

УНИВЕРЗИТЕТ "СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ"
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - СКОПЈЕ
Клиника за орална хирургија

Евросимовска А. Бијана

Влијание на полиморфизмите на гените за матрикс
металопротеиназите врз прогресијата на клиничката слика
кај хроничните периапикални процеси и
акутните одонтогени инфекции

- ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА -

Скопје, 2012 година

УНИВЕРЗИТЕТ "Св. Кирил и Методиј"
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - СКОПЈЕ
Клиника за орална хирургија

Ѓвроситовска А. Билјана

- ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА -

Ментор: Проф. д-р Борис Величковски
Коментор: Проф. д-р Сашо Панов

Комисија за одбрана:

1. Проф. д-р Александар Грчев
2. Проф. д-р Мирјана Поповска
3. Доц. д-р Соња Ѓленчевска-Апостолска
4. Проф. д-р Сашо Панов
5. Проф. д-р Борис Величковски

Одбрана:

Промоција:

Скопје, 2012 година

БЛАГОДАРНОСТ

Со посебно задоволство и почит, ја користам оваа можност, да изразам длабока и искрена благодарност на мојот ментор, проф. д-р Борис Величковски, за драгоцената помош, стручните совети и научните упатства при изработката на докторската дисертација.

Реализацијата на оваа докторска дисертација немаше да биде овозможена без стручната помош и несебичното залагање на мојот коментор проф. д-р Сашо Панов, кој со својот професионален пристап овозможи да се реализира овој докторски труд во Лабораторија за молекуларна биологија при Природно математички факултет во Скопје. Од ова произлегува и мојата длабока и најискрена благодарност кон него.

Искрена благодарност чувствувам и кон членовите на рецензионата комисија кои придонесоа за успешната реализација на овој труд.

За огромниот вложен труд при статистичката обработка и анализа на добиените резултати, искрена благодарност упатувам кон проф. д-р Розалинда Исјановска од Институтот за епидемиологија при Медицинскиот факултет во Скопје.

Големо благодарам упатувам кон колегите од Клиниката за орална хирургија, особено кон д-р Жаклина Менчева, поради несебичната соработка при прибирањето на материјалот неопходен за спроведување на истражувањето.

Голема благодарност упатувам до моите родители, проф. д-р. Невенка Андоновска и проф. д-р Александар Андоновски, за нивната безрезервна љубов, правилната насока во животот, разбирањето и поддршката што ги добив за време на моето школување и изработката на оваа докторска дисертација.

Искрена благодарност чувствувам и кон м-р др. Маја Евросимовска, која ми укажа голема помош во набавката на реагенсите, без кои неможеше да се изведе лабораториското испитување на оваа докторска дисертација.

За реализацијата на оваа докторска дисертација искрено чувство на благодарност упатувам до мојот сопруг др. спец. Тони Евросимовски и неговите родители Сузана и др. спец. Томе Евросимовски, за нивната безрезервна поддршка и трпеливост, кои ми ги пружија за време на изработката на докторската дисертација.

Билјана Александар Евросимовска
Моминско Андоновска

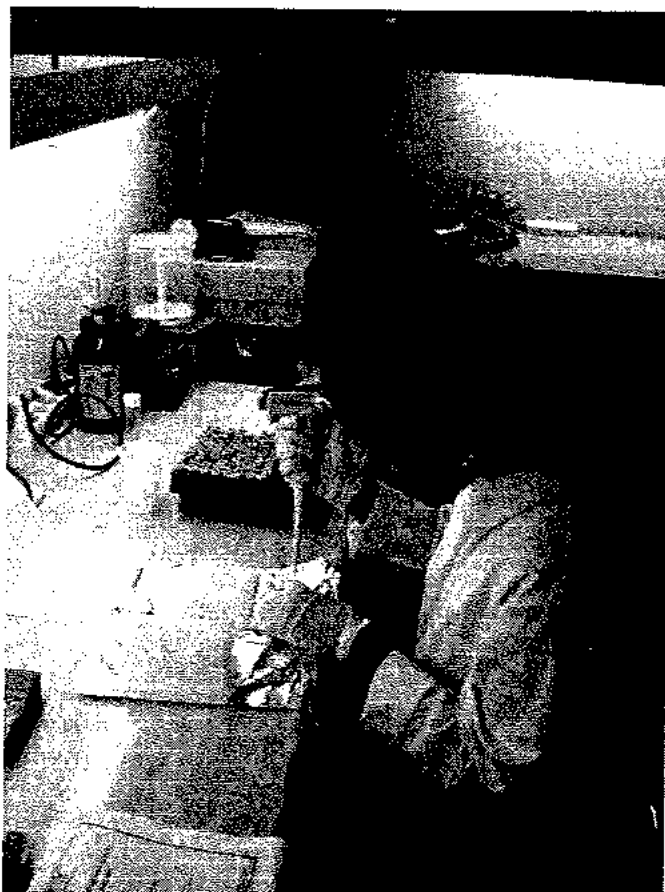
СОДРЖИНА

Апстракт

Листа на кратенки и ознаки

ВОВЕД.....	1
1. ТЕОРИСКИ ОСНОВИ	4
1.1. Етиологија и патогенеза на периапикалните процеси.....	5
1.2. Класификација на периапикалните процеси	10
1.3. Етиологија и патогенеза на акутните одонтогени инфекции	12
1.4. Екстрацелуларен матрикс	14
1.4.1. Деградација на колагенот	16
1.4.2. Коскено ткиво	17
1.4.3. Ресорпција на коска	18
1.5. Генетски полиморфизам	19
1.5.1. Типови на единичен нуклеотиден полиморфизам	21
1.5.2. Мутации на гени и генетски полиморфизам	22
1.5.3. Гени поврзани со воспалението	23
1.6. Матрикс - металопроотеинази (ММП) и нивните генетски полиморфизми	25
1.6.1. Структура на матрикс металопроотеиназите	26
1.6.2. Колагенази (ММП-1, ММП-8, ММП-13) и нивните генетски полиморфизми	28
1.6.3. Биолошка и патолошка улога на ММП.....	37
1.6.4. Регулација на активноста на ММП	41
1.6.5. Регулација на транскрипцијата на ММП	42
1.6.6. Инхибиција на ММП	44
2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА.....	46
3. ЦЕЛИ НА ТРУДОТ	53
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА ИСПИТУВАЊЕ.....	58
4.1. Материјал - истражувачки примерок	59
4.2. Методи на работа	60
4.2.1. Анамнеза, клинички преглед, радиографско проследување на случаите и терапија	61
4.2.2. Прибирање на материјалот за испитување	62
4.3. Лабораториски испитувања (молекуларно-генетски анализи)	62
4.3.1. Изолација на геномската ДНК	62
4.3.2. Амплификација на изолираната ДНК.....	63
4.3.3. Детекција на полиморфизмите во гените на ММП.....	65
4.4. Статистичка обработка на резултатите	67
5. РЕЗУЛТАТИ	69
5.1. Анализа на структурата на истражувачкиот материјал и корелација со полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13	70

5.2. Анализа на резултатите добиени од клиничките испитувања и корелација со полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13	77
5.3. Анализа на резултатите добиени од лабораториските испитувања за полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13.....	93
5.4. Hardy-Weinberg-ов еквилибриум	103
5.4.1. Полиморфизам -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим <i>XmnI</i>	103
5.4.2. Полиморфизам -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим <i>AluI</i>	106
5.4.3. Полиморфизам -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим <i>KpnI</i>	108
5.4.4. Полиморфизам -799 C/T на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим <i>BglII</i>	111
5.4.5. Полиморфизам -77 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим <i>BsrI</i>	113
6. ДИСКУСИЈА.....	116
7. ЗАКЛУЧОК.....	134
8. ЛИТЕРАТУРА.....	139



"Before operating" Read Your instruction manual

АПСТРАКТ

Влијание на полиморфизмите на гените за матрикс металопротеиназите врз прогресијата на клиничката слика кај хронични периапикални процеси и акутните одонтогени инфекции

Како основни наследни единици и фактори на конституцијата на организмот, гените играат суштествена улога во односот спрема разновидните причинители на болестите. За испитување на конституционалната склоност кон некоја болест, најдобри се оние системи што имаат голем полиморфизам и кои имаат влијание во биолошката одбрана за опстанокот на организмот.

Голем број на научни студии го потенцираат фактот дека комбинацијата од одреден број на сигнификантни ризични генетски полиморфизми кај некои индивидуи синергистично ја зголемува чувствителноста кон заболувањето. Од неодамна полиморфизмите на ДНК се детектирани во промоторниот регион на неколку ММП (овие промоторни региони ја контролираат транскрипцијата на генот). Овие генетски полиморфизми се од големо значење бидејќи можат да обезбедат навремен третман на пациентите кои се со висок ризик на болеста.

Колагеназите (ММП-1, -8 и -13) се фамилија на структурно слични, но генетски различни ензими кои ги разградуваат компонентите на екстрацелуларниот матрикс и базалната мембрана. Колагеназите имаат значајна улога во голем број на физиолошки процеси, партиципирајќи во процесирањето на одредени супстанции, во ембрионалниот развој, развојот на ткивата, заздравувањето на раната, како и во патолошките процеси, како што се, на пример, туморите, артритисот, хронични периапикални процеси, акутните одонтогени инфекции, фиброзата и голем број други процеси.

Главна цел на ова истражување претставува идентификацијата на генетските фактори кои се од огромно значење за етаблирањето на ризичниот профил на пациенти со склоност за развој на хроничен периапикален процес или акутна одонтогена инфекција, како и одредување на вкупното присуство на полиморфизми во промоторниот регион од гените за ММП кај испитаниците од испитуваните групи.

Изборот на материјал кој е предмет на истражување беше извршен врз основа на поставените клинички дијагнози, по детално спроведената анамнеза и клинички преглед со анализа на рендгенолошките промени. Притоа беа

формирани 3 испитувани групи од вкупно 280 пациенти.

Првата група ја сочинуваа 120 испитаници со клинички и рендгенолошки верифицирано постоење на хроничен периапикален процес. Втората група ја сочинуваа 40 испитаници со акутна одонтогена инфекција (периапикален дентоалвеоларен апсцес) (*Abscessus periapicalis dentoalveolaris*). Третата (контролна) група беше формирана од 120 испитаници со санирано забало, без ендодонтски третирани заби и отсуство на хроничен периапикален процес или акутна одонтогена инфекција.

Врз основа на реализацијата на поставените цели, дојдовме до сопствени сознанија за улогата и занчењето на полиморфизмите на гените за колагеназите (ММП-1, -8 и -13) кај хроничните периапикални лезии и акутните одонтогени инфекции.

Корелацијата помеѓу полот и полиморфизмот на гените за ММП-1, -8 и -13 покажа дека не постои статистички сигнификантна зависност помеѓу полот и полиморфизмот на гените за колагеназите кај пациентите со различна клиничка дијагноза. Испитуваните полиморфизмот на гените за колагеназите влијаат врз развојот на воспалителниот процес во зависност од присуството или отсуството на системско заболување кај пациентите од различните клинички дијагнози.

Испитуваните полиморфизмот на гените за колагеназите кај пациентите кај кои се присутни субјективни симптоми и манифестни клинички знаци условиле појава на воспалителен процес.

Дистрибуцијата на генотиповите кај сите испитувани полиморфизми за гените на ММП-1, -8 и 13, помеѓу пациентите со различна хронична периапикална лезија и контролната група покажа разлики. Исто така се потврди разлика и во дистрибуцијата на генотиповите кај овие полиморфизми и меѓу групата на пациенти со акутна одонтогена инфекција и контролната група, а и меѓу двете групи на пациенти со хроничен и акутен воспалителен процес.

Индивидуи кои се носители на 2G/2G генотипот и индивидуите со 1G/2G генотипот (2G носителите) кај полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *AfuI*, како и кај полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *XmnI*, покажуваат склоност кон развој на воспалителен процес со побурна клиничка слика и кон развој на една акутна одонтогена инфекција. Сметаме дека 1G алелот има протективната улога на за развој на хроничен периапикален процес и акутна одонтогена инфекција. Полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски

ензим *XmnI* и полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *AluI* претставуваат ризик фактор за појавата на хроничните периапикални лезии и на акутните одонтогени инфекции.

Индивидите кои се носители на G/G генотипот и индивидите со A/G генотипот (G носителите) кај полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI*, покажуваат склоност кон развој на воспалителен процес со побурна клиничка слика и кон развој на една акутна одонтогена инфекција. Сметаме дека А алелот има протективната улога на за развој на хроничен периапикален процес и акутна одонтогена инфекција. Полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI* е ризик фактор за појава и на хроничните периапикални лезии и на акутните одонтогени инфекции.

Индивидите кои се носители на T/T генотипот и индивидите со C/T генотипот (T носителите) кај полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 детектиран со рестрикциски ензим *BglII*, покажуваат склоност кон развој на воспалителен процес со побурна клиничка слика и кон развој на една акутна одонтогена инфекција. Сметаме дека С алелот има протективната улога во развој на хроничен периапикален процес и акутна одонтогена инфекција. Полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 детектиран со рестрикциски ензим *BglII* претставува ризик фактор за појава на хроничните периапикални лезии и на акутните одонтогени инфекции.

Индивидите кои се носители на G/G генотипот и индивидите со A/G генотипот (G носителите) кај полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 детектиран со рестрикциски ензим *BsrI*, покажуваат склоност кон развој на воспалителен процес со побурна клиничка слика и кон развој на една акутна одонтогена инфекција. Сметаме дека G алелот има протективната улога на за развој на хроничен периапикален процес и акутна одонтогена инфекција. Полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 детектиран со рестрикциски ензим *BsrI* е ризик фактор за појава и на хроничните периапикални лезии и на акутните одонтогени инфекции.

Како краен заклучок од предходно изнесенот може да потврдиме дека, хроничните периапикални лезии и акутните одонтогени инфекции кај македонската популација се во корелација со испитуваните полиморфизми на гените за ММП-1, -8 и -13.

A B S T R A C T

Affection of the polymorphism of the genes for matrix metalloproteinase in the progression of clinical image in chronic periapical processes and acute odontogenic infections

As a basic hereditary units and factors for constitution of an organism, the genes play essential role in the correlation to the different diseases challengers. For a research of constitutional affinity to some disease, the best systems are those who have wide polymorphism and who have influence on the biological defence of organism survival.

Many scientific researches underline the fact that combination of a certain number of significant risk genetic polymorphisms in some individuals, increases sensitivity to the disease. Recently, polymorphism of DNA is detected in promoter region of some MMP (this promoter regions control the transcription of the gene). This genetic polymorphism is of big importance, because it can provide in time treatment of the patient with high risk of the disease.

Collagenases (MMP-1, -8 and -13) are structurally similar, but genetically different enzymes that lyses the components of the extracellular matrix and the basement membrane. Collagenases play important role in many physiologic processes, participating in processing of certain substances, in the embryonic development, tissue development, wound healing, as well as the pathological processes like tumors, arthritis, chronic periapical processes, acute odontogenic infections, fibrosis and many more.

The aim of this research is identification of genetic factors, which have huge meaning in establishing of risk profile in the patients with affinity for development of chronic periapical process or acute odontogenic infection, as well as determination of overall presence of polymorphism promoter region of the genes for MMP in examinees.

Choice of material, which was the subject of the research was made according to the clinical diagnoses that were made, after the detailed anamnesis and clinical investigation with Rtg analysis. The 280 examinees were divided into three groups. The first one included 120 examinees with clinically and radiologically confirmed chronic periapical lesion. The second group included 40 examinees with acute odontogenic infection (Abscessus periapicalis dentoalveolaris). The third (control) group included 120 examinees with solid oral health, without endodontically treated teeth and without any presence of chronic periapical lesion or acute inflammation.

According to realised designate aims, we came to our own awearnes about the role and meaning of polymorphism of the genes for collagenesses (MMP-1, -8 and -13) in periapical chronic lesions and accute odontogenic infections.

Corelation between gender and polymorphism of the genes for MMP-1, -8 and -13, shows no statistic significant corelation between gented and polymorphism of the genes for collagenases. Examined polymorphism influence the development of inflmmatory process depending on the presence or absence of systematic disorders in the patients with different clinical diagnosis.

Examined polymorphism of the genes for collagenases in the patients with present subjective symptoms and manifesting clinical signs determine the appearance of inflammatory process.

Distribution of the genotypes in the examined polymorphism for the genes of MMP-1, -8 and -13, between patients with different chronic periapical lesions and control group shows differences. Also, there was a difference between distribution of genotypes in this polymorphism and the group of patients with acute odontogenic infection and control group, and between grops of patients with chronic periapical lesions and acute odontogenic infections.

Individuals who are carriers of 2G/2G genotype and individuals with 1G/2G genotype (2G carriers) in the polymorphism -1607 1G/2G of MMP-1 detected with resctriction enzyme AluI, and also in polymorphism -1607 1G/2G for the gene of MMP-1 detected with restricted enzyme XmnI, shows affection for developing more accute inflammatory process. We can conclude that 1G alele has protective role for the developing of chronic periapical lesion and accute odontogenic infection. Polymorphism -1607 1G/2G of MMP-1 detected with resctriction enzyme AluI, and also in polymorphism -1607 1G/2G for the gene of MMP-1 detected with restricted enzyme XmnI, are qualify as risk factors for developing chronic periapical lesion and accute odontogenic infection.

Individuals who are carriers of G/G genotype and individuals with A/G genotype (G carriers) in the polymorphism -519 A/G of MMP-1 detected with resctriction enzyme KpnI, shows affection for developing more accute inflammatory process. We can conclude that A alele has protective role for the developing of chronic periapical lesion and accute odontogenic infection. Polymorphism -519 A/G of MMP-1 detected with resctriction enzyme KpnI, is qualify as risk factor for developing chronic periapical lesion and accute odontogenic infection.

Individuals who are carriers of T/T genotype and individuals with C/T genotype (T carriers) in the polymorphism -799 C/T of MMP-8 detected with resctriction enzyme BgIII,

shows affection for developing more accute inflammatory process. We can conclude that C alele has protective role for the developing of chronic periapical lesion and accute odontogenic infection. Polymorphism -799 C/T of MMP-8 detected with resctriction enzyme BglII, is qualify as risk factor for developing chronic periapical lesion and accute odontogenic infection.

Individuals who are carriers of G/G genotype and individuals with A/G genotype (G carriers) in the polymorphism -77 A/G of MMP-13 detected with resctriction enzyme KpnI, shows affection for developing more accute inflammatory process. We can conclude that G alele has protective role for the developing of chronic periapical lesion and accute odontogenic infection. Polymorphism -77 A/G of MMP-13 detected with resctriction enzyme KpnI, is qualify as risk factor for developing chronic periapical lesion and accute odontogenic infection.

As absolute conclusion we can confirm and conclude that chronic periapical lesions and acute odontogenic infections in Macedonian population are in correlation with examined polymorphism for the genes of MMP-1, -8,-13.

ЛИСТА НА КРАТЕНКИ И ОЗНАКИ

AAP	- акутен апикален пародонтит
АОИ	- акутна одонтогена инфекција
БМ	- базална мембрана (basal membrane)
BSA	- bovin serum albumin (говедски серум албумин)
ДНК	- дезокси рибонуклеинска киселина
ЕЦМ	- екстрацелуларен матрикс (extracellular matrix)
EDTA-Na₂	- натриумова сол на етилендиаминтетраоцетна киселина
ЕНП	- единечн нуклеотиден полиморфизам (single nucleotide polymorphism, SNP)
ХАП	- хроничен апикален пародонтит
ХПП	- хроничен периапикален процес
IL	- interleukin (интерлеукин)
ЛПС	- липополисахарди (lipopolysaccharide)
ММП-13	- матрикс металопротеиназа-13 (matrix metalloproteinase-13) (колагеназа-2)
ММП-8	- матрикс металопротеиназа-8 (matrix metalloproteinase-8) (колагеназа-3)
ММП	- матрикс металопротеиназа (matrix metalloproteinase)
ММП-1	- матрикс металопротеиназа-1 (matrix metalloproteinase-1) (колагеназа-1)
мРНК	- месинџер рибонуклеинска киселина
МТ-ММП	- мембрански тип-матрикс металопротеинази (membrane type - matrix metalloproteinase)
Об	- остеобласти
Ос	- остеокласти
PBS	- Phosphate-Buffered Saline (фосфатен пуфер)
ПМН	- полиморфонуклеарни клетки (PMN-polymorphonuclear leukocyte)
PMSF	- фенилметилсулфонил-флуорид
РНК	- рибонуклеинска киселина
ТИМП	- ткивен инхибитор на матрикс-металопротеиназите (tissue inhibitor of matrix metalloproteinases)
TNF	- tumour necrosis factor (тумор некрозен фактор)

ROBEA

В о в е д

Воспалението претставува базичен имун одговор на телото кон бактериската или вирусната инвазија, како и кон големиот број нокси, дефинирајќи се како протективен механизам кој ја контролира настанатата штета, ги отстранува индуцираните агенси и соодветната ткивна репарација проследена со елиминација на воспалителните клетки.

Етиологијата на бројните воспалителни состојби е во најголем дел непозната. Всушност, само кај дел од пациентите доаѓа до развој на воспаление, што укажува на присуството на одредени фактори кои придонесуваат за развојот на воспалителниот процес и кои може да влијаат сами по себе независно од специфичните имуни реакции кои го водат текот и развојот на заболувањето, како и влијанието на надворешната околината (изложеноста на токсините, загадувањето, издувните гасови), а секако и влијанието на генетските фактори.

Отстранувањето и ремоделирањето на сврзното ткиво се критични за одредени процеси, на пример, развојните, хомеостатските и репаративните процеси. Физиолошките промени во матриксот наложуваат активност од страна на голем број ендопептидази кои делуваат врз композициски различните далечни протеини, и последователно на тоа, не изненадува фактот, дека бројни протеинази од различните генетски фамилии играат битна улога во каталитичката функција за време на ткивното ремоделирање.

Воедно, воспалението може да се разгледува како протективен воспалителен одговор на инфекцијата, траумата или повредата. Сепак само кај одреден број на пациенти доаѓа до развој на воспалителен процес под влијание на околината и гените.

Гените кои се во асоцијација со воспалителниот процес и кои имаат про- и анти-инфламаторен ефект треба соодветно да бидат избалансирани и регулирани. Протеинските продукти на овие гени ултимативно го детерминираат исходот на воспалението.

Независно од генетската мутација, генетскиот полиморфизам кој е во релација со одредени воспалителни маркери, исто така, е во корелација и со честотата на појавување и/или исходот на серија воспалителни промени. Објавени се голем број на студии во кои се потврдува дека одредени гени се во асоцијација со воспалителниот процес.

Модерниот геномски пристап, на пример, ДНК (дезоксирибонуклеинска киселина) микро-испитувањата и серијата анализи на генетската експресија, овозможуваат детерминација на екстремно комплексниот профил на воспалителните гени.

Сé уште не е разјаснето во колкави димензии генетските алтерации се во интеракција со варијаблите од околината и имаат влијание врз етиологијата на воспалението, или кои фактори ја детерминираат резолуцијата и вршат обновување наспроти перзистенцијата и прогресијата на воспалението.

Исто така, во целост не е разјаснета дилемата, дали генетските фактори ја регулираат категоризацијата на воспалението кај одредени случаи, додека кај други предизвикуваат системски одговори.

Сепак, преку бројните научни истражувања, утврдено е дека воспалението може да биде контролирано преку различни аспекти на инхибиција на воспалителните процеси, преку намалување на транскрипцијата на воспалителните гени и преку намалување на транскрипцијата на антивоспалителните гени.

1 ТЕОРИСКИ ОСНОВИ

1. ТЕОРИСКИ ОСНОВИ

1.1. Етиологија и патогенеза на хроничните периапикални лезии

Прецизното познавање на анатомската градба и функцијата на ткивото во оралната празнина, каде може да се развијат разни форми на патолошки процеси, претставува неопходен предуслов на најдобар можен начин да се согледаат патогенетскиот механизам на создавање и текот на патолошките процеси, како и развојот на клиничката слика и можните компликации. Овие параметри се од големо значење за правилната проценка на стадиумот на болеста, планот на терапија или соодветниот оперативен пристап на патолошката лезија.

Инфекцијата претставува успешен продор и размножување на патогените микроорганизми во ткивото на домаќинот, што резултира, односно доведува до оштетување на ткивото по пат на токсични и механички механизми (Jojić B & Perović J, 1997).

Одбранбената реакција на организмот -домаќинот на ваквата инвазија на микроорганизми се манифестира како воспалителна реакција.

Според клиничката слика одонтогените инфекции се делат на акутни, субакутни одонтогени инфекции и хронични периапикални инфекции.

Хроничните периапикални инфекции почесто настануваат како последица на акутните, а поретко од самиот почеток имаат хроничен тек.

Според Jojić B & Perović J, (Jojić B & Perović J, 1997) хроничниот периапикален процес (ХПП) претставува одбрамбена и деструктивна воспалителна реакција на периапикалното сврзано ткиво на штетните дразби кои потекнуваат од каналот на коренот на забот инволвирајќи го и околното коскено ткиво кое го опколува апексот на забот.

Todorović LJ et al., (Todorović LJ et al., 2002) ги дефинираат периапикалните процеси како патолошка промена настаната на врвот од коренот на авиталните заби, кога некротичната содржина од каналот на коренот вршејќи постојана иритација во апикалниот предел условува појава на хронично воспаление.

Имено, етиологијата на ХПП е мултикаузална. Покрај фактот дека хроничниот периапикален процес, било да е од неинфективна природа (супраоклузија, дентална траума, термички дразби, неправилна ендодонтска терапија, штетни агенси од денатурирано ткиво на организмот, присуство на туѓо

тело), или е резултат на инфекција што е последица на нелекуваниот кариес, сепак, битна улога за неговото создавање имаат микроорганизмите и нивните продукти (Bergenholtz G, 2000; Dung TZ & Liu AH, 1999).

Според испитувањата на Tervahartiala T et al., (Tervahartiala T et al., 2000) бактериите и нивните продукти, може да делуваат при воспалението на ткивото, преку регулација на продукцијата на цитокините и преку спроводниот пат да ја зголемат експресијата на матрикс металопротеиназите (ММП) или директно да ги стимулираат клетките да продуцираат ММП. Од добиените резултати, авторите изнесуваат заклучоци дека во најголем број случаи во активацијата на ММП *in vivo* учествуваат ткивните и плазма протеиназите како и бактериските протеинази. Покрај тоа, за време на ткивната деградација бактериските протеинази ги конвертираат проММП во нивните активни форми, притоа постоејќи можност тоа да претставува ограничувачки чекор во деградацијата на ткивото.

Според Neville et al., (Neville et al., 2002) иритацијата и повредата на пулпата води кон воспаление наречено *пулпитис*. Патологијата на пулпата може да се рангира од локална инфламација (реверзибилен пулпитис) до иреверзибилен пулпитис кој понатаму може да продолжи во целосна некроза на коренскиот канал. Нетретираниот пулпитис може да води кон некроза на пулпата, придружена со инфекција на коренските канали и конечно да доведе до апикален пародонтит, деструктивна инфламаторна состојба околу апексот на афектираниот заб. Доколку апикалната инфламација не се елиминира може да предизвика неколку состојби како што се, на пример, периапикален гранулом, периапикален апцес, периапикална циста или остеомиелити.

Повредата на ткивото на пулпата предизвикува клеточно оштетување и ослободување на неспецифични проинфламаторни медијатори како што се, на пример, хистаминот, брадикининот, неурокинините, неуропептидите и простагландините. Овие медијатори предизвикуваат вазодилатација, зголемен прилив на крв, ексудативна формација и појава на едем (Takahashi K et al., 1998).

Кога воспалението не се третира и бактериите го запоседнат кавумот и ткивото на пулпата, конечно ќе дојде до појава на *апикален пародонтит*, кој претставува одбрамбена и деструктивна воспалителна реакција која го инволвира и околното коскено ткиво што го опколува апексот на забот (Wahlgren J et al., 2001).

Воспалителната реакција во апикалниот периодонциум е првата и најзначајна промена која се развива како последица на штетното влијание на бактериската содржина од коренскиот канал. Ова периапикално воспаление може да се развие во акутна или хронична форма, што ќе зависи од должината на траење на

дразбата, од бројот и видот на микроорганизмите и од степенот на нивната вируленција, како и од одбрамбените механизми на домаќинот (Takahashi K, 1998).

Кај акутниот апикален пародонтит (ААП), пулпата е иреверзибилно инфламирана или некротична и содржи полиморфонуклеарни клетки (ПМН) (PMN-polymorphonuclear leukocyte) и моноцити/макрофаги. Ресорпцијата на коската и коренот не е доволно екстендирана за да биде радиографски детектирана (Jian M, 2004).

Според Neville BW et al., (Neville BW et al., 2002) доколку нетретираниот ААП премине во хроничен апикален пародонтит (ХАП) ќе дојде до некроза на пулпата и инвазија на бактерискиот токсин во апикалната зона. Одбранбените механизми реагираат на овој бактериски канален ексудат и се формира одбранбена гранулациона зона. Со перзистенција на бактериите во коренскиот канал е овозможена пропација на инфекцијата, при што се зафаќаат соседните анатомски структури (коската, периодонциумот, меките ткива) и во тој случај лезијата прогресира во апцес со или без фистула.

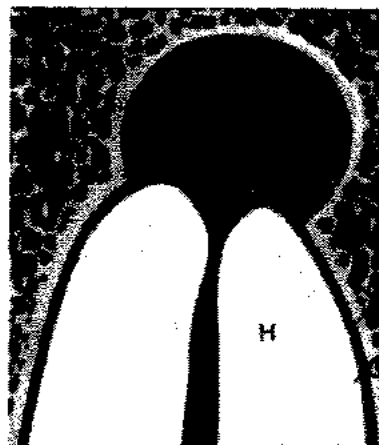
Според Spatafore C et al., (Spatafore C et al., 1990) во почетната фаза, хроничниот периапикален процес хистолошки се карактеризира со хиперимија и едем на периодонциумот и со инфилтрација на хронични воспалителни клетки, првенствено лимфоцити и плазма клетки. Во подоцнежната фаза од развојот, инфламацијата и локално зголемената васкуларизација доведуваат до ресорпција на врвот од коренот на забот. Пролиферацијата на фибробластите и ендотелните клетки, настануваат по ресорпцијата на коската заедно со формирањето на ситни васкуларни канали и бројни влакна на сврзното ткиво. Во ткивото доаѓа до акумулација на холестеролски кристали кои претставуваат карактеристична појава за цистите. Преминувањето на грануломот во циста се одвива постепено и е пропратено со процентуално зголемување на епителот и постепен развој на дефинитивен лумен.

Активноста на сврзното ткиво е најизразена на периферијата од периапикалниот процес, каде кондензацијата на колагени влакна предизвикува одвојување на гранулационото ткиво од коската (Spatafore C et al., 1990). Во капсулата на периапикалниот процес присутен е епител кој може да биде од различно потекло (Malassez-ови епителни остатоци, орален епител и многу поретко респираторен епител кој се јавува во случај на комуникација со синусната празнина).

Во патогенезата на апикалниот пародонтит е инволвирана деградацијата на одреден број компоненти од ЕЦМ како резултат на бактериската инфекција во

коренскиот канал на забот. Деградацијата на колагенот претставува мошне значајна карактеристика кај апикалниот пародонтит, а ММП се одговорните компоненти за настанувањето на овој процес (Paula-Silva F et al., 2010).

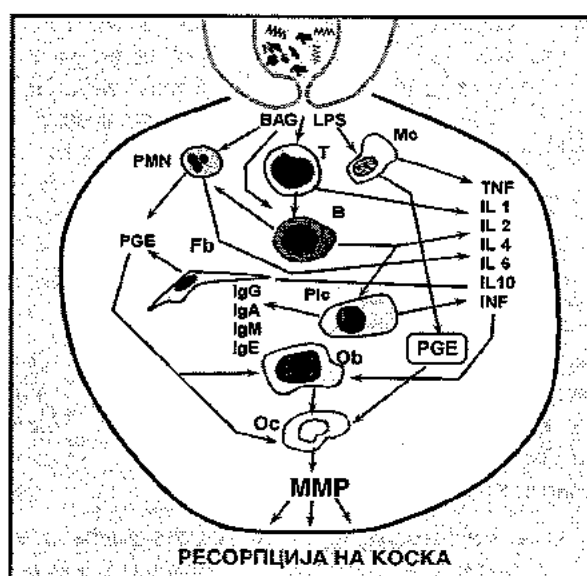
Идентификацијата на молекулите од ЕЦМ кај човекот, кои се специфични за периапикалните цисти и грануломи, обезбедува информации со цел да се овозможи диференцијална дијагноза помеѓу овие две лезии. Специфичните протеин кои се присутни во ЕЦМ и нивните соодветни рецептори овозможуваат да се создадат соодветни биомаркери за детекција на патолошката промена, а на тој начин го подобруваат самиот третманот и терапијата. Такви можни кандидати кои ќе претставуваат биомаркери на периапикалната инфламација се протеазите кои се одговорни за деградацијата на ЕЦМ, како што се самите ММП.



Слика. 1.1. Зони на ширење на воспалението кај хроничните периапикални лезии
(Rashedi A & Juan M, 2000)

Од дурга страна, големината на периапикалната лезија е зависна од балансот меѓу микроорганизмите и нивните токсини насочени против одбрамбените механизми на организмот (Rashedi A & Juan M, 2000). Зоната на воспаление (A) кај периапикалниот процес содржи ПМН кои линеарно се поставени во вид на мембрана, чија цел е да ја спречат бактериската инвазија (сл. 1.1). Овие клетки присутни во пределот на foramen apicale ослободуваат лизозомни ензими, кои пак предизвикуваат некроза. Следниот слој е зоната на контаминација (B), афектирана од дифузни антигени и иританси кои потекнуваат од коренскиот канал со доминација на плазма клетките и лимфоцитите. Непосредно до овој слој е зоната на иритација (C) каде остеокластите и макрофагите претставуваат доминантни клетки. Макрофагите имаат способност да го отстранат и уништат

клеточниот дебрис присутен во оваа зона како резултат на недостаток на антигени од коренскиот канал. Над овој слој е зоната на стимулација (D), која ја сочинуваат млади фибробласти и остеобласти создавајќи фиброзна капсула околу лезијата.



Слика. 1.2. Коскено-деструктивни механизми кај хроничниот периапикален процес (Márton IJ & Kiss C, 2000)

BAG: бактериски антигени, LPS: липополисахариди, PMN: полиморфнуклеарни леукоцити, T: T-лимфоцити, B: B-лимфоцити, Mc: макрофаги, Fb: фибробласти, Plc: плазма клетки, Ob: остеобласти, Oc: остеокласти, TNF: тумор некрозен фактор, IL: интерлеукин, INF: интерферон, Ig: имуноглобулин, PGE: простагландин, MMP: матрикс-металопроотеинази.

На сликата 1.2 е прикажана сложена мрежа од ткивни реакции против бактериските продукти кај ХПП. Првата бариера која ја спречува бактериската инвазија низ foramen apicale е обезбедена од ПМН клетки, кои со активна фагоцитоза, ефективно ја одржуваат примарната фагоцитна одбрамбена фаза и ослободуваат антигени, кои пак, делуваат како хемотактични стимулси и ги поттикнуваат другите клетки да партиципираат во воспалителната реакција. Покрај учеството во фагоцитозата, ПМН клетките ослободуваат ММП и други хидролитички ензими.

При дигестија на бактеријата, ПМН клетки ги оштетуваат и околните ткивни компоненти преку секреција на ММП, особено на матрикс металопроотеиназа-8 (ММП-8). ПМН клетки, индуцирани од бактериските продукти или токсини, може

да ослободат проинфламаторни цитокини кои автоматски ги стимулираат овие клетките да ослободат ММП. Плазма клетките, кои по ПМН клетките влегуваат во инфламираното ткиво, ги секретираат имуноглобулините и ги експресираат ММП-8 и матрикс металопроотеиназа-13 (ММП-13) (Márton IJ & Kiss C, 2000).

ММП играат исклучително важна улога во деструкцијата на ткивото на пулпата од забот, а докажано е дека ММП-1, -8, -9 и -13 заедно се инволвирани во експанзијата на виличните цисти (Leonardi R et al., 2005; Teronen O et al., 1995); Teronen O et al., 1995; Carneiro E et al., 2009).

1.2. Класификација на периапикалните процеси

Класификацијата како дидактички поим, подразбира поделба на хроничните периапикални процеси врз основа на етиолошките, клиничките или терапевтските карактеристики, а сè со цел за полесно препознавање, сигурно дијагностицирање и соодветен избор на терапевската постапка.

Покрај големиот број испитувања спроведени кај хроничните периапикални процеси, тие и денес претставуваат високофреквентен, актуелен и сериозен проблем. Меѓу авторите чија цел на испитување се хроничните периапикални процеси, постојат различнивидувања, и тоа не само за термиолошката диференцијација и класификација, но и за суштината на етиологијата и патогенезата на овие воспалителни процеси. Имено, класификацијата на периапикалните процеси би била најпрецизна ако се земат предвид повеќе аспекти.

Според Матовска Љ, (Матовска Љ, 2000) при класификацијата треба да се земе предвид:

1. текот на развојот (лезииите може да бидат акутни, хронични или егзацербирани),
2. етиолошките фактори за нивното настанување (од инфективна, хемиска или термичка природа, како и секвела на механичка траума),
3. нивната локализација.

Wein FS, (Wein FS, 1989) нуди една од долго присутните и релативно прифатените класификации на периапикалните лезии:

- a. Периапикална остеосклероза (osteitis sclerosans);
- б. Почетен хроничен апикален пародонтит (incipient chronic apical parodontitis);

в. Развиен хроничен апикален пародонтит (advanced chronic apical parodontitis). Кој од своја страна може да биде:

1. Периапикален гранулом (periapical granuloma);
2. Хроничен периапикален апцес (chronical periapical absces);
3. Периапикална циста (periapical cysticum).

Врз основа на рендгенолошките анализи и комбинацијата од анамнестички податоци и клинички преглед, Petrovič V & Čolić S, (Petrovič V & Čolić S, 2001) ја предлагаат следнава класификација:

1. Parodontitis periapicalis acuta:
 - serosa;
 - purulenta
2. Parodontitis periapicalis chronica:
 - fibrosa
 - granulomatosa s. granulom
 - diffusa s. progresiva
3. Parodontitis chronica in exacerbationem.

Нема никаков сомнеж дека највалидна и најверодостојна класификација е онаа која се базира на патохистолошкиот наод. Патохистолошката поделба на периапикалниот процес е можна, се разбира, по хистолошкиот преглед, кога е можно да се определи и доминантната форма и содржината на клетките, а врз основа на тоа може да се дефинира и видот на периапикалната лезија, кој се определува од хистолошката градба на лезијата и степенот на клеточниот инфилтрат.

Врз основа на хистолошките наоди Spatafore et al., (Spatafore et al., 1990) во класификацијата на периапикалните лезии ги вбројуваат и периапикалните лузни на коската, кои се карактеризираат како ткиво изградено од колаген т.е. како хипоцелуларно фиброзно ткиво.

Денес периапикалните процеси се означуваат под името "хронични периапикални инфламаторни лезии" кои се создаваат на врвот од коренот на авиталните заби и се дефинирани како неспецифична воспалителна реакција на апикалниот предел настаната под дејство на различните агенси од коренскиот канал на забот. Од овие причини многу автори сугерираат да се прифати класификација на хроничните периапикални инфламаторни лезии што ја нудат Spatafore et al., (Spatafore et al., 1990) според која овие лезии се делат на: периапикален гранулом, радикуларни цисти, периапикална лузна и останати лезии.

Да истакнеме дека при секоја класификација треба да се имаат предвид динамичните промени на сознанијата во медицината поради што и одделните карактеристики на лезиите попримаат нови обележја. Меѓутоа, не треба да се заборава и фактот дека, одделните класификации се базираат врз определбата на авторот кои критериуми ќе ги зема за доминантни. Имено, во основата на секоја класификација, централно место треба да завземе подигањето на нивото на целокупните сознанија за хроничните периапикални процеси, кое претставува стожер за обезбедување нивна поуспешна терапија.

1.3. Етиологија и патогенеза на акутните одонтогени инфекции (АОИ)

Акутните одонтогени инфекции по правило се од ендогено потекло. Во усната празнина присутна е разновидна бактериска флора. Тоа се сапрофитите, кои по потекло се од надворешната средина и нормално се присутни во другите телесни простори, како и други патогени микроорганизми кои во усната празнина се задржуваат подолго или пократко време. За поголемиот број на микроорганизми, т.н. нормална флора во усната празнина постојат поволни услови, и тоа, не само за нејзино присуство, туку и за нејзино размножување, бидејќи се присутни оптимална влажност, температура, рН, кислород итн. Од друга страна, во усната празнина постојат и неповолни услови за размножување на бактериите, како што се на пример, интактниот епител, имуноглобулините и лизозимите од плунката, актот на голтање, обликот на забите итн.

Микроорганизмите од нормалната флора на усната празнина под влијание на изменетите услови може да покажат и патогени својства, особено кога ќе се здружат со анаеробните и аеробните видови на бактерии.

Инфекцијата во пределот на лицето и вилицата најчесто потекнува од забите (гангренозни заби, гангренозни корени, заостанати корени, полуимпактирани и импактирани заби, ендодонтски лекувани заби и корени), но секако има и други фактори (повреда на меките ткива или коскеното ткиво, пародонтопатија, разни видови на стоматити и гингивитис, улцерации и декубитуси).

Клинички и патоанатомски, се разликуваат два основни типа на акутни инфекции: апсцес и флегмона.

Апсцесот претставува гнојно воспаление кое е јасно ограничено, одвоено од околотото здраво ткиво со демаркациона линија или со пиогена мембрана (Jović B & Perović J, 1997).

Во зависност од тоа по кој пат се шири инфекцијата, преку забот или пародонцијумот, апсцесите се делат на периапикални, пародонтални и перикоронарни. Најчести се периапикалните апсцеси. Инфекцијата во овој случај се шири преку пулпата на забот. Бактериите и нивните токсини прво предизвикуваат серозно, а потоа пурулентно воспаление на пулпата, по кое настанува некроза и целосно одумирање на пулпата. Инфекцијата преку овој пат се пренесува во периапикалното ткиво.

Во коскениот ткиво во апикалниот предел се создава патолошка промена која е зависна од бројот и вируленцијата на микроорганизмите и од локалните и општите фактори на одбрана на организмот. На тој начин доаѓа до создавање на шуплина исполнета со гној (апсцес).

Гнојот претставува некротична, распадната маса во периапикалното ткиво, која се состои од ткивни течности, живи и мртви бактерии, распаднати леукоцити, фагоцити и др. При овие процеси, коската во периапикалната регија, а понекогаш и цементот од врвот на коренот на забот, подлежат на разорување и ресорпција. Гнојната колекција во најголем број случаи се формира и локализира орално, вестибуларно или палатинално.

Локализацијата на гнојната колекција зависи од анатомските фактори, особено од мастикаторната и мимичната мускулатура. Од нивната инсерција ќе зависи каде ќе се формира гнојната колекција. Оваа гнојна колекција понекогаш може да биде локализирана орално, под слузокожата, а понекогаш нанадвор, субкутано, под кожата.

Флегмоната претставува акутно, дифузно воспаление, нејасно ограничено, кое мошне брзо се шири, составено од мноштво ситни апсцеси (Jojić B & Perović J, 1997). Воспалението го зафаќа сврзното ткиво и се шири долж крвните и лимфните садови, завземајќи еден или повеќе простори, ложи.

Кај флегмоната не постои јасна граница меѓу заболеното, зафатеното и здравото ткиво. Флегмоната започнува одненадеш, акутно со мошне изразени општи знаци на инфекција, особено со болка и температура. Флегмоната е пратена со голем оток со цврста конзистенција. Кожата над отокот е затегната, црвена, сјајна и мошне болна на палпација.

Можни компликации на една АОИ се: тромбоза на sinus cavernosus, медијастинит, апсцес на мозок, инфективен миокардитис, mediastinitis и сепса кои најчесто се јавуваат кај имунолошки компримитирани болни, како и кај болни кои се лекуваат со имunosупресивни лекови.

1.4. ЕКСТРАЦЕЛУЛАРЕН МАТРИКС

Елементите кои влегуваат во градба на периодонциумот меѓусебно се поврзани со основна екстрацелуларна супстанца означена како, *екстрацелуларен матрикс (ЕЦМ)*.

Екстрацелуларниот матрикс формира комплекс кој претставува високо организирана структура овозможувајќи подршка, како на ткивата, така и на одделните клетки, притоа регулирајќи ги нивните физиолошки својства. ЕЦМ го регулира клеточното однесување, влијаејќи на тој начин врз адхезијата на ткивата, врз миграцијата, пролиферацијата, формата, развојот и метаболитичките функции. ЕЦМ не претставува статична структура, напротив тој постојано се создава, ремоделира и процесира (*Heikkilä P, 2005*).

ЕЦМ е од големо значење за обезбедување на простор неопходен за клеточна миграција, делба, диференцијација, за опстанок или смрт на клетките (*Amano S et al., 2001*).

ЕЦМ содржи колагени, неколагени гликопротеини и протеоглигани. Овие структурни макромолекули ги секретираат фибробластите во големи количини. Во коскениот ткиво и рскавицата, ЕЦМ го секретираат мезенхималните клетки, како што се хондроцитите во рскавицата и остеобластите во коската. Долгите колагени влакна го зајакнуваат и организираат матриксот, додека полисахаридите од протеогликаните ја формираат водената фаза, која ја обезбедува дифузијата на хранливите материи, метаболитите и хормоните помеѓу различните ткива. Еластинот, фибронектинот и ламининот се вбројуваат меѓу најзначајни компоненти на ЕЦМ. Фибронектинот широко се дистрибуира во сврзното ткиво, додека ламининот е присутен исклучиво само во базалната мембрана.

Според *Persikov AV & Brodsky B, (Persikov AV & Brodsky B, 2002)* колагените претставуваат главни и најбогати екстрацелуларни протеини кај човекот. Колагените се изградени од стотина аминокиселини, при кои глицинот (Gly) е локализиран во секој повторувачки Gly-X-Y триплет од аминокиселинската секвенца. Овие аминокиселински триплети формираат единечен синџир, кој претставува најмала структурна единица на колагенот. Заедно трите синџири формираат троен хеликс на мономерен колаген. Мономерните колагени се организираат во 3/4 колагено влакно, кое се стабилизира преку интермолекуларни врски. Во ткивата, влакната се организираат во колагени јазли и мрежа од колагени влакна.

