

As is evident from foregoing, the canine deviation from the occlusal plane examined is different even in symmetrical teeth: on the right -1.9 - 2.32 mm, on the left - 2.1 - 2.5 mm, which can lead to a disruption of the aesthetics of the face and function. N. V. Kalinina [4] takes up the position that natural impression is produced when the upper central incisors and canines are on the same level. Correct formation of the occlusal plane and the construction of dentition in complete removable prostheses, correspondingly to the level of this plane, increase both the aesthetic and functional characteristics of the chewing apparatus.

Conclusions. The results of our research give the right to draw the following conclusions:

a) when constructing the occlusal plane of the bite - block in the frontal region by the method of N. I. Larin inaccuracies take place due to the fact that it is tilted upward from the plane formed at the level of the pupillary line, an average of 5.2° on the right and 5.9° on the left;

b) at the level of the canines, when they are staged depending on the Estedent teeth size, the deviations are 1.9 - 2.5 mm.

The data obtained necessitate the necessity to improve the method of occlusal plane formation according to N. I. Larin for its accuracy increase, which is the result of our further research and presentations.

REFERENCES

1. **Bevz G. P., Bevz V. G.** *Geometrija* [Geometry]. Kyiv.: *Vezha*; 2008:190-192.
2. **Bradis V. M.** *Chetyrehznachnye matematicheskie tablicy* [Four-digit mathematical tables]. Moskva.: *Prosveshhenie*; 1992:55-58.
3. **Gubskaja A. N.** *Opredelenie central'noj okkluzii pri protezirovanii bezzubyh cheljjustej* [Definition of Central occlusion in prosthetics of toothless jaws]: Abstract of a candidate's thesis of medical sciences. Kiev; 1954:10.
4. **Kalinina N. V., Zagorskij V. A.** *Protezirovaniye pri polnoj potere zubov - 2-e izdanie, pererabotano i dopolneno* [Prosthesis with complete loss of teeth - 2nd edition, revised and enlarged]. M.: *Medicina*; 1990:109.
5. **Larin N. I.** Refined methods of formation of the occlusal plane by using the apparatus for prosthetics of toothless jaws. *Stomatologija*. 1960;3:54-57.
6. **Sadykov M.I., Komleva T.N., Melenberg T.V., Komlev S.S., Shelemetev S.V.** *Sposob poluchenija proteticheskoy ploskosti na tomogramme bezzubyh cheljjustej* [A method of obtaining prosthetic plane on the tomogram of the edentulous jaw] Patent 2272568. Russian Federation, IPC (2006. 01) AND 61 IN 6/14. / applicants and patent owners – they are the same (RU).– No. 2004124084/14; it is 06.08.2004; published 27.03.2006.
7. **Shumskij A.V., Jurchenko S.Ju** *Sposob postroenija proteticheskoy ploskosti* [Method of constructing prosthetic plane] Patent 2360644. Russian Federation, IPC (2006. 01) AND 61 19/04., A. 11/00 61 And 61 In

5/103.: the applicant and holder of patent No. 2008122533/14; stated 06.06.2008; published 10.07.2009.

8. **Evdokimov A. I.** *Rukovodstvo po ortopedicheskoy stomatologii* [Manual of prosthodontics]. M.: *Medicina*; 1974:273:295- 297.

The article acted 24.04.17



УДК 675.001.5+616.314-089.843

**Е. И. Семенов, к. мед. н.,
В. В. Лепский, к. мед. н.,
Т. Г. Вербицкая, к. биол. н.
С. А. Шнайдер, д. мед. н.**

Государственное учреждение «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Национальной академии медицинских наук Украины»

ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ФАКТОРА НА ДОЛГОСРОЧНОСТЬ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ДЕНТАЛЬНЫХ ИМПЛАНТАТОВ

Исследован полиморфизм генов MMP1 1607 insG, MMP9 A-8202G, TIMP C536T у 22 пациентов более 5 лет пользующихся ортопедическими конструкциями с опорой на дентальные имплантаты и не предъявляющих жалоб на их эффективность. Частота нормальных гомозигот гена MMP1 1607 insG была обнаружена у 2 пациентов или у 9,1 % от общего количества осматриваемых, гетерозиготные мутации были выявлены у 18 пациентов (81,8 %), полная мутация наблюдалась у 2 пациентов (9,1 %). Частота нормальных гомозигот MMP9 A-8202G была обнаружена у 6 пациентов (27,3 %), гетерозиготные мутации у 10 пациентов (45,6 %), гомозиготная мутация у 6 пациентов (27,3 %). Гетерозиготная мутация гена TIMPC536T была обнаружена у 2 пациентов (9,1 %), у остальных пациентов полиморфизм гена отсутствовал.

