

**Усовершенствование молекулярно-генетического метода  
анализа для идентификации нуклеотидных  
последовательностей генетических детерминант ИЛ-1 $\beta$ ,  
COL2A1, MMP-8, у пациентов с заболеваниями периодонта**

*Руденкова Т. В., Костюк С. А., Полуян О. С., Юдина Н. А., Глинкина Т. В.,  
Яковлева-Малых М. О.*

*Государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия  
последипломного образования», г. Минск, Республика Беларусь*

**Реферат.** В современной стоматологии пристальное внимание уделяется поиску надежных маркеров для выявления предрасположенности к заболеваниям периодонта. Целью данного исследования было усовершенствование метода молекулярно-генетической идентификации вариантов генетических детерминант, контролирующих синтез цитокинов, коллагена, метал-

лопротеиназ в эпителиальных клетках полости рта и проведение апробации этого метода на биологическом материале пациентов с заболеваниями периодонта. Несмотря на многочисленные исследования пока не установлено достоверных маркеров, которые позволяли бы проводить оценку предрасположенности конкретного пациента к развитию хронического периодонтита, или прогнозировать тяжесть течения и исход заболевания. Разработка объективных молекулярно-генетических критериев позволит осуществлять раннюю диагностику и назначать адекватное обоснованное лечение пациентам с хроническим периодонтитом. Наиболее перспективным направлением в поиске маркеров предрасположенности и прогноза является идентификация генетических факторов, ассоциированных с риском развития, вариантом течения и исходом хронического периодонтита.

**Ключевые слова:** хронический периодонтит, генетические маркеры, цитокины, коллаген, металлопротеиназы.

**Введение.** Одним из широко распространенных патологических воспалительных процессов полости рта является хронический периодонтит (пародонтит). Хронический периодонтит представляет собой воспалительное заболевание, приводящее к деструкции тканей периодонта и является основной причиной потери зубов у взрослого населения. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, среди взрослого населения 4–22 % страдают периодонтитом тяжелой степени тяжести, 23–47 % населения — периодонтитом средней степени тяжести и только у 1–8 % населения периодонтит остается интактным. Распространенность заболеваний периодонта среди взрослого населения по миру в целом оценивается на уровне 93–95 % [1].

ИЛ-1 $\beta$  — провоспалительный цитокин, которому принадлежит ведущая роль в процессах острого и хронического воспаления как местного, так и системного характера. Секретируется преимущественно макрофагами, а также Т-лимфоцитами, фибробластами и клетками эпителия. Под влиянием липополисахаридов клеточной стенки периодонтопатогенной микрофлоры происходит стимуляция продукции ИЛ-1 $\beta$  макрофагами. Далее посредством аутокринных механизмов он сам активирует свою выработку. ИЛ-1 $\beta$  индуцирует продукцию матриксных металлопротеиназ, тормозит синтез их ингибиторов, повышает функциональную активность остеокластов. ИЛ-1 $\beta$  тормозит миграцию остеобластов. Напротив, угнетение синтеза ИЛ-1 $\beta$  сопровождается значительным замедлением «движения» воспалительного инфильтрата в сторону кости и подавлением ее потери [2].

Повышенные уровни ИЛ-1 $\beta$  в десневой жидкости и слюне пациентов с хроническим периодонтитом напрямую взаимосвязаны с тяжестью поражений, а также клиническими симптомами заболевания. По мнению ряда авторов, наличие корреляции между концентрацией ИЛ-1 $\beta$  и степенью тяжести воспалительных и деструктивных процессов в периодонте делает данный цитокин ценным диагностическим маркером его патологии [1; 2].

Еще одним направлением поиска генетических маркеров предрасположенности к заболеваниям периодонта стало изучение генов медиаторов воспаления, которые оказывают непосредственное влияние на течение воспалительного процесса. Гены матриксных металлопротеиназ — ММП-2, ММП-3, ММП-8 и ММП-9 — также могут быть изучены в качестве возможных генетических маркеров, ассоциированных с предрасположенностью к воспалительным заболеваниям периодонта, поскольку матриксные металлопротеиназы относятся к семейству внеклеточных протеиназ, основными функциями которых являются участие в обмене белков соединительной ткани, развитии и ремоделировании клеточного матрикса, репарации тканей, неоангеогенезе [3].

