

АЛЕЛЬНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА АМЕЛОГЕНІНА СЕРЕД ДІТЕЙ З РІЗНОЮ ІНТЕНСИВНІСТЮ КАРІЄСУ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів)

*Інститут Спадкової патології Національної Академії Медичних Наук України (м. Львів)

Дане дослідження є фрагментом планової НДР кафедри стоматології дитячого віку ЛНМУ ім. Данила Галицького «Стоматологічна захворюваність дітей з урахуванням еколого-соціальних чинників ризику та обґрунтування диференційованих методів лікування та профілактики», № держ. реєстрації 0110U002147.

Вступ. На розвиток карієсу впливає сукупність різних факторів, до яких належить спосіб життя та харчування, рівень гігієни ротової порожнини та спадкова схильність організму [1,2,8]. Порушення в генах, що кодують білки-амелогеніни збільшують ризик розвитку карієсу. Ген амелогеніну, який локалізований на Х хромосомі (*AMELX*) відіграє основну роль в контролі товщини та рівня мінералізації емалі [7]. Згідно з даними опублікованими Deeley K. et al (2008) [3], які вивчали взаємозв'язок між амелогеніном та випадками карієсу, наявність принаймні однієї копії рідкісного алелю амелогеніну пов'язана з підвищенням частоти скорегованих за віком випадків карієсу.

Мета дослідження – встановити особливості розподілу генотипів локусу C287T гена амелогеніна (*AMELX*) серед дітей з різною інтенсивністю карієсу.

Об'єкт і методи дослідження. Проведено виділення ДНК з букального епітелію 62 підлітків віком від 12 до 15 років, (24 хлопці та 38 дівчат), жителів міста Львів та Львівської області. Серед них – 32 особи з інтенсивністю карієсу постійних зубів більше 8 (декомпенсована форма), та 30 – з інтенсивністю карієсу менше 4 зубів (компенсована форма), які склали групу контролю. Дослідження проводилося при отриманні інформованої згоди на проведення тестування. Виділення ДНК з клітин букального епітелію проводили з використанням набору NeoPrep (NEOGENE, Україна). Ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro* проводили, використовуючи метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Проведено молекулярно-генетичне дослідження поліморфного варіанту C287T гена амелогеніна (*AMELX*). Перевірку статистичних гіпотез про асоціацію досліджуваних алелів і генотипів проводили за допомогою критерію χ^2 , при $p \leq 0,05$. Асоціацію генотипів та алелів з ризиком розвитку патології оцінювали за допомогою розрахунку коефіцієнта відношення шансів з 95% довірчим інтервалом.

Результати досліджень та їх обговорення.

Проаналізовано частоту алелів і генотипів поліморфного локусу C287T гена амелогеніна (*AMELX*) у дітей з декомпенсованою формою карієсу у порівнянні з дітьми з компенсованою формою карієсу.

У школярів з компенсованою формою карієсу з однаковою частотою (по 50%) виявляли дітей з гомозиготним генотипом CC та гетерозиготним СТ. Серед дітей з декомпенсованою формою карієсу розподіл за генотипами відрізнявся: у 67% осіб основної групи встановлено гомозиготний генотип CC поліморфного локусу C287T гена *AMELX* та у 30% гетерозиготний генотип СТ (рис.).

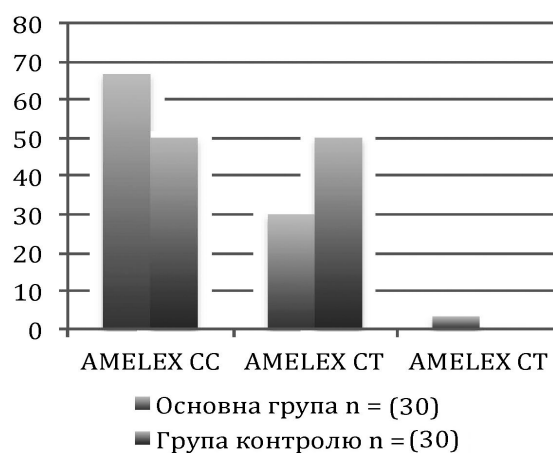


Рис. Розподіл генотипів поліморфного локусу C287T гена амелогеніна (*AMELX*) у дітей з декомпенсованою формою карієсу (основна група) у порівнянні з групою контролю ($\chi^2 = 3,21$, $p = 0,2$); n – кількість осіб

Як свідчать результати, наведені на **рисунку**, встановлені відмінності у частотах генотипів поліморфного локусу C287T гена *AMELX* знаходяться на рівні варіації і не досягнули значення статичної вірогідності.

