

СТОМАТОЛОГІЯ ДИТЯЧОГО ВІКУ

УДК 616.314-002-053.2-056.7

DOI <https://doi.org/10.35220/2078-8916-2024-54-4.23>**О.І. Годованець,**

доктор медичних наук, професор,

Буковинський державний медичний університет,
Театральна площа, 2, м. Чернівці, Україна, індекс 58000,
godovanec.oksana@bsmu.edu.ua**А.В. Котельбан,**

кандидат медичних наук, доцент,

Буковинський державний медичний університет,
Театральна площа, 2, м. Чернівці, Україна, індекс 58000,
kotelban_anastasiia@bsmu.edu.ua**І.В. Навчук,**

кандидат медичних наук, доцент,

Буковинський державний медичний університет,
Театральна площа, 2, м. Чернівці, Україна, індекс 58000,
navchuk.igor@bsmu.edu.uaГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ РОЗВИТКУ
КАРІЄСУ ЗУБІВ У ДІТЕЙ

У статті розглядаються молекулярно-генетичні предиктори карієсу зубів дітей 6 років, що проживають на Буковині.

Метою роботи є дослідити генетичний чинник ризику розвитку карієсу зубів у дітей шляхом аналізу рівня експресії мРНК генів AMELX та DSPP у букальному епітелії дітей Буковини.

Матеріали та методи. Для вирішення мети нами було обстежено 215 дітей 6 років, що проживають на Буковині. Визначення експресії мРНК генів Human amelogenin, X-linked (AMELX) та Human dentin sialophosphoprotein (DSPP) проводилося на базі навчально-наукової лабораторії БДМУ методом полімеразної ланцюгової реакції зі зворотньою транскрипцією в режимі реального часу.

Результати дослідження. У результаті проведення молекулярно-генетичного дослідження букального епітелію встановлено, що рівень експресії мРНК гену AMELX вірогідно змінювався залежно від регіону проживання. Найвищий рівень експресії мРНК генів був у дітей Вишницького району і становив $(31,51 \pm 0,17)$, що вище на 1,74 та 5,36 % порівняно з обстеженими Дністровського та Чернівецького районів. Зі збільшенням кількості каріозних зубів рівень експресії гена не відрізнявся. Результати дослідження мРНК гена DSPP вказують на те, що зі збільшенням кількості каріозно уражених зубів вірогідно зростала експресія мРНК гена DSPP: на 4,40 % за умов середньої та на 6,54% за умов високої інтенсивності карієсу.

Висновки. Отже, отримані результати молекулярно-генетичного дослідження вказують на те, що найвищий рівень експресії мРНК гену AMELX у дітей Вишниччини. Експресія гену не залежала від кількості

каріозно уражених зубів. Зі збільшенням інтенсивності карієсу зростала експресія мРНК гена DSPP.

Ключові слова: діти, карієс, букальний епітелій, AMELX, DSPP.

О.І. Godovanets,

Doctor of Medicine, Professor,

Bukovinian State Medical University,
2 Teatralna square, Chernivtsi, Ukraine, postal code 58000,
godovanec.oksana@bsmu.edu.ua**А.В. Kotelban,**

PhD, Associate Professor,

Bukovinian State Medical University,
2 Teatralna square, Chernivtsi, Ukraine, postal code 58000,
kotelban_anastasiia@bsmu.edu.ua**І.В. Navchuk,**

PhD, Associate Professor,

Bukovinian State Medical University,
2 Teatralna square, Chernivtsi, Ukraine, postal code 58000,
navchuk.igor@bsmu.edu.uaGENETIC ASPECTS OF DENTAL CARIES
IN CHILDREN

The article deals with the molecular genetic predictors of dental caries in 6-year-old children living in Bukovina.

The aim of the study was to investigate the genetic risk factor for dental caries in children by analysing the level of mRNA expression of the AMELX and DSPP genes in the buccal epithelium of Bukovinian children.

Materials and methods. To achieve this goal, we examined 215 children aged 6 years living in Bukovina. Determination of mRNA expression of the genes Human amelogenin, X-linked (AMELX) and Human dentin sialophosphoprotein (DSPP) was performed on the basis of the educational and scientific laboratory of BSMU by the real-time reverse transcription polymerase chain reaction.

Results of the study. As a result of the molecular genetic study of buccal epithelium, it was found that the level of mRNA expression of the AMELX gene significantly varied depending on the region of residence. The highest level of gene mRNA expression was in children from Vyshnytsia district and was (31.51 ± 0.17) , which is 1.74 and 5.36 % higher than in the study subjects from Dniester and Chernivtsi districts. With an increase in the number of carious teeth, the level of gene expression did not differ. The results of the study of DSPP gene mRNA indicate that with an increase in the number of cariously affected teeth, the expression of DSPP gene mRNA increased significantly: by 4.40% in conditions of medium and 6.54% in conditions of high caries intensity.

