



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА

Е.А. ОЛЕЙНИК¹
Б.В. ТРИФОНОВ¹
Е.Г. ДЕНИСОВА²

¹⁾ Белгородский государственный
национальный
исследовательский университет

²⁾ 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 комплентарным 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.



Aa- Komplex	Actinobacillus actinomycetemcomitans	++
----------------	--------------------------------------	----

Roter Komplex	Porphyromonas gingivalis	++
	Bacteroides forsythus	+
	Treponema denticola	(+)
Oranger Komplex	Prevotella intermedia	+

- = Keimkonzentration unter dem cut-off
 (+) = Keimkonzentration am cut-off/Nachweisgrenze
 + = erhöhte Keimkonzentration*
 ++ = stark erhöhte Keimkonzentration*
 +++ = sehr stark erhöhte Keimkonzentration*

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. OLEYNIK¹
B.V. TRIFONOV¹
E.G. DENISOVA²

¹⁾ Belgorod National Research University

²⁾ 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.