Нерастворливите колагени влакна сочинуваат 30% од протеините во човековото тело (Aumailley M & Gayraud B, 1998). Фибриларните колагени (тип I, II, III, V и XI) ги формираат фибрилите и влијаат врз клеточните функции преку интеракции со интегрините, претставувајќи на тој начин главен тип на колаген присутен во сврзното ткиво. Типот I колаген претставува најобилен протеин во човековото тело и е главен колаген во кожата, коските, тетивите и лигаментите (Prockop DJ & Kivirikko KI, 1995).

Колагените се карактеризираат со релативна резистентност кон протеолизата предизвикана од неспецифични протеинази, поради нивната ковалентна фибриларна структура и структура на троен хеликс (Barkhordar RA, 1987). Колагените го одржуваат структурниот интегритет на ткивото кај човекот и обезбедуваат механичка сила (табела. 1.1).

Табела. 1.1. Компоненти на екстрацелуларниот матрикс кај забот и неговиот потпорен апарат (Jian Ma, 2004)

Колаген	Тип I	Тип III	Други компоненти
Гингива	80-85% ¹	< 3% ¹	Фибронектин, ламинин, тенасцин, 6% еластин
Периодонтален лигамент	84% ²	15 % ³	Колаген V, VI, VII < 1% ³ , гликопротеини, еластин
Цемент	90% ⁴	< 5% ⁴	Коскен сијалопротеин, остокалцин, остеопоеин
Алвеоларна коска	95% ⁶	многу малку ⁵	Неколагени протеини 5% (остеокалцин, остеонектин) ⁶

1. Schroeder HE & Page RC, 1990; 2. Butler et al., 1975; 3. Delaisse JM & Vaes G, 1990;

4. Birkedal-Hansen et al., 1977; 5. Li TF et al., 2000; 5. Ross et al., 1995; 6. Freeman E, 1994.

Екстрацелуларниот матрикс ги афектира клетките преку клеточни рецептори познати под името интегрини. Интегрините претставуваат хетеродимерични гликопротеини. ЕЦМ влијае врз клеточното однесување преку поддржување на молекулските сигнали, како што се, факторот на раст и врзувачките протеини на факторот на раст, кои делувајќи како лиганди (молекул кој се врзува за друг

молекул) за клеточните рецептори, ги вклучуваат интегрините кои може да го пренесат сигналот кон внатрешноста на клетката. ММП го раскинуваат ЕЦМ и ослободуваат биоактивни клеточни површински молекули. Овие протеолитички ензими ја регулираат активноста на факторот за раст, преку раскинување на протеините од ЕЦМ, кои пак, може да се врзат со нив. Самиот ЕЦМ од дентинот, од ткивото на пулпата и од алвеоларното коскено ткиво, се приспособува на клеточните функции: на растот, на промените во формата на клетката, на миграцијата и на диференцијацијата, преку контрола на клеточната адхезија.

1.4.1. Деградација на колаген

Деградацијата на колагенот е од витално значење кај голем број на заболувања, на пример, реуматоидниот артритис, малигните заболувања, периимплантитисот, периодонтитисот, а според голем број на автори (*Birkedal-Hansen H et al., 1977, 1993; Domeij H et al., 2002*) има круцијална улога и кај хроничните периапикални лезии и акутните одонтогени инфекции. Според *Van der Zee E et al., (Van der Zee E et al., 1997)* познати се следниве два пата при деградацијата на колагенот и тоа: *интрацелуларен и екстрацелуларен пат.*

Интрацелуларниот пат на деградација на созреаниот колаген претставува главен спроводен пат за доведување на колагенот во физиолошка состојба. Екстрацелуларниот пат, пак, зазема главна улога при патолошките состојби кои ги вклучуваат ММП. Страните на деградацијата на колагенот се поделени на: *внатрешна и надворешна страна на раскинување на хеликсот.* Внатрешната страна на раскинување на колагенот, која се раскинува од страна на фибробластниот тип на колагеназа (подоцна означена како ММП-1), за првпат е опишана во 1962 година од страна на *Gross J & Lapiere CM (Gross J & Lapiere CM, 1962).* Таа се карактеризира со способност за иницијално раскинување на врската помеѓу Gly⁷⁷⁵-Leu/Ile⁷⁷⁶ од тројниот хеликс на типот I, II и III колаген. Раскинувањето на оваа врска резултира со создавање на 3/4 и 1/4 деградациони фрагменти на колагенот. При физиолошка температура на телото, двата деградациони фрагменти на колагенот спонтано подлегуваат на транзиција на хеликсот, и притоа се денатурираат во нехелични желатински деривати. Понатаму желатинот рапидно е деградиран од страна на ММП-1 или од ММП-2 и ММП-9. Имено, ММП-1 како и другите колагенази имаат улога на гранични ензими во протеолизата на колагенот.

1.4.2. Коскено ткиво

Според *Jian Ma, (Jian Ma, 2004)* коската претставува динамично ткиво во кое континуирано се одвива ремоделирачки процес каде ресорпцијата и депозицијата на коската се во постојан баланс. При појава на воспалителен процес во коската, овој баланс се нарушува и се фаворизира губитокот на коска.

Коскено то ткиво претставува високо дифернцирано потпорно сврзно ткиво во кое меѓу колагено-фибриларната основа, внатре во меѓуклеточната супстанца, се присутни калциумови соли (*Petrović V & Čolić S, 2001*).

Во состав на коската влегуваат калцифицираниот екстрацелуларен матрикс и клетките. Органската компонента ја претставуваат колагените влакна (тип I колаген) и основната супстанца (кератин сулфат, хондроитин сулфат, хијалуронска киселина). На неорганскиот дел спаѓаат 65%. Влакната од типот I колаген се имбибирани во комплекс од калциум и фосфат кој формира хидроксипатит $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$.

Остеобластите, кои потекнуваат од периостеумот и ендостеумот, се лоцирани на надворешната страна од коската или од внатрешната страна на коската во близина на коскената срцевина. Тие ослободуваат и депонираат тип I колаген, и неколагени протеини околу самите нив. Преминувањето на овој вид остеобласти во остеокласти, се случува при нивното имбибирање во коската. Во коската, остеокластите формираат лакуни во цврстиот и минерализиран матрикс, комуницирајќи меѓу себе преку цитоплазматски продолжетоци локализиран во коскените каналикули.

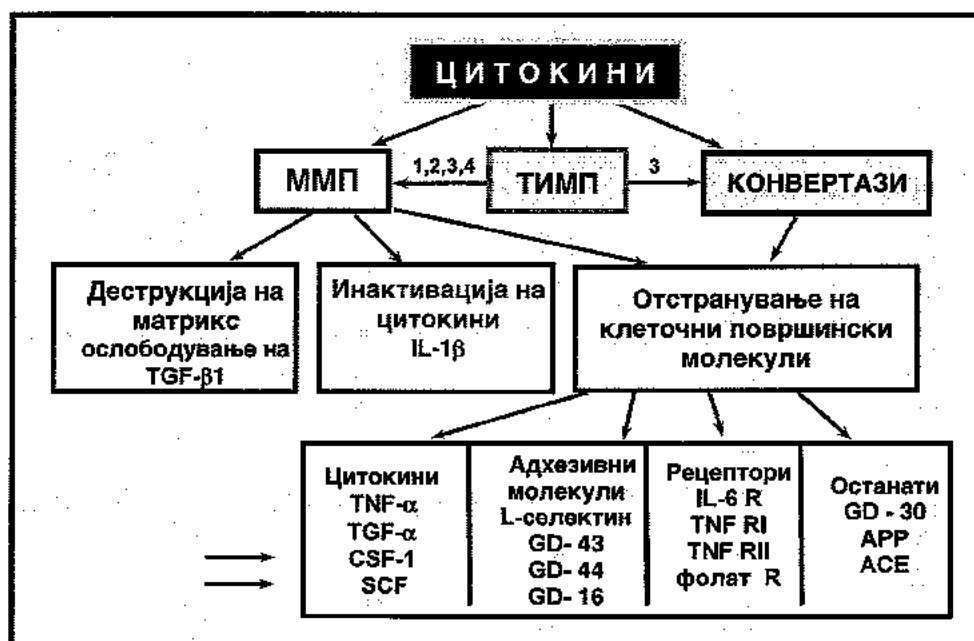
Остеокластите претставуваат мултинуклеарни џиновски клетки кои содржат вакуоли и лизозоми. Површината на остеокластите формира набрана граница која содржи голем број на превои, создавајќи надворешен пласт на површината од коската. Коскената ресорпција се одвива преку активноста на одговорните клетки - остеокластите. Според *Jian Ma, (Jian Ma, 2004)* формирањето на цврста врска и набрана граница претставува индикација за активноста на остеокластите. Овој регион создава субостеокластичен дел (Howship-ова лагуна), во кој pH се намалува. Кислородните јони, создадени од јаглородната анхидраза, внатре во остеокластите, предизвикуваат кисело разградување на кристалите од хидроксипатит во субостеокластичниот дел.

Holliday LS et al., (Holliday LS et al., 1997) сметаат дека органскиот матрикс последователно подлегнува на протеолиза преку дејството на катепсин K или

колагеназите или, пак, од обата кои се карактеризираат со способност да го хидролизираат типот I колаген. Овој процес резултира со формирање на ресорптивни јами.

1.4.3. Ресорпција на коска

Ресорпцијата на коската претставува главен индикатор преку кој се следат фазите на пропација или репарација на периапикалните лезии. Нејзиното значење е од посебна важност за дијагностиката, а притоа може да се проследи или како несакан и штетен ефект од одговорот на домаќинот или како позитивна реакција при која коската е отстранета од ризичната област за да се создаде тампон зона каде ќе се ослободи простор за дејствување на конституентите на одбраната (Jian Ma, 2004).



Слика.1.3. Поврзаност на ММП со цитокините при ресорпција на коскено ткиво

Постојат повеќе фактори кои имаат стимулирачки ефект врз ресорпцијата на коскено ткиво. Овие стимулирачки фактори вклучуваат бактериски компоненти, главно липополисахариди (ЛПС), на пример, ендотоксин и кратки синцирес-ти масни киселини ослободени во аликалната зона, како и супстанции добиени од

забот. Одбрамбениот систем на домаќинот ги стимулира ткивно-деструктивните реакции преку ослободување деривати на арахидонската киселина (простагландини и леукотреини) за време на фагоцитозата како и други клеточно медијаторски инфламаторни фактори, цитокините и ММП. *Stashenko P, (Stashenko P, 1990)* укажува на можната улога на имуните цитокини и ММП кај ХАП и АОИ, способни да ја забрзаат коскената ресорпција (сл. 1.3).

Инфламаторните цитокини ја регулираат експресијата на ММП (*O'Boskey Jr & Panagakos FS, 1998*). Активацијата на клетките под дејство на цитокините, исто така може да доведе до зголемено процесирање на ММП, од неактивни зигомени во активни ензими. Цитокините и нивните рецептори имаат улога на супстрати при делувањето на ММП. Проинфламаторниот интерлеукин-1бета (IL-1 β) го раскинуваат и инактивираат ММП-1, -2, -3 и -9 (*Artese L et al., 1991*).

Голем број на мембранско-врзани цитокини, рецептори и адхезивни молекули при дејство на ММП се ослободуваат од површината на клетките. Сепак, во целост не е разјаснето која матрикс металопротеиназа, ММП-1 или ММП-9 ја иницираат остеокластичната коскена ресорпција.

Holliday LS et al., (Holliday LS et al., 1997) сметаат дека ММП-1 од остеокластите е потребна за да се иницира ресорпцијата на коската, додека ММП-9 е инволвиран во регрутацијата на остеокластите на страната на ресорпција. Најновите литературни сознанија ја потврдуваат улогата на ММП-9 при коскеното ремоделирање.

1.5. ГЕНЕТСКИ ПОЛИМОРФИЗАМ

Генетскиот полиморфизам претставува моногенетска појава. Според добро позната дефиниција на Фројд од 1940 година, генетскиот полиморфизам претставува појава, кога во една популација ќе се појават два или повеќе дисконтинуирани генетски облика со толкава зачестеност, така да ни најреткиот од нив нема да може да се одржи само со мутација.

Генетскиот полиморфизам ги претставува природните варијации на секвенците (алелите) кои може да се појават во повеќе од една форма. Овие варијации се среќаваат кај 1% од популацијата и се разгледуваат како биолошки нормални (*Thompson MW et al., 1991*).

Приближно 90% од полиморфизмите на ДНК претставуваат единечни нуклеотидни полиморфизми - ЕНП, (single nucleotide polymorphism-SNP) како резултат на единечната базична размена (Wang Z & Moult J, 2001). За да една варијација во ДНК се означи како ЕНП, мора да се јави во популацијата со зачестеност од барем 1%. ЕНП предизвикуваат промени во секвенцата на ДНК. Во човековиот геном има околу 15 милјони ЕНП од кои 50 000 до 100 000 можат да ја променат функцијата или карактерот на генот. Ретки ЕНП се оние чија фреквенција во популацијата е помала од 5%, а на нив опаѓа 70% од сите ЕНП.

Покрај тоа што поголемиот дел од полиморфизмите на ДНК веројатно функционираат неутрално, одреден дел од нив може да се истакнат со специфични ефекти на алелите врз регулацијата на генската експресија или функцијата на кодираниот протеин, што укажува на постоењето на индивидуални разлики кај различните биолошки особини, како и во чувствителноста кон болеста (Wang Z & Moult J, 2001).

Единечниот нуклеотиден полиморфизам, претставува најчеста варијација на геномската секвенца и се јавува кога единечните базни супституенти, аденин (A), тимин (T), гванин (G) и цитозин (C) ги инволвираат нуклеотидите, градејќи притоа блокови од ДНК кои можат да бидат заменети со други, на пример, аденинот-A е заменет со тиминот-T.

Во рамките на една популација може да се додели минорна алелна фреквенција - најмала алелна фреквенција на одреден локус која е забележана кај одредена популација. Ова е едноставно помалата од двете алелни фреквенции за ЕНП. Постојат вариации помеѓу хуманите популации, поради тоа, алелот за ЕНП кој е чест во една географска или етничка група може да е поредок во друга.

Од неодамна полиморфизмите на ДНК се детектирани во промоторниот регион на неколку ММП (овие промоторни региони ја контролираат транскрипцијата на генот). Овие генетски полиморфизми се од големо значење бидејќи можат да обезбедат навремен третман на пациентите кои се со висок ризик на болеста.

Неодамнешните студии спроведени кај човек укажуваат на податокот дека единечниот нуклеотиден полиморфизам кај генот на ММП-8 има влијание врз експресијата на ММП-8. Познати се неколку полиморфизми на ниво на генот на ММП-8, меѓу кои, одредени имаат и функционална сигнификантност.

Одредени автори го користат поимот "мутација" кога мислат на варијација со ниска алелна фреквенција. Со подобро разбирање на еволуцијата оваа дефиниција повеќе не е во употреба. На пример, базата на податоци (dbSNP) ги

вбројува само оние "ЕНП" кои имаат пониска алелна фреквенција од 1% (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Web/Newsltr/Summer02/snp.html> "SNP Population Grows at NCBI").

1. 5.1. Типови на единечен нуклеотиден полиморфизам

Единечните нуклеотиди можат да бидат заменети (процесот се означува како супституција), отстранети (делеција) или додадени (инсерција) со полинуклеотидна секвенца. Инсерираниот/отстранетиот ЕНП може да ја помести транслационата рамка (Yue P & Moul J, 2006; Väli U et al., 2008; Vignal A et al., 2002).

Единечните нуклеотидни полиморфизми може да бидат во рамки на кодирачките секвенци на гените, некодирачките региони на гените или во интергенските региони помеѓу гените. ЕНП кои се наоѓаат во кодирачката секвенца немора да значи дека ќе ја променат аминокиселинската секвенца на протеинот кој се продуцира, како резултат на дегенеративноста на генетскиот код (повеќе кодони за иста аминокиселина). ЕНП во кој и двете форми водат до иста полипептидна секвенца се означуваат како синоними (понекогаш означени како тивки мутации), но ако се продуцира различна полипептидна секвенца тие се означуваат како несиноними.

Несинонимната промена може да биде или со "изгубена смисла" или со "бесмислица", каде што промената со "изгубената смисла" резултира со друга аминокиселина, додека промената со "бесмислица" резултира со предвремен стоп кодон. ЕНП кои не се во протеинските кодирачки региони сепак може да имаат влијание со појава на последици врз генетското сечење, врз врзувањето на транскрипционите фактори, или врз секвенцата на некодирачката рибонуклеинска киселина (РНК).

Единечниот нуклеотиден полиморфизам, како што кажавме, претставува варијација која се случува на единечен нуклеотид - А, Т, С или G- во геномот (или други зеднички секвенци) и се разликува помеѓу членови на видот (или помеѓу пар хромозоми кај една индивидуа). На пример, два секвенцирани ДНК фрагменти од различни индивидуи, AAGCCTA наспроти AAGCTTA се разликуваат во само еден нуклеотид. Во овој случај велиме дека има два алели и тоа С и Т.

Голем број на ЕНП се нормални варијации во геномот. Други ЕНП се одговорни за појава на одредени заболувања и влијаат врз реакцијата на одредена

личност кон дејството на различните видови на бактерии, вируси, лекови и други супстанции (Marklová E., 2007).

1.5.2. Мутации на гени и генетски полиморфизам

Мутациите и полиморфизмите на гените претставуваат фактори кои имаат придонес во патогенезата на воспалителниот процес. Мутацијата може да ја дефинираме како било каква промена независно од нормалната во секвенцата на ДНК, укажувајќи на фактот дека нормалниот алел преовладува во популацијата и дека мутационите промени доведуваат до создавање на ретки и абнормални форми.

Генетскиот полиморфизам означува варијација во ДНК која е доволно честа за да биде резултат на само новата мутација. Голем број студии се фокусираат врз проучување на мутациите и полиморфизмите кои доведуваат до промени во примарната секвенца на протеините, резултирајќи со појава на функционална варијација (квалитативна промена). Афекцијата на одржување на рамнотежа на нивото на молекулите на месинџер рибонуклеинска киселина (мРНК) на генот во одредена клетка (квантитативни промени во генската експресија) исто така може да претставува сигнификантен извор на варијација (Korstanje R & Paigen B, 2002).

Меѓуетничката и меѓуиндивидуалната варијација во генската експресија исто така треба да се земе предвид. Литературните податоци укажуваат дека количината на копии од соодветниот ген (број на копирани вариации - БКВ) придонесува за нуклеотидната разновидност, како и евентуално за појава на генетски заболувања во многу поголеми размери од ЕНП (Freeman JL et al., 2006).

Генетскиот полиморфизам кој е во корелација со инфламаторните маркери (на пример: тумор некрозен фактор (tumor necrosis factor-TNF), површинските протеини и IL-6), со ангиотензин конвертирачкиот ензим или патогените рецептори (моноцитниот диференцијален површински антиген CD14 и транс-мембранските протеински рецептори) се смета дека е во корелација со инциденцата и појавата на сериозни воспалителни промени. Оваа појава може да има многу големи импликации, како резултат на својата улога во сериозните хронични заболувања (Arcaroli J et al., 2005; Nieters A et al., 2006; Pena AS, 1998).

1.5.3. Гени поврзани со воспалението

Различни видови на гени се инволвирани во воспалителниот процес. Воспалителните стимулативни сигнали испратени кон нуклеусот индуцираат промени во експресијата на голем број гени чии протеински продукти ултимативно го детерминираат исходот на воспалението.

Голем број кластери на гени ги претставуваат соодветните експресиони профили кои се во корелација со почетокот на воспалението и поради тоа се означуваат како воспалително асоцирани гени.

Некои кластери содржат гени кои физиолошки не се експресираат (рани или доцни воспалителни кластери), а други содржат гени кои најчесто се експресираат во раните фази на репарација (воспалителни-постоечки кластери). Гените кои се во асоцијација со воспалителниот процес и полипептидите кои се декодирани од овие гени се инволвирани во иницијацијата или регулацијата на воспалителните процеси (значајни про-инфламаторни IL-1, IL-6, IL-8 и TNF), и делуваат подалеку за време на различните фази од воспалителниот процес (кортикотропин ослободувачки хормон) или може да го модифицираат самиот процес (C-реактивен протеин и протеин C).

Ефективниот имун систем има потерба од брза и адекватна активација на воспалителните механизми, но подеднакво има потреба од брза и ефективна резолуција на воспалителните фази. Репресорите на овој процес, означени како воспалително супресорни гени (пример IL-10, IL-4, IL-13 и цитокини), исто така се индуцирани во секоја фаза од активацијата.

Тие ги претставуваат протеините кои се карактеризираат по нивната способност за индукција, како одговор на патогенот, во покасната активациона фаза на макрофагите. Исто така ја вбројуваат и класата на протеини кои се добиваат со алтернативно делење на најчестите сигнални компоненти.

Покрај достапноста на голем број анти-инфламаторни механизми, постојат многу поголем број на гени кои се инволвирани во хроничните воспалителни заболувања укажувајќи на неконстантноста на целокупниот систем (Phillips K et al., 2004; Rothnagel JA et al., 1990).

Проинфламаторните гени најчесто се избалансирани од страна на гените кои имаат анти-инфламаторен ефект и поради тоа формираат специјални парови, на пример, IL-1 наспроти мрежните рецептори; ксантин оксидазата наспроти супер-

оксидазната дисмутаза; Ca^{2+} зависната PLA_2 наспроти Ca^{2+} независната PLA_2 . Дисрегулацијата во експресијата на про - и анти - инфламаторните гени претставува патоказ во развојот и прогресијата на воспалението.

Воспалението може да биде контролирано преку инхибиција на воспалителниот процес од различни аспекти, на пример, преку намалување на транскрипцијата на воспалителните гени, како и преку зголемување на транскрипцијата на анти-инфламаторните гени (Goodwin JS 1991; Scuderi F et al., 2003).

Голем број на научни студии го потенцираат фактот дека комбинацијата од одреден број на сигнификантни ризични генетски полиморфизми кај некои индивидуи синергистично ја зголемува чувствителноста кон заболувањето.

Одредени автори се обидуваат да ги дефинираат и да ги разјаснат клучните гени чие влијание е неминовно за појавата и прогресијата на хроничниот или акутен воспалителен процес. Од овие причини, научните испитувања истакнуваат дека идентификацијата на генетските фактори како што е полиморфизмот, кој е одговорен за зголемената продукција на ММП, би можел да биде значаен двигател во етаблирањето на ризичниот профил на пациенти со склоност за развој на хроничен периапикален процес или акутна одонтогена инфекција.

1.6. МАТРИКИС МЕТАЛОПРОТЕИНАЗИ И НИВНИТЕ ГЕНЕТСКИ ПОЛИМОРФИЗМИ

Голем број од досегашните сознанија одат во прилог на фактот дека најзначајна улога во настанувањето на хроничните периапикални процеси и акутните одонтогени инфекции како доминантен етиолошки фактор имаат микроорганизмите и нивните продукти, но секако тие не се и единствените чинители кои ја детерминираат етиопатогенезата и прогресијата на воспалителниот деструктивен процес. Сепак, еден од значајните фактори на домаќинот е и фамилијата на ензими означена како матрикс металопроотеинази - ММП, (matrix metalloproteinases - MMP).

ММП се фамилија на структурно слични, но генетски различни ензими кои ги разградуваат компонентите на екстрацелуларниот матрикс и базалната мембрана. ММП имаат значајна улога во голем број на физиолошки процеси, партиципирајќи во процесирањето на одредени супстанции, во ембрионалниот развој, развојот на ткивата, заздравувањето на раната, како и во патолошките процеси, како што се, на пример, туморите, артритисот, хронични периапикални процеси, акутните одонтогени инфекции, фиброзата и голем број други процеси.

Научните податоци говорат дека во здравото ткиво, деградацијата и синтезата на компонентите од екстрацелуларниот матрикс се во постојан баланс. За да се овозможи и одржи оваа состојба, постои ниско базично ниво на експресија на одредени ММП, а притоа ензимската активност е прецизно контролирана. При нормални физиолошки процеси експресијата и активноста на ММП внимателно е регулирана од страна на латентниот продомен и од природните инхибитори, ткивни инхибитори на матрикс металопроотеиназите -ТИМП (tissue inhibitors of matrix metalloproteinases -TIMP). Меѓутоа, губитокот на контролата на активноста на ММП доведува до сериозни консеквенци и аберации во експресијата на ММП, кои се асоцирани со некои заболувања.

Во тој поглед, истржувањата се насочени кон едно посуптилно ниво, кон улогата на генетски детерминираните фактори кои се инволвирани во почетокот, динамиката и текот на патогениот хроничен или акутен воспалителен процес. Имено, мутациите и полиморфизмите во гените за ММП може да се каже дека имаат придонес во патогенезата и прогресијата на воспалителниот деструктивен процес.

1.6.1. Структура на матрикс металопроотеиназите

Ензимот за да се класифицира како матрикс металопроотеиназа, мора неговиот протеин да има барем еден конзервиран продомен и каталитички домен кои ја поврзуваат активната страна на Zn^{2+} . ММП се карактеризираат со флексибилен зглобен регион богат со пролин и хемопексин С-терминален домен, кој функционира на принцип на препознавање на супстратот (со исклучок на ММП-7, -23, -26) (Arakaki PA et al., 2009).

Некои екстра домени или кратки инсерции може да се најдат прикачени на вообичаените структури во неколку подгрупи на ММП (Woessner JF, 1998; Baker EA et al., 2000), како на пример, трансмембранските и цитозолските домени, што е случај кај најголемиот број на мембрански тип на ММП, како и желатин-врзувачките домени, кои покажуваат слични особености со фибронектинот кај ММП-2 и ММП-9 (Ra HJ & Parks WC, 2007).

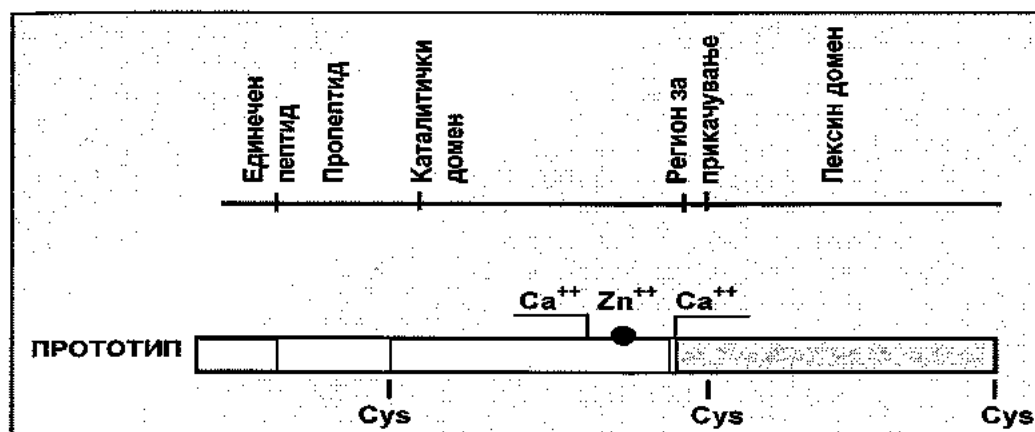
ММП-1, како и останатите членови на фамилијата на ММП, вклучувајќи ги и интерстицијалните колагенази, имаат многу слична структура на доменот, (Birkedal-Hansen H, 1993), изградени од единечен пептид, проензимски домен, каталитички домен, краток-зглобен регион и С-терминален домен кој е сличен на хемопексинот (Li J et al., 1995; Faber H et al., 1995), оригинално идентификуван како хемо-врзувачки протеин (Jenne D & Stanley KK, 1987).

Сите членови на ММП генска фамилија, со исклучок на матрилизинот, содржат сличен домен. Исто така, сите ММП на каталитичката страна содржат Zn^{2+} јон (Zhang YN et al., 1997), а за нивна стабилност и активност потребен е Ca^{2+} јон. Чистиот Zn^{2+} јон на каталитичката страна е келиран од страна на имидазол нитрогените од три хистидински резидуи заедно со сулфорот од слободниот цистеин, а лоцирани во проензимскиот домен (Sanchez-Lopez R et al., 1993).

Амино киселинската секвенца која содржи критични хистидини, H_{ex}GH_{xx}G_{xx}H не е ограничена само на интерстицијалните колагенази, туку е присутна и во високо конзервираните форми кај сите ММП (Sang QA & Douglas DA, 1996). Исто така, се верува дека аминокиселинската секвенца која ја опкружува цистеинската резидуа е потребна за латентноста (PRCGVPD) и е со висока конзервација кај сите типови на ММП (Sang QA & Douglas DA, 1996).

Вториот јон на цинк Zn^{2+} кој е присутен во ензимот не е инволвиран во каталитичката активност на ензимот, туку има структурна улога во служба на стабилизација на ензимот (Bode W, 1994).

Во активноста на ММП-1 учествува и Ca^{2+} (сл. 1.4), а најновите студии укажуваат на податокот дека, како и Zn^{2+} јонот и Ca^{2+} учествува во стабилизацијата на структурата на ензимот, како во каталитичкиот така и во С-терминалниот хемопексин домен (Li J et al., 1995; Gomis-Ruth FX et al., 1996).



Слика 1.4. Приказ од прототип на ММП. (Birkedal-Hansen H et al., 1993)

Презентираната структура е составена од три битни домени: 1) аминокислотен каталитички домен; 2) врзувачки регион, богат со пролин, во резидуите на позиција 261-277, кои се со висока експонираност кон надворешната околина; 3) хемопексин домен, кој првпат е откриен како антипаралелни бета-аркадни субдомени, подредени во структура која има изглед на пропелер со четири перки, а истата е стабилизирана од страна на еден од дисулфидните мостови во ММП-1, кои се лоцирани помеѓу Cys_{278} , кој се наоѓа на самиот почеток од доменот и Cys_{466} , во С-терминалниот крај од самиот протеин.

ММП-8 ги има сите модули кои претставуваат обележје на ММП, а тоа се проензимскиот домен, по кој следи каталитичкиот домен, потоа врзувачкиот домен и на крај карактеристичниот С-терминален хемопексински домен. Каталитичката страна и цистеинските откочувачки региони се одликуваат со висока хомологност на аналогните региони кај сите ММП, а односот помеѓу структурата и активноста е сличен како и кај останатите интерстицијални колагенази.

Поради едноставаната 3-Д (тридимензионална) структура (Massova I et al., 1998) ММП имаат слична генетска структура, која произлегува од дупликацијата на генот од кој потекнуваат. Најмалку осум познати гени на ММП кај човекот (ММП-1, -3, -7, -8, -10, -12, -13, -20) се групирани на 11-иот хромозом во регионот 11q21-23. Другите гени на ММП се наоѓаат помеѓу 1, 8, 12, 14, 16, 20 и 22 ген (Shapiro SD, 1998).

1.6.2. Колагенази (ММП-1, ММП-8, ММП-13) и нивниот генетски полиморфизам

Субфамилијата на хуманите интестинални колагенази опфаќа три члена: ММП-1 (фибробластен тип на колагеназа, колагеназа-1), ММП-8 (неутрофилна колагеназа, колагеназа-2) и ММП-13 (колагеназа-3). Покрај овие хумани колагенази, колагеназата ММП-18 е откриена и клонирана само за *Xenopus laevis* (Stolow MA et al., 1996).

Во табелата 1.2 е даден приказ на ММП кои се продуцираат од страна на структурни и воспалителни клетки, базално или при разни стимулси.

Колагеназите го раскинуваат природниот фибриларен колаген тип I-III за да генерираат 3/4 и 1/4 фрагменти. Раскинувањето се одвива на специфичната страна помеѓу глицин-изолеуцин (Gly-Ile) од $\alpha 1$ синцирот и глицин-леуцин (Gly-Leu) резидуите од $\alpha 2$ синцирот формирајќи фрагменти со градба на троен хеликс, кои на телесна температура денатурираат во случајно намотан желатин. Тој, пак, понатому може да деградира од други ММП и протеинази (Birkedal-Hansen H et al., 1977).

Колагеназите се разликуваат по нивната специфичност на супстратот и функционалната улога. ММП-1 првенствено го деградира колагенот III, ММП-8 го деградира типот I колаген, а ММП-13 колагенот тип II.

Колагеназата 1 (ММП-1) претставува најчесто експресирана колагеназа од субфамилијата на ММП која ги раскинува стромалните колагени. Исто така се нарекува и колагеназа-1 или пептидаза M10.001 според класификацијата на МЕРОПС. ММП-1 е од голема важност и има значајна улога во деградацијата на колагенот. ММП-1 протеиназата од фамилијата на ММП претставува главна компонента на ЕЦМ, а притоа учествува и во деградација и на другите фибриларни колагени од типот II, III, V, IX (Ziöber BL et al., 2001; Kerkelä E et al., 2003) и типот X колаген при неутрален рН (Vincenti PM & Brinckerhoff CE., 2002). Поточно ензимот го раскинува тројниот хеликс на типовите I, II и III колаген, исклучиво на позицијата на Gly₇₇₅-Leu/Ileu₇₇₆ од пептидната врска, на растојание многу блиску до три четвртини од аминокислотниот крај на супстратот на молекулот.

Бидејќи овие типови колаген се најбогати протеини во човековото тело, ММП-1 има критична улога при моделирањето и ремоделирањето на ЕЦМ (Vincenti PM & Brinckerhoff CE., 2002).

Табела 1.2. Приказ на ММП кои се продуцираат од страна на структурните и инфламаторните клетки, базално или при разни стимулси (Lagente V & Boichot E, 2008).

МАКРО-ФАГИ	МОНО-ЦИТИ	НЕУТРО-ФИЛИ	ЕОЗИНО-ФИЛИ	МАСТО-ЦИТИ	ЕПИТЕЛ-НИ КЛЕТКИ	МАЗНИ МУСКУЛНИ КЛЕТКИ	ФИБРО-БЛАСТИ
							
ММП 1 (Wong S et al., 2005; Campbell E et al., 1987)	ММП 1 (Wong S et al., 2005)	ММП 8 (Hasty KA et al., 1997a)	ММП 9 (Schwingshackl A et al., 1999)	ММП 1 (Jeong WI et al., 2006)	ММП 2 (Yao PM et al., 1996)	ММП 2 (Huhtala P et al., 1990)	ММП 1 (Fisher GJ et al., 1996)
ММП 2 (Wong S et al., 2005)	ММП 2 (Wong S et al., 2005)	ММП 9 (Fisher GJ et al., 1996)		ММП 9 (Kabe N et al., 1999)	ММП 7 (Halpert I et al., 1996)	ММП 8 (Herman MP et al., 2001)	ММП 2 (Yao PM et al., 1996)
ММП 3 (Campbell E et al., 1987; Welgus HG et al., 2005)	ММП 8 (Wong S et al., 2005)			ММП 3 (Jeong WI et al., 2006)	ММП 8 (Herman MP et al., 2001)		ММП 3 (Fisher GJ et al., 1996)
ММП 7 (Wong S et al., 2005; Halpert I et al., 1996)	ММП 9 (Wong S et al., 2005; Kabe N et al., 1999)			ММП 9 (Schwingshackl A et al., 1999)	ММП 9 (Yao PM et al., 1996)		ММП 9 (Fisher GJ et al., 1996)
ММП 8 (Wong S et al., 2005; Pnkk K et al., 2001; Herman MP et al., 2001)	ММП 8 (Wong S et al., 2005; Pnkk K et al., 2001; Herman MP et al., 2001)				ММП 14 (Kabe N et al., 1999)		ММП 14 (Kabe N et al., 1999)
ММП 9 (Wong S et al., 2005; Gibbs DF et al., 2005)	ММП 12 (Wong S et al., 2005)						TIMP 1 (Shapiro SD et al., 1992; Howard EW et al., Halpert I et al., 1996)
ММП 10 (Wong S et al., 2005)	ММП 13 (Wong S et al., 2005)						TIMP 2 (Shapiro SD et al., 1992; D'Ortho MP et al., 1994)
ММП 12 (Wong S et al., 2005)	ММП 14 (Wong S et al., 2005)						
ММП 13 (Wong S et al., 2005)	TIMP 1 (Wong S et al., 2005; Kanabe N et al., 1999)						
ММП 14 (Wong S et al., 2005)	TIMP 2 (Wong S et al., 2005)						
TIMP 1 (Wong S et al., 2005; Campbell E et al., 1987; Shapiro SD et al., 2005)	TIMP 3 (Wong S et al., 2005)						
TIMP 2 (Wong S et al., 2005; Shapiro SD et al., 1992)							
TIMP 3 (Wong S et al., 2005)							
TIMP 4 (Wong S et al., 2005)							

ММП-1 претставува прва матрикс металопротеиназа која е откриена и тоа во метаморфизираниот полноглавец (Gross J & Lapière CM, 1962). *In vitro* ММП-1 се експресира во голем број клетки, на пример, кај фибробластите, ендотелните клетки, макрофагите, моноцитите, хепатоцитите, хондроцитите, остеобластите, различните клетки на туморите и миграционите епидермални кератоци, а исто така нејзината експресија може да биде предизвикана кај одредени воспалителни заболувања и кај карциномот (Birkedal-Hansen H et al., 1993; Meikle MC et al., 1992).

Генот на ММП-1 е локализиран на хромозомот 11q22 и се експресира во голем број на различни типови здрави клетки, како на пример, стромалните фибробласти, макрофагите, ендотелните и епителните клетки, како и во различните воспалителни и туморски клетки (Brinckerhoff CE & Matrisian LM, 2002).

При физиолошките процеси генот на ММП-1 постојано се експресира во многу ниски нивоа, но неговата експресија евидентно може да се зголеми при патолошките состојби. Зголемената експресија на ММП-1 е тесно поврзана со оскудната прогноза кај некои типови на карцином, како што е колоректалниот карцином (Woo JH et al., 2007), карциномот на мочниот меур (Tasci AI, 2008a), оралниот карцином (Nishizawa R et al., 2007).

Во табелата 1.3. се прикажани полиморфизмите на генот на ММП-1 со позиција -1607 кои се во асоцијација со одредени болести (Arakaki PA et al., 2009).

Нивото на експресија на ММП-1 може да биде под влијание на различни единечни нуклеотидни полиморфизми во промоторниот регион. Инсерцијата или отстранувањето на гванинот од позицијата -1607 се идентификува кај човекот во промоторот на генот на ММП-1 и креираат два вида различни алела: едниот има единечен гванин (1G), а другиот има два гванина (2G) (Rutter JL et al., 1998).

Табела 1.3. Показ на полиморфизмите на генот на ММП-1 на позиција -1607

Полиморфизам и генски алели	Дијагноза	Број на тестирани/контролна група	Литература
2G	Периимплантитис	44/60 (Бразил)	Leite MF et al., 2008
2G	Хроничен периодонтитис	102/98 (Турција)	Pirhan D et al., 2008
2G	Мозочен асторцитом	221/266 (Кина)	Lu Z et al., 2007
2G	Периферно артериско заболување	151/206 (Италија)	Flex A et al., 2007

Влијание на полиморфизмите на гените за матрикс металопротеиназите врз прогресијата на клиничката слика кај хронични периапикални процеси и акутните одонтогени инфекции

2G	Карцином на мочен меур	102/94 (Турција)	Tasci AI et al., 2008
2G	Колоректален карцином	185/304 (Кореа)	Woo M et al., 2007
2G	Орален карцином	170/164 (Јапонија)	Nishizawa R, 2007
2G	Орален карцином	96/120 (Кина)	Cao ZG & Li C, 2006
2G	Колоректален карцином	201 (Франција)	Zinzindohou F et al., 2005
2G	Глиобластом	81/57 (Америка)	McCready J et al., 2005
2G	Овариален карцином	163 (Јапонија)	Kanamori Y et al., 1999
2G/2G	Назофарингеален карцином	174/171 (Тунис)	Nasr HB et al., 2007
1G	Дегенеративно заболување на 'рбетниот столб	378/122 (Кина)	Song YQ et al., 2008
1G	Ендобрахијална туберкулоза	38 од 101 (Таиван)	Kuo HP et al., 2008
1G	Орален карцином	156/141 (Грција и Германија)	Vairaktaris E et al., 2007
1G	Склерозирачки холецистит	165/346 (Норвешка)	Viencke MP & Brinckerhoff CE, 2002
2G 2G A/A (ММП-1, ММП-3)	Карцином на јазик	69/91 (Јапонија)	Shimizu Y et al., 2008
2G 1G 6A/5A (ММП-1, ММП-3)	Коронарна артериска болест	1967/1122 (Америка)	Horne BD et al., 2008
2G 2G 6A/6A (ММП-1, ММП-3)	Колоректален карцином	302/568 (Франција)	Lievre A et al., 2006
1G 6A-82A-1082G (ММП-1, ММП-3, ММП-12)	Карцином на јазик	2014/1323 (Америка)	Su L et al., 2006

Испитувањата на промоторот потврдуваат дека ова претставува функционален полиморфизам. Двата гванина заедно со соседниот аденозин ја креираат

страната на врзување (5D-GGA-3-D) за Ets фамилијата на транскрипционите фактори, водејќи притоа кон повисока експресија на ММП-1.

Потврдено е дека 2G алелот може да врзува солидно поголема количина на рекомбинантен Ets-1 транскрипционен фактор и има сигнификантно повисоки транскрипциони активности во однос на 1G алелот кој е присутен во нормалните фибробласти и клетките на мелаономот (Rutter JL et al., 1998).

Прекумерната експресија на ММП-1 е присутна при инвазијата на туморите и метастазите (Rutter JL et al., 1998). Овие откритија укажуваат на податокот дека пациентите кои го носат 2G алелот имаат предиспозиција кон развој на неколку типови на карцином и/или кон нивна рапидна прогресија (Nishizawa R et al., 2007), потоа кон појавата на артритисот (Scherer S et al., 2010), артеросклерозата, перодонтитисот (De Souza AP et al., 2003), неуспешната остеоинтеграција на имплантот (Leite MF et al., 2008), коронарната срцева болест кај пациентите со diabetes mellitus (Drzewoski J et al., 2008), како и голем број на други патолошки состојби.

2G алелот кај полиморфизмот -1607 на ММП-1 потенцијално го зголемува нивото на експресија на протеинот. Овој механизам обезбедува молекуларна основа за многу поинтензивна дегенерација на ЕЦМ, што е од особена важност при ткивното ремоделирање и обновување за време на развојот, како и за време на воспалението.

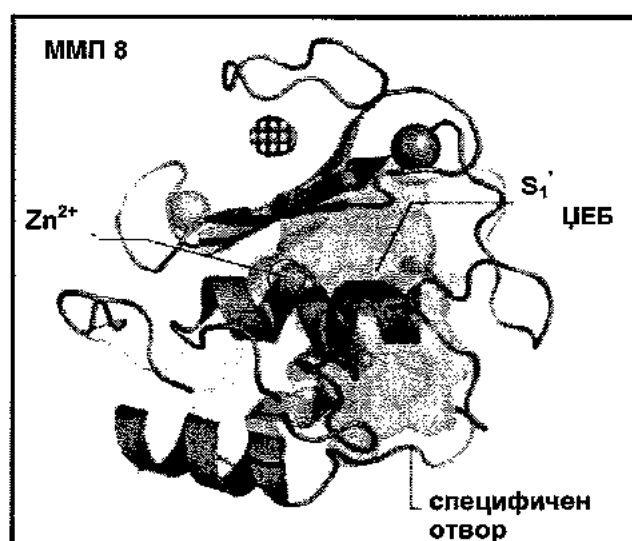
Полиморфизмите, како што е на пример, инсерцијата на гванин на позицијата -1607 во промоторниот регион кај ММП-1 или супституцијата на C-1562T кај генот на ММП-9, покажуваат дека ја зголемуваа транскрипционата активност на овие ММП (Korytina GF et al., 2008).

Покрај фактот дека -1607 е најважен полиморфизам на ММП-1, сепак опишани се и другите полиморфични страни на ММП-1. Полиморфизмот на позицијата -519 е составен од гванин заменет со аденине (Jurajda M et al., 2002). Авторите утврдиле поврзаност помеѓу овие два типа на полиморфизам: А алелот на позицијата -519 многу почесто се наоѓа со 2G алелот на позицијата -1607.

Нивоата на експресијата на ММП-1 може да бидат под влијание на генетските варијации, а притоа клетките кои го експресираат овој полиморфизам може да доведат до појава на механизам кој ќе предизвика многу поагресивна деградација на матриксот. Притоа, генот може да има круцијална улога при посредување на деградацијата на сврзното ткиво во патогенезата на одредени заболувања, на пример, колоректален карцином (Hinoda Y et al., 2002), каротидни артериски

заболувања (Ghilardi G et al., 2002), акутна миокардијална инфекција (Terashima M et al., 1999), оваријален карцином (Kanamori Y et al., 1999).

ММП-8 првпат е клонирана од мРНК по пат на екстракција од периферните леукоцити кај пациент со хронична гранулоцитна леукемија (Hasty KA et al., 1987a; Hasty KA et al., 1987). Оваа колагеназа примарно се синтетизира и складира во интрацелуларните гранули на ПМН од коскената срцевина. ММП-8 е прочистен од овие гранули, од кои ПМН го секретираат ензимот, означен како неутрофилен или полиморфонуклеарен тип ММП-8. Имено, овој ензим има клучна улога во деструкцијата на ткивото за време на воспалителните процеси (Hasty KA et al., 1987a; Hasty KA et al., 1987). Во ПМН, ММП-8 е складиран во специфичните гранули во латентна форма, за притоа да биде ослободен со дегранулацијата настаната како резултат на активираните ПМН од страна на локалните или бактериските протеази. Мезенхималниот тип ММП-8, кој се разликува од неутрофилната ММП-8, според големината на протеинот го експресираат хуманите хондроците, реуматоидните синовијални фибробласти и ендотелните клетки (Ding Y et al., 1997). На сликата 1.5 е даден приказ на каталитичкиот домен на ММП-8.

