

¹О. В. Деньга, ²Т. А. Пиндус, ³Т. Г. Вербицкая

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МАРКЕРОВ ЖИРОВОГО ОБМЕНА И ВОСПАЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ПАРОДОНТИТОМ НА ФОНЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

¹Государственное учреждение «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Национальной академии медицинских наук Украины», г. Одесса;

²Львовский медицинский институт;

³Лаборатория молекулярно-генетических исследований «Гермедтех»

Summary. ¹Denga O. V., ²Pyndus T. A., ³Verbitskaya T. G. **MOLECULAR-GENETIC ASSESSMENT OF MARKERS OF FAT EXCHANGE AND INFLAMMATION IN PATIENTS WITH PARODONTITIS AT THE BACKGROUND OF METABOLIC SYNDROME.** - ¹ State Establishment "The Institute of Stomatology and Maxillo-Facial Surgery National Academy of Medical Science of Ukraine"; ²Lviv medical institute; ³ Laboratory of molecular genetic research «GerMedTech», e-mail: vestnyk@gmail.com. **Introduction.** One of the factors affecting the development of metabolic syndrome are genetic factors. However, there is practically no information on studies of the state of genetic markers in combination with metabolic syndrome and parodontal tissue diseases. **Objective.** The aim of this study was to assess the status of genetic markers associated with fat metabolism and inflammation in patients with generalized parodontitis of I and II degrees against the background of the metabolic syndrome. **Materials and methods.** Patients with chronic generalized parodontitis, with disorders of fat metabolism and the state of the vascular endothelium markers of selected genes PPARGC1A, PPARG, PAI-1, LPL and FTO studied in the cells of the buccal epithelium. **Results. Conclusions.** The conducted studies showed that the patients in the case of generalized parodontitis in combination with the metabolic syndrome from the selected 5 genetic markers associated with fat metabolism in the body, the greatest violations were observed in the genes PPARGC1A and FTO, which we propose to use as the most representative in this combined pathology, and as a marker of inflammation and thrombocyte formation in this case, we suggest using the PAI-1 marker (100% of disorders).

Key words: molecular-genetic studies, parodontitis, metabolic syndrome.

Реферат. Деньга О. В., Пиндус Т. А., Вербицкая Т. Г. **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МАРКЕРОВ ЖИРОВОГО ОБМЕНА И ВОСПАЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ПАРОДОНТИТОМ НА ФОНЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА.** Проведенные исследования показали, что у пациентов при наличии генерализованного пародонтита в сочетании с метаболическим синдромом из отобранных 5 генетических маркеров, связанных с жировым обменом в организме, наибольшие нарушения наблюдались в генах PPARGC1A и FTO, которые мы предлагаем использовать как наиболее репрезентативные при данной сочетанной патологии. В качестве маркера воспаления и тромбоцитобразования при сочетании пародонтита и метаболического синдрома у пациентов, мы предлагаем использовать маркер PAI-1, в котором наблюдалось практически 100% нарушений.

Ключевые слова: молекулярно-генетические исследования, пародонтит, метаболический синдром.

Реферат. Деньга О. В., Пиндус Т. О., Вербицкая Т. Г. **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНА ОЦІНКА МАРКЕРІВ ЖИРОВОГО ОБМІНУ І ЗАПАЛЕННЯ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ПАРОДОНТИТОМ НА ТЛІ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ.** Проведені дослідження показали, що у пацієнтів при наявності генералізованого

пародонтиту в поєднанні з метаболічним синдромом з відібраних 5 генетичних маркерів, пов'язаних з жировим обміном в організмі, найбільші порушення спостерігалися в генах PPARGC1A і FTO, які ми пропонуємо використовувати як найбільш репрезентативні при даній поєднаній патології. В якості маркера запалення і тромбоцитоутворення при поєднанні пародонтиту та метаболічного синдрому у пацієнтів, ми пропонуємо використовувати маркер PAI-1, в якому спостерігалось практично 100% порушень.

Ключові слова: молекулярно-генетичні дослідження, пародонтит, метаболічний синдром.

Существует большое количество информации о возможных проявлениях метаболического синдрома (МС), но до настоящего времени отсутствует общепринятая, доказанная концепция его патогенеза [1].

В настоящее время в пределах патогенеза рассматривают несколько теорий: глюкоцентрическая, липоцентрическая, а в настоящее время исследования развиваются в направлении липокиновой теории МС [2].