Conclusions. Thus, the results of the molecular genetic study indicate that the highest level of AMELX gene mRNA expression was observed in children from Vyshnytsia region. The gene expression did not depend on the number of cariously affected teeth. With increasing caries intensity, the expression of DSPP gene mRNA increased.

Key words: children, caries, buccal epithelium, AMELX, DSPP.

Карієс зубів є соціальною проблемою, адже впливає на загальний стан здоров'я та якість життя. Загальновідомо, що до розвитку уражень твердих тканин зубів призводять недостатній догляд за зубами, порушення харчування, соціальні чинники, часті респіраторні захворювання, хронічні соматичні захворювання. Чинники ризику навколишнього середовища також можуть впливати на розвиток карієсу. Незважаючи на те, що деякі пацієнти піддаються впливу однакових умов навколишнього середовища, вони можуть бути більш чутливими або більш стійкими до карієсу, ніж інші. Такі відмінності є генетично обумовлені [1]. Етіологія карієсу зубів включає складну взаємодію між генетикою та чинниками навколишнього середовища [1, 2].

Зубна емаль утворена амелобластами, які продукують і секретують білки матриксу емалі під час секреторної стадії амелогенезу [3]. Згодом білки матриксу емалі, а це нономогеніни (енамелін, амелобластин і туфтелін) і амелогеніни, обмінюються кальцієм і фосфатом на стадії дозрівання [4]. Під час цієї фази амелобласти відповідають за деградацію та реабсорбцію білків матриксу емалі, що призводить до збільшення товщини та ширини кристалів і, як наслідок, до затвердіння зубної емалі [4–6].

Вплив чинників на амелобласти під час секреторної стадії амелогенезу можуть обмежувати подовження кристалів, що призводить до гіпоплазії або патологічного стоншення емалі [4]. Водночас, порушення протягом дозрівання та перехідних стадій можуть спричинити патологічно м'яку емаль нормальної товщини, тобто гіпомінералізовану або гіпоматуровану емаль [4–6].

Згідно літературних даних, у розвитку карієсу зубів беруть участь три поширені гени, а саме лактоферин (LTF), енамелін (ENAM) і амелогенін X (AMELX). Серед них, AMELX є найважливішим чинником для розвитку нормальної емалі, а аберация AMELX переважно викликає дефекти мінералізації та вроджені розлади емалі [1–6].

Ще одним предиктором розвитку карієсу зубів є порушення процесу утворення дентину. Ген DSPP (dentin sialophosphoprotein) є одним із ключових, кодує великий білок-попередник, який розщеплюється на два основні компоненти: дентинний сіалопротеїн (DSP) і дентинний фосфопротеїн (DPP) [7]. У літературі зазначається, що DSPP експресується в основному в одонтобластих і амелобластих [8]. За даними Wang et al. (2020), мутації в DSPP призводять до аномалій структури колагену в дентині, що є причиною порушення його міцності та мінералізації [9].

Враховуючи важливу роль генетики в розвитку карієсу, дослідження мРНК генів AMELX та DSPP у дітей Буковини є актуальним.

Метою роботи є дослідити молекулярно-генетичні предиктори карієсу зубів у дітей шляхом аналізу рівня експресії мРНК генів AMELX та DSPP у букальному епітелії дітей Буковини.

Матеріали та методи. Для вирішення мети нами було обстежено 215 дітей 6 років, що проживають на Буковині. Виділили групи спостереження залежно від регіону проживання та рівня інтенсивності карієсу.

Визначення експресії мРНК генів Human amelogenin, X-linked (AMELX) та Human dentin sialophosphoprotein (DSPP) проводилося на базі навчально-наукової лабораторії БДМУ (завідувач лабораторією – доцент І.В. Навчук).

Для аналізу експресії генів використовували метод полімеразної ланцюгової реакції зі зворотньою транскрипцією в режимі реального часу (ЗТ-ПЛР) за допомогою наборів праймерів AMELX, Human amelogenin (amelogenesis imperfecta 1, X-linked), Real Time PCR Primer Set та DSPP, Human dentin sialophosphoprotein, Real Time PCR Primer Set. У якості референт-гену використовували набір праймерів ACTB, Human actin, beta, Real Time PCR Primer Set.

Об'єктом для молекулярно-генетичних досліджень методом ЗТ-ПЛР був букальний епітелій. Перед проведенням маніпуляцій пацієнти ретельно полоскали ротovu порожнину дистильованою водою чи фізіологічним розчином. Забір букального епітелію проводився вранці, щонайменше через 4 години після останнього вживання їжі, шляхом зіскребу клітин із внутрішнього боку щоки одноразовим зондом із синтетичним ворсом. Надалі зонд поміщали в стерильну одноразову пробірку типу «Елїндорф» із транспортним середовищем.