Ключевые слова: полиморфизм генов, дентальные имплантаты.

**Є. І. Семенов, В. В. Лепський,
Т. Г. Вербицька, С. А. Шнайдер**

Державна установа «Інститут стоматології та
щелепно-лицевої хірургії
Національної академії медичних наук України»

ВПЛИВ ГЕНЕТИЧНОГО ФАКТОРА НА ДОВГОСТРОКОВІСТЬ ФУНКЦІОНУВАННЯ ДЕНТАЛЬНИХ ІМПЛАНТАТІВ

Досліджено поліморфізм генів MMP1 1607 insG, MMP9 A-8202G, TIMP C536T у 22 пацієнтів більше 5 років користуються ортопедичними конструкціями з опорою на дентальні імплантати і не пред'являють скарг на їх ефективність. Частота нормальних гомозигот гена MMP1 1607 insG була виявлена у 2 пацієнтів або у 9,1 % від загальної кількості оглянутих, гетерозиготні мутації були виявлені у 18 пацієнтів (81,8 %), повна мутація спостерігалася у 2 пацієнтів (9,1 %). Частота нормальних гомозигот MMP9 A-8202G була виявлена у 6 пацієнтів (27,3 %), гетерозиготні мутації у 10 пацієнтів (45,6 %), гомозиготна мутація у 6 пацієнтів (27,3 %). Гетерозиготна мутація гена TIMPC536T була виявлена у 2 пацієнтів (9,1 %), у решти пацієнтів поліморфізм гена був відсутній.

Ключові слова: поліморфізм генів, дентальні імплантати.

**E. I. Semenov, V. V. Lepskij, T. G. Verbickaja,
S. A. Shnajder**

State Establishment “The Institute of Stomatology
and Maxillo-Facial Surgery National Academy of
Medical Science of Ukraine”

THE INFLUENCE OF GENETIC FACTOR IN THE LONG TERM FUNCTIONING DENTAL IMPLANTS

ABSTRACT

We investigated the polymorphism of genes MMP1 1607 insG, MMP9 A-8202G, TIMP C536T, 22 patients more than 5 years use orthopedic structures based on dental implants and making no complaints about their effectiveness. The frequency of normal homozygous gene MMP1 1607 insG was discovered in 2 patients, or 9.1 percent of the total number examined, heterozygous mutations were detected in 18 patients (81,8 %), the full mutation was observed in 2 patients (9.1 per cent). The frequency of normal homozygotes MMP9 A-8202G was discovered in 6 patients (27,3 %), heterozygous mutations in 10 patients (45,6 %), a homozygous mutation was found

in 6 patients (27,3 %). Heterozygous mutations of the gene TIMPC536T was detected in 2 patients (9.1 %), the remaining patients gene polymorphism was absent.

Key words: gene polymorphism, dental implants.

В последнее время появилось большое количество публикаций о роли генетических факторов, которые не вызывают заболеваний, однако способны ухудшить течение воспалительных процессов и могут повлиять на обменные процессы в костной ткани [1, 4]. Это в свою очередь может привести к дезинтеграции имплантатов [2, 3]. Alvim-Pereira при анализе генов, полиморфизм которых может влиять на остеинтеграцию имплантатов, выделил три группы по их функциональному значению. [5].

1. Факторы, которые влияют на течение воспалительного процесса, а также интенсивность иммунного ответа организма. К ним относятся: интерлейкин – 1 альфа, интерлейкин – 1 бета, интерлейкин – 2, интерлейкин – 6, фактор некроза опухоли – альфа, CD14 и трансформирующий фактор роста бета – 1.

2. Факторы, которые регулируют формирование кости – остеопротегерин, рецептор витамина D, костный морфогенетический протеин.

3. Факторы которые определяют интенсивность коллагенолиза. К ним относятся: матриксная протеиназа – 1 (MMP1), матриксная металлопротеиназа – 9 (MMP9), TIMP-ген, кодирующий фермент ингибитора металлопротеиназ.