Установлено, что повышенный уровень ММП-8, особенно в активной форме (аММП-8), в жидкостях полости рта связан с воспалением (заболеваниями периодонта и при периимплантитах), преимущественно в клинически активных фазах. Периодонтальная дегенерация костной ткани вызвана интерстициальной коллагеназой ММП-8, а не бактериальными ферментами, ММП-8 высвобождается из нейтрофилов селективной дегрануляцией, запускаемой мощными периодонтопатогенными бактериями и их факторами вирулентности вместе с провоспалительными медиаторами хозяина [4].

Фибробласты десны при стимуляции провоспалительными медиаторами, такими как интерлейкин (IL-1 $\beta$  и фактор некроза  $\alpha$ -опухоли) могут продуцировать коллагенолитические ММП, включая ММП-8. Уровень активной ММП-8 связан с прогрессирующей активностью заболеваний периодонта и периимплантитом. Также установлена связь между повышением уровня аММП-8 в

жидкостях полости рта (слюна, десневая жидкость) с клиническими параметрами периодонта, т. е. с глубиной зондирования кармана, кровоточивостью при зондировании и потерей зубодесневого прикрепления [4].

Ведущая роль в развитии периодонтита принадлежит микробному фактору, однако выраженность воспалительной реакции в значительной мере определяется возможностями макроорганизма противостоять воздействию на него патогенной микрофлоры. В литературе представлен ряд публикаций, посвященных изучению факторов, которые не являются непосредственной причиной заболевания, но ассоциированы с тяжелым течением воспалительного процесса. К таким факторам относят и генетический статус человека [5].

В лабораторной медицине пристальное внимание уделяется поиску надежных маркеров для выявления предрасположенности к заболеваниям. Идентифицировано множество полиморфизмов генов человека, ассоциированных с развитием или агрессивным течением заболеваний. Для воспалительных заболеваний пародонта проведены исследования и мета-анализ по многочисленным SNP, однако исследования в данном направлении не теряют своей актуальности.

Несмотря на многочисленные исследования, не установлено достоверных маркеров, которые позволяли бы проводить оценку предрасположенности конкретного пациента к развитию хронического периодонтита, или прогнозировать течение и исход заболевания. Разработка таких критериев позволит осуществлять раннюю диагностику и назначать адекватное обоснованное лечение пациентам с хроническим периодонтитом. Наиболее перспективным направлением в поиске маркеров предрасположенности и прогноза является идентификация генетических факторов, ассоциированных с риском развития, вариантом течения и исходом хронического периодонтита.

Развитие и совершенствование молекулярно-генетических методов анализа дали возможность для активного изучения генома человека, что позволило расширить поиск генов-кандидатов, полиморфизм которых может быть связан с вероятностью возникновения, особенностями течения и исходом заболеваний. Гены, кодирующие цитокины (интерлейкины, факторы роста, интерфероны, хемокины и др.), стали первыми генами-кандидатами, изменения в которых попытались связать с патогенезом воспалительных заболеваний, в том числе и воспалительных заболеваний периодонта, так как продукты этих генов являются ключевым звеном иммунного ответа при любых воспалительных реакциях.

**Цель работы** — усовершенствование метода молекулярно-генетической идентификации вариантов генетических детерминант, контролирующих синтез цитокинов, коллагена, металлопротеиназ в эпителиальных клетках полости рта и проведение его апробации на биологическом материале пациентов с заболеваниями периодонта.

**Материалы и методы.** Исследования проводились на базе кафедры общей стоматологии и научно-исследовательской лаборатории государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

Объектами исследования явились пациенты с заболеваниями периодонта (пародонта). Были выделены следующие нозологические формы: хронический простой и сложный периодонтит, хронический простой маргинальный гингивит. При усовершенствовании метода молекулярно-генетического анализа вариантов генетических детерминант в эпителиальных клетках полости рта исследования проводили с использованием биологического материала от пациентов с хроническим сложным периодонтитом ( $n = 3$ ) и хроническим простым периодонтитом ( $n = 3$ ), а также пациентов с хроническим простым маргинальным гингивитом — контрольная группа ( $n = 4$ ).