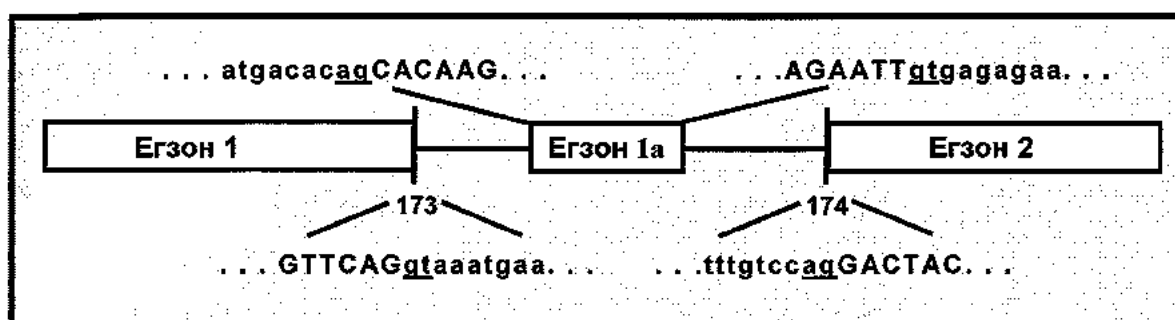


Слика 1.5. Матрикс металопроотеиназа-8 (Overall M & Kleifeld O, 2006)

ММП-8 исто така се продуцира и во кератоцитите, вклучувајќи ги сквамозните клетки на оралниот карцином и плазма клетките. ММП-8 е детектиран и во гингивата, саливата, денталниот плак, деминерализираните дентински кариозни лезии и периапикалното ткиво кај хроничните периапикални процеси (Cole AA et

al., 1996; Palosaari H et al., 2000; Kiili M et al., 2002; Kim MH et al., 2001; Wahlgren J, 2003). ММП-8 ги деградира мономерните типови I и II колаген (Moilanen M et al., 2003).

ММП-8 во инфламаторната лезија на пулпата главно потекнува од ПМН. ПМН се клетки кои го формираат апцесот на пулпата и поради тоа активираниот ММП-8 може да учествува во деструкцијата на ткивото со некроза на пулпата и апцес. *Bergenholtz G*, (*Bergenholtz G*, 2002) во своите истражувања го нагласува фактот дека ПМН се мигрирачки и регулирачки клетки способни да пенетрираат во дентинските тубули, за чија активност им е потребен и ММП-8.



Слика 1.6. Геномска организација на генот на ММП-8 кој кодира три алтернативни, споени едни со други транскрипции. Шематски се прикажани модели споени едни со други кои ги генерираат ММП-8 заедно со инсерционата транскрипција 67bp. Отворените кутии ги претставуваат егзоните, а линиите ги претставуваат интроните. Броевите ги означуваат позициите во кДНК на ММП-8. Подвлечени се оние делови од донорот и акцепторот кои се совпаѓаат (*Wang H et al.*, 2004).

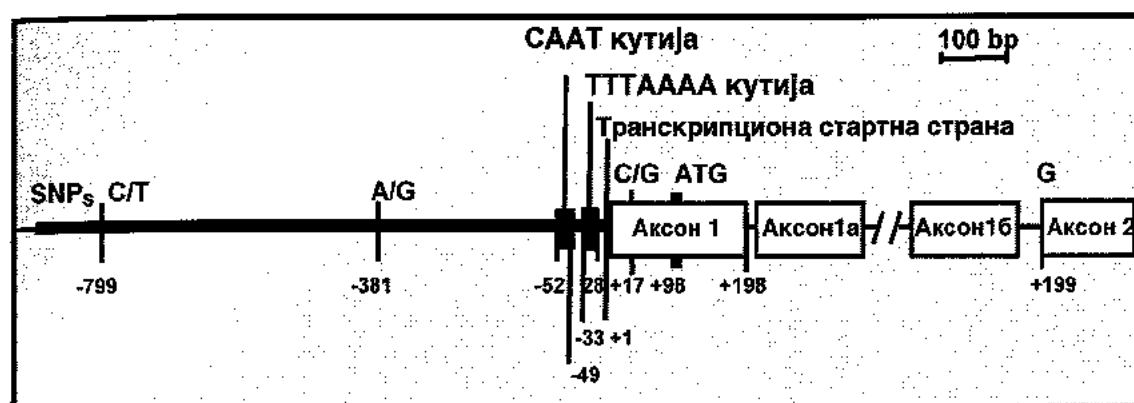
Неодамнешните студии спроведени кај луѓето укажуваат на податокот дека единечниот нуклеотиден полиморфизам (ЕНП) кај генот на ММП-8 има влијание врз експресијата на ММП-8, (сл. 1.6) (*Wang H et al.*, 2004).

In vitro, ММП-8 се ослободува од леукоцитите за време на хемостатската стимулација, а *in vivo* се ослободува како одговор на локалната воспалителна состојба (*Tschesche H*, 1995).

Познати се неколку полиморфизми на ниво на генот на ММП-8, меѓу кои, одредени имаат и функционална сигнификантност (-799 C/T, -381A/G и +17C/G), а се лоцирани во промоторот на генот притоа модифицирајќи ја неговата активност, како и транскрипционото ниво на ММП-8 генот.

Промоторниот фрагмент на ММП-8 генот содржи 3 минорни алели (-99T/-381G /+17 G) во клетките кои ендогено ја експресираат ММП-8, доведувајќи

притоа до 2-3 пати поголем раст на транскрипционото ниво на ММП-8 генот во однос на промоторниот фрагмент кој содржи мајорни алели (-99C/381A/+17C), (слика 1.7) (Wang H et al., 2004).



Слика 1.7. Геномска структура на промоторот и на соседната секвенца на генот на ММП-8 кај човекот. Промоторот на генот е опишан како тенка линија, егзонот како иштрафирана кутија, а интроните како тенки линии. На сликата 1.7 се прикажани ЕНП C/T (-799), A/G (-381) и C/G (+17), како и СААТ кутијата (од -49 до -52) и ТАТА кутијата (TTAAAA) (од -33 до -28) и транскрипционите стартни страни. Транслационата стартна страна е назначена во егзонот 1. Помеѓу егзонот 1 (завршува со ATG 198) и 2 (почнува од G 199) постојат два различни потенцијални егзони од 91bp (блиску до егзонот 2) и 67 bp (непосредно до егзонот 1) помеѓу интронот 1 (Wang H et al., 2004).

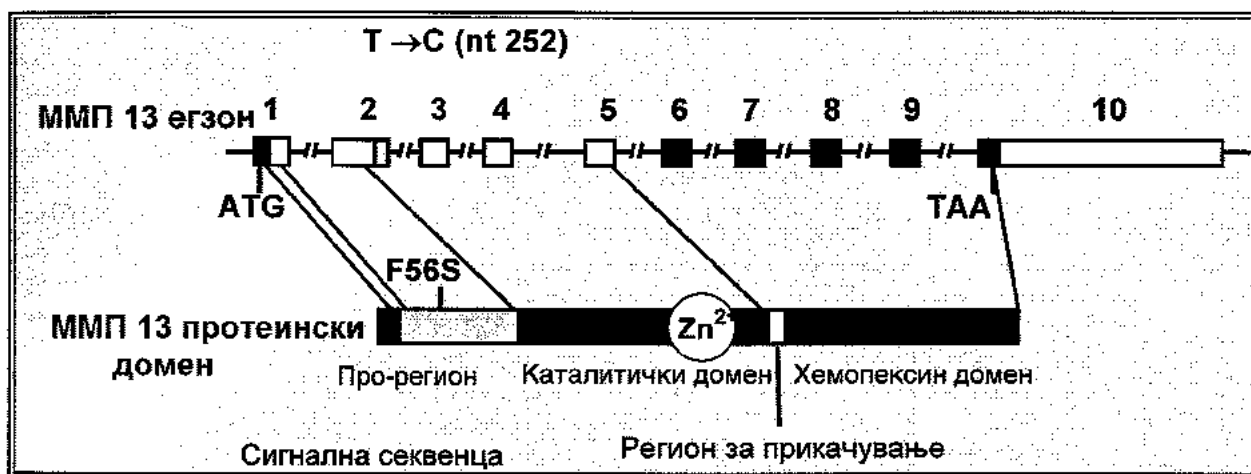
Експресијата на ММП-13 е детектирана кај коскеното ткиво за време на неговиот развој, во остеоартритичната рскавица и реуматоидната синовијална мембрана, кај периодонтитисот и при состојби на малигнитет како, на пример, меланомот и карцином на сквамозните клетки (Mitchell PG et al., 1996). ММП-13 се карактеризира со способност да влијае врз миграцијата на епителните клетки и врз инвазијата на гранулационото ткиво. ММП-13 десет пати поефикасно го деградира типот II колаген од типот I и III и единствено помеѓу интерстицијалните колагенази е најефикасна во раскинувањето на желатинот (Stickens D et al., 2004). Физиолошката експресија на ММП-13 е лимитирана на развојот на коската, зараснувањето на ранта и забите.

Ткивата во кои е изразена физиолошката ММП-13 експресија се: феталните мембрани (Fortunato SJ et al., 2003), феталната коска и страните на постнаталната ендохондрална осификација (Johansson N et al., 2000) и гингивалната рана која заздравува (Tervahartiala T et al., 2000). Од ова произлегува дека, повредената

гингива и коскено ткиво за време на интрамембранската осификација, се местата каде MMP-13 експресијата е детектирана во фибробластните клетки.

Промоторниот ген на MMP-13 кај човекот содржи страна на препознавање за TATA и CCAAT на ДНК-врзувачки протеин, AP-1 формата, PEA-3 консензус секвенцата, остеобластниот специфичен елемент (OSC-2), TGF-инхибиторниот елемент (TIE) и трите форми на елементи на хормоналниот одговор (Pendas AM et al., 1997). Кооперацијата на SMAD протеините со функционалната AP-1 страна, заедно со PEA-3, е есенцијална и за основната и за индуцирачката генска транскрипција, на пример, од страна на TGF кај хондроцитите (Tardif G et al., 2001). MMP-13 има AG-богати елементи (AGRE) во проксималниот промоторен регион, кои се одликуваат со способност да ја репресираат базалната транскрипција на генот (Benderdour M et al., 2002). КДНК на MMP-13 кодира 471 аминокиселински полипептиди. MMP-13 има три N-гликозински страни со активен протеински молекул (Freije JM et al., 1994).

Активната MMP-13 има големина од 50-55 kDa, но понатаму се раскинува во активна форма од 48 kDa, (сл. 1.8) (Knäuper V et al., 1996).



Слика 1.8. Шематски приказ на геномската структура на генот на MMP-13 со илустрација на локацијата на мутацијата кај спондилоепиметафизичка дисплазија, Мисури тип (SEMD_{mo}), како и приказ на протеинскиот домен (Kennedy A et al., 2005).

Кодирачкиот регион 1,413 bp на MMP-13 го дава 417 аминокиселински препроензим. Единечната секвенца е составена од 19 аминокиселини кои се отстрануваат за време на процесирањето и притоа не се присутни во секретираниот проензим. (Freije JM et al., 1994; Knäuper V et al., 1996). Про- и катали-

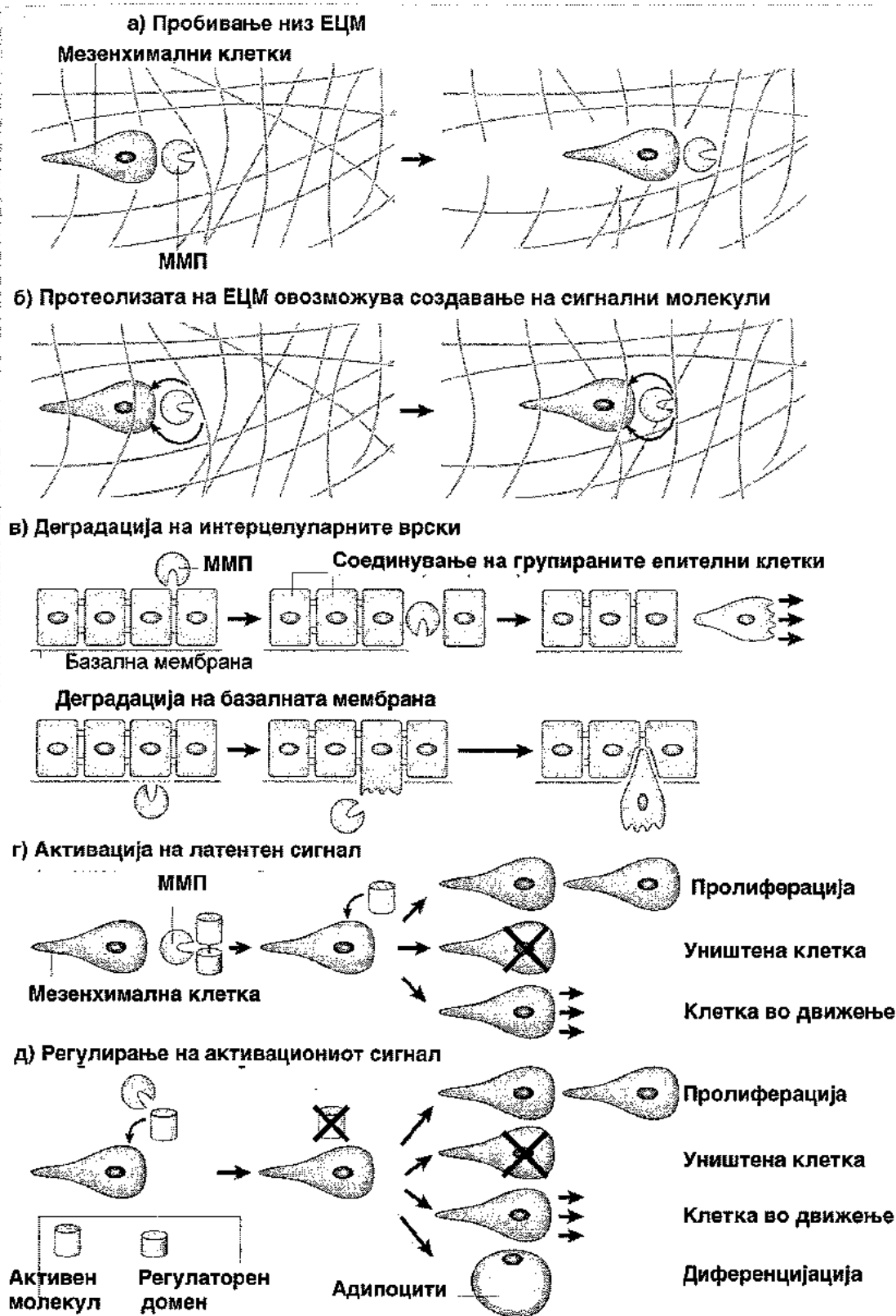
тичките домени ги сочинуваат 84 и 166 аминокиселина. Каталитичкиот домен има цинк-врзувачки мотив (HEXXHXXGXXH) кои содржи 3 хистидински резидуи кои го врзуваат каталитичкиот цинков јон на активната страна (Gomis-Ruth FX et al., 1996). Прорегионот содржи цистеинска резидуа (Cys77) кои го врзува овој каталитички цинков јон со цел да ја одржи латентноста на проММП-13. Единаесетиот аминокиселин пролин богат врзувачки пептид (зглобен домен) го поврзува каталитичкиот домен со хемопексин доменот, кој е изграден од 191 аминокиселина. Прикажана е позицијата на Т и С транзицијата во нуклеотидот 252 од егзонот 2, детектиран кај спондилоепиметафизичка дисплазија и потврдено е дека резултира со F56S мутација во прорегионот. Засенчениот дел или делот за заштрафување кај секој протеински домен укажува на неговото потекло од егзонот.

Со цел да се разјаснат придонесите од генетскиот полиморфизам во развојот и прогнозата на заболувањето, од големо значење е да се изврши анализа на генотипска дистрибуција и фреквенција на алелите помеѓу различните раси, а со тоа би се овозможило да се потврди позитивната корелација утврдена помеѓу различните популации.

1.6. 3. Биолошка и патолошка улога на ММП

Во минатото се сметало дека ММП функционираат воглавно како ензими кои ги деградираат структурните компоненти на ЕЦМ. Денес е добро познато дека, протеолизата на ММП може да доведе до создавање на простор за миграција на клетките, исто така може да доведе до создавање на супстрат-раскинувачки фрагменти со своја независна биолошка активност, потоа може да учествува во регулацијата на ткивната структура преку ефектите кои ги има врз ЕЦМ и интерклеточните врски, а може и да ја активира, деактивира или модифицира активноста на сигналните молекули, истовремено влијаејќи директно или индиректно (сл.1.9) (Sternlicht MD & Werb Z, 2001).

Бидејќи клетките имаат рецептори (на пример, интегрини) за структурните компоненти на ЕЦМ, ММП може да влијаат врз клеточните функции, преку регулација на протеините од ЕЦМ со кои клетките се во интеракција (Streuli C, 1999). Во голем број на случаи, отцепувањето на ММП од супстратите на ЕЦМ доведува до создавање на фрагменти кои имаат различни биолошки активности во однос на нивните прекурсори (Page-McCaw A et al., 2007).



Слика 1.9. Можни модели на активност на ММП (влијание на ММП врз клеточното однесување) (Sternlicht MD & Werb Z, 2001).

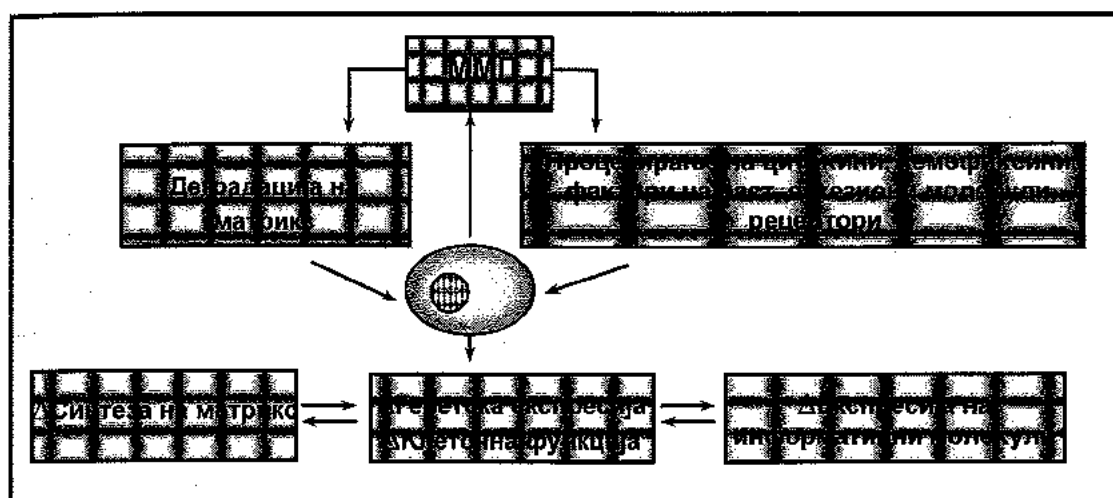
а) ММП може да ги раскинат компонентите на ЕЦМ, зголемувајќи го просторот за клетката или за нејзино пробивање низ ткивото. б) Протеолизата на ММП доведува до создавање на продукти од раскинувањето, кои потоа делуваат на автокрин или паракрин начин. в) ММП директно влијаат врз архитектурата на епителното ткиво преку раскинување на меѓуклеточните врски или на базалната мембрана. г) ММП ја активираат или модифицираат работата на латентните сигнални молекули, резултирајќи со спротивни последици врз клетката. д) ММП ја активираат или модифицираат работата на активните сигнални молекули, резултирајќи со промени во пролиферацијата, во изумирањето на клетката, во диференцијацијата или во клеточната подвижност.

ММП имаат значајна улога во различните физиолошки и патолошки процеси, регулирајќи ги различните клеточни однесувања, како на пример, ангионезата, клеточната пролиферација, апоптозата, алтерација на клетките, ефектите врз имуниот систем и одбрана на организмот, како и модулација на биоактивноста на хемокините. Всушност, ММП се експресираат како одговор на специфичните стимулси од страна на локалните клетки од сврзното ткиво, како и од клеточните типови кои вршат инвазија врз ткивата за време на ремоделирање (Birkedal-Hansen H et al., 1993).

Ембриолошкиот раст и морфогенезата на ткивата се процеси од фундаментално значење кои имаат потреба од пробивање на бариерите од ЕЦМ со цел да се овозможи клеточна миграција и ремоделирање на микрооколината од матриксот. Способноста на ММП да ги деградираат структурните компоненти на ЕЦМ и базалната мембра ја подржува нивната директна улога во овие процеси (Vu TH et al., 2000).

На сликата 1.10 се прикажани сигнално динамичните промени кај ММП во екстраклеточната средина. Како дополнување на нивната улога при деградација на екстрацелуларниот матрикс, ММП се одликуваат со способност за раскинување на сигналните молекули, како на пример, цитокините, хемокините, факторите на раст, адхезионите молекули и рецепторите. Овие промени во активацијата и инактивацијата на бројните сигнални патишта, резултираат со изменети клеточни активности, како на пример, промените (Δ) во генската експресија. Во спротивно ова може да резултира со алтерација на експресијата на информаторните молекули како што се на пример, цитокините, факторите на раст и рецепторите. На пример, преку раскинувањето и инактивацијата на сврзоткивниот фактор на раст, ММП ја регулираат синтезата на матриксот. Ова резултира со појава на ист ткивен фенотип како и при активноста која ја имаат ММП за време на дегра-

дацијата на матриксот, но се случува преку друг спроводен пат. Функционирајќи како сигнални молекули, ММП ги контролираат информативните спроводни патишта и со тоа ја регулираат хомеостазата на екстраклеточната околина на клетката.



Слика 1.10. Сигнално-динамични промени кај ММП во екстрацелочната средина
(Curry TE & Osteen KG. 2003)

Најголем број од гените на ММП се експресираат во големи количини во бројни репродуктивни процеси (*Curry TE & Osteen KG, 2003*). Поради тоа, ММП -7, -3, -10 и -2 постојано се продуцираат за време на најактивните фази на муринскиот естонски циклус. Овие ММП, како и ММП-8 и ММП-13, исто така се регулирани за време постпартум утеринската инволуација (*Balbin M et al., 2003*). Експресионите видови на неколку видови на гени на ММП се анализирани за време на гонодропната-индуцирана овулација со цел да се идентификуваат тие членови кои се одговорни за деградацијата на фоликуларниот сид (*Rudolph-Owen LA et al., 1997*). Овие откритија укажуваат на фактот дека функционалната редукција на ММП, или помеѓу овие ензими и компоненти на плазминоген системот, може да го компензира губитокот на специфична ММП (*Solberg H et al., 2003*).

Дефицитот на ММП-9 кај микроорганизмите е испитуван преку бројни студии во кои е демонстрирана *in vivo* улогата на овие протеази во голем број развојни процеси. Поради тоа, кај микроорганизмите е прикажан дефицитот во формирањето на ендохондријалната коска, придружен со одложена апоптоза на хипертрофните хондроцити во развојните плочки на скелетот, како и дефицитарната васкуларизација (Solberg H et al., 2003). Таргетираната инаktivација на

MT1-ММП генот кај микроорганизмите исто така предизвикува неколку дефекти на скелетот и сврзното ткиво, како и пореметување на ангиогенезата водат кон прематурна смрт (Zucker S et al., 2000).

Улогата на ММП во ткивното ремоделирање е демонстрирана во голем број студии. ММП-2 и ММП-3 ја регулираат мамиларната жлездена бранхиогена морфогенеза за време на пубертетот (Wiseman BS et al., 2003).

ММП се инволвирани во зараснувањето на раната, во ткивно-ремоделирачките процеси кои ја вклучуваат миграцијата на кератоцитите на местото на раната со цел да се реепителизира оштетената површина. Неколку студии поврзани со клеточните клутури покажуваат дека протеолитичката активност на ММП-1 е потребна за кератоцитната миграција (Pilcher BK et al., 1997). Улогата на ММП *in vivo* во овие процеси е испитувана преку дефицитот на ММП-3 кај микроорганизмите, прикажувајќи ја ослабнатата градба на раната, како и преку студии на ММП-1 кај резистентните микроорганизми кај кои исто така е прикажано одложено зараснување на раната (Beare AH et al., 2003).

Комплетната инхибиција на репаративниот процес доведува до блокирање на плазминогенските и протеолитичките активности на ММП укажувајќи на функционалните разлики помеѓу класите на матрикс-деградирачките протеази.

Неколку студии изработени во последниве години укажуваат на податокот дека различни ММП делуваат врз протеините надвор од матриксот (Meng N et al., 2008). Поради тоа, ММП не треба да се разгледуваат само како протеинази кои го катализираат матриксот, туку многу повеќе, како екстрацелуларни процесирачки ензими кои се инволвирани во регулирањето на меѓуклеточните реакции и сигналирачките реакции меѓу клетките и матриксот, т.е. типична нивна функција би било процесирањето на латентните протеини во активни (Page-McCaw A et al., 2007).

1.6.4. Регулација на активноста на ММП

Активноста на ММП е регулирана на повеќе нивоа, вклучувајќи ја конверзијата на проензимите во активна форма, инхибицијата од страна на ТИМП и регулацијата на транскрипцијата. Клучен фактор во регулацијата на ММП претставува нивната транскрипциона регулација. Постојат различни типови на ММП кои се разликуваат по структура и функционалност. ММП-1 е најчесто експресирана интерстицијална колагеназа и има значајна улога во иницијалното раски-

нување на ЕЦМ. Врз нивото на експресијата на ММП-1 може да се влијае преку различните единечните-нуклеотидни полиморфизми во промоторниот регион. Потврдено е дека функционалниот полиморфизам на позицијата -1607 ја менува транскрипционата активност на ММП-1 и е во асоцијација со различните патолошки процеси (Arakaki PA et al., 2009).

ММП се транслатираат во зигомени и содржат сигнална пептидна секвенца за таргетирање во секреторни везикули. ММП се секретираат или прикачуваат на клеточната површина, и на тој начин ја ограничуваат нивната каталитичка активност на мембранските протеини, или на протеините во секреторниот пат или во екстрацелуларниот простор (Ra HJ & Parks WC, 2007).

Про ММП се наоѓаат во каталитички неактивна форма преку интеракцијата на тиолот од сочуваната продоменска цистеинска резидуа и од каталитичката страна и на тој начин продоменот го покрива местото на каталитичкото сечење, спречувајќи ја интеракцијата со протеинскиот супстрат. Тиол- Zn^{2+} интеракција мора да биде спречена, за да може проММП да стане каталитички активен (Van Wart HE & Brikedal-Hansen H, 1990). Тиол- Zn^{2+} интеракцијата може да биде прекината преку три механизми: 1) директно раскинување на продоменот од страна на други протеинази како што е фурилот; 2) редукција на слободниот тиол од страна на оксиданси или нефизиолошки реагенси, како што се, алкалирачките реагенси, јоните на тешките метали и дисулфидите, алопластични протуберанции на зигомени прикачени на други макромолекули, на пример, интегрините и протеогликаните (Ra HJ & Parks WC, 2007). Редукцијата на тиолот и алопластичната контрола водат кон интер/интра молекуларно раскинување на продоменот.

Контролата на активноста на ММП и/или на ТИМП *in vivo* се постигува на различни нивоа во која учествуваат различните фактори, на пример, регулација на генската експресија, активација на зигомени и инхибиција на активни ензими од страна на специфични инхибитори. Голем број на ММП и ТИМП се регулирани на транскрипционо ниво од страна на различни фактори на раст, од цитокините и хемокините (Yan C & Boyd DD, 2007).

1.6.5. Регулација на транскрипцијата на ММП

Регулацијата на транскрипцијата на ММП претставува клучен чекор во регулацијата на активноста на ММП, бидејќи голем дел од гените на ММП се експресираат само при активација на физиолошкото или патолошкото ремоде-

лирање на ткивото. Регулацијата на активноста на ММП зависи од генската експресија, од активацијата на ензимот и од присуството на инхибитори. Со неколку исклучоци, ММП постојано се експресираат, а испитувањата во полето на генетската регулација потврдуваат дека факторите на раст, цитокини и интеракциите помеѓу клетките и матриксот претставуваат многу битни регулатори на ММП генска експресија (Birkedal-Hansen H et al., 1993). Всушност, регулаторниот регион кај најголемиот број на ММП гени содржи AP-1 врзувачка страна и TRE-елемент, кои класично се инволвирани во оваа регулација (Gaire M et al., 1994).

Промоторите на голем број гени на ММП (вклучувајќи ги и ММП -1, -3, -7, -9, -10, -12 и -13) го опкружуваат AP-1 елементот и една или две копи на полиома почетниот промоторен активатор-3 (PPA-3) (Gaire M et al., 1994).

Промоторите на ММП-1 и ММП-3, како и на другите ММП, содржат јадрена транскрипциона единица (ТАТА кутија), на отприлика -30bp, како и AP-1 страната на отприлика -70bp (Vincenti MP & Brinckerhoff CE, 2002). AP-1 страната (5'-TGAG/CTCA-3') ги врзува димерите од Fos и Jun фамилиите. Неколку дополнителни AP-1 страни се претставени преку промоторите на ММП и може да влијаат врз генската експресија. Една страна (5'-TTAATCA-3') е откриена на позицијата -186bp, како кај зајакот, така и кај промоторите од човекот. Наспроти проксималната AP-1 страна на позиција од -70 bp, оваа страна има незначителна улога во базалната транскрипција.

Транскрипционите фактори кои учествуваат во генската регулацијата на ММП преку овие и други страни (PEA3) ги вклучуваат членовите на Jun фамилијата, AP-2 и YB-1, NF-kB и Erg-1 (Gum R et al., 1996).

Голем број на студии укажуваат на податокот дека, двата цис-елемента имаат значајна улога во регулацијата на експресијата на гените на ММП, како на основно ниво, така и на одговорот на различните стимулси од страна на форбол естерот, цитокините и факторите на раст (Angel Pet et al., 1987).

Стихијните секвенциски варијации во промоторите на ММП може да влијаат врз критичните чекори на врзување за транскрипционите фактори или врз целокупната транскрипциона ефикасност, што ќе резултира со дискрипанца во експресијата на поедини незначајни ММП. Всушност, генетскиот полиморфизам може да ги видоизмени страните на врзување на некои функционални регулирачки фактори и да влијае врз нивото на експресија на ММП.

1.6.6. Инхибиција на ММП

Активноста на ММП може да биде инхибирана од страна на синтетички или природни инхибитори. Постојат различни механизми за инхибиција и регулација на ММП. Инхибицијата може да се одвива преку интеракција со активната Zn^{2+} -страна, преку раскинување на активниот ензим или негово врзување во неактивна форма на комплекс. Контролата на каталитичката активност на ММП е во тесна асоцијација со ТИМП. ТИМП претставуваат секретирани протеини кои се на широко дистрибуирани во ткивата и телесните течности, и имаат улога на специфични инхибитори на ММП.

Фамилијата на четрите специфични инхибитори, ТИМП се одликува со заедничка солидна хомогена секвенца и структурна идентичност на протеинско ниво. ТИМП во основа имаат два структурни домени: N-терминален домен, изграден од шест конзервирани цистеински резидуи формирајќи три дисулфидни врски кои ја опфаќаат ММП-инхибиторната активност и C-терминален домен кој, исто така, содржи шест конзервирани цистеински резидуи и формираат три дисулфидни врски (Baker EA et al., 2000). ТИМП се најголемите ендогени екстрацелуларни регулатори на ММП. ТИМП имаат молекулска маса која се движи од 21 до 29 kDa со различни гликозирачки нивоа. Тие се врзуваат нековалентно за ММП во однос 1:1. ТИМП се разликуваат по регулацијата на гените, ткивно специфичните ген експресивни профили и по врзувачките афинитети за секој од ММП. Најголем дел од ТИМП ги инхибираат најактивните ММП, а некои ТИМП ја спречуваат активацијата на проММП, само ТИМП-1 се врзува за проММП-9, додека ТИМП-2 и -4 се врзуваат за проММП-2.

По дефиниција, сите членови на ТИМП ја инхибираат активноста на ММП. Инхибицијата на ММП се постигнува преку координација на Zn^{2+} јон кој е на активната страна на ММП со аминокислотните и карбонилните групи на N-терминалната цистеинска резидуа на ТИМП. Селективната инхибиција на некои членови на ММП е проучувана од повеќе автори (Stetler-Stevenson WG, 2008).

Иако првенствено ТИМП се окарактеризираат по нивната способност за инхибиција на активноста на ММП, тие имаат и останати биолошки активности, како на пример, регулација на бројни клеточни процеси, на пример, клеточниот развој, миграцијата и апоптозата (Stetler-Stevenson WG, 2008).

Првите синтетички инхибитори на ММП се создадени во раните осумдесети години на минатиот век, но неодамна започна и нивната клиничка еволуција. За кратко време се откриени моќни инхибитори, меѓутоа, идентификацијата на орално активните компоненти кои се погодни за клиничка еволуција се одвива потешко. Првите инхибитори на ММП се дизајнирани врз база на познавањето на аминокиселинската секвенца на колагенот и на местото на нејзиното раскинување од страна на колагеназата. За таа цел биле приготвени пептидни деривати со прикачена цинк врзувачка група кои го прикриваат делот од оваа секвенца. Откриено е дека компонентите кои ја прикриваат секвенцата на десниот дел од активното место (P1' и P2') и инкорпорираат хидроксидна аминокиселинска цинк врзувачка група даваат моќни инхибитори.

Најголем дел од синтетичките инхибитори на ММП ја попречуваат активноста на ММП преку замена на цинковиот јон во активното место. Visse R & Nagase H, (Visse R & Nagase H, 2003) сугерираат дека ММП може да бидат инхибирани преку интеракцијата со пептидниот фрагмент на ММП, а некои од инхибиторите може да делуваат преку заробување на супстратот и со тоа да го спречат пристапот и активацијата на ММП.

2 ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА

2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА

Како основни наследни единки и фактори на конституцијата на организмот, гените играат суштествена улога во односот спрема разновидните причинители на болестите. Затоа, големи се напорите на науката за што попрецизни сознанија за генетската шифра на геномот кај човекот и влијанието на гените во создавањето предиспозиција за определено заболување, а со тоа и за нивната улога во имунитетот и одбраната на организмот.

Меѓутоа, за испитување на конституционалната склоност кон некоја болест, најдобри се оние системи што имаат голем полиморфизам и кои имаат влијание во биолошката одбрана за опстанокот на организмот.

Голем број на научни студии го потенцираат фактот дека комбинацијата од одреден број на сигнификантни ризични генетски полиморфизми кај некои индивидуи синергистично ја зголемува чувствителноста кон заболувањето.

Birkedal-Hansen H et al., (*Birkedal-Hansen H et al.*, 1993) го дефинираат полиморфизмот како минорни генетски варијации кај одредени индивидуи кои може да се во извесни нормални биолошки граници. Но, тие истакнуваат дека овие варијации може и да ја зголемат тенденцијата или ризикот кон одредено заболување. Притоа, се потврдило дека матрикс-металопротеиназните варијации се во асоцијација со некои заболувања, како на пример, коронарните, различните типови на пародонтопатија, карциномот, периимплантитисот и други.

Доктринарен научен став е дека идентификацијата на генетските фактори како што е полиморфизмот, кој е одговорен за зголемената продукција на ММП, би можел да биде важен фактор во етаблирањето на ризичен профил на пациенти со склоност за развој на хроничен периапикален процес или акутна одонтогена инфекција.

ДНК полиморфизмите се детектирани во промоторните региони кај неколку ММП (*Hyong-Suk Oh et al.*, 2009).

Според *Rutter JL et al.*, (*Rutter JL et al.*, 1998) генетскиот полиморфизам може да доведе до зголемена транскрипциона активност и да ги покачи експресионите протеински нивоа на ММП-1. Испитувањата на овие автори укажуваат на податокот дека генетските вариации во регионот на ММП-1 промоторот имаат влијание врз нивоата на ММП-1 транскрипцијата, со што во иднина, овој ген може

да има круцијална улога при медијацијата на сврзоткивната деградација во патогенезата на воспалителниот процес.

Во студијата на *Rutter JL et al.*, (*Rutter JL et al.*, 1998) се потврдува дека оваа варијација претставува единечен нуклеотиден полиморфизам локализиран на -1607 bp, каде што додадениот гванин (G) формира Ets врзувачка страна, 50-GGA-30 наместо 50-GAT-30, што претставува суштинска врзувачка страна за членовите на Ets транскрипционите фактори. Овие автори сметаат дека 2G алелот од 1G/2G полиморфизмот кај промоторот на ММП-1 формира дополнителна Ets-врзувачка страна, што резултира со зголемена транскрипциона активност на овој ген.

Како резултат на силната поврзаност помеѓу зголемената експресија на ММП-1 и присуството на 2G алелите, *De Souza et al.*, (*De Souza AP et al.*, 2003) ја поставуваат хипотезата за можната улога на генетскиот полиморфизам, како мошне значаен и потенцијално моќен механизам кој доведува до зголемена деградација на пародонталното ткиво кај пациентите со силно изразена пародонтопатија.

De Souza AP et al., (*De Souza AP et al.*, 2003) во своите испитувања докажуваат дека 2G алелите во однос на 1G алелите сигнификантно ја зголемуваат транскрипционата активност на ММП-1. Авторите ја докажуваат поврзаноста на силно изразената пародонтопатија кај Бразилската популација со присуството на 2G алелите.

Во студијата на *Itagaki M et al.*, (*Itagaki M et al.*, 2004) не е потврдена сигнификантна разлика во генотипската дистрибуција, алејната и хаплотипна фреквенција на полиморфизмот во промоторот на ММП-1 генот 1G/2G, помеѓу Јапонските пациенти со хронична пародонтопатија. Авторите ја потврдуваат асоцијацијата помеѓу единечниот нуклеотиден полиморфизам во регионот на промоторот -1607 bp на ММП-1 генот со зголемениот ризик кон различните воспалителни процеси и туморозни состојби.

Врз база на податоците од одредени студии, не е потврдена сигнификантноста за изолираниот полиморфизам на ММП-1, за разлика од специфичниот хаплотип на ММП-1 кој придонесува во развојот на различните видови на патолошки процеси. Хаплотипот претставува комбинација од алели на мултипниот локус кои заедно се трансмитираат на ист хромозом. На пример, *Su L et al.*, (*Su L et al.*, 2006) ги соединиле полиморфизмите -1607 1G/2G на ММП-1, -1171 5A/6A на ММП-3, 316 ММП-12 -82 A/G и 1082 ММП-12 A/G, со што се укажува на податокот дека 1G-6A-82A-1082G хаплотипот може да е во асоцијација со високиот ризик за

појава на карцином на белите дробови помеѓу лицата кои не се пушачи.

Rutter JL et al., (Rutter JL et al., 1998) потврдиле присуство на дополнителен (G алел) на нуклеотидната позиција -1607 во промоторниот регион на ММП-1 генот креирајќи врзувачка страна за Ets фамилијата на транскрипционите фактори, 5'-GGA-3', како и зголемена транскрипција на ММП-1 генот и ензимска активност во нормалните фибробласти и клетките на меланомот.

Jurajda M et al., (Jurajda M et al., 2002) опишуваат полиморфизам на друга позиција -519 кај промоторот на ММП-1 генот реагирајќи кон промената на A/G. Овие автори потврдиле поврзаност помеѓу -519 A/G и -1607 1G/2G полиморфизмите укажувајќи на податокот дека алелот A на позицијата -519 многу почесто е присутен со алелот 2G на позицијата -1607, како и алелот G на позицијата -519 со алелот 1G на позицијата -1607.

Целта во студијата на *Cao Z et al., (Cao Z et al., 2006)* е да се испита дистрибуцијата на ММП-1 генотиповите кај група Кинески пациенти со хроничен периодонтитис и здрави индивидуи, како и да се евалуира можната асоцијација на полиморфизмот од ММП-1 промоторот со заболувањето. Во контролната група, кај 2G алелите утврдена е фреквенција од 49%, во однос на пациентите со хроничен периодонтитис каде 2G алелите се забележани кај 73,4% од случаите. Индивидуите со 2G алелите биле со три пати поголем ризик за развој на силно изразен периодонтитис. Оваа студија укажува на податокот дека единечниот нуклеотиден полиморфизам во регионот на промоторот -1607 bp на ММП-1 генот може да е поврзан со силно изразен периодонтитис во Кинеската популација. Иако дистрибуцијата на одреден генетски полиморфизам може да варира во зависност од тоа за која етничка група станува збор, сепак оваа студија е прва со која се докажува улогата на 1G/2G полиморфизмот како ризик фактор кај периодонтитисот во Кинеската популација.

Во студијата на *Leite MF et al., (Leite MF et al., 2008)* резултатите од спроведените испитувања покажуваат дека хаплотиповите кои се поставени на овие полиморфични страни како алели и генотипови се во асоцијација со губиток на имплантот. Хаплотипниот алел GGG кај групите со успешно поставените импланти изнесува 12,5 %, додека кај групата кај која дошло до губиток на имплантот, GGG изнесува 28,8 %. Хаплотиповите на генотипот AG/GGG е присутен кај 11,7% од индивидуите со успешно поставени импланти, а 35,6% кај оние кај кои дошло до губиток на имплантите. Овие резултати укажуваат на податокот дека хаплотипните комбинации на полиморфизмите во генот на ММП-1

имаат влијание врз процесот на остеоинеграција, потврдувајќи дека варијациите во генот на ММП-1 придонесуваат во интериндивидуалните варијабилности кај остеоинтеграцијата. Поради тоа, ефектите од хаплотиповите овозможуваат покомплетна и посигурна информација во однос на анализите за единечниот полиморфизам, кои само делумно придонесуваат во спроводниот пат на ММП.

Најверојатно постојат најмалку две причини кои можат да ја разјаснат дилемата зошто фенотипот може да е во асоцијација со хаплотипот, но не и со индивидуалните полиморфизми кои го градат хаплотипот.

Како прво, функционалниот ефект врз експресијата на генот може да зависи од интеракцијата помеѓу два или повеќе полиморфизми (*Terry CF et al., 2000*), а како второ хаплотиповите генерално имаат поголема способност во споредба со индивидуалните полиморфизми за пореметување на рамнотежата на врската која е од голема корист со случајна варијанта (*Garner C & Slatkin M, 2003*). Може да се каже, дека комплетниот одговор во врска со оваа дилема ќе зависи од анализите кои ќе ги карактеризираат инволвираните нуклеотидни протеини и нивната интеракција.

Izakovičová HL et al., (Izakovičová HL et al., 2004) ја испитуваат асоцијацијата помеѓу три полиморфизми на промоторот на ММП-1 генот и чувствителноста кон хроничната пародонтопатија во Чешката популација. Полиморфизмите на ММП-1 промоторот (-1607 1G/2G, -519A/G, и -422A/T) се генотипизирани користејќи го методот на полимеразна верижна реакција. Анализата на генотиповите на трите единечни нуклеотидни полиморфизми помеѓу 27 различни комбинации, покажала сигнификантна асоцијација со хроничната пародонтопатија ($p < 0.05$). Анализата на индивидуалниот полиморфизам не покажала разлики во дистрибуцијата на -519A/G и -422A/T варијациите помеѓу пациентите со пародонтопатијата и контролната група. Добиените резултати демонстрираат дека полиморфизмот во ММП-1 промоторот има ефект врз етиопатогенезата кај хроничната пародонтопатија.

Врз основа на резултатите добиени од испитувањата, *Arisan V et al., (Arisan V et al., 2005)* заклучуваат дека полиморфизмите во промоторниот регион на ММП-1 и 2G алелот имаат зголемен ризик за појава на периимплантитис во споредба со пациентите со 1G алелот. Притоа, полиморфизмот на ММП-1 генот бил детектиран кај 88% од пациентите со периимплантитис.

Nho YK et al., (Nho YK et al., 2008) укажуваат на заедничката заштитна улога на ММП-1 -1607 G алелот и ММП-1 -519 A алелот против зголемувањето на индексот телесна тежина кај Корејската популација.

Корелациите помеѓу ЕНП на позицијата -1607 кај ММП-1 и различните заболувања се разработени од страна на одреден број автори. Сепак, одредени репрезентативни студии покажаа конфликтни резултати, бидејќи овој ЕНП покажува етнички варијации (Ju W et al., 2007). Со цел да се потврди фактот дали постојат вистински разлики помеѓу дистрибуцијата на генотиповите кај различните раси, Ju W et al., (Ju W et al., 2007) направиле споредба помеѓу генотипската дистрибуција на ММП-1 кај различните популации од Кореа, Јапонија, Тајван, Америка, Англија, Франција, Италија, Полска и Бразил. Добиените резултати потврдиле дека фреквенцијата на алелите од ЕНП на позиција -1607 од ММП-1 во популацијата на Азијците, не потврдиле сигнификантна разлика, но биле потврдени сигнификантни разлики помеѓу фреквенциите на алелите кај белата популација потенцирајќи дека постојат етнички варијации помеѓу Азијците и белата раса.

González-Arriaga P et al., (González-Arriaga P et al., 2008) сметаат дека полиморфизмот во гените на ММП може да резултира со промени во експресијата на ММП и дека е во асоцијација со појавата и развојот на карцином. Во оваа студија авторите ја испитуваат асоцијацијата помеѓу три полиморфизми (-1607 1G/2G, +17 C/G и -77 A/G) кај човековите колагенази ММП-1, ММП-8 и ММП-13, како и ризикот за развој и прогресија на карциномот на белите дробови.

Во студијата на Qiu W et al., (Qiu W et al., 2008) е спроведено испитување за полиморфизмот на ММП, вклучувајќи го и функционалниот полиморфизам во промоторот од ММП-8 генот (C-799T и A-381G), како ризик фактор за појава на хепатоцелуларен карцином. Наодите укажуваат дека овие функционални полиморфизми не покажуваат сигнификантна чувствителност кон хепатоцелуларниот карцином во Кинеската популација.

Во студијата на Wang H et al., (Wang H et al., 2004) ММП-8 претставува ензим кој ги деградира фибриларните колагени давајќи сила на феталната мембрана, и се експресира од страна на леукоцитите и хроничните цитотрофобластни клетки. Овие автори ги идентификуваат трите единечни нуклеотидни полиморфизми на позиција 2799C/T, 2381A/G и 117C/G од транскрипционата страна на ММП-8 генот, како и функционалната сигнификантност на овие ЕНП преку анализирање на нивното влијание наспроти активноста на промоторот на ММП-8 и нивната асоцијација со предвремената прематурна руптура на мембраната. Имено, минорните алели 117 (G) и 2381 (G) се во комплетен поврзувачки дисеквилибриум. Промоторните фрагменти кои ги содржат трите минорни алели имаат три пати повеќе активност во трофобластните клетки на хорионот во споредба со главниот алел на промоторот.

