубировали в термостате (60 °С, 10–15 мин), затем приливали 70 мкл ТЕ-буфера. Концентрацию и чистоту выделения ДНК оценивали на спектрофотометре «Nano-Drop-2000» («ThermoScientific», США) спектрофотометрически при 260 и 280 нм. Отношение ОД₂₆₀/ОД₂₈₀ характеризовалось равенством или же превышало 1.8.

Таблица 2.2.

Сравнительная характеристика проанализированных биоматериалов.

№	Биоматериал	объем	Объем раствора ДНК, мкл	Концентрация ДНК, нг/мкл	Отношение ОД ₂₆₀ /ОД ₂₈₀
1	Слюна	1-2 мл	70 -90	250 -280/мкл	1.8-1.9
2	Периферическая кровь	100 200 мкл	50-60	20-40 / мкл	1.8-2.2

Проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР)

ПЦР проводилась с использованием программируемых термоциклеров фирмы «Applied Biosystems» (США) и Corbet (Rotor-Gene, QUAGEN, Германия).

Характеристика изученных полиморфных вариантов генов и последовательности олигопраймеров приведены в таблице 2.2.4.3.1.

Амплификацию фрагменты гена TNF-α проводили на программируемом термоциклере фирмы “Applied Biosystems”, США при следующих условиях предварительная денатурация – 95⁰С (7 мин), 40 циклов

амплификации: 95⁰С (1 мин) – денатурация, 59⁰С (1 мин) – отжиг праймеров, 72⁰С (1 мин сек) – элонгация, и заключительный синтез 72⁰С (3 мин).

Таблица 2.3.

**Список олигонуклеотидных праймеров использованных
для проведения ПЦР**

Ген	Полиморфизм	Структура олигопраймеров
TNF- α	rs1800629	F: 5' AATAGGTTTTGAGGGCCATG-3' R: 5' ATCTGGAGGAAGCGGTAGTG-3'
IL-1 β	rs1143634	F: 5' CTCAGGTOTCCTCGAAGAAATCAAA-3' R: 5' GCT TTT TTG CTG TGA GTC CCG-3'
IL-1 β	rs16944	5-TGGCATTGATCTGGTTCATC-3, 5-GTTTAGGAATCTTCCCACTT-3
IL-1 β	rs1143627	5'-AGA AGC TTC CAC CAA TAC T-3 5'-TAG CAC CTA GTT GTA AGG A-3'

Гидролиз ПЦР-фрагментов

Амплифицированные фрагменты ДНК гидролизировали проводился согласно инструкциям фирм-изготовителей («NEB», США; «Сибэнзим», Новосибирск). ПЦР-продукты гидролизировали эндонуклеазами рестрикции (табл. 2) при 37⁰С в течение 16 часов в 15 мкл реакционной смеси, содержащей 5 мкл амплификата, 8.5 мкл воды, а также 1.5 мкл 10-кратного буфера и 5-10 ед. (0.25-1.0 мкл) рестриктазы. Полноту гидролиза оценивали по результатам электрофореза в ПААГ или агарозном геле.

Электрофорез

Продукты амплификации и рестрикции разделяли в 7,5% не денатурирующем полиакриламидном геле, приготовленном на трис-боратном буфере (ТБЕ) в аппарате для вертикального электрофореза. Для того чтобы получить 30% раствора акриламида, мы смешивали 29 гр. акриламида с 1 гр. N,N-метилен-бис-акриламида, и после растворяли полученную смесь в дистиллированной воде объемом 100 мл. Далее готовили 10-кратный раствор ТБЕ, путем растворения 54 гр. триса, 27,5 гр. борной кислоты и 20 мл 0,5М ЭДТА pH8,0 в 0,5л дистиллированной воды. Для приготовления 20 мл 7,5% полиакриламидного геля смешивали 5 мл 30% акриламида, 2 мл 10-кратного ТБЕ, дистиллированной воды (13 мл), 10% раствора персульфата аммония (200 мкл) и тетраметилэтилендиамина (25 мкл). Перед заливкой раствор тщательно перемешивали. Для нанесения проб использован буфер, содержащий 0,25% бромфенолового синего, 15% фикола и 0,25% ксиленцианола.

Электрофорез проводили в 1-кратном ТБЕ при напряжении электрического поля 120 В, до тех пор пока образцы полностью не входили в гель, и при этом от лунок не проходили около 1 см. После этого напряжение увеличивали до 180-200 В и останавливали электрофоретическое разделение, когда до выхода маркера (бромфенола) из геля оставалось 3-7 см.

Гель окрашивали водным раствором бромистого этидия (0,5 мкг/мл), просматривали в ультрафиолетовом свете на приборе для электрофореза «UVT-1» («Biosom», Россия).

После окончания электрофореза гель переносили на стекло трансиллюминатора «UVT-1» («Biosom», Россия) и просматривали в ультрафиолетовом свете. Для документирования результата гель

регистрировали с помощью видеосистемы, соединенной с компьютером.

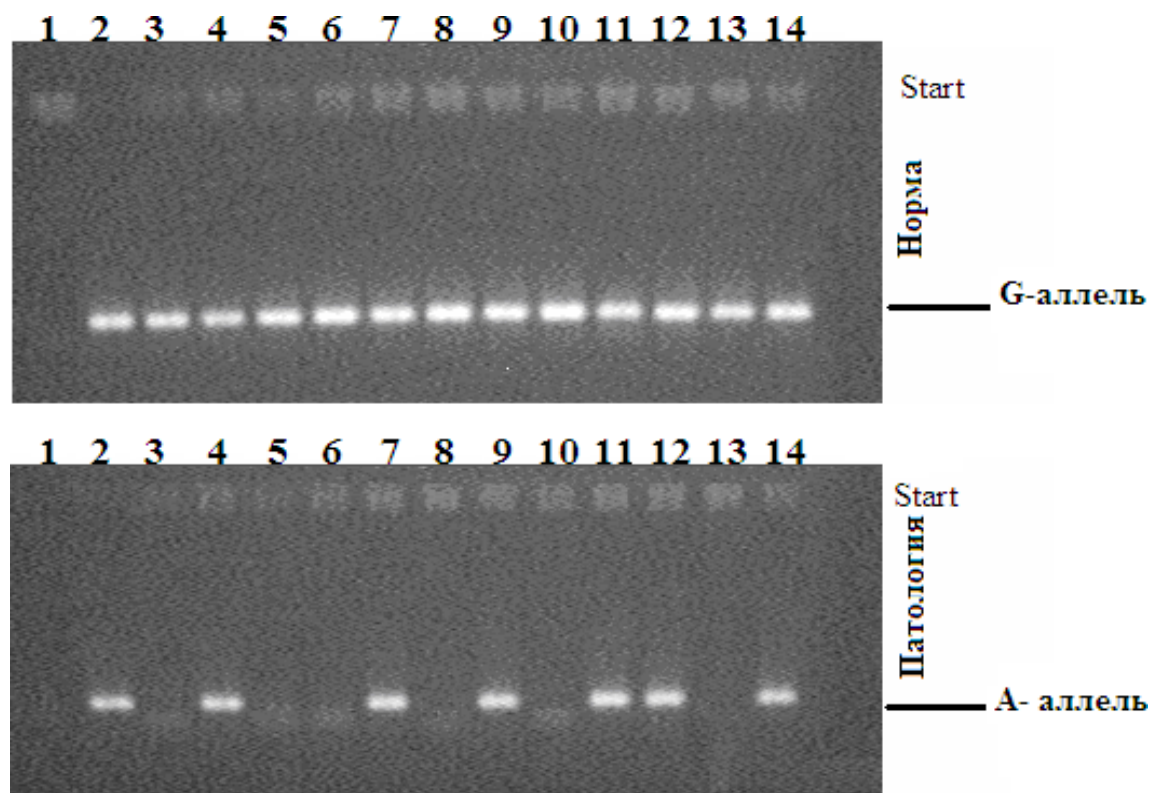


Рис. 2.2.4.5.1. Электрофореграмма детекции полиморфизма (G-308A) гена фактора некроза опухоли TNF- α (rs1800629).

Клинико-инструментальные исследования проведены в клинике Ташкентского стоматологического института, микробиологические и молекулярно-генетические исследования выполнены в лаборатории микробиологии и отделе молекулярной медицины и клеточных технологий НИИГ и ПК МЗ РУз в 2017-2018гг.

2.2.5. Методы статистического анализа

Для учета и обработки материала исследования все данные введены в формате Excel. От канонического распределения Харди-Вайнберга (РХВ) отклонения распределений генотипов изученных полиморфизмов ДНК оценивались с помощью компьютерной программы анализа генетических данных “Gene Pop” (“Genetics of Population”).

Коэффициент (OR – odds ratio) рассчитывали с 95% доверительным интервалом (CI – confidence interval), χ^2 и p-значения использовался пакет статистических программ «OpenEpi 2009, Version 2.9».

Относительное отклонение ожидаемой гетерозиготности от наблюдаемой (D) рассчитывали по формуле:

$$D = (h_{obs} - h_{exp}) / h_{exp},$$

где h_{obs} и h_{exp} – ожидаемая и наблюдаемая гетерозиготность, соответственно.

Прогностическая эффективность изученных генетических маркеров (AUC-классификатор) определялась по стандартной формуле:

$$AUC = (Se + Sp) / 2,$$

где чувствительность генетического маркера - Se, а специфичность - Sp. Если показатель $AUC < 0.5$, то маркер – случайный классификатор; $AUC = 0.5 - 0.6$ – плохой; $AUC = 0.6 - 0.7$ – средний; $AUC = 0.7 - 0.8$ – хороший; $AUC > 0.8$ – отличный классификатор.

Сравнение групп наблюдения друг с другом производили с помощью критерия Стьюдента, который дает ответ о достоверности различий сравниваемых групп в форме вероятности (p). Различия считали достоверными при значениях $p < 0.05$.

ГЛАВА III. КЛИНИКО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПАРОДОНТИТОМ

§3.1. Клинические особенности у больных хроническим пародонтитом

Для решения поставленных задач проведено клиническое обследование 141 больных хроническим пародонтитом (ХП), в возрасте от 15 до 70 лет (медиана $34,2 \pm 1,2$ лет). У пациентов ХП в ходе исследования изучены демографические (возраст и пол) показатели, с учетом которого выявлены свои особенности (табл. и рис. 3.1).

Таблица 3.1

Распределение больных ХП по полу и возрасту.

№	Пол больных ХП	Возраст больных ХП			
		15-30 лет	30-45 лет	45-60лет	60-75лет
1	мужской	38	13	8	5
2	женский	34	26	12	5
	Всего (n=141)	72	39	20	10

Из данных, приведенных в таблице 3.1 видно, что ХП среди обследованных пациентов регистрировался с практически одинаковой частотой как у мужчин, так и у женщин.

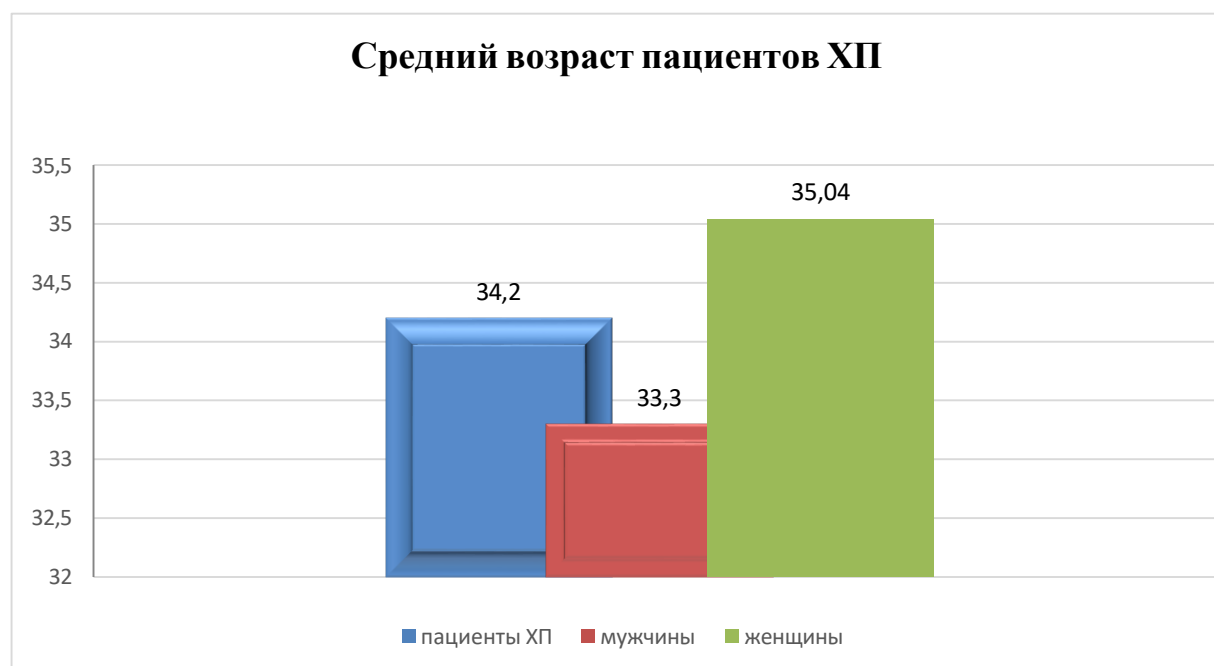


Рис. 3.1. Среднее значение возраста больных ХП

На этапе сбора анамнеза изучение позволило выявить у 78 (55,3%) пациентов наличие очагов хронической инфекции, в частности синуситы у 32 (22,7%), хронический тонзиллит у 46 (32,6%). У пациентов среди всех возрастных категорий выявлены сопутствующие соматические заболевания (патология желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), сахарный диабет (СД) 2-го типа, заболевания сердечно-сосудистой системы (ССС). Чаще всего зарегистрировано наличие заболеваний ЖКТ, что составило 48 (34,0%) среди всех обследованных, из которых количество больных с гастритом составило 16 (11,3%) лиц, с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки 8 (5,7%) человек, с холециститом 9 (6,4%) человек, с колитом 17 (12,1%). Лица с СД 2-го типа составили 12 (8,5%), с заболеваниями сердечно-сосудистой системы (ССС) 23 (16,3%) лиц (рис. 3.2).

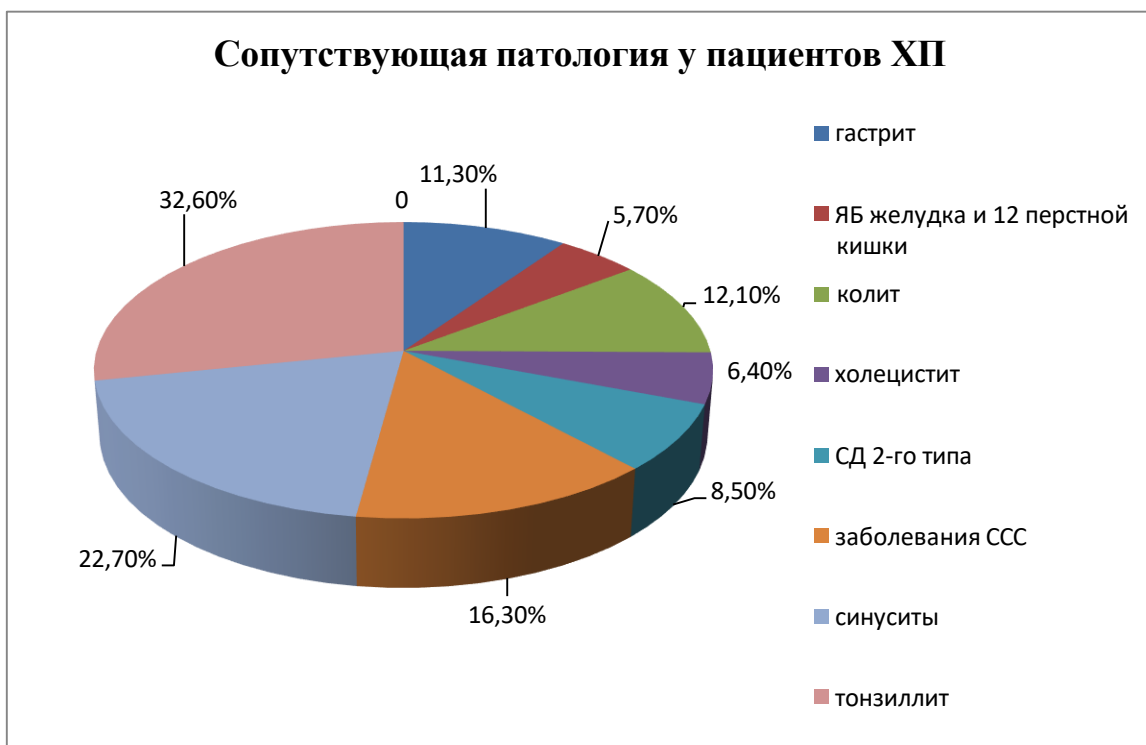


Рис. 3.2. Регистрация у больных ХП хронических очагов инфекции и сопутствующих соматических заболеваний.

Наличие выявленных заболеваний у обследованных в определенной степени выступают в качестве как факторы, способствующие развитию ХП.

При общем осмотре больных пальпировались эластичной консистенции, подвижные несколько чувствительные подчелюстные – у 34 (24,1%) лимфатические узлы, при открытии рта 28 (19,9%) пациента отмечали болезненность в височно-нижнечелюстном суставе.

С учетом интенсивности клинических проявлений и параметров оценки пациенты ХП основной группы распределены на три подгруппы: А – пациенты с легкой степенью тяжести (n= 61), Б - пациенты с тяжелой степенью тяжести (n= 58) и В – пациенты с тяжелой степенью тяжести (n= 22) (табл. 3.2).

Таблица 3.2

Распределение больных ХП по степени тяжести.

№	Подгруппы пациентов ХП	Количество больных ХП		Шанс найти фактор риска в группах:	OR	S	95% ДИ (CI)
		Abs (n)	%				
1	А - легкая степень	61	43.3	(Б-А) 0,699- 0,762	0,916	0,241	0,571-1,470
2	Б – средняя степень	58	41.1				
3	В – тяжелая степень	22 *, **	15.6	(В-А) * 0.185- 0.762	0.242	0.288	0.138-0.426
Всего		141	100	(В-Б) 0.185- 0.699	0.265	0.288	0.150-0.466

Примечание: * достоверно по отношению к А подгруппе, **достоверно по отношению к Б подгруппе.

В группу больных ХП с легкой степенью тяжести (n=61) в основном вошли больные более молодых возрастных групп преимущественно в возрасте от 15 до 40 лет (медиана $28,2 \pm 1,3$ лет), у обследуемых выявлялись наличие очагов хронической инфекции (преимущественно хронический тонзиллит) - 19 (13,5%), гастриты - 6 (4,3%), язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки - 2 (1,4%), холецистит - 2 (1,4%) и колит - 3 (2,1%), а также у обследуемых пациентов этой группы выяснилось наличие ХП у близких родственников у 28 (19,9%). Больные предъявляли жалобы на

кровоточивость десны при чистке зубов, периодически при употреблении твердой пищи, чувство ломоты в области зубов и оголение шеек зубов.

При объективном исследовании слизистая оболочка десен была бледно-розового цвета, отмечена незначительная рецессия десен в пришеечной области передних зубов нижней челюсти. У всех пациентов присутствовали признаки воспаления десны. Подвижность зубов не наблюдали. Глубина пародонтальных карманов варьировала от 3,0 до 4,5 мм. На рентгенологических снимках у пациентов выявлялась деструкция кортикального слоя межальвеолярных перегородок на $\frac{1}{4}$ длины корней, в связи, с чем их вершины притуплялись вследствие начинающейся резорбции кости, образование костных карманов.

В группу больных ХП со средней степенью тяжести (n=58) в основном вошли пациенты, преимущественно в возрасте от 25 до 45 лет (медиана $35,5 \pm 1,8$ лет). У обследуемых выявлялись наличие очагов хронической инфекции - 28 (19,9%), гастриты - 5 (3,5%), язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки - 3 (2,1%) и холецистит – 3 (2,1%), СД 2-го типа - 5 (3,5%), заболевания ССС - 8 (5,7%).

Из анамнеза у 35 (24,8%) больных ХП выяснилось наличие ХП у близких родственников. Больные предъявляли жалобы на кровоточивость десны при чистке зубов, периодически при употреблении твердой пищи, отечность и болезненность десны негативно отражающиеся на общем настроении и состоянии больных. При этом необходимо отметить связь появления симптомов у больных ХП с сезонностью года, в частности в осенне-весенний период.

При профессиональном осмотре у этой категории больных отмечались следующие признаки: обнажение шейки и корня зуба, наличие трем и диастем, подвижность зубов I и II степени Глубина пародонтальных карманов варьировала от 3,5 до 5,5 мм. На рентгенологических снимках выявляли

образование костных карманов, деструкцию межальвеолярных перегородок на $\frac{1}{3}$ и $\frac{1}{2}$ длины корней.

В группу больных ХП с тяжелой степенью тяжести (n=22) вошли больные преимущественно в возрасте от 40 до 70 лет (медиана $47,6 \pm 2,7$ лет). У пациентов этой группы выявлялись наличие очагов хронической инфекции (преимущественно за счет синуситов) - 31(22,0%), гастриты - 5 (3,5%), язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки - 3 (2,1%), холецистит - 4 (2,8%), СД 2-го типа - 7 (5,0%), заболевания ССС -15 (10,6%). Из анамнеза у 35 (24,8%) больных выяснилось наличие ХП у близких родственников.

Для пациентов этой категории была характерна следующая симптоматика: при сборе анамнеза предъявляли жалобы на периодически возникающую кровоточивость десен, чувство ломоты в области зубов обнажение шейки и корня зуба. Сильную чувствительность зубов, наличие трем и диастем. При объективном исследовании слизистая оболочка десен была розово-красно цвета, отмечена рецессия десны в пришеечной области передних и жевательных зубов нижней и верхней челюсти. У всех пациентов присутствовали признаки воспаления. Подвижность зубов II и III степени. Глубина пародонтальных карманов варьировала от 4 до 6,5 мм. На рентгенологических снимках пациентов выявлялась деструкция кортикального слоя межальвеолярных перегородок на $\frac{2}{4}$ длины корней, отчего их вершины притуплялись вследствие резорбции и образования костных карманов.

Проведенное нами обследование позволило выявить данные характерные ХП, а также его связь с сезонностью года, возрастом и сопутствующей патологии. Это доказывает более выраженное проявление симптомов ХП в осенний и весенний периоды, а также частой регистрации хронических очагов инфекции и заболеваний ЖКТ. В ходе клинического профессионального анализа была выявлена тенденция утяжеления поражения тканей пародонта с увеличением возраста. Было установлено, что у больных в

возрасте от 40 до 70 лет подавляющем большинстве случаев (70-80%) у больных ХП имело тяжелое течение. Тяжелое течение заболевания у больных этой возрастной категории указывает на то, что с возрастом ухудшается состояние тканей пародонта, а наличие у этой категории наряду с заболеваниями ЖКТ регистрации ССС и сахарного диабета 2-го типа в свою очередь играют существенную роль в усугублении процессов воспаления и деструкции тканей пародонта.

Таким образом, данные литературы и проведенный профессиональный стоматологический анализ пациентов с ХП свидетельствуют о взаимосвязи формирования заболевания и тяжести его течения с наличием в наследственной предрасположенности и сопутствующими патологиями. Это в свою очередь требует своевременного проведения профилактических мер (санация очагов хронической инфекции, лечение сопутствующих соматических заболеваний, ведение здорового образа жизни) направленных на предотвращение развития и поддержания воспалительных процессов в пародонте.