В качестве биологического материала у пациентов проводили взятие соскобов эпителиальных клетках полости рта. Для получения соскобного материала использовали стерильные бумажные штифты № 40, полученный материал помещали в пробирку типа эппендорф объемом 1,5 мл, содержащую 200 мкл транспортной среды («ВекторБест», РФ). Пробирки замораживали и оставляли для хранения при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Статистическая обработка полученных результатов проводилась при помощи компьютерной программы Statistica 10.0. При этом вид распределения переменных определяли с использованием критерия Колмогорова — Смирнова. Так как распределение значений переменных было отличным от нормального, а также учитывая малый объем выборки, для их описания использовали медиану и квартили ( $Me (Q_{25}/75)$ ). Для сравнения количественных показателей в исследуемых группах применялся критерий Манна — Уитни. При уровне значимости  $p < 0,05$  различия считались статистически достоверными.

**Результаты и их обсуждение.** С целью определения оптимального метода для выделения ДНК из соскобов эпителиальных клетках полости рта были использованы наборы для выделения нуклеиновых кислот «Проба-НК» («ДНК-технология», РФ), «Экстракция-100» («ВекторБест», РФ), «ДНК-сорб-В» («АмплиСенс», РФ) и метод классической фенол-хлороформной экстракции.

Для определения концентрации и степени чистоты выделенной ДНК из образцов биологического материала с использованием различных наборов реагентов проводили спектрофотометрические исследования (NanoDrop 1000, Thermo scientific, США), при этом определяли отношение поглощения на длинах волн 260 и 280 нм ( $A_{260/280}$ ).

Метод выделения с использованием фенол-хлороформной экстракции был взят в качестве референсного. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 — Значения  $A_{260/280}$ , полученные при использовании различных наборов реагентов для выделения ДНК ( $Me (Q_{25}/Q_{75})$ )

Набор	$A_{260/280}$
Проба-НК	1,57 (1,51/1,66)
Экстракция-100	1,69 (1,65/1,71)
ДНК-сорб-В	1,34 (1,13/1,61)
Метод классической фенол-хлороформной экстракции	1,71 (1,69/1,73)

Для чистого препарата ДНК с отсутствием примесей белка и других ингибиторов значение  $A_{260/280}$  составляет 1,8. Достоверно более высокие значения  $A_{260/280}$ , близкие к значениям референсного метода (метод фенол-хлороформной экстракции), были установлены при использовании набора реагентов «Экстракция-100» (критерий Манна – Уитни,  $p < 0,05$ ).

После анализа полученных данных был сделан вывод, что для проведения дальнейших исследований по молекулярно-генетической идентификации вариантов генетических детерминант (гены, контролирующие синтез цитокинов, коллагена, металлопротеиназ) в эпителиальных клетках полости рта, оптимальным является использование набора реагентов «Экстракция-100» («ВекторБест», РФ).

На следующем этапе с использованием программного обеспечения Vector NTI и базы данных нуклеотидных последовательностей NCBI BLAST были подобраны пары праймеров — прямой (forward) и обратный (reverse) для изучения нуклеотидных последовательностей генетических детерминант ИЛ-1 $\beta$ , COL2A1, MMP-8.

Подобранные последовательности праймеров представлены в таблице 2.

Таблица 2 — Последовательности праймеров для изучения генетических детерминант ИЛ-1 $\beta$ , COL2A1, MMP-8

Ген	Последовательность праймера	Фрагмент гена
ИЛ-1 $\beta$ -1-forward	TGGTGTAGGTGGGGCATGTA	21041–22648
ИЛ-1 $\beta$ -1-reverse	AGAATTAGCAAGCTGCCAGGA	
ИЛ-1 $\beta$ -2-forward	GTATGGTGTAGGTGGGGCAT	21038–22647
ИЛ-1 $\beta$ -2-reverse	GAATTAGCAAGCTGCCAGGAG	
ИЛ-1 $\beta$ -3-forward	GGCAACCTCAGTGAAGCCTTA	20777–22648
ИЛ-1 $\beta$ -3-reverse	AGAATTAGCAAGCTGCCAGGAG	
COL2A1-1-forward	CTGTCCTTGTTCCCTCCTTCC	36019–37360
COL2A1-1-reverse	TCCGTAACCTCAAGGCCAAGT	
COL2A1-2-forward	GCGTTTAGCTCTGATTCCTTAGC	35557–37361
COL2A1-2-reverse	ATCCGTAACCTCAAGGCCAAGTG	
COL2A1-3-forward	CTGTCCTTGTTCCCTCCTTCT	36019–37357
COL2A1-3-reverse	CCGTAACCTCAAGGCCAAGTGAT	
MMP-8-1-forward	TCTGCTCATTGCTGGCCTTT	18954–20099
MMP-8-1-reverse	CCAGGGAACATATGTGTGTGA	