Во контролната студија кај Африко-Американските новороденчиња Wang H et al., (Wang H et al., 2004) примениле алелно-специфични праймери, докажувајќи статистичка сигнификантност помеѓу трите минорни алелни хаплотипови, со што откриле најголема активност на промоторот на ММП-8 во трофобластните клетки. Откритијата на овие автори ја покажуваат функционалната сигнификантност на хаплотиповите на ЕНП во генот на ММП-8.

По извршеното опсежно пребарување во светската литература, а и врз основа на резултатите добиени од сопствените испитувања, Lièvre A et al., (Lièvre A et al., 2006) потврдуваат дека одредени ММП може да придонесат за развојот на тумурозна формација, особено за развој на тумори од гастроинтестиналниот тракт. Сепак, Lièvre A et al., (Lièvre A et al., 2006) увиделе дека во одреден број на други студии кои ја анализираат експресијата на различите ММП кај колоректалниот аденом, не е потврдена улогата на функционалниот полиморфизам на ММП во развојот на прелигаментарните лезии и покрај податоците за нивната импликација во колоректалната карциногенеза.

Значењето на генетскиот полиморфизам на ММП може да се разгледува како влијание врз матрикс металопротеиназната функција (присуство, промена на концентрацијата и активност на матрикс металопротеиназите и во хронично воспаленото периапикално ткиво и кај акутната одонтогена инфекција), како и предиспонираност или отпорност на организмот кон овие воспалителни процеси (Saklatvala J et al., 2002; Marklová E, 2007).

Во контекст на ова, слободно може да кажеме дека треба да се спроведат испитувања со цел да се обсервираат ефектите на полиморфизмите на различните видови генотипови на ММП-1, ММП-8 и ММП-13 промоторот врз системската терапија на хроничните периапикални процеси и акутните одонтогени инфекции.

Имено, врз основа на таквите испитувања можеме да дојдеме и до сознанието дали кај пациентите со различен воспалителен процес, полиморфизмот на различните генотипови на ММП покажува различен одговор кон различната системска терапија.

Може да се каже дека, понатамошните исцрпни испитувања кои се од непроценлива важност треба да се спроведат со цел да се детектираат и други видови на генетски полиморфизми кои ја потврдуваат чувствителноста кон хроничните периапикални процеси и акутните одонтогени инфекции, а може да придонесат во навременото дијагностицирање на овие заболувања.

3 ЦЕЛИ НА ТРУДОТ

3. ЦЕЛИ НА ТРУДОТ

Во функција на разрешување на етиологијата и патогенезата на хроничните периапикални лезии и акутните одонтогени инфекции, спроведени се бројни научни истражувања на генетско ниво.

Идеата за оваа докторска дисертација е секако сознанието дека, во промоторните региони на одредени ММП е откриено и потврдено присуството на ДНК полиморфизмите.

Респектирајќи ги бројните современи научни сознанија, главниот мотивирачки иницијативен момент на оваа докторска дисертација е поттикнат и условен од намерата да се утврди на молекуларно-генетско ниво влијанието на испитуваните полиморфизмите на гените за колагеназите врз хроничните периапикални процеси и акутните одонтогени инфекции во македонската популација, а предмет на проучувањето е генската експресија на колагеназите (ММП-1, ММП-8, ММП-13) кај овие хронични и акутни воспалителни процеси.

Главна цел на ова истражување претставува идентификацијата на генетските фактори кои се од огромно значење за етаблирањето на ризичниот профил на пациенти со склоност за развој на хроничен периапикален процес или акутна одонтогена инфекција, како и одредување на вкупното присуство на полиморфизми во промоторниот регион од гените за ММП кај испитаниците од испитуваните групи.

Во функција на реализација на главната цел ги формулиравме и поставивме следниве **оперативни цели** на оваа докторска дисертација:

1. Да се утврди дали полиморфизмите во промоторниот регион од гените за колагеназите (ММП-1, -8, и -13) кај испитаниците од испитуваните групи имаат ефект врз прогресијата и развојот на клиничката слика кај хроничните периапикални процеси и акутните одонтогени инфекции;
2. Да се утврди влијанието на полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13, врз клиничката дијагноза и зависноста меѓу дијагнозата и полиморфизмот;
3. Да се испита дали испитуваните генетски полиморфизми може да

- доведат до зголемена транскрипциона активност и да ги покачат експресионите протеински нивоа на колагеназите (ММП-1, -8, и -13);
4. Да се утврди дали постои зависноста и корелација помеѓу полиморфизмите на гените за ММП и СРІ индексот меѓу пациентите со хронични периапикални лезии и акутни одонтогени инфекции;
 5. Да се утврди влијанието (протективно или асоцијативно) помеѓу секој одделен полиморфизам во гените за колагеназите (ММП-1, -8, и -13) кај пациентите со хроничен периапикален процес во споредба со контролната група;
 6. Да се утврди влијанието (протективно или асоцијативно) помеѓу секој одделен полиморфизам во гените за колагеназите (ММП-1, -8, и -13) кај пациентите со акутна одонтогена инфекција во споредба со контролната група;
 7. Да се утврди дали постои зависност и корелацијата меѓу полиморфизмите на гените за ММП и полот, возраста, местото на раѓање меѓу различните клинички дијагнози;
 8. Да се утврди дали постои зависност и корелација меѓу полиморфизмите на гените за ММП и бројот на кариозни заби;
 9. Да се утврди дали постои зависност и корелација меѓу полиморфизмите на гените за ММП и Rtg големината на хроничните периапикални лезии.
 10. Да се утврди дали постои зависност и корелација меѓу полиморфизмите на гените за ММП и присуството на системско заболување кај пациентите од сите испитувани групи.
 11. Да се утврди дали популацијата е во рамнотежа за испитуваните полиморфизми на гените за колагеназите.

Со оглед на напред изнесеното, **теориска цел** на оваа докторска дисертација претставува придонесот кон етиологијата и патогенезата на хроничните периапикални процеси и акутните одонтогени инфекции, непосредно поврзана со нејзината **апликативна цел** содржана во аспектот на валоризација на новиот начин на дијагностицирање на хроничните воспалителни процеси и акутни одонтогени инфекции, како и можноста за контрола на воспалителниот процес преку различните аспекти на инхибиција на колагеназите (ММП-1, -8, и -13), преку намалување на транскрипцијата на воспалителните гени и преку намалување на транскрипцијата на антивоспалителите гени.

Хипотетска рамка

Во конципирањето на истражувачкиот зафат врз кој се темели оваа докторска дисертација појдовме од следнава **генерална хипотеза**:

Постоењето на евидентна поврзаност помеѓу одделните полиморфизми во гените за колагеназите (ММП-1, -8, и -13) и прогресијата и развојот на клиничката слика кај хроничните периапикални процеси и акутните одонтогени инфекции, како и предиспонираноста или отпорноста на одредена личност кон појавата на одреден воспалителен процес.

Досегашните сознанија од современите литературните податоци во врска со воспалителните процеси, како и недостигот на доволен број сознанија во врска со поставениот проблем и предмет на проучување, ни претставуваа предизвик и ни дадоа насока да ги поставиме следниве **работни хипотези**:

1. Се поставува хипотезата дека генетскиот полиморфизам претставува обележје на човековата биологија и дека одредени функционални полиморфизми во регулаторниот регион од гените на колагеназите (ММП-1, -8 и -13) се во асоцијација со ризикот за развој на хроничен периапикален процес или акутна одонтогена инфекција. Верификацијата на поставената хипотеза во истражувачката постапка е изведена преку следниве индикатори:
 - детекција на полиморфизмите во промоторниот регион од гените на колагеназите (ММП-1, -8, и -13) кај испитаниците од испитуваните групи;
2. Се поставува хипотезата дека генетските полиморфизми во склоп на промоторниот регион на гените на ММП се поврзани со промените во нивото на транскрипцијата на колагеназите (ММП-1, -8, и -13), како и во експресионото протеинско ниво. Верификацијата на поставената хипотеза во истражувачката постапка е изведена преку следниве индикатори:
 - определување на зголемената транскрипциона активност на колагеназите (ММП-1, -8, и -13) под дејство на генетскиот полиморфизам;
 - определување на зголемените експресиони протеински нивоа на колагеназите (ММП-1, -8, и -13) под дејство на генетскиот полиморфизам;

3. Се поставува хипотезата дека генетскиот полиморфизам создавајќи индивидуална подложност и влијаејќи врз хроничниот воспалителен процес и понатаму останува еден од најважните фактори, а варијациите во алелите на гените на колагеназите претставуваат маркер за мониторинг на ризикот и прогресијата на хроничниот воспалителен процес. Верификацијата на поставената хипотеза во истражувачката постапка е изведена преку следниве индикатори:
 - определување на влијанието (протективно или асоцијативно) помеѓу секој одделен полиморфизам во гените за колагеназите (ММП-1, -8, и -13) кај пациентите со хроничен периапикален процес во споредба со контролната група.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА ИСПИТУВАЊЕ

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА ИСПИТУВАЊЕ

4.1. Материјал - истражувачки примерок

3а реализација на поставените цели во оваа докторска дисертација, на Клиниката за орална хирургија при "ЈЗУ Универзитетскиот стоматолошки клинички центар - Св. Пантелејмон" беа опфатени вкупно 280 испитаници од обата пола поделени во три групи.

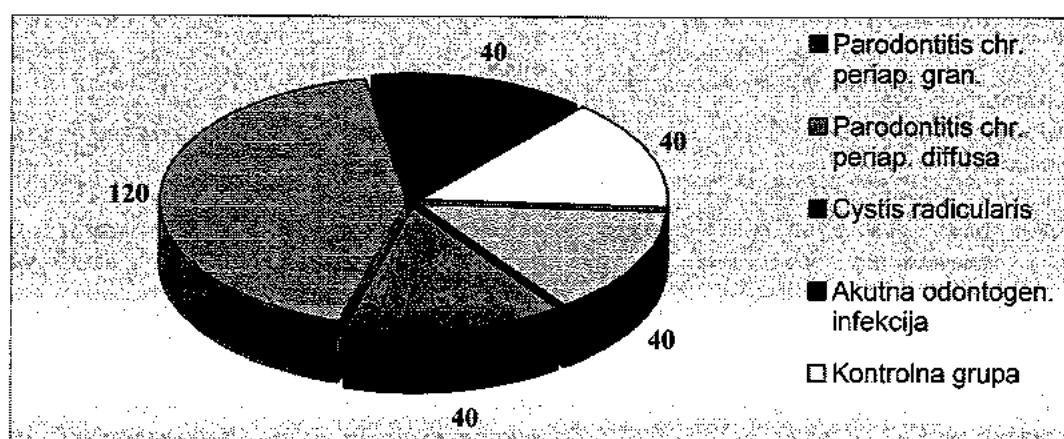
Изборот на материјал кој е предмет на истражување беше извршен врз основа на поставените клинички дијагнози, по детално спроведената анамнеза и клинички преглед со анализа на рендгенолошките промени. Притоа беа формирани 3 испитувани групи од вкупно 280 пациенти (табела 4.1 и графикон 4.1):

- ❖ Првата група ја сочинуваа 120 испитаници со клинички и рендгенолошки верифицирано постоење на хроничен периапикален процес. Пациентите од оваа група беа поделени во три подгрупи во зависност од поставената клиничка дијагноза:
 - 40 испитаници со дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa seu granulom,
 - 40 испитаници со дијагноза Parodontitis chronica periapicalis progresiva seu diffusa (cum/sine fistula),
 - 40 испитаници со дијагноза Cystis radicularis.
- ❖ Втората група ја сочинуваа 40 испитаници со акутна одонтогена инфекција (периапикален дентоалвеоларен апсцес) (Abscessus periapicalis dentoalveolaris).
- ❖ Третата (контролна) група беше формирана од 120 испитаници со санирано забало, без ендодонтски третирани заби и отсуство на хроничен периапикален процес или акутна одонтогена инфекција.

Табела 4.1. Дистрибуција на клиничката дијагноза кај испитуваните групи

Групи	Клиничка дијагноза	Вкупно	
		Број (n)	%
I Група	Parodontitis chr. periap. granulomatosa	40	14,29
	Parodontitis chr. periap. progresiva diffusa	40	14,29
	Cystis radicularis	40	14,29
II Група	Acute odontogenic infection	40	14,29
III Група - контролна група		120	42,85

Графикон 4.1. Дистрибуција на клиничката дијагноза кај испитуваните групи



4. 2. Методи на работа

Во оваа докторска дисертација беа реализирани следниве испитувања:

- Детална анамнеза и клинички преглед со анализа на рендгенолошките промени;
- Прибирање на материјалот за работа;
- Лабораториски испитувања на добиениот материјал (молекуларно-генетски анализи):
 - изолација на геномската ДНК,
 - амплификација на изолираната ДНК,
 - детекција на полиморфизмите во гените на матрикс-металопротеиназите;
- Статистичка обработка на податоците.

4. 2.1. Анамнеза, клинички преглед, радиографско проследување на случаите и терапија

Изборот на пациенти беше направен врз основа на анамнестичките податоци, клиничкиот преглед (интраорален, екстраорален и локален дентален статус) и по спроведените анализи на ретроалвеоларните или ортопантомографските рендгенографии. Врз основа на овие иследувања и анализи беа поставени дијагнозата и индикациите за спроведување на соодветна тераписка процедура (орално-хируршка интервенција).

Кај сите испитаници од испитуваните групи беше направена селекција според интерно поставените критериуми, т.е. беа исклучени оние испитаници кои во последните три месеци примале антибиотска или имуносупресивна терапија. Исто така во овие испитувања беа исклучени испитаниците со клинички знаци на пародонтална болест.

Во испитувањето беа вклучени само оние испитаници со хроничен периапикален процес кај кои од самиот почеток се развил хроничен тек на воспалението. Исто така и кај акутните одонтогени инфекции беа вклучени само оние испитаници кај кои од самиот почеток постоеше акутен тек на воспалението. За секој испитаник беа изготвени посебни формулари (прашалници) во кои беа внесени податоците од анамнезата и клиничките иследувања (прилог 1).

Врз основа на опсежниот клинички преглед во прашалниците беа нотиран податоците од екстраоралниот (оток, присуство на зголемени регионални лимфни јазли) и интраоралниот (општата состојба на забалото и меките ткива) преглед.

Од локалниот дентален статус преку клиничките методи кај пациентите од првата и втората група со детална анамнеза и опсежен клинички преглед се проследи и регистрира постоењето на субјективни симптоми: болка, перкуторна и палпаторна осетливост, и на објективни симптоми: оток, евентуално дренирање на ексудат од коренскиот канал и постоење на фистула. Овие податоци беа изразени преку индекс - CPI (clinical periapical index).

Кај првата група пациенти, радиографската анализа беше фокусирана на следниве параметри:

- проценка на состојбата на пародонциумот, со цел да се евидентира постоење на хроничен периапикален процес,
- детерминирање на неговата гранична линија,

- детерминирање на степенот на радиолуценција (изразена во mm²),
- присуство на коскена ресорпција.

Од рендгенограмот преку софтверска пределекција (UTHSCSA ImageTool3-program) беше одредена големината на периапикалната лезија, со цел да се утврди постоење на корелација меѓу големината на лезијата и останатите клинички и лабораториски параметри.

4. 2. 2. Прибирање на материјалот за испитување

Од секој испитаник (од сите три испитувани групи), по добивањето на писмена согласност (прилог 2), под асептични услови со венепункција беше земен примерок на венска крв (10 mL) во вакуумизирана стерилна епрувета (Vacutainer®) со антикоагулант (динатриумова сол на етилендиамин тетраацетат - EDTA·Na₂). Вака земениот примерок на венска крв во најкус временски период беше специјално складиран на температура од -80 °C на која се чуваше се до неговата анализа.

4.3. Лабораториски испитувања (молекуларно-генетски анализи)

Молекуларно-генетските анализи беа извршени во Лабораторијата за молекуларна биологија на Институтот за биологија при Природно-математичкиот факултет во Скопје. Користени се етаблирани техники за молекуларно-генетска детекција во оваа лабораторија (Панов С, 2003 ¹¹⁸), како и според референците за оваа проблематика.

4.3.1. Изолација на геномската ДНК

Стандардната изолација на геномската ДНК од нуклеарните клетки беше извршена со натриум хлорид - екстракција и последователна преципитација со етанол (Gemmel & Akiyama, 1996).

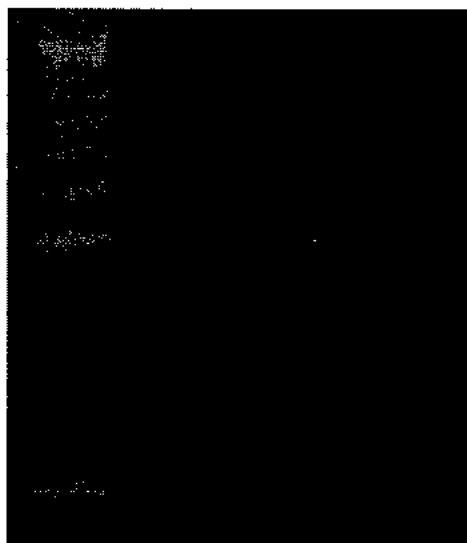
ДНК изолатите примероци беа аликвотирани во неколку епрувети, од кои една епрувета се чуваше на температура од +4 °C до +8°C и беше искористена за анализа, додека останатите епрувети (EDTA туби) се чуваат како резерва во банката на примероци на температура од -18 °C до -20 °C.

4.3.2. Амплификација на изолираната ДНК

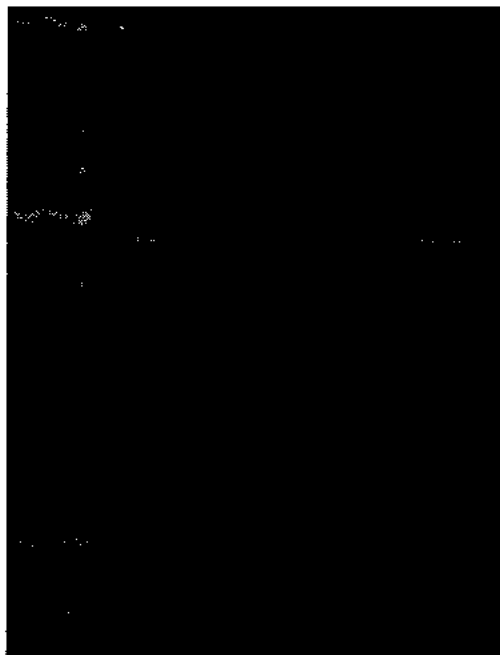
Во секоја реакциска епрувата (со тенки сидови) беа пипетирани пресметаните волумени на предходно подготвениот PCR пуфер, потоа на смесата на деоксинуклеотиди (dNTP), кои претставуваат пар на соодветни олигонуклеотидни прајмери (Sigma-Genosys) специфични за секој поединечен регион од испитуваните гени за матрикс металопротеиназите, магнезиумови јони (во претходно оптимизирана концентрација) како и пресметаниот волумен на термостабилната Taq полимераза (Sigma-Aldrich) и примерокот на ДНК од секој пациент поединечно.

Амплификацијата на регионите од избраните гени се изврши со полимеразна верижна реакција (*Polymerase Chain Reaction* - PCR). Амплификацијата се изведе во PCR-машина (термосајклер) (*Perkin-Elmer GeneAmp System 2400*) со користење на соодветен програм со триесет циклуси од по три фази. Првата фаза претставуваше денатурација на температура од 94 °C; втората фаза беше анилирање (во зависност од прајмерскиот пар на температура од 45 °C до 65 °C) и третата последна фаза претставуваше полимеризација при температура од 72 °C.

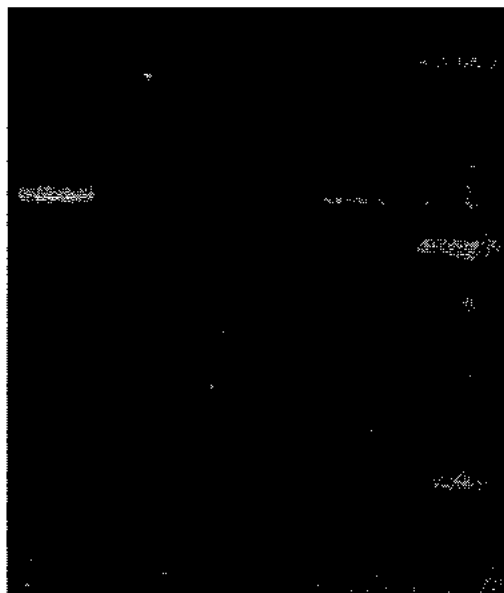
Успешноста на амплификацијата беше верифицирана со агарозна електрофореза и флуоресцентно боење на гелот со етидиум бромид. Геловите беа фотографирани под UV-светлина (со бранова должина $\lambda=312\text{nm}$) со дигитална камера (*Canon*). Амплификабилноста на изолираната ДНК беше верифицирана на регионот од генот на β -глобинот.



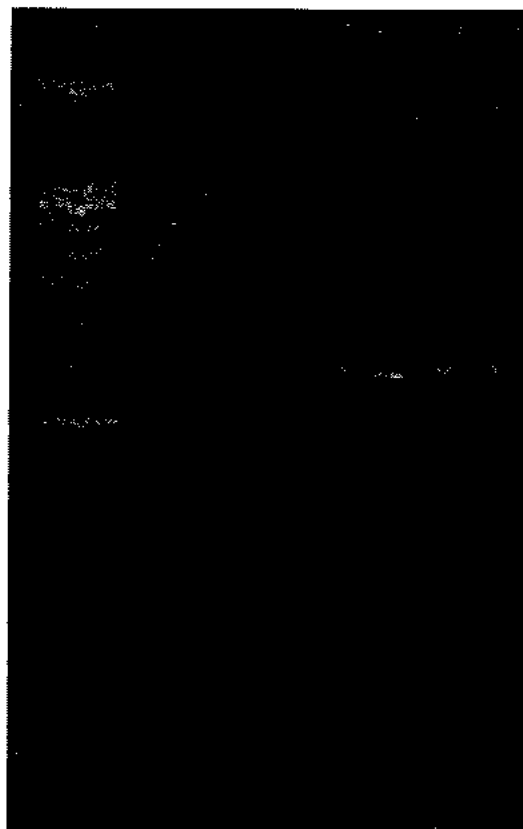
Агарозна електрофореза и флуоресцентно боење на гелот кај полиморфизмот на ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *AluI*



Агарозна електрофореза и флуоросцентно бојење на гелот кај полиморфизмот на ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим KpnI



Агарозна електрофореза и флуоросцентно бојење на гелот кај полиморфизмот на ММП-8 детектиран со рестрикциски ензим BglII



Агарозна електрофореза и флуоросцентно боење на гелот кај полиморфизмот на ММП-13 детектиран со рестрикциски ензим *BsrI*

4.3.3. Детекција на полиморфизмите во гените на матрикс металопротеиназите

За детекција на полиморфизмите во селектираните локуси во гените за матрикс металопротеиназите беше користена рестрикциска анализа (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* - PCR-RFLP). За таа цел, амплифицираните продукти на регионите од селектираните гени беа дигестирани со соодветна рестрикциска ендонуклеаза при оптимални услови (буферирани раствор соодветен за секој поединечен ензим, како и температура од 37 °C).

За амплификација на регионот -1067 од промоторот на генот за MMP-1, беше користен парот консензусни прајмери: (F) 5'- TGA CTT TTA AAA CAT AGT CTA TGT TCA- 3' и (R) 5'- TCT TGG ATT GAT TTG TTG AGA TAA GTC ATA GC - 3', што резултираше со амплификациски продукт од 259 базни парови bp.

Табела 1. Секвенци на PCR прајмерите со рестрикционите ензими

Ген	Поли-морф-изам	Прајмери	PCR услови	Должина на PCR ампли-фикација	Рестрик-циски ензим	Рестрик-циска дигестија
MMP-1	-1607 1G/2G	(F) 5'-TGA CTT TTA AAA CAT AGT CTA TGT TCA-3' (R) 5'-TCT TGG ATT GAT TTG TTG AGA TAA GTC ATA GC-3'	35 циклуси: 94°C 30s, 54°C 30s, 72°C 30s	269 bp	<i>AfuI</i>	(241+28) bp
MMP-1	-1607 1G/2G	(F) 5'-TCG TGA GAA TGT CTT CCC ATT-3' (R) 5'-TCT TGG ATT GAT TTG AGA TAA GTC ATA-3'	35 циклуси: 93°C 30s, 55°C 30s, 72°C 30s, 72°C 5min	118 bp	<i>XmnI</i>	(29+89) bp
MMP-1	-519 A/G	(F) 5'-CAT GGT GCT ATC GCA ATA GGG T-3' (R) 5'-TGC TAC AGG TTT CTC CAC ACA C-3'	30 циклуси: 94°C 30s, 49°C 30s, 72°C 20s, 72°C 4min	200 bp	<i>KpnI</i>	(176+24) bp
MMP-8	-799 C/T	(F) 5'-GCC AGA GAC TCA AGT GGG AGA CTA CCA TGC AGA TC-3' (R) 5'-TTA TGA TTG CCC AGA CAT TTG-3'	35 циклуси: 94°C 45s, 56°C 45s, 72°C 1min	255 bp	<i>BglII</i>	(224+31) bp
MMP-13	-77 A/G	(F) 5'-GAT ACG TTC TTA CAG AAG GGC-3' (R) 5'-GAC AAA TCA TCT TCA TCA CC-3'	40 циклуси: 94°C 30s, 55°C 45s, 72°C 30s	233 bp	<i>BsrI</i>	(168+65) bp

За амплификација на регионот -1067 од промоторот на генот за MMP-1, беше користен и друг пар на консензусни прајмери: (F) 5'-TCG TGA GAA TGT CTT CCC ATT-3' и (R) 5'-TCT TGG ATT GAT TTG AGA TAA GTC ATA-3', што резултираше со амплификациски продукт од 118 (bp).

За амплификација на регионот -519 од промоторот на генот за MMP-1, беше користен користен парот на консензусни прајмери: (F) 5'-CAT GGT GCT ATC GCA ATA GGG T-3' и (R) 5'-TGC TAC AGG TTT CTC CAC ACA C-3', што резултираше со амплификациски продукт од 200 (bp).

За амплификација на регионот -799 од промоторот на генот за MMP-8, беше користен користен парот на консензусни прајмери: (F) 5'-GCC AGA GAC TCA AGT GGG AGA CTA CCA TGC AGA TC-3' и (R) 5'-TTA TGA TTG CCC AGA CAT TTG-3', што резултираше со амплификациски продукт од 255 (bp).

За амплификација на регионот -77 од промоторот на генот за MMP-8, беше користен користен парот на консензусни прајмери: (F) 5'-GAT ACG TTC TTA CAG AAG GGC-3' и (R) 5'-GAC AAA TCA TCT TCA TCA CC-3', што резултираше со амплификациски продукт од 233 (bp).

Притоа, присуството или отсуството на определена нормална, или обратно, мутирана секвенца во PCR продуктот беше проследено со подложност или

отпорност кон рестрикциската дигестија со соодветен ензим, што резултираше со појава на дигестирани фрагменти со различна големина при електрофоретската анализа.

За детекција на полиморфизмот 1G/2G на позиција-1607 во промоторот на генот за матрикс металопротеиназата-1 (MMP-1) е користен ензимот *AclI*.

Полиморфизмот -519 A/G во промоторот на MMP-1 генот се детектира преку рестрикциска дигестија со ензимот *KpnI*.

Полиморфизмот -1607 1G/2G во промоторот на MMP-1 генот се детектира преку рестрикциска дигестија со ензимот *XmnI*.

За детекција на полиморфизмот -799 C/T во промоторот на генот за матрикс металопротеиназата-8 (MMP-8) е користен ензимот *BglII*.

За детекција на полиморфизмот -77 A/G во промоторот на генот за матрикс металопротеиназата-13 (MMP-13) е користен ензимот *BsrI*.

Продуктите на дигестиите, како и дел од недигестираниот PCR продукт, во присуство на електрофоретски маркер (PCR Marker, Bio-Rad) беа раздвоени со хоризонтална агарозна електрофореза (Bio-Rad, USA) и визуализирани со флуоресцентно боене со етидиум бромид под UV-светлина (со бранова должина $\lambda=312$ nm). Геловите беа фотографирани со дигитален фотоапарат (Canon A70), а дигиталните слики беа обработени со Adobe Photoshop. Дигиталната анализа (идентификација на електрофоретските ленти и определување на нивната должина во базни парови) беше извршена со софтверот GelPro.

При прикажувањето на резултатите од молекуларно-генетските анализи, примероците кои се хомозиготни за присуството на соодветниот полиморфизам се означени како: "+/+ ", тие кои се хетерозиготни како : "+/- " и хомозиготните примероци за отсуството на соодветниот полиморфизам се означени како: "-/- ".

4.4. Статистичка обработка на резултатите

Собраните податоци беа внесувани во компјутерска база на податоци (Microsoft Access 2009) подготвена според посебно изготвениот формулар за студијата. Компјутерската обработка и статистичката анализа на податоците, за споредување на вредностите за определување на сигнификантноста меѓу испитуваните групи, беше извршена со користење на дескриптивни и аналитички статистички методи од пакетот SPSS 8.0 за MS Windows.

Во статистичката обработка на податоците од дескриптивните методи за анализа на сериите со нумерички белези беа користени: фреквенции, проценти и коефициентот на односи и пропорции и нивни разлики, стапки.

Разликата меѓу два параметра во серии со нумерички белези е тестирана со:

- Pearson - овиот Chi - Square тест (χ^2). За статистички значајни се сметаат вредностите за $p < 0,05$.
- Hardy-Weinberg-ов еквилибриум се користеше со цел да се испита присуството на селективните сили кои имаат влијание врз дистрибуцијата на алелите.
- Веројатноста, односно ризикот за развој на хроничните периапикални лезии и акутни одонтогени инфекции во зависност од полиморфизмите за гените на колагеназите (асоцијативна или протективна улога), беше одредена со примена на Odds ratio (OR).

Обработката и презентирањето на резултатите се прикажани табеларно и графички.

5. ПЕЗВАТА ТИ

5. РЕЗУЛТАТИ

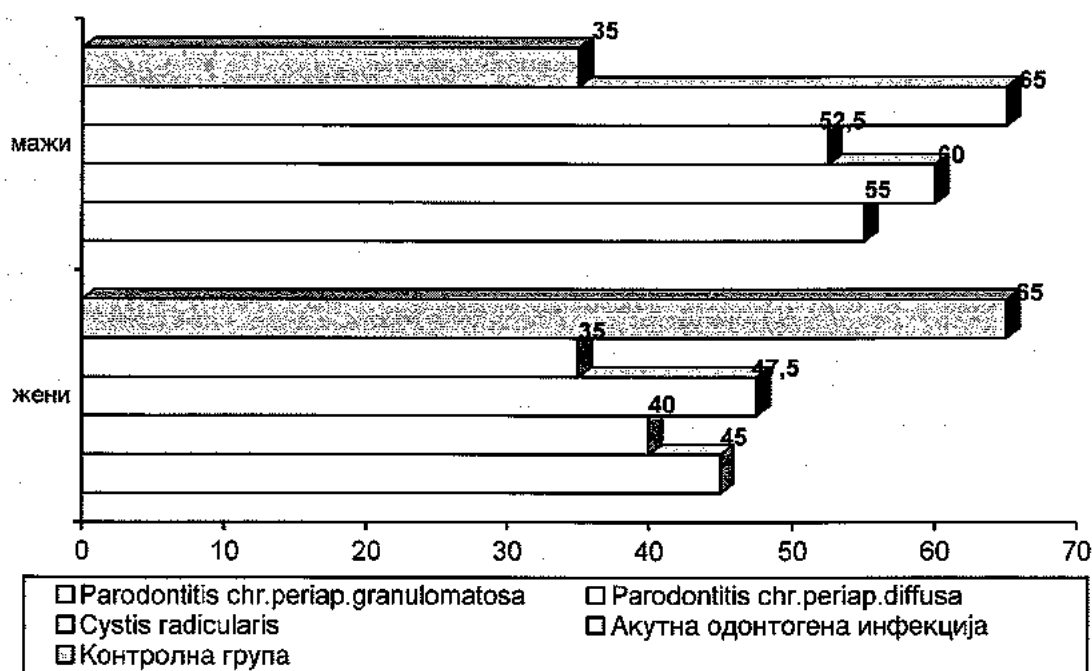
5.1. Анализа на структурата на истражувачкиот материјал и корелација со полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13

Анализата на структурата на пациентите од кои се добиени истражувачките примероци е прикажана на табелите 1, 2 и 3, графиконите 1, 2 и 3.

Табела 1. Дистрибуција на испитуваните групи според полот

П о л		Клиничка дијагноза				Контролна група	Вкупно
		Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	Parodontitis periapicalis chronica diffusa	Cystis radicularis	Акутна одонтогена инфекција		
жени	Број	18	16	19	14	78	145
	%	45	40	47,5	35	65	51,7
мажи	Број	22	24	21	26	42	135
	%	55	60	52,5	65	35	48,2
Вкупно	Број	40	40	40	40	120	280
	%	100	100	100	100	100	100

Графикон 1. Графички приказ на клиничките дијагнози и полот



Дистрибуцијата на испитуваните групи според полот е прикажана на табела 1 и графикон 1. Во групата со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa женскиот пол е застапен со 45%, а машкиот пол со 55%, а притоа процентуалната разлика која се регистрира статистички не е сигнификантна за $p > 0.05$ (табела и графикон 1).

Во групата со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa женскиот пол е застапен со 40%, а машкиот пол со 60%, а процентуална разлика која се регистрира статистички не е сигнификантна за $p > 0.05$ (табела и графикон 1).

Во групата со клиничка дијагноза Cystis radicularis женскиот пол е застапен со 47.5%, а машкиот пол со 52.5%, процентуалната разлика која се регистрира е статистички не сигнификантна за $p > 0.05$ (табела и графикон 1).

Во групата со клиничка дијагноза акутна одонтогена инфекција женскиот пол е застапен со 35%, а машкиот пол со 65%, а процентуалната разлика која се регистрира е статистички сигнификантна за $p = 0.089$ (табела и графикон 1).

Во контролната група женскиот пол е застапен со 65%, а машкиот пол со 35%, додека процентуалната разлика која се регистрира е статистички сигнификантна за $p = 0.0000$ (табела и графикон 1).

Анализата од корелацијата помеѓу полот и полиморфизмот на гените на ММП -1, -8 и -13 покажа дека не се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу полот и полиморфизмот на гените ММП -1, -8 и -13 кај клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa (Pearson Chi – square (χ^2): 0.992187, $df=2$, $p=0.608906$; Pearson Chi-square: 0.495330, $df=2$, $p=0.780622$; Pearson Chi-square 0.195757, $df=2$, $p=0.906759$; Pearson Chi-square: 0.756303, $df=2$, $p=0.685128$; Pearson Chi-square: 4.98465, $df=2$, $p=0.082723$).

Оваа анализа исто така покажа дека не се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу полот и полиморфизмот на гените ММП -1, -8 и -13 кај клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa (Pearson Chi-square: 3.31938, $df=2$, $p=0.190203$; Pearson Chi-square: 2.88846, $df=2$, $p=0.235933$; Pearson Chi-square: 3.68363, $df=2$, $p=0.158535$; Pearson Chi-square: 1.48047, $df=2$, $p=0.477005$; Pearson Chi-square: .211168, $df=2$, $p=0.899799$).

Не се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу полот и полиморфизмот на гените ММП -1, -8, -13 и кај клиничката дијагноза Cystis radicularis (Pearson Chi-square: 3.12990, $df=2$, $p=0.17167$; Pearson Chi-square: 1.72576, $df=2$, $p=0.421949$; Pearson Chi-square: 2.36867, $df=2$, $p=0.305954$; Pearson Chi-square: 0.108044, $df=2$, $p=0.947411$; Pearson Chi-square: 0.173302, $df=2$, $p=0.916997$).

Исто така, не се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу полот и полиморфизмот на гените MMP -1, -8, -13 кај клиничката дијагноза акутна одонтогена инфекција (Pearson Chi-square: 3.89613, df=2, p=0.11703; Pearson Chi-square: 2.89000, df=2, p=0.235751; Pearson Chi-square: 3.87072, df=2, p=0.14437; Pearson Chi-square: 3.61322, df=2, p=0.164215; Pearson Chi-square: 4.23311, df=2, p=0.120451).

Структурата на пациентите според возраста е прикажана на табела 2 и графикон 2. Според возраста пациентите беа класифицирани во седум старосни групи.

Табела 2. Дистрибуција на испитаниците според дијагноза и возрасната група

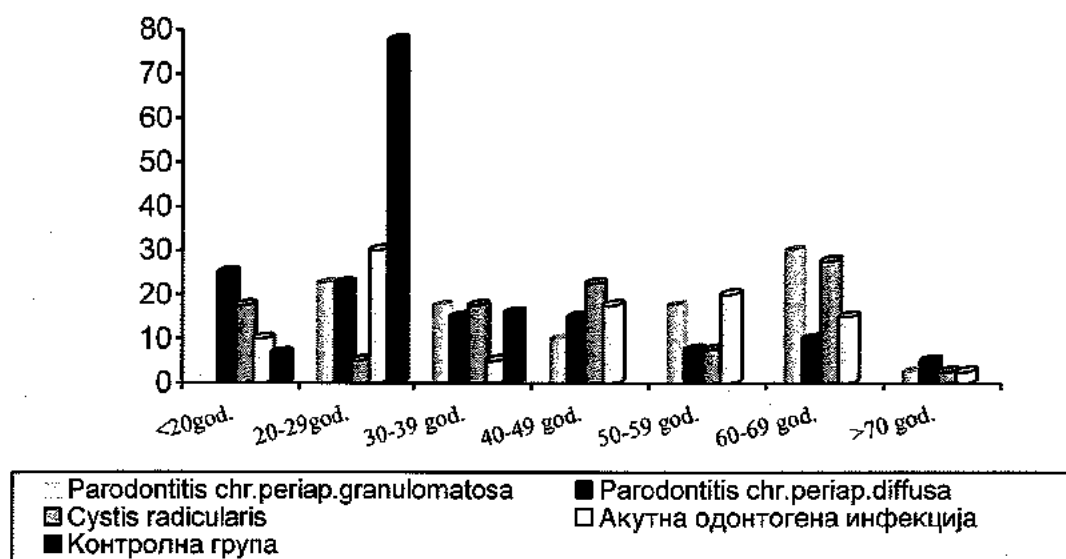
			Клиничка дијагноза				Контролна група	Вкупно
			Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	Parodontitis periapicalis chronica diffusa	Cystis radicularis	Акутна одонтогена инфекција		
Возраст	< 20г.	број	/	10	7	4	8	29
		%	/	25	17,5	10	6,7	10,3
	20-29г.	број	9	9	2	12	93	125
		%	22,5	22,5	5	30	77,5	44,6
	30-39г.	број	7	6	7	2	19	41
		%	17,5	15	17,5	5	15,8	14,6
	40-49г.	број	4	6	9	7	/	26
		%	10,0	15	22,5	17,5	/	9,3
	50-59г.	број	7	3	3	8	/	21
		%	17,5	7,5	7,5	20	/	7,5
	60-69г.	број	12	4	11	6	/	33
		%	30	10	27,5	15	/	11,8
	>70г.	број	1	2	1	1	/	5
		%	2,5	5	2,5	2,5	/	1,8
Вкупно		број	40	40	40	40	120	280

Во групата со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa со најголем процент на застапеност (30%) се покажа возрасната група од 60-69 години, додека во возрасната група под 20 години не беше регистриран ниту еден пациент (табела и графикон 2).

Во групата со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa возрасната група под 20 години е застапена со 25%, и тука беа најголем процент од пациентите со оваа клиничка дијагноза, додека возрасната група на пациенти со над години 70 години беа со најмал процент на застапеност (5%) (табела и графикон 2).

Во групата со клиничка дијагноза *Cystis radicularis* најголем број пациенти беше регистриран во возрастната група од 40-49 години (9; 22,5%), додека најмал број (1; 2,5%) беше регистриран во возрастната група на пациенти постари од 70 години (табела и графикон 2).

Графикон 2. Графички приказ на клиничките дијагнози и возрастните групи



Во групата со клиничка дијагноза акутна одонтогена инфекција најголема застапена од 30% покажа возрастната група од 20-29 години, а најмал број (1, 2,5%) беше регистриран во возрастната група на пациенти постари од 70 години, исто како и кај пациентите со клиничка дијагноза *Cystis radicularis* (табела и графикон 2).

Во контролната група, најголем процент на застапеност на пациентите (77.5%) беше регистриран кај возрастната група од 20-29 години. Притоа не беше регистрира ниту еден пациент над 40 годишна возраст (табела и графикон 2).

Анализата на резултатите од корелацијата помеѓу возраста и полиморфизмот на гените за ММП-1, -8 и -13 потврди дека се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу возраста и полиморфизмот на гените за ММП -1, -8, -13 кај клиничката дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa* (Pearson Chi-square: 28.8826, df=12, p=0.004105; Pearson Chi-square: 36.5518, df=12, p=0.000264; Pearson Chi-square: 43.8921, df=12, p=0.000016; Pearson Chi-square: 27.2672, df=12, p=0.007076; Pearson Chi-square: 60.4191, df=12, p=0.000000)

Помеѓу возраста и полиморфизмот на гените за ММП -1, -8, -13 кај клиничката дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa* исто така се регистрира статистички сигнификантна зависност (Pearson Chi-square: 21.6901, df=12,

$p=0.041158$; Pearson Chi-square: 35.9580, $df=12$, $p=0.000330$; Pearson Chi-square: 67.8930, $df=12$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 31.9861, $df=12$, $p=0.001392$; Pearson Chi-square: 34.9800, $df=12$, $p=0.000473$)

Се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу возраста и полиморфизмот -1607 1G/2G на гените за ММП -1 детектиран со рестрикциски ензими *AfuI* и *XmnI*, како и кај полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8, кај клиничката дијагноза *Cystis radicularis* (Pearson Chi-square: 22.7008, $df=12$, $p=0.030389$; Pearson Chi-square: 51.1159, $df=12$, $p=0.000001$; Pearson Chi-square: 51.1159, $df=12$, $p=0.000001$; Pearson Chi-square: 35.3901, $df=12$, $p=0.000406$). Од анализата на податоците се утврди дека не постои статистички сигнификантна зависност помеѓу возраста и полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI*, како и кај полиморфизмот -77 A/G за генот на ММП-13 кај клиничката дијагноза *Cystis radicularis* (Pearson Chi-square: 17.6701, $df=12$, $p=0.126102$; Pearson Chi-square: 16.1566, $df=12$, $p=0.184190$).

Исто така се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу возраста и полиморфизмот на гените ММП -1,-8, -13 кај клиничката дијагноза акутна одонтогена инфекција (Pearson Chi-square: 30.7931, $df=12$, $p=0.002121$; Pearson Chi-square: 38.2437, $df=12$, $p=0.000140$; Pearson Chi-square: 38.1157, $df=12$, $p=0.000147$; Pearson Chi-square: 27.8908, $df=12$, $p=0.005744$; Pearson Chi-square: 49.8234, $df=12$, $p=0.000002$).

Дистрибуцијата на пациентите со различна клиничка дијагноза според местото на раѓање е прикажана на табела 3 и графикон 3. Во зависност од местото на раѓање беа оформени осум региони.

Кај сите испитувани групи најголем број од пациенти беа со место на раѓање од Скопскиот регион.

Кај пациентите со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa* процентот на застапеност во скопскиот регион изнесуваше 57.5%, додека од кичевско-поречкиот регион не беше регистриран ниту еден пациент со место на раѓање (табела и графикон 3).

Во групата со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa* во скопскиот регион процентот на застапеност беше 57.5%. Ниту еден пациент не беше регистриран со место на раѓање во повардарието, брегалничкиот, кумановскиот, струмичко-радовишкиот регион и кичевско-поречкиот регион (табела и графикон 3).

Во групата со клиничка дијагноза *Cystis radicularis* процентот на застапен во скопскиот регион беше 72,5%. Во струмичко-радовишкиот, гевгелиско-валандовскиот, охридско-струшкиот и кичевско-поречкиот регион, не беше регистриран ниту еден пациент со место на раѓање во овие предели (табела и графикон 3).

Во групата со клиничка дијагноза акутна одонтогена инфекција во скопскиот регион беше застапен најголемиот процент од пациентите (82.5%), додека во повардарието, брегалничкиот, кумановскиот, струмичко-радовишкиот, гевгелиско-валандовскиот и дебарско-реканскиот регион не беше регистриран ниту еден пациент со место на раѓање (табела и графикон 3).