§ 3.2. Микробиологические особенности у больных хроническим пародонтитом

В стоматологии общепризнанной является значимость бактериального компонента в инициировании и разворачивании патологических процессов десневых тканей. Множество работ посвящено изучению проблемы поддержания нормальной флоры полости рта и коррекции нарушенного микробиоценоза ротовой полости при пародонтитах [17].

Нормальную микрофлору полости рта составляют как простейшие и грибы, так бактерии и вирусы. Однако следует отметить, что среди всей этой разнообразной микрофлоры преобладают бактериальные микробиоценозы, имеющие важнейшее значение в регуляции микробного гомеостаза данного биотопа. Рядом проведенных исследований показано, что в нормальных

условиях до 90% микрофлоры ротовой полости представлены облигатными анаэробными видами бактерий, число которых доходит до двухсот [21]. В то же время по данным О.А. Зориной (2011) среди всего спектра анаэробов наиболее патогенными признаны: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* и *Bacteroides forsythus* [22]. Тогда как при патологии пародонта значительные изменения начинает претерпевать как спектр облигатной анаэробной флоры, так и состав представителей аэрофильной флоры. В отношении анаэробов специалистам - стоматологам предоставлен огромное количество исследовательских данных. Так патологический механизм заболеваний десны протекающий с вовлечением бактериального компонента изучен достаточно подробно с разных позиций, но следует отметить, что в отношении аэробной части данного биотопа ситуация представлена крайне малым числом фундаментальных исследований, а имеющиеся сведения, в целом, носят скудный и разобщенный характер [31].

На фоне вышеизложенного, была проведена микробиологическая часть исследования, которая позволила получить определенные данные, касающиеся состояния аэробной бактериальной микрофлоры у пациентов с ХП, и провести их анализ.

На начальном этапе бактериологического исследования была проведена оценка распределения аэробной флоры у лиц с ХП, в зависимости от степени тяжести заболевания. 1-ю группу составили лица с легкой степенью патологии (n=36); 2-ю группу – пациенты со средней степенью тяжести (n=34); и 3-ю – больные с тяжелой степенью течения ХП (n=21).

Культивирование материала, полученного от больных с различным характером интенсивности основного заболевания, привело к получению и дифференцированию следующих видов бактерий: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. Наряду с указанными видами микроорганизмов, также была выявлена и прочая флора, которая включала: протеи, нейссерии (сапрофитные), стрептококки альфа-

типа, грибы рода *Candida*, т.е. микроорганизмы, роль которых в формировании патологических бактериальных ассоциаций, по данным литературы, подвергается сомнению [32, 36].

В ходе проведения исследования выявлено, что у 12,4% всех обследованных обнаруживался золотистый стафилококк (*St. aureus*), рассматриваемый в качестве одного из ведущих агентов, индуцирующих развитие пародонтита. При этом, необходимо отметить, что большинство штаммов *St. aureus* было выращено из материала, полученного от больных с тяжелой степенью ХП (28,6%). Так *St. aureus* был высеян у 6 пациентов с тяжелым течением основного заболевания, что составляет 2/3 от общего числа выявления этого вида бактерий среди всех трех групп обследованных. Здесь же обнаруживается, что между больными с легкой (2,8%) и средней (5,9%) степенью тяжести ХП не приходится судить о принципиальном различии, несмотря на статистическую достоверность разницы, т.е. был выявлен один и два штамма *St. aureus*, соответственно (таблица 3.3).

Таблица 3.3

Распределение бактерий представителей аэробной микрофлоры у больных с ХП, в зависимости от степени тяжести заболевания (А, Б).

А.

Наименование микроорганизма	I гр.	II гр.	Шанс (II-I)	OR	S	95% ДИ (CI)
	Легкая степень (abs, %) (n=36)	Средняя степень (abs, %) (n=34)				
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 (2,8%)	2 (5,9%)	0.063-0.029	2.188	1.249	0.189-25.296
<i>Klebsiella pneumonia</i>	3 (8,3%)	4 (11,8%)	0.133-0.091	1.467	0.804	0.303-7.096

Escherichia coli	3 (8,3%)	4 (11,8%)	0.133-0.091	1.467	0.804	0.303-7.096
Pseudomonas aeruginosa	1 (2,8%)	2 (5,9%)	0.063-0.029	2.188	1.249	0.189-25.296
Прочая флора	3 (8,3%)	2 (5,9%)	0.063-0.091	0.688	0.946	0.108-4.390

Б.

Наименование микроорганизма	I гр.	III гр.	Шанс (III-I)	OR	S	95% ДИ (CI)
	Легкая степень (abs, %) (n=36)	Тяжелая степень (abs, %) (n=21)				
Staphylococcus aureus	1 (2,8%)	6 (28,6%) *	0.400-0.029	14.000	1.123	1.549-126.572
Klebsiella pneumonia	3 (8,3%)	4 (19,0%)	0.235-0.091	2.588	0.820	0.519-12.913
Escherichia coli	3 (8,3%)	3 (14,3%)	0.167-0.091	1.833	0.867	0.335-10.038
Pseudomonas aeruginosa	1 (2,8%)	4 (19,0%)	0.235-0.029	8.235	1.156	0.854-79.447
Прочая флора	3 (8,3%)	2 (9,5%)	0.105-0.091	1.158	0.957	0.177-7.559

Как видно из данных, приведенных в таблице 3.3, *Klebsiella pneumonia* присутствовала в материале у 13,0% обследованных пациентов. При этом, в группе с легкой степенью тяжести ХП (8,3%) выявлено 3 штамма *Klebsiella*

pneumoniae, а в группах лиц с ХП средней (11,8%) и тяжелой степени (19,0%) было обнаружено по 4 штамма данного микроорганизма. На фоне значительного отличия численности обследованных в первой и третьей группах пациентов, обнаруживается ощутимый рост встречаемости *Klebsiella pneumoniae* от менее к более тяжелой степени пародонтита, с высокой степенью достоверности.

Напротив, при общей доле от числа всех возбудителей составляющей 11,5%, *Escherichia coli* высевалась достаточно равномерно во всех трех исследуемых группах больных. Кишечная палочка была идентифицирована у 3 (8,3% пациентов с легкой) и у 3 (14,3%) человек с тяжелой степенью заболевания. У 4 (11,8%) обследованных больных второй изучаемой группы также была высеяна *E.coli*, что не может рассматриваться как весомый аргумент в пользу значимости данного возбудителя в этиологии и степени тяжести протекания пародонтита. В то же время, нельзя исключать роли этих бактерий в синергичном патогенном влиянии на течение ХП в совокупности с вирулентными представителями других семейств микроорганизмов.

Изучение присутствия *Pseudomonas aeruginosa* указывает, что данный микроорганизм был выявлен у 9,2% из общего числа обследованных пациентов. Для данной инфекции была характерна картина, схожая с таковой при обнаружении золотистого стафилококка. Здесь также имеет место рост количества обнаруживаемых штаммов синегнойной палочки с увеличением степени тяжести хронического пародонтита. Так, если в группе с легкой степенью пародонтита *Pseudomonas aeruginosa* обнаружилась только у 1 (2,8%) больного; во второй группе у 2 (5,9%) пациентов, то в группе с тяжелым течением ХП данный вид бактерий высеялся уже у 4 (19,0%) обследованных больных. Подобная корреляция встречаемости таких, безусловно, патогенных видов как золотистый стафилококк и синегнойная палочка с тяжестью заболевания, однозначно свидетельствует о важной роли

этих возбудителей в интенсивности течения основного патологического процесса.

Еще 7,9% больных с пародонтитом оказались носителями различных малозначимых для исследуемой патологии бактерий. В частности, у 2 пациентов высеялись штаммы *Streptococci* type-A, у 1 больного штамм *Proteus vulgaris*, еще у 1 больного – *Proteus mirabilis*, а также *Enterococcus* spp – 1 штамм, грибы *Candida* – 1 штамм, *Neisseria sicca* – 1 штамм. При этом, известно, что некоторые из полученных штаммов являются условно патогенными, т.е. при определенных условиях (нарушение нормального спектра биотопа, снижение резистентности организма - "хозяина", массивная аллохтонная миграция и др.) могут оказаться достаточно вирулентными.

Обобщая данные распределения аэробов среди больных с различной степенью тяжести пародонтита, следует подчеркнуть, что идентифицированные виды бактерий, вовлеченных в патологический процесс, обнаруживают определенную закономерность присутствия во всех трех изученных группах пациентов. Так, прослеживается, что среди больных с легкой степенью поражения десен 30,5%, от общего числа лиц, вовлеченных в исследование, явились носителями патогенной (либо условно патогенной) микрофлоры. Среди пациентов, составивших группу со средней степенью тяжести пародонтита, уже 41,2% от общей выборки оказались носителями указанных аэробных бактерий. И наконец, абсолютное большинство пациентов, входящих в состав третьей изучаемой группы – 90,5%, обнаружили присутствие патогенной аэробной микрофлоры в анализируемом материале. Подобное распределение частоты встречаемости исследованных микроорганизмов, несомненно, свидетельствует о важной роли этих бактерий в формировании более тяжело протекающего деструктивного процесса в слоях пародонта. Более того, четко прослеживается, что, среди выявленных представителей аэробной флоры, ведущую роль в формировании

инфекционного бактериального воспаления играют штаммы *Staphylococcus aureus*, присутствующие в слюне и зубном налете 28,6% пациентов с тяжелой степенью пародонтита, что составляет едва ли не третью часть от их общего числа.

Следующим этапом исследования по оценке роли аэробной микрофлоры полости рта в усугублении течения ХП, явилось изучение предполагаемого наличия возрастных особенностей в репрезентации выявляемых штаммов. В частности, все больные (n=91), задействованные в приводимом исследовании, были распределены на 5 относительно равноценных возрастных групп. Таким образом, I –ю группу составили пациенты в возрастных рамках от 20 до 29 лет (n=25); II –ю группа больных была в возрастных пределах от 30 до 39 лет (n=21); III –ю группу составили лица с пародонтитом в возрасте от 40 до 49 лет (n=24); IV –ю группа включала пациентов в возрасте от 50 лет и старше (n=21). Распределение полученных в ходе исследования данных культурального исследования представлено в таблице 3.4

Таблица 3.4

Распределение бактерий представителей аэробной микрофлоры у больных с ХП в различных возрастных группах (А, Б).

А.

Наименование микроорганизма	I гр.	II гр.	Шанс (II-I)	OR	S	95% ДИ (CI)
	20-29 лет (abs, %) (n=25)	30-39 лет (abs, %) (n=21)				
<i>Staphylococcus aureus</i>	4 (16,0%)	2 (9,5%)	0,190-0,105	1.810	0.922	0.297-11.027
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2 (8,0%)	2 (9,5%)	0.087-0.105	0.826	1.047	0.106-6.430

Escherichia coli	2 (8,0%)	3 (14,3%)	0.087-0.167	0.522	0.966	0.079-3.462
Pseudomonas aeruginosae	3 (12,0%)	2 (9,5%)	0.136-0.105	1.295	0.965	0.195-8.589
прочая флора	2 (8,0%)	1 (4,8%)	0.087-0.050	1.739	1.262	0.146-20.647

Б.

Наименование микроорганизма	I гр.	III гр.	Шанс (III-I)	OR	S	95% ДИ (CI)
	20-29лет (abs, %) (n=25)	40-49лет (abs, %) (n=24)				
Staphylococcus aureus	4 (16,0%)	2 (8,3%)	0.091-0.190	0.477	0.918	0.079-2.886
Klebsiella pneumoniae	2 (8,0%)	3 (12,5%)	0.143-0.087	1.643	0.961	0.250-10.815
Escherichia coli	2 (8,0%)	3 (12,5%)	0.143-0.087	1.643	0.961	0.250-10.815
Pseudomonas aeruginosae	3 (12,0%)	1 (4,2%)	0.043-0.136	0.319	1.193	0.031-3.302
прочая флора	2 (8,0%)	2 (8,3%)	0.091-0.087	1.045	1.044	0.135-8.083

Как следует из представленных цифр, в первой возрастной группе (20-29 лет) наблюдается наибольшая пораженность пародонта бактериями Staphylococcus aureus, а именно у 4 (16%) из 25 обследованных лиц был выделен этот вид. Далее, в последующих возрастных группах, встречаемость указанного стафилококка значительно убывает до 1-2 случаев в группе.

Анализируя ситуацию со *St. aureus* в целом, можно заметить, что у 9 из 44 лиц с нарушенным бактериальным фоном, т.е. почти у 20% больных в исследуемом материале были обнаружены колонии золотистого стафилококка. В то же время, в пересчете на всех задействованных в исследовании пациентов это составляет 9,9% от общего количества лиц.

Интересным для анализа видового распределения бактериальных возбудителей является то обстоятельство, что самым распространенным видом, как суммарно среди обследуемых (12,1%), так и в IV возрастной группе (50 лет и старше) оказалась *Klebsiella pneumoniae*. Указанный вид бактерий, будучи условно патогенным, зачастую проявляет свои патогенные свойства в условиях снижения резистентности организма к представителям аллохтонной микрофлоры. В этой связи, логично допустить, что клебсиелла в данной ситуации, более вероятно является патогеном, получившим возможность нарастить свою долю в общем бактериальном пуле, присущем тканям пародонта, как следствие снижения общего и местного иммунитета пациента, страдающего хроническим пародонтитом. И менее вероятно, что *Klebsiella pneumoniae* сама явилась первичным этиологическим фактором развития пародонтита у этой группы обследуемых пациентов.

Несколько схожая картина наблюдалась при оценке распространенности другого представителя семейства бактерий кишечной группы – кишечной палочки (*E. Coli*). Известно, что *E. coli* также, как и *Klebsiella pneumoniae*, принадлежит к условно патогенной группе бактерий. И также, вероятно, не является ведущим этиологическим фактором развития пародонтита. Как можно судить из приведенных в таблице 3.2.2. данных, между отдельными возрастными группами какой-либо четко направленной тенденции к росту или снижению распространенности этого вида не прослеживается. Так, в первой и последней возрастных группах, *E. coli* высевалось по 2 образца, а во второй (30-39 лет) и третьей (40-49 лет) группах идентифицировалось по 3 штамма *Escherichia coli*. Однако, в целом, наблюдается достаточно высокий процент

встречаемости кишечной палочки в материале, полученном от исследуемых, который составил 11% от общего числа пациентов.

Присутствие *Pseudomonas aeruginosa* в анализируемом материале удалось обнаружить во всех четырех группах обследуемых. Так, наибольшее число случаев синегнойной палочки (3 штамма) было идентифицировано в группе пациентов 20-29 лет. В группе людей 30-39 лет высеялся 1 штамм, и в III, IV группах, т.е. 40-49 лет и 50 лет и более, обнаружено по 2 клинических штамма псевдомонады. В сумме все идентифицированные штаммы составили 7,7% от общего количества обследованных пациентов. Также, как и в случае со *St. aureus*, поражение синегнойной палочкой было характерно преимущественно более молодой возрастной группе, что, вероятно, связано с принадлежностью этих бактерий к безусловно вирулентным микроорганизмам, которые выступали в качестве этиологического фактора возникновения патологии пародонта. Кроме того, косвенным подтверждением данного суждения служит тот факт, что условно патогенные *Klebsiella pneumonia* и *E. coli* не являются настолько патогенными, чтобы инициировать хронический воспалительный процесс в организме молодых лиц, чья иммунная система вполне состоятельна для подавления условно патогенных бактерий.

Различные микроорганизмы, объединенные в подгруппу "прочая флора", были идентифицированы у 7 пациентов из 91 вовлеченных в исследование, что составило 7,7%. При этом, разброс бактерий "прочей" микрофлоры среди различных возрастных групп не обнаруживал тенденции к превалированию в какой-либо возрастной группе, т.е. в каждой группе было по 1-2 пациенту с наличием указанных микроорганизмов в исследуемом материале. Логично было бы предположить, что микроорганизмы, составившие эту группу, относят к так называемой "присоединившейся инфекции", которая, с высокой степенью вероятности, сама по себе не является этиологическим компонентом изучаемого заболевания.

Анализируя данные возрастного распределения всех выделенных в микробиологическом исследовании штаммов, целесообразно было бы подытожить следующее: в возрастной группе 20-29 лет – 52,0% исследуемых, в возрастной группе 30-39 лет – 47,6% больных, в III - ей возрастной группе – 45,8% человек, в IV –ой группе – 47,6% от общего числа пациентов оказались носителями упомянутых бактериальных штаммов, причем, от общего числа привлеченных к анализу пациентов с ХП у 44 человек (48,4%) было выявлено наличие того или иного инфекционного возбудителя, относящегося к представителям аэробной флоры. У оставшихся 51,6% больных, задействованных в исследовании, аэробов выявлено не было.

В заключении необходимо указать, что данные полученные в проведенном исследовании, несмотря на определенную значимость, обязательно должны рассматриваться в общем контексте понимания жизнедеятельности бактериального сообщества ротовой полости, которая носит целостный характер, где микробные колонии "био пленки" являются своеобразными "суперорганизмами", и роль анаэробных бактерий, спирохет, простейших и вирусных включений в которых, переоценить довольно сложно.

Таким образом, проведенный анализ результатов комплексного стоматологического и микробиологического исследований у пациентов с ХП указывает на то, что развитие заболевания и степень тяжести его течения во многом зависят, прежде всего, от наследственной предрасположенности, сопутствующих патологий и возраста пациента, которые коррелируют с наличием патогенной микрофлоры полости рта.

Заключение

Данный раздел исследования посвящен описанию собственных результатов. В этой главе представлены клинико-стоматологическое обследование пациентов, которое включало оценку жалоб и анамнестических

данных, а также специализированное стоматологическое исследование полости рта, характеризующих состояние пародонта.

Проведенное исследование позволило выявить у 78 (55,3%) пациентов наличие очагов хронической инфекции (синуситы - 22,7%, хронический тонзиллит - 32,6%). Вместе с этим у пациентов среди всех возрастных категорий выявлены сопутствующие соматические заболевания (патология ЖКТ, СД 2-го типа, заболевания ССС).

В группу больных ХП с легкой степенью тяжести (n=61) в основном вошли больные более молодых возрастных (медиана $28,2 \pm 1,3$ лет), у которых часто выявлялись наличие хронического тонзиллита (13,5%). Наряду с этим выяснилось наличие ХП у близких родственников (19,9%).

В группу больных ХП со средней степенью тяжести (n=58) в основном вошли пациенты с медианой возраста $35,5 \pm 1,8$ лет, у обследуемых также чаще всего выявлялись наличие очагов хронической инфекции (19,9%). Из анамнеза у 35 (24,8%) больных ХП выяснилось наличие ХП у близких родственников.

В группу больных ХП с тяжелой степенью тяжести (n=22) вошли больные преимущественно в возрасте от 40 до 70 лет (медиана $47,6 \pm 2,7$ лет), у обследуемых выявлялись наличие очагов хронической инфекции (преимущественно за счет синуситов) (22,0%), у 24,8% больных ХП выяснилось наличие данного заболевания у близких родственников.

Проведенный профессиональный стоматологический анализ пациентов с ХП свидетельствуют о взаимосвязи формирования заболевания и тяжести его течения с наличием наследственной предрасположенности и сопутствующими патологиями.

Микробиологические исследования по изучению микрофлоры полости рта пациентов ХП выявил, что идентифицированные виды бактерий, вовлеченных в патологический процесс, обнаруживают определенную закономерность присутствия во всех трех изученных группах пациентов. Так,

прослеживается, что среди больных с легкой степенью поражения десен 30,5%, от общего числа лиц, вовлеченных в исследование, явились носителями патогенной (либо условно патогенной) микрофлоры. Среди пациентов, составивших группу со средней степенью тяжести пародонтита, уже 41,2% от общей выборки оказались носителями указанных аэробных бактерий. И наконец, абсолютное большинство пациентов, входящих в состав третьей изучаемой группы – 90,5%, обнаружили присутствие патогенной аэробной микрофлоры в анализируемом материале. Подобное распределение частоты встречаемости исследованных микроорганизмов, несомненно, свидетельствует о важной роли этих бактерий в формировании более тяжело протекающего деструктивного процесса в слоях пародонта. Более того, четко прослеживается, что, среди выявленных представителей аэробной флоры, ведущую роль в формировании инфекционного бактериального воспаления играют штаммы *Staphylococcus aureus*, присутствующие в слюне и зубном налете 28,6% пациентов с тяжелой степенью пародонтита, что составляет едва ли не треть часть от их общего числа.

Анализируя данные возрастного распределения всех выделенных в микробиологическом исследовании штаммов, целесообразно было бы подытожить следующее: в возрастной группе 20-29 лет – 52,0% исследуемых, в возрастной группе 30-39 лет – 47,6% больных, в III - ей возрастной группе – 45,8% человек, в IV –ой группе – 47,6% от общего числа пациентов оказались носителями упомянутых бактериальных штаммов, причем, от общего числа привлеченных к анализу пациентов с ХП у 44 человек (48,4%) было выявлено наличие того или иного инфекционного возбудителя, относящегося к представителям аэробной флоры. У оставшихся 51,6% больных, задействованных в исследовании, аэробов выявлено не было.

ГЛАВА IV.

ОЦЕНКА АССОЦИАТИВНОЙ СВЯЗИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА

Одной из поставленных задач настоящего исследования явился поиск генетических факторов, предрасполагающих формированию хронического пародонтита. Из литературных данных известно [10, 70, 178], что в развитии воспалительных процессов в организме весомую роль имеют фактор некроза опухолей (TNF α) и интерлейкины, в частности IL-1 β , уровни которых в зависимости от степени выраженности воспалительных процессов могут меняться.

В связи с этим, мы провели исследования:

- 1) изучение распределения полиморфных вариантов генов TNF- α (rs1800629) и IL-1 β (rs1143634, rs16944, rs1143627) в группе больных ХП и контроле;
- 2) анализ и оценка вклада генотипических вариантов полиморфизмов этих генов в развитии и клиническом течении хронического пародонтита;
- 3) на основании расчета прогностической эффективности исследуемых генетических маркеров изучить роль этих генов в развитии хронического пародонтита.

Для анализа распределения частот аллелей и генотипов полиморфизмов генов TNF- α (rs1800629) и IL-1 β (rs1143634, rs16944, rs1143627) в исследуемой группах проверяли их распределение по исследованным полиморфным локусам на соответствие РХВ с помощью точного теста Фишера в выборочной группе из 105 практически здоровых лиц (210 неродственных хромосом) и 138 (274 неродственных хромосом) больных хроническим пародонтитом (А подгруппа - легкая степень ХП (n= 61); Б подгруппа - средняя степень ХП (n=56), В подгруппа - тяжелая степень ХП (n=21).

§ 4.1. Анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- α в группах больных хроническим пародонтитом и контроле

Результаты распределения частоты аллеля G полиморфизма rs1800629 гена TNF- α в основной группе составила 94,9%; в А подгруппе – 95,9%; в Б подгруппе – 94,6%; в В подгруппе – 92,8%, а в контрольной группе этот показатель был несколько выше (98,6%). Частота аллеля А изучаемого гена в основной группе составила в среднем 5,1%, а в контрольной группе она оказалась ниже (1,4%). Эти результаты указывают на то, что в основной группе дикий аллель G встречается несколько реже чем в контрольной, тогда как неблагоприятный аллель А наоборот чаще наблюдался в основной группе больных ($\chi^2=4,7$; $P=0,03$; $OR=3,7$; $95\%CI=1,04-13$) (смотрите Таблицу 4.1 и Рисунок 4.1).