Окончание табл. 2

Ген	Последовательность праймера	Фрагмент гена
MMP-8-2-forward	GCTCATTGCTGGCCTTTTGA	18957–20100
MMP-8-2-reverse	GCCAGGGAACATATGTGTGTGAC	
MMP-8-3-forward	CATCCATCCCCACACCAAGA	18751–19813
MMP-8-3-reverse	AGTCTTGGCACTACATCAGAATC	

Для всех генов были выбраны по три пары праймеров с целью найти оптимальные последовательности для достижения наилучшего результата при проведении молекулярно-генетического анализа.

Для выбора гена, который будет использоваться в качестве внутреннего контроля, провели количественный анализ и расчет коэффициента вариации для house-keeping генов человека: *NAGK*, *GAPDH*, *HGUS*,  $\beta$ -актин. House-keeping гены человека присутствуют во всех клетках. Для оценки концентрации house-keeping генов человека использовали плазмидный стандарт, а затем рассчитывали коэффициент вариации (CV) исходя из полученных значений концентраций house-keeping генов [6]. Амплификацию всех проб проводили в дублях, для расчета коэффициента вариации использовали средние значения концентраций, полученные в ходе исследования.

Для генов *GAPDH*, *HGUS* и  $\beta$ -актин рассчитанные значения коэффициентов вариации находились на уровне 6,9; 10,5 и 19,4 % соответственно. В результате анализа полученных данных в качестве внутреннего контроля был выбран ген человека *NAGK*, так как именно для него было установлено самое низкое значение коэффициента вариации — 3,7 %.

В ходе оптимизации состава амплификационной смеси были протестированы различные объемы внесения праймеров (от 1 до 2 мкл), ДНК (от 3 до 10 мкл) и воды.

По результатам исследований был выбран оптимальный состав амплификационной смеси, в который были включены: 15,0 мкл 2X Quick-Load Taq Master Mix; 1,5 мкл смеси эквивалентных концентраций праймеров (прямого и обратного) и зонда для идентификации исследуемого гена, 5,6 мкл воды и 8 мкл ДНК.

При оптимизации программы амплификации варьировали длительность горячего старта (от 5 до 15 мин); длительность этапа денатурации (от 10 до 20 с); длительность (от 30 до 60 с) и температуру (от 58 до 63 °С) этапа отжига; количество циклов амплификации (от 35 до 50).

По результатам проведенных исследований был выбран оптимальный вариант программы амплификации: 1 цикл: 95 °С — 5 мин; 45 циклов: 95 °С — 20 с, 60 °С — 40 с.

Для анализа возможности использования подобранных праймеров, оптимизированного состава амплификационной смеси и программы амплификации при изучении нуклеотидных последовательностей генетических детерминант ИЛ-1 $\beta$ , COL2A1, MMP-8 проводили постановку классической ПЦР с дальнейшей визуализацией результата методом электрофореза. Пробы ставили в дублях. Результаты полученные в ходе выполнения данного этапа представлены в таблице 3.

Таблица 3 — Результаты обнаружения изучаемых участков генетических детерминант в биологическом материале обследованных пациентов ( $n = 10$ )

Ген	Частота выявления, % ( $n$ )
ИЛ-1 $\beta$ -1 (1608 п.о.)	100,00 (10)
ИЛ-1 $\beta$ -2 (1610 п.о.)	70,00 (4)
ИЛ-1 $\beta$ -3 (1872 п.о.)	90,00 (9)
COL2A1-1 (1342 п.о.)	100,00 (10)
COL2A1-2 (1805 п.о.)	40,00 (4)
COL2A1-3 (1341 п.о.)	70,00 (7)
MMP-8-1 (1146 п.о.)	40,00 (4)
MMP-8-2 (1144 п.о.)	90,00 (9)
MMP-8-3 (1063 п.о.)	80,00 (8)

Результат выявления/отсутствия амплификации последовательности таргетного гена в каждом образце считался валидным (положительным или отрицательным) при условии, что для данного образца был установлен факт успешной амплификации для гена внутреннего контроля *NAGK*. В случае

если результат амплификации для гена *NAGK* был отрицательным, образец подвергался повторному анализу начиная с этапа выделения ДНК.