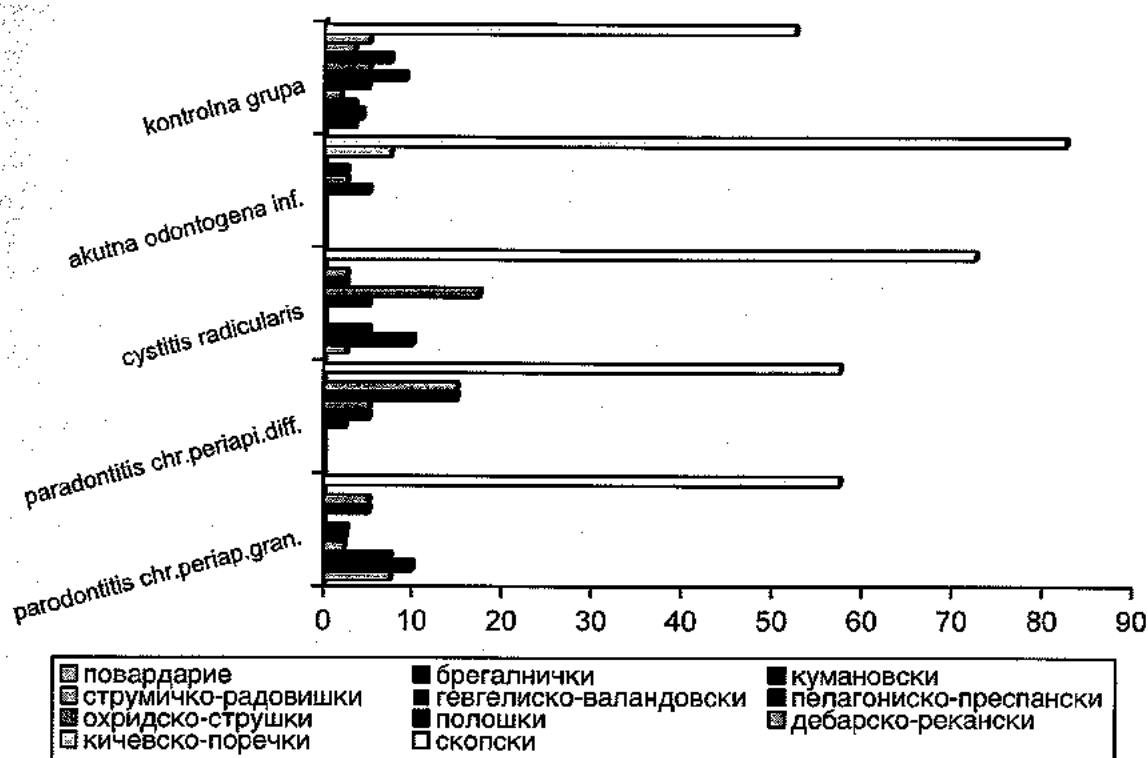
Табела 3. Дистрибуција на испитаниците според дијагноза и место на раѓање-регион

			Клиничка дијагноза				Конт-ролна група	Вкупно
			Parod. per. chr. gran.	Parod. per. chr. diffusa	Cystis radicul.	Акутна одонтогена инфекција		
Место на раѓање - регион	Повардарие	број	3	/	1	/	4	8
		%	75	/	2,5	/	3,3	2,8
	Брагалнички регион	број	4	/	4	/	5	13
		%	10	/	10	/	4,2	4,6
	Кумановски регион	број	3	/	2	/	4	9
		%	7,5	/	5	/	3,3	3,2
	Струмичко-радовишки регион	број	1	/	/	/	2	3
		%	2,5	/	/	/	1,7	1,1
	Гевгелиско-валандовски регион	број	1	1	/	/	6	8
		%	2,5	2,5	/		5	2,8
	Пелагониско-преспански регион	број	1	2	2	2	11	18
		%	2,5	5	5	5	9,2	6,4
	Охридско-струшки регион	број	1	2	/	1	6	10
		%	2,5	5	/	2,5	5	3,6
	Полошки регион	број	2	6	1	1	9	19
		%	5	15	2,5	2,5	7,5	6,8
	Дебарско-рекански регион	број	2	6	1	/	4	13
		%	5	15	2,5	/	3,3	4,6
	Кичевско-поречки регион	број	/	/	/	3	6	9
		%	/	/	/	7,5	5	3,2
	Скопски регион	број	23	23	29	33	63	171
		%	57,5	57,5	72,5	82,5	52,5	61,1
Вкупно		број	40	40	40	40	120	280

Исто така, како и во останатите, така и во контролната група со најголем процент е застапен скопскиот регион (52.5%), а во струмичко-радовишкиот регион беше регистриран најмал број на пациенти (2, 5%) (табела и графикон 3).

Од анализата на резултатите за корелацијата помеѓу местото на раѓање и полиморфизмот на гените за ММП-1, -8 и -13 утврдивме дека не се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу место на раѓање и полиморфизмот на гените ММП -1, -8, -13 кај клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa (Pearson Chi-square: 24.2530, df=20, p=0.231548; Pearson Chi-square: 16.3701, df=20, p=0.693406; Pearson Chi-square: 20.2459, df=20, p=0.442658; Pearson Chi-square: 22.1178, df=20, p=0.334178; Pearson Chi-square: 17.3874, df=20, p=0.627687).

Графикон 3. Графички приказ на клиничките дијагнози и местото на раѓање-регион



Исто така, не се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу место на раѓање и полиморфизмот на гените ММП -1,-8, -13 кај клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa (Pearson Chi-square: 29.0915, df=20, p=0.086004; Pearson Chi-square: 17.4916, df=20, p=0.620855; Pearson Chi-square: 20.8392, df=20, p=0.406668; Pearson Chi-square: 23.8439, df=20, p=0.249311; Pearson Chi-square: 17.1107, df=20, p=0.645766).

Кај клиничката дијагноза Cystis radicularis не се регистрираше статистички сигнификантна зависност помеѓу место на раѓање и полиморфизмот на гените ММП -1, -8, -13 (Pearson Chi-square: 29.8925, df=20, p=0.171644; Pearson Chi-square: 19.1672, df=20, p=0.510993; Pearson Chi-square: 15.6893, df=20, p=0.735693; Pearson Chi-square:

22.7353, df=20, p=0.302005; Pearson Chi-square: 16.5253, df=20, p=0.683542;

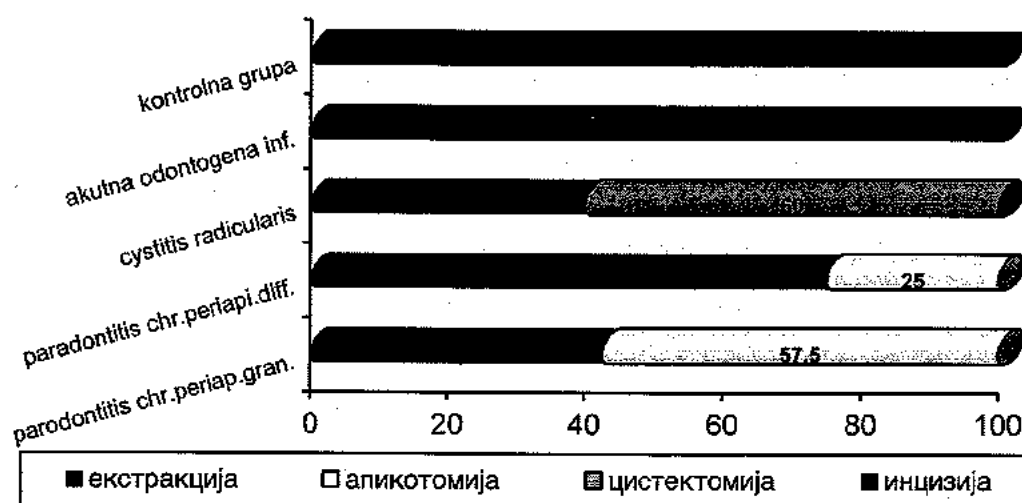
Помеѓу возраста и полиморфизмот на гените ММП -1, -8, -13 кај клиничката дијагноза акутна одонтогена инфекција не се регистрира статистички сигнификантна зависност (Pearson Chi-square: 23.2665, df=22, p=0.386834; Pearson Chi-square: 22.5630, df=22, p=0.426761; Pearson Chi-square: 33.5095, df=22, p=0.055087; Pearson Chi-square: 20.0161, df=22, p=0.582034).

5.2. Анализа на резултатите добиени од клиничките испитувања и корелација со полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13

Табела 4. Дистрибуција на испитаниците според дијагноза и терапија

			Клиничка дијагноза				Контролна група	Вкупно
			Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	Parodontitis periapicalis chronica diffusa	Cystis radicularis	Акутна одонтогена инфекција		
Тераписка постапка	екстракција	број	17	30	16	/	120	183
		%	42,5	75	40	/	100	65,3
	аликотомија	број	23	10	/	/	/	33
		%	57,5	25	/	/	/	11,8
	цистектомија	број	/	/	24	/	/	24
		%	/	/	60	/	/	8,6
	инцизија	број	/	/	/	40	/	40
		%	/	/	/	100	/	14,3
Вкупно		број	40	40	40	40	120	280

Графикон 4. Графички приказ на клиничките дијагнози и терапија



Во групата со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa со најголем процент е застапена апикотомијата со 57.5% како терапевска постапка, додека 42.5% од забите беа екстрахирани (табела и графикон 4).

Исто така и во групата со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa со најголем процент е застапена екстракцијата (75%), додека кај 25% од пациентите беше извршена апикотомија како терапевска постапка (табела и графикон 4).

Во групата со клиничка дијагноза Cystis radicularis во најголем процент е застапена цистектомијата (60%) како терапевска постапка, а 40% од забите кај овие пациенти се екстрахираа (табела и графикон 4).

Кај пациентите од сите испитувани групи беше регистрирано постоењето или отсуството на одредено хронично заболување.

Табела 5. Дистрибуција на испитаниците според дијагноза и системско заболување

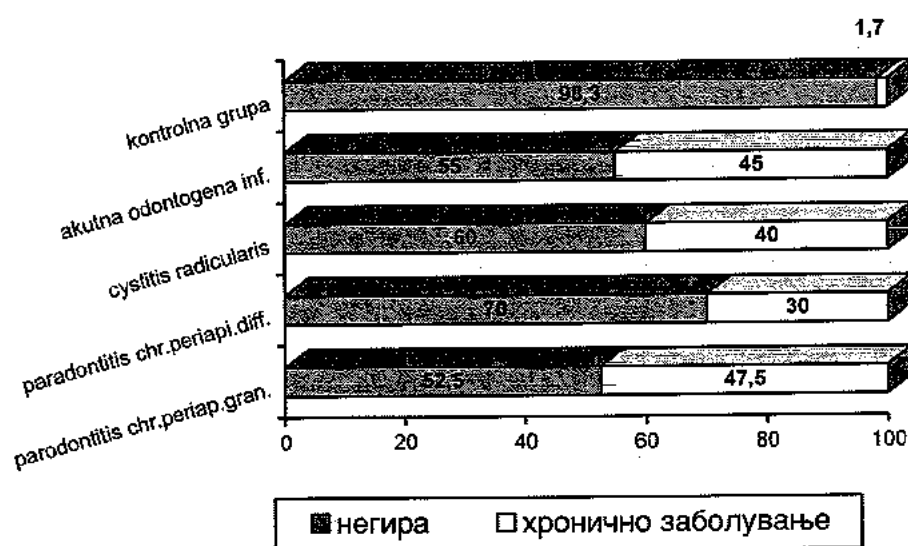
			Клиничка дијагноза				Контролна група	Вкупно
			Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	Parodontitis periapicalis chronica diffusa	Cystis radicularis	Акутна одонтогена инфекција		
Хронично заболување	негира	број	21	28	24	22	118	213
		%	52,5	70	60	55	98,3	76,1
	има	број	19	12	16	18	2	67
		%	47,5	30	40	45	1,7	23,9
Вкупно		број	40	40	40	40	120	280

Во групата со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa во најголем процент (52.5%) пациентите негираа присуство на хронично заболување, а 47.4% пријавија постоење на хронично заболување (табела и графикон 5).

Во групата со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa пациентите во најголем процент (70%) негираа постоење на хронично заболување, додека кај 30% се регистрираше присуство на хронично заболување (табела и графикон 5).

Во групата со клиничка дијагноза *Cystitis radicularis* поголем процент (60%) од пациентите негираа постоење на хронично заболување, а 40% пријавија присуство на хронично заболување (табела и графикон 5).

Графикон 5. Графички приказ на клиничките дијагнози и системско заболување



Во групата со клиничка дијагноза акутна одонтогена инфекција пациентите во најголем процент (55.5%) негираа постоење на хронично заболување, а кај 45% се регистрираше присуство на хронично заболување (табела и графикон 5).

Во контролната група пациентите во најголем процент (98.3%) негираа постоење на хронично заболување, а кај 1.7% беше регистрирано присуство на хронично заболување (табела и графикон 5).

Анализата на резултатите од корелацијата помеѓу појавата на хронично заболување и полиморфизмот на гените за ММП-1, -8 и -13 потврди дека постои статистички сигнификантна зависност помеѓу системското заболување кај пациентите и полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13 кај клиничката дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa* (Pearson Chi-square: 22.7120, df=2, p=0.000012; Pearson Chi-square: 13.4756, df=2, p=0.001186; Pearson Chi-square: 12.9297, df=2, p=0.001558; Pearson Chi-square: 8.39749, df=2, p=0.015017; Pearson Chi-square: 28.7714, df=2, p=0.000001).

Исто така, се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу системското заболување кај пациентите и полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI*, како и кај полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 кај клиничката дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa* (Pearson

Chi-square: 16.9210, df=2, p=0.000212; Pearson Chi-square: 7.15295, df=2, p=0.027978). Од анализата на резултатите од корелацијата помеѓу појавата на хронично заболување и полиморфизмот на гените за ММП-1, -8 и -13 не се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу системското заболување кај пациентите и полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *XmnI*, полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *AclI*, како и кај полиморфизмот на генот за ММП-8, кај клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa (Pearson Chi-square: 5.41892, df=2, p=0.066578; Pearson Chi-square: 5.94912, df=2, p=0.051074; Pearson Chi-square: 4.68509, df=2, p=0.096088).

Анализата покажа постоење на статистички сигнификантна зависност помеѓу системското заболување кај пациентите и полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI* кај пациентите со клиничка дијагноза Cystis radicularis (Pearson Chi-square: 16.6050, df=2, p=0.000248). Меѓутоа не се регистрираше статистички сигнификантна зависност помеѓу системското заболување кај пациентите и полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *XmnI*, полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *AclI*, како и кај полиморфизмот на генот за ММП-8 и ММП-13 (Pearson Chi-square: 1.88486, df=2, p=0.389684; Pearson Chi-square: 4.36186, df=2, p=0.112942; Pearson Chi-square: 0.230550, df=2, p=0.891121; Pearson Chi-square: 0.224099, df=2, p=0.894000).

Статистички сигнификантна зависност се регистрираше помеѓу системското заболување кај пациентите и полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13 кај пациентите со клиничка дијагноза акутна одонтогена инфекција (Pearson Chi-square: 11.8413, df=2, p=0.002684; Pearson Chi-square: 12.8940, df=2, p=0.001586; Pearson Chi-square: 16.7267, df=2, p=0.000233; Pearson Chi-square: 10.9090, df=2, p=0.004278; Pearson Chi-square: 19.0798, df=2, p=0.000072).

Со табела 6 и графикон 6 е даден приказ на позитивната симптоматологија (CPI индекс) кај пациентите со хроничен периапикален процес и акутна одонтогена инфекција. Овие податоци го прикажуваат постоењето на клинички симптоми во периодот на закажување или изведување на орално-хируршката интервенција, а манифестацијата на знаците е означена со CPI индексот (clinical periapical index).

Во групата со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa пациентите во најголем процент (52.5%) немаат субјективни симптоми ниту манифестни клинички знаци, а кај 47.4% беа регистрирани субјективни симптоми (табела и графикон 6).

Во групата со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa кај

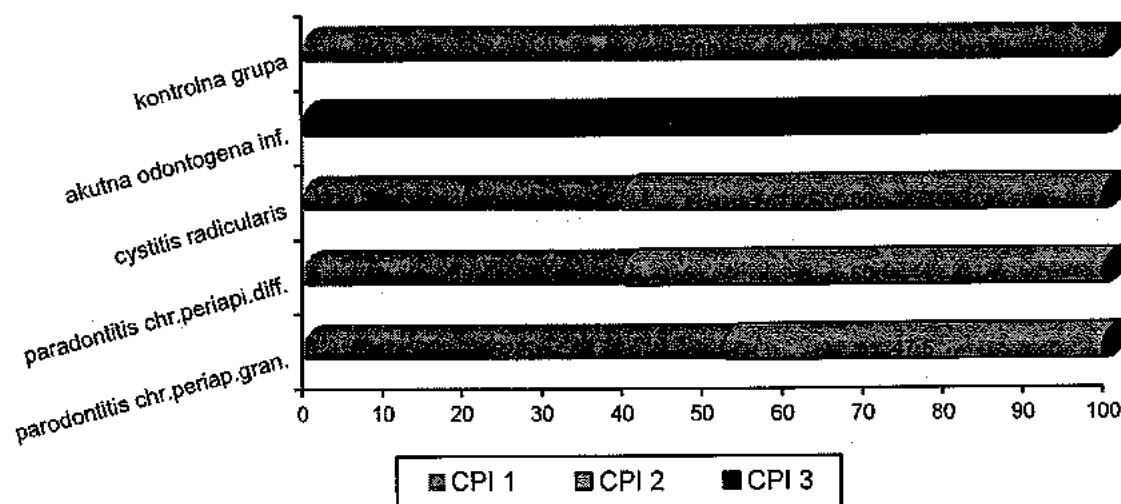
најголем процент (40%) од пациентите не беа регистрирани субјективни симптоми ниту манифестни клинички знаци, додека кај 60% се регистрира болка при палпација и перкусија (табела и графикон 6).

Во групата со клиничка дијагноза Cystis radicularis кај 40% од пациентите не се утврди постоење на субјективни симптоми и манифестни клинички знаци, додека 60% имаа болка при перкусија и палпација (табела и графикон 6).

Табела 6. Дистрибуција на испитаниците според дијагноза и CPI индекс

			Клиничка дијагноза				Контролна група	Вкупно
			Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	Parodontitis periapicalis chronica diffusa	Cystitis radicularis	Акутна одонтогена инфекција		
CPI индекс	1	број	21	16	16	/	120	173
		%	52,5	40	40	/	100	61,8
	2	број	19	24	24	/	/	67
		%	47,5	60	60	/	/	23,9
	3	број	/	/	/	40	/	40
		%	/	/	/	100	/	14,3
Вкупно		број	40	40	40	40	120	280

Графикон 6. Графички приказ на клиничките дијагнози и CPI индекс



Во групата со клиничка дијагноза акутна одонтогена инфекција кај сите пациенти (100%) беше регистрирано присуство на оток или фистула (табела и графикон 6).

Кај пациентите од контролната група не беа регистрирани ниту субјективни симптоми ниту манифестни клинички знаци (табела и графикон 6).

Од анализата на податоците за корелацијата на CPI индексот со полиморфизмот за гените на ММП-1, -8 и -13 се регистрираше статистички сигнификантна зависност помеѓу CPI индексот и полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13 кај клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa (Pearson Chi-square: 16.3442, df=2, p=0.000283; Pearson Chi-square: 23.1296, df=2, p=0.000010; Pearson Chi-square: 13.5999, df=2, p=0.001114; Pearson Chi-square: 19.2677, df=2, p=0.000066; Pearson Chi-square: 23.3858, df=2, p=0.000008)

Исто така, се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу CPI индексот и полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и 13 кај клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa (Pearson Chi-square: 18.5304, df=2, p=0.000095; Pearson Chi-square: 31.0738, df=2, p=0.000000; Pearson Chi-square: 46.6059, df=2, p=0.000000; Pearson Chi-square: 13.2140, df=2, p=0.001351; Pearson Chi-square: 35.5251, df=2, p=0.000000)

Резултатите од анализата на податоците за корелацијата на CPI индексот со полиморфизмот за гените на ММП-1, -8 и -13 покажаа дека постои статистички сигнификантна зависност помеѓу CPI индексот и полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13 кај клиничката дијагноза Cystis radicularis (Pearson Chi-square: 16.5740, df=2, p=0.000252; Pearson Chi-square: 20.2274, df=2, p=0.000041; Pearson Chi-square: 28.6554, df=2, p=0.000001; Pearson Chi-square: 11.7556, df=2, p=0.002802; Pearson Chi-square: 20.1805, df=2, p=0.000042).

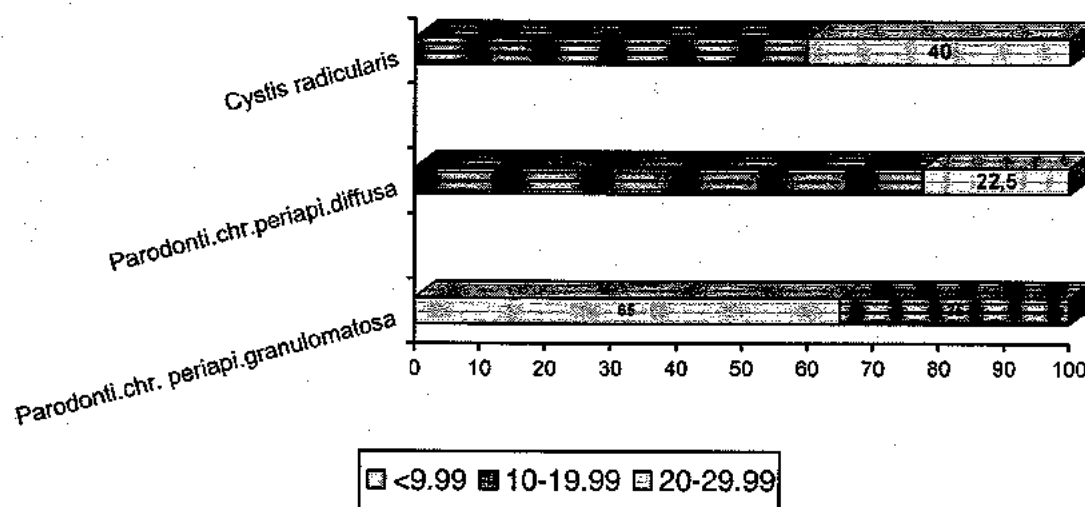
Од рендгенограмските снимки преку софтверска пределеција беше пресметана големината на лезијата и изразена во mm². Хроничните периапикални лезии со различна клиничка дијагноза кај пациентите со хроничен периапикален процес меѓусебно се разликуваа според својата големина (табела 7).

Во групата со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa Rtg големината на хроничната периапикална лезија под 9.99 mm² е застапена со 65%, од 10 до 19.99 mm² е застапена со 35% (табела и графикон 7).

Табела 7. Дистрибуција на испитаниците според дијагноза и Rtg големината на хроничната периапикална лезија

			Клиничка дијагноза			Вкупно
			Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	Parodontitis periapicalis chronica diffusa	Cystis radicularis	
Rtg (mm ²)	< 9,99	број	26	/	/	26
		%	65	/	/	9,3
	10-19,99	број	14	31	24	69
		%	35	77,5	60	24,6
	20-29,99	број	/	9	16	25
		%	/	22,5	40	8,9
Вкупно		број	40	40	40	280

Графикон 7. Графички приказ на клиничките дијагнози и Rtg големината на хроничната периапикална лезија



Во групата со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa Rtg големината на хроничната периапикална лезија од 10-19.99 mm² застапена е со 77.5%, од 20 до 29.99 застапена е со 22.5% (табела и графикон 7).

Во групата со клиничка дијагноза Cystis radicularis Rtg големината на хроничната периапикална лезија од 10-19.99 mm² е застапена со 60%, од 20 до 29.99 е застапена со 40% (табела и графикон 7).

Анализата на податоците од корелацијата помеѓу Rtg големината на хроничната периапикална лезија и полиморфизмот на гените за ММП -1, -8 и -13 покажа дека не се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу Rtg големината на хроничната периапикална лезија кај пациентите и полиморфизмите на гените за ММП -1, -8 и -13 кај клиничката дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa* (Pearson Chi-square: 5.29786, df=2, p=0.070732; Pearson Chi-square: 5.95151, df=2, p=0.051013; Pearson Chi-square: 2.35559, df=2, p=0.307961; Pearson Chi-square: 1.90280, df=2, p=0.386203; Pearson Chi-square: 1.31868, df=2, p=0.517194).

Исто така, не се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу Rtg големината на хроничната периапикална лезија кај пациентите и полиморфизмите на гените за ММП -1, -8 и -13 кај клиничката дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa* (Pearson Chi-square: 2.67990, df=2, p=0.261863; Pearson Chi-square: 0.297767, df=2, p=0.861670; Pearson Chi-square: 0.573477, df=2, p=0.750709; Pearson Chi-square: 4.65195, df=2, p=0.097693; Pearson Chi-square: 0.884834, df=2, p=0.642483).

Како и кај предходните две клинички дијагнози и кај пациентите со клиничката дијагноза *Cystis radicularis* не се регистрираше статистички сигнификантна зависност помеѓу Rtg големината на хроничната периапикална лезија и полиморфизмите на гените за ММП -1, -8 и -13 (Pearson Chi-square: 0.902778, df=2, p=0.636744; Pearson Chi-square: 2.98701, df=2, p=0.224589; Pearson Chi-square: 2.03704, df=2, p=0.361133; Pearson Chi-square: 0.019063, df=2, p=0.990514; Pearson Chi-square: 1.97917, df=2, p=0.371735).

Дистрибуцијата на пациентите од сите испитувани групи според дијагнозата и бројот на екстрахирани заби е прикажана на табела 8 и графикон 8.

Најголем процент на екстрахирани заби се регистрира кај клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa* (52.5% и 27.5%) (табела и графикон 8).

На второ место според бројот на екстрахирани заби е групата со клиничка дијагноза акутна одонтогена инфекција (50% и 27.5%) (табела и графикон 8).

На трето место според бројот на екстрахирани заби е групата со клиничка дијагноза *Cystis radicularis* (42.5% и 27.5%) (табела и графикон 8).

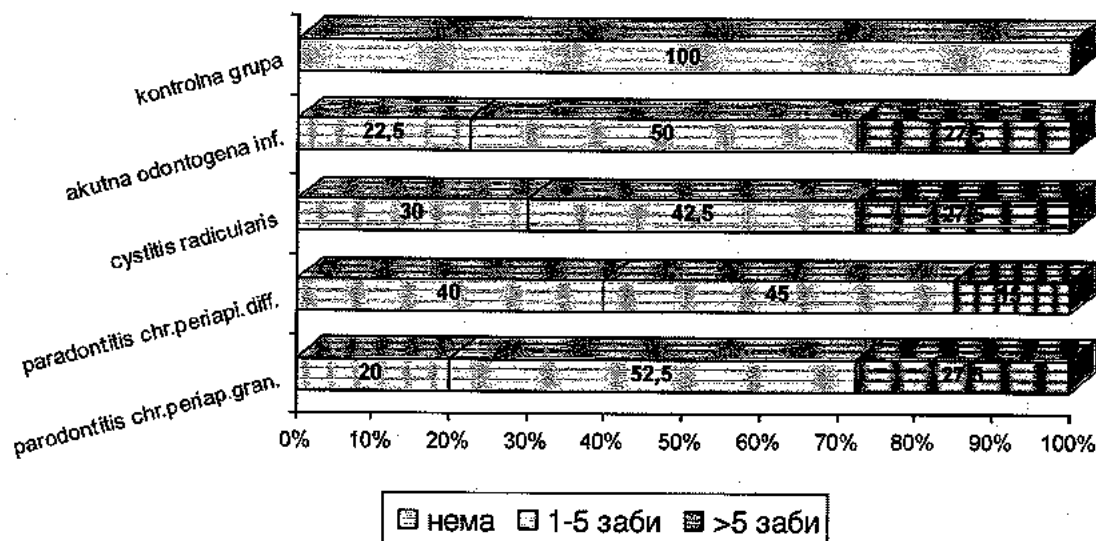
На четврто место според бројот на екстрахирани заби е групата со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa* (45% и 15%) (табела и графикон 8).

Во контролната група кај сите од испитаници немаше екстрахирани заби (табела и графикон 8).

Табела 8. Дистрибуција на испитаниците според дијагноза и бројот на екстактирани заби

			Клиничка дијагноза				Контролна група	Вкупно
			Parodontitis periap. chr. granul.	Parodontitis periap. chr. diffusa	Cystis radicularis	Акутна одонтогена инфекција		
Број на екстрахирани заби	Нема екстрах. заби	број	8	16	12	9	120	165
		%	20	40	30	22,5	100	58,9
	1-5 екстрах. заби	број	21	18	17	20	/	76
		%	52,5	45	42,5	50	/	27,1
	>5 екстрах. заби	број	11	6	11	11	/	39
		%	27,5	15	27,5	27,5	/	13,9
Вкупно		број	40	40	40	40	120	280

Графикон 8. Графички приказ на клиничките дијагнози и бројот на екстактирани заби



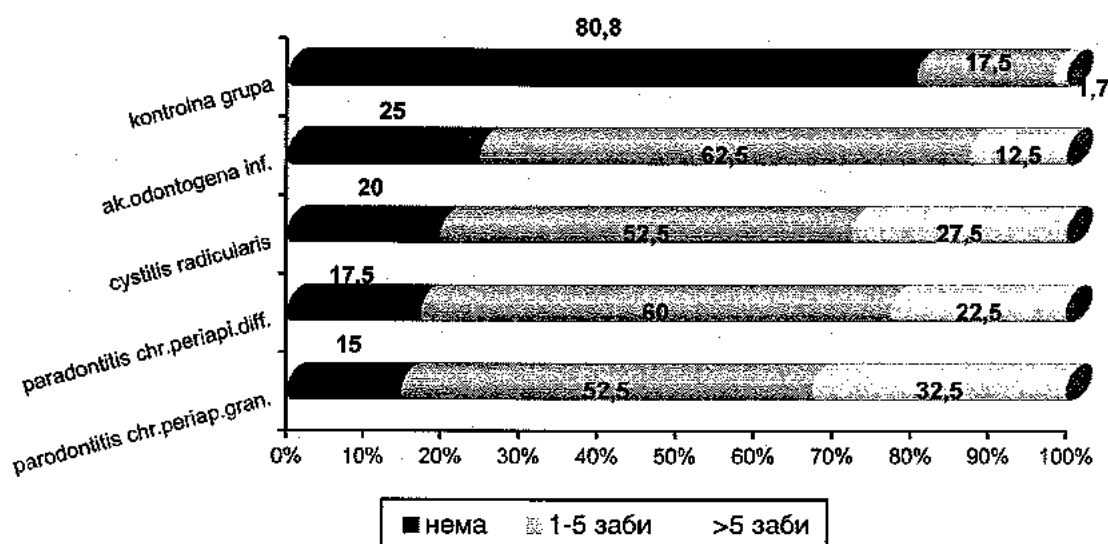
На табела 9 и графикон 9 е прикажана дистрибуцијата на пациентите од сите испитувани групи според дијагноза и бројот на кариозни заби.

Најголем процент на заби со кариозна лезија се регистрираше кај клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa (52.5% и 32.5%) (табела и графикон 9).

Табела 9. Дистрибуција на испитаниците според дијагноза и бројот на кариозни заби

			Клиничка дијагноза					Вкупно
			Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	Parodontitis periapicalis chronica diffusa	Cystis radicularis	Акутна одонтогена инфекција	Контро- лна груп	
Број на кариозни заби	Нема екстрахиран заб	број	6	7	8	10	97	128
		%	15	17,5	20	25	80,8	45,7
	1-5 кариозни заби	број	21	24	21	25	21	112
		%	52,5	60	52,5	62,5	17,5	40
	>5 кариозни заби	број	13	9	11	5	2	40
		%	32,5	22,5	27,5	12,5	1,7	14,3
	Вкупно	број	40	40	40	40	120	280

Графикон 9. Графички приказ на клиничките дијагнози и бројот на кариозни заби



На второ место според бројот на кариозни заби е групата со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa* (60.0% и 22.5%) (табела и графикон 9).

На трето место според бројот на кариозни заби е групата со клиничка дијагноза *Cystis radicularis* (52.5% и 27.5%) (табела и графикон 9).

На четврто место според бројот на кариозни заби е групата со клиничка дијагноза акутна одонтогена инфекција (62.5% и 12.5%) (табела и графикон 9).

Во контролната група 80.8% од испитаници немаа заби со кариозна лезија (табела и графикон 9).

Резултатите од анализата на податоците за корелацијата помеѓу бројот на кариозни заби и полиморфизмот на гените за ММП-1, -8 и -13 покажаа дека постои статистички сигнификантна зависност помеѓу бројот на кариозни заби и полиморфизмот на гените за ММП -1,-8 и -13 кај клиничката дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa* (Pearson Chi-square: 79.3666, df=4, p=0.000000; Pearson Chi-square: 60.8077, df=4, p=0.000000; Pearson Chi-square: 73.6663, df=4, p=0.000000; Pearson Chi-square: 133.665, df=4, p=0.000000; Pearson Chi-square: 90.6910, df=4, p=0.000000).

Исто така, се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу бројот на кариозни заби и полиморфизмот на гените за ММП -1,-8 и -13 кај клиничката дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa* (Pearson Chi-square: 63.1681, df=4, p=0.000000; Pearson Chi-square: 68.0748, df=4, p=0.000000; Pearson Chi-square: 169.921, df=4, p=0.000000; Pearson Chi-square: 105.294, df=4, p=0.000000; Pearson Chi-square: 89.2558, df=4, p=0.000000).

Од анализата на резултатите се регистрираше статистички сигнификантна зависност помеѓу бројот на кариозни заби и полиморфизмот на гените за ММП -1,-8 и -13 кај клиничката дијагноза *Cystis radicularis* (Pearson Chi-square: 51.9977, df=4, p=0.000000; Pearson Chi-square: 41.5895, df=4, p=0.000000; Pearson Chi-square: 78.6321, df=4, p=0.000000; Pearson Chi-square: 83.8298, df=4, p=0.000000; Pearson Chi-square: 60.6753, df=4, p=0.000000).

Статистички сигнификантна зависност се регистрираше и помеѓу бројот на кариозни заби и полиморфизмот на гените за ММП -1, -8 и -13 кај клиничката дијагноза акутна одонтогена инфекција (Pearson Chi-square: 56.0953, df=4, p=0.000000; Pearson Chi-square: 46.1689, df=4, p=0.000000; Pearson Chi-square: 123.273, df=4, p=0.000000; Pearson Chi-square: 124.760, df=4, p=0.000000; Pearson Chi-square: 110.465, df=4, p=0.000000).

Табела 10. Дистрибуција на испитаниците според дијагноза и бројот на ендодонтски третирани заби

			Клиничка дијагноза				Контролна група	Вкупно
			Parodontitis periap. chr. granulomatosa	Parodontitis periap. chr. diffusa	Cystitis radicularis	Акутна одонтогена инфекција		
Број на ендодонтски третирани заби	Нема ендодонтски третирани заб	број	13	15	14	17	120	179
		%	32,5	37,5	35	42,5	100	63,9
	1-5 ендодонтски третирани заби	број	20	18	19	16	/	73
		%	50	45	47,5	40	/	26,1
	>5 ендодонтски третирани заби	број	7	7	7	7	/	28
		%	17,5	17,5	17,5	17,5	/	10
	Вкупно		број	40	40	40	120	280

Дистрибуцијата на пациентите од сите испитувани групи според клиничката дијагноза и бројот на ендодонтски третирани заби е прикажана на табела 10 и графикон 10.

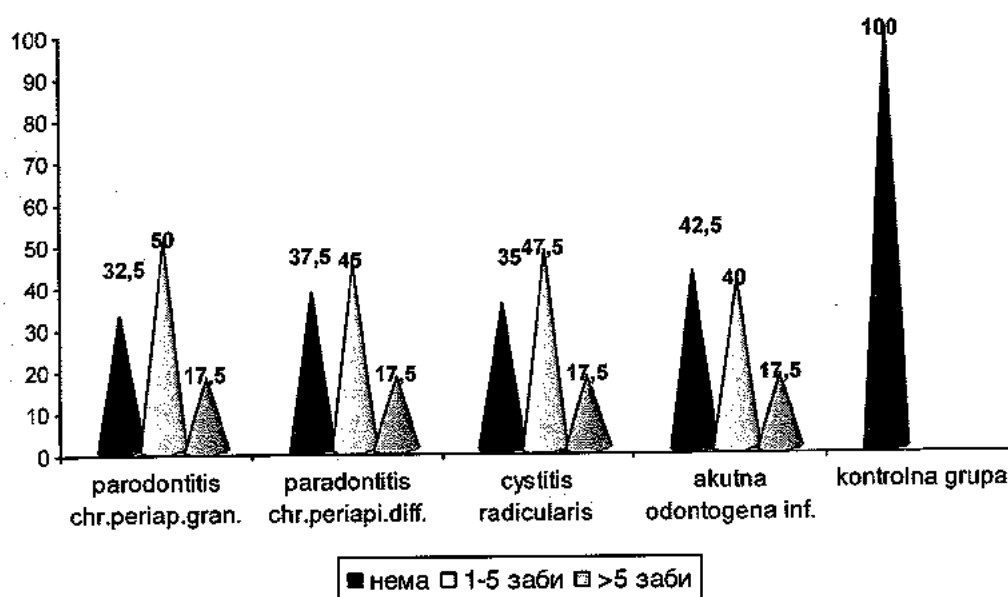
Најголем процент на ендодонтски третирани заби се регистрираат кај клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa (50.% и 17.5%) (табела и графикон 10).

На второ место според бројот на ендодонтски третирани заби е групата со клиничка дијагноза Cystitis radicularis (47.5% и 17.5%) (табела и графикон 10).

На трето место според бројот на ендодонтски третирани заби е групата со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa (45% и 17.5%) (табела и графикон 10).

На четврто место според бројот на ендодонтски третирани заби е групата со клиничка дијагноза акутна одонтогена инфекција (40.0% и 17.5%) (табела и графикон 10). Додека во контролната група ниту еден од испитаници немаше ендодонтски третирани заби (табела и графикон 10).

Графикон бр 10. Графички приказ на клиничките дијагнози и бројот на ендодонтски третирани заби

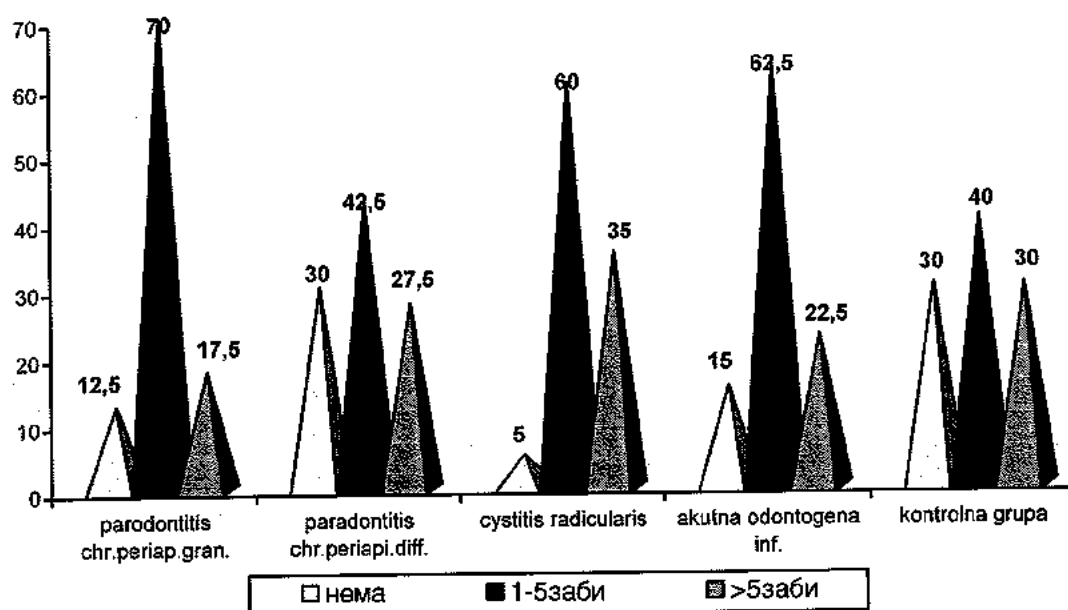


На табела 11 и графикон 11 е прикажана дистрибуцијата на пациентите од испитуваните групи според дијагнозата и бројот на заби под плomba кои не се ендодонтски третирани. Најголемиот процент на забите под плomba кои не се ендодонтски третирани се регистрираат кај клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa (70% и 17.5%) (табела и графикон 11).

Табела 11. Дистрибуција на испитаниците според дијагноза и бројот на забите под плomba кои не се ендодонтски третирани

			Клиничка дијагноза				Контролна група	Вкупно	
			Parodontitis periap. chr. granulomat	Parodontitis periap. chr. diffusa	Cystis radicularis	Акутна одонтогена инфекција			
Број на заби под плomba кои не се ендодонтски третирани	Нема заби под плomba не енд. трет.	број	5	12	2	6	36	61	
		%	12,5	30	5	15	30	21,8	
	1-5 заби под плomba не енд. трет.	број	28	17	24	25	48	142	
		%	70	42,5	60	62,5	40	50,7	
	>5 заби под плomba не енд. трет.	број	7	16	14	9	36	82	
		%	30	17,5	35	22,5	30	29,3	
	Вкупно		број	40	40	40	40	120	280

Графикон 11. Графички приказ на клиничките дијагнози и забите под пломба кои не се ендодонтски третирани



На второ место според забите под пломба кои не се ендодонтски третирани е групата со клиничка дијагноза Cystis radicularis (60% и 35%) (табела и графикон 11).

На трето место според забите под пломба кои не се ендодонтски третирани е групата со клиничка дијагноза акутна одонтогена инфекција (62.5% и 22.5%) (табела и графикон 11).

На четврто место според забите под пломба кои не се ендодонтски третирани е групата со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa (42.5% и 27.5%) (табела и графикон 11).

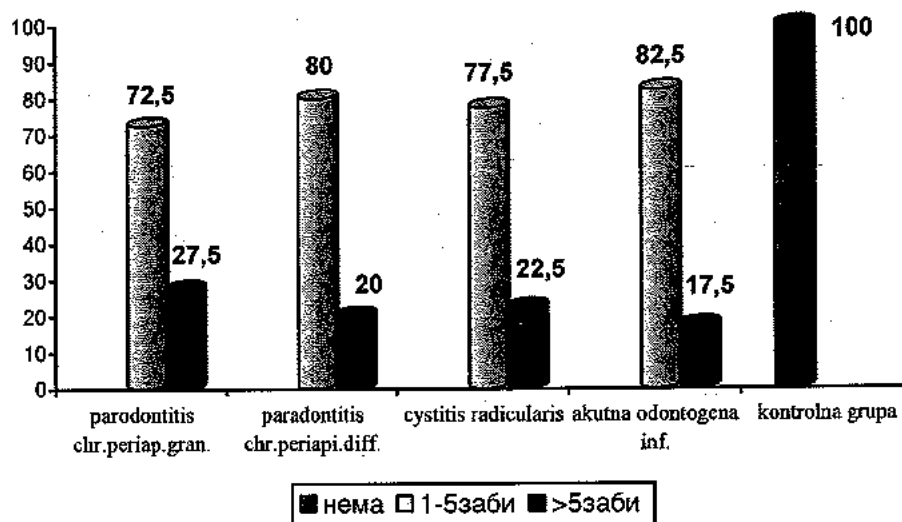
Во контролната група 70% од испитаници имаат забите под пломба кои не се ендодонтски третирани (табела и графикон 11).

Дистрибуцијата на пациентите од испитуваните групи според клиничката дијагноза и бројот на заби со хронична периапикална лезија е прикажана со табела 12 и графикон 12.

Табела 12. Дистрибуција на испитаниците според дијагноза и бројот на заби со хронична периапикална лезија

			Клиничка дијагноза					Вкупно
			Parodontitis periap. chr. granulomatosa	Parodontitis periap. chr. diffusa	Cystis radicularis	Акутна одонтогена инфекција	Контр- олна група	
Број на заби со хронична периапикална лезија	Нема заби со хронич. периапик. лезија	број	/	/	/	/	120	120
		%	/	/	/	/	100	42,9
	1-5 забисо хронич. периапик. лезија	број	29	32	31	33	/	125
		%	72,5	80	77,5	82,5	/	44,6
	>5 заби со хронич. периапик. лезија	број	11	8	9	7	/	35
		%	27,5	20	22,5	17,5	/	12,5
Вкупно		број	40	40	40	40	120	280

Графикон 12. Графички приказ на клиничките дијагнози и заби со хронична периапикална лезија



Најголем процент (82,5%) на заби со хронична апикална лезија се регистрираат кај клиничка дијагноза акутна одонтогена инфекција (табела и графикон 12). На второ место е групата со клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa, каде процентот на бројот на заби со хронична периапикална лезија изнесува 80% (табела и графикон 12).

На трето место е групата со клиничката дијагноза *Cystis radicularis*, каде процентот на бројот на заби со хронична периапикална лезија изнесува 77.5% (табела и графикон 12). На четврто место, пак, е групата со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa*, каде процентот на бројот на заби со хронична периапикална лезија изнесува 72.5% (табела и графикон 12).

Во контролната група кај ниту еден од пациентите не се регистрираа заби со хронична периапикална лезија (табела и графикон 12).

Анализата на податоците за корелацијата помеѓу бројот на забите со хронична периапикална лезија и полиморфизмот на гените за ММП-1, -8 и -13 потврди дека постои статистички сигнификантна зависност помеѓу бројот забите со хронична периапикална лезија и полиморфизмот на гените за колагеназите кај клиничката дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa* (Pearson Chi-square: 43.6212, $df=4$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 63.3085, $df=4$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 46.7197, $df=4$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 38.8500, $df=4$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 64.2087, $df=4$, $p=0.000000$).

Резултатите од анализата на податоците за корелацијата бројот на забите со хронична периапикална лезија и полиморфизмот на гените за ММП-1, -8 и -13 потврдија дека постои статистички сигнификантна зависност помеѓу бројот на забите со хронична периапикална лезија и полиморфизмот на гените за колагеназите кај клиничката дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa* (Pearson Chi-square: 22.7345, $df=4$, $p=0.000143$; Pearson Chi-square: 60.9790, $df=4$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 82.0977, $df=4$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 19.1538, $df=4$, $p=0.000734$; Pearson Chi-square: 59.3199, $df=4$, $p=0.000000$).

Статистички сигнификантна зависност се регистрираше и помеѓу бројот на забите со хронична периапикална лезија и полиморфизмот на гените ММП-1, -8 и -13 кај клиничката дијагноза *Cystis radicularis* (Pearson Chi-square: 22.0031, $df=4$, $p=0.000200$; Pearson Chi-square: 25.7999, $df=4$, $p=0.000035$; Pearson Chi-square: 60.5550, $df=4$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 25.6324, $df=4$, $p=0.000038$; Pearson Chi-square: 24.7247, $df=4$, $p=0.000057$).

Анализата на податоците за корелацијата помеѓу бројот на забите со хронична периапикална лезија и полиморфизмот на гените за ММП-1, -8 и -13 потврди дека постои статистички сигнификантна зависност помеѓу бројот на забите со хронична периапикална лезија и полиморфизмот на гените за колагеназите кај пациентите со акутна одонтогена инфекција (Pearson Chi-square: 68.4582, $df=4$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 72.2565, $df=4$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 73.5618, $df=4$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 56.0149, $df=4$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 76.8231, $df=4$, $p=0.000000$).