Таблица 4.1

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- α в основной и контрольной группах

Группа		Частота аллелей				Частота распределения генотипов TNF- α					
		G		A		G/G		G/A		A/A	
		п	%	п	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
1	Основная группа (n=138)	262	94.9	14	5.1	124	89.9	14	10.1	0	0.0
A	Легкая ст. ХП (n=61)	117	95.9	5	4.0	56	91.8	5	9.0	0	0.0
Б	Средняя ст. ХП (n=56)	106	94.6	6	5.3	50	89.2	6	10.7	0	0.0
В	Тяжелая ст. ХП (n= 21)	39	92.8	3	7.1	18	85.7	3	14.3	0	0.0
2	Контрольная группа (n=105)	207	98.6	3	1.4	102	97.1	3	2.9	0	0.0

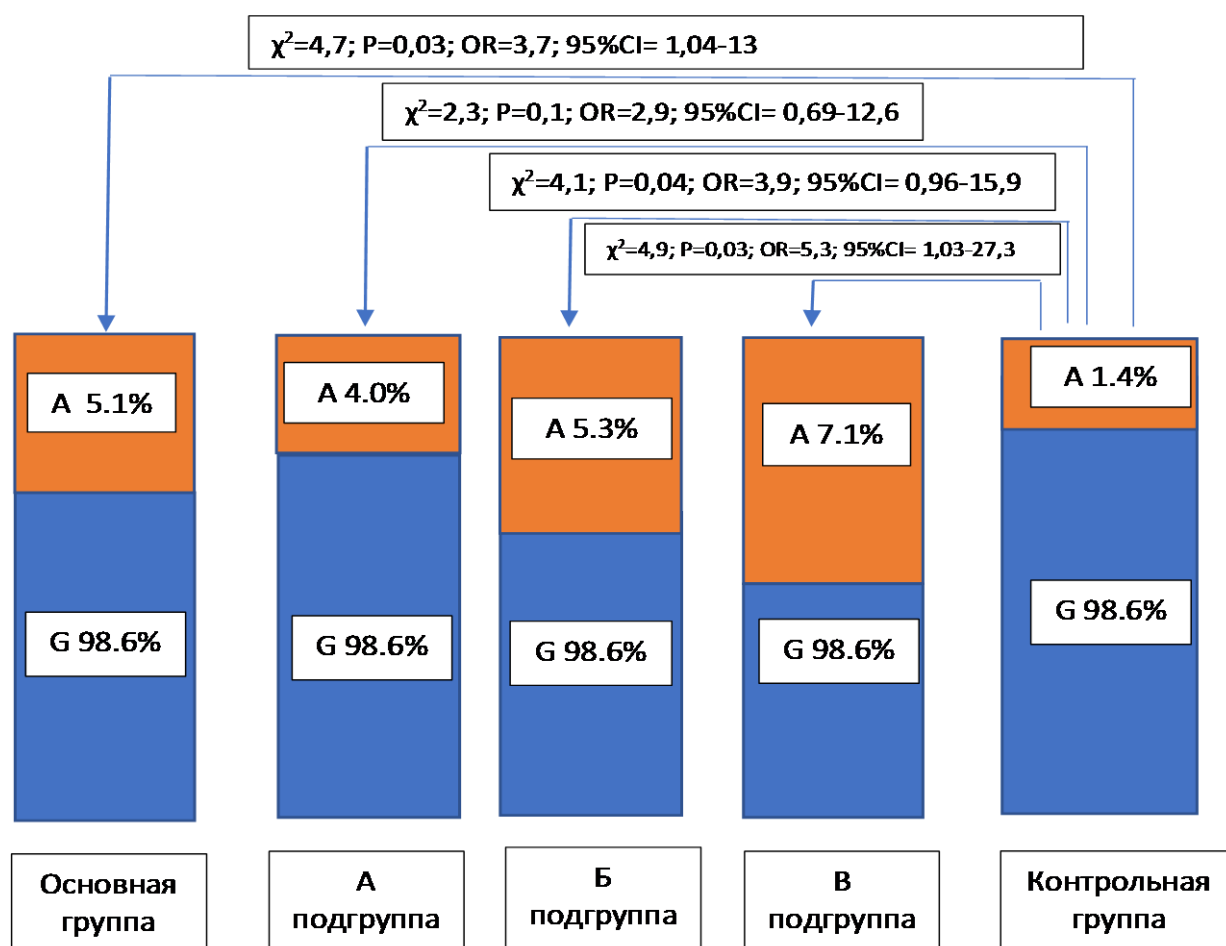


Рис. 4.1. Частота встречаемости аллелей полиморфизма rs1800629 гена TNF- α в группе больных ХП и контроле.

Частота неблагоприятного генотипа A/G (10,1% против 2,9%; $\chi^2=4,7$; $P=0,03$; $OR=3,8$; $95\%CI=1,07-13,73$) превышала таковую в контрольной группе (2,9%), тогда как частота генотипа G/G в основной и в контрольной составили 89,9% против 97,1%. При этом следует отметить, что в исследуемых группах не выявлены гомозиготы по мутантному аллелю. (смотрите Таблицу 4. 2 и Рисунок 4. 2).

Таблица 4.2

Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма
rs1800629 гена TNF- α в основной и контрольной группах

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	P	RR	OR	95% CI
	Основная группа	Контроль					
G	262	207	4.7	0.03	3.5	3.7	1.04- 13
A	14	3					
G/G	124	102	4.7	0.03	3.5	3.7	0.072- 0.93
G/A	14	3	4.7	0.03	3.5	3.8	1.07-13.73
A/A	0	0	-	-	-	-	-

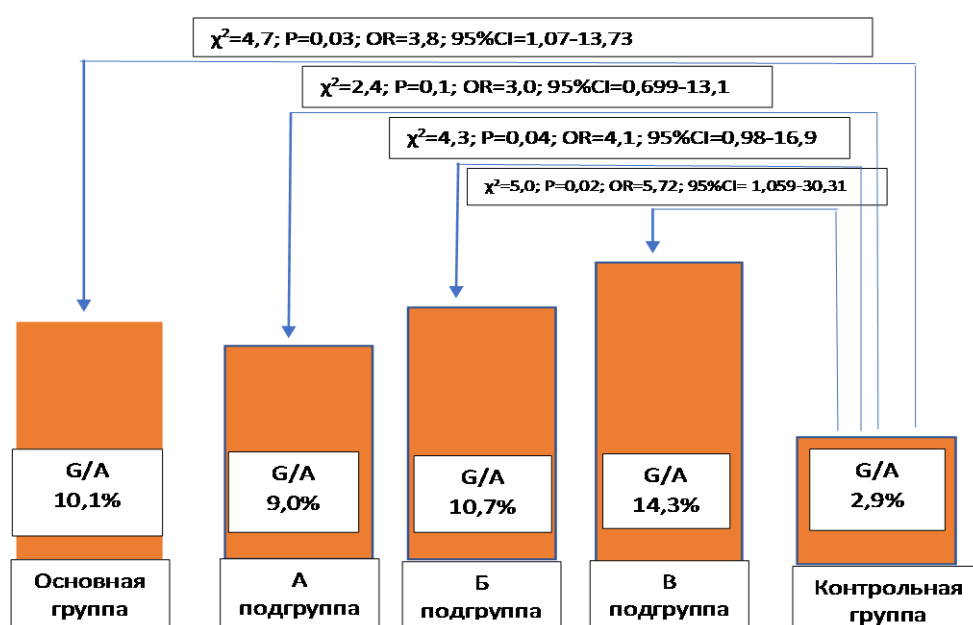


Рис. 4.2. Частота встречаемости генотипа G/A полиморфизма rs1800629
гена TNF- α в группе больных ХП и контроле.

Согласно данным приведенным в таблице 4.2 очевидно, что различия в частоте встречаемости аллелей G и генотипов G/G и G/A полиморфизма rs1800629 гена TNF- α между основной и контрольной группой являются статистически значимыми, и, следовательно, риск развития ХП при наличии данного полиморфизма статистически значимо повышается в 3,7 (аллель A) и 3,8 (G>A) раза, соответственно.

Выявлено значимое соответствие наблюдаемых и ожидаемых частот генотипов по РХВ с выбранным уровнем значимости $P=0,5$, при $\chi^2=0,394$. А именно, наблюдаемая частота G/G генотипа в группе больных полностью совпадает с ожидаемой частотой (0,9 и 0,91, соответственно); наблюдаемая частота G/A генотипа в группе больных также совпадает с ожидаемой частотой (0,1 и 0,096, соответственно); значения же наблюдаемой и ожидаемой частоты A/A генотипа в группе больных составили 0,00 и 0,026 соответственно, а различие между наблюдаемой и ожидаемой частотами гетерозигот статистически недостоверны (смотрите Таблицу 4. 3).

Таблица 4.3

Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов по РХВ – полиморфизма rs1800629 гена TNF- α в группе пациентов с хроническим пародонтитом

Аллели	Частота аллелей				
G	0.95				
A	0.05				
Генотипы	Частота генотипов		χ^2	P	Df
	Наблюдаемая	Ожидаемая			
G/G	0.9	0.91	0.001	0.5	1
G/A	0.1	0.096	0.038		
A/A	0.00	0.026	0.355		
Всего	1.00	1.00	0.394		

Таблица 4.4

**Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов по PХВ в
группе контрольной выборке**

Аллели	Частота аллелей				
G	0.99				
A	0.01				
Генотипы	Частота генотипов		χ^2	P	Df
	Наблюдаемая	Ожидаемая			
G/G	0.97	0.97	0,000	0.9	1
G/A	0.03	0.028	0,001		
A/A	0,00	0,002	0,021		
Всего	1,00	1,00	0,022		

Изучение индекса относительного отклонения наблюдаемой (в основной - 0,1; в контрольной -0,03) гетерозиготности от ожидаемой (в основной - 0,096; в контрольной – 0,028) D^* в изучаемых группах показало наличие умеренного избытка гетерозигот ($D^* +0,04$ - в основной и $+0,07$ - в контрольной группе) (смотрите Таблицу 4.5).

Таблица 4.5

Различие между ожидаемой и наблюдаемой частотами гетерозиготности.

Группы	H_o	H_e	D^*
Основная группа	0.1	0.096	+0.04
Контрольная группа	0.03	0.028	+0.07

Примечание: $D = (H_o - H_e) / H_e$

Согласно рассчитанному коэффициенту соотношения шансов OR (смотрите Таблицу 4.6) в подгруппе А, носительство функционального неблагоприятного аллеля А и гетерозиготного генотипа G/A полиморфизма rs1800629 гена TNF- α незначимо увеличивает риск формирования и развития ХП ($\chi^2=2,3$; P=0,1; OR=2,9; 95%, CI=0,692-12,56 и $\chi^2=2,4$; P=0,1; OR=3,0; 95%CI=0,699-13,1, соответственно). При этом имеется тенденция к увеличению неблагоприятных аллеля и генотипа в подгруппе А по сравнению к группе контроля.

Таблица 4.6

Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма 308G>A гена TNF- α в подгруппе А и контрольной группе

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	P	RR	OR	95% CI
	Подгруппа А	Контроль					
G	117	207	2.3	0.1	2.5	2.9	0.692-12.56
A	5	3					
G/G	56	102	2.4	0.1	0.9	0.3	0.075- 1.43
G/A	5	3	2.4	0.1	2.9	3.0	0.699- 13.1
A/A	0	0	-	-	-	-	-

Различия в частоте встречаемости генотипов G/G (OR=0,3; $\chi^2=2,4$; P=0,9; 95% CI=0,075-1,43) и G/A (OR=3,0; $\chi^2=2,4$; P=0,1; 95% CI=0,699-13,1) полиморфизма 308 G>A гена TNF- α между подгруппой А основной группы и контролем являются статистически не значимыми. Генотип G>A повышается более чем в 3,0 раза, однако он остается незначимым в риске развития ХП.

Согласно рассчитанному коэффициенту соотношения шансов OR (смотрите Таблицу 4.8) в подгруппе Б, носительство функционального неблагоприятного аллеля А и гетерозиготного генотипа G/A полиморфизма rs1800629 гена TNF- α незначимо увеличивает риск формирования и развития ХП ($\chi^2=4,1$; P=0,04; OR=3,9; 95%, CI=0.957-15.92 и $\chi^2=4,3$; P=0,04; OR=4,1; 95%CI=0.9798-16.9, соответственно). При этом имеется тенденция к увеличению неблагоприятных аллеля и генотипа в подгруппе Б по сравнению с группой контроля.

Таблица 4.8

Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- α в подгруппе Б и контрольной группе

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	P	RR	OR	95% CI
	Подгруппа Б	Контроль					
G	106	207	4.1	0.04	3.7	3.9	0.957- 15.92
A	6	3					
G/G	50	102	4.3	0.04	0.9	0.2	0.05- 1.02
G/A	6	3	4.3	0.04	3.7	4.1	0.9798-16.9
A/A	0	0	-	-	-	-	-

Согласно рассчитанному коэффициенту соотношения шансов OR (смотрите Таблицу 4.9) в подгруппе В, носительство функционального неблагоприятного аллеля А и гетерозиготного генотипа G/A полиморфизма rs1800629 гена TNF- α значимо увеличивает риск формирования и развития

ХП ($\chi^2=4,9$; $P=0,03$; $OR=5,3$; 95%, $CI= 1.03- 27.26$ и $\chi^2=5,0$; $P=0,02$; $OR=5,7$; 95% $CI=1,059-30,31$, соответственно).

Таблица 4.9

Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- α в подгруппе В и контрольной группе

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	P	RR	OR	95% CI
	Подгруппа В	Контроль					
G	39	207	4.9	0.03	5.0	5.3	1.03- 27.26
A	3	3					
G/G	18	102	5.0	0.02	0.09	0.2	0.032- 0.943
G/A	3	3	5.0	0.02	5.0	5.7	1.059- 30.31
A/A	0	0	-	-	-	-	-

Согласно рассчитанному коэффициенту соотношения шансов OR (смотрите Таблицу 4.10) в подгруппах А и Б, носительство функционального неблагоприятного аллеля А и гетерозиготного генотипа А/Г полиморфизма rs1800629 гена TNF- α почти одинаково в обеих подгруппах ($\chi^2=0,2$; $P=0,6$; $OR=0,6$; 95%, $CI=0.22-2.546$ и $\chi^2=0,2$; $P=0,6$; $OR=0,6$; 95% $CI=0.21- 2.588$, соответственно).

Сравнительный анализ подгрупп А, Б и В показал незначимые различия в частоте аллелей и генотипов данного локуса (смотрите Таблицу 4.11 и 4.12).

Таблица 4.10

**Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма
rs1800629 гена TNF- α в подгруппах А и Б**

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	P	RR	OR	95% CI
	Подгруппа А	Подгруппа Б					
G	117	106	0.2	0.6	0.7	0.6	0.22-2.546
A	5	6					
G/G	56	50	0.2	0.6	0.7	0.6	0.21- 2.588
A/G	5	6					
A/A	0	0	-	-	-	-	-

Таблица 4.11

**Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма
rs1800629 гена TNF- α в подгруппах А и В**

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	P	RR	OR	95% CI
	Подгруппа А	Подгруппа В					
G	117	39	0.6	0.4	0.6	0.5	0.126- 2.43
A	5	3					
G/G	56	18	0.1	0.7	0.7	0.5	0.12- 2.47
G/A	5	3					
A/A	0	0	-	-	-	-	-

Таблица 4.12

**Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма
rs1800629 гена TNF- α в подгруппах Б и В.**

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	P	RR	OR	95% CI
	Подгруппа Б	Подгруппа В					
G	106	39	0.01	0.9	0.4	0.7	0.175- 3.08
A	6	3					
G/G	50	18	0.01	0.9	0.7	0.7	0.162- 3.185
G/A	6	3					
A/A	0	0	-	-	-	-	-

Таким образом, анализ полученных данных распределения частот аллелей и генотипов полиморфизма 308G>A гена TNF- α в изученных группах позволяет предположить о наличии значимого влияния данного локуса в патогенетическом механизме формирования и развития ХП.

**§ 4.2. Анализ распределения частот аллелей и генотипов rs 1143634
полиморфизма гена IL-1 β в группах больных хроническим
пародонтитом и контроле**

Полученные нами результаты распределения частот аллелей и генотипов полиморфизма rs1143634 гена IL-1 β , показали в основной группе больных доля аллеля С составила 77,2%, тогда как в контрольной группе этот показатель составил 81,4%. Частота неблагоприятного аллеля Т в основной группе

составила 22,8%, а в контрольной группе этот показатель был несколько ниже (22,8% против 18,6%, соответственно; $\chi^2=2,1$; $P=0,1$; $OR=1,7$; 95%CI 0,820-3,52) (смотрите Таблицу 4.13 и Рисунок 4.3).

Таблица 4.13

Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs 1143634 гена IL-1 β в группах пациентов и контроля

Группа		Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
		С		Т		С/С		С/Т		Т/Т	
		N	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1	Основная группа (n=138)	213	77.2	63	22.8	82	59.4	49	35.5	7	5.1
A	Легкая ст. ХП (n=61)	98	80.3	24	19.7	39	63.9	20	32.7	2	3.3
Б	Средняя ст. ХП (n=56)	83	74.1	29	25.9	31	55.3	21	37.5	4	7.1
В	Тяжелая ст. ХП (n= 21)	32	76.2	10	23.8	12	57.1	8	38.1	1	4.8
2	Контрольная группа (n=105)	171	81,4	39	18.6	69	65.7	33	31.4	3	2.8

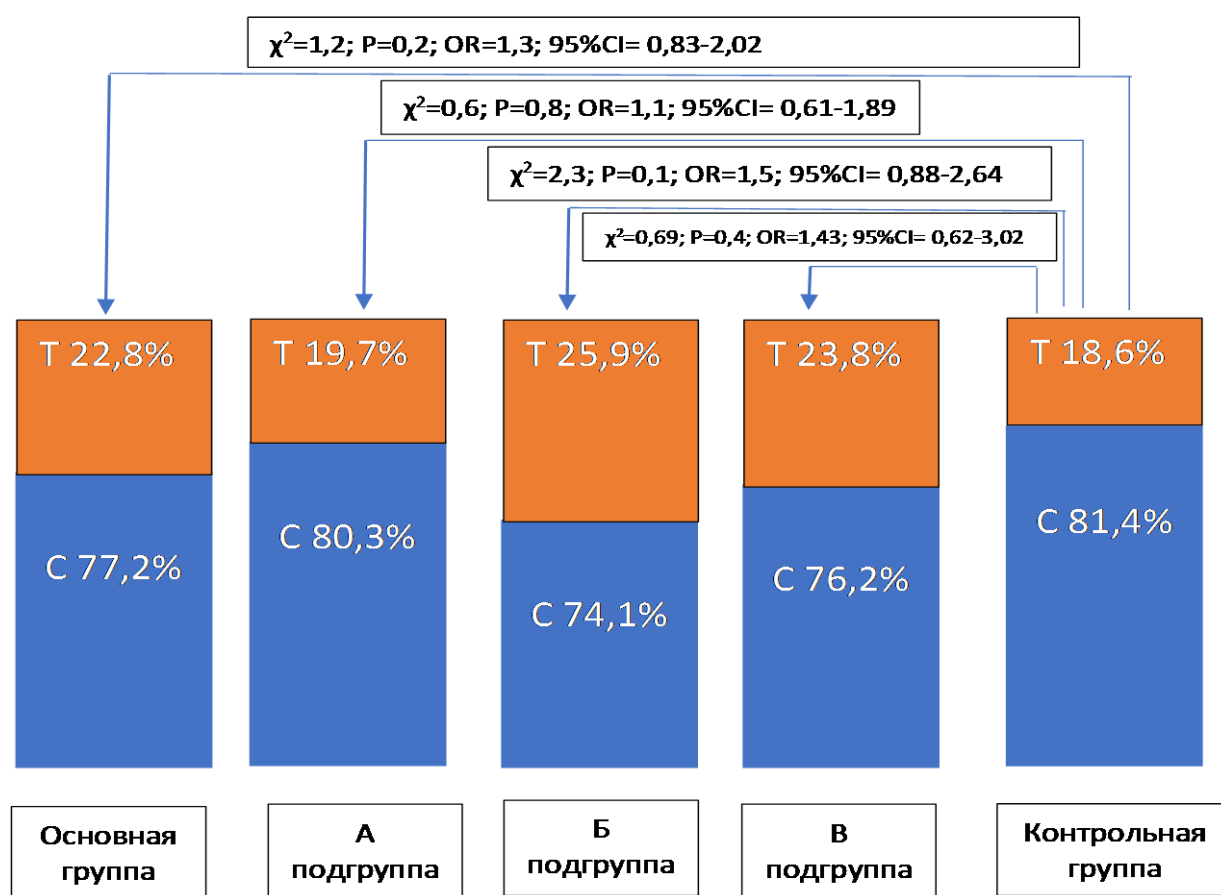


Рис. 4.3. Частота встречаемости аллелей полиморфизма rs 1143634 гена IL-1 β в группе больных ХП и контроле.

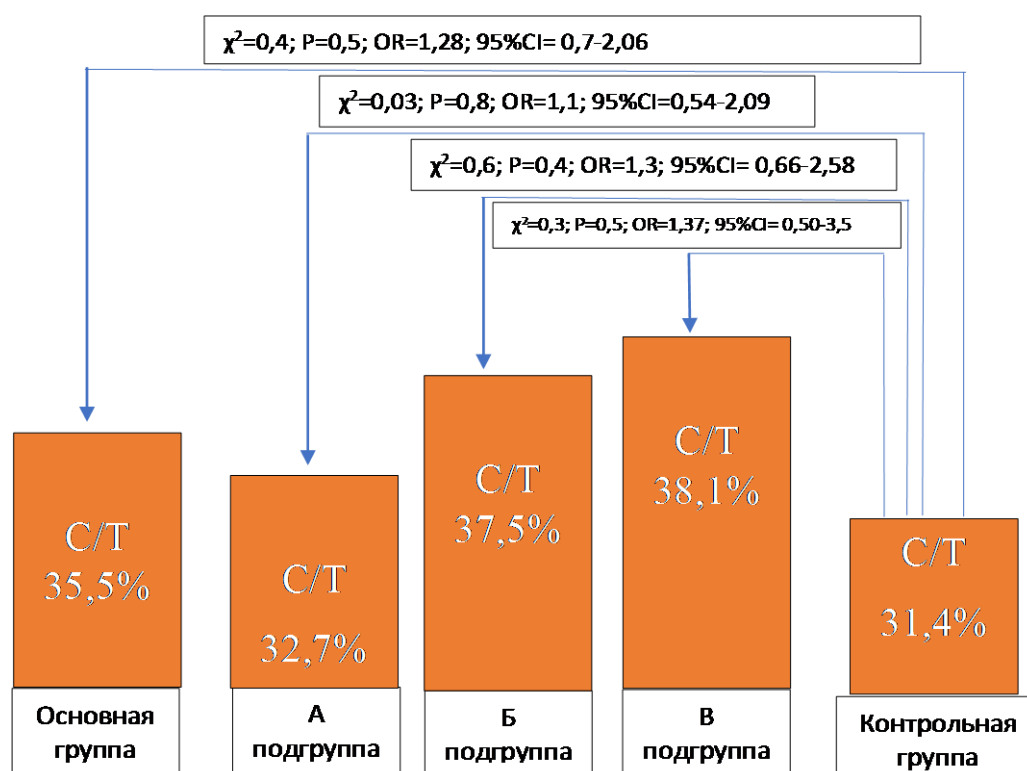
Как в основной, так и в контрольной группах выявлены гомозиготы по мутантному аллелю Т/Т (5,1% против 2,8%, соответственно; $\chi^2=0,7$; $P=0,4$; $OR=1,9$; $95\%CI:0,458-7,2$). В то же время частота генотипа С/Т несколько превышала таковую в контрольной группе (35,5% против 31,4%, соответственно; $\chi^2=0,4$; $P=0,5$; $OR=1,2$; $95\%CI0,70-2,06$). В месте с этим как и ожидалось, частота генотипа С/С в основной группе оказалась ниже в по сравнению к контрольной группе (59,4% против 65,7%, соответственно; $\chi^2=1,0$; $P=0,3$; $OR=0,8$; $95\%CI:0,45-1,29$).