Важным звеном в патогенезе метаболического синдрома, согласно липоцентрической теории, является абдоминально-висцеральная жировая ткань. Одним из основных факторов при МС можно считать андроидное ожирение. По данным клинических наблюдений, инсулинорезистентность обнаружена почти у 90 % пациентов при этом типе ожирения, в то время как гиноидный тип ожирения регистрируется только у 32 % больных [3].

Одними из факторов, влияющих на развитие МС являются генетические факторы. Определен ряд генов, связанных с повышенной вероятностью развития МС или обуславливающих сниженную толерантность к пищевой нагрузке [4, 5]. Однако сведений об исследованиях состояния генетических маркеров при сочетании МС и заболеваний тканей пародонта в литературе практически нет.

Цель - оценить состояние генетических маркеров, связанных с жировым обменом и воспалением, у пациентов с генерализованным пародонтитом I и II степени на фоне МС.

Материалы и методы. В исследовании участвовало 28 пациентов возраста 30-50 лет с хроническим генерализованным пародонтитом и с нарушениями жирового обмена и состояния эндотелия сосудов.

В работе изучали маркеры генов PPARGC1A (коактиватор гамма рецепторов, активируемый пероксисомными пролифераторами 1 альфа), PPARGC1B (коактиватор гамма рецепторов, активируемый пероксисомными пролифераторами 1 бета), PPARG (рецептор, активируемый пероксисомными пролифераторами бета/дельта), PPARG (рецептор, активируемый пероксисомными пролифераторами гамма), LPL (липопротеиновая липаза), FTO (ген связанный с ожирением), PAI-1 (ингибитор активатора плазминогена). Выделение ДНК из клеток буккального эпителия проводили по модифицированной методике с Chelex [6].

Аллельные варианты генов PPARGC1A (Gly482Ser,A/G), PPARGC1B (Ala203Pro,G/C), PPARG (T294C), PPARG (Pro12Ala), PAI-1 (5G/4G) оценивали методом аллель специфической полимеразной цепной реакцией (ПЦР). Аллельные варианты гена LPL Ser447Ter C/G выявляли методом ПЦР-ПДРФ, обрабатывая амплификаты соответствующим ферментом рестрикции. ПЦР проводили на амплификаторе BIO-RAD (США).

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты исследования нарушений в генах определяющих жировой, липидный обмен и воспаление приведены в таблицах 1 и 2.

Ген PPARGC1A является многофункциональным рецептором в органах и тканях и играет решающую роль в регуляции дифференцирования адипоцитов и их нормального функционирования, накопления липидов в жировой ткани [7]. Функция этого фактора заключается в регуляции генов связанных с аккумуляцией жира, дифференцировкой миоцитов и с чувствительностью к инсулину. Определенную роль рецепторы гена PPARGC1A играют в регуляции гомеостаза костной ткани. Активация этого рецептора вызывает кроме того противовоспалительный эффект за счет снижения экспрессии противовоспалительных цитокинов, обеспечивает контроль уровня глюкозы. Нарушения в нашем случае в гене PPARGC1A у пациентов с пародонтитом на фоне метаболического синдрома, как видно из таблицы 1, составляли 89,3 %, при этом мутации отмечены у

пациентов 42,9 %, а гетерозиготы 46,4 % (табл. 1).

Таблица 1

Результаты исследования нарушений в генах липидного обмена у пациентов с генерализованным пародонтитом на фоне метаболического синдрома

№	PPARGC1A Gly482Ser A/G			PPARGC1B Ala203Pro G/C			PPARD T294C		
	н	г	м	н	г	м	н	г	м
1.			G/G	G/G				T/C	
2.		A/G		G/G				T/C	
3.	A/A			G/G					C/C
4.		A/G		G/G			T/T		
5.		A/G		G/G			T/T		
6.		A/G		G/G			T/T		
7.			G/G	G/G			T/T		
8.		A/G		G/G			T/T		
9.			G/G	G/G			T/T		
10.			G/G	G/G				T/C	
11.	A/A			G/G			T/T		
12.		A/G		G/G			T/T		
13.			G/G	G/G			T/T		
14.			G/G	G/G				T/C	
15.		A/G		G/G				T/C	
16.		A/G			G/C		T/T		
17.			G/G	G/G				T/C	
18.			G/G	G/G			T/T		
19.			G/G	G/G				T/C	
20.			G/G	G/G			T/T		
21.			G/G	G/G			T/T		
22.	A/A			G/G				T/C	
23.			G/G	G/G			T/T		
24.		A/G			G/C		T/T		
25.		A/G		G/G			T/T		
26.		A/G		G/G				T/C	
27.		A/G		G/G			T/T		
28.		A/G			G/C		T/T		
Кол-во	3	13	12	25	3	0	18	9	1
%	10.7	46.4	42.9	89	11	0	64.2	32.2	3.6

Примечание: н – норма; г – гетерозигота; м – мутация.