В ходе проведения исследований на биологическом материале пациентов ( $n = 10$ ) во всех пробах была выявлена амплификация референсного гена *NAGK*. При анализе данных об амплификации целевых генов было установлено, что использование подобранных пар праймеров ИЛ-1 $\beta$ -1 (1608 п.о.) и COL2A1-1 (1342 п.о.) позволяет получать ампликоны целевых участков генов ИЛ-1 $\beta$  и COL2A1 в 100 % случаев. Поэтому именно эти последовательности были выбраны для проведения дальнейших молекулярно-генетических исследований.

Для гена MMP-8 последовательности праймеров MMP-8-2 (1144 п.о.) и MMP-8-3 (1063 п.о.) позволяли амплифицировать целевые участки гена в 90,00 и 80,00 % случаев соответственно, при этом пробы, в которых результат, полученный с использованием праймеров MMP-8-2, был отрицательным, были положительны при использовании праймеров MMP-8-3. Поэтому для дальнейших исследований было решено использовать две пары праймеров: MMP-8-2 — как основную и MMP-8-3 — как дополнительную, при отрицательном результате, полученном с использованием основной пары праймеров.

В ходе выполнения этапа электрофоретического анализа, дополнительно проводили оценку уровня амплификации неспецифических фрагментов ДНК. После проведения электрофореза из геля вырезали фрагменты, содержащие фрагменты изучаемых генов. Затем ДНК извлекали из геля с использованием набора реагентов QIAquick Gel extraction kit (Qiagen, Германия) для проведения секвенирования с целью анализа нуклеотидной последовательности полученных фрагментов ДНК.

Сиквенс-анализ проводили с использованием набора реагентов BigDye Terminator Cycle Sequencing kit v3.1 (Applied Biosystems, США), отдельно с forward- и revers-праймером для каждого гена, чтобы проанализировать последовательность нуклеотидов в двух направлениях. Отсеквенированные фрагменты ДНК подвергались очистке с использованием набора реагентов DyeEx 2.0 Spin kit (Qiagen, Германия) и последующему сиквенс-анализу на генетическом анализаторе ABI Prism 310 (Applied Biosystems, США).

Полученные данные о нуклеотидной последовательности образцов сравнивали с зарегистрированными последовательностями генов идентифицируемых генов в on-line поисковой системе BLAST ([www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/bl2seq/bl2.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/bl2seq/bl2.html)) для идентификации принадлежности той или иной последовательности определенному гену [7]. Затем проводили поиск и идентификацию нуклеотидных замен.

В качестве референсных использовали зарегистрированные нуклеотидные последовательности: ИЛ-1 $\beta$  — Human interleukin 1-beta (IL1B) gene, complete cds, GenBank: M15840.1; COL2A1 — Homo sapiens collagen type II alpha 1 chain (COL2A1), RefSeqGene on chromosome 12, GenBank: NG\_008072.1; MMP-8 — Homo sapiens matrix metalloproteinase 8 (MMP8), RefSeqGene on chromosome 11, GenBank: NG\_012101.1.

В ходе изучения нуклеотидных последовательностей генов ИЛ-1 $\beta$ , COL2A1, MMP-8 у обследованных пациентов были выявлены замены одного и двух нуклеотидов в 3 образцах (таблица 4).

Таблица 4 — Нуклеотидные замены в последовательностях ИЛ-1 $\beta$ , COL2A1, MMP-8

Номер образца	Нуклеотидные замены		
	ИЛ-1 $\beta$	COL2A1	MMP-8
2	A21521C	—	G19137T
4	—	C36245A C36271A	—
5	A21521C	—	—

Для гена ИЛ-1 $\beta$  была выявлена замена A21521C в двух образцах. Для гена COL2A1 в одном образце были выявлены замены C36245A и C36271A. Для гена MMP-8 в одном образце была выявлена замена G19137T.