Из приведенных данных очевидно, что неблагоприятные аллель Т и генотип С/Т незначимо повышают риск развития ХП более чем в 1,3 и в 1,2 раза соответственно (смотрите Таблицу 4.14 и Рисунок 4.4 и 4.5).

Таблица 4.14

**Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма
rs 1143634 гена IL-1 β в основной и контрольной группах**

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	P	RR	OR	95% CI
	Основная группа	Контроль					
C	213	171	1.2	0.2	1.2	1.3	0.829- 2.02
T	63	39					
C/C	82	69	1.0	0.3	0.7	0.8	0.45- 1.29
C/T	49	33	0.4	0.5	1.1	1.2	0.70- 2.06
T/T	7	3	0.7	0.4	1.8	1.9	0.458- 7.2



**Рис. 4.4. Частота встречаемости аллелей полиморфизма rs 1143634 гена
IL-1 β в группе больных ХП и контроле.**

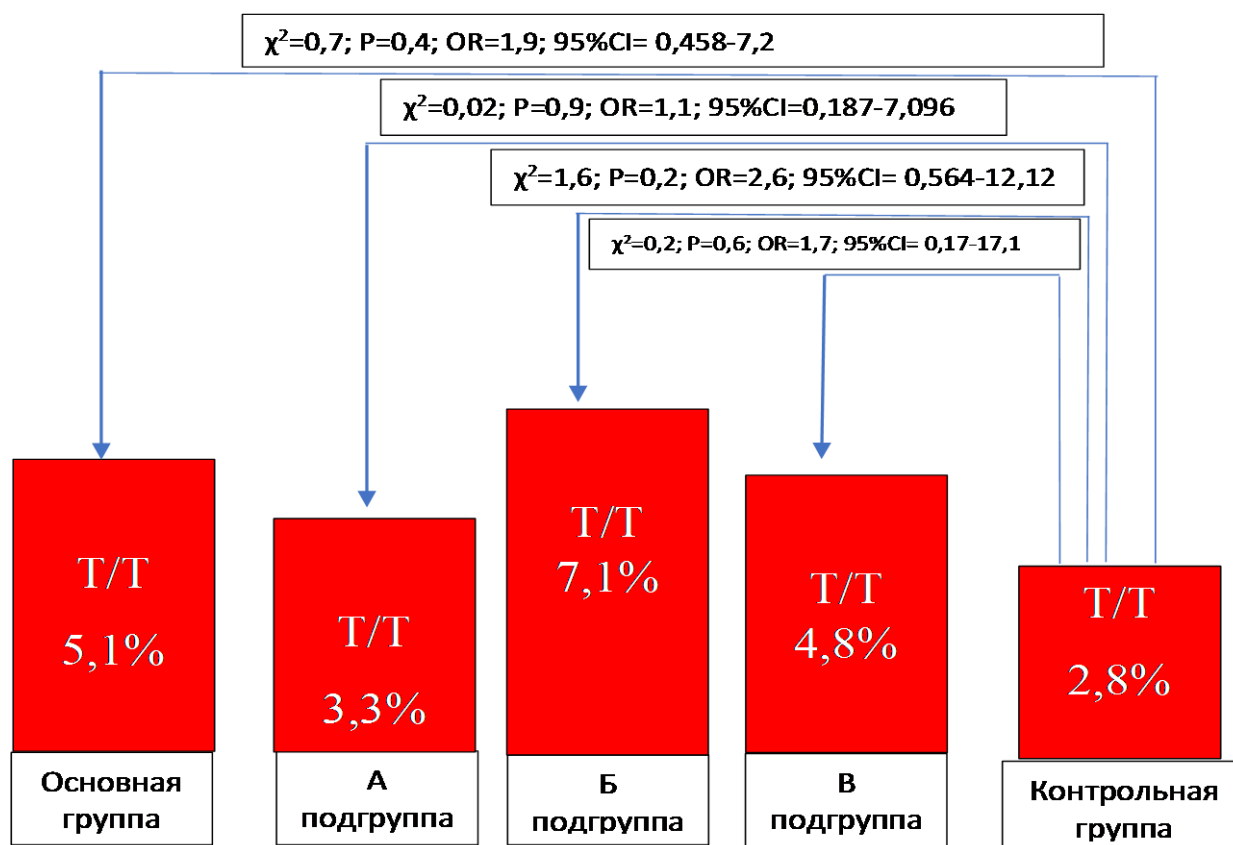


Рис. 4.5. Частота встречаемости аллелей полиморфизма rs 1143634 гена IL-1 β в группе больных ХП и контроле.

Нами выявлено соответствие наблюдаемых и ожидаемых частот генотипов по РХВ с выбранным уровнем значимости $P>0,05$. В частности, наблюдаемая частота (0,59) С/С генотипа в группе больных совпадает с ожидаемой частотой (0,6); наблюдаемая частота (0,36) С/Т генотипа в группе больных полностью совпадает с ожидаемой частотой (0,35); значения же наблюдаемой и ожидаемой частоты Т/Т генотипа в группе больных составили 0,05 и 0,052 соответственно, а различия между наблюдаемой и ожидаемой частотами гетерозигот оказались статистически недостоверными (смотрите Таблицу 4.15).

Статистических достоверных различий в показателях для гомозигот по данному полиморфному варианту также не выявлено

Таблица 4.15

**Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов по PХВ в
группе пациентов с ХП**

Аллели	Частота аллелей				
С	0.77				
Т	0.23				
Генотипы	Частота генотипов		χ^2	Р	df
	Наблюдаемая	Ожидаемая			
С/С	0.59	0.6	0,000	0.9	1
С/Т	0.36	0.35	0,003		
Т/Т	0.05	0.052	0,005		
Всего	1,00	1,00	0,008		

Таблица 4.16

**Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов по PХВ в
группе контрольной выборке**

Аллели	Частота аллелей				
С	0.81				
Т	0.19				
Генотипы	Частота генотипов		χ^2	Р	df
	Наблюдаемая	Ожидаемая			
С/С	0.66	0.66	0,006	0.7	1
С/Т	0.31	0.30	0,049		
Т/Т	0.03	0.034	0,107		
Всего	1,00	100,00	0,161		

Изучение индекса относительного отклонения между ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности D^* в изучаемых группах показало наличие умеренного избытка гетерозигот (D^* в обеих группах составило +0,03) (смотрите Таблицу 4.17).

Таблица 4.17

Различие между ожидаемой и наблюдаемой частотами гетерозиготности.

Группы	H_o	H_e	D^*
Основная группа	0.36	0.35	+0.03
Контрольная группа	0.31	0.30	+0.03

Примечание: $D=(H_o -H_e)/H_e$

В подгруппе А, носительство функционального неблагоприятного аллеля Т, гетерозиготного генотипа С/Т и мутантного генотипа Т/Т полиморфизма rs1143634 гена IL-1 β незначимо увеличивает риск формирования и развития ХП в этой подгруппе (смотрите Таблицу 4.18).

Таблица 4.18

Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма rs1143634 гена IL-1 β в подгруппе А и контрольной группе

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	Р	RR	OR	95% CI
	Подгруппа А	Контроль					
С	98	171	00.6	0.8	1.0	1.1	0.609- 1.891
Т	24	39					
С/С	39	69	0.05	0.8	0.9	0.9	0.478- 1.789
С/Т	20	33	0.03	0.8	1.0	1.1	0.54- 2.09
Т/Т	2	3	0.02	0.9	1.1	1.1	0.187- 7.096

Согласно данным расчета соотношения шансов OR в подгруппе Б, носительство функционального неблагоприятного аллеля Т, гетерозиготного генотипа С/Т и мутантного генотипа Т/Т полиморфизма rs1143634 гена IL-1 β , также незначимо увеличивает риск формирования ХП средней тяжести (смотрите Таблицу 4.19).

Таблица 4.19

Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма rs 1143634 гена IL-1 β в подгруппе Б и контрольной группе

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	Р	RR	OR	95% CI
	Подгруппа Б	Контроль					
С	83	171	2.3	0.1	1.4	1.5	0.88- 2.64
Т	29	39					
С/С	31	69	1.7	0.2	0.8	0.6	0.33- 1.25
С/Т	21	33	0.6	0.4	1.2	1.3	0.66- 2.58
Т/Т	4	3	1.6	0.2	2.5	2.6	0.564- 12.12

Расчет соотношения шансов риска развития носительства неблагоприятного аллеля Т, гетерозиготного генотипа С/Т и мутантного генотипа Т/Т полиморфизма rs1143634 гена IL-1 β у пациентов В подгруппы показал незначимое различие, что свидетельствуют об отсутствии ассоциации данного генетического маркера с увеличением риска формирования и развития тяжелой формы ХП (смотрите таблицу 4.20)

Таблица 4.20

**Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма
rs 1143634 гена IL-1 β в подгруппе В и контрольной группе**

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	Р	RR	OR	95% CI
	Подгруппа В	Контроль					
С	32	171	0.6	0.4	1.3	1.4	0.621- 3.02
Т	10	39					
С/С	12	69	0.2	0.6	0.9	0.7	0.26- 1.80
С/Т	8	33	0.3	0.5	1.2	1.3	0.50- 3.5
Т/Т	1	3	0.2	0.6	1.7	1.7	0.168- 17.1

Таким образом отсутствие статистически значимой ассоциации носительства неблагоприятных аллеля Т, гетерозиготного и мутантного генотипов С/Т и Т/Т свидетельствуют об отсутствии самостоятельной роли данного локуса в формировании и тяжести клинического течения ХП у лиц узбекской национальности.

**§ 4.3. Анализ распределения частот аллелей и генотипов rs16944
полиморфизма гена IL-1 β в группе больных хроническим пародонтитом
и контроле**

Анализ распределения частот аллелей С и Т полиморфизма rs 16944 гена IL-1 β в основной группе показал их долю равную 63,0% и 36,9% соответственно, в контрольной группе - 76,2% и 23,8%, соответственно (смотрите Таблицу 4.21).

Таблица 4.21

**Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs16944 гена
IL-1 β в группах пациентов и контроле**

Группа		Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
		С		Т		С/С		С/Т		Т/Т	
		п	%	п	%	п	%	п	%	п	%
1	Основная группа (n=138)	174	63.0	102	36.9	51	37.0	72	52.2	15	10.9
А	Легкая ст. ХП (n=61)	81	66.4	41	33.6	25	40.1	31	50.8	5	8.2
Б	Средняя ст. ХП (n=56)	69	61.6	43	38.4	20	35.7	29	51.7	7	12.5
В	Тяжелая ст. ХП (n= 21)	24	57.1	18	42.8	6	28.6	12	57.1	3	14.3
2	Контрольная группа (n=105)	160	76.2	50	23.8	60	57.1	40	38.1	5	4.8

Вместе с этим нами установлено, что частота аллеля Т в основной группе значительно превышала таковую в контроле (36,9% против 23,8; $\chi^2=9,6$; $P=0,001$; OR=1,9; 95%CI1,25- 2,8) (смотрите Рисунок 4.6).

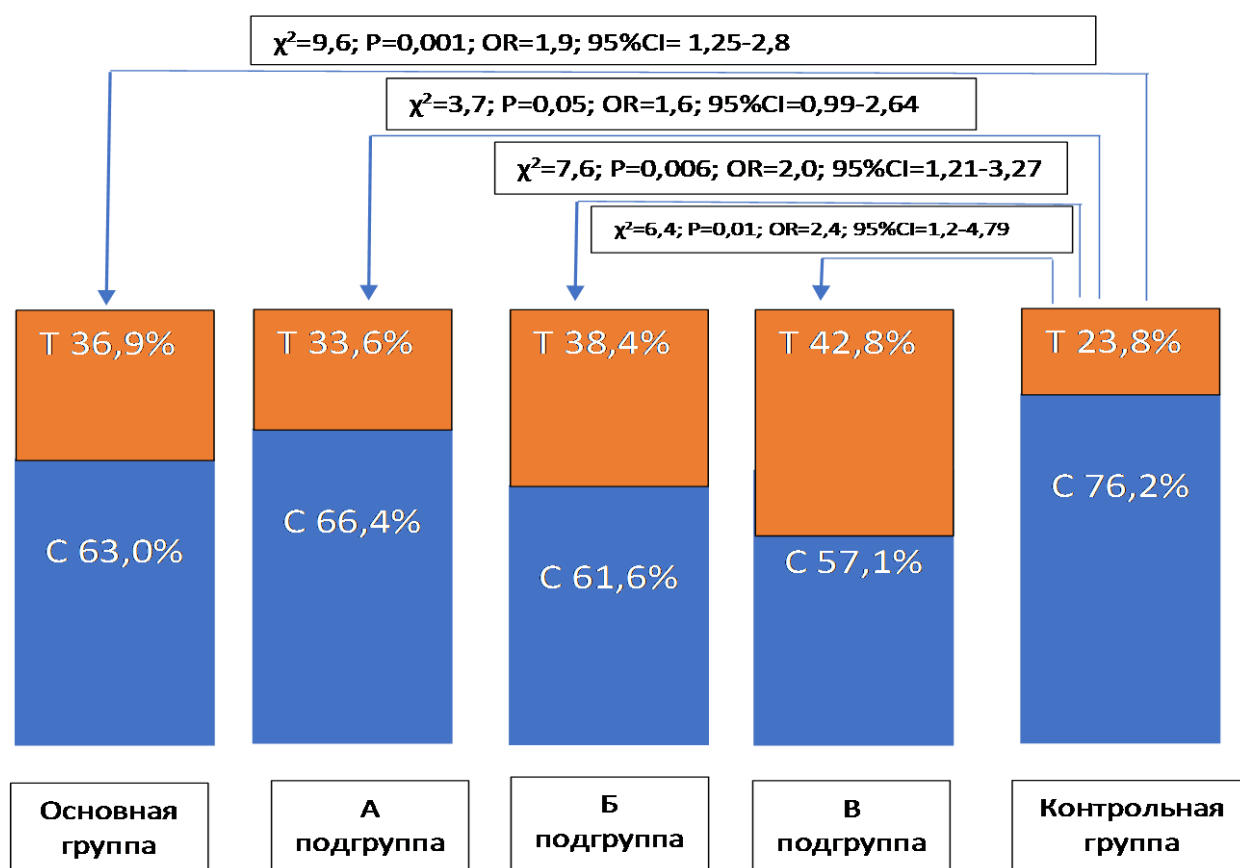


Рис. 4.6. Частота встречаемости аллелей полиморфизма rs16944 гена IL-1 β в группе больных ХП и контроле.

Наряду с этим в основной группе ХП выявлено превышение доли частоты генотипов C/T (52,2%) по отношению к контрольной группе (38,1%). Частота генотипа C/C в основной и в контрольной группах составили 37,0% и 57,1% соответственно ($\chi^2=4,8$; $P=0,03$; $OR=1,8$; $95\%CI:1,05-2,97$).

В исследуемых группах выявлены гомозиготы по мутантному аллелю T/T, при этом следует отметить, что в основной группе (10,9%) этот показатель превышал значения в контрольной группе (4,8%) в 2,3 раза ($\chi^2=2,9$; $P=0,09$; $OR=2,4$; $95\%CI:0,85-6,941$) (смотрите Таблицу 4.22 и Рисунок 4.7 и 4.8).

Таблица 4.22

Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма rs16944 гена IL-1 β в основной и контрольной группах

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	P	RR	OR	95% CI
	Основная группа	Контроль					
C	174	160	9.6	0.001	1.7	1.9	1.25- 2.8
T	102	50					
C/C	51	60	9.8	0.002	0.6	0.4	0.261-0.738
C/T	72	40	4.8	0.03	1.4	1.8	1.05- 2.97
T/T	15	5	2.9	0.09	2.3	2.4	0.85- 6.941

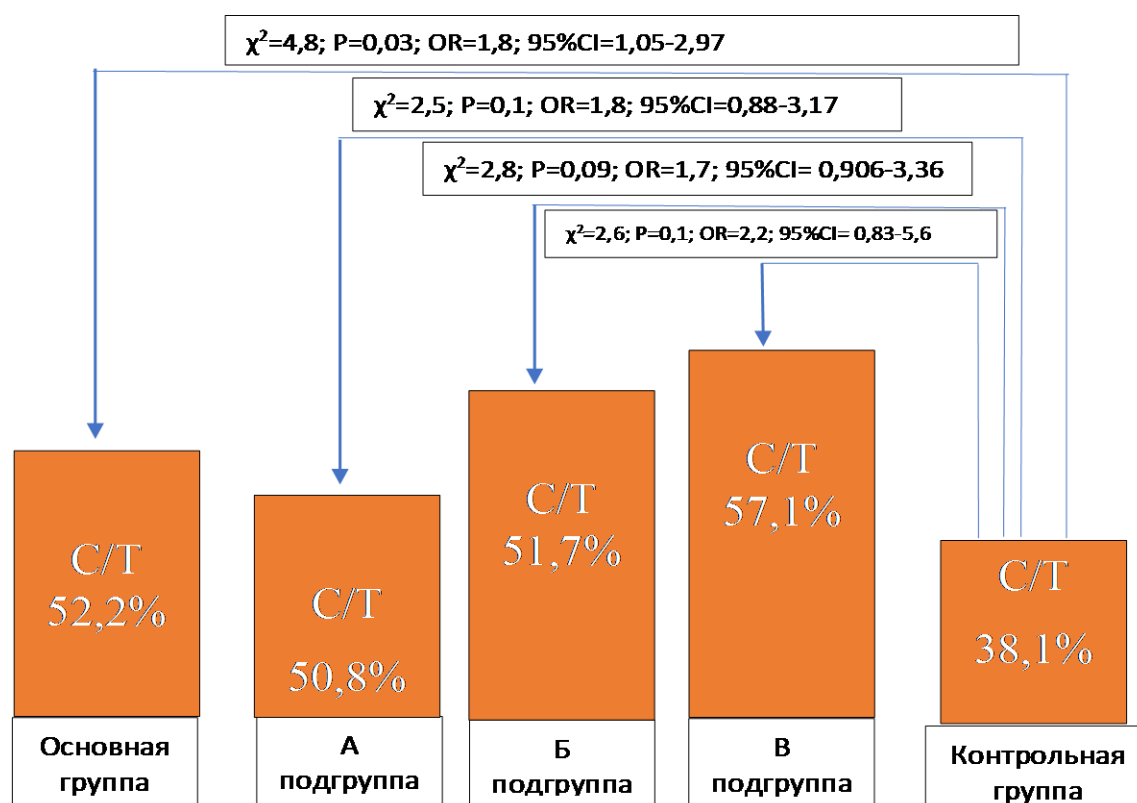


Рис. 4.7. Частота встречаемости аллелей полиморфизма rs16944 гена IL-1 β в группе больных ХП и контроле.

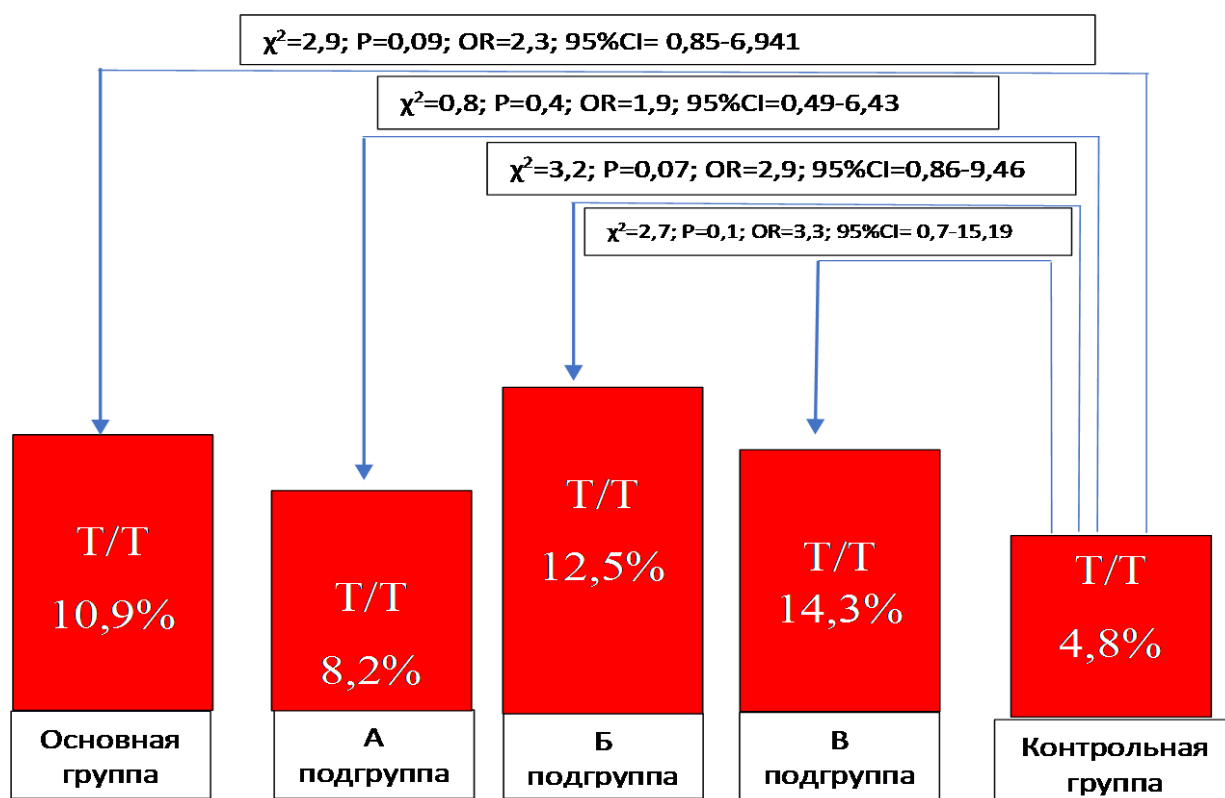


Рис. 4.8. Частота встречаемости аллелей полиморфизма rs16944 гена IL-1 β в группе больных ХП и контроле.

Наблюдаемая и ожидаемая частота С/С генотипа в группе больных ХП составила 0,37 и 0,4 соответственно; при этом наблюдаемая частота (0,52) генотипа С/Т оказалась несколько выше его ожидаемой частоты (0,47); значения же наблюдаемой и ожидаемой частоты Т/Т генотипа в этой группе полностью совпадали и составили 1,00 и 1,00 соответственно. Различия между наблюдаемой и ожидаемой частотами изученных генотипов данного полиморфизма были статистически недостоверными (смотрите Таблица 4.23).

В контрольной группе наблюдаемые и ожидаемы частоты генотипов С/С, С/Т и Т/Т почти не отличались, при которых различия между ними носили не достоверный характер ($p>0.05$) (смотрите Таблицу 4.24).

Таблица 4.23.

**Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов по PХВ в
группе пациентов с ХП**

Аллели	Частота аллелей				
С	0.63				
Т	0.37				
Генотипы	Частота генотипов		χ^2	Р	df
	Наблюдаемая	Ожидаемая			
С/С	0.37	0.4	0,270	0.2	1
С/Т	0.52	0.47	0,921		
Т/Т	0.11	0.14	0,786		
Всего	1,00	1,00	1,976		

Таблица 4.24

**Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов по PХВ в
группе контрольной выборке**

Аллели	Частота аллелей				
С	0.76				
Т	0.24				
Генотипы	Частота генотипов		χ^2	Р	df
	Наблюдаемая	Ожидаемая			
С/С	0.57	0.58	0,015	0.6	1
С/Т	0.38	0.36	0,095		
Т/Т	0.05	0.06	0,152		
Всего	1,00	1,00	0,263		

Изучение индекса относительного отклонения между ожидаемой и наблюдаемой частотами гетерозиготности D^* в изучаемых группах показало наличие некоторого избытка гетерозигот (D^* в основной группе +0,1, в контрольной группе +0,53) (смотрите Таблицу 4.25).

Таблица 4.25

Различие между ожидаемой и наблюдаемой частотами гетерозиготности

Группы	H_o	H_e	D^*
Основная группа	0.52	0.47	+0.1
Контрольная группа	0.38	0.36	+0.05

Примечание: $D=(H_o -H_e)/H_e$

Далее нами проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов в зависимости от степени тяжести ХП. Так, в подгруппе А, носительство неблагоприятного аллеля Т, гетерозиготного генотипа С/Т и мутантного генотипа Т/Т, полиморфизма rs 16944 гена IL-1 β характеризовалось незначимым их увеличением по отношению к таковым значениям в контрольной группе. Однако, при этом зарегистрировано наличие тенденции к их увеличению при легкой степени тяжести ХП (смотрите Таблицу 4.26).

В подгруппе Б (средняя степень тяжести ХП) носительство функционального неблагоприятного аллеля Т, гетерозиготного генотипа С/Т и мутантного генотипа Т/Т полиморфизма rs 16944 гена IL-1 β согласно рассчитанному коэффициенту соотношения шансов OR незначимо увеличивает риск формирования и развития ХП, хотя также установлена тенденция к их увеличению в сравнении с группой контроля (смотрите Таблицу 4.27).

Таблица 4.26

Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма rs16944 гена IL-1 β в подгруппе А и контрольной группе

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	Р	RR	OR	95% CI
	Подгруппа А	Контроль					
С	81	160	3.7	0.05	1.4	1.6	0.99-2.64
Т	41	50					
С/С	25	60	4.0	0.004	0.7	0.5	0.27-0.9
С/Т	31	40	2.5	0.1	1.3	1.8	0.88- 3.17
Т/Т	5	5	0.8	0.4	1.7	1.9	0.49-6.43

Таблица 4.27

Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма rs16944 гена IL-1 β в подгруппе Б и контрольной группе

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	Р	RR	OR	95% CI
	Подгруппа Б	Контроль					
С	69	160	7.6	0.006	1.5	2.0	1.21-3.274
Т	43	50					
С/С	20	60	6.7	0.01	0.7	0.4	0.213-0.81
С/Т	29	40	2.8	0.09	1.3	1.7	0.906- 3.36
Т/Т	7	5	3.2	0.07	2.6	2.9	0.86- 9.46

Согласно рассчитанному коэффициенту соотношения шансов OR (смотрите Таблицу 4.28) в подгруппе В, также как в А и Б подгруппах установлено, что носительство функционального неблагоприятного аллеля Т и мутантного генотипа Т/Т ($\chi^2=6,4$; $P=0,01$; $OR=2,4$; 95%, $CI= 1,27-4,79$ и $\chi^2=2,7$; $P=0,1$; $OR=3,3$; 95% $CI=0,7-15,19$, соответственно), гетерозиготного генотипа С/Т ($\chi^2=2,6$; $P=0,1$; $OR=2,2$; 95% $CI=0,83-5,6$) полиморфизма rs 16944 гена IL-1 β незначимо увеличивают риск формирования и развития ХП у лиц узбекской национальности.

Таблица 4.28

Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма rs16944 гена IL-1 β в подгруппе В и контрольной группе

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	P	RR	OR	95% CI
	Подгруппа В	Контроль					
С	24	160	6.4	0.01	1.7	2.4	1.2- 4.79
Т	18	50					
С/С	6	60	5.2	0.02	0.5	0.3	0.10- 0.83
С/Т	12	40	2.6	0.1	1.5	2.2	0.83-5.6
Т/Т	3	5	2.7	0.1	3.0	3.3	0.7- 15.19

Различия в частоте носительства функционального неблагоприятного аллеля Т, мутантного гетеро- и гомозиготного генотипов С/Т и Т/Т данного локуса в подгруппах А, Б и В оказалось статистически незначимыми (смотрите Таблицу 4.29 - 4.31).

Таблица 4.30

**Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма
rs16944 гена IL-1 β в подгруппах А и Б**

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	Р	RR	OR	95% CI
	Подгруппа А	Подгруппа Б					
С	81	69	0.5	0.4	0.7	0.8	0.47- 1.387
Т	41	43					
С/С	25	20	0.5	0.4	0.7	0.8	0.67- 1.41
С/Т	31	29					
Т/Т	5	7					

Таблица 3.31

**Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма
rs16944гена IL-1 β в подгруппах А и В**

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	Р	RR	OR	95% CI
	Подгруппа А	Подгруппа В					
С	81	24	1.2	0.3	0.7	0.7	0.32- 1.38
Т	41	18					
С/С	25	6	1.3	0.4	0.8	0.9	0.329- 1.383
С/Т	31	12					
Т/Т	5	3					

Таблица 4.32

**Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма
rs16944 гена IL-1 β в подгруппах Б и В**

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	P	RR	OR	95% CI
	Подгруппа Б	Подгруппа В					
С	69	24	0.2	0.6	0.8	0.8	0.40- 1.7
Т	43	18					
С/С	20	6	0.5	0.9	0.9	1.0	0.504- 1.09
С/Т	29	12					
Т/Т	7	3					

Таким образом, проведенное исследование по изучению особенностей распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта гена IL-1 β (rs16944) в группе больных и условно-здоровых лиц узбекской национальности выявило наличие значимого различия в носительстве неблагоприятного аллеля Т ($\chi^2=9.6$; $p=0.001$; OR=1.9) и генотипа С/Т ($\chi^2=4.8$; $p=0.03$; OR=1.8), что достоверно повышает риска развития пародонтита почти в 2 раза.

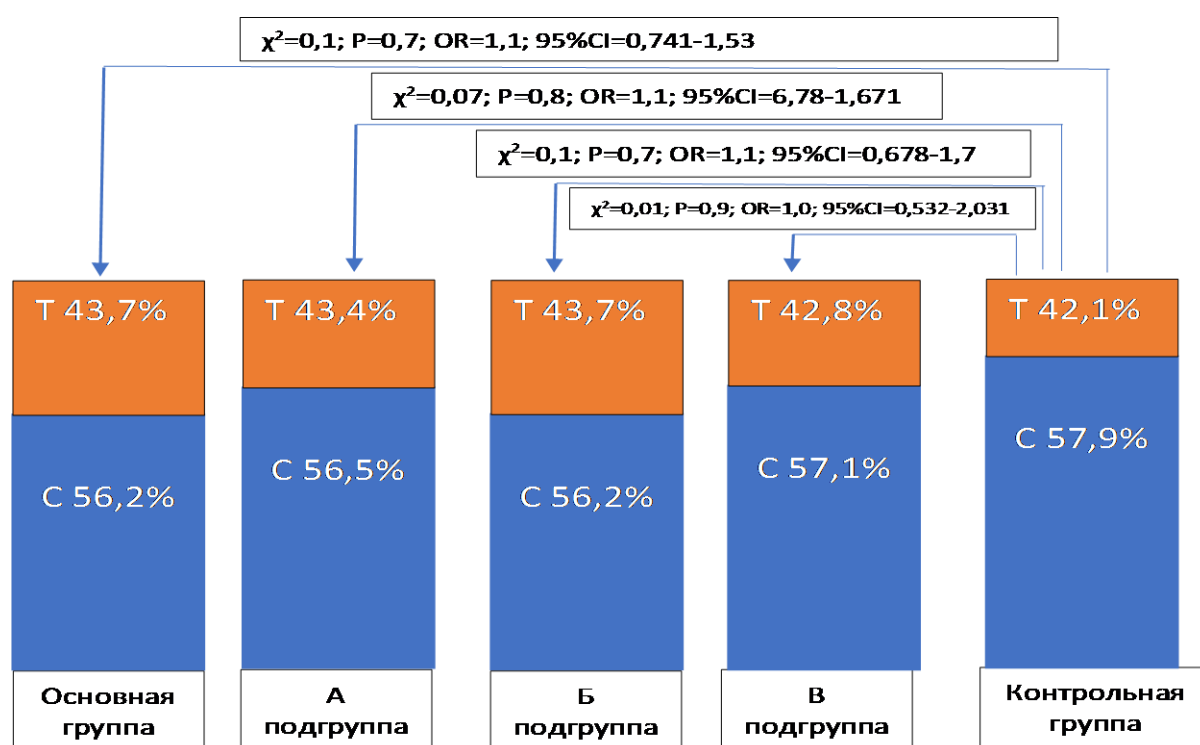
**§ 4.4. Анализ распределения частот аллелей и генотипов rs 1143627
полиморфизма гена IL-1 β в группе больных хроническим пародонтитом
и контроле**

Частоты аллелей С и Т rs 1143627 полиморфизма гена IL-1 β в основной группе составили 56,2% и 43,7%, а в контрольной группе - 57,9 и 42,1, соответственно ($\chi^2=0,1$; $P=0,7$; OR=1,1; 95% CI=0,741-1,53) (смотрите Таблицу 4.33 и Рисунок 4.9).

Таблица 4.33

**Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs1143627
гена IL-1 β в группах пациентов и контроля**

Группа		Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
		C		T		C/C		C/T		T/T	
		п	%	п	%	п	%	п	%	п	%
1	Основная группа, (n=138)	45	56.2	35	43.7	42	30.4	72	52.2	24	17.4
A	Легкая ст. ХП (n=61)	69	56.5	53	43.4	18	29.5	33	54.1	10	16.4
Б	Средняя ст. ХП (n=56)	63	56.2	49	43.7	17	30.3	29	51.2	10	17.8
В	Тяжелая ст. ХП (n= 21)	24	57.1	18	42.8	7	33.3	10	47.6	4	19.0
2	Контрольная Группа, (n=105)	81	57.9	59	42.1	35	33.3	52	49.5	18	17.1



**Рис. 4.9. Частота встречаемости аллелей полиморфизма rs1143627 гена
IL-1 β в группе больных ХП и контроле.**

В исследуемых группах гомозиготы по мутантному генотипу Т/Т составили 17,4 и 17,1 ($\chi^2=0,02$; $P=0,9$; $OR=1,0$; 95%, $CI=0,51-1,99$), частота генотипов С/Т превышала таковую в контрольной группе (52,2% против 49,5% соответственно $\chi^2=0,3$; $P=0,6$; $OR=1,2$; 95%, $CI=0,63-2,261$). Частота дикого генотипа С/С в основной и контрольной группе составили 30,4% и 33,3% соответственно ($\chi^2=0,2$; $P=0,6$; $OR=0,8$; 95% $CI=0,50-1,508$, соответственно). Из этих данных следует, что генотипы Т/Т и С/Т незначимо повышают риск развития ХП в более чем на 1,0 и 1,2 раза соответственно (смотрите Таблицу 4.34 и Рисунок 4.10 - 4.11).

Таблица 4.34

Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма rs 1143627 гена IL-1 β в основной и контрольной группах

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	P	RR	OR	95% CI
	Основная группа	Контроль					
С	156	122	0.1	0.7	1.0	1.1	0.741- 1.53
Т	120	88					
С/С	42	35	0.2	0.6	0.9	0.8	0.50-1.508
С/Т	72	52	0.3	0.6	1.0	1.2	0.63- 2.261
Т/Т	24	18	0.02	0.9	1.0	1.0	0.51-1.99

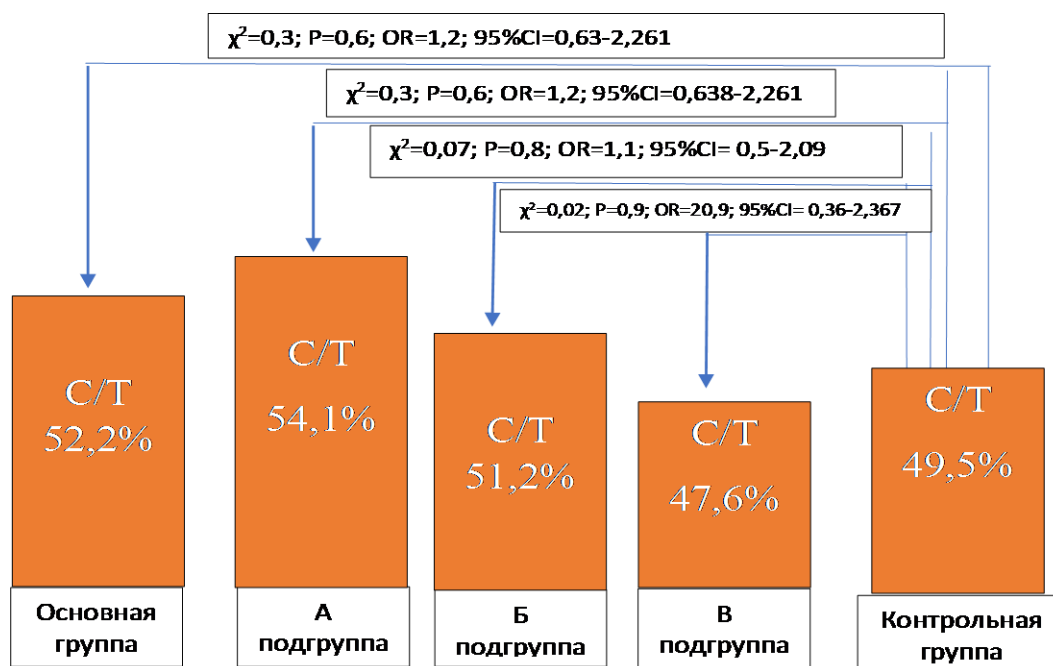


Рис. 4.10. Частота встречаемости аллелей полиморфизма rs1143627 гена IL-1 β в группе больных ХП и контроле.

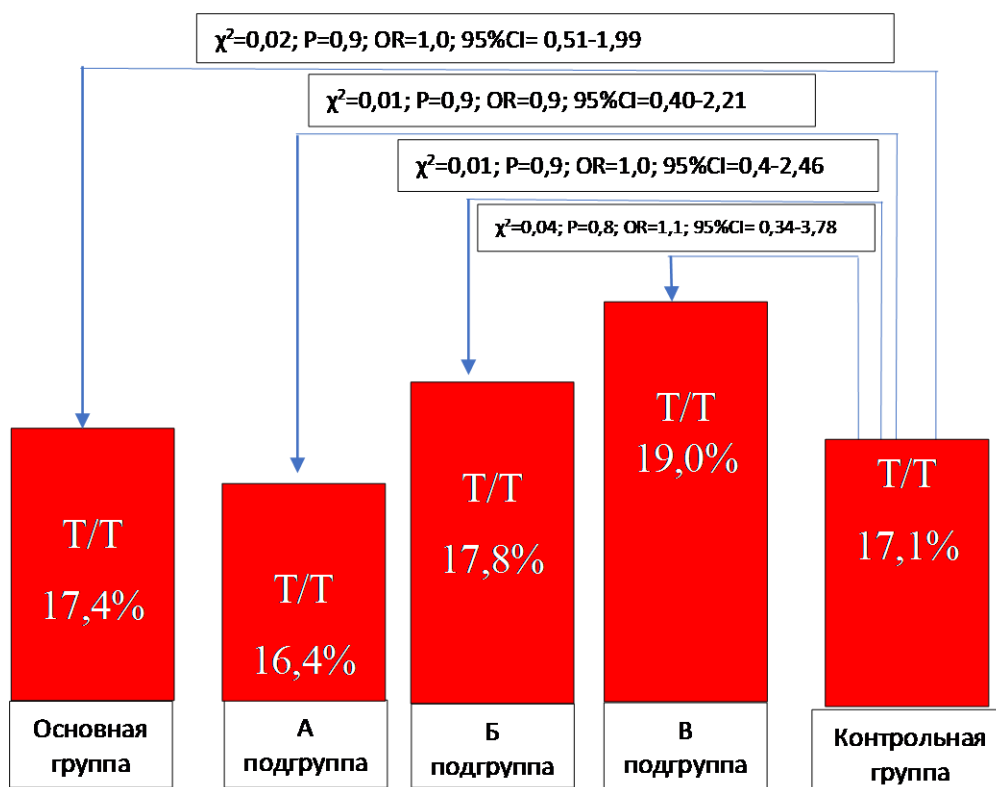


Рис. 4.11. Частота встречаемости аллелей полиморфизма rs1143627 гена IL-1 β в группе больных ХП и контроле.

Согласно этим данным, выявлено соответствие наблюдаемых и ожидаемых частот генотипов по РХВ ($p > 0,05$). При этом наблюдаемая частота (0,30 и 0,52) генотипа С/С и С/Т в группе больных совпадают с ожидаемой частотой (0,32 и 0,49), значения же наблюдаемой и ожидаемой частоты генотипа Т/Т составили 0,17 и 0,19 соответственно. Различие между наблюдаемой и ожидаемой частотами генотипов данного локуса оказалось статистически недостоверны (смотрите Таблицу 4.35).

Таблица 4.35

Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов по РХВ в группе пациентов с ХП

Аллели	Частота аллелей				
С	0.56				
Т	0.44				
Генотипы	Частота генотипов		χ^2	Р	df
	Наблюдаемая	Ожидаемая			
С/С	0.30	0.32	0,099	0.5	1
С/Т	0.52	0.49	0,257		
Т/Т	0.17	0.19	0,167		
Всего	1,00	1,00	0,523		

Изучение индекса относительного отклонения между ожидаемой и наблюдаемой частотами гетерозиготности D^* в изучаемых группах показало наличие избытка гетерозигот более выраженного в основной группе (D^* в основной группе +0,06, в контрольной группе +0,01) (смотрите Таблицу 4.37).

Таблица 4.36

**Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов по PХВ в
группе контрольной выборке**

Аллели	Частота аллелей				
С	0.58				
Т	0.42				
Генотипы	Частота генотипов		χ^2	Р	df
	Наблюдаемая	Ожидаемая			
С/С	0.33	0.34	0,005	0.9	1
С/Т	0.495	0.49	0,015		
Т/Т	0.17	0.18	0,010		
Всего	1,00	1,00	0,031		

Таблица 4.37

**Различие между ожидаемой и наблюдаемой частотами
гетерозиготности.**

Группы	Н_о	Н_е	Д *
Основная группа	0.52	0.49	+0.06
Контрольная группа	0.495	0.49	+0.01

Примечание: $D=(H_o - H_e)/H_e$

В подгруппе А, носительство функционального неблагоприятного аллеля Т, гетерозиготного генотипа С/Т полиморфизма rs 1143627 гена IL-1 β характеризовалось незначимым увеличением риска формирования и развития ХП. В то же время мутантный генотип Т/Т (17,4% против 17,1% в контроле) в этой подгруппе выступает в качестве протективного фактора (смотрите Таблицу 4.38).

Таблица 4.38

**Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма
rs1143627 гена IL-1 β в подгруппе А и контрольной группе**

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	Р	RR	OR	95% CI
	Подгруппа А	Контроль					
С	69	122	0.07	0.8	1.0	1.1	0.678- 1.672
Т	53	88					
С/С	18	35	0.2	0.6	0.9	0.8	0.422- 1.65
С/Т	33	52	0.3	0.6	1.0	1.2	0.638-2.261
Т/Т	10	18	0.01	0.9	0.9	0.9	0.40-2.21

Согласно данным расчета соотношения шансов OR в подгруппе Б, носительства неблагоприятного аллеля Т, гетерозиготного генотипа С/Т и мутантного генотипа Т/Т полиморфизма rs 1143627 гена IL-1 β , незначимо увеличивает риск формирования и развития ХП в этой подгруппе (смотрите Таблицу 4.39).

Согласно данным расчета соотношения шансов OR (смотрите Таблицу 4.40) в подгруппе В, носительства функционального неблагоприятного аллеля Т и мутантного генотипа Т/Т полиморфизма rs 1143627 гена IL-1 β ($\chi^2=0,01$; $P=0,9$; OR=1,0; 95%, CI=0,532-2,031и $\chi^2=0,04$; $P=0,8$; OR=1,1; 95%CI=0,34-3,78, соответственно), гетерозиготного генотипа С/Т ($\chi^2=0,02$; $P=0,9$; OR=0,9; 95%CI=0,36-2,367) незначимо увеличивает риск формирования и развития ХП в этой подгруппе.

Таблица 4.39

Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма rs1143627 гена IL-1 β в подгруппе Б и контрольной группе

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	P	RR	OR	95% CI
	Подгруппа Б	Контроль					
C	63	122	0.1	0.7	1.0	1.1	0.678- 1.713
T	49	88					
C/C	17	35	0.1	0.7	0.9	0.9	0.433- 1.75
C/T	29	52	0.07	0.8	1.0	1.1	0.5-2.09
T/T	10	18	0.01	0.9	1.0	1.0	0.4- 2.46

Таблица 4.40

Различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма rs1143627 гена IL-1 β в подгруппе В и контрольной группе

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		χ^2	P	RR	OR	95% CI
	Подгруппа В	Контроль					
C	24	122	0.01	0.9	1.0	1.0	0.532- 2.031
T	18	88					
C/C	7	35	0.0	0.9	1.0	1.0	-
C/T	10	52	0.02	0.9	0.9	0.9	0.36-2.367
T/T	4	18	0.04	0.8	1.1	1.1	0.34- 3.78

Таким образом, статистически незначимые различия в носительстве аллелей и генотипов полиморфизма гена IL-1 β (rs1143627) свидетельствуют об отсутствии вовлеченности неблагоприятного аллеля и генотипов данного локуса в подверженности к формированию и клиническому прогрессированию ХП.