Серед дітей з декомпенсованою формою карієсу найчастіше траплявся генотип *AMELX* 287CC (67%). Співвідношення гомозиготного генотипу CC та гетерозиготного СТ в групі контролю становило 1 до 1, при співвідношенні понад 2 до 1 серед дітей з декомпенсованою формою карієсу. Також лише в одній дитині з усієї дослідженої вибірки з

Таблиця 1
Частота алелів поліморфного локусу C287T гена амелогеніна (AMELX)

Алелі	Частота, %		χ^2	p	OR	
	Основна група (ДФК), n=30	Група контролю, n=30			знач.	95% CI
AMELX 287T	18,3	25,0			0,67	0,28 – 1,62

Примітка: n – кількість осіб, ДФК – група осіб з декомпенсованою формою карієсу, p – значимість відмінностей між групою контролю і основною групами. OR (odds ratio) – коефіцієнт відношення шансів.

декомпенсованою формою карієсу виявлено генотип AMELX 287TT. Такий генотип встановлено у хлопця 12 років, у якого інтенсивність карієсу становить 10 зубів з низькою резистентністю емалі зубів (Tер- 8).

Обрахунок відношення шансів показав зростання ризику розвитку множинного карієсу у дітей при генотипі AMELX 287TT у три рази, при невірному довірчому інтервал CI: 0,12 – 79,23. У дослідженні виявлено тенденцію до протективного ефекту щодо виникнення карієсу гетерозиготного генотипу AMELX 287CT. Проте, значення відношення шансів 0,43 визначається у межах невірної довірчої інтервалу 0,15 – 1,24.

Зважаючи на виявлені відмінності щодо розподілу генотипів поліморфного локусу C287T гена амелогеніна (AMELX) у дітей із декомпенсованою формою карієсу у порівнянні з групою контролю, вважали доцільним провести дослідження частот алелів в аналізованих вибірках. Встановлені у роботі значення частот алелів локусу C287T гена AMELX наведені у таблиці 1.

Як свідчать результати, наведені у таблиці 1, частоти алелів AMELX 287C та AMELX 287T практично співпали в основній групі та групі контролю, а також відповідали даним літератури [5].

Результати підрахунку коефіцієнту відношення шансів та відносного ризику розвитку карієсу за домінантною та рецесивною моделями успадкування

Таблиця 2
Розподіл генотипів за C287T поліморфізмом гена AMELX залежно від статі

Генотип AMELX	Дівчатка		Хлопці	
	Група контролю, % (n)	ДФК, % (n)	Група контролю, % (n)	ДФК, % (n)
287CC	47,4 (9)	55,6 (10)	54,5 (6)	83,3 (10)
287CT	52,6 (10)	38,9 (7)	45,5 (5)	16,7 (2)
287TT	- (0)	5,6 (1)	(0)	(0)
$\chi^2 = 1,56, p = 0,46$		$\chi^2 = 2,25, p = 0,23$		

Примітка: n – кількість осіб, ДФК – група осіб з декомпенсованою формою карієсу, p – значимість відмінностей у розподілі генотипів між групою контролю і основною групою.

свідчать, що встановлені показники щодо статистичної вірогідності відмінностей між основною групою та групою контролю при різних генотипах локусу C287T гена амелогеніна (AMELX) не досягнули рівня значимих (відповідно, $p = 0,31$ та $p = 0,19$). Тобто, розподіл генотипів та частота різних алелів гена амелогеніну серед дітей з декомпенсованою формою карієсу відповідали отриманим даним у дітей групи контролю з низькою інтенсивністю карієсу.

Ще одним завданням даного фрагменту дослідження було з'ясувати чи є

гендерні відмінності щодо частот алелів та генотипів у досліджуваних групах дітей з різною інтенсивністю карієсу (табл. 2). Як свідчать дані, наведені у таблиці 2, виявлені відмінності у розподілі генотипів в осіб різної статі не досягнули значення вірогідності. Також, не виявлено відмінностей у розподілі генотипів за дослідженим поліморфізмом гена AMELX як між дівчатами і хлопцями групи із компенсованою формою карієсу ($p = 0,93$) так із декомпенсованою формою карієсу ($p = 0,26$). Слід відмітити значні відмінності у розподілі генотипів локусу C287T гена AMELX між хлопцями основної групи у порівнянні з групою контролю відповідної статі (табл. 2). У понад 83% хлопців із декомпенсованою формою карієсу встановлено гомозиготний генотип 287CC при 54,5% в осіб групи контролю. Частота гетерозиготного генотипу 287CT була у три рази нижчою серед хлопців основної групи (16,7%) у порівнянні з групою контролю (45,5%). При цьому статистична обробка отриманих результатів зареєструвала значення $p = 0,23$, що є нижче рівня вірогідності. Відсутність вірогідних відмінностей між групами, припускаємо, зумовлюється відносно невеликою абсолютною чисельністю хлопців з різними генотипами.

