



УДК 616-093

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА

**Е.А. ОЛЕЙНИК<sup>1</sup>**  
**Б.В. ТРИФОНОВ<sup>1</sup>**  
**Е.Г. ДЕНИСОВА<sup>2</sup>**

<sup>1)</sup> Белгородский государственный  
национальный  
исследовательский университет

<sup>2)</sup> Областная стоматологиче-  
ская поликлиника, г. Воронеж

e-mail: mcsi31@mail.ru

В статье изложены данные по использованию современных диагностических систем, основанных на DNA-STRIP технологии, в практической деятельности врача-стоматолога-пародонтолога. Молекулярно-диагностический тест GenoType IL-1 (HAIN-lifescience, Германия) позволяет определить риск развития воспалительных заболеваний пародонта. Другой тест, Micro-IDent (HAIN-lifescience, Германия) предназначен для диагностики пародонтопатогенных штаммов бактерий. Преимущества данных молекулярно-генетических систем состоит в ранней диагностике заболеваний и постоянном мониторинге терапевтического успеха.

Ключевые слова: заболевания пародонта, молекулярно-генетические системы, ранняя диагностика, пародонтопатогенные микроорганизмы.

В настоящее время основной причиной воспалительных заболеваний пародонта большинство авторов считают нарушение динамического равновесия между патогенными микробами зубного налета и защитными силами пародонта и организма в целом [1, 2].

Большой интерес представляют молекулярно-генетические методы диагностики пародонтопатогенных бактерий в полости рта [2]. Для обеспечения долгосрочного успеха терапия требует целенаправленной ликвидации этих бактерий, чтобы снизить бактериальную нагрузку на ткани пародонта.

Ни у кого не вызывает сомнений, что риск развития пародонтитов генетически детерминирован [3, 4, 5, 6]. При наличии генетического дефекта в иммунной системе происходит перепроизводство главного медиатора воспаления – интерлейкина-1 [4, 5]. Гиперактивация медиатора интерлейкина-1 способствует усиленной пролиферации остеокластов и приводит к разрушению костной ткани.

**Цель работы** – апробирование молекулярно-генетических систем для ранней диагностики воспалительных заболеваний пародонта.

**Материал и методы исследования.** В работе мы использовали тест-систему Micro-IDent (HAIN-lifescience, Германия) основанную на принципе обратной гибридизации. Диагностический комплект включает в себя: стерильные тубы с бумажными штифтами, сопроводительный бланк.

Анализ обратной гибридизации включал денатурацию ампликона ДНК и нанесение полученного образца на нитроцеллюлозную полоску, содержащую специфические зонды 5 пародонтогенов, контрольный зонд для выделенной ДНК и контроль конъюгата. Ампликоны, связавшиеся с комплементарным зондом, визуализировали после добавления конъюгата стрептавидина с щелочной фосфатазой. Результаты считывали по предоставленному шаблону.

**Методика исследования:** исследуемая зубодесневая бороздка или карман изолируются от слюны, в нее на 20 секунд погружается бумажный штифт, который извлекается и перекладывается в стерильный контейнер и отправляется в лабораторию HAIN-diagnostika. Метод позволяет выявить не сами бактерии (чувствительность метода 5-12 основных пародонтопатогенных бактерий), а определенные «маркерные» последовательности их нуклеиновых кислот.

Благодаря высокой специфичности и чувствительности тест Micro-IDent на выявление пародонтопатогенных бактерий в экссудате пародонтальных карманов позволяет быстро идентифицировать пациентов из групп риска и может дать ценную информацию для выбора эффективного способа антибактериального лечения.

Присутствие медиатора воспаления интерлейкина-1 определяли с помощью генетического теста GenoType PST (HAIN-lifescience, Германия).



**Методика проведения теста.** Тест основан на DNA-STRIP технологии и характеризуется полиморфизмом IL-1A – 889; IL-1B +3953; IL-1 RN +2018. Процедура состоит из трех ступеней: изоляции ДНК, многократной амплификации и обратной гибридизации. Комплект состоит из стерильной тубы с аппликатором, сопроводительного письма. Основой теста является мазок слизистой оболочки полости рта, процедура взятия которого чрезвычайно проста и абсолютна безболезненна.

Заполнялись анкетные данные на пациента, затем стерильным аппликатором в течение 20-30 секунд брали мазок со слизистой оболочки щеки. Аппликатор вносили в стерильную тубу и отправляли в лабораторию фирмы HAIN-lifescience.

**Результаты исследования.** На первом этапе мы определили риск развития воспалительных заболеваний пародонта и генетическую предрасположенность к ним.

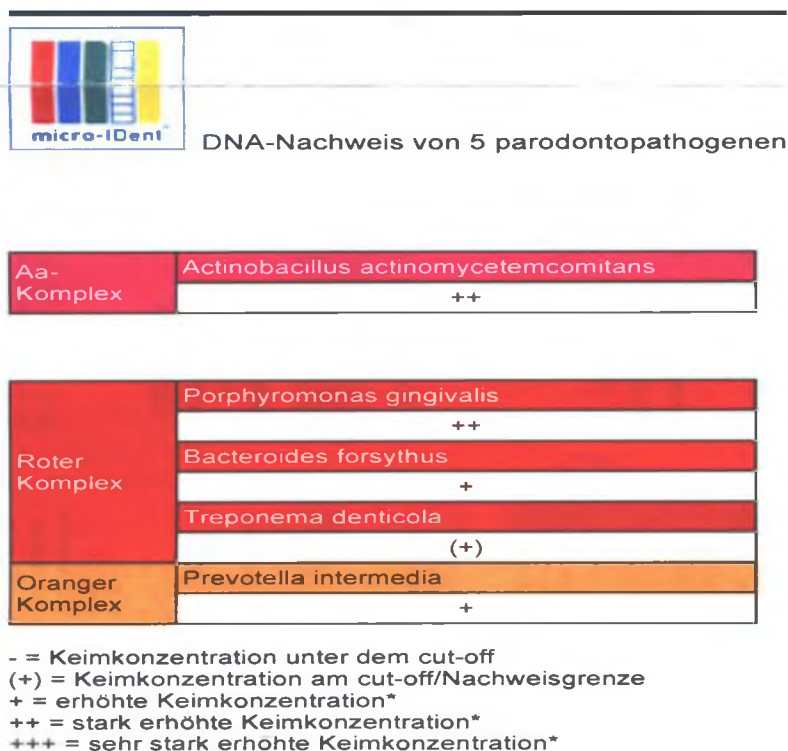


Рис. Выявление ДНК пародонтопатогенов в зубодесневой борозде у пациентов группы I

При проведении GenoType-теста объектом исследования были: I группа – подростки (12 чел.) в возрасте 12-14 лет с генетической патологией, II группа – практически здоровые дети в возрасте 12-14 лет (9 чел.). У 75% (9 чел.) респондентов с хромосомными аномалиями результаты оказались позитивными при полиморфизме позиций IL-1A-889; IL-1B+3953; IL-1RN+2018. В то время как в группе сравнения только в 22% случаев тест GenoType PST оказался положительным. Таким образом, у подростков с синдромом Дауна риск развития заболеваний пародонта генетически детерминирован по сравнению с подростками из группы сравнения.

С целью ранней идентификации пародонтопатогенных микроорганизмов зубной бляшки использовали молекулярно-генетический тест Micro-IDent (фирмы Hain – lifescience), использующий принцип обратной гибридизации. Выявляли маркеры 5 пародонтопатогенов P.intermedia (оранжевый комплекс), P. gingivalis, T.denticola B.forsythus (красный комплекс), A.actinomycetemcomitans (розовый комплекс). На рисунке представлен полученный результат MicroDent – теста из лаборатории HAIN-lifescience (Германия) пациента Ф.Д., 12 лет (группа I – дети с синдромом Дауна).



В группе I был проведен тест MicroDent у 11 человек (от 10 лет и старше). Были получены следующие результаты: маркеры *P. gingivalis*, *T.denticola* *B.forsithus* (красный комплекс) встречались в 18% случаев (2 чел.), маркеры розового комплекса *A.actinomycetemcomitans* выявлены у 4 человек (36%).

В группе сравнения (II) были выявлены только маркеры оранжевого комплекса у 1 ребенка из 10 (10%).

Анализируя вышеизложенное, делаем вывод, что у пациентов из группы I (с синдромом Дауна) по сравнению с группой сравнения уже сложился благоприятный генетический и бактериальный фон для развития заболеваний пародонта.

На втором этапе мы оценивали состояние тканей пародонта с помощью индексов РМА и КПИ. Данные представлены в таблице.

Таблица

**Показатели индексов РМА и КПИ в обследуемых группах**

| Исследуемые параметры | Группа с синдромом Дауна | Группа сравнения | p       |
|-----------------------|--------------------------|------------------|---------|
| Индекс РМА            | 26,8±10,4%               | 8,9±4,57%        | p<0,005 |
| Индекс КПИ            | 1,9±0,69                 | 0,7±0,29         | p<0,001 |

У детей с синдромом Дауна показатели индекса гингивита значительно выше (почти в три раза), чем в группе сравнения. Так, в группе I среднее значение индекса РМА составило 26,8±10,4%, в группе II – 8,9±4,57%. Различия достоверны и максимально значимы (p<0,005).

Среднее значение индекса КПИ (комплексный периодонтальный индекс) у детей с синдромом Дауна – 1,9±0,69, в группе сравнения – 0,7±0,29, что свидетельствует о риске развития заболеваний пародонта. Различия между показателями индекса КПИ достоверны и очень значимы (p<0,001).

Анализируя вышеизложенное, необходимо отметить, что методы диагностики, основанные на использовании пародонтологических индексов, несмотря на широкое применение в клинике, признаются косвенными, так как отражают, скорее, проявления частных аспектов патогенеза заболеваний пародонта.

Использование в практической деятельности врача-пародонтолога современных молекулярно-генетических систем позволяет оценить риск развития воспалительных заболеваний пародонта, провести раннюю диагностику заболеваний на стадии малых клинических проявлений, разработать индивидуальную программу лечения для пациента.

### Литература

1. Новое понимание патогенеза болезней пародонта в свете работ о роли распознающих рецепторов / Ю.М. Максимовский [и др.] // *Стоматология для всех*. – 2006. – № 2. – С. 24-29.
2. Перспективы применения молекулярно-генетических методов исследований в диагностике пародонтита / В.Н. Царев [и др.] // *Российский стоматологический журнал*. – № 5. – 2002. – С. 6-9.
3. Sellman, Hans H. Kariesrisikotest jetzt auch als DNS-Sonden-Test / H. Sellman Hans // *Dental Spiegel*. – 2003. – № 1. – P. 44-45.
4. Socransky, S.S. Subgingival microbial profiles in refractory periodontal disease / S.S. Socransky, C. Smith, A.D. Haffajee // *J. Clin. Periodontol.* – 2002. – Vol. 29. – P. 260-268.
5. Immunoglobulin G subclass antibody profiles in Porphyromonas gingivalis-associated aggressive and chronic periodontitis patients / Y. Takeuchi [et.al.] // *Oral Microbiol. Immunol.* – 2006. – Vol. 21. – P. 314-318.
6. White, D. Association of oral Bacteroides with gingivitis and adult periodontitis / D. White, D. Mayrand // *J. Periodontal .Res.* – 1981. – Vol. 16. – P. 259-265.



## **MOLECULAR GENETIC SYSTEMS FOR DIAGNOSTICS OF INFLAMMATORY PERIODONTAL DISEASE**

**E.A. OLEYNIK<sup>1</sup>**  
**B.V. TRIFONOV<sup>1</sup>**  
**E.G. DENISOVA<sup>2</sup>**

*<sup>1)</sup> Belgorod National Research University*

*<sup>2)</sup> Voronezh Region Dental Polyclinic*

*e-mail: mcsi31@mail.ru*

The article describes modern diagnostics systems based upon the DNA-STRIP technology in practice of periodontist. The Molecular genetic test GenoType IL-1 (HAIN-lifescience, Germany) enables to detect inflammatory periodontal disease risks. Another test - MicroIDent (HAIN-lifescience, Germany) is specially designed for diagnostics of periodontium pathogenic bacterial strains. The advantage of these molecular genetic systems is the early diagnostics of disease and constant therapeutic success monitoring.

Key words: periodontal disease, molecular genetic systems, early diagnostics, periodontium pathogenic microorganisms.