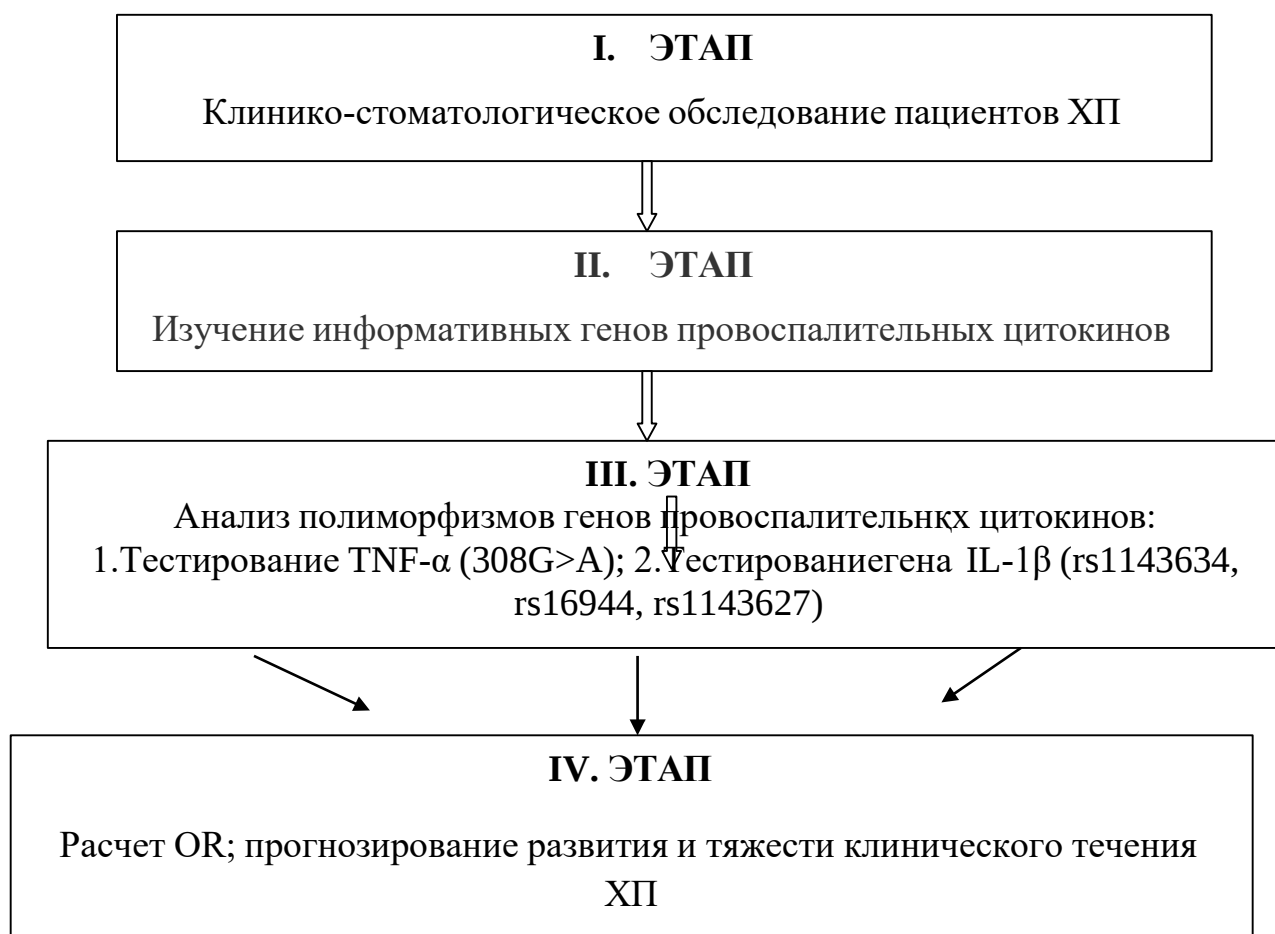
§ 4.5. Прогностический алгоритм риска развития и клинического течения хронического пародонтита

Изучение полиморфизмов генов провоспалительных цитокинов TNF- α (rs1800629) и IL-1 β (rs1143634, rs16944, rs1143627) у пациентов ХП, и в группе контроля, позволило получить более расширенную уточняющую информацию о молекулярно-генетической природе изученной патологии. В свою очередь, это позволяет проводить как предиктивную диагностику ХП, так и прогнозировать течение заболевания.

На основании полученных данных разработан прогностический алгоритм риска развития и клинического течения ХП (схема 1).

Схема 1

Поэтапный прогностический алгоритм риска развития и тяжести клинического течения ХП



Заключение

Данный раздел исследования посвящен описанию собственных результатов молекулярно-генетического исследования. В частности, были изучены распределения частот аллелей и генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- α ; rs 1143634 гена IL-1 β , rs 16944 гена IL-1 β и rs 1143627 гена IL-1 β и их связь с формированием ХП. Распределение частот аллелей и генотипов этих маркеров в группе условно здоровых лиц, так и в группе пациентов ХП, соответствовали равновесию Харди-Вайнберга (РХВ).

Молекулярно-генетические исследования показали, наличие статистически значимых различий в частоте встречаемости аллелей G и A (OR=3,7; $\chi^2=4,7$; P=0,03; 95% CI=1.04-13,0) и генотипов G/G (OR=3,7; $\chi^2=4,7$; P=0,03; 95% CI=0,072-0,93) и G/A (OR=3,8; $\chi^2=4,7$; P=0,03; 95% CI=1.07-13,73) полиморфизма rs1800629 гена TNF- α между основной и контрольной группой, и, следовательно, риск развития ХП при наличии данного полиморфизма статистически значимо повышается в 3,7 (A) и 3,8 (G>A) раза.

Кроме того следует отметить, что в исследуемых группах не выявлены гомозиготы по мутантному аллелю, а частота генотипов G/A (10,1% против 2,9%; $\chi^2=4,7$; P=0,03; OR=3,8; 95%CI=1,07-13,73) превышала таковую в контрольной группе (2,9%), тогда как частота генотипа G/G в основной и в контрольной составили 89,9% против 97,1% ($\chi^2=4,7$; P=0,03; OR=3,8; 95%CI=0,072- 0,93).

Полученные нами результаты распределения частоты аллеля C – rs 1143634 полиморфизма гена IL-1 β в основной группе составила 77,2% ($\chi^2=1,2$; P=0,2; OR=1.3; 95%CI 0,829- 2,02), тогда как в контрольной группе этот показатель составил 81,4%. При этом частота аллеля T в основной группе составила в среднем 22,8%, а в контрольной группе этот показатель был ниже (22,8% против 18,6%; $\chi^2=2,1$; P=0,1; OR=1,7; 95%CI 0,820-3,52).

В то же время в исследуемых группах выявлены гомозиготы по мутантному аллелю T/T, как в основной (5,1% против 2,8; $\chi^2=0,7$; P=0,4;

OR=1,9; 95%CI 0,458- 7,2), так и в контрольной группе, частота генотипов C/T и превышала таковую в контрольной группе (35,5% против 31,4%; $\chi^2=0,4$; P=0,5; OR=1,2; 95%CI 0,70- 2,06), частота же генотипа C/C в основной группе оказалась меньше в отношении к контрольной (59,4% против 65,7%; $\chi^2=1,0$; P=0,3; OR=0,8; 95%CI 0,45- 1,29). Вместе с этим аллель T (OR=1,3) и генотип C/T (OR=1,2) незначимо повышают риск развития ХП более чем в 1,3 и в 1,2 раза соответственно.

Результаты распределения частоты аллелей C и T полиморфизма rs 16944 гена IL-1 β в основной группе составили в среднем 63,0% и 36,9% соответственно, в контрольной группе - 76,2% и 23,8% соответственно. Частота аллеля T в основной группе превышала таковую в контроле (36,9% против 23,8; и 59,4% против 65,7%; $\chi^2=9,6$; P=0,001; OR=1,9; 95%CI 1,25- 2,8). В исследуемых группах выявлены гомозиготы по мутантному аллелю T/T, при этом следует отметить, что в основной группе (10,9%) этот показатель не значимо превышал значения в контрольной группе (4,8%) в 2,3 раза ($\chi^2=2,9$; P=0,09; OR=2,4; 95%CI 0,85-6,941). Частота генотипов C/T (52,2%) значимо превышала таковую в контрольной группе (38,1%), тогда как частота генотипа C/C в основной и в контрольной составили 37,0% и 57,1% соответственно ($\chi^2=4,8$; P=0,03; OR=1,8; 95%CI 1,05- 2,97).

Частоты аллелей C и T rs 1143627 полиморфизма гена IL-1 β в основной группе составила 56,2% и 43,7% ($\chi^2=0,1$; P=0,7; OR=1,1; 95% CI=0,741-1,53), а в контрольной группе они регистрировались в 57,9% и 42,1% случаях, соответственно. Частота аллеля T в основной группе несколько превышала таковую в контроле (43,7% против 42,1%; $\chi^2=0,1$; P=0,7; OR=1,1; 95% CI=0,741-1,53). В исследуемых группах гомозиготы по мутантному генотипу T/T составили 17,4% и 17,1% ($\chi^2=0,02$; P=0,9; OR=1,0; 95%, CI= 0,51-1,99), частота генотипов C/T (52,2%) превышала таковую в контрольной группе (49,5%), тогда как частота генотипа C/C в основной и контрольной группе составили 30,4% и 33,3% соответственно ($\chi^2=0,3$; P=0,6; OR=1,2; 95%, CI=

0,63-2,261 и $\chi^2 = 0,2$; $P=0,6$; $OR=0,8$; $95\%CI=0,50-1,508$, соответственно). Из этих данных следует, что генотипы T/T и C/T незначимо повышают риск развития ХП в более чем на 1,0 и 1,2 раза соответственно.

Таким образом, изучение распределения частот аллелей и генотипов – полиморфизмов генов TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs 1143634), IL-1 β (rs 16944) и IL-1 β (rs 1143627) позволило определить, что в механизмах формирования ХП важное значение имеют полиморфизмы rs1800629 в гене TNF- α и rs16944 в гене IL-1 β , приводящие к активации воспалительных процессов в пародонте, что не противоречит и литературным данным [70, 178]. Также, среди больных ХП с различными степенями тяжести наблюдается увеличение частоты встречаемости неблагоприятного аллеля и генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- α и полиморфизма rs16944 гена IL-1 β . Соответственно полиморфизм rs1800629 гена TNF- α и полиморфизм rs16944 гена IL-1 β могут привести к возникновению воспалительных процессов в пародонте и спровоцировать развитие ХП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В структуре стоматологических патологий ХП занимает особое место в виду их широкой распространенности, разнообразия клинического течения, развитием тяжелых осложнений и в итоге часто неблагоприятного прогноза [3, 19].

Несмотря на длительный период изучения и большое количество проведенных многоцентровых исследований, механизмы формирования и прогнозирования ХП до сегодняшнего дня остаются малоизученными [19, 44]. Это затрудняет проведение своевременной, адекватной терапии, и соответственно снижению ее эффективности [20]. В связи с этим поиск новых ключевых маркеров, которые определяют риск развития, а также прогноз заболевания, несомненно, следует считать оправданным и перспективным направлением современной стоматологии.

ХП, как и многие другие заболевания, по своей природе являются мультифакторной патологией, в его патогенезе участвует многообразие экзогенных и эндогенных взаимообуславливающих факторов и взаимосвязанных генов [50, 63].

Данные литературы свидетельствуют о том, что одним из важнейших факторов развития ХП является бактериальная колонизация пришеечной поверхности зубов. Однако, наличие в участках зубодесневого прикрепления отдельных видов патогенов, само по себе, не всегда приводит к развитию пародонтита [73].

Результаты ряда молекулярно-генетических исследований показывают высокую степень вероятности формирования ХП при наличии предрасполагающих генетических вариантов и непрерывном воздействии других предрасполагающих факторов окружающей среды [70, 74].

В связи с этим предполагается, что ключевыми предикторами риска развития ХП являются некоторые полиморфизмы генов цитокинов,

сравнительной исследование которых в разных популяциях мира признается весьма актуальным в стоматологии [66, 70, 92].

Объектом для наших исследований явились больные ХП, а также здоровые доноры, у которых были получены образцы ДНК. По результатам клинико-лабораторных исследований в основную группу было включено 141 пациентов в возрасте от 15 до 71 лет, находившиеся на диспансерном наблюдении и лечении в клинике Ташкентского стоматологического института и научно-исследовательского института Гематологии и переливания крови МЗ РУз. Предметом исследования являлись биопробы взятые с полости рта для определения ее микрофлоры, венозная кровь и слюна для определения генетического статуса.

Целью исследования явилась оценка значимости ключевых полиморфных вариантов генов провоспалительных цитокинов TNF- α и IL-1 β в формировании ХП и разработка новых прогностических критериев развития и клинического течения заболевания.

В ходе исследования из общего числа обследованных больных ХП составивших 141 больных заболевание среди обследованных пациентов регистрировался с практически одинаковой частотой как у мужчин, так и у женщин, однако с увеличением возрастной категории количество больных с ХП имеет тенденцию к увеличению. Медиана возраста больных на момент установления диагноза составила $34,2 \pm 1,2$ лет. Эти данные не противоречит литературным данным о заболеваемости ХП в других странах мира [74, 117].

Клинико-анамнестическое исследование позволило выявить у 78 (55,3%) пациентов наличие очагов хронической инфекции, в частности синуситы выявлены у 32 (22,7%), хронический тонзиллит у 46 (32,6%). У пациентов среди всех возрастных категорий выявлены сопутствующие соматические заболевания, а именно чаще всего зарегистрировано наличие заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), что составило 48 (34,0 %) среди всех обследованных. Наличие хронических очагов инфекции и

хронических соматических заболеваний выступают в качестве предикторов в формировании ХП.

На основании профессионального обследования основная группа пациентов ХП соответственно степеням тяжести разделена на три подгруппы.

В подгруппу А – пациентов с легкой степенью тяжести ($n=61$) в основном вошли больные с медианой возраста $28,2 \pm 1,3$ лет, среди обследуемых выявлялись хронический тонзиллит у 19 (13,5%), гастриты у 6 (4,3%), язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки у 2 (1,4%), холецистит у 2 (1,4%) и колит у 3 (2,1%), а также у обследуемых пациентов этой группы выяснилось наличие ХП у близких родственников у 28 (19,9%). У больных выявлялись симптомы, соответствующие легкой степени ХП, в частности кровоточивость десны при чистке зубов, незначительная рецессия десен в пришеечной области передних зубов нижней челюсти. Глубина пародонтальных карманов варьировала от 3,0 до 4,5 мм. На рентгенологических снимках выявлялась деструкция кортикального слоя межальвеолярных перегородок на $\frac{1}{4}$ длины корней, в связи, с чем их вершины притуплялись вследствие начинающейся резорбции кости, образование костных карманов.

В подгруппу Б - больных ХП со средней степенью тяжести ($n=58$) в основном вошли пациенты с медианой возраста $35,5 \pm 1,8$ лет. В этой категории обследуемых выявлялись наличие очагов хронической инфекции - 28 (19,9%), гастриты - 5 (3,5%), язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки - 3 (2,1%) и холецистит – 3 (2,1%), СД 2-го типа - 5 (3,5%), заболевания ССС - 8 (5,7%).

При профессиональном осмотре у этой категории больных отмечались следующие признаки: обнажение шейки и корня зуба, наличие трем и диастем, подвижность зубов I и II степени Глубина пародонтальных карманов варьировала от 3,5 до 5,5 мм. На рентгенологических снимках выявляли

образование костных карманов, деструкцию межальвеолярных перегородок на 1/3 и 1/2 длины корней.

В группу В - больных ХП с тяжелой степенью тяжести (n=22) вошли больные средний возраст которых составил $47,6 \pm 2,7$ лет, у обследуемых выявлялись наличие очагов хронической инфекции (преимущественно за счет синуситов) - 31(22,0%), гастриты - 5 (3,5%), язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки - 3 (2,1%), холецистит - 4 (2,8%), СД 2-го типа - 7 (5,0%), заболевания ССС -15 (10,6%). Из анамнеза у 35 (24,8%) больных ХП выяснилось наличие ХП у близких родственников.

Для пациентов этой категории была характерна следующая симптоматика: при сборе анамнеза предъявляли жалобы на периодически возникающую кровоточивость десен, чувство ломоты в области зубов обнажение шейки и корня зуба. Сильную чувствительность зубов, наличие трем и диастем. При объективном исследовании слизистая оболочка десен была розового-красно цвета, отмечена рецессия десны в пришеечной области передних и жевательных зубов нижней и верхней челюсти. У всех пациентов присутствовали признаки воспаления. Подвижность зубов II и III степени. Глубина пародонтальных карманов варьировала от 4 до 6.5 мм. На рентгенологических снимках можно было выявить деструкцию кортикального слоя межальвеолярных перегородок на 2/4 длины корней и образование костных карманов.

Данное обследование позволило выявить связь ХП с сезонностью года и сопутствующей патологии. Это доказывает более выраженное проявление симптомов ХП в осенний и весенний периоды, а также частой регистрации хронических очагов инфекции и заболеваний ЖКТ. Наличие у этой категории больных наряду с заболеваниями ЖКТ регистрации ССС и сахарного диабета 2-го типа в свою очередь играют существенную роль в усугублении процессов воспаления и деструкции тканей пародонта.

Таким образом, данные литературы и проведенный профессиональный стоматологический анализ пациентов с ХП свидетельствуют о взаимосвязи формирования заболевания и тяжести его течения с наличием в наследственной предрасположенности и сопутствующими патологиями. Это в свою очередь требует своевременного проведения профилактических мер (санация очагов хронической инфекции, лечение сопутствующих соматических заболеваний, ведение здорового образа жизни) направленных на предотвращение развития и поддержания воспалительных процессов в пародонте.

Результаты исследования микрофлоры полости рта показали, что среди больных с легкой степенью ХП - 30,5%, от общего числа лиц, вовлеченных в исследование, явились носителями патогенной (либо условно патогенной) микрофлоры. Среди пациентов, составивших группу со средней степенью тяжести пародонтита, уже 41,2% от общей выборки оказались носителями указанных аэробных бактерий. И наконец, абсолютное большинство пациентов, входящих в состав третьей изучаемой группы – 90,5%, обнаружили присутствие патогенной аэробной микрофлоры в анализируемом материале. Подобное распределение частоты встречаемости исследованных микроорганизмов, несомненно, свидетельствует о важной роли этих бактерий в формировании более тяжело протекающего деструктивного процесса в слоях пародонта.

Анализируя данные возрастного распределения всех выделенных в микробиологическом исследовании штаммов, целесообразно было бы подвести итог: в возрастной группе 20-29 лет – 52,0% исследуемых, в возрастной группе 30-39 лет – 47,6% больных, в III - ей возрастной группе – 45,8% человек, в IV –ой группе – 47,6% от общего числа пациентов оказались носителями упомянутых бактериальных штаммов, причем, от общего числа привлеченных к анализу пациентов с ХП у 44 человек (48,4%) было выявлено наличие того или иного инфекционного возбудителя, относящегося к

представителям аэробной флоры. У оставшихся 51,6% больных, задействованных в исследовании, аэробов выявлено не было.

На образцах неродственных хромосом 105 практически здоровых лиц (210 неродственных хромосом) и 138 (274 неродственных хромосом) больных ХП (А подгруппа - легкая степень ХП, n= 61; Б подгруппа - средняя степень ХП, n=56, В подгруппа - тяжелая степень ХП, n=21) были изучены распределения частот аллелей и генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- α ; rs 1143634 гена IL-1 β , rs 16944 гена IL-1 β и rs 1143627 гена IL-1 β и их связь с формированием ХП. Распределение частот аллелей и генотипов этих маркеров в группе условно здоровых лиц, та к и в группе пациентов ХП, соответствовали равновесию Харди-Вайнберга (РХВ).

Молекулярно-генетические исследования показали, наличие статистически значимых различий в частоте встречаемости аллелей G и A (OR=3,7; $\chi^2=4,7$; P=0,03; 95% CI=1.04-13,0) и генотипов G/G (OR=3,7; $\chi^2=4,7$; P=0,03; 95% CI=0,072-0,93) и G/A (OR=3,8; $\chi^2=4,7$; P=0,03; 95% CI=1.07-13,73) полиморфизма rs1800629 гена TNF- α между основной и контрольной группой,и, следовательно, риск развития ХП при наличии данного полиморфизма статистически значимо повышается в 3,7 (A) и 3,8 (G>A) раза. Следует отметить, что в исследуемых группах не выявлены гомозиготы по мутантному аллелю, а частота генотипов G/A (10,1% против 2,9%; $\chi^2=4,7$; P=0,03; OR=3,8; 95%CI=1,07-13,73) превышала таковую в контрольной группе (2,9%), тогда как частота генотипа G/G в основной и в контрольной составили 89,9% против 97,1% ($\chi^2=4,7$; P=0,03; OR=3,8; 95%CI= 0,072- 0,93).

Таким образом, анализ полученных данных распределения частот аллелей и генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- α в изученных группах позволяет продолжить исследования по изучению вклада данного маркера в развитие ХП.

Полученные нами результаты распределения частоты аллеля C – rs 1143634 полиморфизма гена IL-1 β в основной группе составила 77,2% ($\chi^2=1,2$;

$P=0,2$; $OR=1,3$; $95\%CI$ 0,829- 2,02), тогда как в контрольной группе этот показатель составил 81,4%. Частота Т аллеля изучаемого гена в основной группе составила в среднем 22,8%, а в контрольной группе этот показатель был ниже (22,8% против 18,6%; $\chi^2=2,1$; $P=0,1$; $OR=1,7$; $95\%CI$ 0,820-3,52). В исследуемых группах выявлены гомозиготы по мутантному аллелю Т/Т, как в основной (5,1% против 2,8; $\chi^2=0,7$; $P=0,4$; $OR=1,9$; $95\%CI$ 0,458- 7,2), так и в контрольной группе, частота генотипов С/Т и превышала таковую в контрольной группе (35,5% против 31,4%; $\chi^2=0,4$; $P=0,5$; $OR=1,2$; $95\%CI$ 0,70-2,06), частота же генотипа С/С в основной группе оказалась меньше в отношении к контрольной (59,4% против 65,7%; $\chi^2=1,0$; $P=0,3$; $OR=0,8$; $95\%CI$ 0,45- 1,29). Вместе с этим аллель Т ($OR=1,3$) и генотип С/Т ($OR=1,2$) незначимо повышают риск развития ХП более чем в 1,3 и в 1,2 раза соответственно.

Результаты распределения частоты аллелей С и Т полиморфизма rs 16944 гена IL-1 β в основной группе составили в среднем 63,0% и 36,9% соответственно, в контрольной группе - 76,2% и 23,8% соответственно. Частота аллеля Т в основной группе превышала таковую в контроле (36,9% против 23,8; и 59,4% против 65,7%; $\chi^2=9,6$; $P=0,001$; $OR=1,9$; $95\%CI$ 1,25- 2,8). В исследуемых группах выявлены гомозиготы по мутантному аллелю Т/Т, при этом следует отметить, что в основной группе (10,9%) этот показатель не значимо превышал значения в контрольной группе (4,8%) в 2,3 раза ($\chi^2=2,9$; $P=0,09$; $OR=2,4$; $95\%CI$ 0,85-6,941). Частота генотипов С/Т (52,2%) значимо превышала таковую в контрольной группе (38,1%), тогда как частота генотипа С/С в основной и в контрольной составили 37,0% и 57,1% соответственно ($\chi^2=4,8$; $P=0,03$; $OR=1,8$; $95\%CI$ 1,05- 2,97).

Частоты аллелей С и Т rs 1143627 полиморфизма гена IL-1 β в основной группе составила 56,2% и 43,7% ($\chi^2=0,1$; $P=0,7$; $OR=1,1$; $95\%CI=0,741-1,53$), а в контрольной группе они регистрировались в 57,9% и 42,1% случаях, соответственно. Частота аллеля Т в основной группе несколько превышала

таковую в контроле (43,7% против 42,1%; $\chi^2 = 0,1$; $P=0,7$; $OR=1,1$; 95% $CI=0,741-1,53$). В исследуемых группах гомозиготы по мутантному генотипу T/T составили 17,4% и 17,1% ($\chi^2 = 0,02$; $P=0,9$; $OR=1,0$; 95%, $CI= 0,51-1,99$), частота генотипов C/T (52,2%) превышала таковую в контрольной группе (49,5%), тогда как частота генотипа C/C в основной и контрольной группе составили 30,4% и 33,3% соответственно ($\chi^2 = 0,3$; $P=0,6$; $OR=1,2$; 95%, $CI= 0,63-2,261$ и $\chi^2 = 0,2$; $P=0,6$; $OR=0,8$; 95% $CI=0,50-1,508$, соответственно). Из этих данных следует, что генотипы T/T и C/T незначимо повышают риск развития ХП в более чем на 1,0 и 1,2 раза соответственно.

Таким образом, изучение распределения частот аллелей и генотипов – полиморфизмов генов TNF- α (rs1800629), IL-1 β (rs 1143634), IL-1 β (rs 16944) и IL-1 β (rs 1143627) позволило получить данные во всех изученных группах, в которых выявлено распределение частот генотипов, соответствующие РХВ.