Деструкция тканей поддерживающего аппарата зуба происходит вследствие деградации компонентов экстрацеллюлярного матрикса и приводит к необратимой потере соединительной ткани периодонта и альвеолярной кости. Важную роль в данном патологическом процессе играют матриксные металлопротеиназы (MMP). MMP – цинкзависимые эндопептидазы, выделяемые, в основном, полиморфноядерными лейкоцитами в активной фазе периодонтита и ответственные за деградацию матрикса [6.]

Ген MMP1 кодирует фермент коллагеназу, которая расщепляет белки межклеточного матрикса в процессе эмбриогенеза, ремоделирования тканей, метастазирования, воспалительных процессов. Матриксная металлопротеиназа (MMP-1) осуществляет первичную деградацию молекул коллагена I, II и III типа, основных компонентов интерстициальной стромы. Для MMP-1 известно 2 генных варианта - 1G и 2G в позиции 1607. Промотор гена MMP-1 в варианте «2G» имеет дополнительный пункт связывания фактора транскрипции Ets. При этом не меняется первичная структура и активность белкового

продукта, однако существенно изменяется продукция мРНК и специфического белка. В связи с этим, у носителей «гиперактивных» промоторных вариантов различных генов может проявляться предрасположенность к различным заболеваниям. При варианте 2G уровень продукции коллагеназы I повышен, поэтому происходит усиленное расщепление белков межклеточного матрикса.

Ген MMP9 кодирует фермент коллагеназу (желатиназу B), влияющую на состояние соединительной ткани внеклеточного матрикса и отвечающую за их синтез и деградацию. MMP-9 является основной желатиназой при хроническом периодонтите в десневой ткани, зубном налете, слюне и десневой жидкости [7].

Активность различных MMP регулируется на нескольких уровнях (транскрипционная, посттранскрипционная и посттрансляционная), а также эндогенными индуцируемыми ингибиторами, тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (ТИМП) [8]. TIMPs, семейство белков, регулирующих деградацию матрицы как ингибированием протеиназы, так и блокированием автокаталитической активации MMP [9]. TIMP-1 представляет собой 30 кДа гликопротеин, который синтезируется и секретируется большинством клеток соединительной ткани, а также макрофагами. Ингибиторы ткани металлопротеиназ связываются с матриксными металлопротеиназами и необратимо ингибируют их ферментативную активность. Измененная экспрессия TIMP проявляется во многих болезненных процессах и влияет на обработку внеклеточного матрикса [10].

С точки зрения влияния полиморфизма генов на остеоинтеграцию дентальных имплантатов, существенный интерес представляет изучение генного полиморфизма у пациентов длительное время успешно пользующихся ортопедическими конструкциями с опорой на дентальные имплантаты.

Цель работы. Изучить полиморфизм генов, которые кодируют матриксную металлопротеиназу (MMP) 1-го типа в локусе 1607 insG и 9 типа в локусе A-8202G, а также ингибитор протеиназы TIMP1 в локусе C536T.

Материалы и методы. С этой целью мы обследовали 22 пациента (18 мужчин, 4 – женщины), которые успешно пользуются ортопедическими конструкциями с опорой на дентальные имплантаты более 5 лет. Жалоб на функциональную эффективность ортопедической конструкции пациенты не предъявляют.

Выделение ДНК из клеток эпителия проводили по модифицированной методике Chelex P.

Sean Walsh, David A. Metzger, and Russell Higuchi [11].

Апликатор с соскобом эпителиальных клеток обрезали и помещали в эппендорф на 1,5 мл с 200мкл 5 % раствора Chelex 100 в стерильной дистиллированной воде (Chelex в натриевой форме, 100—200 меш, Bio-Rad). Перед добавлением смолу перемешивали до гомогенного состояния пипеткой с широким отверстием и отбирали аликвоту непосредственно во время перемешивания. Инкубировали при 56⁰C 30 мин с постоянным перемешиванием на термошейкере. Затем инкубацию проводили при 96⁰C в течение 8 мин, периодически встряхивая. После инкубации центрифугировали (на центрифуге Eppendorf Centrifuge 5424) при 12 000 g 3 мин. Концентрацию и чистоту препарата ДНК определяли на спектрофотометре (Nanophotometr, Implen), отобрав аликвоту 5 мкл непосредственно из пробирки с раствором ДНК. Для ПЦР отбирали 5мкл супернатанта.