Етапи дослідження включали виділення тотальної РНК, зворотню транскрипцію (виділення кДНК) і ПЛР у режимі реального часу.

Статистично оцінили ступінь вірогідності одержаних результатів у випадку нормальності розподілу обох вибірок за критерієм Ст'юдента-Фішера, у інших випадках – U-Уїлксона для незалежних вибірок і критерій Т-Уїлксона для залежних вибірок.

Результати дослідження. У результаті молекулярно-генетичного дослідження букального епітелію встановлені відмінності експресії мРНК гена AMELX в дітей різних районів Буковини (табл. 1).

Таблиця 1

Рівень експресії мРНК генів AMELX та DSPP в дітей різних районів Буковини

Район	Рівень інтенсивності карієсу	Експресія мРНК генів		
		AMELX	DSPP	ACTB
Вижницький (n=75)	низький (n=17)	32,49±0,12	28,90±0,18	24,35±0,18
	середній (n=31)	31,65±0,20+	30,64±0,11+	24,38±0,19
	високий (n=27)	30,39±0,18+,++	31,21±0,19+,++	25,72±0,21
	разом	31,51±0,17	30,25±0,16	24,81±0,19
Дністровський (n=89)	низький (n=30)	31,64±0,14*	28,35±0,15	24,35±0,38
	середній (n=29)	30,74±0,10*,+	29,72±0,18*,+	24,38±0,29
	високий (n=30)	30,50±0,15*,+	30,79±0,10+,++	25,72±0,31
	разом	30,96±0,13	29,62±0,14	24,81±0,19
Чернівецький (n=51)	низький (n=18)	30,49±0,12*,**	27,90±0,08*	24,35±0,38
	середній (n=17)	29,32±0,10*,**,+	29,64±0,13*,**,+	24,38±0,29
	високий (n=16)	29,65±0,08*,**,+	30,09±0,12*,+,++	25,72±0,31
	разом	29,82±0,10	29,21±0,11	24,81±0,19

Примітки: * – різниця між показниками дітей Вижицького та Дністровського, Чернівецького районів, вірогідна ($p < 0,05$); ** – різниця між показниками дітей Дністровського та Чернівецького районів, вірогідна ($p < 0,05$); + – різниця між показниками дітей з низьким та середнім, високим рівнем інтенсивності карієсу зубів, вірогідна ($p < 0,05$); ++ – різниця між показниками дітей середнім та високим рівнем інтенсивності карієсу зубів, вірогідна ($p < 0,05$).

Найвищий рівень експресії мРНК генів був у дітей Вижицького району і становив (31,51±0,17). Цей результат вище мРНК гена нормалізації ACTB на 21,26 %. У Дністровському та Чернівецькому районах рівень експресії гена нижчий на 1,74 та 5,36 % порівняно з даними гірського району. Зі збільшенням кількості каріозних зубів рівень експресії гена не відрізнявся.

Ген DSPP специфічно експресується в дентині на ранній стадії і має значний вплив на формування і мінералізацію дентину. Мутації гену не тільки викликають спадкові дефекти дентину, але також впливають на формування інших м'яких і твердих тканин зубів.

Результати нашого дослідження мРНК гена DSPP вказують на те, що експресія гену в дітей Буковини вища на 16,43 % порівняно з геном нормалізації.

Найвищий рівень експресії в дітей Вижицького району – (30,25±0,16) балів, найнижчий – у дітей Чернівецького району (29,21±0,11). Залежно від рівня інтенсивності карієсу ми спостерігали збільшення кількості гена з (28,38±0,14) за умов низької до (30,69±0,14) – за умов високої інтенсивності карієсу. Вважаємо, що такі результати вказують на збільшення процесів утворення третинного дентину на дні каріозних порожнин у дітей.

Отже, отримані результати молекулярно-генетичного дослідження вказують на те, що в дітей відсутні спадкові порушення емалі та дентину. Найвищий рівень експресії мРНК гену AMELX у дітей Вижицького району, що вказує на генетично найміцнішу емаль саме в цьому регіоні. Експресія

гену не залежала від кількості каріозно уражених зубів. Зі збільшенням інтенсивності карієсу зростала експресія мРНК гена DSPP.