Вместе с этим, установлено, что в патогенезе ХП важное значение имеют полиморфизмы rs1800629 в гене TNF- α и rs16944 в гене IL-1 β , приводящие к активации воспалительных процессов в пародонте, что не противоречит и литературным данным [70, 178]. Также, среди больных ХП с различными степенями тяжести наблюдается увеличение частоты встречаемости неблагоприятного аллеля и генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- α и полиморфизма rs16944 гена IL-1 β . Соответственно полиморфизм rs1800629 гена TNF- α и полиморфизм rs16944 гена IL-1 β могут привести к возникновению воспалительных процессов в пародонте и спровоцировать развитие ХП.

На основании выше изложенного можно заключить, что анализ генетических полиморфизмов, частоты их аллельных и генотипических вариантов с учетом популяционных особенностей позволяет проводить мониторинг среди населения для выявления предрасположенности к развитию ХП, оценку прогноза развития тяжелого его течения, что способствует профилактики и персонализированного выбора средств и схем терапии ХП.

ВЫВОДЫ

1. Проведенный анализ результатов комплексного стоматологического и бактериального исследований у пациентов с ХП определил зависимость развития и степени тяжести течения заболевания от наследственной предрасположенности и сопутствующих патологий, которые коррелируют с наличием патогенной микрофлоры полости рта.

2. Полученный препарат ДНК из слюны оказался наиболее качественным и удобным для тестирования 4 SNP локусов по сравнению препарата ДНК, выделенной из периферической крови.

3. Неблагоприятный аллельный и генотипический варианты полиморфизма rs1800629 гена TNF- α значимо чаще встречались у пациентов с ХП, чем группы контроля. Наличие в генотипе неблагоприятного генотипа гена TNF- α 3.8 раз достоверно повышает риска развития пародонтита (OR=3,8; $\chi^2=4,7$; P=0,03; 95% CI=1.07-13,73) и способствует прогрессированию воспалительно-деструктивного процесса пародонта (OR=5.7; $\chi^2=5.0$; P=0,02; 95% CI=1.059- 30.31).

4. Обнаружено совместного влияния кластера полиморфизмов гена IL-1 β в патогенетическом механизме формирования и развитие ХП. При этом, наличия полиморфных локусов rs1143634 и rs1143627 гена IL-1 β самостоятельно не оказывали значимое влияние на формирование и особенности течения воспалительно-деструктивной формы пародонтита. Однако полученные данные по rs16944 гена IL-1 β , наоборот, свидетельствуют о вовлеченности неблагоприятного генотипа данного локуса в подверженности к формированию (OR=1.9) и клиническому прогрессированию ХП (OR=2.4).

5. Разработан новый алгоритм, позволяющий по совокупности данных значимых генетических маркеров, клинико-инструментальные и анамнестические показателей оценить прогноз риска развития и тяжести течения ХП.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для детекции SNP полиморфизма в стоматологической практике наиболее удобным оказался метод экстракции ДНК из слюны. Полученный препарат ДНК этим способом оказался наиболее качественным и предпочтительным объектом при проведении детекции 4 SNP полиморфизмов по сравнению препарата ДНК выделенной и периферической крови. Результаты исследования генетических детерминантов медиаторов воспаления TNF- α и IL-1 β , как по отдельности, так и их взаимодействия могут быть использованы в профилактической медицине для прогнозирования развития и клинического течения ПД.

2. Для определения индивидуального прогноза, а также для формирования групп повышенного риска развития пародонтита рекомендуется использовать прогностический тест, отражающий анамнестический, генотипический, клинический и параклинический статусы. Полученные результаты могут быть использованы в учебном процессе на стоматологических и биологических факультетах ВУЗов, а также на курсах последипломного образования по клинической стоматологии и медицинской генетики.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арутюнов С.Д., Сафонова А.В., Петрин А.Н., Акуленко Л.В., Боринская С.А. Генетические факторы предрасположенности к пародонтиту // Стоматолог. - М., 2009. - № 4. - С. 32-37.
2. Баранов В.С., Глотов О.С., Баранова Е.В. Геномика старения и предиктивная медицина // Успехи геронтологии. - 2010; 23 (3): 329-338.
3. Бекжанова О.Е. Клинико-патогенетические аспекты лечения хронических пародонтитов: Автореф. дис... д-ра мед. наук. - Ташкент, 2008. - 33 с.
4. Будовский А.И. Клиническая и молекулярно-генетическая характеристика опухолей полости рта: Автореф. дис... канд. мед. наук. – СПб, 2015. – 20 с.
5. Булкина Н.В., Моргунова В.М. Современные аспекты этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний пародонта, особенности клинических проявлений рефрактерного пародонтита // Фундаментальные исследования. – 2012. – Выпуск №2-2. – С.416-421.
6. Василенко Ф.И., Махаева Н.Ю. Взаимосвязь изменения функционального состояния пародонта с вегетативной регуляцией сердечного ритма больных пародонтитом // Вестник Южно-Уральского государственного университета. - 2014. - Том 14, №3. – С.79-83.
7. Васильев О. Н. Генетические и иммунологические факторы риска развития деструктивных форм одонтогенной инфекции: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб, 2011. – 21 с.
8. ВОЗ опубликовала статистику распространения стоматологических заболеваний во всем мире в 2012 г. //http://стоматология.рф_novosti/voz_opublikovala_statistiku_rasprostraneniya_stomatologicheskikh_zabolevaniy_vo_vsem_mire.

9. Волков А.Н. Апробация тест-системы для одновременного ПЦР-анализа пяти пародонтопатогенных микроорганизмов в биологическом образце // Медицина в Кузбассе. – 2014. - Т.13, № 4. – С.14-18.
10. Волкова В.В., Рунова Г.С., Балацкий А.В., Стамбольский Д.В., Гуревич К.Г., Самоходская Л.М. Значение генов L-1B, IL-6, TNF-A, MMP-9, UPA и UPAR в регенерации структур пародонта при ликвидации рецессии десны // Институт стоматологии. – 2017. - № 1(74). – С.60-63.
11. Вольф Г.Ф., Ратейцхак Э.М., Ратейцхак, К. Пародонтология; пер. с нем. / под ред. Г.М. Барера. - М.: МЕДпресс-информ, 2008. - 548 с.
12. Гожая Л.Д. Роль травмы металлическими зубными протезами в патогенезе пародонтита // Пародонтология. – 2012. – №3. – С. 12-15.
13. Голубь А.А., Чемикосова Т.С., Гуляева О.А. Состояние микроциркуляции в тканях пародонта у студентов на фоне курения и наличия соматической патологии // Проблемы стоматологии. – 2012. - №3. – С.20-24.
14. Горбачёва И.А. Связь заболевания внутренних органов с воспалительными поражениями полости рта // Пародонтология. – 2009. – №3. – С. 3-7.
15. Горбачева И.А., Орехова Л.Ю., Сычева Ю.А. Роль сердечно-сосудистой патологии в формировании воспалительно-дегенеративных заболеваний пародонта // Пародонтология. - 2008. - № 4(49). – С. 18-21.
16. Григорьян А.С. Болезни пародонта. Патогенез, диагностика, лечение. – М.: МИА, 2009.– 320 с.
17. Грудянов А.И., Овчинникова В.В. Состав пародонтопатогенной микрофлоры при пародонтите разных степеней тяжести по данным полимеразной цепной реакции // Стоматология. - 2008. - №3. - С.20-23.
18. Гусева О.Ю., Булкина Н.В., Полосухина Е.Н. Обоснование дифференцированного подхода к антибиотикотерапии при обострении хронического генерализованного пародонтита // Саратовский научно-медицинский журнал. - 2011. - Т. 7, № 1 - С. 287-288

19. Дмитриева Л.А. Пародонтология. Национальное руководство. – Москва: ГОЭТАР. – 2014. – 704с.
20. Домбровская Ю. А. Патогенетические аспекты профилактики и лечения хронического генерализованного пародонтита у мужчин с частичным возрастным андрогенным дефицитом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб, 2015. – 24 с.
21. Елисеева А.Ф. Сочетанное поражение пародонта и сердечно-сосудистой системы, клинико-морфологическое и микробиологическое исследование: Автореф. дис. ...канд. мед. наук. - Санкт-Петербург, 2014. – 22 с.
22. Зорина, О.А. Взаимосвязь качественного и количественного состава биоценозов ротовой полости и индивидуального генетического профиля на фоне воспалительных заболеваний пародонта: дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2011. – 256 с.
23. Зорина О.А. Идентификация ключевых элементов нормальной и патогенной микрофлоры, определяющей состояние пародонта, методом NGS-секвенирования банков 16S-р ДНК бактериальных консорциумов пародонта. / О.А. Зорина, Н.Б. Петрухина, А.А. Басова и др. // Стоматология. - 2014. -№6. - С.25-31.
24. Зорина, О.А. Микробиоценоз полости рта в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта. / О.А. Зорина, А.А. Кулаков, А.И. Грудянов // Стоматология. - 2011. - № 90 (1). - С.73–78.
25. Камиллов Х.П., Бекжанова О.Е., Эгамбердиев У.А., Искандарова Д. Проведение мероприятий по индивидуальной гигиене полости рта и лечению заболеваний пародонта на амбулаторно-поликлиническом приеме у больных кариесом // Stomatologiya. – 2013. - №3-4. – С.21-25.
26. Карпенко И.Н., Булкина Н.В., Понукалина Е.Г. Оценка эффективности комплексного терапевтического лечения больных быстро прогрессирующим пародонтитом по показателям анитаггегационных

свойств эндотелия сосудов и функциональной активности тромбоцитов // Российский стоматологический журнал. – 2008.- №3. – С.37 -39.

27. Ким М.И. Воспалительные заболевания пародонта как проявление системной дисфункции эндотелия // Крымский терапевтический журнал. – 2012. - №2. – С.38 – 42.

28. Ключникова М.О., Ключникова О.Н. Воспалительные заболевания пародонта – микробиологические аспекты // Современный взгляд на будущее науки: Сборник статей Международной научно-практической конференции. – Уфа, 2014. – Часть 3. – С.80-84.

29. Козлов В.И., Азизов Г.А., Гурова О.А., Литвин Ф.Б. Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке состояния и расстройств микроциркуляции крови: Метод. пособие. – М., 2012. – 32 с.

30. Кузьмина Э.М. Стоматологическая заболеваемость населения России. – Москва, 2009. - 234 с.

31. Кулаков, А.А. Метод ПЦР «в реальном времени» для анализа количественного и качественного соотношений микробиоценоза пародонтального кармана. / А.А. Кулаков, Д.В. Ребриков, О.А. Зорина, О.А. Борискина // Стоматология. – 2011. – №3. – С.31–33.

32. Ламонт, Р.Дж. Микробиология и иммунология для стоматологов.; пер. с англ. В.К. Леонтьева. / Р.Дж. Ламонт, М.С. Лантц, Р.А. Берне и др.– М.: Практическая медицина, 2010. – 504 с.

33. Лапик И.А., Сорокина Е.Ю., Шарафетдинов Х.Х., Сенцова Т.Б. Особенности полиморфизма rs659366 гена UCP2 у больных сахарным диабетом 2 типа // Врач-аспирант. – 2014. – Т.67, № 6. – С. 85–90.

34. Лепилин А.В., Еремин О.В., Островская Л.Ю. Патология пародонта при заболеваниях желудочно-кишечного тракта (обзор литературы) // Пародонтология. – 2008. – № 4 (49). – С. 10-17.

35. Лепилин А.В., Булкина Н.В., Островская Л.Ю. Воспалительные заболевания пародонта при *Helicobacter Pylori* - ассоциированной

гастродуоденальной патологии. Клинико-морфологическое и иммуногисто-химическое обследование // Рос. стоматологический журнал. - 2008. - №2. - С. 15-18.

36. Лихорад Е.В., Шаковец Н.В. Слюна: значение для органов и тканей в полости рта в норме и при патологии // Военная медицина. – 2013. - №1.

37. Лукина Г.И., Базилян Э.А. Стоматологические жалобы пациентов при патологии верхних отделов пищеварительного тракта // Медицинский журнал Узбекистана. – 2010. - №3. - С. 54-55.

38. Льянова Д.Л., Дроздова Г.А. Комплексное лечение воспалительных заболеваний пародонта у больных сахарным диабетом // Медицинский Вестник Северного Кавказа. – 2012. – № 2 (26). – С. 46-48.

39. Маев И.В. Микрофлора полости рта с различной РН смешанной слюны у больных с кислотозависимыми заболеваниями // Медицина критических состояний. – 2008. – № 3. – С. 31–34.

40. Макарова Н.А., Блашкова С.Л. Разработка и определение действенности протоколов лечения пародонтита в стоматологических поликлиниках г. Казани // Молодые ученые в медицине: материалы XIII Всерос. науч.- практ. конф. – Казань, 2008. – С. 144–145.

41. Мамаева Е.В. Пародонтологический статус и функциональное состояние организма у подростков: Автореф. дис. д-ра. мед. наук. – Казань, 2007. - 36 с.

42. Медведева О.В., Киричук В.Ф., Кодочигова А.И., Халтурина В.Г., Кучеров М.Г., Никулина И.Н. Клинические, психофизиологические и психологические аспекты риска развития заболеваний пародонта у клинически здоровых лиц // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2009. - т. 5, № 4. - С. 516-520.

43. Минайчева Л.И., Назаренко Л.П. Врожденные пороки развития челюстно-лицевой области и результаты медико-генетического обследования

// Сборник материалов 3-го Российского конгресса с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины – возможное и реальное». – СПб, 2015. – С.100-102.

44. Моргунова В.М., Булкина Н.В. Современные аспекты этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний пародонта, особенности клинических проявлений рефрактерного пародонтита // Фундаментальные исследования. – 2012.- N 2, Часть 2.–С.416–420.

45. Нацвлишвили Т., Кадурина Т.И., Кигурадзе-Гогилашвили К., Цимбалистов А.В. Ассоциация ~~del~~ полиморфизма гена NF-KB1 с развитием агрессивного пародонтита // Мультидисциплинарные аспекты молекулярной медицины: сборник материалов 3-го Российского конгресса с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины – возможное и реальное». – СПб, 2015. - С. 115 – 117.

46. Николаев А.М. Практическая терапевтическая стоматология. – М: МЕД пресс-информ, - 2008. -560 с.

47. Никурашина Н.А. Состояние вопросов диагностики заболеваний пародонта в крупных промышленных регионах Казахстана // Стоматология. – 2011. - №3. - С.21-22.

48. О работе Всемирной федерации стоматологов (FDI) // Российская стоматология. – 2009. – №1. – С.78-82.

49. Образцов Ю.Л. Стоматологическое здоровье: сущность значения для качества жизни, критерии оценки // Стоматология. -2006. -№ 4.-С.41-43.

50. Олейник Е.А. Использование GenoType PST-теста для определения риска возникновения заболеваний пародонта // Российский стоматологический журнал. - 2008. - № 1.- С. 30-32.

51. Олейник Е.А. Применение молекулярно-генетических тестов для диагностики пародонтитов // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2005. – Т.4, № 4.- С. 451-453.

52. Олесов Е.Е., Шаймиева Н.И., Олесов А.Е., Кононенко В.И., Юффа Е.П. Клинико-экономические аспекты профессиональной гигиены рта // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. - №2. – С.131-135.
53. Орехова Л.Ю., Осипова М.В. Прогнозирование состояние пародонта у курильщиков // Пародонтология. – 2012. – №1. – С. 42-46.
54. Осипова Ю.Л., Булкина Н.В., Кропотина А.Ю. Воспалительные заболевания пародонта при неэрозивной форме гастроэзофагальной рефлюксной болезни: клинические и иммунологические аспекты // Фундаментальные исследования. – 2012. - № 2 (2). – С. 325-327; UR L:
55. Островская Л.Ю. Клинико-диагностические критерии и оценка эффективности лечения воспалительных заболеваний пародонта у пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. - Волгоград, 2008. - 37с.
56. Панчовска М., Фиркова Е. Ревматоидный артрит и хронический пародонтит. Хронические заболевания с общим патогенезом // Научно-практическая ревматология. – 2007. – Выпуск 1. – С.63-68.
57. Пародонтология: национальное руководство /под ред. проф. Л.А. Дмитриевой. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 126 с.
58. Перова М.Д., Шубич М.Г., Козлов В.А. Новый взгляд на развитие и репарацию повреждений тканей пародонта с позиций молекулярной медицины (аналитический обзор). Часть 1. Механизмы рецепции патогенов и передачи сигналов о функциональном состоянии // Стоматология. - 2007.-№3.- С.76-80.
59. Петрович Ю.А., Подорожная Р.П., Киченко С.М. Гематосаливарный барьер // Рос. Стоматологический журнал. - 2004. - №4. - С.39-44.
60. Петрухина, Н.Б. Изучение взаимосвязи состава микробиома пародонта и кишечника в норме и при патологии методами глубокого

секвенирования. / Н.Б. Петрухина, О.А. Зорина, Е.В. Ших, А.В. Шибаета, А.Б. Шевелев // Стоматология. - 2016. - №2. - С.8-13.

61. Пихур О.Л., Михайлова Г.С., Кузьмина Д.А., Цимбалистов А.В. Роль гигиены полости рта в профилактике основных стоматологических заболеваний: учебное пособие. – Санкт-Петербург, 2010. – 123 с.

62. Полевой П.В. Профилактика и диагностика заболеваний ротовой полости у беременных // Буковинський медичний вісник. – Черновцы, 2013. - Том 17, № 1 (65). – С.90-91.

63. Понукалина Е.В., Булкина Н.В., Карпенко И.Н. О роли нарушений сосудисто-тромбоцитарного механизма гемостаза в патогенезе микроциркуляторных расстройств при быстро прогрессирующем пародонтите // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2008. – №1 (10). – С.51-54.

64. Попова Е.С., Писаревский Ю.Л., Намханов В.В. Определение степени микроциркуляторных нарушений в пародонте у детей с зубочелюстными аномалиями // Вестник Бурятского Государственного Университета. – 2013. - Выпуск № 12. – С.103-106.

65. Пузин М. Н., Кипарисова Е.С., Вагнер В.Д., Мамедова Л.А. Этиопатогенетические аспекты хронического генерализованного пародонтита // Рос. стоматологический журнал. – 2010. - №1.

66. Пузырева Л.В., Сафонов А.Д. Генетический полиморфизм цитокинов: прошлое и будущее // Инфекция и иммунитет. - 2016. - Т. 6, № 2. – С.103-109.

67. Ризник Ю.Б. Дисфункция эндотелия сосудов и её роль в развитии и прогрессировании генерализованного пародонтита // Вестник биологии и медицины. – 2014. – вып.2. – № 2. – С. 115 -121.

68. Романенко Е.Г., Ковач И.В., Руденко А.И., Кленина И.А. Роль метаболитов оксида азота в патогенезе воспалительных заболеваний тканей полости рта и желудочно-кишечного тракта // Вісник проблем біології і медицини. - 2010. - Вип. 3. – С.37-41.

69. Рябоконь Е.Н., Соколова И.И., Олейничук В.В. Патоморфологические изменения в эпителии пародонтальных карманов у больных генерализованным пародонтитом, сочетанным с язвенной болезнью // Вестник проблем биологии и медицины. – 2013. Т.1. - №4. – С. 342-345
70. Сафонова А. В., Петрин А. Н., Арутюнов С. Д., Царев В. Н., Акуленко Л. В., Зорина О. А., Ребриков Д. В., Рубанович А. В., С. А. Боринская, Янковский Н. К. Ассоциация аллелей генов цитокинов со степенью тяжести воспалительных заболеваний пародонта у человека // Acta Naturae. – 2011. – Том 3, №1(8). – С.123-129.
71. Скиба А.В. Патогенетические аспекты профилактики и лечения стоматологических заболеваний при сахарном диабете: Автореф.дис. ... д-ра мед.наук. – Одесса, 2016. – 40 с.
72. Статовская Е.Е., Кадурина Т.И. Ассоциация генетических полиморфизмов с клиническими проявлениями стоматологической патологии у больных с дисплазией соединительной ткани // Мультидисциплинарные аспекты молекулярной медицины: сборник материалов 3-го Российского конгресса с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины –возможное и реальное». – СПб, 2015. - С.152 -154.
73. Степанова Т.Ю., Тимофеева А.В. Микробиом ротовой полости человека // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 5.; URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25212>. С. 1
74. Субанова А.А. Особенности эпидемиологии и патогенеза заболеваний пародонта (обзор литературы) // Вестник КРСУ. -2015. -Том 15, № 7. – С.152-155.
75. Суворов, К.В. Пародонтит и биоценоз пищеварительного тракта: этиопатогенетические взаимосвязи и клиническое значение: Дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Суворов Кирилл Валерьевич - Тверь. - 2013. - 113 с.
76. Супрун Э.В., Пиминов А. Ф., Ролик С. Н. Заболевания пародонта: современные подходы к рационализации местной терапии в

рамках комплексного лечения воспалительных заболеваний полости рта // Аптека. – 2013. - №915(44).

77. Тытюк С.Ю. Стоматологический статус взрослых людей, страдающих болезнью Крона и хроническим неспецифическим язвенным колитом: Дис. ... канд.мед.наук. – СПб, 2016. – 172 с.

78. Фирсова И.В., Мокрова Е.А., Заводовский Б.В., Македонова Ю.А. Витамин Д и его роль в развитии стоматологических заболеваний (обзорная статья) // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6.

79. Хасанова Л.Э. Клиника, патогенетическая терапия и профилактика генерализованного пародонтита у женщин в пожилом и старческом возрасте: Автореф.дис. ... д-ра мед.наук. – Ташкент, 2015. – 30 с.

80. Царев В.Н. Возможная роль микрофлоры полости рта в развитии инфекционного эндокардита. / В.Н. Царев, М.А. Саркисян, Г.А. Шамсиев // Медицина критических состояний. – 2010. – № 1. – С.11-15.

81. Цепов Л.М., Голева Н.А. Роль микрофлоры в возникновении воспалительных заболеваний пародонта // Пародонтология. -2009.-№1. - С.7-12.

82. Чаплин А.В., Ребриков Д.В., Болдырева М. Н. Микробиом человека // Вестник РГМУ. - 2017. - №2. – С.5-13.

83. Шибаета А. В., Айвазова Р. А., Ребриков Д. В., Трубникова Е. В., Кудыкина Ю. К., Белякова А. В. Применение метода ПЦР в реальном времени для изучения микробиома пародонта у пациентов с сочетанной патологией гастродуоденальной зоны и хроническим пародонтитом // Мол. генетика, микробиол. и вирусол. 2016; 34 (1): 26-30.

84. Шилов, А.М. Взаимосвязи дисбиоза пищеварительного тракта (пародонтит, энтероколит), атерогенной дислипидемии и нарушений углеводного обмена на ранних этапах метаболического синдрома. / А.М. Шилов, Н.Б. Петрухина, А.А. Марьяновский// Лечащий врач. - 567082016. – № 2. - С.7-12.