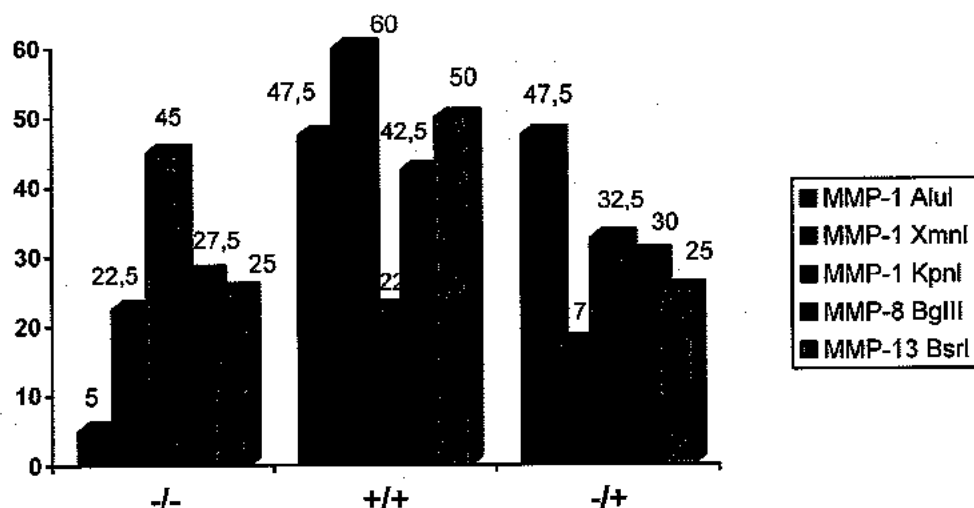
5.3. Анализа на резултатите добиени од лабораториските испитувања за полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13

Застапеноста на полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13 кај пациентите со клиничката дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa* е прикажана на табела 13 и графикон 13. Притоа хомозиготите за присуство на полиморфизам се означени со (+/+), хетерозиготите за присуство на полиморфизам со (-/+), а хомозиготите за отсуство на полиморфизам со (-/-).

Табела 13. Застапеност на полиморфизмот кај испитаниците со дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa*

Полимор- физам	N	ММП-1 <i>Alul</i>	ММП-1 <i>XmnI</i>	ММП-1 <i>KpnI</i>	ММП-8 <i>BglII</i>	ММП-13 <i>BsrI</i>
-/-	број	2	9	18	11	10
	%	5	22,5	45	27,5	25
+/+	број	19	24	9	17	20
	%	47,5	60	22,5	42,5	50
-/+	број	19	7	13	12	10
	%	47,5	17,5	32,5	30	25

Графикон 13. Графички приказ на застапеноста на полиморфизмот кај испитаниците со дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa*



Застапеноста на полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *Alul* кај испитаниците со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa*, изнесува 85%, односно по 47,5% и за хомозиготите (+/+) и за хетерозиготите (-/+) за присуство на полиморфизам. Застапеноста на

хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 5% (табела и графикон 13).

Застапеноста на полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *XmnI* кај испитаниците со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa* изнесува 77,5%, односно 60% за хомозиготите за присуство на полиморфизам (+/+), а 17,5% за хетерозиготите за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 22,5% (табела и графикон 13).

Застапеноста на полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI* кај испитаниците со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa*, изнесува 55%, односно 22,5% кај хомозиготните испитаници за присуство на полиморфизмот (+/+) и 32,5% за хетерозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 45% (табела и графикон 13).

Застапеноста на полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 детектиран со рекстрикциски ензим *BglII* кај испитаниците со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa*, изнесува 72,5%, односно 42,5% кај хомозиготите за присуство на полиморфизам (+/+) и 30% кај хетерозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 27,5% (табела и графикон 13).

Застапеноста на полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 детектиран со рестрикциски ензим *BsrI* кај испитаниците со дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa*, изнесуваше 75%, односно 50% кај хомозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (+/+), а 25% кај хетерозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 25% (табела и графикон 13).

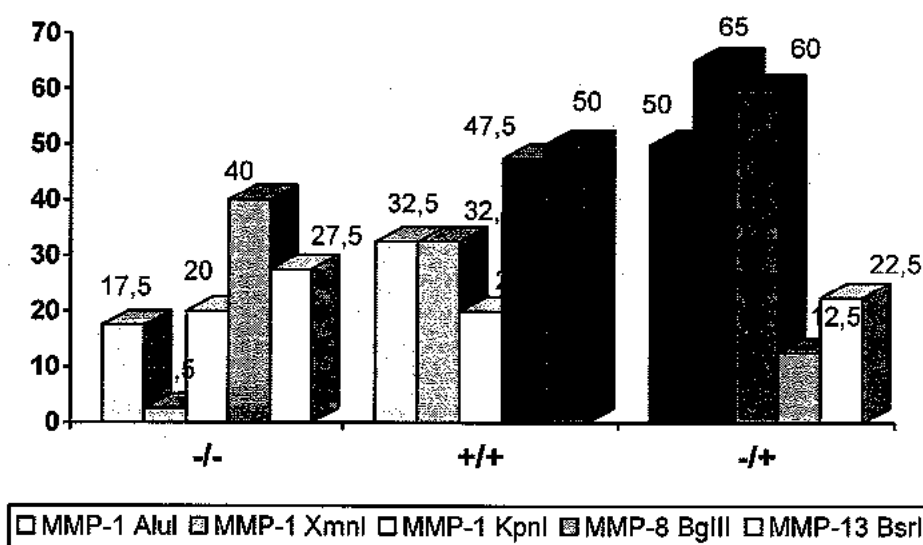
Застапеноста на полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13 кај пациентите со клиничката дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa* е прикажана на табела 14 и графикон 14.

Застапеноста на полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *AluI* кај испитаниците со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa*, изнесува 82,5%, односно 32,5% за хомозиготите (+/+) и 50% за хетерозиготите за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 17,5% (табела и графикон 14).

Табела 14. Застапеност на полиморфизмот кај испитаниците со дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa*

Поли- морфизам	N	ММП-1 <i>Alul</i>	ММП-1 <i>Xmnl</i>	ММП-1 <i>KpnI</i>	ММП-8 <i>BglII</i>	ММП-13 <i>BsrI</i>
-/-	број	7	1	8	16	11
	%	17,5	2,5	20	40	27,5
+/+	број	13	13	8	19	20
	%	32,5	32,5	20	47,5	50
-/+	број	20	26	24	5	9
	%	50	65	60	12,5	22,5

Графикон 14. Графички приказ на застапеноста на полиморфизмот кај испитаниците со дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa*



Застапеноста на полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *Xmnl* кај испитаниците со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa* изнесува 97,5%, односно 32,5% за хомозиготите за присуство на полиморфизам (+/+), а 65% за хетерозиготите за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 2,5% (табела и графикон 14).

Застапеноста на полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI* кај испитаниците со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa*, изнесува 80%, односно 20% кај хомозиготните испитаници за присуство на полиморфизмот (+/+) и 60% за хетерозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 20% (табела и графикон 14).

Застапеноста на полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 детектиран со рестрикциски ензим *Bgl*III кај испитаниците со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa*, изнесува 60%, односно 47,5% кај хомозиготите за присуство на полиморфизам (+/+) и 12% кај хетерозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 40% (табела и графикон 14).

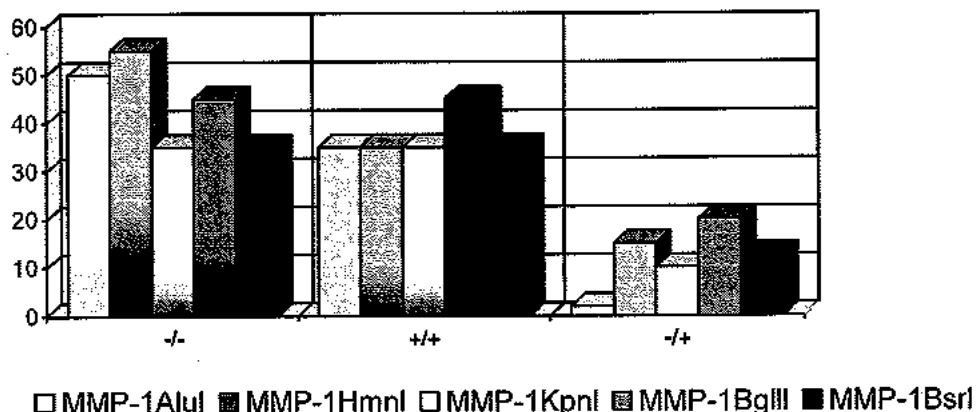
Застапеноста на полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 детектиран со рестрикциски ензим *Bsr*I кај испитаниците со дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa*, изнесуваше 72,5%, односно 50% кај хомозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (+/+), а 22,5% кај хетерозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 27,5% (табела и графикон 14).

Застапеноста на полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13 кај пациентите со клиничката дијагноза *Cystis radicularis* е прикажана на табела 15 и графикон 15.

Табела 15. Застапеност на полиморфизмот кај испитаниците со дијагноза *Cystis radicularis*

Поли-морфизам	N	ММП-1 <i>Alu</i> I	ММП-1 <i>Hma</i> II	ММП-1 <i>Kpn</i> I	ММП-8 <i>Bgl</i> III	ММП-13 <i>Bsr</i> I
-/-	број	20	22	18	17	24
	%	50	55	45	42,5	60
+/+	број	14	14	14	18	14
	%	35	35	35	45	35
-/+	број	6	4	8	5	2
	%	15	10	20	12,5	5

Графикон 15. Графички приказ на застапеноста на полиморфизмот кај испитаниците со дијагноза *Cystis radicularis*



Застапеноста на полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *AluI* кај испитаниците со клиничка дијагноза *Cystis radicularis*, изнесува 50%, односно 35% за хомозиготите (+/+) и 15% за хетерозиготите за присуство на полиморфизам (-/+). Подеднаква застапеност од 50% беше утврдена кај хомозиготите за отсуство на полиморфизмот (-/-) (табела и графикон 15).

Застапеноста на полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *XmnI* кај испитаниците со клиничка дијагноза *Cystis radicularis* изнесува 45%, односно 35% за хомозиготите за присуство на полиморфизам (+/+), а 10% за хетерозиготите за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 55% (табела и графикон 15).

Застапеноста на полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI* кај испитаниците со клиничка дијагноза *Cystis radicularis*, изнесува 55%, односно 35% кај хомозиготните испитаници за присуство на полиморфизмот (+/+) и 20% за хетерозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 45% (табела и графикон 15).

Застапеноста на полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 детектиран со рекстрикциски ензим *BglII* кај испитаниците со клиничка дијагноза *Cystis radicularis*, изнесува 57,5%, односно 45% кај хомозиготите за присуство на полиморфизам (+/+) и 12,5% кај хетерозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 42,5% (табела и графикон 15).

Застапеноста на полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 детектиран со рестрикциски ензим *BsrI* кај испитаниците со дијагноза *Cystis radicularis*, изнесуваше 40%, односно 35% кај хомозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (+/+), а 5% кај хетерозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 60% (табела и графикон 15).

Застапеноста на полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13 кај пациентите со клиничката дијагноза акутна одонтогена инфекција е прикажана на табела 16 и графикон 16.

Застапеноста на полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *AluI* кај испитаниците со клиничка дијагноза акутна одонтогена инфекција, изнесува 85%, односно 72,5% за хомозиготите (+/+) и 12,5% за хетерозиготите за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 15% (табела и

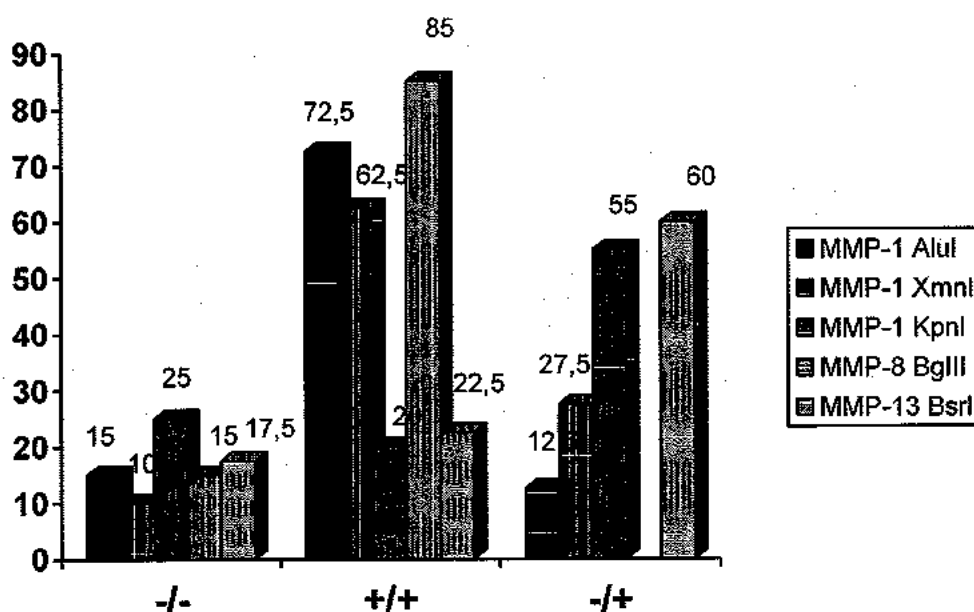
графикон 16).

Застапеноста на полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *XmnI* кај испитаниците со клиничка дијагноза акутна одонтогена инфекција изнесува 90%, односно 62,5% за хомозиготите за присуство на полиморфизам (+/+), а 27,5% за хетерозиготите за присуство на полиморфизам (-/+). Само кај 10% од испитаниците се регистрираше застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) (табела и графикон 16).

Табела 16. Застапеност на полиморфизмот кај испитаниците со дијагноза акутна одонтогена инфекција

Полиморфизам	N	ММП-1 <i>AluI</i>	ММП-1 <i>XmnI</i>	ММП-1 <i>KpnI</i>	ММП-8 <i>BglII</i>	ММП-13 <i>BsrI</i>
-/-	број	6	4	10	6	7
	%	15	10	25	15	17,5
+/+	број	29	25	8	27	9
	%	72,5	62,5	20	67,5	22,5
-/+	број	5	11	22	7	24
	%	12,5	27,5	55	17,5	60

Графикон 16. Графички приказ на застапеноста на полиморфизмот кај испитаниците со дијагноза акутна одонтогена инфекција



Застапеноста на полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI* кај испитаниците со клиничка дијагноза акутна одонтогена

инфекција, изнесува 70%, односно 55% кај хомозиготните испитаници за присуство на полиморфизмот (+/+) и 15% за хетерозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 30% (табела и графикон 16).

Застапеноста на полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 детектиран со рестрикциски ензим *Bgl*II кај испитаниците со клиничка дијагноза акутна одонтогена инфекција, изнесува 85%, односно 67,5% кај хомозиготите за присуство на полиморфизам (+/+) и 17,5% кај хетерозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 15% (табела и графикон 16).

Застапеноста на полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 детектиран со рестрикциски ензим *Bsr*I кај испитаниците со дијагноза акутна одонтогена инфекција, изнесуваше 82,5%, односно 22,55% кај хомозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (+/+), а 60% кај хетерозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 17,5% (табела и графикон 16).

Застапеноста на полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13 кај пациентите од контролната група е прикажана на табелата 17 и графиконот 17.

Застапеноста на полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *Alu*I кај испитаниците од контролната група изнесува 50,8%, односно 8,3% за хомозиготите (+/+) и 42,5% за хетерозиготите за присуство на полиморфизам (-/+). Кај хомозиготите за отсуство на полиморфизмот (-/-) застапеност изнесуваше 49,2% (табела и графикон 17).

Застапеноста на полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *Xmn*I кај испитаниците од контролната група, изнесува 30,8%, односно 5,8% за хомозиготите за присуство на полиморфизам (+/+), а 25,5 % за хетерозиготите за присуство на полиморфизам (-/+). Кај 69,2% од испитаниците се регистрираше застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) (табела и графикон 17).

Застапеноста на полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *Kpn*I кај испитаниците од контролната група, изнесува 9,2%, од кои сите се хетерозиготи за присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници е многу поголема и изнесуваше 90,8% (табела и графикон 17).

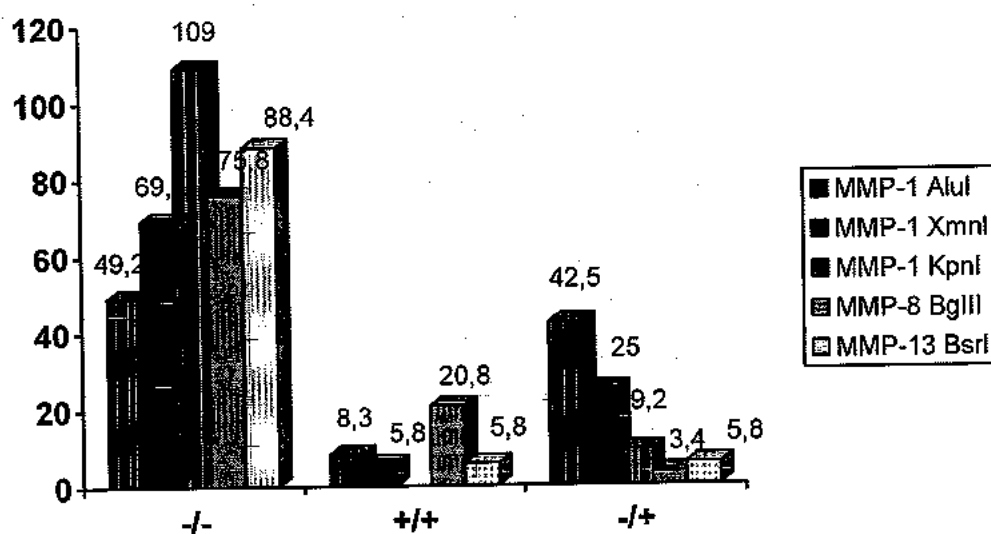
Застапеноста на полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 детектиран со рестрикциски ензим *Bgl*II кај испитаниците од контролната група, изнесува 24,2%, односно 20,8% кај хомозиготите (+/+) и 3,4% кај хетерозиготните испитаници за

присуство на полиморфизам (-/+). Застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници изнесуваше 75,8% (табела и графикон 17).

Табела 17. Застапеност на полиморфизмот кај испитаниците од контролната група

Полиморфизам	N	ММП-1 AluI	ММП-1 XmnI	ММП-1 KpnI	ММП-8 BglII	ММП-13 BsrI
-/-	број	59	83	109	91	106
	%	49,2	69,2	90,8	75,8	88,4
+/+	број	10	7	1	25	7
	%	8,3	5,8	1	20,8	5,8
-/+	број	51	30	11	4	7
	%	42,5	25	9,2	3,4	5,8

Графикон 17. Графички приказ на застапеноста на полиморфизмот кај испитаниците од контролната група



Застапеноста на полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 детектиран со рестрикциски ензим BsrI кај испитаниците, изнесуваше 11,6%, односно со подеднаков процент на застапеност од 5,8% и кај хомозиготните (+/+), и кај хетерозиготните испитаници за присуство на полиморфизам (-/+). Процентот на застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам (-/-) кај овие испитаници беше многу поголем 88,4% (табела и графикон 17).

Статистичката анализата на резултатите потврди дека постои статистички сигнификантна зависност помеѓу клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa и полиморфизмите на гените за ММП-1, -8, -13 (Pearson Chi-

square: 40.9120, df=2, p=0.000000; Pearson Chi-square: 57.5222, df=2, p=0.000000; Pearson Chi-square: 45.8285, df=2, p=0.000000; Pearson Chi-square: 37.6919, df=2, p=0.000000; Pearson Chi-square: 61.6493, df=2, p=0.000000).

Полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *AluI* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa (OR=18.38 <4.06<OR <115.46).

Полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *XmnI* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa (OR=7.73<3.1 <OR <19.55).

Полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa (OR=12.11<4.64 <OR <32.30).

Полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 детектиран со рекстрикциски ензим *BglII* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa (OR=8.27<3.44<OR<20.26).

Полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 детектиран со рестрикциски ензим *BsrI* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa (OR=22.71<8.44<OR <63.08).

Од статистичката анализата на резултатите се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa и полиморфизмите на гените за ММП-1, -8, -13 (Pearson Chi-square: 19.8616, df=2, p=0.000049; Pearson Chi-square: 56.1778, df=2, p=0.000000; Pearson Chi-square: 80.0221, df=2, p=0.000000; Pearson Chi-square: 17.9992, df=2, p=0.000124; Pearson Chi-square: 58.1947, df=2, p=0.000000).

Полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *AluI* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa (OR=4.56<1.75<OR<12.33).

Полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *XmnI* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa (OR=87.49<12.123<OR<177.6).

Полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa (OR=39.64<13.38<OR<123.14).

Полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 детектиран со рекстрикциски ензим *BglII* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa (OR=4.71<2.07<OR<10.80).

Полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 детектиран со рестрикциски ензим *BsrI* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa* ($OR=19.96<7.56<OR<54.24$).

Резултатите од статистичката анализа утврдија дека се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу клиничката дијагноза *Cystis radicularis* и полиморфизмите на гените за ММП-1, -8, -13 (Pearson Chi-square: 20.5949, $df=2$, $p=0.000034$; Pearson Chi-square: 23.5384, $df=2$, $p=0.000008$; Pearson Chi-square: 52.9045, $df=2$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 15.9391, $df=2$, $p=0.000346$; Pearson Chi-square: 22.4456, $df=2$, $p=0.000013$).

Полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза *Cystis radicularis* ($OR=12.11<4.64<OR<32.30$).

Полиморфизмите -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *AluI* и -1607 1G/2G на генот за ММП-1 со рестрикциски ензим *XmnI* не претставуваат ризик фактор за појава на клиничката дијагноза *Cystis radicularis*.

Полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 детектиран со рестрикциски ензим *BglII* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза *Cystis radicularis* ($OR=4.25<1.88<OR<9.68$).

Полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 детектиран со рестрикциски ензим *BsrI* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза *Cystis radicularis* ($OR=5.05<2.01<OR<12.79$).

Од статистичката анализа на резултатите се регистрира статистички сигнификантна зависност помеѓу клиничката дијагноза акутна одонтогена инфекција и полиморфизмите на гените за ММП-1, -8, -13 (Pearson Chi-square: 67.0100, $df=2$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 67.5540, $df=2$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 72.0373, $df=2$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 53.1432, $df=2$, $p=0.000000$; Pearson Chi-square: 75.0761, $df=2$, $p=0.000000$).

Полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *AluI* е ризик фактор за развој на клиничката дијагноза акутна одонтогена инфекција ($OR=3.87<1.37<OR<11.44$).

Полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *XmnI* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза акутна одонтогена инфекција ($OR=14.58<4.40<OR<53.39$).

Полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза акутна одонтогена инфекција ($OR=29.73<10.55<OR<87.3$).

Полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 детектиран со рестрикциски ензим *BglII* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза акутна одонтогена инфекција ($OR=17.78<6.30<OR<52.81$).

Полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 детектиран со рестрикциски ензим *BstI* е ризик фактор за појава на клиничката дијагноза акутна одонтогена инфекција ($OR=35.69<12.06<OR<109.89$).

5.4. Hardy- Weinberg-ов еквилибриум

Честотата на алелите се изразува преку бројот на генотиповите и преку честотата на генотиповите. Еден генски локус има два алеал. Честотата на алалот А (p) и алалот а (q) секогаш е единица ($p+q=1$). Доколку постои Hardy-Weinberg рамнотежа честотата на алелите нема да се менува од генерација на генерација. Со Hardy-Weinberg рамнотежа може да се предвиди честота на генотиповите ($p^2+2pq+q^2$) на основа на честотата на алелите (p,q).

5.4.1. Полиморфизам -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *XmnI*

a) Parodontitis chornica periapicalis granulomatosa

Генотип	1G/1G	1G/2G	2G/2G	Вкупно	Фреквенција на алели
Број n	9	7	24	40	80
алел 1G	18	7	0	25	0,31
алел 2G	0	7	48	55	0,69
Опсервирана фреквенција	9 (22,50%)	7 (17,50%)	24 (60,00%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	3,91 (9,77%)	17,19 (42,97%)	18,91 (47,27%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	6,642	6,038	1,372	14,053	
p – вредност				0,0002	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот 1G, $f(1G)$ е 0,31 додека на алелот 2G, $f(2G)$ е 0,69; $0,31+0,69=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(1G/1G)=0,2$; $f(1G/2G)=0,2$; $f(2G/2G)=0,6$. Бидејќи вредноста на $p<0.05$ ($p=0,0002$) постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

6) Parodontitis chornica periapicalis diffusa

Генотип	1G/1G	1G/2G	2G/2G	Вкупно	Фреквенција на адели
Број <i>n</i>	1	26	13	40	80
алел 1G	2	26	0	28	0,35
алел 2G	0	26	26	52	0,65
Опсервирана фреквенција	1 (2,50%)	26 (65,00%)	13 (32,50%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	4,90 (12,25%)	18,20 (45,50%)	16,90 (42,25%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	3,104	3,343	0,900	7,347	
p – вредност				0,0067	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот 1G, $f(1G)$ е 0,35 додека на алелот 2G, $f(2G)$ е 0,65, т.е. $0,35+0,65=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(1G/1G)=0,00$; $f(1G/2G)=0,7$; $f(2G/2G)=0,3$. Бидејќи вредноста на $p<0,05$ ($p=0,0067$) постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

в) Cystis radicularis

Генотип	1G/1G	1G/2G	2G/2G	Вкупно	Фреквенција на адели
Број <i>n</i>	22	4	14	40	80
алел 1G	44	4	0	48	0,60
алел 2G	0	4	28	32	0,40
Опсервирана фреквенција	22 (55,00%)	4 (10,00%)	14 (35,00%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	14,40 (36,00%)	19,20 (48,00%)	6,40 (16,00%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	4,011	12,033	9,025	25,069	
p – вредност				0,0000	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот 1G, $f(1G)$ е 0,60 додека на алелот 2G, $f(2G)$ е 0,40, т.е. $0,60+0,40=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(1G/1G)=0,5$; $f(1G/2G)=0,1$; $f(2G/2G)=0,4$. Бидејќи вредноста на $p<0,05$ ($p=0,0000$) постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

г) Акутна одонтогена инфекција

Генотип	1G/1G	1G/2G	2G/2G	Вкупно	Фреквенција на адели
Број n	4	11	25	40	80
алел 1G	8	11	0	19	0,24
алел 2G	0	11	50	61	0,76
Опсервирана фреквенција	4 (10,00%)	11 (27,50%)	25 (62,50%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	2,26 (5,64%)	14,49 (36,22%)	23,26 (58,14%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	1,348	0,840	0,131	2,318	
p – вредност				0,1279	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот 1G, $f(1G)$ е 0,24 додека на алелот 2G, $f(2G)$ е 0,76, т.е. $0,24+0,76=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(1G/1G)=0,1$; $f(1G/2G)=0,3$; $f(2G/2G)=0,6$. Бидејќи вредноста на $p>0.05$ ($p=0,1279$) не постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

д) Контролна група

Генотип	1G/1G	1G/2G	2G/2G	Вкупно	Фреквенција на адели
Број n	83	30	7	120	240
алел 1G	166	30	0	196	0,82
алел 2G	0	30	14	44	0,18
Опсервирана фреквенција	83 (69,17%)	30 (25,00%)	7 (5,83%)	120 (100,00%)	240
HW - Очекувана фреквенција	80,03 (66,69%)	35,93 (29,94%)	4,03 (3,36%)	120,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	0,110	0,980	2,182	3,272	
p – вредност				0,0705	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот 1G, $f(1G)$ е 0,82 додека на алелот 2G, $f(2G)$ е 0,18, т.е. $0,82+0,18=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(1G/1G)=0,7$; $f(1G/2G)=0,2$; $f(2G/2G)=0,1$. Бидејќи вредноста на $p>0.05$ ($p=0,0705$) не постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

5.4.2. Полиморфизам -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *AluI*

a) Parodontitis chornica periapicalis granulomatosa

Генотип	1G/1G	1G/2G	2G/2G	Вкупно	Фреквенција на адели
Број <i>n</i>	2	19	19	40	80
алел 1G	4	19	0	23	0,29
алел 2G	0	19	38	57	0,71
Опсервирана фреквенција	2 (5%)	19 (47,50%)	19 (47,50%)	40 (100,00%)	80
HW – Очекувана фреквенција	3,31 (8,27%)	16,39 (40,97%)	20,31 (50,77%)	40 (100,00%)	
cell Chi-sq	0,516	0,416	0,084	1,017	
p – вредност				0,3133	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот 1G, $f(1G)$ е 0,29 додека на алелот 2G, $f(2G)$ е 0,71, т.е. $0,29+0,71=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(1G/1G)=0,0$; $f(1G/2G)=0,5$; $f(2G/2G)=0,5$. Бидејќи вредноста на $p>0,05$ ($p=0,3133$) не постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

б) Parodontitis chornica periapicalis diffusa

Генотип	1G/1G	1G/2G	2G/2G	Вкупно	Фреквенција на адели
Број <i>n</i>	7	20	13	40	80
алел 1G	14	20	0	34	0,42
алел 2G	0	20	26	46	0,58
Опсервирана фреквенција	7 (17,50%)	20 (50,00%)	13 (32,50%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	7,23 (18,06%)	19,55 (48,88%)	13,23 (33,06%)	40 (100,00%)	
cell Chi-sq.	0,007	0,010	0,004	0,021	
p – вредност				0,8843	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот 1G, $f(1G)$ е 0,42 додека на алелот 2G, $f(2G)$ е 0,58, т.е. $0,42+0,58=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(1G/1G)=0,2$; $f(1G/2G)=0,5$; $f(2G/2G)=0,3$. Бидејќи вредноста на $p>0,05$ ($p=0,8843$) не постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

в) Cystis radicularis

Генотип	1G/1G	1G/2G	2G/2G	Вкупно	Фреквенција на алели
Број <i>n</i>	20	6	14	40	80
алел 1G	40	6	0	46	0,58
алел 2G	0	6	28	34	0,42
Опсервирана фреквенција	20 (50,00%)	6 (15,00%)	14 (35,00%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	13,23 (33,06%)	19,55 (48,88%)	7,23 (18,06%)	40 (100,00%)	
cell Chi-sq.	3,471	9,391	6,353	19,215	
p – вредност				0,0000	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот 1G, $f(1G)$ е 0,58 додека на алелот 2G, $f(2G)$ е 0,42, т.е. $0,58+0,42=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(1G/1G)=0,5$; $f(1G/2G)=0,2$; $f(2G/2G)=0,3$. Бидејќи вредноста на $p<0.05$ ($p=0,0000$) постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

г) Акутна одонтогена инфекција

Генотип	1G/1G	1G/2G	2G/2G	Вкупно	Фреквенција на алели
Број <i>n</i>	6	5	29	40	80
алел 1G	12	5	0	17	0,21
алел 2G	0	5	58	63	0,79
Опсервирана фреквенција	6 (15,00%)	5 (12,00%)	29 (72,50%)	40 (100,00%)	80
HW – Очекувана фреквенција	1,81 (4,52%)	13,39 (33,47%)	24,81 (62,02%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	9,737	5,255	0,709	15,701	
p – вредност				0,0001	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот 1G, $f(1G)$ е 0,21 додека на алелот 2G, $f(2G)$ е 0,79, т.е. $0,21+0,79=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(1G/1G)=0,2$; $f(1G/2G)=0,1$; $f(2G/2G)=0,7$. Бидејќи вредноста на $p<0.05$ ($p=0,0001$) постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

д) Контролна група

Генотип	1G/1G	1G/2G	2G/2G	Вкупно	Фреквенција на аели
Број <i>n</i>	59	51	10	120	240
алел 1G	118	51	0	169	0,70
алел 2G	0	51	20	71	0,30
Опсервирана фреквенција	59 (49,17%)	51 (42,50%)	10 (8,33%)	120 (100,00%)	240
HW - Очекувана фреквенција	59,50 (49,59%)	50,00 (41,66%)	10,50 (8,75%)	120,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	0,004	0,020	0,024	0,048	
p – вредност				0,8259	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот 1G, $f(1G)$ е 0,70 додека на алелот 2G, $f(2G)$ е 0,30, т.е. $0,70+0,30=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(1G/1G)=0,5$; $f(1G/2G)=0,4$; $f(2G/2G)=0,1$. Бидејќи вредноста на $p>0,05$ ($p=0,8259$) не постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

5.4.3. Полиморфизам -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI*

а) Parodontitis chornica periapicalis granulomatosa

Генотип	A/A	A/G	G/G	Вкупно	Фреквенција на аели
Број <i>n</i>	18	13	9	40	80
алел A	36	13	0	49	0,61
алел G	0	13	18	31	0,39
Опсервирана фреквенција	18 (45,00%)	13 (32,50%)	9 (22,50%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	15,01 (37,52%)	18,99 (47,47%)	6,01 (15,02%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	0,597	1,888	1,492	3,978	
p – вредност				0,0461	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот A, $f(A)$ е 0,61 додека на алелот G, $f(G)$ е 0,39, т.е. $0,61+0,39=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(A/A)=0,5$; $f(A/G)=0,3$; $f(G/G)=0,2$. Бидејќи вредноста на $p<0,05$ ($p=0,0461$) постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

6) Parodontitis chornica periapicalis diffusa

Генотип	A/A	A/G	G/G	Вкупно	Фреквенција на алели
Број <i>n</i>	8	24	8	40	80
алел A	16	24	0	40	0,35
алел G	0	24	16	40	0,65
Опсервирана фреквенција	8 (20,00%)	24 (60,00%)	8 (20,00%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	10,00 25,00%)	20,00 (50,00%)	10,00 (25,00%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	0,400	0,800	0,400	1,600	
p – вредност				0,2059	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот A, $f(A)$ е 0,35 додека на алелот G, $f(G)$ е 0,65, т.е. $0,35+0,65=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(A/A)=0,2$; $f(A/G)=0,6$; $f(G/G)=0,2$. Бидејќи вредноста на $p>0,05$ ($p=0,2059$) не постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

в) Cystis radicularis

Генотип	A/A	A/G	G/G	Вкупно	Фреквенција на алели
Број <i>n</i>	18	8	14	40	80
алел A	36	8	0	44	0,55
алел G	0	8	28	36	0,45
Опсервирана фреквенција	18 (45,00%)	8 (20,00%)	14 (35,00%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	12,10 (30,25%)	19,80 (49,50%)	8,10 (20,25%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	2,877	7,032	4,298	14,207	
p – вредност				0,0002	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот A, $f(A)$ е 0,55 додека на алелот G, $f(G)$ е 0,45, т.е. $0,55+0,45=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(A/A)=0,5$; $f(A/G)=0,2$; $f(G/G)=0,3$. Бидејќи вредноста на $p<0,05$ ($p=0,0002$) постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

г) Акутна одонтогена инфекција

Генотип	A/A	A/G	G/G	Вкупно	Фреквенција на адели
Број <i>n</i>	10	22	8	40	80
алел А	20	22	0	42	0,52
алел G	0	22	16	38	0,48
Опсервирана фреквенција	10 (25,00%)	22 (55,00%)	8 (20,00%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	11,03 (27,56%)	19,95 (49,88%)	9,03 (22,56%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	0,095	0,211	0,116	0,422	
p – вредност				0,5158	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот А, $f(A)$ е 0,52 додека на алелот G, $f(G)$ е 0,48, т.е. $0,52+0,48=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(A/A)=0,2$; $f(A/G)=0,6$; $f(G/G)=0,2$. Бидејќи вредноста на $p>0,05$ ($p=0,5158$) не постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

д) Контролна група

Генотип	A/A	A/G	G/G	Вкупно	Фреквенција на адели
Број <i>n</i>	109	11	0	120	120
алел А	218	11	0	229	0,95
алел G	0	11	0	11	0,05
Опсервирана фреквенција	109 (90,83%)	11 (9,17%)	0 (100,00%)	120 (100,00%)	240
HW - Очекувана фреквенција	109,25 (91,04%)	109,25 (91,04%)	120 (100,00%)	120,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	0,001	0,001	0,277	0,277	
p – вредност				0,5988	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот А, $f(A)$ е 0,95 додека на алелот G, $f(G)$ е 0,05, т.е. $0,95+0,05=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(A/A)=0,9$; $f(A/G)=0,1$; $f(G/G)=0,0$. Бидејќи вредноста на $p>0,05$ ($p=0,5988$) не постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

5.4.4. Полиморфизам -799 C/T на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим BglII

a) Parodontitis chornica periapicalis granulomatosa

Генотип	C/C	C/T	T/T	Вкупно	Фреквенција на аели
Број <i>n</i>	11	12	17	40	80
алел С	22	12	0	34	0,43
алел Т	0	12	34	46	0,58
Опсервирана фреквенција	11 (27,50%)	12 (30,00%)	17 (42,50%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	7,23 (18,06%)	19,55 (48,88%)	13,23 (33,23%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	1,972	2,916	1,078	5,966	
p – вредност				0,0146	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот С, $f(C)$ е 0,43 додека на алелот Т, $f(T)$ е 0,58, т.е. $0,43+0,58=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(C/C)=0,3$; $f(C/T)=0,3$; $f(T/T)=0,4$. Бидејќи вредноста на $p<0.05$ ($p=0,0146$) постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

б) Parodontitis chornica periapicalis diffusa

Генотип	C/C	C/T	T/T	Вкупно	Фреквенција на аели
Број <i>n</i>	16	5	19	40	80
алел С	32	5	0	37	0,46
алел Т	0	5	38	43	0,54
Опсервирана фреквенција	16 (40,00%)	5 (12,50%)	19 (47,50%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	8,56 (21,39%)	19,89 (49,72%)	11,56 (28,89%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	6,476	11,145	4,795	22,415	
p – вредност				0,0000	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот С, $f(C)$ е 0,43 додека на алелот Т, $f(T)$ е 0,58, т.е. $0,43+0,58=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(C/C)=0,4$; $f(C/T)=0,1$; $f(T/T)=0,5$. Бидејќи вредноста на $p<0.05$ ($p=0,0000$) постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

в) *Cystis radicularis*

Генотип	C/C	C/T	T/T	Вкупно	Фреквенција на адели
Број <i>n</i>	17	5	18	40	80
алел C	34	5	0	39	0,49
алел T	0	5	36	41	0,51
Опсервирана фреквенција	17 (42,50%)	5 (12,50%)	18 (45,00%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	9,51 (23,77%)	19,99 (49,97%)	10,51 (26,27%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	5,907	11,238	5,354	22,491	
p – вредност				0,0000	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот C, $f(C)$ е 0,43 додека на алелот T, $f(T)$ е 0,49, т.е. $0,49+0,51=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(C/C)=0,4$; $f(C/T)=0,1$; $f(T/T)=0,5$. Бидејќи вредноста на $p<0.05$ ($p=0,0000$) постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

г) Акутна одонтогена инфекција

Генотип	C/C	C/T	T/T	Вкупно	Фреквенција на адели
Број <i>n</i>	6	0	34	40	80
алел C	12	0	0	12	0,15
алел T	0	0	68	68	0,85
Опсервирана фреквенција	6 (15,00%)	0 (0,00%)	34 (85,00%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	0,90 (2,25%)	10,20 (25,50%)	28,90 (72,25%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	28,900	10,200	0,900	40,000	
p – вредност				0,0000	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот C, $f(C)$ е 0,15 додека на алелот T, $f(T)$ е 0,85, т.е. $0,15+0,85=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(C/C)=0,1$; $f(C/T)=0$; $f(T/T)=0,9$. Бидејќи вредноста на $p<0.05$ ($p=0,0000$) постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

д) Контролна група

Генотип	C/C	C/T	T/T	Вкупно	Фреквенција на адели
Број <i>n</i>	91	4	25	120	240
алел C	182	4	0	184	0,78
алел T	0	4	50	54	0,23
Опсервирана фреквенција	91 (75,83%)	4 (3,33%)	25 (20,83%)	120 (100,00%)	240
HW - Очекувана фреквенција	72,08 (60,06%)	41,85 (34,88%)	6,08 (5,06%)	120,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	4,969	34,232	58,956	98,157	
p – вредност				0,0000	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот C, $f(C)$ е 0,78 додека на алелот T, $f(T)$ е 0,23, т.е. $0,78+0,23=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(C/C)=0,7$; $f(C/T)=0,1$; $f(T/T)=0,2$. Бидејќи вредноста на $p<0.05$ ($p=0,0000$) постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

5.4.5. Полиморфизам -77 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим BstI

а) Parodontitis chornica periapicalis granulomatosa

Генотип	A/A	A/G	G/G	Вкупно	Фреквенција на адели
Број <i>n</i>	10	10	20	40	80
алел A	20	10	0	30	0,38
алел G	0	10	40	50	0,62
Опсервирана фреквенција	10 (25,00%)	10 (25,00%)	20 (50,00%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	5,63 (14,06%)	18,75 (46,88%)	15,63 (39,06%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	3,403	4,083	8,711	40,000	
p – вредност				0,0032	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот A, $f(A)$ е 0,38 додека на алелот G, $f(G)$ е 0,62, т.е. $0,38+0,62=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(A/A)=0,25$; $f(A/G)=0,25$; $f(G/G)=0,5$. Бидејќи вредноста на $p<0.05$ ($p=0,0031$) постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

6) Parodontitis chornica periapicalis diffusa

Генотип	A/A	A/G	G/G	Вкупно	Фреквенција на адели
Број <i>n</i>	11	9	20	40	80
алел A	22	9	0	31	0,39
алел G	0	9	40	49	0,61
Опсервирана фреквенција	11 (27,50%)	9 (22,50%)	20 (50,00%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	6,01 (15,02%)	18,99 (47,47%)	15,01 (37,52%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	4,152	5,253	1,662	11,067	
p – вредност				0,0009	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот A, $f(A)$ е 0,39 додека на алелот G, $f(G)$ е 0,61, т.е. $0,39+0,61=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(A/A)=0,3$; $f(A/G)=0,2$; $f(G/G)=0,5$. Бидејќи вредноста на $p<0.05$ ($p=0,0009$) постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

в) Cystis radicularis

Генотип	A/A	A/G	G/G	Вкупно	Фреквенција на адели
Број <i>n</i>	24	2	14	40	80
алел A	48	2	0	50	0,62
алел G	0	2	28	30	0,38
Опсервирана фреквенција	24 (60,00%)	2 (5,00%)	14 (35,00%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	15,63 (39,06%)	18,75 (46,88%)	5,63 (14,06%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	4,489	14,963	12,469	31,922	
p – вредност				0,0000	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот A, $f(A)$ е 0,62 додека на алелот G, $f(G)$ е 0,38, т.е. $0,62+0,38=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(A/A)=0,6$; $f(A/G)=0,05$; $f(G/G)=0,35$. Бидејќи вредноста на $p<0.05$ ($p=0,000$) постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

г) Акутна одонтогена инфекција

Генотип	A/A	A/G	G/G	Вкупно	Фреквенција на адели
Број <i>n</i>	7	24	9	40	80
алел A	14	24	0	38	0,48
алел G	0	24	18	42	0,52
Опсервирана фреквенција	7 (17,50%)	24 (60,00%)	9 (22,50%)	40 (100,00%)	80
HW - Очекувана фреквенција	9,03 (22,56%)	19,95 (49,88%)	11,03 (27,56%)	40,00 (100,00%)	
cell Chi-sq.	0,454	0,822	0,372	1,648	
p – вредност				0,1992	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот A, $f(A)$ е 0,48 додека на алелот G, $f(G)$ е 0,52, т.е. $0,48+0,52=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(A/A)=0,2$; $f(A/G)=0,6$; $f(G/G)=0,2$. Бидејќи вредноста на $p>0.05$ ($p=0,1992$) не постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

д) Контролна група

Генотип	A/A	A/G	G/G	Вкупно	Фреквенција на адели
Број <i>n</i>	106	7	7	120	240
алел A	212	7	0	219	0,91
алел G	0	7	14	21	0,09
Опсервирана фреквенција	106 (88,33%)	7 (5,83%)	7 (5,83%)	120 (100,0%)	240
HW - Очекувана фреквенција	99,92 (83,27%)	19,16 (15,97%)	0,92 (0,77%)	120	
cell Chi-sq.	0,370	7,720	40,252	48,342	
p – вредност				0,0000	(p-value) Chisq w 1 df

Фреквенцијата на алелот A, $f(A)$ е 0,91 додека на алелот G, $f(G)$ е 0,09, т.е. $0,91+0,09=1$. Фреквенцијата на генотиповите е следнава: $f(A/A)=0,9$; $f(A/G)=0,05$; $f(G/G)=0,05$. Бидејќи вредноста на $p<0.05$ ($p=0,0000$) постои рамнотежа во популацијата за овој локус.

6. ДИСКУСИЈА

6. ДИСКУСИЈА

Последниве дваесетина години изучувањето на генетскиот полиморфизам завзема место кое што од повеќе аспекти е од големо значење за хуманата популациона генетика.

Како прво, за некои облици на генетски полиморфизам јасно е докажано дека нивниот фенотип во одредени околности има предност над нормалниот фенотип. Како второ, бројните истражувања укажуваат на податокот дека постои голема разлика во генетската фреквенција на одделни крвни групи на АБО системот, што всушност значи дека полиморфизмот настанал како резултат на природната селекција. Како трето, понатамошниот интерес за генетскиот полиморфизам се појавил по откривањето на феноменот на асоцијација помеѓу одделни болести и крвни групи на АБО системот, кои всушност припаѓаат на групата на генетскиот полиморфизам (Kičič M & Krajinčanič B, 1989).

Поединечниот ефект на разните генетски мутации врз индивидите е често пати негативен и може да предизвика сериозни, главно, летални заболувања. Но, мутациите, заедно со генетските рекомбинации и генската имиграција, се т.н. извори на генски варијации, и со тоа имаат исклучително значење во создавањето на нови гени и видови организми во текот на еволутивниот процес.

Сепак, иако мутациите се ултимативен извор на варијациите, самиот процес на мутагенеза не ја движи еволуцијата и не е доволен за брзи еволутивни промени и појава на нови видови. Мутациските стапки за повеќето генски локуси и за поголемиот број животински видови како и за човекот, се премногу ниски, а ефектите на мутациите премногу дијаметрални за да претставуваат еволутивен погон сами за себе. Без рекомбинацискиот процес во текот на сексуалната репродукција и без имигрирањето на гените во други популации, мутациите се недоволни за еволутивните потреби за варијација.

Варијациите врз едноставните експресивни корелации се оние кај кои полиморфизмите на промоторот се во асоцијација со различните експресивни нивоа, а исто така, се поврзани или со чувствителноста кон одредено заболување или кон негова прогресија (Ye, 2000).