Література:

- Li X., Yu Z., Jiang S., Dai X., et al. An amelogenin-based peptide hydrogel promoted the odontogenic differentiation of human dental pulp cells. Regen Biomater. 2022. № 9. rbac039. doi: 10.1093/rb/rbac039. PMID: 35936553; PMCID: PMC9348551.
- Fraseri I, Ern C, Diegritz C, Hickel R, Hristov M, Folwaczny M. Full-length amelogenin influences the differentiation of human dental pulp stem cells. Stem Cell Res Ther. 2016. № 7. P. 10. doi: 10.1186/s13287-015-0269-9. PMID: 26762641; PMCID: PMC4712507.
- Sharma A., Muthu M.S., Vetriselvi V., Nuvvula S., Gayathri T. AMELX gene association to early childhood caries in south-Indian children: a case-control study. Eur Arch Paediatr Dent. 2024. № 25(2). P. 201-210. doi: 10.1007/s40368-024-00866-x. Epub 2024 Feb 26. PMID: 38409576.
- Sharifi R., Jahedi S., Mozaffari H.R. et al. Association of LTF, ENAM, and AMELX polymorphisms with dental caries susceptibility: a meta-analysis. BMC Oral Health. 2020. № 20. P. 132. https://doi.org/10.1186/s12903-020-01121-7.
- Gachova D., Lipovy B., Deissova T. et al. Polymorphisms in genes expressed during amelogenesis and their association with dental caries: a case-control study. Clin Oral Invest. 2023. № 27. P. 1681–1695. https://doi.org/10.1007/s00784-022-04794-2.
- MacDougall M. DSPP mutations and dentinogenesis imperfecta. Journal of Dental Research. 2019. № 98(3). P. 223–230. DOI: 10.1177/0022034519842702

7. Zhang, X., Chen, Y., Liu, H., Wang, J. Molecular basis of DSPP-related dentin defects. *Human Genetics*. 2021. № 140(7). P. 1023–1035. DOI: 10.1007/s00439-021-02304-8

8. Zhaojun J, Zhibin C, Yong J. Effects of DSPP Gene Mutations on Periodontal Tissues. *Global Med Genet*. 2021. № 8. P. 90–94. [https://doi.org/ 10.1055/s-0041-1726416](https://doi.org/10.1055/s-0041-1726416).

9. Wang, S., Li, R., Chen, G., Zhang, T. Impact of DSPP mutations on dentin biomineralization. *Biomaterials Research*. 2020. № 24. P. 17. DOI: 10.1186/s40824-020-00196-7.

References:

1. Li, X., Yu, Z., Jiang, S., Dai, X., et al. (2022). An amelogenin-based peptide hydrogel promoted the odontogenic differentiation of human dental pulp cells. *Regen Biomater*, 9, rbac039. doi: 10.1093/rb/rbac039. PMID: 35936553; PMCID: PMC9348551.

2. Frasheri, I, Ern, C, Diegritz, C., et al. (2016). Full-length amelogenin influences the differentiation of human dental pulp stem cells. *Stem Cell Res Ther*, 7, 10. doi: 10.1186/s13287-015-0269-9. PMID: 26762641; PMCID: PMC4712507.

3. Sharma A., Muthu M.S., Vettriselvi V., et al. (2024). AMELX gene association to early childhood caries in south-

Indian children: a case-control study. *Eur Arch Paediatr Dent*, 25(2), 201-210. doi: 10.1007/s40368-024-00866-x. Epub 2024 Feb 26. PMID: 38409576.

4. Sharifi, R., Jahedi, S., Mozaffari, H.R. et al. (2020). Association of LTF, ENAM, and AMELX polymorphisms with dental caries susceptibility: a meta-analysis. *BMC Oral Health*, 20, 132. <https://doi.org/10.1186/s12903-020-01121-7>.

5. Gachova, D., Lipovy, B., Deissova, T. et al. (2023). Polymorphisms in genes expressed during amelogenesis and their association with dental caries: a case-control study. *Clin Oral Invest*, 27, 1681–1695. <https://doi.org/10.1007/s00784-022-04794-2>.

6. MacDougall, M. (2019). DSPP mutations and dentinogenesis imperfecta. *Journal of Dental Research*, 98(3), 223–230. DOI: 10.1177/0022034519842702

7. Zhang, X., Chen, Y., Liu, H., Wang, J. (2021). Molecular basis of DSPP-related dentin defects. *Human Genetics*, 140(7), 1023–1035. DOI: 10.1007/s00439-021-02304-8

8. Zhaojun, J, Zhibin, C, Yong, J. (2021). Effects of DSPP Gene Mutations on Periodontal Tissues. *Global Med Genet*, 8, 90–94. [https://doi.org/ 10.1055/s-0041-1726416](https://doi.org/10.1055/s-0041-1726416).

9. Wang, S., Li, R., Chen, G., Zhang, T. (2020). Impact of DSPP mutations on dentin biomineralization. *Biomaterials Research*, 24, 17. DOI: 10.1186/s40824-020-00196-7.