Висновки. В результаті проведеного молекулярно-генетичного дослідження поліморфного локусу C287T гена амелогеніна (AMELX) встановлено частоту генотипів та алелів у дітей із декомпенсованою формою карієсу у порівнянні із групою дітей з компенсованою формою та не встановлено вірогідних відмінностей у їх розподілі. Отримані нами результати співпали з даними опублікованими польськими дослідниками, щодо аналізу локусу C287T гена амелогеніна (AMELX) серед дітей з різною інтенсивністю карієсу, які показали, що алельний поліморфізм гена амелогеніну не є спадковим чинником, який зумовлює схильність до карієсу [6]. Проте отримані у дослідженні результати відрізняються від висновків інших авторів. Так, Patir et al (2008) [4] виявили, що варіації в гені AMELX можуть впливати на імовірність розвитку карієсу в дітей турції.

Перспективи подальших досліджень. Отже, подальше дослідження розподілу алельних варіантів та мутацій гена AMELX у дітей з різною інтенсивністю карієсу є актуальним з точки зору вивчення генів тригерів та прогнозування перебігу захворювання.

Література

1. Arora A. Early childhood feeding practices and dental caries in preschool children: a multi-centre birth cohort study / A. Arora, J. A. Scott, S. Bhole [et al.] // BMC Public Health. – 2011. – Vol. 11. – P. 28.
2. Common SNPs of AmelogeninX (AMELX) and Dental Caries Susceptibility / B. Gasse, S. Grabar, A. G. Lafont [et al.] // J. Dent. Res. – 2013. – Vol. 92 (5). – P. 418-424.
3. Deeley K. Possible association of amelogenin to high caries experience in a Guatemalan-Mayan population / Deeley K, Letra A, Rose EK, Brandon CA, Resick JM, Marazita ML [et al.] // Caries Res. – 2008. – Vol. 42. – P. 8-13.
4. Enamel formation genes are associated with high caries experience in Turkish children / A. Patir, F. Seymen, M. Yildirim [et al.] // Caries Res. – 2008. – Vol. 42(5). – P. 394-400. doi: 10. 1159/000154785.
5. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=10489473.
6. MBL2, MASP2, AMELX, and ENAM gene polymorphisms and dental caries in Polish children / T. Olszowski, G. Adler, J. Janiszewska-Olszowska [et al.] // Oral Diseases. – 2012. – Vol. 18. – P. 389–395 doi:10. 1111 Oral Diseases (2012) 18, 389–395 doi:10. 1111.
7. Ouryouji K. Analysis of mutations in the amelogenin and the enamelin genes in severe caries in Japanese pediatric patients / K. Ouryouji, Y. Imamura, Y. Fujigaki [et al.] // Pediatric Dent. J. – 2008. – Vol. 18. – P. 79–85.
8. Tinanoff N. Dietary determinants of dental caries and dietary recommendations for preschool children / N. Tinanoff, C. A. Palmer // J. Public Health Dent. – 2000. – Vol. 60. – P. 197–206.

УДК 616.314-002-036.11/.12-02:575.113]-053.2

АЛЕЛЬНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА АМЕЛОГЕНІНА СЕРЕД ДІТЕЙ З РІЗНОЮ ІНТЕНСИВНІСТЮ КАРІЄСУ

Сов'як О. О., Смоляр Н. І., Макух Г. В.

Резюме. У роботі наведено результати аналізу частот алелів і генотипів локусу C287T гена амелогеніна (AMELX) у дітей з декомпенсованою формою карієсу у порівнянні з дітьми групи контролю. Обрахунок відношення шансів показав зростання ризику розвитку множинного карієсу у дітей при генотипі AMELX 287TT у три рази. У дослідженні виявлено тенденцію до протективного ефекту щодо виникнення карієсу гетерозиготного генотипу AMELX 287CT. В результаті проведеного молекулярно-генетичного дослідження поліморфного локусу C287T гена амелогеніна (AMELX) встановлено частоту генотипів та алелів у дітей із декомпенсованою формою карієсу у порівнянні із групою дітей з компенсованою формою та не встановлено вірогідних відмінностей у їх розподілі.