Аллельные варианты генов MMP1 (-1607insG), MMP9(A-8202G), TIMP(C536T) оценивали методом аллель специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Амплификацию исследуемых участков генов проводили параллельно в двух эппендорфах для нормального и мутантного варианта гена в 20 мкл буферного раствора (НПФ «Литех», Россия), 100 нм каждого олигонуклеотидного праймера, 100-150нг ДНК.

Амплификацию проводили на приборе CFX96 (Bio-Rad), Начальная денатурация-95⁰C в течение 5мин. ПЦР в течение 35 циклов: денатурация при 95⁰C в течение 10сек, отжиг при температуре 64⁰C в течение 30сек и элонгация при 72⁰C - 40сек, окончательная элонгация 3 минуты при 72⁰C. Фракционирование продуктов амплификации проводили в горизонтальном 2 % агарозном геле, приготовленном на однократном трис-боратном буфере (1xTBE), при напряжении 100В в течение 45 минут. Маркер молекулярного веса – ДНК pUC19: Msp1..

Агарозный гель окрашивали бромистым этидием и визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете. Наличие фрагмента в норме или мутации указывает на присутствие аллеля. При гетерозиготе фрагменты присутствуют одновременно в нормальном и мутантном вариантах.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты изучения полиморфизма генов, влияющих на состояние межклеточного матрикса, представлены в таблице.

У исследованных пациентов выявлено наличие полиморфизма генов MMP1

1607 insG и MMP9A-8202G, связанного с повышенной секрецией данных металлопротеиназ.

Таблица 1

Распределение генотипов MMP-1, MMP-9, TIMP1 у пациентов с ортопедическими конструкциями с опорой на дентальные имплантаты

Ген, полиморфизм	Аллели	Количество пациентов, n (%)
MMP1 1607 insG	1G/1G	2(9,1)
	1G/2G	18(81,8)
	2G/2G	2(9,1)
MMP9 A-8202G	A/A	6(27,3)
	A/G	10(81,8)
	G/G	6(27,3)
TIMP1 C536T	C/C	20(90,9)

Частота нормальных гомозигот гена MMP1 1607 insG была обнаружена у 2 пациентов или у 9,1 % от общего количества осмотренных, гетерозиготные мутации были выявлены у 18 пациентов (81,8 %), полная мутация наблюдалась у 2 пациентов (9,1 %).

Частота нормальных гомозигот MMP9 A-8202G была обнаружена у 6 пациентов (27,3 %), гетерозиготные мутации у 10 пациентов (45,6 %), гомозиготная мутация у 6 пациентов (27,3 %).

У гена TIMP1 C536T гетерозиготный полиморфизм выявлен у 2 пациентов (9,1 %), у остальных пациентов полиморфизм гена отсутствовал.

На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что полиморфизм генов MMP11607 insG и MMP9 A-8202G не оказывает существенного влияния на долгосрочность функционирования дентальных имплантатов. Наличие в обследуемой группе 2-х пациентов с гетерозиготным полиморфизмом гена TIMP1 C536T и отсутствием пациентов с полной мутацией указывает, что в отличие от генов MMP1 1607 и MMP9 A-8202G ген TIMP1C536T значительно реже подвергается мутации. В свою очередь наличие большого количества гетерозиготных и гомозиготных мутаций генов MMP11607, MMP9A-8202G указывает на то, что полиморфизм этих генов, в некоторой степени, компенсируется редко подвергающимся мутации геном TIMP1 C536T в своем влиянии на ферментную систему межклеточного матрикса, нарушения в которой могут повлиять на остеоинтеграцию дентальных имплантатов.