85. Широков В. Ю., Иванов А. Н., Данилов А. С. Половые различия изменений функций эндотелия сосудистой стенки в динамике лечения хронического генерализованного пародонтита с использованием миллиметровых волн // *Фундаментальные исследования*. - 2013. - №9.- С.756-759.
86. Щербакова Т.А. Обзор современных методов лечения генерализованного агрессивного пародонтита // *Бюллетень медицинских Интернет-конференций* (ISSN 2224-6150) 2017. Том 7. № 1. С.415-419.
87. Янушевич, О.О. Исследование *aggregati bacteractino mycetem comitans* и комплекса *treponema denticola / tanerellaforssythia* в качестве этиологического фактора хронического пародонтита методами количественной ПЦР. / О.О. Янушевич, Р.А. Айвазова, А.В. Шибаева и др. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2015. – №10. – С.502–504.
88. Abusleme, L. The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. / L. Abusleme, A.K. Dupuy, N. Dutzan et al. // *ISME. J.* - 2013. – Vol.7. – P.1016–1025
89. Adler, I. *Helicobacter pylori* and oral pathology: Relationship with the gastric infection. / I. Adler, A. Muiño, S. Aguas et al. // *World J. Gastroenterol.* - 2014. - Vol. 20(29). - P. 9922-9935.
90. Andrian, E. *Porphyromonas gingivalis* epithelial cell interactions in periodontitis. / E. Andrian, D. Grenier, M. Rouabhia // *J. Dent. Res.* – 2006. – Vol.85 (5). – P.392–403.
91. Armingohar, Z. Bacteria and bacterial DNA in atherosclerotic plaque and aneurysmal wall biopsies from patients with and without periodontitis. / Z. Armingohar, J.J. Jørgensen, A.K. Kristoffersen et al. // *J. Oral Microbiol.* – 2014. – Vol.15. – P.6.
92. Ayazi G., Pirayesh M., Yari K. Analysis of interleukin-1 β gene polymorphism and its association with generalized aggressive periodontitis disease // *DNA Cell Biol.* – 2013. – Vol. 32, №7. – P. 409-413.

93. Bashiardes, S. Use of metatranscriptomics in microbiome research. / S. Bashiardes, G. Zilberman-Schapira, E. Elinav // *Bioinform. Biol. Insights.* – 2016. – Vol. 10. – P. 19–25.
94. Behl, Y. Activation of the acquired immune response reduces coupled bone formation in response to a periodontal pathogen. / Y. Behl, M. Siqueira, J. Ortiz et al. // *J. Immunol.* – 2008. – Vol.181(12). – P.8711–8718.
95. Belstrom, D. Differences in bacterial saliva profile between periodontitis patients and a control cohort. / D. Belstrom, N.E. Fiehn, C.H. Nielsen et al.// *J. Clin. Periodontol.* - 2014. - Vol. 41. - P. 104-112.
96. Benson, D.A. GenBank. / D.A. Benson, M. Cavanaugh, K. Clark et al. // *Nucleic Acids Res.* 2013 Jan;41 (Database issue): D36–42. doi: 10.1093/nar/gks1195. Epub 2012 Nov 27.
97. Birsan, I. Polymerase chain reaction as a prospect for the early diagnosis and prediction of periodontal diseases in adolescents. / I. Birsan // *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* – 2015. – Vol.16(1). – P.9–12.
98. Blainey, P.C. The future is now: single-cell genomics of bacteria and archaea. / P.C. Blainey // *Fems Microbiol. Rev.* – 2013. – Vol. 37. – P.407–427.
99. Bouziane A., Benrachadi L., Abouqal R., Ennibi O. Outcomes of nonsurgical periodontal therapy in severe generalized aggressive periodontitis // *Journal of Periodontal & Implant Science.* 2014. Vol. 44(4). P. 201-206.
100. Braga R.R. Quantification of five putative periodontal pathogens in female patients with and without chronic periodontitis by real-time polymerase chain reaction. / R.R. Braga, M.A. Carvalho, O. Bruña-Romero et al. // *Anaerobe.* – 2010. – Vol.16(3). – P.234–239.
101. Brigido J.A., da Silveira V.R., Rego R.O., Nogueira N.A. Serotypes of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in relation to periodontal status and geographic origin of individuals-a review of the literature. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal* 2014; 19: 184-191.

102. Brito L., DalBó S., Striechen T., Farias J. Experimental periodontitis promotes transient vascular inflammation and endothelial dysfunction // Arch. Oral Biol. - 2013. – Vol. 58, N 9. – P. 1187-1198.
103. Brusca S.B. Microbiome and mucosal inflammation as extra – articular triggers for rheumatoid arthritis and autoimmunity. / S.B. Brusca, S.B. Abramson, J.U. Scher // Curr. Opin. Rheumatol. – 2014. – Vol.26(1). – P.101 –107.
104. Cani P.D. Gut microbiota and obesity: lessons from the microbiome. / P.D. Cani // Brief Funct. Genomics. – 2013. – Vol. 12(4). – P. 381–387.
105. CDC Health Disparities and Inequalities Report — United States, 2013 (Отчет CDC о неравенстве в сфере здоровья и здравоохранения – США, 2013) http://www.dental-ribune.com/articles/news/russia/17205_cdc.html
106. Chahbouni H., Maltouf A.F., Ennibi O. Aggregatibacter actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in aggressive periodontitis in Morocco - preliminary study. Odonto-stomatologie tropicale. Tropical dental journal 2013; 36: 5-10.
107. Chen, T. The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information. / T. Chen, W.-H. Yu, J. Izard et al. // Database. – 2010: baq013. doi:10.1093/database/baq013
108. Cirelli T., Finoti L.S., Corbi S.C.T., Anovazzi G., Nepomuceno R. Absolute quantification of Aggregatibacter actinomycetemcomitans in patients carrying haplotypes associated with susceptibility to chronic periodontitis: multifaceted evaluation with periodontitis covariants // Pathog. Dis. – 2017. – Vol.75, N7 p.1-11.
109. Colombo A.P., Bennet S., Cotton S.L., Goodson J.M., Kent R. et al. Impact of periodontal therapy on the subgingival microbiota of severe periodontitis: comparison between good responders and individuals with refractory periodontitis using the human oral microbe identification microarray. Journal of periodontology 2012; 83: 1279-1287.

110. D'Aiuto F. Evidence that periodontal treatment improves biomarkers and CVD outcomes. / F. D'Aiuto, M. Orlandi, J.C. Gunsolley // J. Clin. Periodontal. - 2013. 40 (in press).
111. da Silva F.R.P., Pessoa L.D.S., Vasconcelos A.C.C.G., de Aquino Lima W., Alves E.H.P., Vasconcelos D.F.P. Polymorphisms in interleukins 17A and 17F genes and periodontitis: results from a meta-analysis // Mol. Biol. Rep. – 2017. - Oct 13. doi: 10.1007/s11033-017-4128-x.
112. De Carvalho F.M., Tinoco E.M.B., Govil M., Marazita M.L., Vieira A.R. Aggressive periodontitis is likely influenced by a few small effect genes // Journal of Clinical Periodontology. 2009. Vol. 36(6). P. 468–473.
113. Dietrich T., Sharma P., Walter C. The epidemiological evidence behind the association between periodontitis and incident atherosclerotic cardio-vascular disease // J. Clin Periodontol. – 2013. – Vol. 40, N14 (suppl.) - P.70-84.
114. Do T. Oral biofilms: molecular analysis, challenges, and future prospects in dental diagnostics. / T. Do, D. Devine, P.D. Marsh // Clin. Cosmet. Investig. Dent. – 2013. – Vol.28(5). – P.11-19.
115. Dong Y. Piperine inhibit inflammation, alveolar bone loss and collagen fibers breakdown in a rat periodontitis model. / Y. Dong, Z. Huihui, C. Li // J. Periodontal Res. 2015 Mar 2. doi: 10.1111/jre. 12262. Piperine inhibit inflammation, alveolar bone loss and collagen fibers breakdown in a rat periodontitis model. / Y. Dong, Z. Huihui, C. Li // J. Periodontal Res. 2015 Mar 2. doi: 10.1111/jre.12262.
116. Duran–Pinedo, A.E. Correlation network analysis applied to complex biofilm communities. / A.E. Duran–Pinedo, B. Paster, R. Teles, J. Frias–Lopez // PLoS One. – 2011. – Vol. 6(12). – P.e28438.P. 30-53.
117. Ertoldi C., Lalla M., Pradelli J.M. Risk factors and socioeconomic condition effects on periodontal and dental health: A pilot study among adults over fifty years of age. // Eur. J. Dent. 2013.- № 7 (3):336–346.
118. Finoti L.S. Periodontopathogens levels and clinical response to periodontal therapy in individuals with the interleukin–4 haplotype associated with

susceptibility to chronic periodontitis. / L.S. Finoti, G. Anovazzi, S.C. Pigossi et al. // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2013. – Vol. 32(12). – P.1501–1509.

119. Folwaczny M., Tsekeri E., Glas J. A haplotypic variant at the IRGM locus and rs11747270 are related to the susceptibility for chronic periodontitis //Inflamm Res. 2017 Oct 5. doi: 10.1007/s00011-017-1101-z.

120. Genuis S.J. What's out there making us sick? // J. Environ. Public Health. 2012. - Vol. 2012. - P.10].

121. Gonçalves P.F., Harris T.H., Elmariah T., Aukhil I., Wallace M.R., Shaddox L.M. Genetic polymorphisms and periodontal disease in populations of African descent: A review // J. Periodontal. Res. - 2017. – N.5. doi: 10.1111/jre.12505.

122. Goulart R.C., Bolean M., Paulino T.P., Thedei G.Jr. Photodynamic therapy in planktonic and biofilm cultures of *Aggregatibacter actinomycetem-comitans* // Photomedicine and Laser Surgery. - 2010. - Vol.28(S1). - P.53-60.

123. Griffen A.L. Distinct and complex bacterial profiles in human periodontitis and health revealed by 16S pyrosequencing. / A.L. Griffen, C.J. Beall, J.H. Campbell et al. // ISME. J. - 2012. – Vol.6. – P.1176–1185.

124. Griffen A.L. CORE: a phylogenetically–curated 16S rDNA database of the core oral microbiome. / A.L. Griffen, C.J. Beall, N.D. Firestone et al. // PLoS ONE. – 2011. – Vol.6. – P.e19051.

125. Guo Y.Y., Zhang J.Y., Li X.F., Luo H.Y., Chen F., Li T.J. PTCH1 gene mutations in Keratocystic odontogenic tumors: a study of 43 Chinese patients and a systematic review //PLOS One. – 2013.- № 8(10):e77305.

126. Haaland Ø.A., Jugessur A., Gjerdevik M., Romanowska J. Genome-wide analysis of parent-of-origin interaction effects with environmental exposure (PoOxE): An application to European and Asian cleft palate trios // PLoS One. – 2017. - №12(9): e0184358.

127. Hajishengallis G. The inflammophilic character of the periodontitis-associated microbiota. / G. Hajishengallis // Mol. Oral Microbiol. - 2014. - Vol.29(6). - P.248-257.
128. Handelsman J. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. / J. Handelsman, M.R. Rondon, S.F. Brady et al. // Chem. Biol. – 1998. – Vol. 5 (10). –P.245–249.
129. Heller D., Silva-Boghossian C.M., do Souto R.M., Colombo A.P. Subgingival microbial profiles of generalized aggressive and chronic periodontal diseases. Archives of oral biology 2012; 57: 973-980.
130. Hoff D.A., Gregersen H., Hatlebakk J.G. Mucosal blood flow measurements using laser Doppler perfusion monitoring // W. J. Gastroenterol. — 2009. - Vol. 15. - P. 198-203.
131. Hong B.–Y. Microbiome Profiles in Periodontitis in Relation to Host and Disease Characteristics. / B.–Y. Hong, M.V. Furtado Araujo, L.D. Strausbaugh et al. // PLoS ONE. – 2015. – Vol.10(5). – P.e0127077. P 1-14.
132. Hou Y.Y., Zhen Y.H., Wang D., Zhu J., Sun D.X. et al. Protective effect of an egg yolk-derived immunoglobulin (IgY) against Prevotella intermedia-mediated gingivitis. Journal of applied microbiology 2014; 116: 1020-1027.
133. Huck O., Saadi –Thiers K., Tenenbaum H., Davideau J. Evaluating periodontal risk for patients at risk of or suffering from atherosclerosis: recent biological hypotheses and therapeutic consequences // J. Arch. Cardiovasc. Dis. - 2013. – Vol. 104, N 5. – P. 352-358.
134. Huse S.M., Dethlefsen L., Huber J.A., Mark Welch D., Relman D.A. et al. Exploring microbial diversity and taxonomy using SSU rRNA hypervariable tag sequencing. PLoS genetics 2008; 4: 1000255.
135. Hyvärinen K. Detection and quantification of five major periodontal pathogens by single copy gene-based real-time PCR. / K. Hyvärinen, S. Laitinen S. Paju et al. // Innate Immun. – 2009. – Vol.15(4). – P.195–204.

136. Inagaki, S. Treponema denticola invasion into human gingival epithelial cells. / S. Inagaki, R. Kimizuka, E. Kokubu et al. // Microb. Pathog. 2016 Jan 22. pii: S0882-4010(16)00008-5. doi: 10.1016/j.micpath.2016.01.010. p. 1-8.
137. Ishaan D., Parthasarathy H., Ponnaiyan D., Tadepalli A., The CD14 rs2569190 TT Genotype is Associated with Chronic Periodontitis // Genet. Test Mol. Biomarkers. – 2017. – Vol.21(9). – H.560-564.
138. J. Amar, C. Chabo, A. Waget et al. //J. Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment. EMBO Mol Med. – 2011. – Vol.3. – P.559–572.
139. Jeftha A, Holmes H. Periodontitis and cardiovascular disease //SADJ. – 2013. - №68 (2). – P.62-63.
140. Joseph R., Rajappan S., Nath S.G., Paul B.J. Association between chronic periodontitis and rheumatoid arthritis: A hospital-based case-control study// Rheumatology international. – 2013. - Vol.33. –P.103–109.
141. Junemann S., Prior K., Szczepanowski R., Harks I., Ehmke B. Bacterial community shift in treated periodontitis patients revealed by ion torrent 16S rRNA gene amplicon sequencing. PloS one 2012; 7: 41606. P.1-8
142. Karasneh J., Bani-Hani M., Alkhateeb A., Hassan A., Alzoubi F., Thornhill M. TLR2, TLR4 and CD86 gene polymorphisms in recurrent aphthous stomatitis // J. Oral Pathol. Med. -2015. – Vol.44(10). – P.857-863.
143. Kebschull M., Haupt M., Jepsen S, Deschner J. Mobilization of endothelial progenitors by recurrent bacteremias with a periodontal pathogen // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, N 1. – P. e 54860.
144. Keijser B.J. Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. / B.J. Keijser, E. Zaura, S.M. Huse et al. // J. Dent. Res. - 2008. - Vol. 87. - P. 1016-1020.

145. Khosravi Samani M, Jalali F., Seeyed Ahadi S.M. The relationship between acute myocardial infarction and periodontitis // Journal Caspian J. Intern. Med. – 2013. – Vol. 4, N 2. – P. 667-671
146. Kirst M.E. Dysbiosis and alterations in predicted functions of the subgingival microbiome in chronic periodontitis. / M.E. Kirst, E.C. Li, B. Alfant et al. // Appl. Environ. Microbiol. – 2015. – Vol.81(2) . – P.783–793.
147. Koeth, R.A. Intestinal microbiota metabolism of L–carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. / R.A. Koeth, Z. Wang, B.S. Levison et al. // Nat. Med. – 2013. – Vol.19. – P.576–85.
148. Kumar P.S. Identification of candidate periodontal pathogens and beneficial species by quantitative 16S clonal analysis. / P.S. Kumar, A.L. Griffen, M.L. Moeschberger et al. // J. Clin. Microbiol. - 2005. – Vol.43. – P.3944–3955.
149. Lazarevic V., Whiteson K., Huse S., Hernandez D., Farinelli L. et al. Metagenomic study of the oral microbiota by Illumina high-throughput sequencing // Journal of microbiological methods. - 2009; 79: 266-271.
150. Ling Z., Liu X., Wang Y., Li L., Xiang C. Pyrosequencing analysis of the salivary microbiota of healthy Chinese children and adults. Microbial ecology 2013; 65: 487-495.
151. Littarru G.P. Clinical aspects of coenzyme Q10: an update. / G.P. Littarru, L. Tiano // Nutrition. - 2010. – Vol.26. – P. 250–254.
152. Lucarini G., Zizzi A., Aspriello S. Involvement of vascular endothelial growth factor, CD44 and CD133 in periodontal disease and diabetes: an immunohistochemical study // J. Clin Periodontol. - 2009. - Vol. 14, N.3. – P. 10.
153. Mahendra J. Prevalence of eight putative periodontal pathogens in atherosclerotic plaque of coronary artery disease patients and comparing them with noncardiac subjects: A case –control study. / J. Mahendra, L. Mahendra, A. Nagarajan et al. // Indian J. Dent. Res. – 2015. – Vol.26(2). – P.189 –195.

154. Marcelino S.L. Presence of periodontopathic bacteria in coronary arteries from patients with chronic periodontitis. / S.L. Marcelino, E. Jr. Gaetti-Jardim, V. Nakano et al. // *Anaerobe*. – 2010. – Vol.16(6). – P.629–632.
155. McLoughlin R.M. Influence of gastrointestinal commensal bacteria on the immune responses that mediate allergy and asthma. / R.M. McLoughlin, K.H.Mills // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2011. – Vol.127. – P.1097–1107.
156. Mesa F., Lanza E., García L., Marfil-Alvarez R., Magan-Fernandez A. Polymorphism IL-1RN rs419598 reduces the susceptibility to generalized periodontitis in a population of European descent // *PLoS One*. – 2017. - N12(10): e0186366.
157. Nakajima M. Oral Administration of *P. gingivalis* Induces Dysbiosis of Gut Microbiota and Impaired Barrier Function Leading to Dissemination of Enterobacteria to the Liver. / M. Nakajima, K. Arimatsu, T. Kato et al. // *PLoS One*. – 2015. – Vol.10(7). – P.e0134234. p.1-15.
158. Nakano K. Characterization of aortic aneurysms in cardiovascular disease patients harboring *Porphyromonas gingivalis*. / K. Nakano, K. Wada, R. Nomura et al. // *Oral Dis*. – 2011. – Vol.17(4). – P.370–378.
159. Ng H.M., Kin L.X., Dashper S.G. Bacterial interactions in pathogenic subgingival plaque // *Microb. Pathog.* – 2016. – Vol. 94. – P. 60-69.
160. Park O.-J. Pyrosequencing analysis of subgingival microbiota in distinct periodontal conditions. / O.-J. Park, H. Yi, J.H. Jeon et al. // *J. Dent. Res.* – 2015. – Vol.94(7). – P.921–927.
161. Pradeep A.R., Hadge P., Chowdhry S., Patel S., Happy D. // *J. Oral Sci.* 2009. V. 51. P. 261–266.
162. Qin J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. / J. Qin, R. Li, J. Raes et al. // *Nature*. – 2010. – Vol. 464 (4). – P. 59–67.

163. Rafferty B. Impact of monocytic cells on recovery of uncultivable bacteria from atherosclerotic lesions. / B. Rafferty, D. Jönsson, S. Kalachikov et al. // J. Intern. Med. 2011. – Vol.270(3). – P.273–280.
164. Ram V.S., Parthiban U. Sudhakar Bonebiomarkers in periodontal disease: a review article // J. Clin. Diagn. Res. – 2015. – Vol. 9. – P. 7-10.
165. Reyes L. Periodontal bacterial invasion and infection: contribution to atherosclerotic pathology. / L. Reyes, D. Herrera, E. Kozarov et al. // J. Periodontol. – 2013. – Vol.84(4 Suppl). – P.S30–S50.
166. Ribeiro I.P., Marques F., Barroso L., Rodrigues J., Caramelo F., Melo J.B., Carreira I.M. Genomic profile of oral squamous cell carcinomas with an adjacent leukoplakia or with an erythroleukoplakia that evolved after the treatment of primary tumor: A report of two cases // Mol. Med. Rep. – 2017. - Sep 5. doi: 10.3892/mmr.2017.7428.
167. Ricci M. Association between genetic risk score and periodontitis onset and progression: a pilot study. / M. Ricci, F. Garoia, C. Tabarroni et al. // Arch. Oral Biol. – 2011. – Vol.56(12). – P.1499–505.
168. Sandhya P. Does the buck stop with the bugs?: an overview of microbial dysbiosis in rheumatoid arthritis. / P. Sandhya, D. Danda, D. Sharma et al. // Int. J. Rheum. Dis. – 2016. – Vol.19(1). – P.8–20.
169. Saygun I. Salivary infectious agents and periodontal disease status. / I. Saygun, N. Nizam, I. Keskiner et al. // J. Periodontal Res. – 2011. – Vol.46(2). – P.235–239.
170. Septer S., Bohaty B., Onikul R., Kumar V., Williams K.B., Attard T.M., Friesen C.A., Friesen L.R. Dental anomalies in pediatric patients with familial adenomatous polyposis // Fam. Cancer. - 2017 Sep 8. doi: 10.1007/ s10689-017-0035-5.
171. Silva N., Abusleme L., Bravo D. Host response mechanisms in periodontal diseases // J. Appl. Oral Sci. – 2015. – Vol. 23. – P. 329-355.

172. Silva-Boghossian C.M., Neves A.B., Resende F.A., Colombo A.P. Suppuration-associated bacteria in patients with chronic and aggressive periodontitis. *Journal of periodontology* 2013; 84: 9-16.
173. Singh, A. The capsule of *Porphyromonas gingivalis* leads to a reduction in the host inflammatory response, evasion of phagocytosis, and increase in virulence. / A. Singh, T. Wyant, C. Anaya-Bergman et al. // *Infect. Immun.* – 2011. – Vol.79(11). – P.4533–4542.
174. Thiha K. Identification periodontopathic bacteria in gingival tissue of Japanese periodontitis patients. / K. Thiha, Y. Takeuchi, M. Umeda et al. // *Oral Microbiol. Immunol.* - 2007. - Vol. 22 (3). - P.201–207.
175. Van Dyke, T.E. The etiology and pathogenesis of periodontitis revisited // *J. Appl. Oral Sci.* 2009. Vol. 17, № 1. P. 4.
176. Venugopal P., Lavu V., Rao SR., Venkatesan V. Association of microRNA-125a and microRNA-499a polymorphisms in chronic periodontitis in a sample south Indian population: A hospital-based genetic association study // *Gene.* – 2017. – Vol.631. – P.10-15.
177. Wade W.G. The oral microbiome in health and disease. / W.G. Wade // *Pharmacol. Res.* - 2013. – Vol.69(1) . – P.137-143.
178. Wu X., Offenbacher S., López N.J., Chen D., Wang H.-Y., Rogus J., Zhou J., Beck J., Jiang S., Bao X., Wilkins L., Doucette-Stamm L., Kornman K. Association of interleukin-1 gene variations with moderate to severe chronic periodontitis in multiple ethnicities // *J. Periodont. Res.* – 2014. -N2. - P.2-9.
179. Yücel O.O., Berker E., Mescil L., Eratalay K., Tepe E., Tezcan I. Association of interleukin-1 beta (+3954) gene polymorphism and gingival crevicular fluid levels in patients with aggressive and chronic periodontitis // *Genet Couns.* – 2013. - Vol.24. - №1. – P 21-35.
180. Yu-Feng Hsiao; Li-Chiu Yang; Yu-Shian Chou; Ya-Ping Ho; Ying-Chu Lin; Kun-Yen Ho; Yi-Min Wu; Chi-Cheng Tsai. Matrix metalloproteinase-2,

-9, and tissue inhibitor of MMP-2 gene polymorphisms in Taiwanese periodontitis patients // Journal of Dental Sciences. – 2016. – Vol. 11, N. 4. - P. 411-418.

181. Zaura E. Defining the healthy “core microbiome” of oral microbial communities. / E. Zaura, B.J. Keijser, S.M. Huse, W. Crielaard // BMC Microbiol. – 2009. – Vol.9. – P.259.