Ключові слова: карієс, декомпенсована форма, генотип, ген амелогенін (AMELX).

УДК 616.314-002-036.11/.12-02:575.113]-053.2

АЛЛЕЛЬНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА АМЕЛОГЕНИНА СРЕДИ ДЕТЕЙ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ИНТЕНСИВНОСТИ КАРИЕСА

Совяк О. О., Смоляр Н. И., Макух Г. В.

Резюме. В работе приведены результаты анализа частот алелей и генотипов локуса C287T гена амелогенина (AMELX) у детей с декомпенсированной формой кариеса в сравнении с детьми группы контроля. Учет соотношения шансов показал рост риска развития множественного кариеса у детей при генотипе AMELX 287TT в три раза. В исследовании выявлена тенденция к протективному эффекту относительно возникновения кариеса гетерозиготного генотипа AMELX 287CT. В результате проведенного молекулярно-генетического исследования полиморфного локуса C287T гена амелогенина (AMELX) установлена частота генотипов и алелей у детей с декомпенсированной формой кариеса в сравнении с группой детей с компенсированной формой и не установлено достоверных отличий в их распределении.

Ключевые слова: кариес, декомпенсированная форма, генотип, ген амелогенин (AMELX).

UDC 616.314-002-036.11/.12-02:575.113]-053.2

Allele Polymorphism of Amelogenin in Children with Different Caries Intensity

Sovyak O., Smolyar N., Makukh H.

Abstract. *Aim of research:* to conduct molecular and genetic analysis of allele polymorphism of amelogenin and determine possible genetic factors predisposing to multiple caries formation.

Materials and methods: Extraction of DNA out of buccal epithelium of 62 adolescents aged 12-15 years (24 males and 38 females, residing in Lviv and Lviv region) has been performed. Among them – 32 individuals with caries intensity over 8 (decompensated form) and 30 – with caries intensity below 4 teeth (compensated form). The paper presents an analysis of the alleles and genotypes frequency of polymorphic locus C287T of amelogenin (AMELX) among children with multiple caries compare to control group (children with less than 4 caries teeth).

Molecular genetic study of polymorphic edition of C287 amelogenin gene has been performed.

Results: Frequency of alleles and genotypes of polymorphic locus C287T of amelogenin (AMELX) in children with decompensated form of caries compared with children with compensated form of caries have been analyzed.

Among schoolchildren with the same frequency (50%) of compensated form of caries, some individuals with homozygous genotype CC and heterozygous genotype were discovered. In children with decompensated form of

caries distribution by genotypes differed: 67% of children of the main group were determined with homozygous genotype CC of polymorphic locus C287T of gene AMELX while 30% were determined with heterozygous genotype CT.

Among children with decompensated form of caries genotype AMELX 287SS occurred most often (67%). Correlation between homozygous genotype CC and heterozygous CT in control stood up at 1:1, while correlation among children with decompensated form of caries was more than 2:1.

Calculation of odds ratio showed increase of risk of multiple caries development in children with genotype AMELX 287TT by three times at false confidence interval CI: 0.12 – 79.23. The study showed the tendency to protective effect on caries heterozygous genotype AMELX 287ST. However, the value of the odds ratio 0.43 is determined within the unreliable confidence interval 0.15 – 1.24.

The results of calculating odds ratio and relative risk of caries development by dominant and recessive inheritance models showed that determined indicators for statistical significance of differences between the main group and the control group with different genotypes of locus S287T of amelogenin (AMELX) have not reached significant levels (respectively, $p=0.31$ and $p=0.19$).

According to the collected data, revealed differences in the distribution of genotypes in the two genders has not reached probability value. No difference in the distribution of genotypes examined by gene polymorphism AMELX between girls and boys with compensated form of caries ($p=0.93$) as well as between girl and boys with decompensated form of caries ($p=0.26$). More than 83% of boys with decompensated form of caries were determined with homozygous genotype 287CC comparing with 54.5% in control group. The frequency of heterozygous genotype 287CT has been three times lower among the main group of boys (16.7%) compared with the control group (45.5%).

Conclusions. As result of molecular genetic study of polymorphic locus C287T of gene amelogenin (AMELX) frequency of genotypes and alleles in children with decompensated form of caries comparing with group of children with compensated form caries was determined and probable differences in their distribution weren't specified.

Keywords: Caries, multiple caries, genotype, gene, amelogenin (AMELX).

Рецензент – проф. Каськова Л. Ф.

Стаття надійшла 06. 02. 2015 р.