Одредени полиморфизми се сметаат за функционални, т.е. оние кои се поврзани со изменетата експресија или функција на протеазите, додека

останатите полиморфизми се сметаат за тивки, т.е. полиморфизми кои се јавуваат во некодирачките региони или претставуваат промени кои немаат влијание врз аминокиселинската секвенца. Функционалните полиморфизми од биолошка перспектива се многу поинтересни бидејќи ги разоткриваат причината и ефектите на заболувањето.

Откривањето на генетските маркер кои се тесно поврзани со различните патолошки процеси е од непроценливо клиничко значење во идентификација на суспектните индивидуи.

Испитуваните функционални полиморфизми во оваа докторска дисертација имаат влијание врз концентрацијата на колагеназите (ММП-1, -8 и -13) кои ги детерминираат, како и врз нивната функционална активност, правејќи ги на тој начин одлични маркери за овој тип на генетска асоцијативна студија.

Преку истражувањата спроведени во оваа докторска дисертација направен е обид да се даде одговор на повеќе прашања поврзани со активноста и улогата на колагеназите (ММП-1, -8 и -13) во склоп на хроничните периапикални процеси и акутните одонтогени инфекции, преку влијанието на полиморфизмите во промоторните региони на овие три хумани колагенази, како и индивидуалниот ризик за развој на одреден тип на воспалителен процес кај 160 индивидуи и 120 индивидуи од контролната група, што е и една од причините да се зафатиме со нашите истражувања.

По спроведената анализа и обработка на податоците, добиените резултати дозволуваат да бидат споредени со резултатите на голем број автори кои ги проучуваат хроничните периапикални процеси и акутните одонтогени инфекции во корелација со полиморфизмите на гените за ММП-1, -8 и -13. На тој начин се овозможи да ги искажеме нашите ставови за поставената проблематика на овој труд, а добиените резултати се надеваме дека ќе обезбедат корисни податоци за полиморфизмот на гените за ММП и неговата дистрибуција кај македонската популација, преку неговото влијание врз степенот на коскената ресорпција, ткивна деструкција и интензитетот на воспалителниот процес, при кој мултиплните генетски фактори имплицираат сигнификантен ризик. Примерокот од 160 испитаници во однос на цитираната литература се вбројува во средно голем, што ни овозможи валидна интерпретација на резултатите добиени во оваа студија.

Испитуваните функционални полиморфизми за гените на ММП-1, -8 и -13 влијаат на концентрацијата на протеините кои ги кодираат, како и врз нивната функционална активност, правејќи ги на тој начин одлични маркери за овој тип на

генетска асоцијативна студија.

Во оваа докторска дисертација, најнапред ја анализиравме корелацијата помеѓу структурните карактеристики на испитаниците и полиморфизмот на гените за колагеназите.

Резултатите од корелацијата помеѓу полот и полиморфизмот на гените за ММП-1, -8 и -13 покажаа дека не постои статистички сигнификантна зависност помеѓу полот и полиморфизмот на гените за колагеназите кај пациентите со различна клиничка дијагноза. Овие резултати укажуваат дека полиморфизмот на гените за колагеназите нема влијание врз развојот на воспалителниот процес во однос на различниот пол на пациентите.

Статистички сигнификантна зависност се регистрира помеѓу возраста и сите испитувани полиморфизми на гените за ММП-1, -8 и -13 кај пациентите со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa* и *Parodontitis chronica periapicalis diffusa*, како и за пациентите со акутна одонтогена инфекција. Кај пациентите со клиничка дијагноза *Cystis radicularis* се регистрира статистичка сигнификантна зависност само помеѓу полиморфизмот -1607 1G/2G на гените за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензими *AluI* и *XmnI*, како и кај полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8, додека кај полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 определен со рестрикциски ензим *KpnI*, како и кај полиморфизмот -77 A/G за генот на ММП-13 не се регистрираше статистичка сигнификантност. Овие резултати укажуваат дека полиморфизмите на гените за колагеназите влијаат врз развојот на воспалителниот процес во зависност од возраста на пациентите.

Од корелацијата помеѓу местото на раѓање и полиморфизмите за гените на ММП-1, -8 и -13 не се регистрираше статистички сигнификантна зависност кај ниедна од испитуваните групи со различна клиничка дијагноза. Овие резултати укажуваат дека полиморфизмот на гените за колагеназите не влијае врз развојот на клиничката слика во зависност од местото на раѓањето на пациентите кај различните клинички дијагнози.

Статистички сигнификантна зависност се регистрираше и помеѓу бројот на забите со хронична периапикална лезија и испитуваните полиморфизмот на гените ММП -1, -8 и -13 кај пациентите и со хронична периапикална лезија и со акутна одонтогена инфекција. Овие резултати сугерираат дека честотата на појава на хроничен периапикален процес зависи од појавата на испитуваните полиморфизми за гените кај колагеназите.

Во нашата студија анализата на резултатите од корелацијата помеѓу присуството на системско заболување кај пациентите и полиморфизмот на гените за колагеназите покажа дека постои статистички сигнификантна зависност кај пациентите со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa* и оние со акутна одонтогена инфекција за сите испитувани полиморфизми. Кај пациентите со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa*, исто така се регистрираше статистички сигнификантна зависност, но само кај полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI*, и полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13. Кај пациентите со клиничка дијагноза *Cystis radicularis*, статистички сигнификантна зависност се регистрираше само кај полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 определен со рестрикциски ензим *KpnI*. Овие резултати укажуваат дека полиморфизмот на гените за колагеназите влијае врз развојот на воспалителниот процес во зависност од присуството на системско заболување кај пациентите од различните клинички дијагнози.

Во оваа докторска дисертација се изврши анализа на корелацијата помеѓу кличките параметри и полиморфизмот на гените за колагеназите.

Кај пациентите со хронична периапикална лезија и акутна одонтогена инфекција, корелацијата помеѓу CPI индексот и полиморфизмите за гените на колагеназите покажа дека постои статистички сигнификантна зависност помеѓу сите испитувани полиморфизми и субјективни симптоми и манифестни клинички знаци. Овие резултати укажуваат дека дошло до мутација на гените за ММП кај пациентите кај кои се присутни субјективни симптоми и манифестни клинички знаци.

Од анализата на резултатите добиени од корелацијата помеѓу големината на хроничната периапикална лезија и сите испитувани полиморфизмот на гените за колагеназите не се регистрираше статистички сигнификантна кај пациентите од сите испитувани групи. Овие резултати укажуваат дека полиморфизмот на гените за колагеназите нема влијание врз големината на патолошкиот процес кај пациентите со хронична периапикална лезија.

Резултатите од анализата на податоците за корелацијата помеѓу бројот на кариозни заби и полиморфизмот на гените за ММП -1, -8 и -13 покажаа дека се регистрира статистички сигнификантна зависност кај пациентите од сите клинички дијагнози. Овие резултати укажуваат дека дошло до мутација на генот за ММП кај пациентите со поголем број на кариозни заби.

Постојат голем број на предупредувања кои мора да се земат предвид при интерпретација на резултатите од големиот број на спроведени студии. Најнапред, наодите може да бидат под влијание на стратификацијата на самата популација. Ова е од особена важност во случај кога постои хетерогеност кај популацијата која е предмет на испитување, како што е, на пример, случајот со припадниците на црната раса. Споредбата на случаите и контролите кои се од иста заедница, како и споредувањето на големиот број субјекти го олеснува овој проблем до одредена мера. Покрај тоа, анализата на потенцијалната стратификација на популацијата, применувајќи 29 маркери кои се селектирани од сигнификантните разлики помеѓу Американците и Европејците не покажува докази за влијанието на стратификацијата врз изнесувањето на главните заклучоци од оваа студија. Како второ, асоцијацијата не означува поврзаност, а најверојатно хаплотиповите на ММП-8 за ЕНП кои се поврзани со предвремената руптура на мембраната, исто така се во една нерамнотежа поврзана со други ЕНП или мутации на гени различни од ММП-8. Како трето, наодите кај припадниците на црната раса неможе да се генерализираат со наодите кај другите етнички групи (Wang H et al., 2006).

Кај индивидуите со хроничните периапикални лезии и акутните одонтогени инфекции, опсервиран е широк спектар на воспалителни и деструктивни одговори на микроорганизмите. Одговорот на домакилот е инволвиран во комплексна интеракција помеѓу клетките, ЕЦМ и циркулирачките протеолитички ензими (ММП). Варијациите на алелите во гените на колагеназите, како и факторите кои ја регулираат нивната експресија резултираат со појава на разлики во фенотиповите на колагеназите помеѓу индивидуите, што е од големо значење за чувствителноста кон заболувањето и неговата честота (Cao Z et al., 2006).

Единечниот нуклеотиден полиморфизам на ММП-1, -8 и -13 има влијание врз транскрипционата активност на овие колагенази, а со тоа може потенцијално да ги зголеми нивоата на протеинската експресија (González-Arriaga P et al., 2008).

Бројни студии го потврдуваат фактот дека полиморфизмите кои се анализирани во оваа студија ја модифицираат транскрипционата активност на соодветните колагенази (ММП-1, -8 и -13) (Yoon S et al., 2002; Rutter JL et al., 1998, Wang H et al., 2006).

Полиморфизмот во регулаторните региони на ММП е во асоцијација со промените во нивото на експресија на овие гени кај различните заболувања кај човекот (Zhou et al., 2005).

Во оваа докторска дисертација се обработија и резултатите за застапеноста на различните полиморфизми на гените за ММП-1, -8 и -13 кај пациентите од различните испитувани групи, како и ризикот за развој на хронична периапикална лезија или акутна одонтогена инфекција во зависност од испитуваните полиморфизми, т.е. нивната асоцијативна или протективна улога.

Дистрибуцијата на ММП-1 генотиповите за полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *A1u1* помеѓу пациентите со различна хронична периапикална лезија и контролната група покажа разлики. Исто така се потврди разлика и во дистрибуцијата на генотиповите кај овој полиморфизам и меѓу групата на пациенти со акутна одонтогена инфекција и контролната група, а и меѓу двете групи на пациенти со хроничен и акутен воспалителен процес.

Најголема застапеноста на хомозиготите за присуство на полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 определен со рестрикциски ензим *A1u1*, односно на генотипот 2G/2G, беше регистрирана кај пациентите со акутна одонтогена инфекција (72,5%). Застапеноста на хетерозиготите за присуство на полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *A1u1*, односно на генотипот 1G/2G, беше најголема кај пациентите со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa* (50%). Најголема застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам, односно на генотипот 1G/1G, беше регистрирана кај пациентите со клиничка дијагноза *Cystis radicularis* (50%).

Индивидуи кои се носители на 2G/2G генотипот и индивидуите со 1G/2G генотипот (2G носителите) покажуваат склоност кон развој на воспалителен процес со побурна клиничка слика и кон развој на една акутна одонтогена инфекција.

Детектираната фреквенција на 2G алелот беше сигнификантно повисока кај пациентите со акутна одонтогена инфекција ($f(2G)=0,79$) во однос на контролната група ($f(2G)=0,30$), но и во однос на пациентите со хронична периапикална лезија. Со тоа се потврдува протективната улога на 1G алелот за развој на хроничен периапикален процес и акутна одонтогена инфекција.

Фреквенцијата на 1G/1G генотипот за отсуство на полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 изнесуваше $f(1G/1G)=0,2$ и беше иста кај пациентите со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa* и акутна одонтогена инфекција, потоа $f(1G/1G)=0,5$ за пациентите со клиничка дијагноза *Cystis*

radicularis и пациентите од контролната група, додека 1G/1G генотипот кај оние со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa не покажуваше фреквенција.

Фреквенцијата на 1G/2G генотипот за присуство на полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 изнесуваше $f(1G/1G)=0,5$ и беше ист кај пациентите со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa и Parodontitis chronica periapicalis diffusa, потоа $f(1G/1G)=0,2$ кај пациентите со клиничка дијагноза Cystis radicularis; 0,1 кај пациентите со акутна одонтогена инфекција и $f(1G/1G)=0,4$ кај пациентите од контролната група.

Фреквенцијата на 2G/2G генотипот за присуство на полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 изнесуваше $f(2G/2G)=0,3$ и беше иста кај пациентите со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa и Cystis radicularis. Најголема фреквенција 2G/2G генотипот имаше кај пациентите со акутна одонтогена инфекција ($f(2G/2G)=0,7$), а најмала ($f(2G/2G)=0,1$) кај контролната група.

Наодите од нашите испитувања покажаа дека полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим Alul е ризик фактор за појава и на хроничните периапикални лезии и на акутните одонтогени инфекции.

Кај полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 определен со рестрикциски ензим Alul, Hardy-Weinberg-ов еквилибриум е регистриран само кај пациентите со клиничка дијагноза Cystis radicularis и пациентите со акутна одонтогена инфекција, додека кај пациентите со другите хронични периапикални лезии и кај контролната група популацијата не е во рамнотежа за овој генски локус.

2G/2G полиморфизмот во промоторот на ММП-1 генот е во асоцијација со зголемениот ризик за развој на голем број на карциноми (González-Arriaga P et al, 2008), а исто така претставува ризик фактор за појава на периимплантитис (Arisan V et al., 2005).

Во својата студија De Souza AP et al., укажуваат на асоцијацијата помеѓу полиморфизмот -1607 на генот за ММП-1 и хроничниот периодонтитис кај 87 индивидуи од Бразил (De Souza AP et al., 2003).

Itagaki M et al., не детектирал разлики во алелот на ММП-1 генот и генотипската дистрибуција помеѓу здравите Јапонци и оние со хроничен периодонтитис (Itagaki M et al., 2004).

Дистрибуцијата на ММП-1 генотиповите за полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *XmnI* помеѓу пациентите со различна хронична периапикална лезија и контролната група покажа разлики. Исто така се потврди разлика и во дистрибуцијата на генотиповите кај овој полиморфизам и меѓу групата на пациенти со акутна одонтогена инфекција и контролната група, а и меѓу двете групи на пациенти со хроничен и акутен воспалителен процес.

Најголема застапеноста на хомозиготите за присуство на полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 оределен со рестрикциски ензим *XmnI*, односно на генотипот 2G/2G, беше регистрирана кај пациентите со акутна одонтогена инфекција (62,5%). Застапеноста на хетерозиготите за присуство на полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *XmnI*, односно на генотипот 1G/2G, беше најголема кај пациентите со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa (65%). Најголема застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам, односно на генотипот 1G/1G, беше регистрирана кај пациентите од контролната група (69,2%).

Детектираната фреквенција на 2G алелот беше сигнификантно повисока кај пациентите со акутна одонтогена инфекција ($f(2G)=0,76$) во однос на контролната група ($f(2G)=0,18$), но и во однос на пациентите со хронична периапикална лезија. Со тоа се потврдивме протективната улога на 1G алелот за развој на хроничен периапикален процес и акутна одонтогена инфекција.

Фреквенцијата на 1G/1G генотипот за отсуство на полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 беше најголема кај контролната група ($f(1G/1G)=0,7$), додека кај оние со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa 1G/1G генотипот не покажуваше фреквенција.

Фреквенцијата на 1G/2G генотипот за присуство на полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 изнесуваше $f(1G/2G)=0,2$ и беше ист кај пациентите со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa и пациентите од контролната група. Најголема фреквенција на 1G/2G генотипот беше детектирана кај пациентите со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa (0,7), а најмала кај клиничката дијагноза Cystis radicularis ($f(1G/2G)=0,1$).

Најголемата фреквенција на 2G/2G генотипот за присуство на полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 изнесуваше $f(2G/2G)=0,6$ и беше иста кај пациентите со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis

granulomatosa и пациентите со акутна одонтогена инфекција. Фреквенција 2G/2G генотипот беше најмала кај контролната група ($f(2G/2G)=0,1$).

Наодите од ова испитување укажуваат на фактот дека полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 определен со рестрикциски ензим *XmnI* е ризик фактор за појава и на хроничните периапикални лезии и на акутните одонтогени инфекции.

Hardy-Weinberg-ов еквилибриум за полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *XmnI*, е регистриран само кај пациентите со хронични периапикални лезии, додека кај пациентите со акутна одонтогена инфекција и кај контролната група популацијата не е во рамнотежа за овој генски локус.

Овие наши сознанија се во корелација со резултатите добиени од испитувањата на Rutter JL et al., во кои е изнесено дека овој полиморфизам може да има функционални консеквенци бидејќи ја афектира функцијата на ММП-1 ензимот (Rutter JL et al., 1998), а секако претставува полиморфизам кој е кандидат со силна биолошка релевантност за развој на хронични воспалителни процеси (Vincenti MP et al., 1996).

Генетските варијации во промоторниот регион од генот на ММП-1, имаа влијание врз транскрипциите нивоа на ММП-1, а како резултат на тоа, овој ген може да има круцијална улога во деградацијата на сврзното ткиво во патогенезата на периодонтитисот (Cao Z et al., 2006).

Всушност, -1607 1G/2G полиморфизмот во промоторниот регион на ММП-1 формира Ets врзувачка страна која ја зголемува промоторната активност на овој ген (Fujimoto et al., 2002). Потврдено е дека, 2G алелот на ММП-1 се одликува со сигнификантно повисока транскрипциона активност во однос на 1 G алелот и е во асоцијација со помалиот век на преживување на пациентите со канцер (Six et al., 2006; Zinzindohoue et al., 2005).

2G алелот од 1G/2G полиморфизмот во промоторниот регион на ММП-1 формира дополнителна Ets врзувачка страна, што резултира со зголемена транскрипциона активност на овој ген (Yoon S et al., 2002). Токму поради ова, присуството на полиморфизмот во генот на ММП-1 е во асоцијација со зголемениот ризик за развој на различните видови на канцер кај човекот (Rutter JL et al., 1998, Wang H et al., 2006). Исто така, присуството на 2G алелот е во асоцијација со хроничниот периодонтитис (Cao Z et al., 2006).

Генотипот 2G/2G во промоторниот регион од генот на ММП-1 претставува ризик фактор за појава на периимплантитис (Arisan V et al., 2005).

Спротивно од заклучоците на предходно наведените автори, испитувањата во студијата на Itagaki et al. укажуваат на податокот дека не постојат сигнификантни разлики во генотипската дистрибуција, алелната фреквенција и хаплотипната фреквенција во промоторот од генот на ММП-1 кај 1G/2G полиморфизмот помеѓу сите групи Јапонски пациенти со хроничен периодонтитис (Itagaki et al., 2004).

Дистрибуцијата на ММП-1 генотиповите за полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 опереден со рестрикциски ензим *KpnI* помеѓу пациентите со различна хронична периапикална лезија и контролната група покажа разлики. Исто така се потврди разлика и во дистрибуцијата на генотиповите кај овој полиморфизам и меѓу групата на пациенти со акутна одонтогена инфекција и контролната група, а и меѓу двете групи на пациенти со хроничен и акутен воспалителен процес.

Најголема застапеноста на хомозиготите за присуство на полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI*, односно на генотипот G/G, беше регистрирана кај пациентите со клиничка дијагноза *Cystitis radicularis* (35%). Застапеноста на хетерозиготите за присуство на полиморфизмот, односно на генотипот A/G, беше најголема кај пациентите со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa* (60%). Најголема застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам, односно на генотипот A/A, беше регистрирана кај пациентите од контролната група (90,8%).

Детектираната фреквенција на G алелот беше сигнификантно повисока кај пациентите со акутна одонтогена инфекција ($f(G)=0,65$) во однос на контролната група ($f(G)=0,05$), но и во однос на пациентите со хронична периапикална лезија. Со тоа се потврдилме протективната улога на A алелот за развој на хроничен периапикален процес и акутна одонтогена инфекција.

Фреквенцијата на G/G генотипот за присуство на полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 изнесуваше $f(G/G)=0,2$ и беше иста кај пациентите со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa*, *Parodontitis chronica periapicalis diffusa* и акутна одонтогена инфекција, додека кај пациентите со клиничка дијагноза *Cystitis radicularis* фреквенцијата на G/G генотипот беше

поголемна ($f(G/G)=0,3$). Кај контролната група G/G генотипот не покажуваше фреквенција.

Фреквенцијата на A/G генотипот за присуство на полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 изнесуваше $f(A/G)=0,6$ и беше ист кај пациентите со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa и пациентите со акутна одонтогена инфекција, воедно тоа беше и најголемата детектирана фреквенција. Најмала фреквенција на 1G/2G генотипот беше детектирана кај контролната група ($f(A/G)=0,1$).

Фреквенцијата на A/A генотипот за отсуство на полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 беше најголема кај пациентите од контролната група ($f(A/A)=0,9$), додека кај пациентите со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa и Cystis radicularis фреквенцијата на A/A генотипот изнесуваше $f(A/A)=0,5$. Најмала фреквенција за A/A генотипот беше детектирана кај пациентите со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa и акутна одонтогена инфекција ($f(A/A)=0,2$).

Наодите од оваа студија сугерираат дека полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим KpnI е ризик фактор за појава и на хроничните периапикални лезии и на акутните одонтогени инфекции.

Hardy-Weinberg-ов еквилибриум за полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 определен со рестрикциски ензим KpnI, е регистриран само кај пациентите клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa и Cystis radicularis, додека кај пациентите со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa, како и оние со акутна одонтогена инфекција и кај контролната група популацијата не е во рамнотежа за овој генски локус.

Во студијата на Nho et al. се докажува дека полиморфизмот -1607 на генот за ММП-1 и полиморфизмот -519 на генот за ММП-1 се во асоцијација со индексот за телесна тежина кај пациентите со над 50 годишна возраст (Nho et al., 2008). Овие автори укажуваат на фактот дека 1G алелот кај полиморфизмот -1607 на генот за ММП-1 и алелот A кај полиморфизмот -519 на генот за ММП-1 може да имаат улога на протективен фактор против зголемениот индекс на телесна тежина кај Корејската популација.

Научните студии ја потврдуваат поврзаноста помеѓу -1607 полиморфизмот на генот за ММП-1 (Rutter JL et al., 1998), како и A/G супституциониот полиморфизам -519 за генот на ММП-1 (Jurajda M et al, 2002).

Дистрибуцијата на ММП-8 генотиповите за полиморфизмот -799 С/Т на генот за ММП-8 определен со рестрикциски ензим *Bgl*II помеѓу пациентите со различна хронична периапикална лезија и контролната група покажа разлики. Исто така се потврди разлика и во дистрибуцијата на генотиповите кај овој полиморфизам и меѓу групата на пациенти со акутна одонтогена инфекција и контролната група, а и меѓу двете групи на пациенти со хроничен и акутен воспалителен процес.

Најголема застапеноста на хомозиготите за присуство на полиморфизмот -799 С/Т на генот за ММП-8 со рестрикциски ензим *Bgl*II, односно на генотипот Т/Т, беше регистрирана кај пациентите со акутна одонтогена инфекција (67,5%). Застапеноста на хетерозиготите за присуство на полиморфизмот, односно на генотипот С/Т, беше најголема кај пациентите со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa* (30%). Најголема застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам, односно на генотипот С/С, беше регистрирана кај пациентите од контролната група (75,8%).

Детектираната фреквенција на Т алелот беше сигнификантно повисока кај пациентите со акутна одонтогена инфекција ($f(T)=0,85$) во однос на контролната група ($f(T)=0,23$), но и во однос на пациентите со хронична периапикална лезија. Со тоа се потврдивме протективната улога на С алелот за развој на хроничен периапикален процес и акутна одонтогена инфекција.

Фреквенцијата на Т/Т генотипот за присуство на полиморфизмот -799 С/Т на генот за ММП-8 беше најголема кај пациентите со акутна одонтогена инфекција ($f(T/T)=0,9$), а најмала кај оние од контролната група ($f(T/T)=0,2$). Кај пациентите со *Parodontitis chronica periapicalis diffusa* и *Cystis radicularis* фреквенцијата на С/С генотипот изнесуваше $f(T/T)=0,5$.

Фреквенцијата на С/Т генотипот за присуство на полиморфизмот -799 С/Т на генот за ММП-8 изнесуваше $f(C/T)=0,1$ и беше ист кај пациентите со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa*, *Cystis radicularis* и пациентите од контролната група. Најголема фреквенција на С/Т генотипот беше детектирана кај пациентите со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa* ($f(C/T)=0,3$). Кај пациентите со акутна одонтогена инфекција не беше детектирана фреквенцијата на С/Т генотипот за присуство на полиморфизмот -799 С/Т на генот за ММП-8.

Фреквенцијата на C/C генотипот за отсуство на полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 беше иста ($f(C/C)=0,4$) кај пациентите со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis diffusa и Cystis radicularis. Најголема фреквенцијата на C/C генотипот беше детектирана кај контролната група ($f(C/C)=0,7$).

Нашите сознанија за полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 со рестрикциски ензим BglII се дека овој полиморфизам претставува ризик фактор за појава и на хроничните периапикални лезии и на акутните одонтогени инфекции.

Hardy-Weinberg-ов еквилибриум за полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 определен со рестрикциски ензим BglII, е регистриран кај пациентите со хронична периапикална лезија и акутна одонтогена инфекција, но и кај контролната група се потврди постоење на рамнотежа за овој генски локус.

Литературните податоци говорат дека, индивидуалната генетска предиспозиција има влијание врз појавата на хроничните периапикални лезии. ММП се во асоцијација со нивото на воспалителниот процес, и се инволвирани во појавата на кариес, во деструкцијата на периапикалното ткиво и ткивото на пулпата. Исто така, ММП имаа мошне голема улога во коскената ресорпција. Потврдено е дека полиморфизмот на гените за ММП допринесува за зголемување на индивидуалната чувствителност кон апикалната ткивна деструкција како одговор на длабоката кариозна лезија (Menezes-Silva R et al., 2012). Притоа, одржувањето на ММП-8 во физиолошки нивоа обезбедува протективна улога при воспалителен процес како и при репаративната фаза, додека патолошки зголемените нивоа на ММП-8 допринесуваат за појава на ексцесивна протеолиза, водејќи кон деструкција на периапикалното ткиво (Itagaki et al., 2008).

Неодамнешните студии спроведени кај експерименталните животни покажале дека недостатокот на мутации во ММП-8 кај глушецот предизвикува поголема чувствителност за развој на карцином на кожата, сепак укажуваат на фактот дека ММП-8 се одликува со протективна функција кон развојот на туморозни промени (Balbin et al., 2003; Montel et al., 2004).

Дистрибуцијата на ММП-13 генотиповите за полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 определен со рестрикциски ензим BsrI помеѓу пациентите со различна хронична периапикална лезија и контролната група покажа разлики. Исто така се потврди разлика и во дистрибуцијата на генотиповите кај овој полиморфизам и меѓу групата на пациенти со акутна одонтогена инфекција и

контролната група, а и меѓу двете групи на пациенти со хроничен и акутен воспалителен процес.

Застапеноста на хомозиготите за присуство на полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 определен со рестрикциски ензим *BsrI*, односно на генотипот G/G, беше регистрирана во подеднаков процент и кај пациентите со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa и Parodontitis chronica periapicalis diffusa (50%). Застапеноста на хетерозиготите за присуство на полиморфизмот, односно на генотипот A/G, беше најголема кај пациентите со акутна одонтогена инфекција (60%). Најголема застапеноста на хомозиготите за отсуство на овој полиморфизам, односно на генотипот A/A, беше регистрирана кај пациентите од контролната група (88,4%).

Детектираната фреквенција на G алелот беше приближно иста и највисока кај пациентите со хронична периапикална лезија ($f(1G)=0,61$ кај пациентите со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa; $f(G)=0,62$ кај пациентите со Parodontitis chronica periapicalis diffusa). Детектираната фреквенција на G алелот кај пациентите со клиничка дијагноза Cystis radicularis фреквенцијата беше пониска и изнесуваше $f(G)=0,38$. Кај пациентите со акутна одонтогена инфекција фреквенцијата на G алелот изнесуваше $f(G)=0,52$. Детектираната фреквенција кај пациентите со хронична периапикална лезија и акутна одонтогена инфекција беше сигнификантно повисока во однос на пациентите од контролната група ($f(G)=0,09$). Со тоа се потврдиле протективната улога на A алелот за развој на хроничен периапикален процес и акутна одонтогена инфекција.

Фреквенцијата на G/G генотипот за присуство на полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 детектиран со рестрикциски ензим *BsrI* беше најголема и иста кај пациентите со клиничка дијагноза Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa и Parodontitis chronica periapicalis diffusa ($f(G/G)=0,5$), а најмала кај оние од контролната група ($f(G/G)=0,05$).

Најголема фреквенцијата на A/G генотипот за присуство на полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 детектиран со рестрикциски ензим *BsrI* се детектираше кај пациентите со акутна одонтогена инфекција. Најмала фреквенција на A/G генотипот беше детектирана кај пациентите со клиничка дијагноза Cystis radicularis и пациентите од контролната група ($f(A/G)=0,05$).

Фреквенцијата на A/A генотипот за отсуство на полиморфизмот 77 A/G на генот за ММП-13 определен со рестрикциски ензим *BsrI* беше најголема кај

контролната група ($f(A/A)=0,9$) во однос на фреквенциите кај пациентите со хронична периапикална лезија и акутна одонтогена инфекција.

Наодите од нашето испитување укажуваат на фактот дека полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 определен со рестрикциски ензим *BsrI* е ризик фактор за појава и на хроничните периапикални лезии и на акутните одонтогени инфекции.

Hardy-Weinberg-ов еквилибриум за полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 детектиран со рестрикциски ензим *BsrI*, е регистриран кај пациентите со хронична периапикална лезија и кај пациентите од контролната група, додека кај пациентите со акутна одонтогена инфекција не се потврди постоење на рамнотежа за овој генски локус.

ММП-13 ја стимулира ресорпцијата на коскено то ткиво преку генерирање на колагени фрагменти кои ги активираат остеокластите (Belmar MJ et al., 2008).

Полиморфизмот -77 A/G во промоторниот регион на ММП-13 определен со рестрикциски ензим *BsrI* кој ја модифицира PEA3 врзувачката страна, резултира со редуцирана транскрипциона активност на овој ген, придонесувајќи во намалувањето на ризикот за развој на канцер (Yoon S et al., 2002).

Во студијата на Fang et al., е прикажана асоцијацијата помеѓу -77 A/G полиморфизмот и ризикот од развој на насофарингеален карцином и карцином на градите (Fang et al., 2005).

Во студијата на Pirhan D et al., полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 определен со рестрикциски ензим *BsrI* не е во асоцијација со чувителноста за појава на хроничен периодонтит кај Турската популација. Се смета дека носителите -77G алелот немаат влијание врз исходот на терапевската постапка (Pirhan D et al., 2008).

Од особена важност е да се земе предвид податокот дека, ефектот од изолираниот ЕНП може да биде одбиен од страна на полиморфизмот присутен во истиот или друг ген кој партиципираат во комплексната мрежа од интеракции доведувајќи до појава на заболување меѓу различните етнички групи. Како резултат на тоа, од особено значење се испитувањата за различните заболувања и етничките групи со цел подобро да се разбере молекуларното влијание на одреден полиморфизам.

Со богатството на информации кои ги има во оваа област во последните неколку години почнавме да го сваќаме значењето на ММП во биологијата и

патологијата. Активностите на ММП *in vivo* се комплексни и разновидни; тие не се ограничени на едноставна разградба на ЕЦМ, туку може да откријат и прикриени биолошки функции на макромолекулите од ЕЦМ. И двата концепта треба да бидат земени предвид за да се сфатат временски прецизните промени на клеточната околина потребна за нормален развој и морфогенеза.

Исто така се работи на откривање на многу нови ММП кои ќе воведат дополнителна комплексност во катаболизмот на ткивниот матрикс. Овие нови сознанија ќе овозможат да се разоткрие точниот механизмот на динамиката на ткивниот матрикс.

Прецизната структура и функционалните анализи на ММП водат кон развој на бројни потентни синтетички инхибитори на ММП. Некои од нив се во клиничка фаза на тестирање за третман на карциномот, артритисот, периодонталната болест и корнеалните улцерации. Таквите агенсии може да бидат од голема терапевтска вредност, но и понатаму останува загриженоста од последиците при инхибирањето на биолошките функции на ММП. Како алтернативен пристап може да се земе предвид ткивно-таргетираната генска терапија со ТИМП или ТИМП варијанти кои селективно ќе ги инхибираат специфичните ММП.

Во иднина, сознанијата за механизмите на клеточно-ткивната специфична регулација на ММП, за генската експресија и нивните сигнални трансдукциони патишта, може да доведат до појава на рационален дизајн на инхибитори кои ќе ја попречат продукцијата на ММП во одреден тип на клетка без да ги зафатат другите клетки. Таквите агенсии ќе бидат од голема вредност, не само за разбирање на основната биологија на матриксот и неговата динамика, туку и за решавање на заболувањата кои се резултат на аберантната деградација на ЕЦМ.

Несомнено, бидејќи станува збор за заболувања кои имаат мулти-факторијална природа, бројните фактори со конвергентна акција треба да се земат предвид, притоа давајќи посебен акцент на етиологијата, прогнозата и одговорот на спроведената терапија кај одреденото заболување. Сепак, генетските фактори остануваат и понатаму еден од најважните, креирајќи ја индивидуалната чувствителност, како и влијанието врз воспалителниот процес кај периодонтитисот. Алелните варијанти на некои гени, како оние кои ги кодираат ММП-1, ММП-8 и ММП-13, може да претставуваат маркери за следење на ризикот и евентуално за евалуација на напредокот на воспалителниот процес.

7. ЗАКАУЧОК

7. ЗАКЛУЧОК

Врз основа на реализацијата на поставените цели, дојдовме до сопствени сознанија за улогата и занчењето на полиморфизмите на гените за колагеназите (ММП-1, -8 и -13) кај хроничните периапикални лезии и акутните одонтогени инфекции. Од стекнатите сознанија ги изведовме следниве заклучоци:

1. Корелацијата помеѓу полот и полиморфизмот на гените за ММП-1, -8 и -13 покажа дека не постои статистички сигнификантна зависност помеѓу полот и полиморфизмот на гените за колагеназите кај пациентите со различна клиничка дијагноза, што сугерира на фактот дека испитуваните полиморфизми немаат влијание врз развојот на клиничката слика на хроничен периапикален процес или акутна одонтогена инфекција во зависност од полот на пациентите.
2. Статистички сигнификантна зависност се регистрира помеѓу возраста и сите испитувани полиморфизми на гените за ММП-1, -8 и -13 кај пациентите со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa* и *Parodontitis chronica periapicalis diffusa*, како и за пациентите со акутна одонтогена инфекција. Кај пациентите со клиничка дијагноза *Cystis radicularis* се регистрира статистичка сигнификантна зависност само помеѓу полиморфизмот -1607 1G/2G на гените за ММП -1 детектиран со рестрикциските ензими *AluI* и *XmnI*, како и кај полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8, додека кај полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI*, како и кај полиморфизмот -77 A/G за генот на ММП-13 не се регистрираше статистичка сигнификантност. Овој податок сугерира дека сите испитуваните полиморфизми влијаат врз развојот на клиничката слика на хроничен периапикален процес или акутна одонтогена инфекција во зависност од возраста на пациентите.
3. Од корелацијата помеѓу местото на раѓање и полиморфизмите за гените на ММП-1, -8 и -13 не се регистрираше статистички сигнификантна зависност кај ниедна од испитуваните групи со различна клиничка дијагноза. Овие резултати укажуваат дека полиморфизмите на гените за колагеназите не

влијаат врз развојот на клиничката слика во зависност од местото на раѓањето на пациентите кај различните клинички дијагнози.

4. Корелацијата помеѓу присуството на системско заболување кај пациентите и полиморфизмот на гените за колагеназите покажа дека постои статистички сигнификантна зависност кај пациентите со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis granulomatosa* и оние со акутна одонтогена инфекција за сите испитувани полиморфизми. Кај пациентите со клиничка дијагноза *Parodontitis chronica periapicalis diffusa*, исто така се регистрираше статистички сигнификантна зависност, но само кај полиморфизмот -519 A/G на генот за MMP-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI*, и полиморфизмот -77 A/G на генот за MMP-13. Кај пациентите со клиничка дијагноза *Cystis radicularis*, статистички сигнификантна зависност се регистрираше само кај полиморфизмот -519 A/G на генот за MMP-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI*. Овој податок сугерира дека полиморфизмот на гените за колагеназите влијае врз развојот на воспалителниот процес во зависност од присуството или отсуството на системско заболување кај пациентите од различните клинички дијагнози.
5. Кај пациентите со хронична периапикална лезија и акутна одонтогена инфекција, корелацијата помеѓу CPI индексот и полиморфизмите за гените на колагеназите покажа дека постои статистички сигнификантна зависност помеѓу сите испитувани полиморфизми и субјективни симптоми и манифестни клинички знаци. Овој податок сугерира дека полиморфизмот на гените за MMP кај пациентите кај кои се присутни субјективни симптоми и манифестни клинички знаци условил појава на воспалителен процес.
6. Статистички сигнификантна зависност се регистрираше помеѓу бројот на забите со хронична периапикална лезија и испитуваните полиморфизмот на гените MMP -1, -8 и -13 кај пациентите и со хронична периапикална лезија и со акутна одонтогена инфекција. Овие резултати сугерираат дека честотата на појава на хроничен периапикален процес зависи од појавата на испитуваните полиморфизми за гените кај колагеназите.
7. Од корелацијата помеѓу големината на хроничната периапикална лезија и сите испитувани полиморфизмот на гените за колагеназите не се регистрираше статистички сигнификантна кај пациентите од сите испитувани групи. Овој податок сугерира дека полиморфизмот на гените за колагеназите

нема влијание врз големината на патолошкиот процес кај пациентите со хронична периапикална лезија.

8. Корелацијата помеѓу бројот на кариозни заби и полиморфизмот на гените за ММП -1,-8 и -13 покажа дека се регистрира статистички сигнификантна зависност кај пациентите од сите клинички дијагнози. Овој податок сугерира дека полиморфизмот на генот за ММП довел до појава на поголем број на кариозни заби кај пациентите со хронична периапикална лезија и акутна одонтогена инфекција во однос на контролната група.
9. Дистрибуцијата на генотиповите кај сите испитувани полиморфизми за гените на ММП-1, -8 и 13, помеѓу пациентите со различна хронична периапикална лезија и контролната група покажа разлики. Исто така се потврди разлика и во дистрибуцијата на генотиповите кај овие полиморфизми и меѓу групата на пациенти со акутна одонтогена инфекција и контролната група, а и меѓу двете групи на пациенти со хроничен и акутен воспалителен процес.
10. Индивидуи кои се носители на 2G/2G генотипот и индивидуите со 1G/2G генотипот (2G носителите) кај полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *Acl*I, како и кај полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *Xmn*I, покажуваат склоност кон развој на воспалителен процес со побурна клиничка слика и кон развој на една акутна одонтогена инфекција.
11. Детектираната фреквенција на 2G алелот кај полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *Acl*I беше сигнификантно повисока кај пациентите со акутна одонтогена инфекција ($f(2G)=0,79$) во однос на контролната група ($f(2G)=0,30$), но и во однос на пациентите со хронична периапикална лезија. Сметаме дека 1G алелот има протективната улога на за развој на хроничен периапикален процес и акутна одонтогена инфекција.
12. Детектираната фреквенција на 2G алелот кај полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *Xmn*I беше сигнификантно повисока кај пациентите со акутна одонтогена инфекција ($f(2G)=0,76$) во однос на контролната група ($f(2G)=0,18$), но и во однос на пациентите со хронична периапикална лезија.

13. Полиморфизмот -1607 1G/2G на генот за ММП-1 со рестрикциски ензим детектиран со *XmnI* и полиморфизмот -1607 1G/2G за генот на ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *AluI* претставуваат ризик фактор за појава на хроничните периапикални лезии и на акутните одонтогени инфекции.
14. Индивидите кои се носители на G/G генотипот и индивидите со A/G генотипот (G носителите) кај полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI*, покажуваат склоност кон развој на воспалителен процес со побурна клиничка слика и кон развој на една акутна одонтогена инфекција.
15. Детектираната фреквенција на G алелот кај полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI* беше сигнификантно повисока кај пациентите со акутна одонтогена инфекција ($f(G)=0,65$) во однос на контролната група ($f(G)=0,05$), но и во однос на пациентите со хронична периапикална лезија. Сметаме дека A алелот има протективната улога на за развој на хроничен периапикален процес и акутна одонтогена инфекција.
16. Полиморфизмот -519 A/G на генот за ММП-1 детектиран со рестрикциски ензим *KpnI* е ризик фактор за појава и на хроничните периапикални лезии и на акутните одонтогени инфекции.
17. Индивидите кои се носители на T/T генотипот и индивидите со C/T генотипот (T носителите) кај полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 детектиран со рестрикциски ензим *BglII*, покажуваат склоност кон развој на воспалителен процес со побурна клиничка слика и кон развој на една акутна одонтогена инфекција.
18. Детектираната фреквенција на T алелот кај полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 детектиран со рестрикциски ензим *BglII* беше сигнификантно повисока кај пациентите со акутна одонтогена инфекција ($f(T)=0,85$) во однос на контролната група ($f(T)=0,23$), но и во однос на пациентите со хронична периапикална лезија. Сметаме дека C алелот ја има протективната улога во развој на хроничен периапикален процес и акутна одонтогена инфекција.
19. Полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 определен со рестрикциски ензим *BglII* претставува ризик фактор за појава на хроничните периапикални лезии и на акутните одонтогени инфекции.
20. Hardy-Weinberg-ов еквилибриум за полиморфизмот -799 C/T на генот за ММП-8 детектиран со рестрикциски ензим *BglII*, е регистриран кај пациентите со

хронична периапикална лезија и акутна одонтогена инфекција, но и кај контролната група се потврди постоење на рамнотежа за овој генски локус.

21. Индивидите кои се носители на G/G генотипот и индивидите со A/G генотипот (G носителите) кај полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 определен со рестрикциски ензим *BsrI*, покажуваат склоност кон развој на воспалителен процес со побурна клиничка слика и кон развој на една акутна одонтогена инфекција.
22. Детектираната фреквенција на G алелот кај полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 определен со рестрикциски ензим *BsrI* беше сигнификантно кај пациентите со хронична периапикална лезија и акутна одонтогена инфекција во однос на пациентите од контролната група ($f(G)=0,09$). Сметаме дека G алелот има протективната улога на за развој на хроничен периапикален процес и акутна одонтогена инфекција.
23. Полиморфизмот -77 A/G на генот за ММП-13 детектиран со рестрикциски ензим *BsrI* е ризик фактор за појава и на хроничните периапикални лезии и на акутните одонтогени инфекции.
24. Хроничните периапикални лезии и акутните одонтогени инфекции кај македонската полулација се во корелација со испитуваните полиморфизми на гените за ММП -1, -8 и -13.
25. Оваа докторска дисертација има апликативен карактер, отворајќи нови можности за валоризација на новиот начин на дијагностицирање на хроничните воспалителни процеси и акутни одонтогени инфекции, како и можноста за контрола на воспалителниот процес преку различните аспекти на инхибиција на колагеназите (ММП-1, -8, и -13), преку намалување на транскрипцијата на воспалителните гени и преку намалување на транскрипцијата на антивоспалителите гени.
26. Со оваа докторска дисертација се овозможува идентификација на генетските фактори кои се од огромно значење за етаблирање на ризичниот профил на пациенти со склоност за развој на хроничен периапикален процес или акутна одонтогена инфекција, а варијациите во алелите на гените на колагеназите претставуваат маркер за мониторинг на ризикот и прогресијата на овие воспалителни процеси.

8. АНТЕРА ТУРА

8. Литература

1. Amano S, Akutsu N, Matsunaga Y, Kadoya K, Nishiyama T, Champiaud M-F, Burgeson RE, Adachi E. (2001) *Importance of balance between extracellular matrix synthesis and degradation in basement membrane formation*. Exp Cell Res, 271: 249-262.
2. Angel P, Baumann I, Stein B, Deljus H, Rahnmsdorf H J, Herruch P. (1987) 12-O-Tetradecanoyl-Phorbol-13-Acetate induction of the human collagenase gene is mediated by an inducible enhancer element located in the 5'-flanking region. Mol cell Bwl, 7: 2256-2266.
3. Arakaki PA, Marques MR and Santos MC. (2009) *MMP-1 polymorphism and its relationship to pathological processes*. J. Biosci, 34(2).
4. Arcaroli J, Fessler MB, Abraham E. (2005) *Genetic polymorphisms and sepsis*. Shock, 24: 300-12.
5. Arisan V, Karabuda C, Özdemir T. (2005) *Effect of MMP-1 polymorphism on early term osseointegrated dental implant failure: A pilot study*. Journal of Cell and Molecular Biology, 4: 53-58.
6. Artese L, Piattelli A, Quaranta M, Colasante A, Musani P. (1991) *Immunoreactivity for interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α and ultrastructural features of monocytes/macrophages in periapical granulomas*. J Endod, 17: 483-487.
7. Aumailley M & Gayraud B. (1998) *Structure and biological activity of the extracellular matrix*. J Mol Med, 76: 253-65.
8. Baker EA, Bergin FG, Leaper DJ. (2000) *Matrix metalloproteinases, their tissue inhibitors and colorectal cancer staging*. British Journal of Surgery, 87(9): 1215-1221.
9. Balbin M, Fueyo A, Tester AM, Pendas AM, Pitiot AS, Astudillo A, Overall CM, Shapiro SD, Lopez-Otin C. (2003) *Loss of collagenase-2 confers increased skin tumor susceptibility to male mice*. Nat Genet, 35(3): 252-257.
10. Barkhordar RA. (1987) *Determining the presence and origin of collagenase in human periapical lesions*. J Endod, 13: 228-232.
11. Beare AH, O'Kane S, Krane SM, Ferguson-MW. (2003) *Severely impaired wound healing in the collagenase-resistant mouse*. J Invest Dermatol, 120:153-63.
12. Benderdour M, Tardif G, Pelletier JP, Dupuis M, Geng C, Martel-Pelletier J. (2002) *A novel negative regulatory element in the human collagenase-3 proximal promoter region*. Biochem Biophys Res Commun, 291: 1151-9.
13. Belmar MJ, Pabst C, Martínez B, Hernández M. (2008) *Gelatinolytic activity in gingival cervical fluid from teeth with periapical lesions*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 105:801-6.
14. Bergenholtz G. (2000) *Evidence for bacterial causation of adverse pulpal response in resin-based dental restorations*. Crit Rev Oral Biol Med, 11: 467-480.
15. Birkedal-Hansen H. (1993) *Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases*. Journal of Periodontology, 64: 474-84.
16. Birkedal-Hansen H, Butler WT, Taylor RE. (1977) *Proteins of the periodontium. Characterization of the insoluble collagens of bovine dental cementum*. Calcif Tissue Res, 23:39-44.