**Заключение.** В результате проведенного исследования был усовершенствован метод молекулярно-генетического анализа детерминант, контролирующих синтез цитокинов, коллагена, металлопротеиназ в эпителиальных клетках полости рта. С использованием подобранных пар праймеров, состава амплификационной смеси, программы амплификации с последующим выполнением сиквенс-

анализа можно проводить изучение нуклеотидных последовательностей генов, контролирующих синтез цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ ), коллагена (COL2A1), металлопротеиназ (ММР-8) в эпителиальных клетках полости рта пациентов.

Проведена апробация усовершенствованного метода на биологическом материале пациентов с заболеваниями периодонта, у которых с использованием метода сиквенирования изучены нуклеотидные последовательности генетических детерминант — ИЛ-1 $\beta$ , COL2A1, ММР-8 в эпителиальных клетках полости рта пациентов. Для гена ИЛ-1 $\beta$  выявлена замена А521С в двух образцах, для гена COL2A1 в одном образце — замены С245А и С271А, для гена ММР-8 в одном образце — замена G137Т.

В человеческой популяции распространены генетические факторы, обуславливающие биологический механизм, с помощью которого у некоторых индивидуумов под воздействием микробного фактора может проявляться более выраженный иммуновоспалительный ответ, что приводит к более тяжелому течению заболевания. Все это определяет необходимость проведения дальнейших научных исследований для выявления и внедрения в практическое здравоохранение объективных генетических маркеров для диагностики, прогноза, течения и исхода заболеваний периодонта.

### Литература

1. Леус, П. А. Заболевания периодонта. Диагностика. Профилактика. Лечение. Современные методы / П. А. Леус, Н. А. Юдина // Энергопресс. — Минск. — 2015. — С. 386.
2. Opposing TNF- $\alpha$ /IL-1 $\beta$ - and BMP-2-activated MAPK signaling pathways converge on Runx2 to regulate BMP-2-induced osteoblastic differentiation / R. Huang [et al.] // Cell Death Dis. — 2014. — Vol. 5.
3. Evaluation of gingival crevicular fluid levels of tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor 2, matrix metalloproteinase-3 and interleukin 1- $\beta$  in patients with different periodontal diseases / U. Toyman [et al.] // J. Periodontal. Res. — 2014. — Apr 2. DOI: 10.1111/jre.12179.
4. Matrix metalloproteinases and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid provide site-specific diagnostic value for chronic periodontitis / J. M. Leppilähti [et al.] // J. Clin. Periodontol. — 2014. — № 41(4). — P. 348–356.
5. Генетические маркеры предрасположенности к воспалительным заболеваниям периодонта (пародонта) / Т. В. Руденкова [и др.] // Стоматологический журнал. — 2019. — № 2. — С. 85–90.
6. Организация системы контроля качества исследований методом полимеразной цепной реакции / Н. А. Бадыгина [и др.] // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. — 2012. — № 1. — С. 28–38.
7. Руденкова, Т. В. Анализ нуклеотидных замен в генах, кодирующих белки цитоадгезии *Mycoplasma genitalium* / Т. В. Руденкова // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. — 2012. — № 5. — С. 185–188.

## Improvement of the molecular-genetic method of analysis for identification of IL-1 $\beta$ , COL2A1, MMP-8 determinants nucleotide sequences in patients with periodontal diseases

*Rudenkova T. V., Kostiuk S. A., Poluyan O. S., Yudina N. A., Hlinkina T. V., Iakovleva-Malykh M. O.*

*State Institution of Education «Belarusian medical academy of postgraduate education», Minsk, Republic of Belarus*

In modern dentistry, close attention is paid to finding reliable markers to identify a predisposition to diseases. The object of this study was to improve a method of molecular-genetic identification of genetic determinants variants in genes controlling the synthesis of cytokines, collagen, metalloproteinases in the epithelial cells of the oral cavity and to test this method on biological material in patients with periodontal disease. Despite numerous studies, reliable markers that would allow assessing the predisposition of a particular patient to the development of chronic periodontitis, or predicting the severity of the course and outcome of the disease have not yet been established. The development of objective molecular-genetic criteria will allow to

carry out early diagnosis and prescribing adequate and reasonable treatment for patients with chronic periodontitis. The most promising direction in the search for markers of susceptibility and prognosis is the identification of genetic factors associated with the risk of development, the course and outcome of chronic periodontitis.

**Keywords:** chronic periodontitis, genetic markers, cytokines, collagen, metalloproteinases.

*Поступила 20.10.2020*