Ген PPARGC1B кодирует белок (PGC1-beta), активирующий транскрипционные факторы, вовлеченные в регуляцию жирового и углеводного обменов, а также состава мышечных волокон. PGC-1b экспрессируются в бурой жировой ткани, сердце, скелетных мышцах и почках. Продукт гена PPARGC1B - белок PGC1B коактивирует действие ряда транскрипционных факторов, регулирует митохондриальный биогенез и обмен веществ. В нашем случае в гене PPARGC1B отсутствовали мутации и только 11 % составляли гетерозиготы (табл. 1).

Ген PPARD широко экспрессируется в печени, почках, сердечной и скелетных мышцах, жировой ткани, мозге, толстой кишке и сосудистой сети .Наиболее высокая экспрессия наблюдается в тех тканях, которые, участвуют в метаболизме липидов, таких как жировая ткань, печень, почки и мышцы что отражает его роль в нескольких биологических функциях [8]. В нашем случае нарушения в гене PPARD наблюдались в 67,9% случаев, при чем мутации составляли 53,6 %, а гетерозиготы 14,3 % (табл. 1).

Таблица 2

Результаты исследования нарушений в генах жирового обмена и воспаления у пациентов с генерализованным пародонитом на фоне метаболического синдрома

№	LPL Ser447Ter C/G			FTO A/T			PAI-1 5G/4G		
	н	г	м	н	г	м	Н	г	м
1.			G/G		A/T			5G/4G	
2.	C/C			T/T				5G/4G	
3.		C/G				A/A		5G/4G	
4.	C/C			T/T				5G/4G	
5.	C/C			T/T					4G/4G
6.	C/C					A/A			4G/4G
7.	C/C			T/T					4G/4G
8.	C/C			T/T				5G/4G	
9.	C/C			T/T				5G/4G	
10.	C/C					A/A			4G/4G
11.	C/C			T/T				5G/4G	
12.	C/C					A/A	5G/5G		
13.	C/C					A/A			4G/4G
14.		C/G				A/A			4G/4G
15.	C/C					A/A			4G/4G
16.		C/G				A/A		5G/4G	
17.	C/C					A/A			4G/4G
18.	C/C					A/A			4G/4G
19.	C/C					A/A			4G/4G
20.	C/C			T/T					4G/4G
21.	C/C				A/T				4G/4G
22.	C/C					A/A			4G/4G
23.		C/G			A/T				4G/4G
24.	C/C				A/T				4G/4G
25.	C/C					A/A			4G/4G
26.	C/C					A/A			4G/4G
27.	C/C					A/A		5G/4G	
28.	C/C			T/T					4G/4G
Кол-во	23	4	1	9	4	15	1	9	18
%	82.1	14.3	3.6	32.1	14.3	53.6	3.6	32.1	64.2

Примечание: н – норма; г – гетерозигота; м – мутация.

Ген PPARG регулирует экспрессию митохондриальных белков 1, 2 и 3 типа, разобщающих окислительное фосфорилирование, и вызывает также экспрессию сигнального белка cCbl, принимающего участие в действии инсулина. В нашем исследовании нарушений в этом гене не наблюдалось.

Липопротеинлипаза LPL - фермент, который вносит свой вклад в обмен веществ, в том числе в регуляцию действия инсулина, регуляцию веса тела, энергетический баланс, атеросклероз [9]. Липопротеинлипаза (ЛПЛИ) является ключевым ферментом, который гидролизует триглицериды, содержащиеся в ядре хиломикрон и частиц липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП). Дефицит фермента ЛПЛИ связан с развитием атеросклероза [10]. В нашем случае нарушения в гене LPL наблюдались 17,9 % случаев из которых гетерозиготы составляли 14,3 %, а мутации составляли 3,6 % (табл. 2).

Ген FTO связан с жировой массой и ожирением, расположен в хромосомной области 16q12.2 [11], играет решающую роль в системе энергетического баланса. Выявленные генетические полиморфизмы в FTO показали связь с сахарным диабетом 2 типа [12]. Очевидно, что многие генетические варианты в FTO также имеют связь с риском возникновения МС. В нашем случае при сочетании у пациентов с МС и патологии тканей

пародонта в гене FTO наблюдалось 67,9 % нарушений, из них мутации составляли 53,6 %, а гетерозиготы 14,3 % (табл. 2).