17. Birkedal-Hansen H, Moore WGI, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B, DeCarlo A, Engler JA. (1993) *Matrix metalloproteinases: a review*. Crit Rev Oral Biol Med, 4: 197-250.
18. Bode W. (1994) *The X-ray crystal structure of the catalytic domain of human neutrophil collagenase inhibited by a substrate analogue reveals the essentials for catalysis and specificity*. EMBO J, 13: 1263-1269.
19. Brinckerhoff C E & Matrisian L M. (2002) *Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince*. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 3: 207-214.
20. Butler WT, Birkedal-Hansen H, Beegle WF, Taylor RE, Chung E. (1975) *Proteins of the periodontium. Identification of collagens with the [alpha1(I)]2alpha2 and [alpha1(III)]3 structures in bovine periodontal ligament*. J Biol Chem, 250: 8907-8912.
21. Campbell EJ, Cury JD, Lazarus CJ, Welgus HG. (1987) *Monocyte procollagenase and tissue inhibitor of metalloproteinases. Identification, characterization, and regulation of secretion*. J Biol Chem, 262: 15862-15868.
22. Campbell EJ, Cury JD, Shapiro SD, Goldberg GI, Welgus HG. (1991) *Neutral proteinases of human mononuclear phagocytes. Cellular differentiation markedly alters cell phenotype for serine proteinases, metalloproteinases, and tissue inhibitor of metalloproteinases*. J Immunol, 146: 1286-1293.
23. Cao Z, Li C, Zhu G. (2006) *MMP-1 promoter gene polymorphism and susceptibility to chronic periodontitis in a Chinese population*. Tissue antigens, 68: 38-43.
24. Cao ZG & Li C. (2006) *A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 promoter enhances oral squamous cell carcinoma susceptibility in a Chinese population*. Oral Oncol, 42: 32-38.
25. Cole AA, Chubinskaya S, Schumacher B, Huch K, Szabo G, Yao J, Mikecz K, Hasty KA, Kuettner KE. (1996) *Chondrocyte matrix metalloproteinase-8. Human articular chondrocytes express neutrophil collagenase*. J Biol Chem, 271: 11023-6.
26. Carneiro E, Menezes R, Garlet GP, Garcia RB, Bramante CM, Figueira R, et al. *Expression analysis of matrix metalloproteinase-9 in epithelialized and nonepithelialized apical periodontitis lesions*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2009; 107(1):127-132. [PubMed: 18926740].
27. Curry TE & Osteen KG. (2003) *The matrix metalloproteinase system: changes, regulation, and impact throughout the ovarian and uterine reproductive cycle*. Endocr Rev, 24: 428-65.
28. D'Ortho MP, Jarreau PH, Delacourt C, quin-Mavier I, Levame M, Pezet S, Harf A, Lafuma C. (1994) *Matrix metalloproteinase and elastase activities in LPS-induced acute lung injury in guinea pigs*. Am J Physiol, 266: 209-216.
29. De Souza AP, Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, Brito RB, Line SRP. (2003) *MMP-1 promoter polymorphism: association with chronic periodontitis severity in a Brazilian population*. J Clin Periodontol, 30: 154-8.
30. Delaisse JM, Vaes G, Rifkin BR, Gay CV. (1992) *In Biology and Physiology of the Osteoclast*. CRC Press, Boca Raton, 289-314.
31. Ding Y, Haapasalo M, Kerosuo E, Lounatmaa K, Kotiranta A, Sorsa T. (1997) *Release and activation of human neutrophil matrix metallo- and serine- proteinases during phagocytosis of Fusobacterium nucleatum, Porphyromonas gingivalis and Treponema denticola*. J Clin Periodontol, 24: 237-48.
32. Domeij H, Yucel-Lindberg T, Modéer T. (2002) *Signal pathways involved in the produc-*

- tion of MMP-1 and MMP-3 in human gingival fibroblasts. *Eur J Oral Sci*, 110: 302-306.
33. Drzewoski J, Sliwińska A, Przybyłowska K, Sliwiński T, Kasznicki J, Zurawska-Klis M, Kosmowski M, Majsterek I. (2008) Gene polymorphisms and antigen levels of matrix metalloproteinase-1 in type 2 diabetes mellitus coexisting with coronary heart disease. *Kardiologia Pol*, 66:1042-1048.
 34. Dung TZ & Liu AH. (1999) Molecular pathogenesis of root dentin caries. *Oral Dis* 5: 92-99.
 35. Dunsmore SE, Saarialho-Kere UK, Roby JD, Wilson CL, Matrisian LM, Welgus HG, Parks W. (1998) *Matrilysin expression and function in airway epithelium*. *J Clin Invest*, 102: 1321-1331.
 36. Faber H, Groom CR, Baker HM. (1995) A crystal structure of the Cterminal domain of rabbit hemopexin. *Structure*, 3: 551-559.
 37. Fang KC, Wolters PJ, Steinhoff M, Bidgol A, Blount JL, Caughey GH. (1999) Mast cell expression of gelatinases A and B is regulated by kit ligand and TGF-beta. *J Immunol*, 162: 5528-5535.
 38. Fang S, Jin X, Wang R, Li Y, Guo W, Wang N, Wang Y, Wen D, Wei L, Zhang J. (2005) Polymorphisms in the MMP1 and MMP3 promoter and non-small cell lung carcinoma in North China. *Carcinogenesis*, 26(2):481-486.
 39. Fisher GJ, Datta SC, Talwar HS, Wang ZQ, Varani J, Kang S, Voorhees JJ. (1996) Molecular basis of sun-induced premature skin ageing and retinoid antagonism. *Nature*, 379: 335-339.
 40. Flex A, Gaetani E, Angelini F, Sabusco A, Chilla C, Straface G, Biscetti F, Pola P, Castellot J, Pola R. (2007) Proinflammatory genetic profiles in subjects with peripheral arterial occlusive disease and critical limb ischemia. *J Int Med*. 262: 124-130.
 41. Fortunato SJ, LaFleur B, Menon R. (2003) Collagenase-3 (MMP-13) in fetal membranes and amniotic fluid during pregnancy. *A J Reprod Immunol*, 49: 120-125.
 42. Freeman E. (1994) *Periodontium in Oral Histology: Development, Structure, and Function*. Mosby, 276.
 43. Freeman JL, Perry GH, Feuk L. (2006) Copy number variation: new insights in genome diversity. *Genome Res*, 16: 949-61.
 44. Freije JM, Diez-Itza I, Balbin M, Sanchez LM, Blasco R, Tolivia J, Lopez-Otin C. (1994) Molecular cloning and expression of collagenase-3, a novel human matrix metalloproteinase produced by breast carcinomas. *J Biol Chem*, 269: 16766-73.
 45. Fujimoto T, Parry S, Urbanek M, Sammel M, Macones G, Kuivaniemi H, Romero R, Strauss JF. (2002) A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) promoter influences amnion cell MMP-1 expression and risk for preterm premature rupture of the fetal membranes. *J Biol Chem*, 277(8):6296-6302.
 46. Gaire M, Magbanua Z, McDonnell S, McNeil L, Lovett DH, Matrisian LM. (1994) Structure and expression of the human gene for the matrix metalloproteinase matrilysin. *J Biol Chem*, 269: 2032-2040.
 47. Garner C & Slatkin M. (2003) On selecting markers for association studies: patterns of linkage disequilibrium between two and three diallelic loci. *Genet Epidemiol*, 24: 57-67.
 48. Gemmel NJ and Aniyama S. (1996) An efficient method for the extraction of DNA from vertebrate tissues. *Trends in Ecology and Evolution*, 12(9): 338-339.
 49. Ghilardi G, Biondi ML, DeMonti M. (2002) Matrix metalloproteinase-1 and matrix

- metalloproteinase-3 gene promoter polymorphisms are associated with carotid artery stenosis. *Stroke*, 33: 2408-2412.
50. Gibbs DF, Warner RL, Weiss SJ, Johnson KJ, Varani J. (1999) Characterization of matrix metalloproteinases produced by rat alveolar macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 20: 1136-1144.
 51. Gomis-Ruth FX, Gohlke U, Betz M, et al. (1996) The helping hand of collagenase-3 (MMP-13), A crystal structure of its C-terminal haemopexin-like domain. *J Mol Biol*, 264: 556-566.
 52. Gomis-Ruth FX. (2003) Structural aspects of the metzincin clan of metalloendopeptidases. *Mol Biotechnol*, 24:157-202.
 53. González-Arriaga P, López-Cima MF, Fernández-Somoano A, Pascual T, Marrón MG, Puente XS, Tardón A. (2008) Polymorphism +17 C/G in matrix metalloproteinase MMP-8 decreases lung cancer risk. *BMJ Cancer*, 8:378.
 54. Goodwin JS. (1991) Are prostaglandins proinflammatory, antiinflammatory, both or neither. *J Rheumatol*, 18(28): 26-9.
 55. Gross J & Lapière CM. (1962) Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci USA*, 48: 1014-1022.
 56. Gum R, Lengyel E, Juarez J, Chen JH, Sato H, Seiki M, Boyd D. (1996) Stimulation of 92 kDa gelatinase B promoter activity by ras is mitogen-activated protein kinase kinase I independent and requires multiple transcription sites including closely spaced PEA3/ets and AP-1 sequences. *J Biol Chem*, 271:10672-0680.
 57. Halpert I, Sires UI, Roby JD, Potter-Perigo S, Wight TN, Shapiro SD, Welgus HG, Wickline SA, Parks WC. (1996) Matrilysin is expressed by lipid-laden macrophages at sites of potential rupture in atherosclerotic lesions and localizes to areas of versican deposition, a proteoglycan substrate for the enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93: 9748-9753.
 58. Hasty KA, Hibbs MS, Kang AH, Mainardi CL. (1987a) Secreted forms of human neutrophil collagenase. *J Biol Chem*, 261: 5645-5650.
 59. Hasty KA, Jeffrey JJ, Hibbs MS, Welgus HG. (1987) The collagen substrate specificity of human neutrophil collagenase. *J Biol Chem*, 261: 10048-52.
 60. Hasty KA, Pourmotabbed TF, Goldberg GI, Thompson JP, Spinella DG, Stevens RM, Mainardi CL. (1990) Human neutrophil collagenase. A distinct gene product with homology to other matrix metalloproteinases. *J Biol Chem*, 265: 11421-24.
 61. Heikkilä P. (2005) Effect of bisphosphonates and small cyclic peptides on MMP and human cancer cells. Academic dissertation, Helsinki.
 62. Hemminki K, Altieri A, Johansson R, Enquist K, Hallmans G, Lenner P, Forsti A. (2007) Promoter polymorphisms in matrix metalloproteinases and their inhibitors: few associations with breast cancer susceptibility and progression. *Breast Cancer Res Treat*. 103(1):61-69.
 63. Herman MP, Sukhova GK, Libby P, Gerdes N, Tang N, Horton DB, Kilbride M, Breitbart RE, Chun M, Schonbeck U. (2001) Expression of neutrophil collagenase (matrix metalloproteinase-8) in human atheroma: a novel collagenolytic pathway suggested by transcriptional profiling. *Circulation* 104: 1899-1904.
 64. Hinoda Y, Okayama N, Takano N et al. (2002) Association of functional polymorphisms of matrix metalloproteinase (MMP)-1 and MMP-3 genes colorectal cancer. *Int J Cancer*, 102:526-529.

65. Holliday LS, Welgus HG, Fliszar CJ, Veith M, Jeffrey JJ, Gluck SL. (1997) *Initiation of osteoclasts bone resorption by interstitial collagenase*. J Bio Chem, 35: 22053-220589.
66. Horne BD, May HT, Anderson JL, Kfoury AG, Bailey BM, McClure BS, Renlund DG, Lappe DL, Carlquist JF, Fisher PW, Pearson RR, Bair TL, Adams TD, Muhlestein JB. (2008) *Usefulness of routine periodic fasting to lower risk of coronary from human bronchial explants*. J Biol Chem, 271: 15580-15589.
67. Howard EW, Bullen EC, Banda MJ. (1991) *Preferential inhibition of 72- and 92-kDa gelatinases by tissue inhibitor of metalloproteinases-2*. J Biol Chem, 266: 13070-13075.
68. Huhtala P, Chow LT, Tryggvason K. (1990) *Structure of the human type IV collagenase gene*. J Biol Chem, 265: 11077-11082.
69. Hyong-Suk Oh, Kim OS, Kim YJ, Chung H-J. (2009) *MMP-1 promoter polymorphism in Korean with generalized aggressive Periodontitis*. J Korean Acad Periodontol, 39:269-278.
70. Itagaki M, Kubota T, Tai H, Shimada Y, Morozumi T, Yamazaki K. (2004) *Matrix metalloproteinase-1 and -3 gene promoter polymorphisms in Japanese patients with periodontitis*. J Clin Periodontol, 31: 764-9.
71. Itagaki T, Honma T, Takahashi I, Echigo S, Sasano Y (2008). *Quantitative analysis and localization of mRNA transcripts of type I collagen, osteocalcin, MMP 2, MMP 8, and MMP 13 during bone healing in a rat calvarial experimental defect model*. Anat Rec (Hoboken) 291:1038-1046.
72. Izakovičová HL, Jurajda M, Fassmann A, Dvorakova N, Znojil V, Vacha J. (2004) *Genetic variations in the matrix metalloproteinase-1 promoter and risk of susceptibility and/or severity of chronic periodontitis in the Czech population*. Journal of Clinical Periodontology, 31 (8): 685.
73. Jenne D & Stanley KK. (1987) *Nucleotide sequence and organization of the human S-protein gene: Repeating peptide motifs in the pexin family and a model for their evolution*. Biochemistry, 26: 6735-6742.
74. Jeong WI, Do SH, Jeong DH, Hong IH, Park JK, Ran KM, Yang HJ, Yuan DW, Kim SB, Cha MS et al. (2006) *Kinetics of MMP-1 and MMP-3 produced by mast cells and macrophages in liver fibrogenesis of rat*. Anticancer Res, 26: 3517-3526.
75. Jian M. (2004) *Adverse host tissue responses in loosening of dental implants. Proteolytic enzymes and peri-implant tissue destruction*. Academic dissertation, Helsinki.
76. Johansson N, Ahonen M, Kähäri VM. (2000) *Matrix metalloproteinases in tumor invasion*. Cell Mol Life Sci, 57: 5-15.
77. Jojić B & Perović J. (1997) *Oralna hirurgija*, Univerzitet Beograd.
78. Ju W, Kim J W, Park N H, Song Y S, Kim S C, Kang S B, Lee H P. (2007) *Matrix metalloproteinase-1 promoter polymorphism and epithelial ovarian cancer: does ethnicity matter*. J Obstet Gynaecol Res, 33: 155-160.
79. Jurajda M, Muzík J, Izakovicová-Hollá L, Vácha J. (2002) *A newly identified nucleotide polymorphism in the promoter of the matrix metalloproteinase-1 gene*. Mol Cell Probes, 16:63-66.
80. Kadono Y, Okada Y, Namiki M, Seiki M, Sato H. (1998) *Transformation of epithelial Madin-Darby canine kidney cells with p60(v-src) induces expression of membrane-type 1 matrix metalloproteinase and invasiveness*. Cancer Res, 58: 2240-2244.
81. Kanamori Y, Matsushima M, Minaguchi T et al. (1999) *Correlation between expression*

- of the matrix metalloproteinase-1 gene in ovarian cancers and an insertion/deletion polymorphism in its promoter region. *Cancer Res*, 59:4225-4227.
82. Kanbe N, Tanaka A, Kanbe M, Itakura A, Kurosawa M, Matsuda H. (1999) *Human mast cells produce matrix metalloproteinase 9*. *Eur J Immunol*, 29: 2645-2649.
83. Kennedy A, Inada M, Krane S, Christie P, Harding B, López-Otín C, Sánchez L, Pannett A, Dearlove A, Hartley C, Byrne M, Reed A, Nesbit M, Whyte M, Thakker R. (2005) *MMP-13 mutation causes spondyloepimetaphyseal dysplasia, Missouri type (SEMDMO)*. *The Journal of Clinical Investigation*, 115:10.
84. Kerkelä E & Saarialho-Kere U. (2003) *Matrix metalloproteinases in tumor progression: focus on basal and squamous cell skin cancer*. *Experimental Dermatology*, 12: 109-125.
85. Kičić M & Krajinčanić B. (1989) *Medicinska genetika*. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd.
86. Killi M, Cox SW, Chen HW, Wahlgren J, Maisi P, Eley BM, Salo T, Sorsa T. (2002) *Collagenase-8 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalization in gingival tissue*. *J Clin Periodontol*, 29: 224-32.
87. Kim MH, Albertsson P, Xue Y, Nannmark U, Kitson RP, Goldfarb RH. (2001) *Expression of neutrophil collagenase (MMP-8) in Jurkat T leukaemia cells and its role in invasion*. *Anticancer Res*, 21: 45-50.
88. Knäuper V, Lopez-Otin C, Smith B, Knight G, Murphy G. (1996) *Biochemical characterization of human collagenase-3*. *J Biol Chem*, 271: 1544-50.
89. Korstanje R & Paigen B. (2002) *From QTL to gene: the harvest begins*. *Nat Genet*. 31:235-6.
90. Korytina GF, Akhmadishina LZ, Ianabaeva DG, Viktorova TV. (2008) *Polymorphism in promoter regions of matrix metalloproteinases (MMP1, MMP9, and MMP12) in chronic obstructive pulmonary disease patients*. *Genetika*, 44(2): 242-9.
91. Kuo HP, Wang YM, Wang CH, He CC, Lin SM, Lin HC, Liu CY, Huang KH, Hsieh LL, Huang CD. (2008) *Matrix metalloproteinase-1 polymorphism in Taiwanese patients with endobronchial tuberculosis*. *Tuberculosis* 88 262-267.
92. Lagente V & Boichot E. (2008) *Matrix metalloproteinases in tissue remodelling and inflammation*. Birkhäuser Verlag Basel, Switzerland.
93. Lei H, Hemminki K, Altieri A, Johansson R, Enquist K, Hallmans G, Lenner P, Forsti A. (2007) *Promoter polymorphisms in matrix metalloproteinases and their inhibitors: few associations with breast cancer susceptibility and progression*. *Breast Cancer Res Treat*, 103(1):61-69.
94. Leite MF, Santos MC, De Souza AP, Line SR. (2008) *Osseointegrated implant failure associated with MMP-1 promoter polymorphisms (-1607 and -519)*. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 23: 653-658.
95. Li J, Brick P, O'Hare MC et al. (1995) *Structure of full-length porcine synovial collagenase reveals a C-terminal domain containing a calcium-linked, four-bladed bpropeller*. *Structure*, 3: 541-549.
96. Li TF, Xu JW, Santavirta S, Nordsletten L, Michelsson O, Takagi M et al. (2000) *Distribution of fibronectins and their integrin receptors in interface tissue from aseptic loosening of hip prostheses*. *Clin Exp Rheumato*, 18:221-225.
97. Lievre A, Milet J, Carayol J, Le Corre D, Milan C, Pariente A, Nalet B, Lafon J, Faivre J,

- Bonithon-Kopp C, Olschwang S, Bonaiti-Pellie C and Laurent-Puig P. (2006) *Genetic polymorphisms of MMP-1, MMP-3 and MMP-7 gene promoter and risk of colorectal adenoma*. BMC Cancer, 6: 270.
98. Leonardi R, Caltabiano R, Loreto C. *Collagenase-3 (MMP-13) is expressed in periapical lesions: an immunohistochemical study*. Int Endod J 2005; 38:297–301. [PubMed: 15876293].
99. Lu Z, Cao Y, Wang Y, Zhang Q, Zhang X, Wang S, Li Y, Xie H, Jiao B, Zhang J. (2007) *Polymorphisms in the matrix metalloproteinase-1, -3, and -9 promoters and susceptibility to adult astrocytoma in northern China*. J Neurooncol. 85: 65–73.
100. Marklová E. (2007) *Inflammation and genes*. Acta medica, 50(1):17-21.
101. Márton IJ & Kiss C. (2000) *Protective and destructive immune reaction in apical periodontitis*. Oral Microbiol Immunol, 15(3): 139-150.
102. Massova I, Kotra PL, Fridman R, Mobashery S. (1998) *Matrix metalloproteinases: structure, evolution and diversification*. The FASEB Journal, 12:1075-1095.
103. Матовска Љ. (2001) *Болести на забите и ендодонтот: Ендодонција*. Сигмапрес, Скопје, 214-264.
104. McCready J, Broadus W C, Sykes V, Fillmore H L. (2005) *Association of a single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 promoter with glioblastoma*. Int J Cancer, 117: 781–785.
105. Meikle MC, Bord S, Hembry RM, Comston J, Croucher PI, Reynolds JJ. (1992) *Human osteoblasts in culture synthesize collagenase and other matrix metalloproteinases in response to osteotropic hormones and cytokines*. J Cell Sci, 103: 1093-99.
106. Meng N, Li Y, Zhang H, Sun X-F. (2008) *Reck, a novel matrix metalloproteinase regulator*. Histol Histopathol, 23:1003-1010.
107. Menezes-Silva R, Khaliq S, Deeley K, Letra A, Vieira AR. (2012) *Genetic Susceptibility to Periapical Disease: Conditional Contribution of MMP2 and MMP3 Genes to the Development of Periapical Lesions and Healing Response*. Journal of Endodontics, 38 (5):604-607.
108. Mitchell PG, Magna HA, Reeves LM, Lopresti-Morrow LL, Yocum SA, Rosner PJ, Geoghegan KF, Hambor JE. (1996) *Cloning, expression, and type II collagenolytic activity of matrix metalloproteinase-13 from human osteoarthritic cartilage*. J Clin Invest, 97: 761–768.
109. Moilanen M, Sorsa T, Stenman M, Nyberg P, Lindy O, Vesterinen J, Paju A, Kontinen YT, Stenman U-H, Salo T. (2003) *Tumour-associated trypsinogen-2 (trypsinogen-2) activates procollagenases (MMP-1, -8, -13) and stromelysin-1 (MMP-3) and degrades type I collagen*. Biochemistry, 42: 5414-20.
110. Montel V, Kleeman J, Agarwal D, Spinella D, Kawai K, Tarin D. (2004) *Altered metastatic behavior of human breast cancer cells after experimental manipulation of matrix metalloproteinase 8 gene expression*. Cancer Res, 64(5):1687-1694.
111. Myllyharju J and Kivirikko KI. (2001) *Collagens and collagen-related diseases*. Ann Med, 33: 7-21.
112. Nagase H & Woessner JF. (1999) *Matrix metalloproteinases*. J Biol Chem, 274: 21491–4.
113. Nasr HB, Mestiri S, Chahed K, Bouaouina N, Gabbouj S, Jalbout M, Couchane L. (2007) *Matrix metalloproteinase-1 (-1607) 1G/2G and -9 (-1562) C/T promoter*

- polymorphisms: susceptibility and prognostic implications in nasopharyngeal carcinomas. Clin Chim Acta, 384: 57-63.*
114. Neville BW, Damm DD, Allen Cm, Bouquot Je. (2002) *Oral and Maxfac Pthol* Philadelphia, USA: WB Saunders Co, 107-136.
 115. Nho YK, Ha E, Yu KI, Chung JH, Wook NC, Chung IS, Lee MY and Shin DH. (2008) *Matrix metalloproteinase-1 promoter is associated with body mass index in Korean population with age greater or equal to 50 years. Clin Chim Acta, 396: 14-17.*
 116. Nieters A, Beckmann L, Deeg E, Becker N. (2006) *Gene polymorphisms in Toll-like receptors, interleukin-10, and interleukin-10 receptor alpha and lymphoma risk. Genes Immun, 7:615-24.*
 117. Nishizawa R, Nagata M, Noman A A, Kitamura N, Fujita H, Hoshina H, Kubota T, Itagaki M, Shingaki S, Ohnishi M, Kurita H, Katsura K, Saito C, Yoshie H and Takagi R. (2007) *The 2G allele of promoter region of Matrix metalloproteinase-1 as an essential pre-condition for the early onset of oral squamous cell carcinoma. BMC Cancer, 7:187.*
 118. O'Boskey Jr & Panagakos FS. (1998) *Cytokines stimulate matriks metalloprteinase production by human pulp cells during long-term culture. J of Endodontics, 24: 7-10.*
 119. Ohno I, Ohtani H, Nitta Y, Suzuki J, Hoshi H, Honma M, Isoyama S, Tanno Y, Tamura G, Yamauchi K et al. (1997) *Eosinophils as a source of matrix metalloproteinase-9 in asthmatic airway inflammation. Am J Respir Cell Mol Biol, 16: 212-219.*
 120. Overall MC & Kleifeld O. (2006) *Validating matrix metalloproteinases as drug targets and anti-targets for cancer therapy. Nature reviews, 6: 227-239.*
 121. Page-McCaw A, Ewald A, Werb Z. (2007) *Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue Remodeling. Nat Rev Mol Cell Biol, 8(3): 221-233.*
 122. Palosaari H, Wahlgren J, Larmas M, Rönkä H, Sorsa T, Salo T, Tjäderhane L. (2000) *The expression of MMP-8 in human odontoblasts and dental pulp cells is downregulated by TGF- β 1. J Dent Res, 79: 77-84.*
 123. Панов С. (2003) Основни методи во молекуларната биологија. Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Скопје.
 124. Paula-Silva F, Bezerra da Silva L, Kapila YL. (2010) *Matrix Metalloproteinase Expression in Teeth with Apical Periodontitis Is Differentially Modulated by the Modality of Root Canal Treatment. J Endod, 36(2): 231.*
 125. Pena AS. (1998) *Genetics of inflammatory bowel disease. The candidate gene approach: susceptibility versus disease heterogeneity. Dig Dis, 16:356-63.*
 126. Pendas AM, Knäuper V, Puente XS, Llano E, Mattei MG, Apte S, Murphy G, Lopez-Otin C. (1997) *Identification and characterization of a novel human matrix metalloproteinase with unique structural characteristics, chromosomal location, and tissue distribution. J Biol Chem, 272: 4281-86.*
 127. Persikov AV & Brodsky B. (2002) *Unstable molecules form stable tissues. Proc Natl Acad Sci USA, 99: 1101-1103.*
 128. Petrović V & Čolić S. (2001) *Periapikalne lezije, Velarta, Beograd.*
 129. Phillips K, Kedersha N, Shen L, Blackshear PJ, Anderson P. (2004) *Arthritis suppressor genes TIA-1 and TTP dampen the expression of tumor necrosis factor, cyclooxygenase 2, and inflammatory arthritis. Proc Natl Acad Sci USA, 101(35): 2011-16.*
 130. Pilcher BK, Dumin JA, Sudbeck BD, Krane SM, Welgus HG, Parks WC. (1997) *The activity of collagenase-1 is required for keratinocyte migration on a type I collagen matrix.*

J Cell Biol, 137: 1445-57.

131. Pirhan D, Atilla G, Emingil G, Sorsa T, Tervahartiala T and Berdeli A. (2008) *Effect of MMP-1 promoter polymorphisms on GCF MMP-1 levels and outcome of periodontal therapy in patients with severe chronic periodontitis*, J Clin Periodontol, 35: 862-870.
132. Prikk K, Maisi P, Pirila E, Sepper R, Salo T, Wahlgren J, Sorsa T. (2001) *In vivo collagenase-2 (MMP-8) expression by human bronchial epithelial cells and monocytes/macrophages in bronchiectasis*. J Pathol, 194: 232-238.
133. Prockop DJ & Kivirikko KI. (1995) *Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy*. Annu Rev Biochem, 64: 403-434.
134. Qiu W, Zhou G, Zhai Y, Zhang X, Xie W, Zhang H, Yang H, Zhi L, Yuan X, Zhang X, He F. (2008) *No association of MMP-7, MMP-8 and MMP-21 polymorphisms with the risk of hepatocellular carcinoma in a Chinese population*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 17(9).
135. Ra HJ & Parks WC. (2007) *Control of matrix metalloproteinases catalytic activity*. Matrix Biol, 26(8): 587-96.
136. Rashedi A & Juan M. (2000) *Treatment of periapical pathology with Retrograde Endodontic Technique*. Institute of Odontology, Karolinska Institutet, Huddinge, Sweden. Liñares Sixto. Endodoncia Quirúrgica. Instituto Láser de Salud Buco-Dental; Barcelona, España, www.future artical.
137. Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. (1995) *Histology a text and atlas*. Third edition. A Williams company, 150.
138. Rothnagel JA & Steinert PM. (1990) *The structure of the gene for mouse filaggrin and a comparison of the repeating units*. J Biol Chem, 265:1862-5.
139. Rudolph-Owen LA, Hulboy DL, Wilson CL, Mudgett J, Matrisian LM. (1997) *Coordinate expression of matrix metalloproteinase family members in the uterus of normal, matrilysin-deficient, and stromelysin-1-deficient mice*. Endocrinology, 138: 4902-11.
140. Rutter JL, Mitchell TI, Buttice G et al. (1998) *A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 promoter creates an Ets binding site and augments transcription*. Cancer Res, 58: 5321-5.
141. Saja K, Chatterjee U, Chatterjee BP, Sudhakaran PR. (2007) *Activation dependent expression of MMPs in peripheral blood mononuclear cells involves protein kinase*. A Mol Cell Biochem, 296: 185-192.
142. Saklatvala J, Dean J, Clark A. (2002) *Control of the expression of inflammatory response genes*. Biochem Soc Symp, 70: 95-106.
143. Sanchez-Lopez R, Alexander CM, Behrendt O et al. (1993) *Role of zinc-binding-encoded and hemopexin domain-encoded sequences in the substrate-specificity of collagenase and stromelysin-2 as revealed by chimeric proteins*. J Chem, 268: 7238-7247.
144. Sang QA & Douglas DA. (1996) *Computational sequence analysis of matrix metalloproteinases*. J Protein Chem, 15: 137-160.
145. Santos CL M, Campos IG M, Souza P A, Trevilatto CP, Line RP S. (2004) *Analysis of MMP-1 and MMP-9 Promoter Polymorphisms in Early Osseointegrated Implant Failure*. Int J Oral Maxillofac Implants, 19:38-43.
146. Scherer S, Baarboza de Souza T, Juliana de Paoli, Brenol V, Xavier R M, Brenol JCT,

- Chies JA, Simon D. (2010) *Matrix metalloproteinase gene polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis*. *Rheumatol Int*, 30:369–373.
147. Schroeder HE, Page RC. (1990) *The normal periodontium*. *Periodontal Diseases*, Philadelphia: Lea & Febiger, 3-52.
148. Schwingshackl A, Duszyk M, Brown N, Moqbel R. (1999) *Human eosinophils release matrix metalloproteinase-9 on stimulation with TNF-alpha*. *J Allergy Clin Immunol*, 104: 983–989.
149. Scuderi F, Convertino R, Molino N. (2003) *Effect of pro-inflammatory/anti-inflammatory agents on cytokine secretion by peripheral blood mononuclear cells in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus*. *Autoimmunity*, 36:71–7.
150. Seltzer JL, Lee AY, Akers KT, Sudbeck B, Southon EA, Wayner EA, Eisen AZ. (1994) *Activation of 72-kDa type IV collagenase/gelatinase by normal fibroblasts in collagen lattices is mediated by integrin receptors but is not related to lattice contraction*. *Exp Cell Res*, 213: 365–374.
151. Senior RM, Griffin GL, Fliszar CJ, Shapiro SD, Goldberg GI, Welgus HG. (1991) *Human 92- and 72-kilodalton type IV collagenases are elastases*. *J Biol Chem* 266: 7870–7875.
152. Shapiro SD, Kobayashi DK, Welgus HG. (1992) *Identification of TIMP-2 in human alveolar macrophages. Regulation of biosynthesis is opposite to that of metalloproteinases and TIMP-1*. *J Biol Chem*, 267: 13890–13894.
153. Shapiro SD. (1998) *Matrix metalloproteinases degradation of extracellular matrix: biological consequences*. *Curr Opin Cell Biol*, 10:602-608.
154. Shedi A. *Treatment of periapical pathology with retrograde endodontic technique*. [www.future article](http://www.futurearticle)
155. Shimizu Y, Kondo S, Shirai A, Furukawa M and Yoshizaki T. (2008) *A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 and interleukin-8 gene promoter predicts poor prognosis in tongue cancer*. *Auris Nasus Larynx*, 35: 381–389.
156. Six L, Grimm C, Leodolter S, Tempfer C, Zeillinger R, Sliutz G, Speiser P, Reinthaller A, Hefler LA (2006) *A polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 gene promoter is associated with the prognosis of patients with ovarian cancer*. *Gynecol Oncol*, 100(3):506-510.
157. Solberg H, Rinkenberger J, Dano K, Werb Z, Lund LR. (2003) *A functional overlap of plasminogen and MMPs regulates vascularization during placental development*. *Development*, 130: 4439-50.
158. Song YQ, Ho DW, Karppinen J, Kao PY, Fan BJ, Luk KD, Yip SP, Leong JC, Cheah KS, Sham P, Chan D, Cheung K M. (2008) *Association between promoter -1607 polymorphism of MMP1 and lumbar disc disease in Southern Chinese*. *BMC Med Genet*, 9: 38.
159. Sorsa T, Tjäderhane L, Salo T. (2000) *Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases*. *Oral Diseases*, 10 :311-318.
160. Spatafore C, Griffin J, Keyes G, Wearden S, Skidmore AE. (1990) *Periapical biopsy report: An analysis Over a 10-year period*. *J Endodont*, 16 (5): 239-41.
161. Stashenko P. (1990) *The role of immune cytokines in the periapical lesions*. *Endod Dent Traumatol*, 6: 89-96.
162. Sternlicht MD & Werb Z. (2001) *How matrix metalloproteinases regulate cell behavior*. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 17:463–516.

163. Stetler-Stevenson WG. (2008) *Tissue inhibitors of metalloproteinases in cell signaling: metalloproteinase-independent biological activities*. Sci Signal, 8: 1(27).
164. Stickens D, Behonick N, Ortega B, Heyere B. (2004) *Altered endochondral bone development in matrix metalloproteinase 13-deficient mice*. Development, 131:5883–5895.
165. Stelow MA, Bauzon DD, Li J, Sedgwick T, Liang VC, Sang QA, Shi YB. (1996) *Identification and characterization of a novel collagenase in Xenopus laevis: possible roles during frog development*. MBoC, 7(10): 1471–1483.
166. Streuli C. (1999) *Extracellular matrix remodelling and cellular differentiation*. Curr Opin Cell Biol, 11:634–640.
167. Su L, Zhou W, Asomaning K, Lin X, Wain J C, Lynch T J, Liu G, Christiani DC. (2006) *Genotypes and haplotypes of matrix metalloproteinase 1, 3 and 12 genes and the risk of lung cancer*. Carcinogenesis, 27:1024–1029.
168. Takahashi K. (1998) *Microbiological, pathological, inflammatory, immunological and molecular biological aspects of periradicular disease*. Int Endodont J, 31: 311.
169. Tardif G, Reboul P, Dupuis M, Geng C, Duval N, Pelletier JP, Martel-Pelletier J. (2001) *Transforming growth factor-beta induced collagenase-3 production in human osteoarthritic chondrocytes is triggered by Smad proteins: cooperation between activator protein-1 and PEA-3 binding sites*. J. Rheumatol, 28:1631–1639.
170. Tasci AI, Tugcu V, Ozbek E, Ozbay B, Simsek A, Koksai V. (2008a) *A single-nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 promoter enhances bladder cancer susceptibility*. BJU Int, 101: 503–507.
171. Tasci AI, Tugcu V, Sahin S, Zorluoglu F. (2008) *Rapid Communication: Photoselective Vaporization of the Prostate versus Transurethral Resection of the Prostate for the Large Prostate: A Prospective Nonrandomized Bicenter Trial with 2-Year Follow-Up*. Journal of Endourology, 22(2): 347–354.
172. Terashima M, Akita H, Kanazawa K et al. (1999) *Stromelysin promoter 5A/6A polymorphism is associated with acute myocardial infarction*. Circulation, 99:2717–2719.
173. Teronen O, Salo T, Konttinen YT, Rifkin B, Vernillo A, Ramamurthy NS, et al. *Identification and characterization of gelatinase/ type IV collagenase in jaw cysts*. J Oral Pathol Med 1995; 24:78–84. [PubMed: 7745546].
174. Teronen O, Salo T, Laitinen J, Törnwall J, Ylipaavalniemi P, Konttinen YT, et al. *Characterization of interstitial collagenases in jaw cyst wall*. Eur J Oral Sci 1995; 103(3):141–147. [PubMed: 7634129].
175. Terry CF, Loukaci V, Green FR. (2000) *Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation*. J Biol Chem, 275: 18138–18144.
176. Tervahartiala T, Pirilä E, Ceponis A, Maisi P, Salo T, Tuter G, Kallio P, Törnwall J, Srinivas R, Konttinen YT, Sorsa T. (2000) *The in vivo expression of the collagenolytic matrix metalloproteinases (MMP-2, -8, -13 and -14) and matrilysin (MMP-7) in adult and localized juvenile periodontitis*. J Dent Res, 79: 1969–1977.
177. Thompson MW, McInnes RR, Willard HF. (1991) *Thompson & Thompson: Genetics in Medicine*, 5th Edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
178. Todorović LJ, Petrović V, Jurišić M, Vračar V. (2002) *Oralna hirurgija*, Nauka, Beograd.
179. Tschesche H. (1995) *Human neutrophil collagenase*. Methods Enzymol, 248: 431–449.
180. Vairaktaris E, Yapijakis C, Derka S, Serefoglou Z, Vassiliou S, Nkenke E, Ragos V,

- Vylliotis A, Spyridonidou S, Tsigris C, Yannopoulos A, Tesseromatis C, Neukam FW, Patsouris E. (2007) Association of matrix metalloproteinase-1 (-1607 1G/2G) polymorphism with increased risk for oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res*, 27: 459-464.
181. Väli U, Brandström M, Johansson M, Ellegren H. (2008) Insertion-deletion polymorphisms (indels) as genetic markers in natural populations. *BMC genetics*, 9: 8.
182. Van der Zee E, Everts V, Beersten W. (1997) Cytokines modulate routes of collagen breakdown. Review of special emphasis on mechanisms of collagen degradation in periodontium and the burst hypothesis of periodontal disease progression. *J Clin Periodontol*, 24: 297-305.
183. Van Wart HE & Birkedal-Hansen H. (1990) The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 87(14): 5578-82.
184. Vignal A, Milan D, Sancristobal M, Eggen A. (2002) A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics, selection, evolution*, 34 (3): 275-305.
185. Vincenti MP, White LA, Schroen DJ, Benbow U, Brinckerhoff CE. (1996) Regulating expression of the gene for matrix metalloproteinase-1 (collagenase): mechanisms that control enzyme activity, transcription and mRNA stability. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 6: 391-411.
186. Vincenti PM & Brinckerhoff CE. (2002) Transcriptional regulation of collagenase (MMP-1, MMP-13) genes in arthritis: integration of complex signaling pathways for the recruitment of gene-specific transcription factors. *Arthritis Res*, 4:157-164.
187. Visse R & Nagase H. (2003) Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function and biochemistry. *Circ Res*, 92: 827-839.
188. Vu TH, Shipley JM, Begers G, Berger JE, Helms JA, Hanahan D, Shapiro SD, Senior RM, Vu TH, Werb Z. (2000) Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. *Genes Dev*, 14: 2123-33.
189. Wahlgren J, Maisi P, Sorsa T, Sutinen M, Tervahartiala T, Pirlä E, Teronen O, Hietanen J, Tjäderhane L, Salo T. (2001) Expression and induction of collagenases (MMP-8 and MMP-13) in plasma cells associated with bone-destructive lesions. *J Pathol*, 194 (2): 217-224.
190. Wahlgren J. (2003) *Matrix metalloproteinases in pulpitis, chronic apical periodontitis and odontogenic jaw cysts*. Academic dissertation, University of Helsinki.
191. Wang H, Parry S, Macones G, Sammel M, Ferrand P, Kuivaniemi H, Tromp G, Halder I, Shriver M, Romero R, Strauss J. (2004) Functionally significant SNP MMP8 promoter haplotypes and preterm premature rupture of membranes (PPROM). *Human Molecular Genetics*, 13(21): 2659-2669.
192. Wang H, Parry S, Macones G, Sammel MD, Kuivaniemi H, Tromp G, Argyropoulos G, Halder I, Shriver MD, Romero R, Strauss JF. (2006) A functional SNP in the promoter of the *serpinh1* gene increases risk of preterm premature rupture of membranes in African Americans. *National Academy of Sciences*, 103; 36: 13463-13467.
193. Wang Z & Moulton J. (2001) SNPs, protein structure, and disease. *Hum Mutat*, 17: 263-270.
194. Wein F S. (1989) *Endodontic therapy*, 4th Ed. The Mosby Co, St Louis.
195. Welgus HG, Campbell EJ, Cury JD, Eisen AZ, Senior RM, Wilhelm SM, Goldberg GL. (1990) Neutral metalloproteinases produced by human mononuclear phagocytes.

- Enzyme profile, regulation, and expression during cellular development.* J Clin Invest 86: 1496–1502.
196. Wiseman BS, Sternlicht MD, Lund LR, Alexander CM, Mott J, Bissell MJ, Soloway P, Itohara S, Werb Z. (2003) *Site-specific inductive and inhibitory activities of MMP-2 and MMP-3 orchestrate mammary gland branching morphogenesis.* J Cell Biol, 162: 1123–33.
197. Woessner JF. (1998) *The matrix metalloproteinase family.* San Diego: Academic Press, 1–14.
198. Wong S, Belvisi MG, Birrell MA. (2005) *Profiling of MMP/TIMP gene expression in human and rodent lung samples, and in models of airway inflammation.* Proc Am Thor Soc, 2: A73.
199. Woo JH, Lee HJ, Sung IH, Kim TH. (2007) *Changes of clinical response and bone biochemical markers in patients with ankylosing spondylitis taking etanercept.* The Journal of Rheumatology, 34(8): 1753–1759.
200. Woo M, Park K, Nam J and Kim J C. (2007) *Clinical implications of matrix metalloproteinase-1, -3, -7, -9, -12, and plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphisms in colorectal cancer.* J Gastroenterol Hepatol, 22: 1064–1070.
201. Yan C & Boyd DD. (2007) *Regulation of matrix metalloproteinase gene.* J Cell Physiol, 211(1):19–26.
202. Yao PM, Buhler JM, D'Ortho MP, Leborgy F, Delclaux C, Harf A, Lafuma C. (1996) *Expression of matrix metalloproteinase gelatinases A and B by cultured epithelial cells from human bronchial explants.* J Biol Chem, 271: 15580–15589.
203. Ye S. (2000) *Polymorphism in matrix metalloproteinase gene promoters: implication in regulation of gene expression and susceptibility of various diseases.* Matrix Biol, 19: 623–9.
204. Yoon S, Kuivaniemi H, Gatalica Z, Olson JM, Buttice G, Ye S, Norris BA, Malcom GT, Strong JP, Tromp G. (2002) *MMP13 promoter polymorphism is associated with atherosclerosis in the abdominal aorta of young black males.* Matrix Biol, 21(6):487–498.
205. Yue P & Moul J. (2006) *Identification and analysis of deleterious human SNPs.* Journal of molecular biology, 356 (5): 1263–74.
206. Zhang YN, Dean WL, Gray RD. (1997) *Co-operative binding of Ca^{2+} to human interstitial collagenase, assessed by circular dichroism, fluorescence, and catalytic activity.* J Biol Chem, 272: 1444–1447.
207. Zhou Y, Yu C, Miao X, Wang Y, Tan W, Sun T, Zhang X, Xiong P, Lin D. (2005) *Functional haplotypes in the promoter of matrix metalloproteinase-2 and lung cancer susceptibility.* Carcinogenesis, 26(6):1117–1121.
208. Zinzindohoue F, Lecomte T, Ferraz JM, Houllier AM, Cugnenc PH, Berger A, Blons H, Laurent-Puig P. (2005) *Prognostic significance of MMP-1 and MMP-3 functional promoter polymorphisms in colorectal cancer.* Clin Cancer Res, 11(2): 594–599.
209. Ziober BL, Silverman SS, Kramer J, Randall H. (2001) *Adhesive Mechanisms Regulating Invasion and Metastasis in Oral Cancer.* Crit Rev Oral Biol Med, 12(6): 499–510.
210. Zucker S & Vacirca J. (2004) *Role of matrix metalloproteinases (MMPs) in colorectal cancer.* Cancer Metastasis Rev, 23: 10117.
211. Zucker S, Cao J, Chen WT. (2000) *Critical appraisal of the use of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer treatment.* Oncogene, 19: 6642–50.

Прилог 1

ПРАШАЛНИК

Реден број: _____

Име и презиме: _____

Пол: _____

Година на раѓање: _____

Место на раѓање: _____

Лична анамнеза (заболувања и алелргии):

Состојба на забалото:

- Заостанати корени (бр.):
- Заби за екстракција со периапикални промени (бр.):
- Ендодонтски третирани заби:
- Кариозни заби:
- Заби под пломба кои не се ендодонтски тртирани:

СРІ индекс:

- Перкусија:
- Палпација:
- Сондирање:
- Оток интраорално:
- Оток екстраорално:
- Фистула:

Rtg снимка (големина на хроничен периапикален процес /mm²/):

Дијагноза: _____

Терапија: _____

Прилог 2

СОГЛАСНОСТ

Јас _____, роден/на на ден _____ во _____, сум согласен/на примерокот од мојата крв да биде искорестен за молекуларно-генетско испитување во рамките на докторската дисертација со наслов "Влијание на полиморфизмите во гените за матрикс металопротеиназите врз прогресијата на клиничката слика кај хроничните периапикални процеси и акутните одонтогени инфекции" од асс. м-р Евросимовска д-р Билјана.

Изјавувам дека ми се објаснети целите на оваа научна работа и дека моите лични податоци ќе бидат заштитени и нема да се користат за ниедна друга цел.

Датум

Потпис