Список литературы

1. Анализ ассоциации аллелей гена COL1A1 с развитием остеопороза / М. В. Москаленко, М. В. Асеев, И. Е. Зазерская [и др.] // Генетика. – 2002. – Т.38, № 12. – С. 1699-1703.
2. Куц П. В. Прогнозування та профілактика ускладнень при дентальній імплантації (клініко-експериментальне дослідження): автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня д. мед. наук: спец. 14.01.22 «Стоматологія» / П. В. Куц. - Київ, 2013. – 35 с.
3. Лепский В. В. Профилактика разных осложнений при ортопедическом лечении включенных дефектов зубных рядов / В. В. Лепский, О. В. Деньга, Т. Г. Вербицкая, О. А. Макаренко // Вісник стоматології. – 2012. - №1. – С. 53-57.
4. Куц П. В. Генетична діагностика у сучасній дентальній імплантології / П. В. Куц, В. Є. Досенко, В. П. Неспрядько // Новини стоматології. – 2012. - №4. – С. 76-80.
5. Alvim-Pereira F. The current Knowledge of Genetic Susceptibility Influencing Dental Implant Outcomes / F. Alvim-Pereira, C. Alvim-Pereira, P. Trevilatto. – 2011. – P. 347-367.
6. Соловьева, Н. И. Матриксные металлопротеиназы и их биологические функции / Н. И. Соловьева // Биоорганическая химия. – 1998. – № 24. – С. 217–226.
7. Maesco, G. Levels of metalloproteinase-2 and -9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis, gingivitis, and healthy gingival / G. Maesco, M. Bravo, F. Bascones // Quintessence Int. – 2007. – № 38. – P. 247–252.
8. Periodontal pathogenesis / P.M. Preshaw, J.J. Taylor, M.G. Newman [et al.]. Carranza's Clinical Periodontology. 2012;11:285-293.
9. Shibata Y. Antisense oligonucleotide of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 induces the plasminogen activator activity in periodontal ligament cells / Y. Shibata, H. Takiguchi, Y. Abiko // J. Periodontol - 1999 - №70. – P. 1158-1165.
10. Ravi P. Gingival crevicular fluid levels of Matrix Metalloproteinase-1 (MMP-1) and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 (TIMP-1) in periodontal health and disease / P. Popat. Ravi. R. Parita // Popat Singapore Dental Journal. – 2014. -№ 35. – P. 59-64.
11. Chelex 100 as a Medium for Simple Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material. BioTechniques. – 2013. - №3(54), March, -P. 134–139.

REFERENCES

1. Moskalenko M. V., Aseev M. V., Zazersnaja I. E. [i dr.]. Analysis of Association of COL1A1 gene alleles with the development of osteoporosis. *Genetika*. 2002;12(38):1699-1703.
2. Kuc P. V. *Prognozuvannja ta profilaktyka uskladnen' pry dental'nij implantacii' (kliniko-eksperymental'ne doslidzhennja)*. [Prediction and prevention of complications in dental implantation (clinical and experimental study).] Abstract of a doctoral thesis of medical sciences. *Kyi'v*;2013:35.

3. **Lepskij V. V., Den'ga O. V., Verbickaja T. G., Makarenko O. A.** Prevention different complications in orthopedic treatment of dentition defects. *Visnyk stomatologii'*. 2012;1:53-57.

4. **Kuc P. V., Dosenko V. Je., Nesprjad'ko V. P.** Genetic diagnosis in modern dental implantology. *Novyny stomatologii'*. 2012;4:76-80.

5. **Alvim-Pereira F., Alvim-Pereira C., Trevilatto P.** The current Knowledge of Genetic Susceptibility Influencing Dental Implant Outcomes. 2011:347-367.

6. **Solov'eva, N. I.** Matrix metalloproteinases and their biological function. *Bioorganicheskaja himija*. 1998;24:217-226.

7. **Maesco G., Bravo M., Bascones F.** Levels of metalloproteinase-2 and -9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis, gingivitis, and healthy gingival. *Quintessence Int.* 2007;38:247-252.

8. **Preshaw P.M., Taylor J.J., Newman M.G., Takei H., Klokkevold P.R., Carranza F.M.** Periodontal pathogenesis. *Carranza's Clinical Periodontology*. 2012;11:285-293.

9. **Shibata Y., Takiguchi H., Abiko Y.** Antisense oligonucleotide of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 induces the plasminogen activator activity in periodontal ligament cells. *J. Periodontol.* 1999;70:1158-1165.

10. **Ravi P. Popat. Parita R.** Gingival crevicular fluid levels of Matrix Metalloproteinase-1 (MMP-1) and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 (TIMP-1) in periodontal health and disease. *Popat Singapore Dental Journal*. 2014;35:59-64.

11. **Chelex 100 as a Medium for Simple Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material.** *BioTechniques*. 2013;3(54), March:134-139.

Поступила 22.05.17