Маркер воспаления и тромбоцитобразования PAI-1 является наиболее эффективным ингибитором однопочечной и двухпочечной форм тканевого и урокиназного ингибиторов активатора плазминогена, его высокий уровень также связан с ожирением и МС [13]. У пациентов с патологией тканей пародонта и МС в нашем случае наблюдалось в этом гене 96,3 % нарушений (64,3% – мутаций, 32% – гетерозигот) (табл. 2).

Выводы. Проведенные исследования показали, что у пациентов в случае генерализованного пародонтита в сочетании с метаболическим синдромом из выбранных 5 генетических маркеров, связанных с жировым обменом в организме, наибольшие нарушения наблюдались в генах PPARGC1A и FTO, которые мы предлагаем использовать как наиболее репрезентативные при данной сочетанной патологии. В качестве маркера воспаления и тромбоцитобразования при сочетании пародонтита и метаболического синдрома у пациентов, мы предлагаем использовать маркер PAI-1, в котором наблюдалось практически 100% нарушений.

Литература:

1. Бутрова С. А. Метаболический синдром: патогенез, клиника, диагностика, подходы к лечению / С.А. Бутрова // Русский медицинский журнал – 2001. – № 9 (2). – С. 56–61.
2. Строев Ю. И. Классические и современные представления о метаболическом синдроме. Часть 2. Патогенез / Ю. И. Строев, М. В. Цой, Л. П. Чурилов, А. Н. Шишкин // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2007. – Сер. 11. – Вып. 4. – С. 3–14.
3. Genser L., Casella Mariolo J. R. Obesity, Type 2 Diabetes, and the Metabolic Syndrome: Pathophysiologic Relationships and Guidelines for Surgical Intervention. Surg. Clin. North Am. 2016; 96(4): 681–701.
4. Larder R., Lim C. T., Coll A. P. Genetic aspects of human obesity. Handb. Clin. Neurol. 2014; 124: 93–106.
5. Ziki M. D., Mani A. Metabolic syndrome: genetic insights into disease pathogenesis Curr. Opin. Lipidol. 2016; 27(2): 162–171.
6. Walsh P. S., Metzger D. A., Higuchi R. Chelex 100 as a Medium for Simple Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material. BioTechniques. 2013; 54(3): 134–139
7. Flavell D. M., Ireland H., Stephens J. W., Hawe E., Acharya J., Mather H., Hurel S. J., Humphries S. E. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α Gene Variation Influences Age of Onset and Progression of Type 2 Diabetes. Diabetes 2005; 54(2): 582–586.
8. Giordano Attianese G. M., Desvergne B. Integrative and systemic approaches for evaluating PPAR β/δ (PPARD) function. Nucl. Recept. Signal. 2015; 13: e001.
9. Barg E. Polymorphisms of lipoprotein lipase gene and their participation in metabolic processes. Pediatr. Endocrinol. Diabetes Metab. 2011; 17(2): 107–12.
10. Пасечник А. В., Моисеева Е. Г., Фролов В. А., Дроздова Г. А. Пародонтит и метаболические нарушения: Учебно-методическое пособие. – М., 2011. – 30 с.
11. Frayling T. M., Timpson N. J., Weedon M. N. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. Science. 2007; 316: 889–894.
12. Cruz M., Valladares-Salgado A., Garcia-Mena J. Candidate gene association study conditioning on individual ancestry in patients with type 2 diabetes and metabolic syndrome from Mexico City. Diabetes Metab Res Rev. 2010; 26: 261–270.
13. Eckel R. H., Grundy S. M., Zimmet P. Z. The metabolic syndrome. Lancet. 2005; 365: 1415–1428.

References:

1. Butrova S. A. Metabolic syndrome: pathogenesis, clinic, diagnosis, approaches to treatment // Russkij medicinskij zhurnal. 2001; 9 (2): 56–61.
2. Stroevev Ju. I. Classical and modern ideas about the metabolic syndrome. Part 2. Pathogenesis // Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. 2007: 11(4): 3–14.

10. Pasechnik A. V., Moiseeva E. G., Frolov V. A., Drozdova G. A. Parodontit i metabolicheskie narusheniya [Parodontitis and metabolic disorders]. Uchebno-metodicheskoe posobie. *Moskva*; 2011: 30.

Работа поступила в редакцию 20.10.2017 года.

Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования