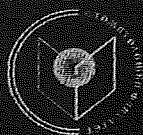


УНИВЕРЗИТЕТ "СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ"



СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

КЛИНИКА ЗА БОЛЕСТИ НА УСТАТА И ПАРОДОНТОТ

СКОПЈЕ

Анета Атанасовска - Стојановска

Влијанието на цитокинскиот генски
полиморфизам во етиопатогенезата
на пародонталната болест
кај македонската популација

- Докторска дисертација -

Скопје, 2007 година

УНИВЕРЗИТЕТ “СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ”

СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

КЛИНИКА ЗА БОЛЕСТИ НА УСТАТА И ПАРОДОНТОТ

СКОПЈЕ

Анета Атанасовска - Стојановска

**Влијанието на цитокинскиот генски
полиморфизам во етиопатогенезата
на пародонталната болест
кај македонската популација**

- Докторска дисертација -

**Ментор
Проф. Д-р Вангел Димитровски**

Скопје, 2007 година

Ментор:

Проф. д-р Вангел Димитровски, dr sci

Комисија на одбраната:

Проф. д-р Марија Накова, dr. sci
Стоматолошки факултет - Скопје

Проф. д-р Ана Миновска, dr. sci
Стоматолошки факултет- Скопје

Проф. д-р Златанка Белазелковска, dr. sci
Стоматолошки факултет-Скопје

Проф. д-р Мирко Спировски, dr. sci
Медицински факултет- Скопје

Проф. д-р Вангел Димитровски, dr. sci
Стоматолошки факултет- Скопје

дата на
одбраната:

дата на
промоцијата:

научна област

стоматологија, пародонтологија

Во изработката на оваа докторска дисертација свој придонес дадоа повеќе институции и поединци, на кои чувствувам задоволство да им се заблагодарам.

Благодарност кон

мојот ментор, Проф д-р Вангел Димитровски за отвореноста за соработка, целосната поддршка, насочувањето и постојаната несебична и сестрана помош, од идејата па се до конечното обликување на овој труд

Проф д-р. Мирко Спировски, за помошта во изработката и толкувањето на резултатите од генетските испитувања, за несебично одвоеното време за разговор и подготвеноста со своето богато искуство и драгоцени совети да ми помогне во разрешувањето на многуте научно-истражувачки дилеми од оваа комплексна област

Проф д-р. Марија Накова, за интересот и разбирањето во текот на изработката и реализацијата на овој труд, како претседател на Рецензентската комисија

Дипломиран инженер по биологија Лилјана Ангеловска за помошта и несебично одвоеното време во текот на собирањето на материјалот потребен за изработката на овој труд

На вработените на Институтот за имунологија и хумана генетика, за помошта во совладувањето на протоколот за генетска обработка на материјалот

Благодарност должам и на моето семејство за постојаната поддршка, трпението и одземеното внимание во текот на мојот ангажман, како и на моите најдраги пријатели кои ме бодреа и ми влеваа енергија во текот на целата изработка на овој труд

Влијанието на цитокинскиот генски полиморфизам во етиопатогенезата на пародонталната болест кај македонската популација

Кратка содржина

Полиморфизмот на цитокинските гени кои имаат докажана улога во инфламаторните процеси, влијае на концентрациите на инфламаторните медијатори во ткивата, го модулира имуниот одговор, па токму поради тоа може да ја детерминира и приемчивоста кон пародонтопатија, како хроничен инфламаторен процес.

Имајќи ги предвид актуелните научно-стручни сознанија за улогата на цитокинскиот генски полиморфизам врз предиспонираноста или отпорноста кон пародонталната инфекција и докажаните етнички разноликости во дистрибуцијата на генските варијанти ги поставивме и целите на овој труд:

- да го утврдиме присуството и процентуалната застапеност на полиморфизмите на цитокинските гени интерлеукин [ИЛ - 1 алфа (IL-1 α), ИЛ-1 бета (IL-1 β), ИЛ-1 рецептор (IL-1R), ИЛ-1Р антагонист (IL-1RA), гама-интерферон (IFN γ), ИЛ-2 (IL-2), ИЛ-4 (IL-4), ИЛ-4 рецептор алфа (IL-4R α), ИЛ-6 (IL-6), ИЛ-10 (IL-10), ИЛ-12Б (IL-12-B), ТРФ бета 1 (TGF- β 1) и ТНФ алфа (TNF- α)] кај пациенти со хронична пародонтопатија во македонската популација.

- да го утврдиме влијанието (протективно или асоцијативно) помеѓу секој одделен полиморфизам на цитокинските гени со хроничната пародонтопатија во споредба со контролната група кај македонската популација.

- да го утврдиме присуството и процентуалната застапеност на полиморфизмите на цитокинските гени кај трите клинички стадиуми на хроничната пародонтопатија кај македонската популација.

- да го утврдиме влијанието (протективно или асоцијативно) помеѓу секој одделен полиморфизам на цитокинските гени со секој клинички стадиум на хроничната пародонтопатија во споредба со контролната група кај македонската популација.

За реализација на поставената цел беше формирана испитувана група од 132 пациенти со дијагностицирана хронична пародонтопатија, кои според изразеноста на губиток на атачмент понатаму беа поделени во три групи и тоа: со губиток на атачмент до 3 мм -ран стадиум на пародонтална болест, од 3-6 мм - умерен стадиум на пародонтопатија, и над 6мм- силно изразена пародонтопатија.

Сите пациенти беа во добра општа состојба и поминаа низ анамнестичка постапка за исклучување на некои компромитирачки критериуми. Контролната група ја оформија 300 здрави индивидуи, кај кои пародонтолошкиот преглед не покажа губиток на атачмент > од 2мм.

Сите учесници во студијата беа писмено запознаени со генетското испитување што требаше да се спроведе и пополнија и потпишаа информативна дозвола за генетско испитување и складирање на изолираната ДНК во македонската банка за хумана генетика. Сите учесници во студијата беа од македонска националност до вториот коленски род, не беа во блиски и далечни роднински врски, со православна религија, говорат македонски јазик и се жители од различни географски подрачја од Република Македонија.

Кај сите учесници вклучени во студијата - испитуваната и контролната група, беше земена венска крв од која се изврши ДНК изолација, со цел да се детерминираат промените во генскиот код.

Полиморфизмот на 13 цитокински гени [ИЛ - 1 алфа (IL-1 α), ИЛ-1 бета (IL-1 β), ИЛ-1 рецептор (IL-1R), ИЛ-1Р антагонист (IL-1RA), гама-интерферон (IFN γ), ИЛ-2 (IL-2), ИЛ-4 (IL-4), ИЛ-4 рецептор алфа (IL-4R α), ИЛ-6 (IL-6), ИЛ-10 (IL-10), ИЛ-12Б (IL-12-B), ТРФ бета 1 (TGF- β 1) и ТНФ алфа (TNF- α)] беше изведен со комерцијален комплет PCR-SSP (Heidelberg kit).

Значајна асоцираност со хронична пародонтопатијата, почнувајќи од $p < 0.05$ најдовме за следниве полиморфизми:

Протективна - со цитокинските алели (TGF- β 1 cdn10/T, TGF- β 1 cdn25/G, IL-4-1098/G, IL-4-33/C); цитокинските генотипови (IL-12B-1188/A:C, TGF- β 1 cdn10/C:T, TGF- β 1 cdn25/G:G, IL-2-330/G:T, IL-4-1098/G:T, IL-4-590/C:T, IL-4-33/C:T, IL-10-1082/A:G); - цитокинските хаплотипови (TGF- β 1 /TG, TNF- α /GA, IL-4/GCC, IL-4/TTC); цитокинските хаплотипни зиготи (TGF- β 1/CG:TG, IL-2/GG:TG, IL-4/GCC:TTC, IL-10/ATA:GCC).

Асоцијативна - со цитокинските алели (TGF- β 1 cdn10/C, TGF- β 1 cdn25/C, IL-4-1098/T, IL-4-33/T); цитокинските генотипови (IL-12B-1188/C:T, TGF- β 1 cdn10/C : C, TGF- β 1 cdn25/C : G, IL-2-330/G : G, IL-4-1098/T : T, IL-4-33/T : T, IL-10-1098/G : G); цитокинските хаплотипови (TGF- β 1/CC, IL-4/TCC, IL-4/TCT, IL-10-ATC); - цитокинските хаплотипни зиготи (TGF- β 1CC:CG, IL-2GG:GG, IL-4/TTC:TCC, IL-4/TCT:TTT, IL-10/ACC:ATA, IL-10/GCC:GCC).

Значајна асоцијацираност со различните стадиуми на пародонтопатија од аспект на клинички губиток на атачмент почнувајќи од $p < 0.05$ најдовме за следниве полиморфизми:

-кај првиот клинички стадиум на пародонтопатија: Протективна - со цитокинските алели (IL-4-1098/G, IL-4-33/C);- цитокинските генотипови (IL-12B-1188/A :C, IL-4-1098/G :T); цитокинските хаплотипови (IL-2/TG, IL-4/GCC); цитокинските хапло-

типни зиготи (IL-4/GCC:TTC); Асоцијативна-со цитокинските алели (IL-4-1098/T, IL-4-33/T); цитокинските генотипови (IL-1 β -511/C :T, IL-12B-1188/C:C, IL-2-330/G:G,IL-4-1098/T:T, IL-4/T:T); цитокинските хаплотипови (IL-4/TCT); цитокинските хаплотипни зиготи (IL-2/GG:GG, IL-4/TCT:TTT).

- кај вториот клинички стадиум на пародонтопатија : Протективна - со цитокинските алели (TGF- β 1 cdn25/G, IL-4-1098/G); цитокинските генотипови (IL-1 β -511/C:C, TGF- β 1 cdn25/G:G, IL-4-1098/G:T); цитокинските хаплотипови (IL-4/GCC:TCT); цитокинските хаплотипни зиготи (IL-4/GCC:TTC); Асоцијативна: - со цитокинските алели (TGF- β 1 cdn25/C, IL-4-1098/T). - цитокинските генотипови (IL-1RAm-spa111100/T :T, TGF- β 1 cdn25/C:G, IL-4-1098/T:T, IL-4-33/T:T); цитокинските хаплотипови (TGF- β 1/CC, IL-4/TCC, IL-4/TCT); цитокинските хаплотипни зиготи (TGF- β 1/CC:CG, IL-4/TTC:TCC, IL-4/TCT:TTT, IL-10/ACC:ATA).

-кај третиот клинички стадиум на пародонтопатија : Протективна - со цитокинските алели (TGF- β 1 cdn10/T, TGF- β 1 cdn25/G, IL-4-590/T, IL-4-33/C); цитокинските генотипови (IL-12B-1188/A :C, TGF- β 1 cdn10/C:T, TGF- β 1 cdn25/G:G, IL-4-1098/G:T, IL-4-590/C:T, IL-10-1082/A:G); цитокинските хаплотипови (TGF- β 1/TG, IL-4/TCC); цитокинските хаплотипни зиготи (TGF- β 1/CG:TG); Асоцијативна - со цитокинските алели (TGF- β 1 cdn10/C, TGF- β 1 cdn25/C, IL-4-590/C, IL-4-33/T); цитокинските генотипови (TGF- β 1 cdn10/C:C, TGF- β 1 cdn25/C:G, IL-4-1098/T:T, IL-4-590/C:C, IL-4-33/T:T); цитокинските хаплотипови (TGF- β 1/CC, IL-4/TCC, IL-4/TCT, IL-10/ATC); цитокинските хаплотипни зиготи (TGF- β 1/CC:CG, IL-4/TCC:TCC, IL-4/TCT:TTT, IL-4/GTT:TCC, IL-10/GCC-ACA).

Од анализата на добиените наоди можеме да извлечеме генерален заклучок:

Хроничната пародонтопатија кај македонската популација е во корелација со полиморфизмот кај алелите, генотиповите, хаплотиповите или хаплотипните зиготи кај следниве испитувани цитокински гени (IL-1B, IL-1RA TGF-1, TNF, IL-2, IL-4, IL-10, IL-12B).

Интензитетот (позитивната односно негативната асоцијација) е различно асоциран кај трите стадиуми на пародонтопатијата.

Нашите резултати кај македонската популација се разликуваат во некои полиморфизми од другите популации во светот и можат да се искористат за мета анализа на секој поединечен полиморфизам во светски рамки.

Клучни зборови: хронична пародонтопатија, цитокински полиморфизам

The association between cytokines gene polymorphisms and chronic periodontal disease with Macedonian population

Summary

Polymorphisms of cytokine genes, which role in inflammatory process has been proved, affects the concentration of inflammatory mediators within the tissues, modulates the immune response, thus it can determinate acceptability of periodontal disease, as chronic inflammatory process.

Considering the current scientific findings about the role of the cytokine genetic polymorphisms on predisposition or resistance towards periodontal disease, and the proved ethnical differences in the distribution of the genetic variants, we have set the aim of this study:

-to determine the presence and percentage of polymorphisms of the cytokine genes [interleukin (IL)1 alpha (IL 1 α), IL-1 beta (IL-1 β), IL-1 receptor (IL-1R), IL-1 R antagonist (IL-1RA), gamma-interferon (IFN γ), IL-2, IL-4, IL-4 receptor alfa (IL 4R α), IL-6, IL-10, IL-12B, TGF beta 1 (TGF- β 1) and TNF- α], within the Macedonian patients with periodontal disease.

- to determine the influence (protective or associate) between each polymorphisms of the cytokine genes with chronic periodontal disease, in comparison to the control group with Macedonian population.

- to determine the presence and percentage of polymorphisms of cytokine genes, during the three clinical stadiums of chronic periodontal disease, with Macedonian population.

-to determine the influence (protective or associate) between each separate polymorphism of the cytokine genes during each clinical stadium of chronic periodontal disease, and the control group with Macedonian population.

In order to achieve the set aim we have formed an examined group consisting of 132 patients with chronic periodontal disease diagnosed. They were further divided into three groups according to the lost of attachment:

- 3 mm lost of attachment, slight periodontal disease.

- 3-6 mm lost of attachment, moderate periodontal disease.

- over 6 mm lost of attachment, severe periodontal disease.

The physical condition of all patients was satisfactory and an anamnesis was taken to exclude some compromising criteria.

The control group consisted of 300 healthy individuals, who didn't have lost of attachment bigger than >2mm.

All the participants in the study were familiarized with the genetic research which was going to be conducted. They have filled in and signed informative permission for genetic research and storage of isolated DNA in the Macedonian bank of Human Genetics. All the participants in the study were Macedonians, orthodox, they were not close or far relatives. They all spoke Macedonian and were citizens of various geographical regions in Republic of Macedonia.

From all the participants in the study, both control and examined group, vein blood sample was taken, and DNA was isolated, in order to establish the changes in genetic code. Polymorphisms of 13 cytokine genes [interleukin (IL)1 alpha (IL 1 α), IL-1 beta (IL-1 β), IL-1 receptor (IL-1R), IL-1 R antagonist (IL-1RA), gamma-interferon (IFN γ), IL-2, IL-4, IL-4 receptor alfa (IL 4R α), IL-6, IL-10, IL-12B, TGF beta 1 (TGF- β 1) and TNF- α] was performed with commercial kit PCR-SSP (Heidelberg kit).

We have found a significant link, starting from $p < 0.05$ for the following polymorphisms:

Protective with the cytokine alleles (TGF- β 1 cdn10/T, TGF- β 1 cdn25/G, IL-4-1098/G, IL-4-33/C); cytokine genotypes (IL-12B-1188/A:C , TGF- β 1 cdn10/C:T, TGF- β 1 cdn25/G:G, IL-2-330/G:T, IL-4-1098/G:T, IL-4-590/C:T, IL-4-33/C:T, IL-10-1082/A:G); -cytokine haplotypes (TGF β 1 /TG, TNF- α /GA, IL-4/GCC, IL-4/TTC); cytokine haplotype zygosity (TGF- β 1/CG:TG, IL-2/GG:TG, IL-4/GCC:TTC, IL-10/ATA:GCC).

Associated with - cytokine alleles (TGF- β 1 cdn10/C, TGF- β 1 cdn25/C, IL-4-1098/T, IL-4-33/T); cytokine genotypes (IL-12B-1188/C:T, TGF- β 1 cdn10/C :C, TGF β 1 cdn25/C :G, IL-2-330/G :G, IL-4-1098/T :T, IL-4-33/T :T, IL-10-1098/G :G); cytokine haplotypes (TGF- β 1/CC, IL-4/TCC, IL-4/TCT, IL-10- ATC); - cytokine haplotype zygosity (TGF β 1CC:CG, IL-2GG:GG, IL-4/TTC:TCC, IL-4/TCT:TTT, IL-10-ACC/ATA, IL-10GCC:GCC).

We have found a significant link of various phases of periodontal disease related to clinical lost of attachment, starting from $p < 0,05$ within the following polymorphoses.

- Within the first clinical phase of periodontal disease :Protective-with cytokine alleles (IL-4-1098/G, IL-4-33/C); - cytokine genotypes (IL-12B-1188/A:C, IL-4-1098/G:T); cytokine haplotypes (IL-2/TG, IL-4/GCC): cytokine haplotype zygosity (IL-4/GCC:TTC); Associated with cytokine alleles (IL-4-1098/T, IL-4-33/T); cytokine genotypes (IL-1 β -511/C:T, IL-12B-1188/C:C, IL-2-330/G:G, IL-4-33T); cytokine haplotypes (IL-4/TCT); cytokine haplotype zygosity (IL-2/GG:GG, IL-4/TCT:TTT).

- Within the second clinical phase of periodontal disease: Protective with cytokine alleles (TGF- β 1cdn25/G, IL-4-1098/G); - cytokine genotypes (IL-1 β -511/C:C, TGF- β 1 cdn25/G:G, IL-4-1098/G:T); cytokine haplotypes (IL-4/GCC:TCT); cytokine haplotype zygosity

(IL-4/GCC:TTC); Associated:-with cytokine alleles (TGF- β 1 cdn25/C, IL-4-1098/T) - cytokine genotypes (IL-1RAmspal 111100/T:T, TGF- β 1 cdn25/C:G, IL-4-1098/T:T, IL-4-33/T:T); cytokine haplotypes (TGF- β 1/CC, IL-4/TCC, IL-4/TCT); cytokine haplotype zigosity (TGF- β 1/CC:CG, IL-4/TTC:TCC, IL-4/TCT:TTT, IL-10/ACC:ATA).

- Within the third clinical phase of periodontal disease: Protective with cytokine alleles-(TGF- β 1 cdn10/T, TGF- β 1 cdn25/G, IL-4-590/T, IL-4-33/C); cytokine genotypes (IL-12B-1188/A :C, TGF- β 1 cdn10/C:T, TGF- β 1 cdn25/G:G, IL-4-1098/G:T, IL-4-590/C:T, IL-10-1082/A:G); cytokine haplotypes (TGF- β 1/TG, IL-4/TCC); cytokine haplotype zigosity (TGF- β 1/CG:TG); Associated with cytokine alleles ((TGF- β 1 cdn10/C, TGF- β 1 cdn25/C, IL-4-590/C, IL-4-33/T); cytokine genotypes (TGF- β 1 cdn10/C:C, TGF- β 1 cdn25/C:G, IL-4-1098/T:T, IL-4-590/C:C, IL-4-33/T:T); cytokine haplotypes (TGF- β 1/CC, IL-4/TCC, IL-4/TCT, IL-10/ATC); cytokine haplotype zigosity (TGF- β 1/CC:CG, IL-4/TCC:TCC, IL-4/TCT:TTT, IL-4/GTT:TCC, IL-10/GCC-ACA).

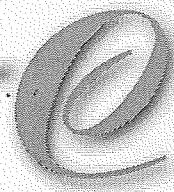
The analyses of the obtain results lead us to the following conclusion:

Chronical periodontal disease among the Macedonian population correlates with the polymorphism of aleli, genotypes, haplotypes or zigosity with the following examined genes (IL-1B, IL-1RA, TGF- β 1, TNF, IL-2, IL-4, IL-10, IL-12B).

The intensity (positive or negative association) is differently linked to the three phases of periodontal disease.

The results obtained from the Macedonina population are different in some polymorphoses, from some other populations in the world, and they can be used for meta analysis of each polimorphisam worldwide.

Key words: chronical periodontal disease, cytokine polimorphism.



СОДРЖИНА

СОДРЖИНА

1.	ВОВЕД	стр. 3
2.	ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД	стр. 10
2.1	Генетски аспекти на пародонтопатијата како хронично заболување	стр. 10
2.2	Корелација помеѓу полиморзизмот на про-инфламаторните и анти-инфламаторните цитокипски гени и пародонталната болест	стр. 16
3.	ЦЕЛИ НА ТРУДОТ	стр. 24
4.	МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА	стр. 26
4.1	Материјал	стр. 26
4.1.2	<i>Испийшувани грѹпи</i>	стр. 26
4.2	Метод на работа	стр. 28
4.2.1	<i>Клинички сеѓменї</i>	стр. 28
4.2.2	<i>Параклинички испийшувања</i>	стр. 29
4.2.2.1	<i>Изолирање и складирање геномска ДНК</i>	стр. 29
4.2.2.2	<i>Оїределување на цїїокипски гениски йолиморфизам</i>	стр. 30
4.3	Статистичка анализа	стр. 34
5.	РЕЗУЛТАТИ	стр. 36
5.1	Резултати од цитокипскиот гениски полиморфизам кај пародонтопатијата како клинички ентитет	стр. 36
5.2	Резултати од испитувањето на цитокипскиот гениски полиморфизам кај различните фенотипови кои се јавуваат во рамките на пародонтопатијата	стр. 47
6.	ДИСКУСИЈА	стр. 78
7.	ЗАКЛУЧОЦИ	стр. 100
7.1	Цитокипскиот полиморфизам и пародонтопатијата како ентитет	стр. 100
7.2	Цитокипскиот полиморфизам и фенотипската експресија на пародонтопатијата проследена преку различните стадиуми од аспект на клинички губиток на атачмент	стр. 101
8.	ЛИТЕРАТУРА	стр. 104

Постојат силни докази дека генетските фактори во спрега со надворешните влијанија учествуваат во ризикот за појава на пародонтопатијата, на возраста кога таа ќе се појави и на степенот на деструкција со кој ќе биде зафатено забнопотпорното ткиво. Доказите за генетската предиспозиција кон пародонтопатијата доаѓаат од студиите со близнаци, лонгитудиналните студии во семејства каде што има појава на агресивна пародонтопатија и асоцијативните студии.

Сознанијата дека грам- микроорганизми се етиолошките предизвикувачи, но не и единствените чинители кои го одредуваат почетокот и јачината на пародонталната деструкција, ги пренасочуваат истражувањата на овој план во далеку посуптилни нивоа, прецизно одредувајќи ги условите на оралниот медиум како и генетски детерминирани фактори, кои имаат свое учество во патогенетскиот процес на ова многу често заболување (53).

Согласни со фактот дека генетските фактори се оние кои се приоритетни во патогенетските збиднувања на пародонталната болест, истражувачите во оваа област посебно внимание им посветиле на постоењето на повеќе генски локуси кои се асоцирани со имунолошкиот одговор на домаќинот наспроти можната микробната инфекција. Секако дека најдобро проучен генетски фактор е главниот ткивно совпадлив комплекс на шестиот хромозом, кој дефинирајќи го ХЛА системот управува со имунокомпетентните клетки и го идентификува специфичниот имунолошки одговор при изложеност на индивидуите на различни надворешни агенси (87).

Некои од авторите цитирани во најновите студии се обиделе да ги разгледаат и да ги објаснат клучните гени чие влијание е неминовно во појавата и прогресијата на пародонталната болест. Генерално, генот би можел да се смета за кандидат во сигнификантната модифицирачка улога во пародонтопатијата, ако физиолошките процеси што се детерминирани од него се асоцирани со појавата или јачината на заболувањето (54). Истражувањата кои се спроведуваат укажуваат дека генетските варијации кои драматично ги алтерираат мајорните протективни механизми учествуваат главно во хроничните заболувања чии почетоци се манифестираат во раните детски години и го нарушуваат комплетното системско здравје (11).

Аспектирајќи ги овие сознанија, за генетски предиспонирани индивидуи во појавата и прогресијата на пародонталната болест, се прогласени токму оние каде се откриени генетски варијации кои индуцираат само суптилни промени во интен-

зитетот на биолошките процеси. Најпроминентни кандидати за генско влијание врз хроничната пародонтопатија вклучуваат фактори кои продуцираат варијации во релативната способност на полиморфонуклеарните леукоцити и антителата да ги убиваат бактериите како и промени во концентрациите на протеинските фактори (цитокините) кои учествуваат во фазите на инфламаторниот процес (76).

Познато е дека постои силна биохемиска врска помеѓу јачината на пародонталната болест и медијаторите на инфламација, цитокините, кои помагаат во развојот на имуните ефекторни клетки, а некои од нив имаат и директни ефекторни функции. Цитокините иницијално се ослободуваат првенствено од макрофагите, но може да бидат продукти и на моноцитите, фибробластите и епителните клетки. Тие се дефинираат како мали протеини, кои што влијаат врз клетката која што ги произведува - автокрин ефект или врз соседните клетки - паракрин ефект.

Сигнализацијата која е насочена кон поедини клетки, во која предимството им припаѓа на фибробластите, предизвикува продукција на простагландини (PGE2), кои што се асоцирани со коскената деструкција и продукција на матрикс металопротеиназа, која што индуцира деградација на колагенот од сврзното ткиво (24).

Инфламацијата кај пародонтопатијата може да биде меч со две оштрици. Од една страна инфламаторниот одговор е протективен и има задача да ја елиминира бактериската инвазија од ткивата. Од друга страна пак, кај хроничните форми на инфламација, присуството на инфламаторните медијатори може да доведе до деструкција на забно-потпорните ткива што резултира во иреверзибилни патолошки промени. Прогресијата на пародонтопатијата е резултат на комбинација од влијанието од околината, имунолошките и генетските фактори, што практично значи присуство на патогени бактерии, високо ткивно ниво на инфламаторни цитокини, ткивни деструктивни ензими како матрикс-металопротеиназа и простагландини и ниско ниво на антиинфламаторни цитокини (112).

Одамна е воочено дека сите индивидуи не се подеднакво подложни кон акумулација на дентален плак. Некои се поприемчиви и развиват агресивни форми на пародонтопатија на млада возраст, додека други се поотпорни и може да не развијат пародонтопатија (64). Во некои случаи болеста прогредира споро и ризикот за губиток на забите е мал, додека кај другите процесот на коскена деструкција е рапиден. Наодите дека високо ниво на инфламаторни медијатори како IL-1, TNF (tumor necrosis factor) и простагландин (PGE2) се поврзани со пародонталната деструкција (14) и дека овие медијатори се способни да го променат инфламаторниот одговор (13), води до хипотезата дека некои индивидуи одговараат на пародонталната инфекција со продукција на високо ниво на инфламаторни медијатори кои доведуваат до губиток на атачмент. Докажани се стабилни интер-индиви-

дуални разлики во моноцитниот одговор кон липополисахаридната (LPS) стимулација од одредени бактериски видови и фактот дека некои индивидуи константно реагираат со висока продукција на IL-1 и TNF (tumor necrosis factor), за разлика од другите, што е генетски детерминирано и може да биде основа за хронични инфламаторни нарушувања (23). Поради воспалителната природа на пародонталната деструкција, се бара врската помеѓу пародонтопатијата и варијациите во гените што учествуваат во инфламаторниот имун одговор.

Генските полиморфизми може да се појават во било кој дел од генот, вклучително промотер регионот, кодинг регионот или 3'UTR (untranslated gene regions). Многу од овие полиморфизми може да се функционално неутрални, но некои може да имаат директно функционално влијание врз генската транскрипција, РНК транскрипцијата или самиот кодиран протеин (101).

Терминот генски полиморфизам означува промени во секвенца на нуклеотиди кои ги содржи генот. Различните верзии на една секвенца од ДНК на една определена хромозомска локација (локус) се нарекуваат адели.

Кога тие се чести и се наоѓаат во повеќе од 1% од популацијата зборуваме за генетски полиморфизам. Промените во секвенците кои што се сместени во кодирачкиот дел од гените можат да доведат до создавање различни варијанти протеини кои прикажуваат различни фенотипови. Значењето на цитокинскиот полиморфизам може да се разгледува како влијание врз цитокинските функции (прикажување, концентрација, активност на цитокините), како и предиспонираност или отпорност кон различни болести (40). Полиморфните адели во регулаторните подрачја имаат значајно влијание врз интензитетот на реакциите и отстранувањето на генската регулација. Генетските студии покажале дека присуството на лесни хромозомски варијации во цитокинските гени наречени полиморфизми, се поврзани со зголемен ризик за развој на хронични инфламаторни заболувања, како што е пародонтопатијата, токму поради варијациите во нивото на цитокинската експресија којашто тие ја условуваат.

Најголем број од достапните наоди за генски условените заболувања се концентрирани на полиморфизмот на гените кои имаат некоја улога во инфламаторниот одговор. Централната улога на про-инфламаторниот цитокин IL-1 во пародонталната деструкција е подржана од наодите кои покажуваат негово присуство во гингивалните ткива и гингивалниот флуид кај пациентите со пародонтопатија (104).

На IL-1 генскиот клустер биле идентификувани два сингл-нуклеотидни полиморфизми (SNPs). Првиот е C-T транзиција на позиција -889 на IL-1A промотерот, а вториот на позиција +3954 на IL-1B генот, каде алелот 2 исто така резултира

со С-Т транзиција. Транзицијата на алелот С со Т на IL-1B генот се доведува во врска со зголемена секреција на IL-1 (114). Постојат три гени кои што учествуваат во регулацијата на продукцијата на IL-1: IL-1A, IL-1B и IL-рецепторскиот антагонист IL-1RA. Овие гени се лоцирани блиску еден до друг на хромозомот 2q 13. Гените IL-1A и IL-1B ја контролираат продукцијата на проинфламаторниот протеин IL-1alfa и IL-1beta. IL-1RA ја контролира синтезата на антагонистичкиот протеин (IL-RA), кој што преку ефектот на повратна спрега го контролира количеството на продукција на IL-1alfa и IL-1beta. Специфичните форми-алели од секој IL-1A и IL-1B ген се присутни кај секоја индивидуа различно (90).

TNF (tumor necrosis factor) alfa е исто така потентен про-инфламаторен цитокин кој индуцира ткивна деструкција и коскена ресорпција па затоа зема учество во патогенезата на пародонтопатијата. Неколку варијанти на единечните нуклеотидни полиморфизми (SNPs) биле опишани за TNF (tumor necrosis factor) alfa генот, како транзицијата G-A на -308 базното место кое резултира во сигнификантно повисока транскрипција на реткиот алел TNF/A (9). Други автори покажале дека стимулираните периферни мононуклеарни клетки кај носителите на TNF/A генотипот, покажуваат сигнификантно поголемо ослободување на TNF alfa отколку клетките на индивидуи со TNF/G на позиција -308. Полиморфизмот на -308 базниот пар води до промени во продукцијата на TNF (tumor necrosis factor) alfa од клетките на индивидуи носители на овој полиморфизам (20). Структурно-функционалната корелација ја прави оваа специфична генска варијација можен кандидат за асоцијативни студии.

IL-6 е про-инфламаторен медијатор кој игра улога во В клеточната диференцијација и Т клеточната пролиферација. Тој исто така ја стимулира хематопоезата и коскената ресорпција. Во биолошките флуиди и крвта се откриени високи количества на IL-6 кај инфекциите и хроничните инфламаторни заболувања, па оттука некои автори го сметаат за главен медијатор во имуниот одговор кај повреди и инфекции (8). Некои полиморфизми на секвенцата на цитокинскиот генски промотер на IL-6 се поврзани со транскрипционалната активност (99). С-G субституцијата на позиција -174 на промотерот на IL-6 е лоцирана веднаш над мулти одговорниот елемент, лоциран на позиција -173 до -151 поврзан со почетното место за транскрипција (86). С алелот ја алтерира транскрипцијата на IL-6 генот, кога треба да одговори на стимулација со липополисахариди (LPS) од бактериските клетки, што сугерира дека учествува во генетски детерминираната приемчивост кон инфламаторни заблудања (75).

Анти-инфламаторните цитокини како IL-10 и IL-4 имаат улога во контролирањето на инфламаторниот одговор. IL-10 е продуциран од Th1 регулаторните клетки, Th2 хелперните клетки, макрофагите и В клетките и ја инхибира синтезата

на проинфламаторните цитокини. IL-10 е исто така В клеточен стимулатор, кој ја контролира В клеточната пролиферација и диференцијација (105). Вкупниот ефект од неговото дејство влијае на инхибиција на вродениот и стекнатиот имун одговор кон воспалението. Три полиморфизми на IL-10 генот биле идентификувани на позиција -1087, -819, и -592, и се асоцирани со алтерирана синтеза на IL-10 како одговор на инфламаторен стимулус (1). Полиморфизмот -1087 е G-A супституцијата, -819 е C-T супституцијата и -592 полиморфизмот е C - A супституција. Овие три полиморфизми се во силен дисеквилибриум и се јавуваат со три преферирани хаплотипови: GCC, ACC и ATA. Хаплотипот GCC е поврзан со повисока продукција на IL-10 што сугерира дека носителите на двете други генски варијанти може да покажат послаб инфламаторен одговор, компариран со имунорегулацијата кај носителите на GCC хаплотипот (44).

IL-4 е цитокин со анти-инфламаторни својства, кој го продуцираат Т клетките, мастоцитите и базофилите. Тој претставува важен фактор во клоналната експанзија на антиген специфичните В клетки и го модулира хуморалниот одговор наспроти антигените стимулуси. Два полиморфизми на IL-4 генот, C-T полиморфизмот на позиција -590 на промоторниот регион (PP) и на 70 базен пар на интронот 2 (PI) биле детектирани кај 27,8 % кај пациенти со агресивна пародонтопатија (97). Генските полиморфизми на IL-4 генот може да ја засилат јачината на пародонтопатијата, поради намалената регулација на продукција на IL-4. Тоа го покажуваат хуманите студии кои намаленото присуството на IL-4 во гингивалните примероци го поврзале со пародонтално заболување (41).

IL-2 е про-инфламаторен цитокин ослободен од Th-1 клетките. Овој цитокин е инволвиран во Б-клеточната активација и стимулацијата на макрофагите, НК (natural killer cells), Т клеточната пролиферација и активноста на остеокластите за време на коскената ресорпција. Постојат наоди кои укажуваат дека IL-2 би можел да биде релевантен фактор во патогенезата на пародонталната болест. Нивото на IL-2 во серумот на пациенти со пародонтопатија е поголем во однос на здравите субјекти (13). Поради неговите биолошки својства, IL-2 би можел да биде корисен маркер за патолошката инфламаторна активност кај системските заболувања и пародонтопатијата (81). Полиморфизмот на позиција -330/T-G на IL-2 генскиот промотор била идентификувана од John (52), кој ја презентирал важноста на овој полиморфизам како маркер во дијагностиката на приемчивоста на организмот кон пародонтопатија.

Оттука сугестијата на многу автори, дека истражувањето на цитокинскиот генски полиморфизам кај секоја индивидуа, би ни користел при раната идентификација на високата предиспонираност спрема манифестирањето на изразена пародонталната деструкција, што понатаму би ги одредило и нашите постапки во

превенцијата и терапискиот пристап (83).

Во 1892 година сер William Osler забележал: " Кога не би имало толку големи разлики помеѓу индивидуите, медицината би можела да биде и само наука, а не уметност ".

Оваа гледиште и после еден век се уште е актуелно и го потенцира влијанието на генската варијабилност врз појавата на одредени заболувања, како и различниот исход на резултатите од нивната терапија широко во медицината, па оттука и во пародонтологијата.

Аспектирајќи ги овие сознанија, генетски предиспонирани индивидуи во појавата и прогресијата на пародонталната болест, би биле оние, кај кои се откриени генетските полиморфизми, кои индуцираат квантитативни разлики во имунолошкиот одговор кон антигена стимулација, кај системски здрави индивидуи.

2.1. Генетски аспекти на пародонтопатијата како хронично заболување

Пародонтопатијата е инфективно заболување, каде под дејство на микроорганизмите од денталниот плак се развива хронична инфламација. Интеракцијата помеѓу инфламаторниот одговор на домаќинот и бактериските вирулентни фактори доведуваат до деструкција на припојниот апарат и остеокластична ресорпција на алвеоларната коска, што како краен ефект има губиток на забите (103). Кај пародонтопатијата, микроорганизмите од денталниот плак ги стимулираат имунокомпетентните клетки, што резултира во продукција на молекули кои пак имаат важна улога во активацијата и регулацијата на имуно-инфламаторниот одговор (132). Микробните супстанции како што се липополисахаридите (LPS) ги активираат клетките на домаќинот (фибробластите, макрофагите и полиморфонуклеарните Le (PMNs) да секретираат проинфламаторни цитокини како што се интерлеукин 1 beta и TNF (tumor necrosis faktor) alfa (139).

Бактерискиот плак е апсолутно есенцијален за иницијацијата и прогресијата на пародонтопатијата и една од причините за разликата во тоа како пациентите ја манифестираат болеста е поради тоа што има различни типови на дентален плак, во зависност од вирулентноста на микроорганизмите кои што се присутни во него. Меѓутоа, за експресијата на ова заболување подеднакво се важни и специфичните елементи на приемчивоста на домаќинот (159). Сакајќи да ја дефинира генетската основа на некои заболувања Michalovich го постулирал постоењето на генетски сукцептибилна индивидуа која може или нема да ја развие болеста, зависно од интеракцијата на многу фактори, како на пример други гени, диета, социо-економски услови, изложеност на влијание на околината и друго (96).

Генетските заболувања може да се поделат во три мајорни категории:

- ◆ хромозомски нарушувања;
- ◆ Менделееви нарушувања;
- ◆ не Менделееви нарушувања.

Конгениталните хромозомски нарушувања се причинети од абнормална доза на нормални гени, кога се јавува недостиг или вишок на хромозомскиот материјал. Главно овие абнормалности вклучуваат присуство на екстра хромозом, поради изостанок на дисјункција во мејотична фаза при формирање на јајце клетка

или сперматозоид. Поретко, овие абнормалности резултираат во прегрупирање на хромозомите (транслокација), што може да биде наследна. Дауновиот синдром (трисомија 21), која е предизвикана од присуство на еден екстра хромозом 21, е класичен пример за хромозомска абнормалност (76). Менделеевите нарушувања се предизвикани од мутации во некој ген и се познати како single-ген или major-ген нарушувања. Тие се наследуваат низ генерации по класични патишта и тоа како автозомно доминантни или автозомно рецесивни нарушувања. Некои нарушувања предизвикани од поедини гени имаат сигнификантно учество во појавата на некои хронични заболувања, на пример хетерозиготна состојба за фамилијарна хиперхолестеринемија се појавува со фреквенција од 1:500. Носителите на овој ген имаат висока можност за развој на артериосклероза. Овој ген е најден во хетерозиготна состојба кај 5-10% од мажи на 60-годишна возраст кои доживеале инфаркт (37).

Најчестите заболувања кај возрасните имаат генетска компонента која што не може да се објасни ниту со хромозомска абнормалност или со некој major gene дефект (139). Кај овие заболувања т.н.р. не-Менделееви, генетското влијание не одговара на типичното наследување низ фамилии. Овие не-Менделееви нарушувања се мултифакторијални што би значело дека тие се причинети во комбинација од генетски и надворешни фактори.

Генетиката на овие нарушувања е комплицирана од неколку причини:

◆ Тие може да се манифестираат со слична клиничка состојба, а причината за нив би можела да биде резултат од пореметувања на различни гени (генетска хетерогеност).

◆ Клиничката експресија може да биде како резултат на синергистичко делување на повеќе гени-полигена, од кои секој произведува мали ефекти; и

◆ Клиничката експресија на одредено генетско пореметување да не може да се евидентира затоа што постојат два различни алела за ист ген (мултилокуси).

Клиничката манифестација на гените кои ги поседува една индивидуа се вика фенотип. Комплексните фенотипови, како на пример кардиоваскуларните заболувања се јавуваат во голем број во некои семејства, но тие не покажуваат обичен Менделеев наследен пат, туку кај нив генетските фактори се надополнуваат и се потенцираат со факторите од околината. Оттука, најчесто хроничните заболувања се јавуваат како комплексни нарушувања. Комплексноста произлегува од фактот дека мултиплите генетски фактори и факторите од околната средина можат да содејствуваат едни со други на непредвидлив начин (102).

Генетскиот полиморфизам е механизам на генетско делување преку кој индивидуите може да имаат варијации во фенотипската експресија, но тие да бидат во биолошки нормални граници. Во популацијата, генетскиот полиморфизам

е присутен кога различни форми од некој ген на дадениот локус егзистираат со фреквенција од 1-2%. Истражувањата индицираат дека апроксимативно 30% од сите генски локуси за ензимите се полиморфни, а околу 7% од популацијата се хетерозиготи за секој ензимски локус (139).

Студиите покажале дека некои имунолошки фенотипски карактеристики, кои што ја вклучуваат и цитокинската продукција, количеството (титарот) на одредени антитела и моноцитната функција, би можеле да бидат како резултат на специфичниот генетски полиморфизам (55). Генетските варијанти се важни за класификација на болестите, дијагнозата и менаџирањето на пациентите со хроничните општи заболувања, во дефинирањето на етиологијата на овие заболувања и во евалуацијата на членовите од истото семејство (94). Некои хронични заболувања, вклучувајќи ја коронарната артериска болест, опструктивните белодробни заболувања и пародонтопатијата, имаат неколку слични фактори - клиничка појава во средни години, фамилијарна позитивна анамнеза и појава на патолошки микро промени во зафатените ткива уште во раната адолесценција (42).

Различниот генетски бекраунд креира различна предиспонираност и ја потенцира можноста различни етиолошки причинители да доведуваат до иста клиничка експресија на заболувањето (на пр. пародонталната болест може да биде предизвикана од различни бактериски видови). Откако ќе се развие заболувањето, генетскиот код на афицираната особа може да влијае на текот на заболувањето во смисла на јачината и на појавата на можните компликации (95). Постојат четири типови на клинички студии кои што го потенцираат генетски поврзаниот ризик за развој на адултната пародонтопатија, а тие се:

- ◆ преваленција на пародонтопатија кај наследните заболувања (76),
- ◆ студии на близнаци (92, 93),
- ◆ студии за генетската детерминираност во процесот на создавање на антитела од имунокомпетентните клетки (109)
- ◆ генетски студии за цитокинскиот полиморфизам спроведени врз пародонтопатични пациенти (69, 70).

Заболувањата кои што се поврзани со аномалии во леукоцитната и неутрофилната функција се одлични примери за тоа како генетски условените пореметувања кај инфламаторните клетки може да предизвикаат пародонтопатија. Намалување на бројот на неутрофилите или нивна нарушена функција може да доведе до приемчивост кон инфективни заболувања (154). На пример инфантилната генетска агранулоцитоза, ретка автозомно рецесивна болест каде што бројот на неутрофилите е многу мал е асоцирана со експресија на агресивна пародонтална деструкција. Пациентите со Papiloma-Lefever синдромот, автозомно-реце-

сивно заболување, кое што се карактеризира со мутација на генот кој го одредува лизозомалниот протеаза катепсин С, имаат клинички знаци на многу силно изразена агресивна пародонтопатија. Индивидуите со Cohen-ов синдром за кои е карактеристична неутропенија покажуваат големи загуби на алвеоларната коска (76). Зголемена предиспонираност кон развој на пародонтопатија е најдена кај некои наследни заболувања, како на пример, адултната појава на парадонталната болест е поврзана со хетерозиготна форма на наследниот Mac-1 LFA-1 дефицитен синдром, додека хомозиготите со овој дефицит развиваат силно изразена агресивна пародонтопатија. Силно изразена пародонтопатија исто така се појавува и кај индивидуи со леукоцитни дефекти, вклучително и неадекватна неутрофилна хемотакса и бактерицидна активност како на пример Chediak-Higashi синдром или пак наследни дефекти во *glukosa - 6 phosphate 1 translokasa* (151). Меѓутоа, овие нарушувања вклучуваат и други системски проблеми и необично силно изразени парадонтални деструкции и не би можеле да дадат некој поголем придонес во откривањето на генетските чинители на парадонталното заболување во генералната популација. Компарациите кај монозиготни близнаци кои растеле заедно или одвоено покажале дека семејното опкружување имало мало, или воопшто немало влијание врз развојот на парадонтопатијата (92). Во една друга, поголема студија конкордантниот однос кај монозиготните близнаци бил 0, 38 т.е. двапати поголем отколку кај дизиготните близнаци (93) што ни укажува на силно генетско влијание врз развојот на парадонталната болест.

Студиите врз близнаци исто така покажале дека со помош на генетички фактори, не би можеле да се објаснат разликите во видот на бактериите кој го колонизираат денталниот плак, затоа што и монозиготните и дизиготните близнаци имале подеднаков однос на *Porphyromonas gingivalis* и *Prevotella intermedia*. Тоа не наведува на фактот дека генетските фактори повеќе влијаат на квалитетот на имуниот одговор кон инфекција, отколку врз самата бактериска колонизација.

Студиите за етиопатогенетските фактори за развојот на парадонталната болест укажуваат дека сите индивидуи се подеднакво изложени на акумулација на дентален плак, меѓутоа некои се многу осетливи и развиваат агресивна форма на многу млада возраст, додека другите се отпорни и може никогаш да не развијат пародонтопатија (27). Molvig (98) во својата студија утврдил стабилни интериндивидуални разлики во имуниот одговор на моноцитите од крвта на неговите испитаници наспроти липополисахаридната стимулација од одредени бактериски видови и заклучил дека некои индивидуи реагираат секогаш со висока продукција на IL-1 и TNF (tumor necrosis factor) за разлика од другите. Со овој наод тој си дал толкување на својата хипотеза дека степенот на одговор на надворешните влијанија е генетски детерминиран и би можел да биде подлога за хронични инфлама-

торни заболувања.

Информациите кои што ги содржи хуманиот геном потенцијално водат кон подобро разбирање на контролните механизми кои што ја модулираат продукцијата на инфламаторните медијатори, а исто така и ја обезбедуваат пародонталната регенерација по спроведениот терапевтски третман (91).

Иднината на генетските истражувања се состои во можноста да се групираат индивидуите со идентичен генетски тип, што би понудило високо персонализиран третман, кој ќе биде детерминиран во зависност од генетското ниво (33).

Некои механизми на генетската приемчивост ја вклучуваат акцијата на гените кои што го контролираат одговорот на домаќиност спрема околината, како што е ХЛА комплексот на хромозомот 6. ХЛА регионот содржи гени кои што се инволвирани во имунолошкиот одговор, како на пример генската мапа на TNF (tumor necrosis factor) - alfa. Докажано е дека генетскиот полиморфизам на 5'-регионот од TNF - alfa генот е вклучен во одговорот на бактериската провокација и овој полиморфизам е важен за некои форми на пародонтопатија (32). Reinholdt 12 TNR (116) во својата студија покажал дека пациентите со јувенилна пародонтопатија имаат повисока преваленца на HLA-A9, HLA-A28 и HLA-BW-15, отколку здравата контролна популација, со што ја сугерирал врската помеѓу ХЛА маркерите и гените за јувенилна пародонтопатија. Наследените ХЛА антигени се поврзани со подложноста или отпорноста кон парадонтопатијата.

Лое и соработниците спровеле една студија за текот на пародонталната болеста за 15-годишен временски период кај група мажи од 14 до 31 година кои не ги почитувале конвенционалните принципи на оралната хигиена. Тие покажале големи количества наслаги од дентален плак и забен камен и генерализирана инфламација на гингивата. Од сите испитаници направени се три подгрупи врз основа на интерпроксималниот губиток на атачмент и број на екстрахирани заби и добиени се:

- ◆ индивидуи со рапидна прогресија на пародонтопатија (околу 8%);
- ◆ индивидуи со развиена пародонтопатија (околу 81%);
- ◆ индивидуи со гингивит, без развиена пародонтопатија (околу 11%).

Воглавно, испитаниците немале кариес, што значи дека причината за губиток на забите била пародонтопатијата. Базирано на модерните гледишта на сукцептибилноста, резултатите од оваа студија покажуваат дека може да постојат индивидуи кои се помалку подложни на болеста (82).

Фагоцитозата на неутрофилите е важен механизам во одбраната од пародонталните бактерии. Таа е потпомогната со опсонизацијата на бактериите од

специјалните Ig-G антитела, која што е проследена со спојување на Fc регионот на антителата со Fc gamma рецепторот на неутрофилните леукоцити. И овие опсонински рецептори покажуваат полиморфизми, кои што можат да бидат поврзани со намалена фагоцитоза на бактериските клетки (73). Генетските варијации во квантитетот на антителата и магнитудата со која полиморфонуклеарните леукоцити се спојуваат со антителата преку Fc-gamma рецепторите се асоцирани со рана појава на пародонтопатија (71), или со адултната пародонтопатија кај јапонски пациенти (72).

Некои студии покажале дека генетскиот полиморфизам е поврзан со функцијата на неутрофилите кај пациенти со јуvenilна пародонтопатија. На пример, Gwin и сор. (50) нашле полиморфизам во f-met-leu-phe рецепторните гени, кои се рецептори за хемотактичните фактори кои што ги продуцираат бактериите и ја потенцирале нивната улога во појавата на агресивната пародонтопатија. Willson (156) нашол Fc рецепторски полиморфизам, кој исто така е поврзан со слабото спојување на IgG2 Fc од неутрофилите со бактериските клетки кај пациенти со јуvenilна пародонтопатија. На тој начин тие ја потврдиле улогата на генетскиот полиморфизам во рецепторот на неутрофилната хемотакса и Fc опсонинскиот рецептор, како предиспонирачки гени за развој на јуvenilна пародонтопатија. Van Scibe и сор. (147) укажале дека Fc gamma рецепторниот полиморфизам е поврзан со пародонтопатијата. Тие споредиле 105 возрасни пациенти со развиена до терминална фаза на пародонтопатија со 132 здрави индивидуи на иста возраст и со иста етничка припадност. Fc gamma RIIA-H-H-131 и Fc gammaRIIB-NA2/NA2 генотипот се појавил кај пациентите наспроти контролната група во однос (18,8% наспроти 3,8%). Оваа корелација помеѓу Fc gamma RIIA и Fc gammaRIIB генотипот и јако изразената пародонтална деструкција, сугерира дека кај индивидуите кои што се носители на овие полиморфизми постои редуцирана опсонизација, која што доведува до нарушена фагоцитоза на патогените бактерии. Ова може да биде важен ризик фактор кај адултната пародонтопатија.

Технолошките придобивки од проучувањето на хуманиот геном го променија лицето на биолошките истражувања и ја ставија генетиката на чело на биомедицинските науки. Можноста од генетското проучување на организмите, во склоп на експерименталниот модел на глумците, како и на инфективните патогени, односно микроорганизмите, доведува до напредок во разбирањето на патолошките состојби врз генетска основа.

Во пародонтологијата, исто како и во медицината, интересни се гените на човекот и гените на микроорганизмите како и интеракцијата помеѓу нив. За жал, некомплетното биолошко познавање го лимитира разбирањето за влијанието на поедини гени, како и интеракцијата помеѓу нив во етиопатогенезата на многу

комплексни заболувања, меѓу кои и пародонтопатијата. Ниту еден ген не делува ексклузивно или пак е комплетно ослободен од дејството на средината или начинот на живот. Гените содејствуваат директно или преку нивната продукција на протеини со многу други гени и генски продукти, што често пати резултира во впечатливи варијации во симптомите помеѓу пациенти со исто заболување.

2.2. Корелација помеѓу полиморзизмот на про-инфламаторните и анти-инфламаторните цитокински гени и пародонталната болест

Хемиските соединенија во ткивата кои обезбедуваат комуникација помеѓу клетките генерално се наменувани како цитокини. Тие се ниско молекуларни протеини кои учествуваат во меѓуклеточната комуникација на тој начин што помагаат во развој на имуните ефекторни клетки, а некои од нив имаат и директни ефекторни функции. Тие се лачат од белите клетки (леукоцитите) и најчесто делуваат како медијатори непосредно во својата околина. Целните клетки се дефинираат според присуството на специфичните мембрански рецептори за цитокините. Најголем дел од цитокините се нарекуваат интерлеукини, друга група се интерфероните и тумор некрозните фактори, а постои и група на нискомолекуларни цитокини-хемокини. Биолошката функција на цитокините се манифестира преку развој на клеточниот и хуморалниот имун одговор, индукција на воспалителниот процес, регулација на хематопоезата, контрола на клеточната пролиферација и диференцијација и индукција на заздравување на раните.

Про-инфламаторниот цитокин IL-1 има сигнална улога во многу различни системи во организмот и е силно имплициран во прогресијата и јачината на адултната пародонтопатија. Цитокините IL-1 α , IL-1 β и TNF (tumor necrosis factor) α се важни медијатори во инфламаторниот одговор и играат централна улога во патогенезата на многу хронични инфламаторни заболувања (108). Добро е документирано дека нивните биолошки активности *in vivo* се доволни да продуцираат локална инфламација и деструкција на сврзното ткиво и коската (19).

Цитокинет IL-1 е еден од првите хемиски медијатори кој се активира под дејство на надворешните влијанија, како што се бактериите и нивните стимулуси. Како еден ран фактор на имунолошкиот договор, тој активира други неспецифични и протективни механизми, како што се регрутација на полиморфонуклеарните леукоцити и активација на неспецифичните протективни механизми. Тие, исто така ги активираат и специфичните протективни механизми кои што се инволвирани во зараснување на рани и во метаболизмот на коската и сврзното ткиво. Зголемената продукција на овие цитокини, исто така, е поврзана со одговорот кон инфекција,

каде локалната индукција на IL-1 и TNF учествува во елиминација на микробната инвазија (84). Во многу студии е потврдено дека во некои инфективни состојби, многу високи нивоа на цитокини кои ги продуцираат моноцитите, ја иницираат каскадата на конкомитантни случувања, како што е ткивниот катаболизам, васкуларниот реактивитет и хиперкоагулацијата, кои што имаат деструктивен ефект врз ткивата на домаќинот (117).

Зголеменото ниво на IL-1 бета во гингивалното ткиво и гингивалниот флуид многу автори го поврзале со степенот на јачина на пародонтопатијата (18). Врската помеѓу IL-1 и пародонтопатијата била екстензивно опишана од Offenbacher (104).

Иако локално ткивно ниво на IL-1 се зголемува со напредување на инфламаторниот процес, сепак постојат разлики помеѓу луѓето во однос на количеството на цитокинската продукција, што е добро документирано во некои студии (46). Кај здрави индивидуи, имуниот систем адекватно се брани од микробната инвазија, со мали деструкции или неоштетувајќи ги своите ткивни системи. Одбраната на домаќинот ја вклучува можноста да се опонизираат и фагоцитираат микроорганизмите. Имунорегулацијата исто така ја вклучува и потенцијалната деструктивна улога на цитокините, во текот на имунолошките одбрамбени дејства (2). Оттука станува сосема јасно дека варијациите во една или во повеќето од овие функции на цитокините доведува до различен одговор на домаќинот и различен степен на ткивна деструкција. Разликите во експресијата на цитокините, особено про-инфламаторните цитокини е од голем интерес за пародонталните истражувачи.

Цитокините како и IL-1 и TNF-alfa имаат важна улога во коскената деструкција, а бидејќи нивната експресија е поврзана со единечниот нуклеотиден полиморфизам (SNPs) кај различни пациенти, различна е нивната експресија, што доведува до различен степен на оштетување на пародонталните ткива (34). Најистажуваната генетска асоцијација со пародонтопатијата е полиморфизмот на IL-1 генот. IL-1B и IL-6 полиморфизмот биле документирани како многу важни во развојот на рекурентен автозен стоматит (12).

Прв извештај за асоцијација помеѓу IL-1 генскиот полиморфизам и јачината на пародонталната болест била публикувана 1977 година од Kornman (66). Тоа била прва студија која што го идентификувала генетскиот полиморфизам, што кореспондира со фенотипските варијабилности во имунолошкиот одговор, односно продукцијата на IL-1 кај пациенти со адултна пародонтопатија. IL-1 композитниот генотип идентификуван во оваа студија се јавува како маркер за силни биолошки промени, што резултираат во силно изразена пародонтална деструкција како одговор на бактериската колонизација. Асоцијација помеѓу силно изразена пародонтопатија и генетскиот полиморфизам за IL-1 генот се јавиле кај 86% од пациентите. IL-1 цито-

кинскиот полиморфизам бил многу силен предиспонирачки фактор за јачината на пародонтопатијата кај непущачи на возраст помеѓу 40 и 60 години (67). По спроведените одредувања на нивоата на IL-1alfa и IL-1beta во гингивалните биопсии и гингивалниот флуид (GCF), било утврдено дека пациентите со полиморфизам на IL-1 генот, продуцираат повисоко ниво од IL-1beta во гингивалните биопсии и гингивалниот флуид. Интересно е што кај генотип негативните пациенти по спроведениот пародонтолошки третман доаѓа до редукција на концентрација на IL-1beta во гингивалниот флуид, но тоа не се случува и кај генотип позитивните пациенти, што ни сугерира дека експресијата на IL-1beta делумно е резултат и на генетско-имунолошките карактеристики на една индивидуа, а не изолирано како одговор на надворешна бактериска дразба (61). Слични согледувања биле направени во пилот студијата на Jepsen (60), кои го истражувале одговорот на парадонтално здрави пациенти на плак акумулацијата. Во оваа студија се дошло до сознание дека IL-1 генотип позитивните пациенти, а не и генотип негативните пациенти, имаат сигнификантно зголемување на вредностите на IL-1beta во гингивалниот флуид (GCF) после само три дена откако не одржувале орална хигиена.

Откако е идентификуван генскиот полиморфизам за гените одговорни за регулација на IL-1, најсовремените истражувања го доведуваат во врска композитниот генотип на IL-1 генскиот кластер (кој вклучува симултано присуство на најмалку една копија од алелот T од IL-1-889 полиморфизмот и најмалку една копија од алелот T од IL-1B+3854 полиморфизмот) со висока предиспонираност кон развојот на силно изразена парадонталната деструкција (123). Студијата на Gore (47) покажала дека моноцитите од периферна крв кај индивидуи со најмалку една копија од алелот T за IL-1B+3954 продуцираат четири пати повеќе IL-1beta како одговор на бактериски инсулт со периопатогени, за разлика од моноцитите од генотип негативните индивидуи по однос на овој полиморфизам. Секој човек наследува една копија од IL-1 генот од секој родител. Индивидуите што имаат две копии (хомозиготни) за најчестиот IL-1B+3954 полиморфизам, алел C, продуцираат нормални количини на IL-1beta (5, 2 нанограми / мл), додека пак индивидуите кои се хомозиготи за полиморфизмот поврзан со пародонтопатија (алел T) продуцираат четири пати повеќе IL-1 бета од нормалната продукција (19, 9 нанограми / мл). Индивидуите кои имаат една копија на алелот C и една копија на алелот T за IL-1B+3954 полиморфизмот, значи хетерозиготните особи, продуцираат приближно два пати повеќе IL-1beta (12, 4 нанограми / мл).

Едно очигледно прашање кое што се наметнува е која е улогата на IL-1 генотипот кај различните етнички групи. Главно во популациите кои што се тестирани, овој генотип се јавува кај околу 30% од индивидуите. Резултатите од некои популациски истражувања кои покажуваат дека одреден полиморфизмот е поврзан со јачината на парадонталната болест, не би можеле да се користат како ре-

левантен предвидувачки фактор соодветно и кај друга популација. На пример IL-1 позитивниот генотип во некои студии (21) покажал силна асоцијација со јачината на пародонтопатијата кај европската популација, каде што се јавува кај околу 30% од испитаниците со хронична пародонтопатија, но не е толку чест кај кинеската популација, каде што е застапен со само 2% кај испитаниците со хронична пародонтопатија (5).

Најновите студии укажуваат на тоа дека анализите на IL-1 полиморфизмот овозможуваат да се предвиди како индивидуално секој пациент ќе реагира на различна стоматолошка интервенција и всушност еден дијагностички тест базиран на овие наоди е веќе комерцијално достапен (17).

Laine (77) ја истражувал дистрибуцијата на полиморфизмот на IL-1 генот кај пациенти заболени од пародонтопатија наспроти контролната група во контекст со микробиолошките параметри, поточно со земање на брис од пародонталниот џеб за да се утврди дали има присуство на *Porphyromonas gingivalis* и *A.actinomicetemcomitans*. Резултатите од студијата укажале на повисока фреквенција на носители на пореткиот T алел за IL-1A, IL-1B и IL-1RA генот кај пациенти кои имале силно изразена пародонтална деструкција иако кај нив не било детектирано присуството на двата бактериски вида високоризични за развој на пародонтопатија. Користејќи DNK-DNK хибридизација, Socransky (132) сакал да го стави во корелација присуството на пародонталните патогени и генотип позитивните пациенти. Повисоките вредности за црвени и портокалови комплекси кои што ги оформуваат *Bacillus forisitus*, *treponema denticola*, *fusobacterium nukleatum* и други перипатогени биле нотирани за генотип позитивните индивидуи, отколку за генотип негативните.

Во една слична таква студија Papanou и сор. (107) ја истражувале врската помеѓу генотипскиот статус, пародонталните параметри, субгингивалните бактерии и системскиот имунолошки одговор и дошле до заклучок дека композитниот генотип (IL-1A+4845 и IL-1B+3953) е во силно изразена корелација со степенот на јачина на пародонталното заболување, одредена преку клиничкиот губиток на атачмент.

Од една лонгитудинална студија, која траела 10 години и во која учествувале 60 пациенти со умерена до изразена пародонтална деструкција, се покажале сигнификантни разлики во терапискиот одговор базиран на ниво на коскената ресорпцијата во корелација со генотипскиот статус, па од таму авторите заклучиле дека генотипизирањето е корисно на почеток на терапијата за да се предвиди долгорочно губитокот на алвеоларна коска (16). Влијанието на IL-1 генскиот полиморфизам било испитувано и во поглед на стабилноста на регенерираниот клинички атачмент после една водена ткивна регенерација (GTR) на длабоки ин-

фрагоскени дефекти поголеми од 8 мм. Споредбата, после 3-годишен период, со генотип негативните пациенти кои спроведувале идентична орална хигиена и подеднакво чести контролни прегледи, покажале дека генотип позитивните пациенти имале изгубено 50% повеќе од добиениот клинички атачмент отколку генотип негативните пациенти. De Santis (28) исто така извршил евалуација на генотипскиот статус кај 40 пациенти 4 години по направената GTR процедура. 14 од пациентите биле генотип позитивни и покажале сигнификантно поголем клинички губиток на атачмент (2,3мм наспроти 1мм) и зголемување на длабочината на пародонталниот џеб (2,2мм наспроти 0,8мм). Генотип позитивните индивидуи биле 10 пати поподложни (OR=9,95) да изгубат повеќе од 2мм од новосозданиот атачмент од генотип негативните пациенти (79% наспроти 27%). Овие резултати не упатуваат на заклучокот дека цитокинскиот генски полиморфизам влијае врз долготрајноста на терапевтските резултати.

Крварењето после сондирање ја рефлектира инфламаторната лезија присутна во сврзното ткиво. Оттука, генетските варијации поврзани со зголемен ризик од развој на инфламација во ткивата би можела да се инкорпорираат во ризичниот профил на пациентите. Lang и сор. (78) спровеле студија за да ја испитаат корелацијата на IL-1 полиморфизмот и крварењето на сондирање (BOR). Тие дошле до заклучок дека постоело сигнификантно поголемо крварење, после пародонтален хируршки третман кај генотип позитивните, отколку кај генотип негативните индивидуи (13,2 наспроти 10,3 места по пациент). Овие наоди укажуваат дека постои генетска детерминираност во однос на инфламаторниот одговор на пациентот и дека може да ни користи во одредување на должината на интервалот за повторен контролен преглед (recall). Наодите на Goodson (46) го подржуваат концептот дека генотип позитивните индивидуи имале поизразено крварење на сондирање, отколку генотип негативните пациенти. По експериментално предизвикан гингивит (суспендирана орална хигиена за време од 3 недели) и откако потоа била спроведена 3 неделна професионална профилакса, генотип позитивните пациенти покажале зголемен процент (81,5%) на места што крварат на сондирање, наспроти 54,2% кај генотип негативните пациенти.

Проучувајќи го влијанието на генотипскиот статус и губитокот на забите во својата студија Mc Guire (91) одредил дека генотип позитивните индивидуи имаат 2,7 пати поголема шанса за губење на забите, односно тие изгубиле 27 од 386 заби, додека генотип негативните изгубиле 16 од 657 заби, седум години по третманот. Можното предвидување на губитокот на заби би можело да биде важно во развивање на планот за третман на специфични пациенти (49). Parkhil и сор(105) во своите студии го испитувале само присуството на IL-1B +3953 полиморфизмот за T алелот и го довеле во корелација со 3 пати поголема можност од развој на

агресивната пародонтопатија, но не може да се направи споредба со композитниот генотип затоа што не вршеле генотипизација за алелот T за IL-1A -889 полиморфизмот. Наодите дека алелот C, а не алелот T кај IL-1B +3953 локусот бил сигнификантно елевирани помеѓу индивидуи со агресивна пародонтопатија не наведува на заклучокот дека постојат генетски разлики поврзани со разните клинички форми на пародонтопатија. Исто така се претпоставува дека генетското влијание кај пародонтопатијата се манифестира преку акумулиран ефект на мултиплите полиморфизми. За точно да се определи важноста на полиморфизмот за секој алел, важно е да се квантифицира релативното учество на секој полиморфизам во фенотипот на заболувањето. Наодите на асоцијација помеѓу IL-1 полиморфизмот и зголемување на продукцијата на IL-1alfa и IL-1beta, од една страна, и поагресивна пародонтална деструкција од друга страна, всушност може да послужи како модел како генетскиот фактор влијае врз хронични заболувања (35).

Во најновите литературни податоци за влијанието на цитокинскиот полиморфизам во етиологијата на пародонталната болест најдовме и на многу трудови кои се однесуваат на TNF-алфа генскиот полиморфизам. Yamazaki (158) ја истражувал улогата на TNFR2+587 T/G полиморфизмот и пародонталната болест кај јапонската популација, меѓутоа не нашле статистички значајна разлика во однос на контролната група. Во студијата на Folwaczny (36) исто така предмет на интерес била улогата на TNF алфа -308 полиморфизмот G со A супституција, помеѓу пациенти со пародонтопатија и контролна група, но не нашле значајна разлика, додека Bassman (30) во својата студија покажал дека комбинираниот генотип составен од TNF-алфа и LT-alfa генот имаат влијание врз приемчивоста кон пародонтопатија кај чешката популација.

Shapira (126) ја истражувал улогата помеѓу три единечни полиморфизми на TNF и тоа TNF alfa-308, TNF alfa -238 и TNF beta +252 во корелација со нивото на TNF alfa продукцијата од страна на оралните полиморфонуклеари кај пациенти со хронична пародонтопатија и дошол до значајни заклучоци. TNF-alfa -308/A: G генотипот бил сигнификантно асоциран со зголемена продукција на TNF alfa кај испитуваната група. Soga (135) ја докажал улогата на полиморфизмите на TNF генот и тоа 1031-C, -863 A или -857 T алелот кои биле значајно повеќе застапени кај пациентите со пародонтопатија и имале значително поголема концентрација на TNF alfa продуциран од стимулираните моноцити, за разлика од носителите на доминантниот генотип -1031-T, -863 C и -857 C кои имале нормални вредности за TNF alfa кој го продуцирале моноцитите.

IL-6 е уште еден проинфламаторен медијатор кој игра улога во В-клеточната диференцијација и Т клеточната пролиферација. Тој исто така ја стимулира хематопоезата и ја потенцира коскена ресорпција (137). Високото ниво на IL-6 во

биолошките течности и крвта е докажано кај инфективните и хронично инфламаторните заболувања, со што се потврдува неговата улога во нивната патогенеза и се промовира IL-6 во главен медијатор во имуниот одговор кај повреди и инфекции (121). Анти-инфламаторните цитокини како IL-10 и IL-4 имаат улога во контролата на инфламаторниот одговор. Анималните студии покажале силна поврзаност на експресијата на IL-10 и ресорпцијата на алвеоларната коска (2), а хуманите студии ја потврдиле корелацијата на IL-4 од гингивалните примероци и пародонтопатијата (13). Поради тие причини IL-10 и IL-4 исто така се сметаат за кандидатски гени кои имаат своја улога во приемчивоста кон пародонтопатијата. Michel (97) ја истражувал врската помеѓу два полиморфизми на IL-4 генот и вредностите на серумската концентрација на IL-4 кај пациенти со агресивна пародонтопатија и дошол до многу значајно сознание дека кај пациентите кои биле позитивни за двата полиморфизми, вредностите за IL-4 во серум не можеле да се детектираат, додека кај негативните пациенти за двата полиморфизма и кај контролната група, биле измерени нормални вредности за IL-4 во серум. Овие резултати сугерират дека полиморфизмот на IL-4 генот влијае врз модификација на фенотипската експресија на IL-4. Студијата на Komatsu (62) покажала дека зголемени вредности за IL-6 биле асоцирани со алелот C за IL-1beta-511 и IL-6-174, додека високи серумските вредности на C реактивниот протеин (CRP) се поврзани со алелот C за IL-A-889 и IL-6-174.

Од сето досега изнесено може да се заклучи дека генотипскиот статус влијае како предиспонирачки фактор за пародонтопатијата и јачината на нејзината експресија кај најголемиот број на заболени индивиду, меѓутоа ниту една индивидуа не припаѓа во една универзална генотипска обликуваност, се додека постојат и други недетерминирани генетски фактори кои што исто така влијаат врз појавата на ова заболување. Влијанието од надворешните фактори како што се пушењето, оралната хигиена и терапискиот пристап е подеднакво значајно, заедно со различното расно, географско и етничко потекло врз појавата на пародонталната болест. Затоа се неопходни понатамошни истражувања на молекуларните механизми и кандидатски гени кои би биле инволвирани во пародонталната болест и кои ја одредуваат комплексната интеракција помеѓу домаќинот и патогените микроорганизми и надворешните влијанија.

Високо фреквентната застапеност на пародонталната болест во популацијата, нејзиниот прогресивен и хроничен карактер, како и сериозните последици кои што произлегуваат од еволуцијата на оваа заболување, ја наметнуваат потребата од нејзино рано откривање.

Имајќи ги предвид актуелните научно-стручни сознанија за улогата на цитокинскиот генски полиморфизам врз предиспонираноста или отпорноста кон пародонталната инфекција и докажаните етнички разноликости во дистрибуцијата на генските варијанти ги поставивме и целите на овој труд:

◆ утврдување на присуството и процентуалната застапеност на полиморфизмите на цитокинските гени [интерлеукин ИЛ-1 алфа (IL-1 α), ИЛ-1 бета (IL-1 β), ИЛ-1Р рецептор (IL-1R), ИЛ-1Р антагонист (IL-1RA), гама-интерферон (IFN γ), ИЛ-2 (IL-2), ИЛ-4 (IL-4), ИЛ-4 рецептор алфа (IL-4R α), ИЛ-6 (IL-6), ИЛ-10 (IL-10), ИЛ-12Б (IL-12-B), ТРФ бета 1 (TGF- β 1) и ТНФ алфа (TNF- α)] кај пациенти со хронична пародонтопатија во македонската популација.

◆ утврдување на влијанието (протективно или асоцијативно) помеѓу секој одделен полиморфизам на цитокинските гени со хроничната пародонтопатија во споредба со контролната група кај македонската популација.

◆ утврдување на присуството и процентуалната застапеност на полиморфизмите на цитокинските гени кај трите клинички стадиуми на хроничната пародонтопатија кај македонската популација.

◆ утврдување на влијанието (протективно или асоцијативно) помеѓу секој одделен полиморфизам на цитокинските гени со секој клинички стадиум на хроничната пародонтопатија во споредба со контролната група кај македонската популација.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА


4.1. Материјал

4.1.2. Испишувани групи

За реализација на поставената цел проследивме 132 пациенти со пародонтална болест на Клиниката за болести на устата и пародонтот, при Универзитетскиот Стоматолошки Клинички Центар, во Скопје. Кај сите пациенти кои ја оформија испитуваната група беше направена претходна селекција според интерно воспоставени критериуми. Сите пациенти беа во добра општа состојба и кај сите по пат на добро земена анамнеза ги исклучивме следните состојби:

- ◆ заболувања на оралните меки и тврди ткива во оралната празнина, со исклучок на кариес и пародонтопатија
- ◆ присуство на ортодонтски апарати во уста
- ◆ користење на системски антибиотици во период од три месеци пред вклучување во студијата
- ◆ бременост и лактација
- ◆ диабет
- ◆ примена на имуносупресивна терапија
- ◆ историја на било кое општо заболување кое ја компромитира функцијата на имунолошкиот систем
- ◆ пушачи

Сите пациенти беа писмено запознаени со генетското испитување што требаше да се спроведе и пополнија и потпишаа информативна дозвола за генетско испитување и складирање на изолираната ДНК во македонската банка за хумана генетика. Сите испитаници беа од македонска националност до вториот колениски род, не беа во блиски и далечни роднински врски, со православна религија, говорат македонски јазик и се жители од различни географски подрачја од Република Македонија.


Македонска банка за хумана ДНК (ДНКМКБ)
 Македонian Human DNA Bank (HDMKB)

Информирана дозвола за генетско испитување

Име и презиме: _____
 Дата на раѓање (Д-М-Г): _____
 Код бр.: □□□□□□□□ Примерок бр.: □□□□□□□□

Се согласувам да ми се направат следниве испитувања:

Каџотип
 ДНК тестирање за (вид на болеста): _____

Потпишана жена аспектите прикажани во Фактите за наместот од Македонската банка за хумана ДНК се дискутираа и имаа доволно време да се одлучат. Ми беше дадена можност за всестрана информирана одлука.

Многте одлуки во врска со тување на примерокот:

Се согласувам моите примероци да се чуваат за можна оидиторна анализа во мој интерес и само на мое барање.

Се согласувам мојот примерок да се објават (анонимизиран) и да се употребува за научни цели.


Потпис: _____ (родител/законски застапник, кога е потребно)
 Датум: _____

Создадена доктор: На ова лице му је објасниа бараната процедура, му ги прикажаа сè правичната набелскава на подготвен текст и одобрија на неговите прашања.

Потпис: _____
 Датум: _____

СТОМАТОЛОШКИ УНИВЕРЗИТЕТ "СВ. СВЕТИ ПАНТЕЛЕЈМОН" С.С.С.П.Б.
СВЕТИ ПАНТЕЛЕЈМОН С.С.С.П.Б.
 Асс. д-р. Анастас М.С.С.
 СТОМАТОЛОШКА КЛИНИКА
 БУЛЕВАР НА УЧЕНИЦИ И ВОЈВОДИНИ
 5500, РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА

Институт за имуногенетика и хумана генетика (IHDMKB) Faculty of Medicine, St. Panteleimon Hospital (HDMKB)
 Македонски Булевар, 55, Делта ПР Бр. 6, П.О. Бр. 1109 Faculty of Medicine, St. Panteleimon Hospital, P.O. Box 6, P.O. Box 1109
 Скопје, Република Македонија Скопје, Република Македонија
 Tel: +389 2 3110556 / Fax: +389 2 3110558 Tel: +389 2 3110556 / Fax: +389 2 3110558
 e-mail: ihdmkb@skopje.mk e-mail: ihdmkb@skopje.mk
 www.ihdmkb.org.mk www.ihdmkb.org.mk


Македонска банка за хумана ДНК (ДНКМКБ)
 Macedonian Human DNA Bank (HDMKB)

Потпишана согласност - антропологија (ДНКМКБ)
Written Consent - Anthropology (HDMKB)

Име и презиме: _____ Дата: _____ Код бр.: _____ Група: _____
 Примерок бр.: _____ Примерок бр.: _____ Примерок бр.: _____ Примерок бр.: _____

Испитување/Subject
 Име и презиме/Name and Surname: _____
 Место на раѓање (со општина)/Birth Place (Municipality): _____
 Дата на раѓање/Birth Date: _____ Живее (општина)/Living (Municipality): _____
 Националност (етнос)/Nationality (ethnicity): _____ Религија/Religion: _____
 Зборува на/Spoken Language: _____
 Адреса на живеење/Living Address: _____
 Телефон/Telephone: _____
 Пол/Gender: _____

Татко/Father
 Име и презиме/Name and Surname: _____
 Место на раѓање (со општина)/Birth Place (Municipality): _____
 Дата на раѓање/Birth Date: _____ Живее (општина)/Living (Municipality): _____
 Националност (етнос)/Nationality (ethnicity): _____ Религија/Religion: _____
 Зборува на/Spoken Language: _____

Деда од татко/Father's father
 Име и презиме/Name and Surname: _____
 Место на раѓање (со општина)/Birth Place (Municipality): _____
 Дата на раѓање/Birth Date: _____ Живее (општина)/Living (Municipality): _____
 Националност (етнос)/Nationality (ethnicity): _____ Религија/Religion: _____
 Зборува на/Spoken Language: _____

Баба од татко/Father's mother
 Име и презиме (во македонски)/Name and Surname (Macedonian): _____
 Место на раѓање (со општина)/Birth Place (Municipality): _____
 Дата на раѓање/Birth Date: _____ Живее (општина)/Living (Municipality): _____
 Националност (етнос)/Nationality (ethnicity): _____ Религија/Religion: _____
 Зборува на/Spoken Language: _____

Мајка/Mother
 Име и презиме (во македонски)/Name and Surname (Macedonian): _____
 Место на раѓање (со општина)/Birth Place (Municipality): _____
 Дата на раѓање/Birth Date: _____ Живее (општина)/Living (Municipality): _____
 Националност (етнос)/Nationality (ethnicity): _____ Религија/Religion: _____
 Зборува на/Spoken Language: _____

Деда од мајка/Mother's father
 Име и презиме/Name and Surname: _____
 Место на раѓање (со општина)/Birth Place (Municipality): _____
 Дата на раѓање/Birth Date: _____ Живее (општина)/Living (Municipality): _____
 Националност (етнос)/Nationality (ethnicity): _____ Религија/Religion: _____
 Зборува на/Spoken Language: _____

Баба од мајка/Mother's mother
 Име и презиме (во македонски)/Name and Surname (Macedonian): _____
 Место на раѓање (со општина)/Birth Place (Municipality): _____
 Дата на раѓање/Birth Date: _____ Живее (општина)/Living (Municipality): _____
 Националност (етнос)/Nationality (ethnicity): _____ Религија/Religion: _____
 Зборува на/Spoken Language: _____

Институт за имуногенетика и хумана генетика (IHDMKB) Faculty of Medicine, St. Panteleimon Hospital (HDMKB)
 Македонски Булевар, 55, Делта ПР Бр. 6, П.О. Бр. 1109 Faculty of Medicine, St. Panteleimon Hospital, P.O. Box 6, P.O. Box 1109
 Скопје, Република Македонија Скопје, Република Македонија
 Tel: +389 2 3110556 / Fax: +389 2 3110558 Tel: +389 2 3110556 / Fax: +389 2 3110558
 e-mail: ihdmkb@skopje.mk e-mail: ihdmkb@skopje.mk
 www.ihdmkb.org.mk www.ihdmkb.org.mk

Слика 1: Потпишана согласност за генетско испитување

Контролната група ја оформија 300 здрави индивидуи на возраст од 20-40 години со македонска националност, православна религија и од различни региони на Република Македонија, кај кои пародонтолошкиот преглед не покажа губиток на атачмент > од 2мм. Кај сите нив, после потпишаната согласност, беше земена венска крв за ДНК анализа. Сите тие го оформија примерокот за антрополошката анализа кај македонската популација која се спроведува на Институтот за имунобиологија и хумана генетика, каде што се врши анализа на 13 цитокински гени (22 SNPs алели) кои се идентифицирани како кандидатски гени за компоненти на цитокинскиот генски полиморфизам, на 13 тиот Интернационален Конгрес и работилница за хистокомпатибилност. Резултатите од оваа антрополошка студија може да се користат како база за асоцијативни студии со инфламаторните заболувања кај македонската популација (144).

4.2. Метод на работа

4.2.1. Клинички сегменти

Кај сите пациенти кои ја оформија испитуваната група беше поставена дијагноза хронична (адултна) пародонтопатија и тоа врз база на клинички утврдени параметри и рентгенолошката верификација во согласност со критериумите на Американската Академија за пародонтологија (ААР, 1999) (148), односно присуство на хроничен гингивит, крварење на сондирање, присуство на пародонтален џеб поголем или еднаков на 3 мм, хоризонтален или вертикален губиток на алвеоларна коска;

Според степенот на губиток на атачмент сите пациенти беа групирани во три групи користејќи го индексот по Ramfjord (114) и тоа:

Прва група од 40 пациенти кај кои беше нотирани клинички губиток на атачмент до 3 мм (CAL) \leq 3 мм - ран стадиум на пародонтална болест (slight periodontitis) (ПАРО 1);

Втора група од 49 пациенти кај кои беше нотирани клинички губиток на атачмент (CAL) 3-6 мм - умерен стадиум на пародонтопатија (moderate periodontitis) (ПАРО 2);

Трета група од 43 пациенти кај кои беше нотирани клинички губиток на атачмент поголем од 6 мм (CAL) \geq 6 мм - силно изразена пародонтопатија (severe periodontitis) (ПАРО 3).

Кај сите пациенти степенот на губиток на атачмент беше одредуван со градуирана стоматолошка сонда, со тоа што мерењата беа вршени во пределот на интерденталната папила, почнувајќи од емајлово-цементна граница.

Степенот на гингивална инфламација беше утврден по индексот на Loe-Silness (80):

0 - нормална гингива (бледо розева боја, со цврста и ситно зрнеста конзистенција);

1 - блага инфламација (маргиналната гингива е поцрвена, со благ едем и некрвари на блага провокација);

2 - умерена инфламација (гингива со црвена боја, со изразит едем на слободната гингива, постои крварење на благ притисок со сонда);

3 - јака инфламација (гингива со јасно црвена боја, многу едематозна, со тенденција за спонтани крварења).

Сите пациенти беа на возраст од дваесет до педесет години и имаа најмалку дваесет заби во устата.

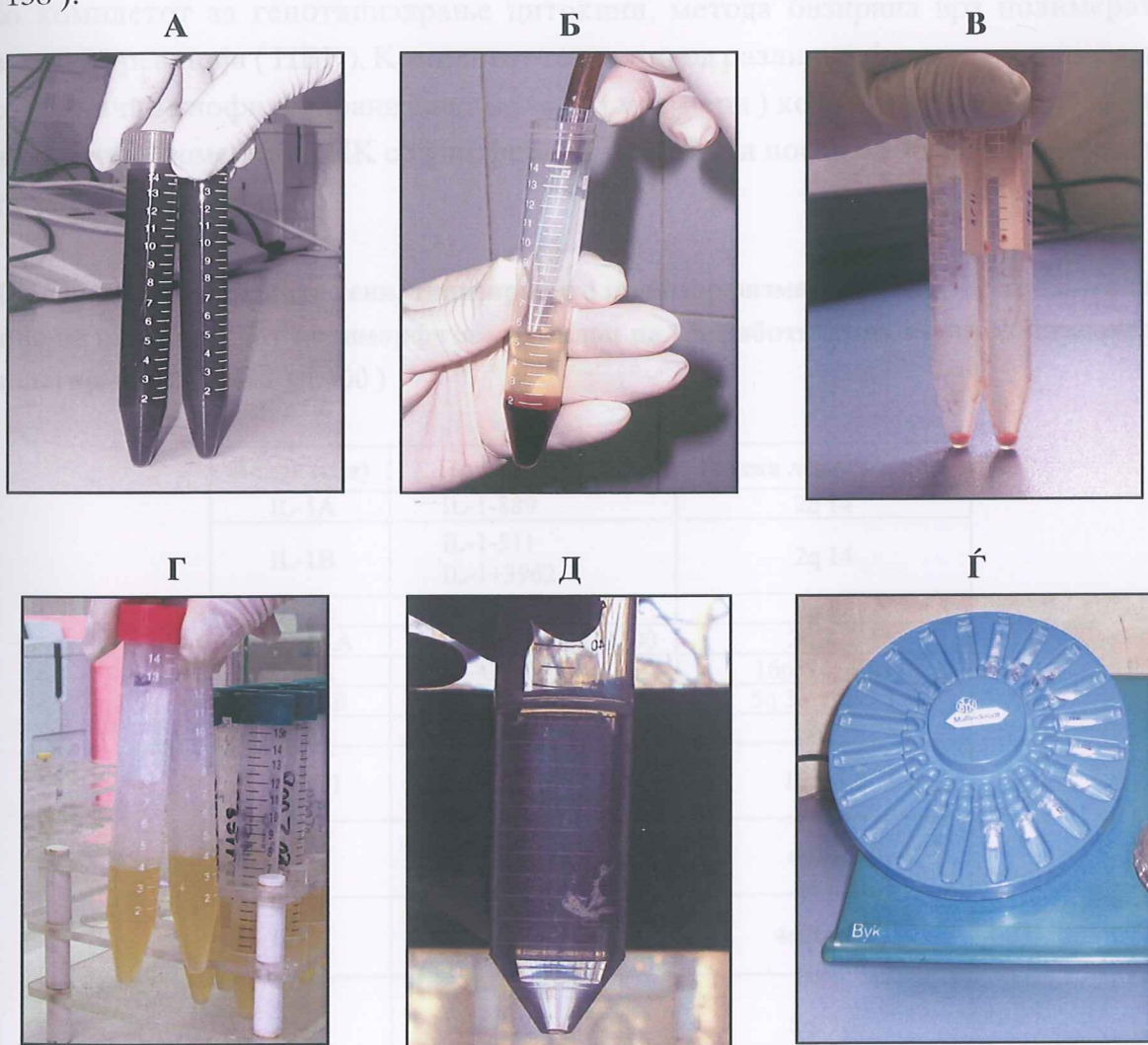
Кај испитаниците кои ја оформија контролната група пародонтолошкиот преглед не покажа губиток на атачмент $>$ од 2мм.

4.2.2. Параклинички испитувања

Спроведени се со цел да се детерминираат промените во генскиот код, со земање на венска крв од сите учесници вклучени во студијата -испитуваната и контролната група.

4.2.2.1. Изолмирање и складирање геномска ДНК

Од секој испитаник беа земани 10 ml крв во ЕДТА (КЗ) после потпишаната дозвола за генетско испитување. Геномската ДНК е изолирана со фенол-хлороформ методот од периферните леукоцити по строго определен протокол за работа (138):



Слика 2: **А:** ѓлакнење на клејкиите со реѓикулоциѓен расѓвор; **Б:** аѓирирање на суѓернаѓаниѓиѓ после ѓлакнење со реѓикулоциѓен расѓвор; **В:** ѓалоѓ од леукоциѓи; **Г:** раздвојување во 2 фази:долна фенолна и ѓорна водена (содржи ДНК); **Д:** исѓаложена (ѓрециѓиѓирана ДНК); **Ѓ:** расѓворање на ДНК со нежно мешање на ѓолуверѓикален мешач.

- ◆ Издвојување на леукоцити од периферна крв по лизирање на еритроцитите
- ◆ Дигестија на леукоцитите со протеиназа К
- ◆ Фенол-хлороформна екстракција на ДНК
- ◆ Преципитација на ДНК со апсолутен етил-алкохол
- ◆ Мерење на преципитираната ДНК
- ◆ Растворање на ДНК
- ◆ Одредување на интактноста на ДНК

Добиените примероци се складираани во македонската банка за хумана ДНК.

4.2.2.2. Одредување на цитокински генски полиморфизам

За одредување на полиморфизмот на 13 цитокински гени се користиме со комплетот за генотипизирање цитокини, метода базирана врз полимеразно верижна реакција (ПВР). Комплетот се состои од различни формулации на смеси со различни лиофилизирани започнувачи (прајмери) кои се употребуваат за да се намножи геномската ДНК со употреба на пластичен носач од 96 ведренца наменета за два примероци.

Табела 1. Анализирани гени, типизираните полиморфизми и хромозомската локализација на цитокинскиот полиморфизам во склоп на 13. Работилница за цитокинска антропологија (Seattle, 2002), (100)

Локус (ген)	Полиморфизми	Генска локализација
IL-1A	IL-1-889	2q 14
IL-1B	IL-1-511 IL-1+3962	2q 14
IL-1R	IL-1Rpst11970	2q 12
IL-1RA	IL-1Ramspa 111100	2q14.2
IL-4R	IL-4R+1902	16p11.2-12.1
IL-12B	IL-12B-1188	5q 31.1-q33.1
IFN	IFN+874	12q14
TGF-1	TGF-1 cdn10 TGF -1cdn 25	19q13.2
TNF	TNF-308 TNF-238	6p21.3
IL-2	IL-2-330 IL-2+160	4q26-q27
IL-4	IL-4-1098 IL-4-590 IL-4-33	5q31.1
IL-6	IL-6-174 IL-6 nt 565	7q21
IL-10	IL-10-1082 IL-10-819 IL-10-590	1q31-q32

Полиморфизмот на 13 цитокински гени [(интерлеукин ИЛ-1 алфа (IL - 1 α); ИЛ-1 бета (IL - 1 β); ИЛ - 1 рецептор (IL - 1R); ИЛ - 1R антагонист (IL - 1RA); (гама-интерферон (IFN γ); ИЛ-12Б (IL - 12B); ИЛ-2 (IL - 2); ИЛ-4 (IL - 4); ИЛ-4 рецептор алфа (IL - 4R α); ИЛ-6 (IL - 6); ИЛ-10 (IL - 10); ТРФ бета 1 (TGF- β 1) и ТНФ алфа (TNF- α)], беше изведуван со комерцијален комплет PCR-SSP (Heidelberg kit) на Институтот за имунобиологија и хумана генетика на Медицинскиот факултет во Скопје (138).

Потребно за работа. За генотипизирање на цитокинскиот полиморфизам неопходни се:

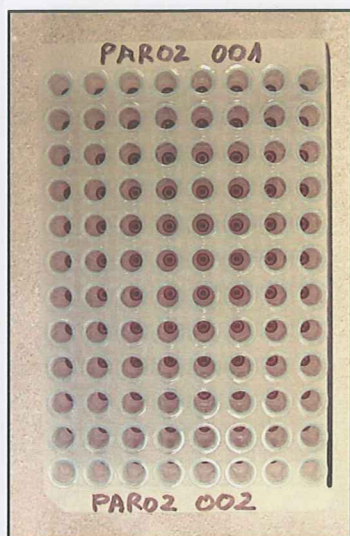
- ◆ Пластичен носач од 96 ведренца исполнет со лиофилизирани започнувачи
- ◆ 140 мкЛ пуфер за ПВР
- ◆ Затвораи за пластичниот носач
- ◆ Шеми за толкување
- ◆ SCORE софтвер
- ◆ Так ДНК полимераза
- ◆ Стерилна вода
- ◆ Микропипетори и пластични продолжетоци
- ◆ Топлотен циклер (сајклер) способен да носи 96 ведренца
- ◆ TBE пуфер за електрофореза
- ◆ Агароза
- ◆ Етидиум бромид
- ◆ Апарат за електрофореза
- ◆ Примерок од ДНК

Услови за типично циклирање. Топлотното циклирање е врши според следната шема:

1. Стапка	2 мин на 94°Ц
2. Стапка 10 циклуси од	94°Ц 10 секунди
	65°Ц 60 секунди
3. Стапка 20 циклуси од	94°Ц 10 секунди
	61°Ц 50 секунди
	72°Ц 30 секунди
Чување	4°Ц дефинирано време

Процедурата за работа. Методата се изведува со мешање на пуферот со примероците од човечката ДНК и Так ДНК полимеразата распоредување во 96 ведренца, затворање и топлотно циклирање. Откога ќе заврши циклирањето, продуктите од ПВР се поставуваат во 2% агарозен гел за електрофореза. По завршената електрофореза, гелот во кој има етидиум бромид се осветлува со ултравиолетово светло и се фотографира. Резултатите од фотографијата се интерпретираат со компјутерски програм или со специјални шеми приготвени за оваа намена.

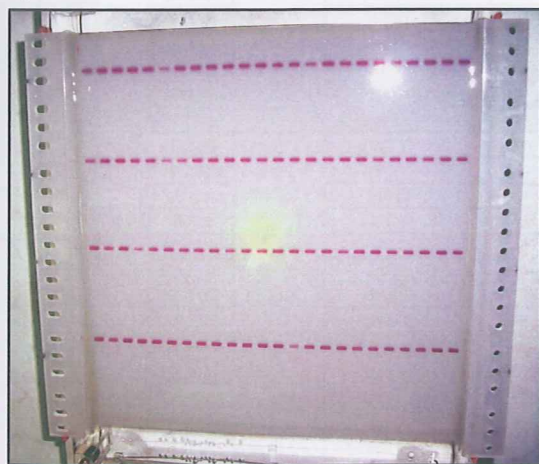
а)



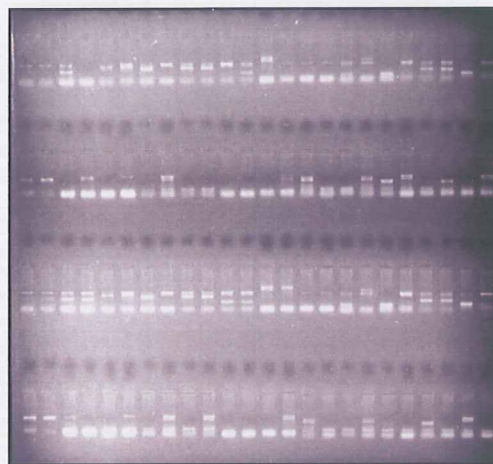
б)



в)



г)



Слика 3 : а) поставување метод за цитокински полиморфизам; б) полимеразно верижна реакција на цитокински полиморфизам; в) електрофореза од два пациенти со цитокински полиморфизам; г) фотографија од електрофореза на цитокински полиморфизам од два испитаници.

Толкување на резултатите. Резултатите од испитаникот се анализираат од фотографијата така што се внесуваат внатрешните контроли и специфичните амплификати во компјутерскиот програм SCORE и со него се анализираат резултатите, се складираат и се печатат. Анализата на цитокинскиот полиморфизам се врши со истиот компјутерски програм и се добиваат цитокински алели и хаплотипови. Анализата на цитокинскиот генски полиморфизам може да се направи и врз основа на специјализирани формулари во кои се внесуваат позитивните ампликони за секој одделен цитокин.

Буварче	Цитокин	Специфичен алел	Бр. на линија	Специфичен амплификат (bp)	Внатрешна контрола (bp)	Примерок број:		Дата:
						Позитивна линија	Резултат	
1A,7A	IL 1α	-889 T	1	220 bp	440 bp			IL 1α хаплотип
1B,7B		-889 C	2	220 bp	440 bp			
1C,7C		-511 C	3	215 bp	440 bp			
1D,7D	IL 1β	-511 T	4	215 bp	440 bp			-511 +3962 IL 1β хаплотип
1E,7E		+3962 T	5	336 bp	440 bp			
1F,7F		+3962 C	6	336 bp	440 bp			
1G,7G	IL 1R	psil 1970 C	7	288 bp	440 bp			IL 1R хаплотип
1H,7H		psil 1970 T	8	288 bp	440 bp			
2A,8A	IL 1RA	mspal 11100 T	9	297 bp	440 bp			IL 1RA хаплотип
2B,8B		mspal 11100 C	10	297 bp	440 bp			
2C,8C	IL 4Rα	+1902 G	11	143 bp	440 bp			IL 4Rα хаплотип
2D,8D		+1902 A	12	143 bp	440 bp			
2E,8E	IL 12	-1188 C	13	802 bp	440 bp			IL 12 хаплотип
2F,8F		-1188 A	14	802 bp	440 bp			
2G,8G	γ IFN	UTR 5644 A	15	277 bp	440 bp			γ IFN хаплотип
2H,8H		UTR 5644 T	16	277 bp	440 bp			
3A,9A	TGFB1	cdn 10 C; cdn 25 G	17	80 bp	440 bp			10 25 TGFB1 хаплотип
3B,9B		cdn 10 C; cdn 25 C	18	80 bp	440 bp			
3C,9C		cdn 10 T; cdn 25 G	19	80 bp	440 bp			
3D,9D		cdn 10 T; cdn 25 C	20	80 bp	440 bp			
3E,9E		cdn 10 C	21	195 bp	440 bp			
3F,9F		cdn 10 T	22	195 bp	440 bp			
3G,9G	TNFα	-308 G; -238 G	23	110 bp	440 bp			-308 -238 TNFα хаплотип
3H,9H		-308 A; -238 G	24	110 bp	440 bp			
4A,10A		-308 G; -238 A	25	110 bp	440 bp			
4B,10B		-308 A; -238 A	26	110 bp	440 bp			
4C,10C	IL 2	-330 T; +166 G	27	562 bp	89 bp			-330 +166 IL 2 хаплотип
4D,10D		-330 G; +166 G	28	564 bp	89 bp			
4E,10E		-330 G; +166 T	29	569 bp	89 bp			
4F,10F		-330 T; +166 T	30	569 bp	89 bp			
4G,10G	IL 4	-1098 T; -590 T	31	557 bp	89 bp			-1098 -590 -33 IL 4 хаплотип
4H,10H		-1098 T; -590 C	32	557 bp	89 bp			
5A,11A		-1098 G; -590 T	33	557 bp	89 bp			
5B,11B		-1098 G; -590 C	34	557 bp	89 bp			
5C,11C		-590 T; -33 T	35	610 bp	89 bp			
5D,11D		-590 T; -33 C	36	610 bp	89 bp			
5E,11E		-590 C; -33 T	37	610 bp	89 bp			
5F,11F		-590 C; -33 C	38	610 bp	89 bp			
5G,11G	IL 6	-174 G; nt565 G	39	427 bp	89 bp			-174 nt565 IL 6 хаплотип
5H,11H		-174 C; nt565 G	40	426 bp	89 bp			
6A,12A		-174 G; nt565 A	41	428 bp	89 bp			
6B,12B		-174 C; nt565 A	42	428 bp	89 bp			
6C,12C	IL 10	-1082 G; -819 C	43	305 bp	89 bp			-1082 -819 -592 IL 10 хаплотип
6D,12D		-1082 G; -592 C	44	530 bp	89 bp			
6E,12E		-1082 A; -819 C	45	305 bp	89 bp			
6F,12F		-1082 A; s-819 T	46	305 bp	89 bp			
6G,12G		-1082 A; -592 C	47	530 bp	89 bp			
6H,12H		-1082 A; -592 A	48	530 bp	89 bp			

Слика 4: Фотографија од електрофореза на цитокински полиморфизам (лево) и формулар за анализа на цитокинскиот полиморфизам (десно).

Значењето на цитокинскиот полиморфизам може да се разгледува како влијание врз цитокинските функции (прикажување, концентрација, активност на цитокините), како и здруженост и / или отпорност кон различни болести.

4.3. Статистичка анализа

◆ За анализа на фреквенциите и хаплотиповите на цитокинските гени користен е компјутерскиот пакет Arlequin software version 2.000 (Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland) (128), како и

◆ (PyPop) системот за популациона генетска анализа кој се користи за анализа на молекуларниот полиморфизам на испитуваните локуси, за фреквенција на алелите и хаплотиповите.

◆ Hardy-Weinberg еквилибриумот и Ewan – Watterson (153) статистичките методи се користени со цел да се испита присуството на селективните сили, кои имаат влијание врз дистрибуцијата на алелите (131).

◆ Спроведена е и дескриптивна статистичка анализа (средна и стандардна девијација) со помош на χ^2 тестот каде $p < 0,05$ се смета за статистички сигнификантно.

Статистичката обработка е извршена со статистички програм Epi info 6.

◆ Кај сериите со атрибутивни белези одредувани се проценти на структура (%);

◆ Значајноста на разликата во цитокиниот генски полиморфизам помеѓу пациентите со пародонтопатија и гингивална инфламација со испитаниците од контролната група тестирана е во зависност од дистрибуцијата со χ^2 - тест (p) и со Fisher exact тест (p);

◆ Шансата, односно ризикот од развивање на пародонтопатија и на гингивална инфламација во зависност од цитокиниот генски полиморфизам (асоцијација, протективна улога), одредуван е со примена на Odds ratio (OR).

Резултатите се табеларно и графички прикажани.

5.1 Резултати од цитокинскиот генски полиморфизам кај пародонтопатијата како клинички ентитет

На табела број 2. прикажани се резултати во врска со фреквенциите на цитокинските полиморфни алели кај пациентите со пародонтопатија и испитаниците од контролната група. На слика 5. прикажани се цитокинските полиморфни алели кај кои е регистрирана протективна, односно асоцијативна улога во настанувањето на пародонтопатијата.

Сигнификантни разлики во дистрибуцијата на алелите помеѓу пациентите со пародонтопатија и контролната група најдовме кај TGF- β 1 cdn10, TGF- β 1 cdn25, IL-4 -1098 и IL-4-33 цитокинските гени. Кај TGF- β 1 cdn10 за ($p < 0.05$) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на алелите. Носителите на T алелот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија од носителите на C алелот OR=0.67 (95% CI 0.49-0.93). Кај TGF- β 1 cdn25 за ($p < 0.001$) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на алелите. Носителите на G алелот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија од носителите на C алелот OR=0.23 (95% CI 0.14-0.38). C алелот и кај двата испитувани полиморфизми за TGF- β 1 (cdn10 и cdn25) има асоцијативна улога со развојот на пародонтопатијата.

Кај IL-4-1098 цитокинскиот полиморфизам за ($p < 0.001$) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на алелите. Носителите на G алелот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија од носителите на T алелот OR=0.23 (95% CI 0.14-0.39). Кај IL-4-33 цитокинскиот полиморфизам постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на C и T алелите. Носителството на C алелот има протективна улога во однос на развивањето на пародонтопатијата ($p < 0.001$) OR=0.42 (95% CI 0.14-0.39). Пореткиот T алел кај IL-4-1098 и IL-4-33 има асоцијативна улога со развојот на пародонтопатијата.

Во останатите анализи на цитокинскиот генски полиморфизам (алели) не е утврдена нивна протективна улога, односно асоцијација со развивањето на пародонтопатијата.

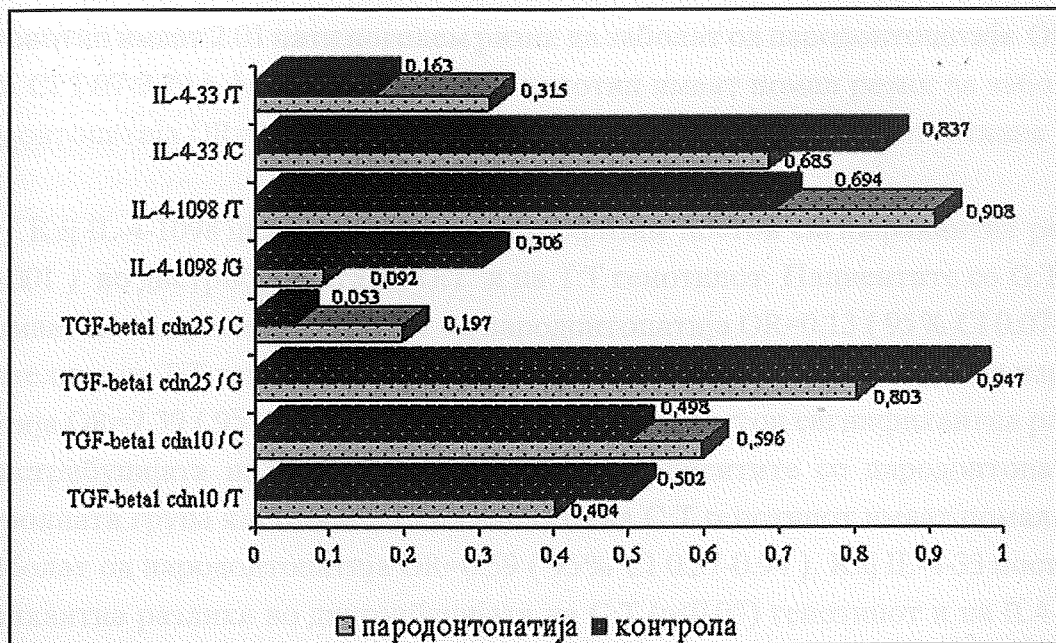
Табела број 2. Фреквенции на цитокинските полиморфни адели кај заболените од пародонтопатија наспроти контролната група кај македонската популација

Цитокински полиморфизам	Адели	ПАРО		Контрола		OR	95% CI	χ^2 /p наод	Fisher / p
		број	Фрек.	број	Фрек.				
IL-1 α -889	C	176	0.793	482	0.814	0.87	0.59-1.28	0.49	/
	T	46	0.207	110	0.186				
IL-1 β -511	C	144	0.632	404	0.671	0.84	0.61-1.15	0.28	/
	T	84	0.368	198	0.329				
IL-1 β +3962	C	165	0.737	439	0.729	1.03	0.73-1.46	0.83	/
	T	59	0.263	163	0.271				
IL-1R pst11970	C	154	0.681	399	0.663	1.08	0.78-1.51	0.61	/
	T	72	0.319	203	0.337				
IL-1RA mspa111100	T	168	0.737	420	0.698	1.21	0.86-1.70	0.26	/
	C	60	0.263	182	0.302				
IL-4R α +1902	A	192	0.835	502	0.834	1.00	0.66-1.51	0.98	/
	G	38	0.165	100	0.166				
IL-12B -1188	A	152	0.776	433	0.744	1.18	0.81-1.74	0.38	/
	C	44	0.224	149	0.256				
IFN γ UTR5644	T	86	0.478	259	0.52	0.84	0.60-1.19	0.33	/
	A	94	0.522	239	0.48				
TGF- β 1 cdn10	T	84	0.404	282	0.502	0.67	0.49-0.93	0.015*	/
	C	124	0.596	280	0.498				
TGF- β 1 cdn25	G	167	0.803	532	0.947	0.23	0.14-0.38	0.0000***	/
	C	41	0.197	30	0.053				
TNF- α -308	A	27	0.117	74	0.123	0.95	0.59-1.52	0.83	/
	G	203	0.883	528	0.877				
TNF- α -238	A	5	0.022	27	0.045	0.47	0.18-1.24	0.12	/
	G	225	0.978	575	0.955				
IL-2 -330	G	77	0.35	191	0.332	1.08	0.78-1.49	0.65	/
	T	143	0.65	383	0.667				
IL-2 +166	G	156	0.709	422	0.735	0.89	0.62-1.24	0.46	/
	T	64	0.291	152	0.265				
IL-4 -1098	G	17	0.092	177	0.306	0.23	0.14-0.39	0.0000***	/
	T	167	0.908	401	0.694				
IL-4 -590	C	130	0.707	382	0.662	1.23	0.86-1.76	0.26	/
	T	54	0.293	195	0.34				
IL-4 -33	C	126	0.685	479	0.837	0.42	0.29-0.62	0.0000***	/
	T	58	0.315	93	0.163				
IL-6 -174	C	74	0.325	182	0.302	1.11	0.79-1.54	0.53	/
	G	154	0.675	420	0.698				
IL-6 nt565	A	73	0.32	173	0.287	1.17	0.84-1.62	0.36	/
	G	155	0.68	429	0.713				
IL-10 -1082	A	130	0.586	352	0.589	0.99	0.73-1.36	0.98	/
	G	92	0.414	246	0.411				
IL-10 -819	C	171	0.77	435	0.727	1.26	0.88-1.80	0.21	/
	T	51	0.23	163	0.273				
IL-10 -590	A	53	0.239	173	0.289	0.77	0.54-1.09	0.15	/
	C	169	0.761	425	0.711				

p<0.05*

p<0.01**

p<0.001***



Слика 5. Фреквенции на цитокинските полиморфни аели кои имаат протективна /асоцијативна улога кај пациентите со пародонтопатија наспроти контролната група кај македонската популација

На табела број 3 прикажани се резултати во врска со генотипската дистрибуција на цитокинскиот генски полиморфизам кај пациентите со пародонтопатија и испитаниците од контролната група. На слика 6 прикажана е процентуалната дистрибуција на генотипскиот полиморфизам каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на пародонтопатијата.

Кај IL-1 β -511 цитокинскиот полиморфизам постои сигнификантна разлика ($p < 0.001$) во дистрибуцијата на С:Т генотипот. Носителите на С:Т генотип имаат 2.11 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=2.11 (95% CI 1.35-3.32). За ($p < 0.05$) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на А:С генотипот кај IL-12B -1188 полиморфизмот. Носителите на А:С генотип имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.51 (95% CI 0.30 - 0.86). Кај TGF- β 1cdn10 полиморфизмот постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на С:С ($p < 0.001$) и на С:Т ($p < 0.001$). Носителите на С:С генотип имаат 2.25 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=2.25 (95% CI 1.39-3.64). Носителите на С:Т генотип имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.55 (95% CI 0.34-0.86).

Кај TGF- β 1cdn25 цитокинските постои сигнификантна разлика ($p < 0.001$) во дистрибуцијата на С:G на G:G генотипот. Носителите на С:G генотип имаат 4.62 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=4.62 (95% CI 2.66-8.02). Носителите на G:G генотип имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.19 (95% CI 0.12-0.34). Кај IL-2-330 цитокинскиот полиморфизам постои сигнификантна разлика ($p < 0.05$) во дистрибуцијата на G:G на G:Т генотипот. Носителите на

G:G генотип имаат 2.01 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=2.01 (95% CI 1.07-3.79). Носителите на G:T генотип имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.60 (95% CI 0.38-0.95), односно G:T има протективна улога.

Кај IL-4-1098 цитокинскиот полиморфизам постои сигнификантна разлика ($p < 0.001$) во дистрибуцијата на G:T и на T:T генотипот. Пациентите со G:T генотип имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.13 (95% CI 0.07-0.23). Носителите на T:T генотип имаат 7.39 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=7.39 (95% CI 4.11-13.33). За ($p < 0.05$) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на C:T генотипот помеѓу пациентите со пародонтопатија и контролната група кај IL-4 -590. Носителите на C:T генотипот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.59 (95% CI 0.37-0.94). Кај IL-4-33 постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на C:T ($p < 0.05$) генотипот и на IL4-33/T:T ($p < 0.001$) генотипот . Носителите на C:T генотипот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.45 (95% CI 0.22-0.92). Наспроти овој наод носителите на IL4-33/T:T генотипот имаат 5.96 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=5.96 (95% CI 2.99-11.83).

За ($p < 0.01$) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на A:G генотипот помеѓу пациентите со пародонтопатија и контролната група кај IL-10-1082 цитокинскиот полиморфизам. Носителите на A:G генотипот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.52 (95% CI 0.33-0.81), односно, A:G генотипот има протективна улога во однос на развивањето на пародонтопатијата.

Кај IL-10-1082 цитокиниот полиморфизам постои сигнификантна разлика ($p < 0.01$) во дистрибуцијата на G:G генотипот. Носителите на G:G генотипот имаат 2.59 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=2.59 (95% CI 1.25-5.39).

Во анализите на генотипскиот цитокин полиморфизам кај останатите цитокински гени не е утврдена нивна протективна улога, односно асоцијација со развивањето на пародонтопатијата.

Табела бр.3 Дистрибуција на генотипскиот цитокински полиморфизам кај заболените од пародонтопатија наспроти контролната група кај македонската популација

Цитокински полиморфизам	генотип	ПАРО		Контрола		OR	95% CI	χ^2 /р наод	Fisher /р
		број	Фрек.	број	Фрек.				
IL-1 α -889	C:C	70	63.1	204	68,9	0.77	0.49-1.22	0.26	/
	C:T	36	32.4	74	25	1.44	0.89-2.32	0.13	/
	T:T	5	4.5	18	6.08	0.73	0.26-2.01	0.54	/
IL-1 β -511	C:C	42	36.8	143	47.5	0.64	0.41-1.00	0.051	/
	C:T	60	52.6	118	39.2	2.11	1.35-3.32	0.001*	/
	T:T	12	10.5	40	13.3	0.77	0.39-1.52	0.45	/
IL-1 β +3962	C:C	64	57.1	174	57.8	0.97	0.63-1.51	0.90	/
	C:T	37	33.0	91	30.2	1.14	0.72-1.81	0.58	/
	T:T	11	9.8	36	12	0.80	0.39-1.64	0.54	/
IL-1R pst11970	C:C	54	47.8	133	44.2	1.16	0.75-1.78	0.51	/
	C:T	46	40.7	133	44.2	0.87	0.56-1.35	0.52	/
	T:T	13	11.5	35	11.6	0.99	0.50-1.94	0.97	/
IL-1RA mspa111100	C:C	6	5.3	30	10	0.50	0.20-1.24	0.13	/
	C:T	48	42.1	122	40.5	1.07	0.69-1.65	0.77	/
	T:T	60	52.6	149	49.5	1.13	0.74-1.75	0.57	/
IL-4R α +1902	A:A	81	70.4	212	70.4	1.00	0.62-1.60	0.99	/
	A:G	30	26.1	78	25.9	1.01	0.62-1.65	0.97	/
	G:G	4	3.5	11	3.65	0.95	0.29-3.05	0.93	/
IL-12B -1188	A:A	64	65.3	160	55	1.54	0.96-2.48	0.07	/
	A:C	24	24.5	113	38.8	0.51	0.30-0.86	0.01*	/
	C:C	10	10.2	18	6.2	1.72	0.77-3.87	0.18	/
IFN γ UTR5644	A:A	29	32.2	64	25.7	1.37	0.81-2.32	0.23	/
	A:T	36	40.0	111	44.6	0.83	0.51-1.35	0.45	/
	T:T	25	27.8	74	29.7	0.91	0.53-1.55	0.73	/
TGF- β 1 cdn10	C:C	42	40.4	65	23.1	2.25	1.39-3.64	0.001**	/
	C:T	40	38.5	150	53.3	0.55	0.34-0.86	0.001*	/
	T:T	22	21.2	66	23.5	0.87	0.50-1.51	0.63	/
TGF- β 1 cdn25	C:G	37	35.6	30	10.7	4.62	2.66-8.02	0.0000***	/
	G:G	65	62.5	251	89.3	0.19	0.12-0.34	0.0000***	/
	C:C	2	1.9	0	0	/	/	/	0.07
TNF- α -308	A:G	23	20.0	66	21.9	0.89	0.52-1.52	0.67	/
	G:G	90	78.3	231	76.7	1.09	0.65-1.83	0.74	/
	A:A	2	1.7	4	1.32	1.31	0.24-7.27	0.53	/
TNF- α -238	A:G	5	4.3	23	7.6	0.55	0.20-1.48	/	0.16
	G:G	110	95.7	276	76.7	1.99	0.74-5.34	/	0.12
	A:A	0	0.0	2	0.7	/	/	/	0.52
IL-2 -330	G:G	19	17.3	27	9.4	2.01	1.07-3.79	0.03*	/
	G:T	39	35.5	137	47.7	0.60	0.38-0.95	0.03*	/
	T:T	52	47.3	123	42.9	1.19	0.77-1.86	0.43	/
IL-2 +166	G:G	60	54.5	162	56.4	0.93	0.59-1.44	0.73	/
	G:T	36	32.7	98	34.1	0.94	0.59-1.49	0.79	/
	T:T	14	12.7	27	9.4	1.40	0.71-2.79	0.33	/

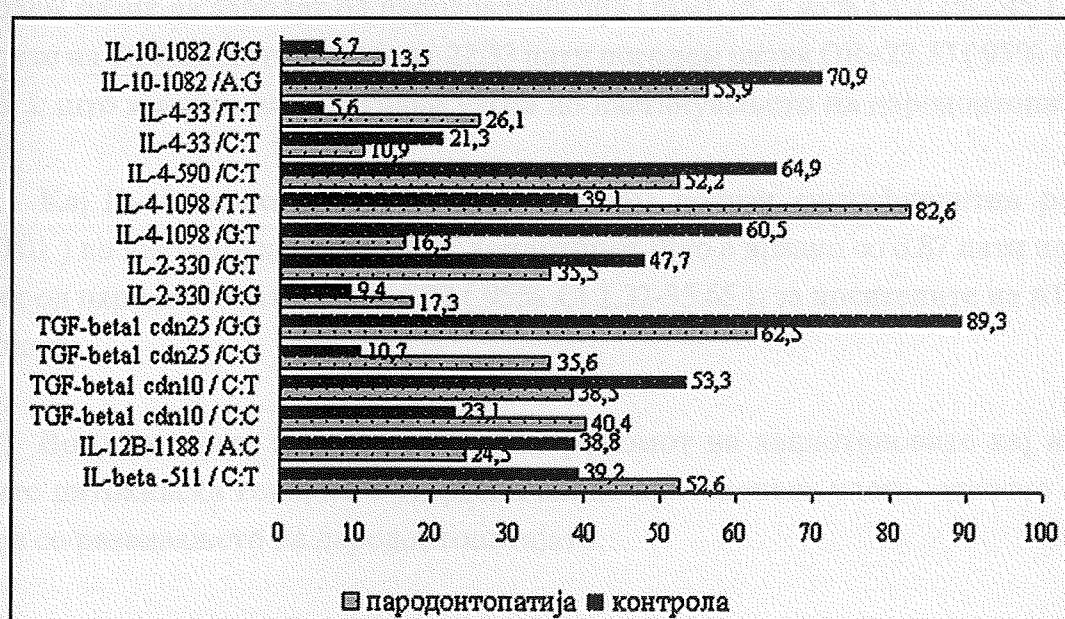
продолжува

Цитокински полиморфизам	генотип	ПАРО		Контрола		OR	95% CI	χ^2 /p наод	Fisher / p
		број	Фрек.	број	Фрек.				
IL-4 -1098	G:T	15	16.3	175	60.5	0.13	0.07-0.23	0.0000***	/
	T:T	76	82.6	113	39.1	7.39	4.11-13.33	0.0000***	/
	G:G	1	1.1	1	0.4	3.16	0.19-51.11	/	0.43
IL-4 -590	C:C	41	44.6	97	33.7	1.58	0.98-2.55	0.06	/
	C:T	48	52.2	187	64.9	0.59	0.37-0.94	0.03*	/
	T:T	3	3.3	4	1.4	2.39	0.53-10.89	/	0.23
IL-4 -33	C:C	58	63.0	209	72.6	0.63	0.38-1.03	0.07	/
	C:T	10	10.9	61	21.3	0.45	0.22-0.92	0.03*	/
	T:T	24	26.1	16	5.6	5.96	2.99-11.83	0.0000***	/
IL-6 -174	C:C	15	13.2	25	8.3	1.67	0.85-3.30	0.13	/
	C:G	44	38.6	132	43.8	0.80	0.52-1.25	0.33	/
	G:G	55	48.2	144	47.8	1.02	0.66-1.56	0.94	/
IL-6 nt565	A:A	15	13.2	25	8.3	1.67	0.85-3.30	0.13	/
	A:G	43	37.7	123	40.9	0.88	0.56-1.37	0.56	/
	G:G	56	49.1	153	50.8	0.93	0.61-1.44	0.76	/
IL-10 -1082	A:A	34	30.6	70	23.4	1.44	0.89-2.34	0.14	/
	A:G	62	55.9	212	70.9	0.52	0.33-0.81	0.004**	/
	G:G	15	13.5	17	5.7	2.59	1.25-5.39	0.01*	/
IL-10 -819	C:C	64	57.7	155	51.8	1.27	0.82-1.96	0.29	/
	C:T	43	38.7	125	41.8	0.88	0.56-1.37	0.57	/
	T:T	4	3.6	19	6.4	0.55	0.18-1.66	/	0.21
IL-10 -590	A:A	4	3.6	28	9.4	0.36	0.12-1.06	/	0.04*
	A:C	45	40.5	117	39.1	1.06	0.68-1.65	0.79	/
	C:C	62	55.9	154	51.5	1.19	0.77-1.85	0.43	/

p<0.05*

p<0.01**

p<0.001***



Слика 6. Процентуална застапеност на цитокинските полиморфни генотипови кои имаат асоцијативна или протективна улога со пародонталната болест

На табела број 4 прикажани се резултати во врска со цитокинскиот генски полиморфизам (хаплотипови) кај пациентите со пародонтопатија и испитаниците од контролната група. На слика 7 прикажани се хаплотиповите каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на пародонтопатијата.

Значајни разлики во дистрибуцијата на хаплотиповите добивме за TGF- β 1, TNF- α , IL-4 и IL-10 цитокинските генски полиморфизми. Кај TGF- β 1 цитокинскиот полиморфизам постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на CC ($p < 0.001$) и на TGF- β 1/TG хаплотипот ($p < 0.01$). Носителите на CC хаплотипот имаат 4.09 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=4.09 (95% CI 2.47-6.79). Наспроти овој наод носителите на TGF- β 1 /TG имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.65 (95% CI 0.47-0.89). Кај TNF- α постои сигнификантна разлика ($p < 0.05$) во дистрибуцијата на GA хаплотипот што е врзано со помал ризик од пародонтопатија OR=0.29 (95% CI 0.09-0.98), за носителите на овој хаплотип.

За IL-4/GCC и IL-4/TTC хаплотипот постои сигнификантна разлика ($p < 0.001$) и ($p < 0.01$) во дистрибуцијата, помеѓу двете испитувани групи. Носителите на GCC хаплотипот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.24 (95% CI 0.14-0.41). Носителите на IL-4/TTC хаплотипот исто така имаа значајна протективна улога OR=0.51 (95% CI 0.31-0.85) за развојот на пародонталната болест. Кај IL-4/TCC и IL-4/TCT цитокинските полиморфизми постои сигнификантна разлика ($p < 0.001$) во дистрибуцијата. Носителите на TCC хаплотипот имаат 1.75 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=1.75 (95% CI 1.25-2.45), а носителите на TCT хаплотипот имаат 22.33 пати поголем ризик OR=22.33 (95% CI 7.66-65.09), што им дава асоцијативна улога во настанувањето на пародонтопатијата.

Кај IL-10 хаплотипскиот полиморфизам постои сигнификантна разлика ($p < 0.01$) во дистрибуцијата на ATC хаплотипот што е врзано со 6.87 пати поголем ризик од пародонтопатија OR=6.87 (95% CI 1.32-35.65), за носителите на ATC хаплотипот.

Во останатите анализи на полиморфизмот на хаплотиповите кај испитуваните цитокински гени, не е утврдена нивна протективна улога, односно асоцијација со развивањето на пародонтопатијата.

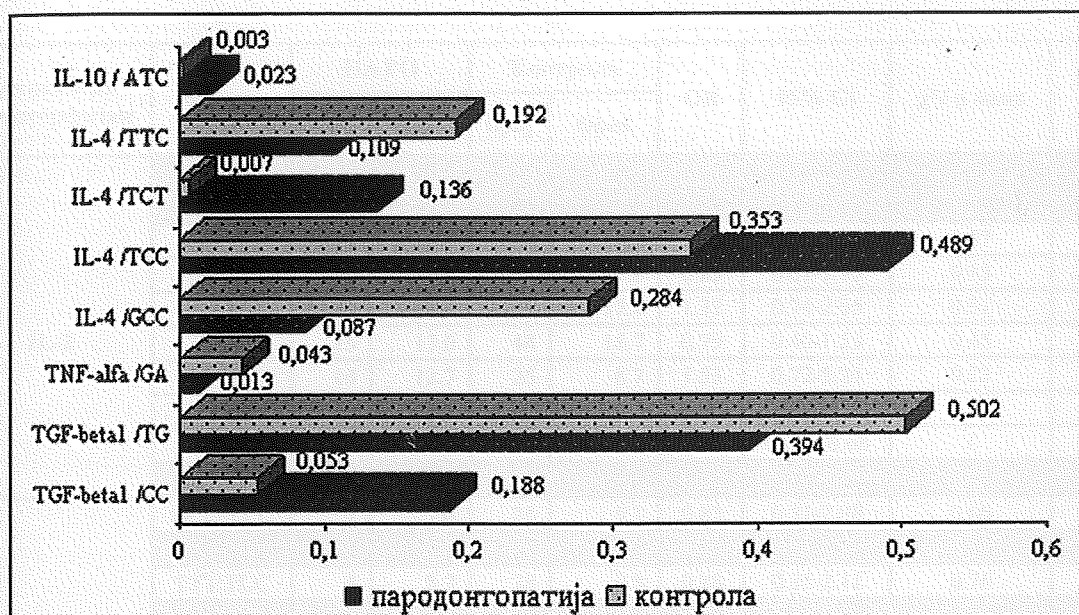
Табела бр. 4. Хаплотипска застапеност на цитокинските полиморфизми кај заболените од пародонтопатија наспроти контролната група кај Македонската популација

Цитокински полиморфизам	Хаплотип	ПАРО		Контрола		OR	95% CI	χ^2 /p наод	Fisher / p
		број	Фрек.	број	Фрек.				
TGF- β 1	CC	39	0.188	30	0.053	4.09	2.47-6.79	0.000***	/
	CG	85	0.409	250	0.444	0.86	0.62-1.19	0.37	/
	TG	82	0.394	282	0.502	0.65	0.47-0.89	0.01*	/
	TC	2	0.01	0	0	/	/	/	0.07
TNF- α	AA	1	0.004	0	0	/	/	/	0.28
	AG	26	0.113	74	0.123	0.91	0.57-1.46	0.69	/
	GA	3	0.013	26	0.043	0.29	0.09-0.98	0.03*	/
	GG	200	0.87	502	0.833	1.33	0.86-2.06	0.20	/
IL-2	GG	72	0.327	178	0.31	1.08	0.78-1.51	0.64	/
	GT	7	0.032	14	0.024	1.31	0.52-3.30	0.56	/
	TG	81	0.368	244	0.425	0.79	0.57-1.09	0.14	/
	TT	60	0.273	138	0.24	1.18	0.83-1.69	0.35	/
IL-4	GCC	16	0.087	163	0.284	0.24	0.14-0.41	0.000***	/
	GCT	0	0	8	0.014	/	/	/	0.11
	GTC	0	0	4	0.007	/	/	/	0.33
	GTT	1	0.005	1	0.001	3.12	0.19-50.13	/	0.49
	TCC	90	0.489	202	0.353	1.75	1.25-2.45	0.001**	/
	TCT	25	0.136	4	0.007	22.33	7.66-65.09	0.000***	/
	TTC	20	0.109	110	0.192	0.51	0.31-0.85	0.01*	/
	TTT	32	0.174	80	0.14	1.29	0.83-2.03	0.26	/
IL-6	CA	72	0.316	172	0.288	1.15	0.83-1.61	0.39	/
	CG	2	0.009	9	0.015	0.58	0.13-2.72	/	0.38
	GG	153	0.671	420	0.698	0.88	0.64-1.23	0.46	/
	GA	1	0.004	1	0.002	2.65	0.16-42.51	/	0.47
IL-10	ACA	7	0.032	12	0.02	1.59	0.62-4.09	0.33	/
	ACC	72	0.324	177	0.26	1.14	0.82-1.59	0.49	/
	ATA	46	0.207	161	0.269	0.71	0.49-1.03	0.07	/
	ATC	5	0.023	2	0.003	6.87	1.32-35.65	/	0.02*
	GCA	1	0.005	0	0	/	/	/	0.27
	GCC	91	0.41	246	0.411	0.99	0.73-1.36	0.97	/

p<0.05*

p<0.01**

p<0.001***



Слика 7. Дистрибуција на фреквенциите хаплотипскиот полиморфизам каде е регистрирана протективна, односно асоцијативна улога во настанувањето на пародонтопатијата

На табела број 5 прикажани се добиените вредности за застапеноста на хаплотипните зиготи на цитокинските полиморфизми кај пациентите со пародонтопатија и испитаниците од контролната група. На слика 8 прикажана е процентуалната застапеност на цитокинскиот генски полиморфизам (хаплотипни зиготи), каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на пародонтопатијата.

Табела бр.5 Застапеност на хаплотипните зиготи (генотипови) на цитокинските полиморфизми кај заболените од пародонтопатија наспроти контролната група кај македонската популација

Цитокински полиморфизам	Генотип	ПАРО		Контрола		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher / p
		број	фрек	број	фрек				
TGF- β 1	CG:CG	11	10.6	49	17.4	0.56	0.26-1.17	0.09	/
	CG:TG	32	30.8	136	48.4	0.47	0.29-0.78	0.001**	/
	TG:TG	22	21.2	66	23.5	0.87	0.49-1.56	0.63	/
	TG:CC	6	5.8	14	5	1.17	0.39-3.37	0.76	/
	CC:CG	29	27.9	16	5.7	6.40	3.16-13.10	0.000***	/
	TC:CG	2	1.9	0	0	/	/	/	0.07
	CC:CC	2	1.9	0	0	/	/	/	/
TNF- α	AG:GG	22	19.1	66	21.9	0.84	0.47-1.49	0.53	/
	GA:GG	3	2.6	24	8	0.31	0.07-1.11	0.05	/
	GG:GG	87	75.7	206	68.4	1.43	0.85-2.41	0.15	/
	AG:AG	2	1.7	4	1.3	1.31	0.16-8.46	/	0.53
	GA:GA	0	0.0	1	0.3	0.00	0.00-45.63	/	0.72
	AA:GG	1	0.9	0	0	/	/	/	0.28

продолжува

Цитокински полиморфизам	Генотип	ПАРО		Контрола		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher / p
		број	фрек	број	фрек				
IL-2	GG:GG	19	17.3	27	9.4	2.01	1.02-3.96	0.03*	/
	GG:TG	17	15.5	85	29.6	0.43	0.23-0.80	0.004**	/
	GG:TT	17	15.5	38	13.2	1.20	0.61-2.32	0.57	/
	GT:TG	1	0.9	11	3.8	0.23	0.01-1.75	0.13	/
	TG:TG	24	21.8	50	17.4	1.32	0.74-2.36	0.31	/
	TG:TT	15	13.6	48	16.7	0.79	0.40-1.53	0.45	/
	TT:TT	14	12.7	25	8.7	1.53	0.72-3.21	0.23	/
	GT:GG	0	0.0	1	0.3	0.00	0.00-45.50	/	0.72
	GT:TT	0	0.0	2	0.7	0.00	0.00-10.68	/	0.52
GT:GT	3	2.7	0	0	/	/	/	0.02*	
IL-4	GCC:TCC	7	7.6	26	9.1	0.82	0.31-2.08	0.66	/
	TCC:TCC	32	34.8	68	23.8	1.71	1.00-2.93	0.04*	/
	TTT:TCC	8	8.7	28	9.8	0.88	0.35-2.11	0.76	/
	TTC:TCC	11	12.0	7	2.4	5.41	1.87-16.05	0.0002***	/
	GCC:TTT	0	0.0	32	11.2	0.00	0.00-0.43	0.001**	/
	TCT:TTT	20	21.7	4	1.4	19.58	6.07-70.05	0.000***	/
	GCC:GCC	0	0.0	1	0.3	0.00	0.00-54.30	/	0.75
	GCT:TTT	0	0.0	8	2.8	0.00	0.00-2.08	/	0.10
	GCC:TTC	8	8.7	103	36	0.17	0.07-0.38	0.000***	/
	TTT:TTT	2	2.2	4	1.4	1.57	0.20-10.13	/	0.45
	GTC:TCC	0	0.0	4	1.4	0.00	0.00-4.79	/	0.33
	GTT:TCC	0	0.0	1	0.4	0.00	0.00-54.30	/	0.76
	TCT:TCT	2	2.2	0	0	/	/	/	0.06
TTC:TCT	1	1.1	0	0	/	/	/	0.24	
GTT:GCC	1	1.1	0	0	/	/	/	0.24	
IL-6	CA:CA	15	13.2	25	8.3	1.67	0.80-3.45	0.14	/
	CA:GG	42	36.8	122	40.7	0.85	0.53-1.36	0.48	/
	GG:GG	55	48.2	144	48	1.01	0.64-1.59	0.96	/
	CG:GG	1	0.9	9	3	0.29	0.01-2.24	/	0.19
	GA:GG	1	0.9	1	0.33	/	/	/	0.28
IL-10	ACC:ACC	10	9.0	21	7	1.31	0.55-3.05	0.49	/
	ACC:ATA	17	15.3	21	7	2.39	1.15-4.97	0.01*	/
	ACC:GCC	34	30.6	114	38.1	0.72	0.44-1.17	0.16	/
	ATA:ATA	3	2.7	19	6.4	0.41	0.09-1.50	0.14	/
	ATA:GCC	20	18.0	93	31.1	0.49	0.27-0.86	0.01*	/
	GCC:GCC	15	13.5	17	5.7	2.59	1.18-5.71	0.01*	/
	GCC:ACA	5	4.5	3	1	4.65	0.95-25.02	0.02*	/
	ATC:GCC	2	1.8	2	0.7	2.72	0.27-27.39	/	0.29
	ACA:ATA	1	0.9	9	3	0.29	0.01-2.29	/	0.19
	ATC:ACC	1	0.9	0	0	/	/	/	0.27
	ATC:ATA	1	0.9	0	0	/	/	/	/
	GCA:ATA	1	0.9	0	0	/	/	/	/
ATC:ACA	1	0.9	0	0	/	/	/	/	

p<0.05*

p<0.01**

p<0.001***

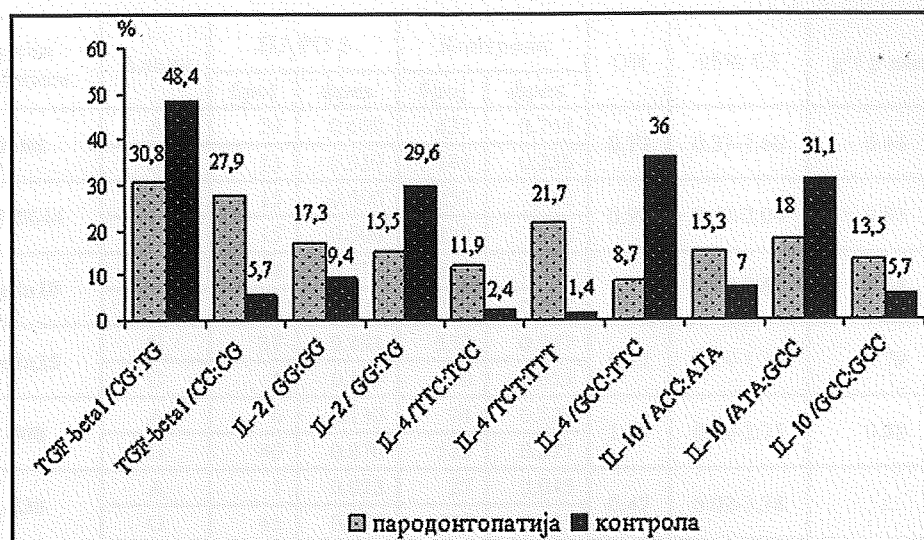
Постои сигнификантна разлика ($p < 0.001$) во дистрибуцијата на TGF- β 1CG: TG генотипот и на TGF- β 1/ CC:CG. Носителите на TGF- β 1/CG:CG имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.47 (95% CI 0.29-0.78).

Од друга страна носителите на TGF- β 1/ CC:CG имаат 6.40 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR = 6.40 (95% CI 3.16-13.10). Носителите на IL-2/GG : GG имаат 2.01 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија од ($p < 0.05$) OR=2.01 (95% CI 1.02-3.96), односно постои асоцијација помеѓу овој полиморфизам и настанувањето на пародонтопатијата, наспроти IL-2/GG:CG каде постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата за ($p < 0.01$) OR=0.43 (95% CI 0.23-0.80), односно, може да се каже дека носителството на GG:CG генотипот има протективна улога во однос на развивањето на пародонтопатијата.

Кај IL-4 цитокинскиот полиморфизам постои сигнификантна разлика ($p < 0.001$) во дистрибуцијата на TTC:TCC и TCT:TTT хаплотипскиот генотип. Носителите на TTC:TCC генотип имаат 5.41 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=5.41 (95% CI 1.87-16.05), додека IL-4/TCT/TTT носителите имаат 19 пати поголем ризик OR=19.58 (95% CI 6.07-70.05). За IL-4/GCC:TTC полиморфизмот постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата ($p < 0.001$) OR=0.17 (95% CI 0.07-0.38), во корист на здравите индивидуи, односно, може да се каже дека носителството на GCC:TCC генотип има протективна улога во однос на развивањето на пародонтопатијата.

Кај IL-10 цитокиниот полиморфизам постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на ACC:ATA ($p < 0.05$), ATA:GCC ($p < 0.01$) и GCC:GCC ($p < 0.01$) хаплотипските генотипови. Носителите на ACC:ATA генотипот имаат 2.39 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=2.39 (95% CI 1.15-4.97), додека носителите на IL-10 /GCC:GCC генотипот имаат 2.59 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=2.59 (95% CI 1.18-5.71), односно постои асоцијација помеѓу носителството ACC:ATA и на GCC:GCC генотиповите и настанувањето на пародонтопатијата, за разлика од носителите на ATA:GCC генотипот кои што имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.49 (95% CI 0.27-0.86).

Во останатите анализи на цитокинскиот генски полиморфизам (дистрибуција на хаплотипни зиготи) не е утврдена нивна протективна улога, односно асоцијација со развивањето на пародонтопатијата.



Слика 8. Процентуална застапеност на хаплотипните зиготи на цитокините полиморфизми кои имаат протективна улога или асоцијација со пародонтопатија

5.2. Резултати од испитувањето на цитокинскиот генски полиморфизам кај различните фенотипови кои се јавуваат во рамките на пародонтопатијата

На табела број 6 прикажани се алелските фреквенции на цитокинскиот генски полиморфизам кај пациентите со прв клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРО 1) и испитаниците од контролната група. На слика 9 прикажани се цитокинските полиморфни алели кај кои е регистрирана протективна/асоцијативна улога во настанувањето на пародонтопатијата.

Табела бр. 6 Фреквенции на цитокинските полиморфни алели кај заболените од прв клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРО 1) наспроти контролната група кај македонската популација

Цитокински полиморфизам	Алели	ПАРО 1		Контрола		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher / p
		број	фрек	број	фрек				
IL-1 α -889	C	36	0.783	482	0.814	0.82	0.33-1.83	0.59	/
	T	10	0.217	110	0.186				
IL-1 β -511	C	27	0.587	404	0.671	0.70	0.36-1.34	0.24	/
	T	19	0.413	198	0.329				
IL-1 β +3962	C	31	0.674	439	0.729	0.77	0.39-1.53	0.41	/
	T	15	0.326	163	0.271				
IL-1R pst11079	C	29	0.630	399	0.663	0.87	0.45-1.69	0.66	/
	T	17	0.370	203	0.337				
IL-1RA mspa 111100	T	32	0.696	420	0.698	0.99	0.50-2.00	0.98	/
	C	14	0.304	182	0.302				
IL-4R α +1902	A	39	0.848	502	0.834	1.11	0.46-2.80	0.81	/
	G	7	0.152	100	0.166				

продолжува

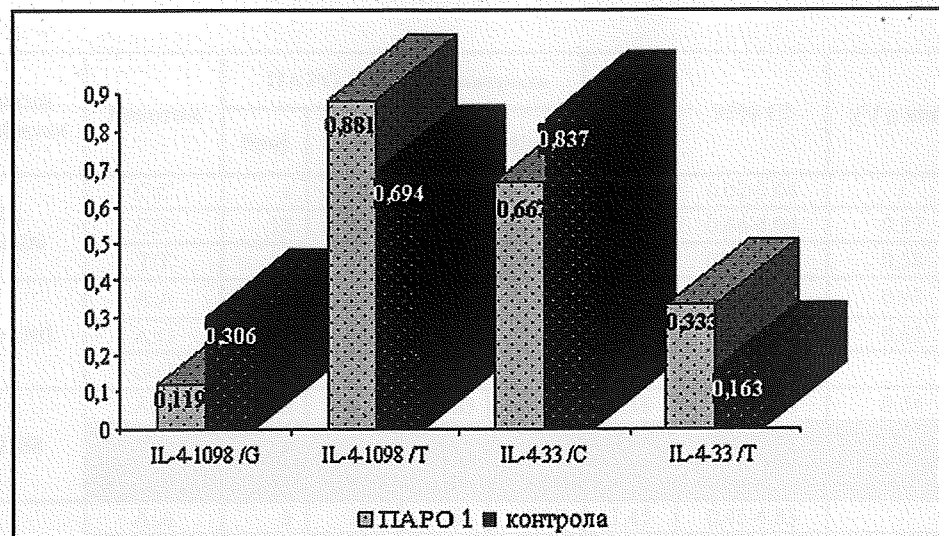
Цитокински полиморфизам	Алели	ПАРО 1		Контрола		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher / p
		број	фрек	број	фрек				
IL-12 -1188	A	29	0.690	433	0.744	0.77	0.37-1.60	0.44	/
	C	13	0.310	149	0.256				
IFN γ UTR5644	T	15	0.500	259	0.52	0.92	0.42-2.04	0.83	/
	A	15	0.500	239	0.48				
TGF- β 1 cdn10	T	24	0.571	282	0.502	1.32	0.67-2.61	0.38	/
	C	18	0.429	280	0.498				
TGF- β 1 cdn25	G	37	0.881	532	0.947	0.42	0.14-1.30	0.79	/
	C	5	0.119	30	0.053				
TNF- α -308	A	6	0.130	74	0.123	1.07	0.39-2.75	0.88	/
	G	40	0.870	528	0.877				
TNF- α -238	A	1	0.022	27	0.045	0.47	0.02-3.38	/	0.39
	G	45	0.978	575	0.955				
IL-2 -330	G	20	0.455	191	0.332	1.67	0.86-3.23	0.10	/
	T	24	0.545	383	0.667				
IL-2 +166	G	28	0.636	422	0.735	0.63	0.32-1.26	0.16	/
	T	16	0.364	152	0.265				
IL-4 -1098	G	5	0.119	177	0.306	0.31	0.10-0.83	0.01*	/
	T	37	0.881	401	0.694				
IL-4 -590	C	27	0.643	382	0.662	0.92	0.46-1.86	0.79	/
	T	15	0.357	195	0.34				
IL-4 -33	C	28	0.667	479	0.837	0.39	0.19-0.81	0.004**	/
	T	14	0.333	93	0.163				
IL-6 -174	C	18	0.391	182	0.302	1.48	0.77-2.86	0.21	/
	G	28	0.609	420	0.698				
IL-6 nt565	A	18	0.391	173	0.287	1.59	0.82-3.08	0.14	/
	G	28	0.609	429	0.713				
IL-10 -1082	A	26	0.591	352	0.589	1.01	0.52-1.97	0.98	/
	G	18	0.410	246	0.411				
IL-10 -819	C	35	0.795	435	0.727	1.46	0.66-3.34	0.33	/
	T	9	0.205	163	0.273				
IL-10 -592	A	10	0.227	173	0.289	0.72	0.33-1.56	0.38	/
	C	34	0.773	425	0.711				

p<0.05*

p<0.01**

p<0.001***

Статистички сигнификантна разлика во дистрибуцијата на алелите постои кај IL-4-1098 и IL-4-33 помеѓу пациентите со ПАРО 1 и испитаниците од контролната група. Кај IL-4 -1098 полиморфизмот носителите на G алелот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија од носителите на T алелот (p < 0.01) OR=0.31 (95% CI 0.10-0.83). Кај IL-4-33 цитокинскиот полиморфизам за (p < 0.01) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на C и T алелите. Носителите на C алелот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија од носителите на T алелот OR=0.39 (95% CI 0.19-0.81). Во останатите анализи на цитокинскиот генски полиморфизам (алели) не е утврдена нивна протективна улога, односно асоцијација со развивањето на пародонтопатијата.



Слика 9. Фреквенции на цитокинските полиморфни алели кои имаат протективна /асоцијативна улога кај пациентите со прв клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРО1) наспроти контролната група кај македонската популација.

На табела број 7 прикажана е генотипската дистрибуција на цитокинскиот генски полиморфизам кај пациентите со (ПАРО 1) и испитаниците од контролната група.

На слика 10. прикажани се процентите на генотипскиот цитокински полиморфизам, каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на пародонтопатијата.

Табела бр. 7 Застапеност на цитокинските генотипови кај заболените од прв клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРО 1) наспроти контролната група кај македонската популација

Цитокински полиморфизам	Генотип	ПАРО 1		Контрола		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher /p
		број	фрек	број	фрек				
IL-1 α -889	C:C	15	65.2	204	68.9	0.85	0.32-2.27	0.71	/
	C:T	6	26.1	74	25	1.06	0.36-2.99	0.91	/
	T:T	2	8.7	18	6.1	1.47	0.00-7.29	/	0.43
IL-1 β -511	C:C	6	26.1	143	47.5	0.39	0.13-1.09	0.04*	/
	C:T	15	65.2	118	39.2	2.91	1.12-7.76	0.01*	/
	T:T	2	8.7	40	13.3	0.62	0.10-2.90	/	0.40
IL-1 β +3962	C:C	12	52.2	174	57.8	0.80	0.32-2.01	0.59	/
	C:T	7	30.4	91	30.2	1.01	0.36-2.72	0.98	/
	T:T	4	17.4	36	12	1.55	0.42-5.21	/	0.45
IL-1R pstI1079	C:C	10	43.5	133	44.2	0.97	0.39-2.45	0.95	/
	C:T	9	39.1	133	44.2	0.81	0.31-2.07	0.64	/
	T:T	4	17.4	35	11.6	1.60	0.43-5.39	/	0.29

продолжува

Цитокински полиморфизам	Генотип	ПАРО 1		Контрола		OR	95% CI	χ^2 /p наод	Fisher /p
		број	фрек	број	фрек				
IL-1RA mspa111100	C:C	1	4.3	30	10	0.41	0.02-3.04	/	0.33
	C:T	12	52.2	122	40.5	1.60	0.64-4.04	0.27	/
	T:T	10	43.5	149	49.5	0.78	0.31-1.98	0.58	/
IL-4Ra +1902	A:A	16	69.6	212	70.4	0.96	0.36-2.67	0.93	/
	A:G	7	30.4	78	25.9	1.25	0.45-3.39	0.63	/
	G:G	0	0	11	3.65	0.00	0.00-6.41	/	0.44
IL-12 -1188	A:A	13	61.9	160	55	1.33	0.50-3.63	0.54	/
	A:C	3	14.3	113	38.8	0.26	0.06-0.97	0.02*	/
	C:C	5	23.8	18	6.2	4.74	1.34-15.98	0.002**	/
IFN γ UTR5644	A:A	5	33.3	64	25.7	1.45	0.41-4.83	/	0.35
	A:T	5	33.3	111	44.6	0.62	0.18-2.05	/	0.28
	T:T	5	33.3	74	29.7	1.18	0.34-3.93	/	0.48
TGF- β 1 cdn10	C:C	5	23.8	65	23.1	1.04	0.32-3.18	/	0.56
	C:T	8	38.1	150	53.3	0.54	0.20-1.44	0.18	/
	T:T	8	38.1	66	23.5	2.00	0.72-5.46	0.13	/
TGF- β 1 cdn25	C:G	5	23.8	30	10.7	2.61	0.77-8.36	/	0.08
	G:G	16	76.2	251	89.3	0.38	0.12-1.29	/	0.08
	C:C	0	0	0	0	/	/	/	/
TNF- α -308	A:G	4	17.4	66	21.9	0.75	0.21-2.45	/	0.42
	G:G	18	78.3	231	76.7	1.09	0.36-3.49	/	0.55
	A:A	1	4.3	4	1.32	3.38	0.36-31.50	/	0.31
TNF- α -238	A:G	1	4.3	23	7.6	0.55	0.03-4.14	/	0.48
	G:G	22	95.7	276	76.7	1.88	0.27-41.31	/	0.43
	A:A	0	0	2	0.7	0.00	0.00-56.16	/	0.86
IL-2 -330	G:G	6	27.3	27	9.4	3.61	1.15-10.49	0.009**	/
	G:T	8	36.4	137	47.7	0.63	0.29-1.65	0.30	/
	T:T	8	36.4	123	42.9	0.76	0.28-2.01	0.55	/
IL-2 +166	G:G	9	40.9	162	56.4	0.53	0.20-1.39	0.16	/
	G:T	10	45.5	98	34.1	1.61	1.62-4.16	0.28	/
	T:T	3	13.6	27	9.4	1.52	0.33-5.94	/	0.36
IL-4 -1098	G:T	3	14.3	175	60.5	0.11	0.02-0.40	/	0.000***
	T:T	17	81	113	39.1	6.62	2.03-23.92	/	0.000***
	G:G	1	4.8	1	0.4	14.40	0.00-551.70	/	0.13
IL-4 -590	C:C	7	33.3	97	33.7	0.98	0.35-2.71	0.97	/
	C:T	13	61.9	187	64.9	0.88	0.33-2.40	0.78	/
	T:T	1	4.8	4	1.4	3.55	0.38-33.27	0.24	/
IL-4 -33	C:C	12	57.1	209	72.6	0.49	0.18-1.32	0.12	/
	C:T	4	19.0	61	21.3	0.76	0.27-2.88	/	0.53
	T:T	5	23.8	16	5.6	5.27	1.47-18.07	/	0.001**
IL-6 -174	C:C	4	17.4	25	8.3	2.32	0.61-8.04	/	0.01*
	C:G	10	43.5	132	43.8	0.98	0.39-2.49	0.97	/
	G:G	9	39.1	144	47.8	0.70	0.27-1.79	0.42	/
IL-6 nt565	A:A	4	17.4	25	8.3	2.32	0.61-8.04	/	0.14
	A:G	10	43.5	123	40.9	1.11	0.44-2.81	0.81	/
	G:G	9	39.1	153	50.8	0.62	0.24-1.59	0.28	/

продолжува

Цитокински полиморфизам	Генотип	ПАРО 1		Контрола		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher /p
		број	фрек	број	фрек				
IL-10 -1082	A:A	7	31.8	70	23.4	1.53	0.54-4.19	0.37	/
	A:G	12	54.5	212	70.9	0.49	0.19-1.28	0.11	/
	G:G	3	13.6	17	5.7	2.92	0.56-10.72	/	0.15
IL-10 -819	C:C	14	63.6	155	51.8	1.63	0.62-4.38	0.28	/
	C:T	7	18.2	125	41.8	0.65	0.23-1.76	0.36	/
	T:T	1	4.5	19	6.35	0.70	0.09-5.50	/	0.59
IL-10 -592	A:A	1	4.5	28	9.4	0.46	0.02-3.44	/	0.39
	A:C	8	36.4	117	39.1	0.89	0.33-2.35	0.79	/
	C:C	13	59.1	154	51.5	1.36	0.52-3.57	0.49	/

p<0.05*

p<0.01**

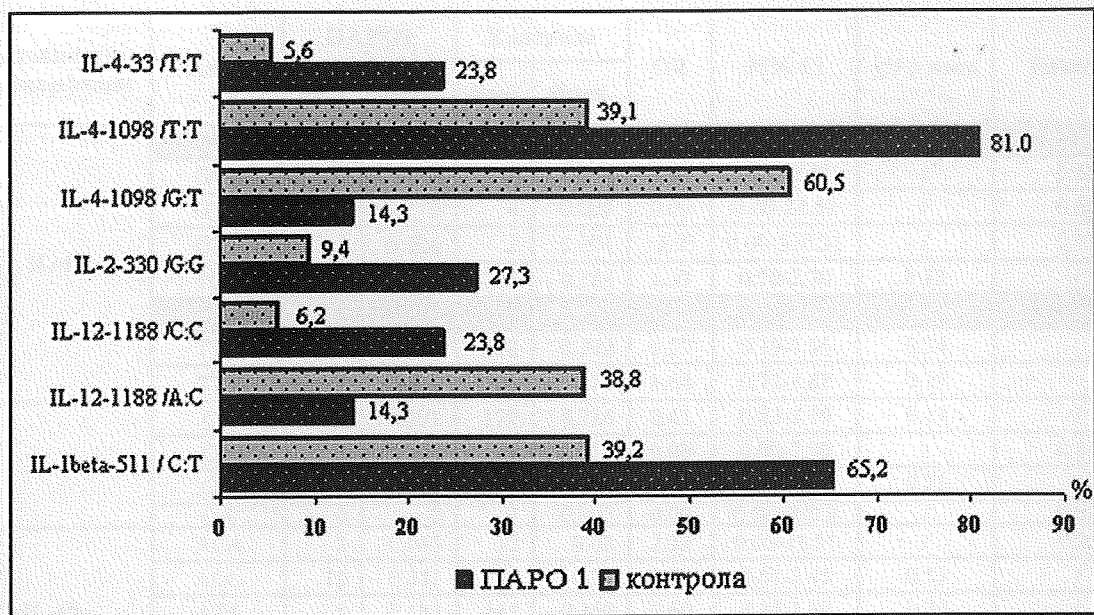
p<0.001***

Кај IL-1 β -511 полиморфизмот постои сигнификантна разлика (p < 0.05) во дистрибуцијата на C:T генотипот. Носителите на C:T генотип имаат 2.91 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=2.91 (95% CI 1.12-7.76).

За (p < 0.05) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на A:C генотипот кај IL-12B-1188 полиморфизмот. Носителите на A:C генотипот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.26 (95% CI 0.06-0.97). Кај IL-12B-1188 полиморфизмот постои сигнификантна разлика (p < 0.01) во дистрибуцијата на C:C генотипот. Носителите на C:C генотипот имаат 4.74 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=4.74 (95% CI 1.34-15.98). Кај IL-2-330 полиморфизмот постои сигнификантна разлика (p < 0.01) во дистрибуцијата на G:G генотипот. Носителите на G:G генотипот имаат 3.61 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=3.61 (95% CI 1.15-10.94).

Кај IL-4-1098 полиморфизмот постои сигнификантна разлика (p < 0.001) во дистрибуцијата на G:T и на T:T генотипот. Носителите на G:T генотипот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.11 (95% CI 0.02-0.40) наспроти тоа носителите на T:T генотипот имаат 6.62 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=6.62 (95% CI 2.03-23.92).

Кај IL-4-33 полиморфизмот постои сигнификантна разлика (p < 0.01) во дистрибуцијата на T:T генотипот. Носителите на T:T генотипот имаат 5.27 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=5.27 (95% CI 1.47-18.07). Во останатите анализи на цитокинскиот генотипски полиморфизам не е утврдена нивна протективна улога, односно асоцијација со развивањето на ПАРО 1.



Слика 10. Процентуална застапеност на генотипскиот цитокински полиморфизам каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на ПАРО 1.

На табела број 8 прикажани се резултатите од хаплотипската застапеност на цитокинските полиморфизми кај заболените од прв клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРО 1) наспроти контролната група кај македонската популација.

На слика 11. прикажани се фреквенциите на цитокинскиот генски полиморфизам (хаплотип), каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на пародонтопатијата.

Табела бр. 8 Хаплотипска застапеност на цитокинските полиморфизми кај заболените од прв клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРО 1) наспроти контролната група кај македонската популација

Цитокински полиморфизам	хаплотип	ПАРО1		Контрола		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher / p
		број	Фрек.	број	Фрек.				
TGFB-1	CC	5	0.119	30	0.053	2.40	0.77-6.99	/	0.09
	CG	13	0.31	250	0.444	0.56	0.27-1.15	0.09	/
	TG	24	0.571	282	0.502	1.32	0.67-2.61	0.38	/
TNF- α	AA	0	0	0	0	/	/	/	/
	AG	6	0.13	74	0.123	1.07	0.39-2.75	0.88	/
	GA	0	0	26	0.043	0.00	0.00-2.46	/	0.14
	GG	40	0.87	502	0.833	1.33	0.52-3.58	0.53	/
IL-2	GG	20	0.455	178	0.31	1.85	0.96-3.59	0.04*	/
	GT	0	0	14	0.024	0.00	0.00-4.82	/	0.35
	TG	8	0.182	244	0.425	0.30	0.13-0.69	0.001**	/
	TT	16	0.364	138	0.24	1.81	0.90-3.58	0.07	/

продолжува

Цитокински полиморфизам	хаплотип	ПАРО1		Контрола		OR	95% CI	χ^2 /p наод	Fisher / p
		број	Фрек.	број	Фрек.				
IL-4	GCC	4	0.095	163	0.285	0.26	0.08-0.79	0.04*	/
	GCT	0	0	8	0.014	0.00	0.00-9.42	/	0.56
	GTC	0	0	4	0.007	0.00	0.00-21.52	/	0.59
	GTT	1	0.024	1	0.001	13.93	0.00-520.21	/	0.13
	TCC	18	0.429	202	0.353	1.37	0.70-2.70	0.33	/
	TCT	5	0.119	4	0.007	19.19	4.24-89.69	/	0.000***
	TTC	5	0.119	110	0.192	0.57	0.19-1.56	0.24	
	TTT	9	0.214	80	0.14	1.64	0.72-3.82	0.19	
IL-6	CA	18	0.391	172	0.286	0.61	0.83-3.10	0.13	/
	CG	0	0	9	0.015	0.00	0.00-7.90	/	0.51
	GG	28	0.609	420	0.698	0.67	0.35-1.31	0.21	/
	GA	0	0	1	0.002	0.00	0.00-230.9	/	0.93
IL-10	ACA	2	0.045	12	0.02	2.33	0.00-11.51	/	0.25
	ACC	15	0.341	177	0.26	1.23	0.61-2.45	0.53	/
	ATA	8	0.182	161	0.269	0.60	0.25-1.39	0.20	/
	ATC	1	0.023	2	0.003	6.93	0.62-77.97	/	0.19
	GCC	18	0.409	246	0.411	0.99	0.51-1.92	0.97	/

p<0.05*

p<0.01**

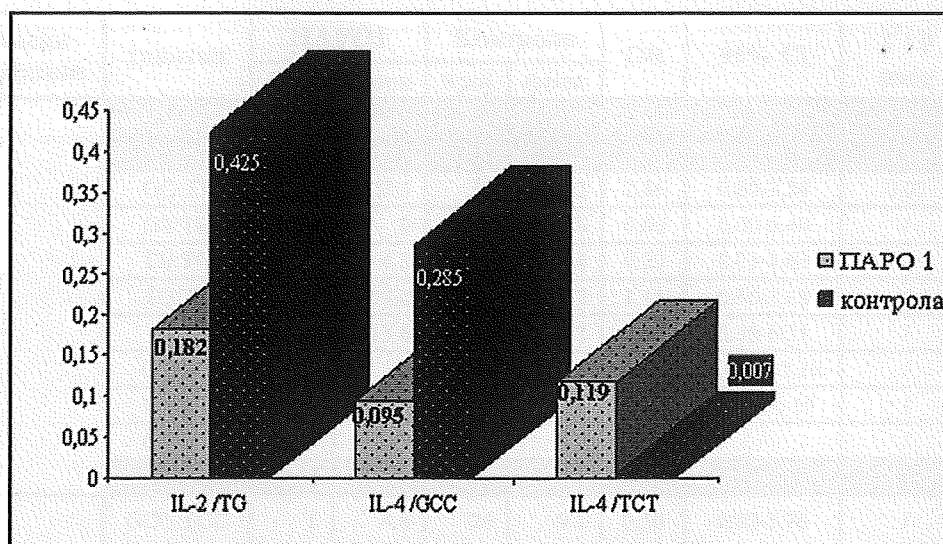
p<0.001***

Сигнификантни разлики за хаплотипската дистрибуција помеѓу пациентите со прв клинички стадиум на пародонтопатија и контролната група добивме кај IL-2 и IL-4. Кај IL-2 цитокинскиот полиморфизам постои сигнификантна разлика ($p < 0.01$) во дистрибуцијата на TG хаплотипот. Носителите на TG хаплотип имаат помал ризик да заболат пародонтопатија OR=0.30 (95% CI 0.13-0.69).

За ($p < 0.05$) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на GCC кај IL-4 хаплотиповите. Носителите на GCC хаплотипот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.26 (95% CI 0.08-0.79), односно има протективна улога.

Сигнификантна разлика ($p < 0.001$) постои и во дистрибуцијата на TCT хаплотипот за IL-4. Носителите на TCT хаплотип имаат 19.19 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=19.19 (95% CI 4.24-89.69), односно постои асоцијација помеѓу носителството на TCT хаплотип и настанувањето на пародонтопатијата.

Во останатите статистички анализи на хаплотипската дистрибуција на цитокинскиот генски полиморфизам не е утврдена нивна протективна улога, односно асоцијација со развивањето на пародонтопатијата.



Слика бр. 11 Дистрибуцијата на фреквенциите на цитокинскиот генски полиморфизам (хаплотип), каде е регистрирана протективна улога/ асоцијација во настанувањето на ПАРО1.

На табела број 9 прикажани се добиените вредности за застапеноста на хаплотипните зиготи на цитокинските полиморфизми кај пациентите со ПАРО1 и испитаниците од контролната група.

На слика 12. прикажана е процентуалната застапеност на цитокинскиот генски полиморфизам (хаплотипни зиготи), каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на ПАРО1.

Табела бр. 9 Застапеност на хаплотипните зиготи на цитокинските полиморфизми кај заболените од прв клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРО1) наспроти контролната група кај македонската популација

Цитокински полиморфизам	генотип	ПАРО1		Контрола		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher / p
		број	фрек	број	фрек				
TGF- β 1	CG:CG	1	4.8	49	17.4	0.24	0.01-1.73	/	0.11
	CG:TG	7	33.3	136	48.4	0.53	0.19-1.46	0.18	/
	TG:TG	8	38.1	66	23.5	2.00	0.72-5.46	0.13	/
	TG:CC	1	4.8	14	5	0.95	0.12-7.63	/	0.72
	CC:CG	4	19.0	16	5.7	3.90	0.98-14.40	/	0.04*
TNF- α	AG:GG	4	17.4	66	21.9	0.75	0.21-2.45	/	0.42
	GA:GG	0	0	24	8	0.00	0.00-2.65	/	0.16
	GG:GG	18	78.3	206	68.4	1.66	0.56-5.28	/	0.23
	AG:AG	1	4.3	4	1.3	3.38	0.36-31.50	/	0.31
	GA:GA	0	0	1	0	0.00	0.00-235.50	/	0.93
	AA:GG	0	0	0	0	/	/	/	/

продолжува

Цитокински полиморфизам	генотип	ПАРО1		Контрола		OR	95% CI	χ^2 /p наод	Fisher / p
		број	фрек	број	фрек				
IL-2	GG:GG	6	27.3	27	9.4	3.61	1.15-10.94	0.009**	/
	GG:TG	0	0	85	29.6	0.00	0.00-0.55	/	0.001**
	GG:TT	6	27.3	38	13.2	2.46	0.80-7.24	0.07	/
	GT:TG	0	0	11	3.8	0.00	0.00-6.40	/	0.44
	TG:TG	1	4.5	50	17.4	0.23	0.01-1.64	/	0.09
	TG:TT	4	18.2	48	16.7	1.11	0.30-3.68	/	0.52
	TT:TT	3	13.6	25	8.7	1.65	0.36-6.51	/	0.32
	GT:GG	0	0	1	0.3	0.00	0.00-235.25	/	0.93
	GT:TT	0	0	2	0.7	0.00	0.00-56.14	/	0.86
	GT:GT	0	0	0	0	/	/	/	/
TG:GG	2	9.1	0	0	/	/	/	0.005**	
IL-4	GCC:TCC	1	4.8	26	9.1	0.50	0.02-3.76	/	0.43
	TCC:TCC	6	28.6	68	23.8	1.28	0.43-3.71	0.62	/
	TTT:TCC	3	14.3	28	9.8	1.54	0.34-6.02	/	0.36
	TTC:TCC	2	9.5	7	2.4	4.20	0.56-24.58	/	0.12
	GCC:TTT	0	0	32	11.2	0.00	0.00-1.98	/	0.09
	TCT:TTT	4	19.0	4	1.4	16.59	3.13-88.88	/	0.000***
	GCC:GCC	0	0	1	0.3	0.00	0.00-246.09	/	0.93
	GCT:TTT	0	0	8	2.8	0.00	0.00-9.67	/	0.56
	GCC:TTC	2	9.5	103	36	1.19	0.03-0.86	0.01*	/
	TTT:TTT	1	4.8	4	1.4	3.53	0.38-33.04	/	0.30
	GTC:TCC	0	0	4	1.4	0.00	0.00-22.29	/	0.75
	GTT:TCC	0	0	1	0.4	0.00	0.00-246.09	/	0.93
	TCT:TCT	0	0	0	0	/	/	/	/
	TTC:TCT	1	4.8	0	0	/	/	/	0.07
GTT:GCC	1	4.8	0	0	/	/	/	/	
IL-6	CA:CA	4	17.4	25	8.3	2.32	0.61-8.01	/	0.14
	CA:GG	10	43.5	122	40.7	1.12	0.44-2.84	0.79	/
	GG:GG	9	39.1	144	48	0.70	0.27-1.78	0.41	/
	CG:GG	0	0	9	3	0.00	0.00-8.04	/	0.51
	GA:CG	0	0	0	0	/	/	/	/
IL-10	ACC:ACC	2	9.1	21	7	1.32	0.00-6.49	/	0.48
	ACC:ATA	3	13.6	21	7	2.09	0.45-8.35	/	0.22
	ACC:GCC	8	36.4	114	38.1	0.93	0.34-2.45	0.87	/
	ATA:ATA	1	4.5	19	6.4	0.70	0.09-5.50	/	0.59
	ATA:GCC	3	13.6	93	31.1	0.35	0.08-1.29	/	0.06
	GCC:GCC	3	13.6	17	5.7	2.62	0.56-10.72	/	0.15
	GCC:ACA	0	0	3	1	0.00	0.00-32.32	/	0.81
	ATC:GCC	0	0	2	0.7	0.00	0.00-58.49	/	0.87
	ACA:ATA	0	0	9	3	0.00	0.00-8.40	/	0.52
	GCA:ACA	0	0	0	0	/	/	/	/
	ATC:ACA	1	4.5	0	0	/	/	/	0.07
	ATC:ATA	0	0	0	0	/	/	/	/
ATC:ACC	0	0	0	0	/	/	/	/	
ACA:GCC	1		0	0	/	/	/	0.07	

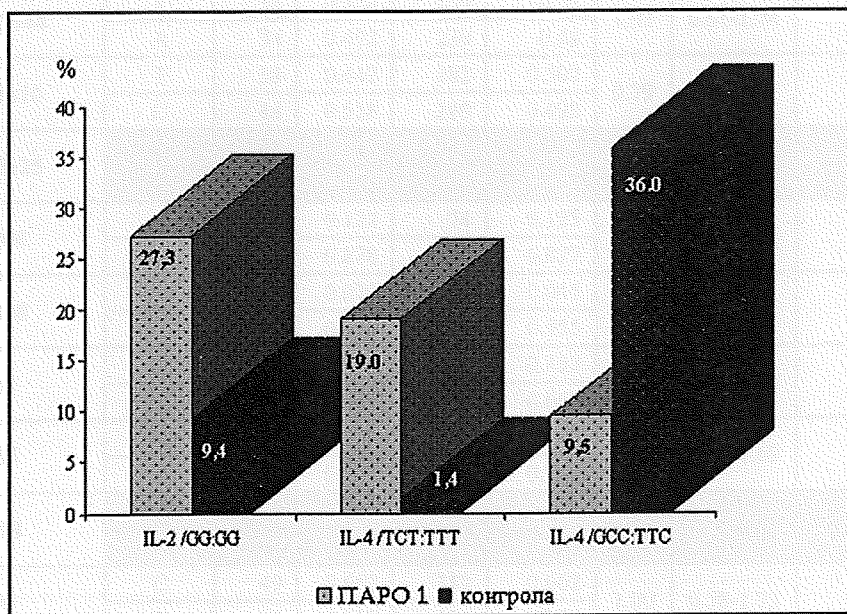
p<0.05*

p<0.01**

p<0.001***

Кај IL-2/GG:GG дистрибуцијата постои сигнификантна разлика ($p < 0.01$) помеѓу пациентите со ПАРО1 и испитаниците од контролната група. Носителите на GG:GG генотип имаат 3.61 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија $OR = 3.61$ (95% CI 1.15-10.94).

Кај IL-4/TCT:TTT постои сигнификантна разлика ($p < 0.001$) во дистрибуцијата. Носителите на TCT:TTT имаат 16.59 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија $OR = 16.59$ (95% CI 3.13-88.88). Од друга страна IL-4/GCC:TTC има значајно повисока дистрибуција кај контролната група што му дава протективна улога во однос на развивањето на пародонтопатијата ($p < 0.05$) $OR = 0.19$ (95% CI 0.03-0.86). Во останатите анализи на цитокинскиот генски полиморфизам на хаплотипските зиготи не е утврдена нивна протективна улога, односно асоцијација со развивањето на ПАРО1.



Слика 12. Процентуална застапеност на цитокинскиот генски полиморфизам (хаплотипни зиготи), каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на ПАРО1.

На табела број 10 прикажани се резултати во врска со алелскиот цитокински генски полиморфизам кај пациентите со втор клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРО2) и испитаниците од контролната група.

На слика бр. 13 прикажани се фреквенциите на цитокинските полиморфни алели кај кои е регистрирана протективна/асоцијативна улога во настанувањето на ПАРО2.

Табела број 10. Фреквенции на цитокинските полиморфни алели кај заболените од втор клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРО2) наспроти контролната група кај македонската популација

Цитокински полиморфизам	Алели	ПАРО 2		Контролна гр.		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher / p
		број	фрек	број	фрек				
IL-1 α -889	C	70	0.761	482	0.814	0.73	0.42-1.27	0.23	/
	T	22	0.239	110	0.186				
IL-1 β -511	C	54	0.563	404	0.671	0.63	0.40-1.00	0.04*	/
	T	42	0.438	198	0.329				
IL-1 β +3962	C	66	0.717	439	0.729	0.94	0.56-1.58	0.81	/
	T	26	0.283	163	0.271				
IL-1R pstl1079	C	65	0.677	399	0.663	1.07	0.66-1.73	0.78	/
	T	31	0.322	203	0.337				
IL-1RA mspa111100	T	76	0.792	420	0.698	1.65	0.95-2.88	0.06	/
	C	20	0.208	182	0.302				
IL-4R α +1902	A	79	0.806	502	0.834	0.83	0.47-1.48	0.49	/
	G	19	0.194	100	0.166				
IL-12B -1188	A	70	0.814	433	0.744	1.51	0.82-2.79	0.16	/
	C	16	0.186	149	0.256				
IFN γ UTR5644	T	38	0.528	259	0.52	1.03	0.61-1.74	0.90	/
	A	34	0.472	239	0.48				
TGF- β 1 cdn10	T	38	0.442	282	0.502	0.79	0.49-1.27	0.30	/
	C	48	0.558	280	0.498				
TGF- β 1 cdn25	G	73	0.849	532	0.947	0.32	0.15-0.67	0.001**	/
	C	13	0.151	30	0.053				
TNF- α -308	A	12	0.122	74	0.123	1.00	0.49-1.98	0.99	/
	G	86	0.878	528	0.877				
TNF- α -238	A	2	0.020	27	0.045	0.44	0.07-1.96	/	0.20
	G	96	0.980	575	0.955				
IL-2 -330	G	32	0.356	191	0.332	1.11	0.68-1.80	0.67	/
	T	58	0.644	383	0.667				
IL-2 +166	G	66	0.733	422	0.735	0.99	0.58-1.69	0.97	/
	T	24	0.267	152	0.265				
IL-4 -1098	G	8	0.108	177	0.306	0.28	0.12-0.61	0.0000***	/
	T	66	0.892	401	0.694				
IL-4 -590	C	49	0.662	382	0.662	1.00	0.58-1.73	0.99	/
	T	25	0.338	195	0.34				
IL-4 -33	C	56	0.757	479	0.837	0.60	0.33-1.12	0.08	/
	T	18	0.243	93	0.163				
IL-6 -174	C	27	0.281	182	0.302	0.90	0.54-1.49	0.67	/
	G	69	0.719	420	0.698				
IL-6 nt565	A	26	0.271	173	0.287	0.92	0.55-1.53	0.74	/
	G	70	0.729	429	0.713				
IL-10 -1082	A	53	0.576	352	0.589	0.95	0.60-1.52	0.82	/
	G	39	0.424	246	0.411				
IL-10 -819	C	70	0.761	435	0.727	1.19	0.70-2.06	0.50	/
	T	22	0.239	163	0.273				
IL-10 -592	A	22	0.239	173	0.289	0.77	0.45-1.32	0.32	/
	C	70	0.761	425	0.711				

p<0.05*

p<0.01**

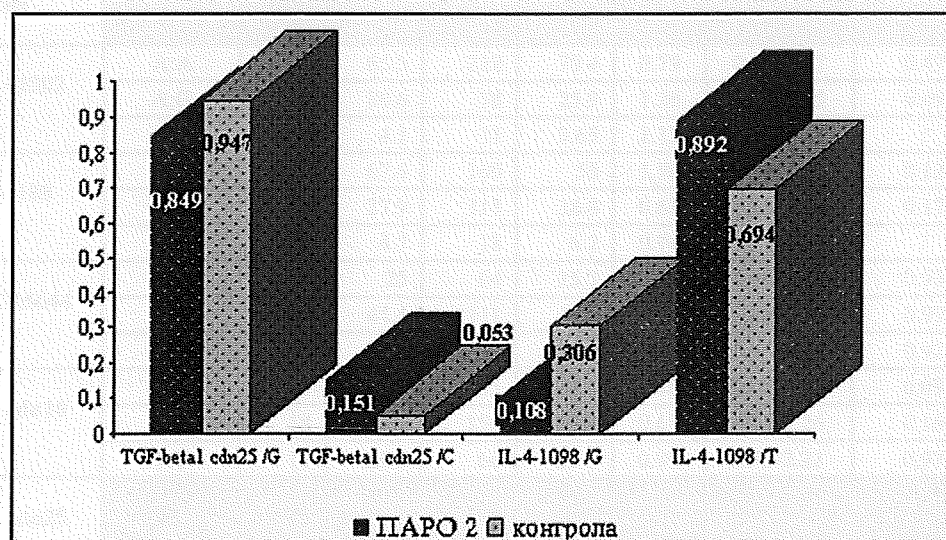
p<0.001***

Значајни разлики во дистрибуцијата на полиморфните алели помеѓу пациентите со ПАРО2 и контролната група најдовме за TGF- β 1cdn25, IL-4 -1098 и IL-1beta-511. Кај TGF- β 1cdn25 цитокините за ($p < 0.001$) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на G и C алелите.

Носителите на G алелот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија од носителите на C алелот OR=0.32 (95% CI 0.15-0.67). Кај IL-4-1098 полиморфизмот за ($p < 0.001$) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на алелите G и T.

Пациентите со G алелот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија од пациентите со T алелот OR=0.28 (95% CI 0.12-0.61). За IL-1beta-511 полиморфизмот постои значајна разлика во однос на дистрибуцијата на C и T алелите ($p < 0.05$), меѓутоа анализата на асоцијација не покажа значајност.

Во останатите анализи на алелскиот цитокински генски полиморфизам не е утврдена нивна протективна улога, односно асоцијација со развивањето на ПАРО2.



Слика 13. Фреквенции на цитокински полиморфни алели кај кои е регистрирана протективна/асоцијативна улога во настанувањето на ПАРО2.

На табела број 11 прикажани се резултати во врска со генотипскиот цитокински полиморфизам кај пациентите со втор клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРО2) и испитаниците од контролната група.

На слика 13. прикажани се процентите на генотипската дистрибуција каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на ПАРО2.

Табела бр.11 Застапеност на цитокинските генотипови кај заболените од втор клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРО2) наспроти контролната група кај македонската популација

Цитокински полиморфизам	генотип	ПАРО2		Контролна гр.		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher / p
		број	фрек	број	фрек				
IL-1 α -889	C:C	27	58.7	204	68.9	0.64	0.32-1.27	0.17	/
	C:T	16	34.8	74	25	1.60	0.78-3.22	0.16	/
	T:T	3	6.5	18	6.08	1.08	0.24-4.10	/	0.56
IL-1 β -511	C:C	14	29.2	143	47.5	0.45	0.22-0.92	0.02*	/
	C:T	26	54.2	118	39.2	1.83	0.95-3.54	0.05	/
	T:T	8	16.7	40	13.3	1.31	0.52-3.17	0.53	/
IL-1 β +3962	C:C	26	56.5	174	57.8	0.95	0.49-1.86	0.87	/
	C:T	14	30.4	91	30.2	1.01	0.49-2.07	0.98	/
	T:T	6	13.0	36	12	1.10	0.39-2.97	0.83	/
IL-1R pst11079	C:C	22	45.8	133	44.2	1.07	0.56-2.05	0.83	/
	C:T	21	43.8	133	44.2	0.98	0.51-1.89	0.95	/
	T:T	5	10.4	35	11.6	0.88	0.29-2.53	/	0.52
IL-1RA mspa 111100	C:C	4	8.3	30	10	0.82	0.23-2.61	/	0.48
	C:T	12	25	122	40.5	0.49	0.23-1.02	0.04*	/
	T:T	32	66.7	149	49.5	2.04	1.03-4.07	0.03*	/
IL-4R α +1902	A:A	32	65.3	212	70.4	0.79	0.40-1.57	0.47	/
	A:G	15	30.6	78	25.9	1.26	0.62-2.55	0.49	/
	G:G	2	4.1	11	3.65	1.12	0.24-5.22	/	0.57
IL-12 -1188	A:A	29	67.4	160	55	1.70	0.82-3.53	0.12	/
	A:C	12	27.9	113	38.8	0.61	0.28-1.30	0.17	/
	C:C	2	4.7	18	6.2	0.74	0.11-3.50	/	0.51
IFN γ UTR5644	A:A	9	25	64	25.7	0.96	0.40-2.29	0.93	/
	A:T	16	44.4	111	44.6	0.99	0.47-2.12	0.99	/
	T:T	11	30.6	74	29.7	1.04	0.45-2.35	0.92	/
TGF- β 1 cdn10	C:C	15	34.9	65	23.1	1.78	0.85-3.71	0.09	/
	C:T	18	41.9	150	53.3	0.63	0.31-1.26	0.16	/
	T:T	10	23.3	66	23.5	0.99	0.43-2.22	0.97	/
TGF- β 1 cdn25	C:G	13	30.2	30	10.7	3.63	1.60-8.18	0.000***	/
	G:G	30	69.8	251	89.3	0.28	0.12-0.63	0.000***	/
	C:C	0		0	0	/	/	/	/
TNF- α -308	A:G	10	20.4	66	21.9	0.91	0.40-2.02	0.81	/
	G:G	38	77.6	231	76.7	1.05	0.48-2.30	0.90	/
	A:A	1	2.0	4	1.32	1.55	0.17-14.14	/	0.53
TNF- α -238	A:G	2	4.1	23	7.6	0.51	0.08-2.36	/	0.29
	G:G	47	95.9	276	76.7	2.13	0.47-13.46	/	0.24
	A:A	0	0	2	0.7	0.00	0.00-25.53	/	0.74
IL-2 -330	G:G	8	17.8	27	9.4	2.08	0.80-5.26	0.09	/
	G:T	16	35.6	137	47.7	0.60	0.30-1.21	0.13	/
	T:T	21	46.7	123	42.9	1.17	0.59-2.29	0.63	/
IL-2 +166	G:G	26	57.8	162	56.4	1.06	0.54-2.09	0.87	/
	G:T	14	31.1	98	34.1	0.87	0.42-1.79	0.69	/
	T:T	5	11.1	27	9.4	1.20	0.38-3.54	/	0.44

продолжува

Цитокински полиморфизам	генотип	ПАРО 2		Контрола		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher / p
		број	фрек	број	фрек				
IL-4 -1098	G:T	8	21.6	175	60.5	0.18	0.07-0.43	0.000***	/
	T:T	29	78.4	113	39.1	5.65	2.36-13.94	0.000***	/
	G:G	0	0	1	0.4	0.00	0.00-138.46	/	0.89
IL-4 -590	C:C	14	37.8	97	33.7	1.20	0.56-2.56	0.62	/
	C:T	21	56.8	187	64.9	0.71	0.34-1.50	0.33	/
	T:T	2	5.4	4	1.4	4.06	0.50-27.13	/	0.14
IL-4 -33	C:C	26	70.3	209	72.6	0.87	0.39-1.98	0.72	/
	C:T	4	10.8	61	21.3	0.45	0.17-1.39	/	0.09
	T:T	7	18.9	16	5.6	3.94	1.34-11.25	0.003**	/
IL-6 -174	C:C	6	12.5	25	8.3	1.58	0.54-4.36	0.34	/
	C:G	15	31.3	132	43.8	0.58	0.29-1.16	0.10	/
	G:G	27	56.2	144	47.8	1.40	0.73-2.71	0.28	/
IL-6 nt565	A:A	6	12.5	25	8.3	1.58	0.54-4.36	0.34	/
	A:G	14	29.2	123	40.9	0.60	0.29-1.21	0.12	/
	G:G	28	58.3	153	50.8	1.35	0.70-2.62	0.33	/
IL-10 -1082	A:A	13	28.3	70	23.4	1.29	0.61-2.71	0.47	/
	A:G	27	58.7	212	70.9	0.58	0.29-1.16	0.09	/
	G:G	6	13.0	17	5.7	2.49	0.82-7.23	0.06	/
IL-10 -819	C:C	25	54.3	155	51.8	1.11	0.57-2.16	0.75	/
	C:T	20	43.5	125	41.8	1.07	0.55-2.09	0.83	/
	T:T	1	2.2	19	6.35	0.33	0.02-2.41	/	0.22
IL-10 -590	A:A	1	2.2	28	9.4	0.22	0.01-1.54	/	0.08
	A:C	20	43.5	117	39.1	1.20	0.61-2.34	0.57	/
	C:C	25	54.3	154	51.5	1.12	0.58-2.19	0.72	/

p<0.05*

p<0.01**

p<0.001***

Кај IL-1 β -511 полиморфизмот постои сигнификантна разлика (p<0.05) во дистрибуцијата на C:C генотипот. Носителите на C:C генотипот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.45 (95% CI 0.22-0.92).

Кај IL-1RAmspa111100 полиморфизмот постои сигнификантна разлика (p<0.05) во дистрибуцијата на T:T генотипот. Носителите на T:T генотипот имаат 2.04 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR = 2.04 (95% CI 1.03-4.07).

Кај TGF- β 1cdn25 полиморфизмот постои сигнификантна разлика (p<0.001) во дистрибуцијата на C:G и G:G генотипот. Носителите на C:G генотипот имаат 3.63 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=3.63 (95% CI 1.60-8.18). Носителите на G:G генотипот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.28 (95% CI 0.12-0.63).

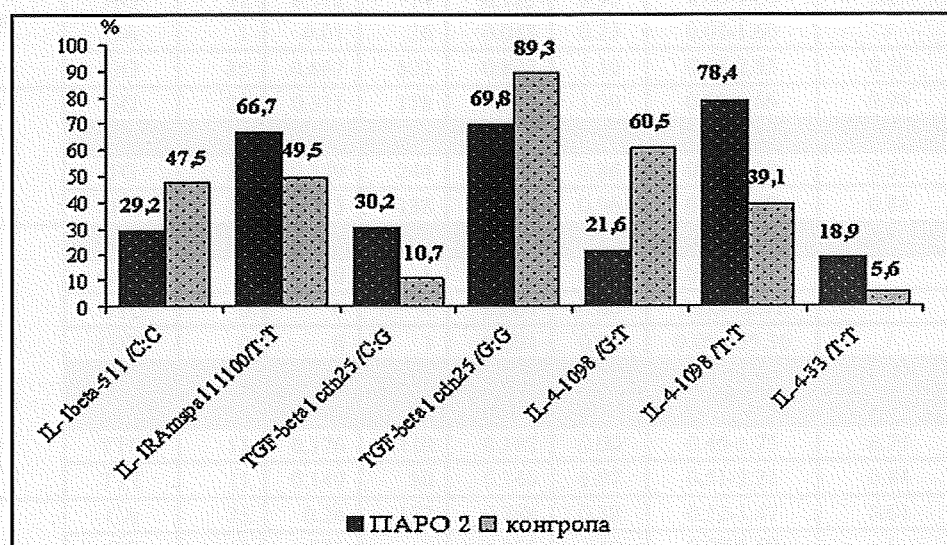
Кај IL-4-1098 полиморфизмот постои сигнификантна разлика (p<0.001) во дистрибуцијата на G:T и T:T генотиповите. Носителите на G:T генотипот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.18 (95% CI 0.07-0.43), што укажува на протективната улога на G:T.

Носителите на T:T генотипот имаат 5.65 пати поголем ризик да заболат од

пародонтопатија $OR=5.65$ (95%CI 2.36-13.94), односно постои асоцијација на T:T генотипот и настанувањето на пародонтопатија.

Кај IL-4-33 полиморфизмот постои сигнификантна разлика ($p<0.01$) во дистрибуцијата на T:T генотипот. Носителите на T:T генотип имаат 3.94 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија $OR=3.94$ (95% CI 1.34-11.25).

Во останатите анализи на генотипскиот цитокински генски полиморфизам не е утврдена нивна протективна улога, односно асоцијација со развивањето на ПАРО 2.



Слика 14. Генотипска дистрибуција на цитокинските генски полиморфизми каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на ПАРО2.

На табела број 12 прикажани се резултатите од хаплотипската застапеност на цитокинските полиморфизми кај заболените од ПАРО2 наспроти контролната група кај македонската популација

На слика 15. прикажани се фреквенциите на хаплотиповите на цитокинските генски полиморфизми, каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на ПАРО 2.

Табела бр.12 Хаплотипска застапеност на цитокинските полиморфизми кај заболените од втор клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРО2) наспроти контролната група кај Македонската популација

Цитокински полиморизам	Хапло тип	ПАРО 2		Контрола		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher / p
		Број	Фрек	Број	Фрек				
TGF- β 1	CC	12	0.14	30	0.053	2.88	1.33-6.15	0.002**	/
	CG	36	0.419	250	0.444	0.90	0.55-1.46	0.65	/
	TC	1	0.011	0	0	/	/	/	0.13
	TG	37	0.43	282	0.502	0.75	0.46-1.21	0.22	/
TNF- α	AA	1	0.01	0	0	/	/	/	0.14
	AG	11	0.112	74	0.123	0.90	0.43-1.84	0.09	
	GA	1	0.01	26	0.043	0.23	0.01-1.60	/	0.09
	GG	85	0.867	502	0.833	1.30	0.68-2.55	0.70	/
IL-2	GG	28	0.311	178	0.31	1.00	0.60-1.66	0.98	/
	GT	6	0.067	14	0.024	2.86	0.95-8.23	0.03*	/
	TG	35	0.389	244	0.425	0.86	0.53-1.39	0.52	/
	TT	21	0.233	138	0.24	0.96	0.55-1.67	0.88	/
IL-4	GCC	8	0.108	163	0.284	0.30	0.13-0.67	0.001**	/
	GCT	0	0	8	0.014	0.00	0.00-5.26	/	0.38
	GTC	0	0	4	0.007	0.00	0.00-12.01	/	0.61
	GTT	0	0	1	0.001	0.00	0.00-135.36	/	0.88
	TCC	36	0.486	202	0.355	1.74	1.04-2.90	0.03*	/
	TCT	6	0.081	4	0.007	12.53	3.04-54.40	0.000***	/
	TTC	13	0.176	110	0.192	0.90	0.45-1.75	0.73	/
	TTT	11	0.149	80	0.140	1.07	0.51-2.21	0.84	/
IL-6	CA	25	0.26	172	0.288	0.88	0.52-1.47	0.61	/
	CG	2	0.021	9	0.015	1.40	0.29-6.59	/	0.46
	GG	68	0.708	420	0.698	1.05	0.64-1.74	0.83	/
	GA	1	0.01	1	0.002	6.33	0.00-233.30	/	0.26
IL-10	ACA	1	0.011	12	0.02	0.54	0.03-4.03	/	0.46
	ACC	30	0.326	177	0.26	1.15	0.70-1.89	0.56	/
	ATA	21	0.228	161	0.269	0.80	0.46-1.39	0.41	/
	ATC	1	0.011	2	0.003	3.27	0.29-36.48	/	0.35
	GCA	1	0.011	0	0	/	/	/	0.13
	GCC	38	0.413	246	0.411	1.01	0.63-1.61	0.98	/

p<0.05*

p<0.01**

p<0.001***

Кај TGF- β 1 хаплотипот постои сигнификантна разлика (p<0.01) во дистрибуцијата на CC хаплотип.

Носителите на CC хаплотипот имаат 2.88 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=2.88 (95% CI 1.33-6.15), односно постои асоцијација со болеста. За (p<0.01) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на IL-4/ GCC хаплотипот. Носителите на GCC хаплотипот имаат помал ризик да заболат

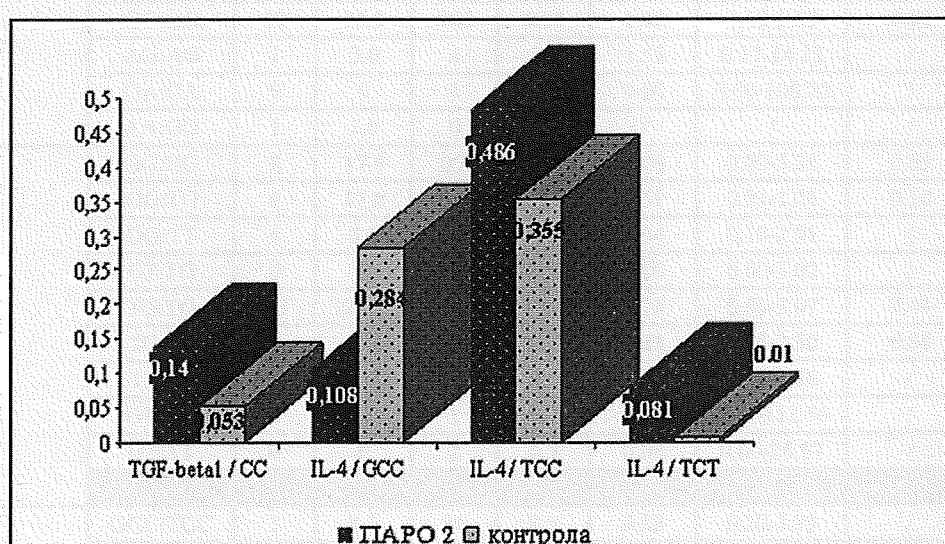
од пародонтопатија $OR=0.30$ (95% CI 0.13-0.67), што укажува на неговата протективна улога.

Сигнификантна разлика ($p<0.05$) постои и во дистрибуцијата на TCC и TCT ($p<0.001$) хаплотиповите за IL-4.

Носителите на TCC хаплотип имаат 1.74 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија $OR=1.74$ (95% CI 1.04-2.90), а носителите на TCT хаплотип имаат 12.53 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија.

Постои асоцијација помеѓу носителството на TCC и TCT хаплотиповите и настанувањето на пародонтопатијата.

Во останатите анализи на хаплотипскиот цитокински генски полиморфизам не е утврдена нивна протективна улога, односно асоцијација со развивањето на ПАРО 2.



Слика 15. Фреквенции на хаплотипскиот цитокински генски полиморфизам каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на ПАРО2.

На табела број 13 прикажани се добиените вредности за застапеноста на хаплотипните зиготи на цитокинските полиморфизми кај пациентите со ПАРО2 и испитаниците од контролната група. На слика 16. прикажана е процентуалната застапеност на цитокинскиот генски полиморфизам (хаплотипни зиготи), каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на ПАРО2.

Табела бр.13. Застапеност на хаплотипните зиготи на цитокинските полиморфизми кај заболените од втор клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРО2) наспроти контролната група кај македонската популација

Цитокински полиморфизам	Генотип	ПАРО 2		Контрола		OR	95% CI	χ^2 /р наод	Fisher /р
		Број	Фрек	Број	Фрек				
TGF- β 1	CG:CG	6	14	49	17.4	0.77	0.27-2.04	0.57	/
	CG:TG	14	32.6	136	48.4	0.51	0.25-1.06	0.05	/
	TG:TG	10	23.3	66	23.5	0.99	0.43-2.22	0.97	/
	TG:CC	3	7	14	5	1.43	0.31-5.69	/	0.39
	CC:CG	9	20.9	16	5.7	4.38	1.64-11.57	0.000***	/
	TC:CG	1	2.3	0	0	/	/	/	0.13
	CC:CC	0	0	0	0	/	/	/	/
TNF- α	AG:GG	9	18.4	66	21.9	0.80	0.34-1.82	0.57	/
	GA:GG	1	2.0	24	8	0.24	0.01-1.73	/	0.11
	GG:GG	37	75.5	206	68.4	1.42	1.68-3.03	0.32	/
	AG:AG	1	2.0	4	1.3	1.55	0.17-14.13	/	0.53
	GA:GA	0	0	1	0	0.00	0.00-108.20	/	0.86
	AA:GG	1	2.0	0	0	/	/	/	0.14
IL-2	GG:GG	8	17.8	27	9.4	2.08	0.80-5.26	0.09	/
	GG:TG	8	17.8	85	29.6	0.51	0.21-1.21	0.10	/
	GG:TT	4	8.9	38	13.2	0.64	0.18-2.01	/	0.29
	GT:TG	0	0	11	3.8	0.00	0.00-3.02	/	0.19
	TG:TG	10	22.2	50	17.4	1.35	0.58-3.07	0.44	/
	TG:TT	7	15.6	48	16.7	0.92	0.35-2.30	0.84	/
	TT:TT	5	11.1	25	8.7	1.31	0.41-3.88	/	0.38
	GT:GG	0	0	1	0.3	0.00	0.00-112.56	/	0.86
	GT:TT	0	0	2	0.7	0.00	0.00-26.57	/	0.75
GT:GT	3	6.7	0	0	/	/	/	0.003**	
IL-4	GCC:TCC	3	8.1	26	9.1	0.88	0.20-3.29	/	0.57
	TCC:TCC	11	29.7	68	23.8	1.36	0.59-3.05	0.42	/
	TTT:TCC	3	8.1	28	9.8	0.81	0.19-3.01	/	0.51
	TTC:TCC	8	21.6	7	2.4	11.00	3.32-36.88	0.000***	/
	GCC:TTT	0	0	32	11.2	0.00	0.00-1.10	/	0.02*
	TCT:TTT	6	16.2	4	1.4	13.65	3.18-61.62	/	0.000***
	GCC:GCC	0	0	1	0.3	0.00	0.00-137.02	/	0.89
	GCT:TTT	0	0	8	2.8	0.00	0.00-5.31	/	0.37
	GCC:TTC	5	13.5	103	36	0.28	0.09-0.78	0.01**	/
	TTT:TTT	1	2.7	4	1.4	1.96	0.21-18.01	/	0.46
	GTC:TCC	0	0	4	1.4	0.00	0.00-12.23	/	0.61
	GTT:TCC	0	0	1	0.4	0.00	0.00-137.02	/	0.89
IL-6	CA:CA	6	12.2	25	8.3	1.53	0.53-4.24	0.37	/
	CA:GG	13	26.5	122	40.7	0.53	0.25-1.08	0.06	/
	GG:GG	27	55.1	144	48	1.33	0.70-2.53	0.36	/
	CG:GG	1	2.0	9	3	0.67	0.03-5.39	/	0.58
	GA:CG	1	2.0	0	0	/	/	/	0.14

продолжува

Цитокински полиморфизам	Генотип	ПАРО 2		Контрола		OR	95% CI	χ^2/ p наод	Fisher / p
		Број	Фрек	Број	Фрек				
IL-10	ACC:ACC	2	4.7	21	7	0.65	0.10-3.01	/	0.43
	ACC:ATA	9	20.9	21	7	3.50	1.36-8.88	0.003**	/
	ACC:GCC	16	37.2	114	38.1	0.96	0.47-1.95	0.91	/
	ATA:ATA	1	2.3	19	6.4	0.35	0.02-2.58	/	0.25
	ATA:GCC	9	20.9	93	31.1	0.59	0.25-1.34	0.17	/
	GCC:GCC	6	13.9	17	5.7	2.69	0.89-7.86	0.04*	/
	GCC:ACA	1	2.3	3	1	2.35	0.24-23.11	/	0.42
	ATC:GCC	0	0	2	0.7	0.00	0.00-29.02	/	0.76
	ACA:ATA	0	0	9	3	0.00	0.00-4.15	/	0.29
	GCA:ACA	0	0	0	0	/	/	/	/
	ATC:ACA	0	0	0	0	/	/	/	/
	ATC:ATA	0	0	0	0	/	/	/	/
	ATC:ACC	1	2.3	0	0	/	/	/	0.13
	GCA:ATA	1	2.3	0	0	/	/	/	/

p<0.05*

p<0.01**

p<0.001***

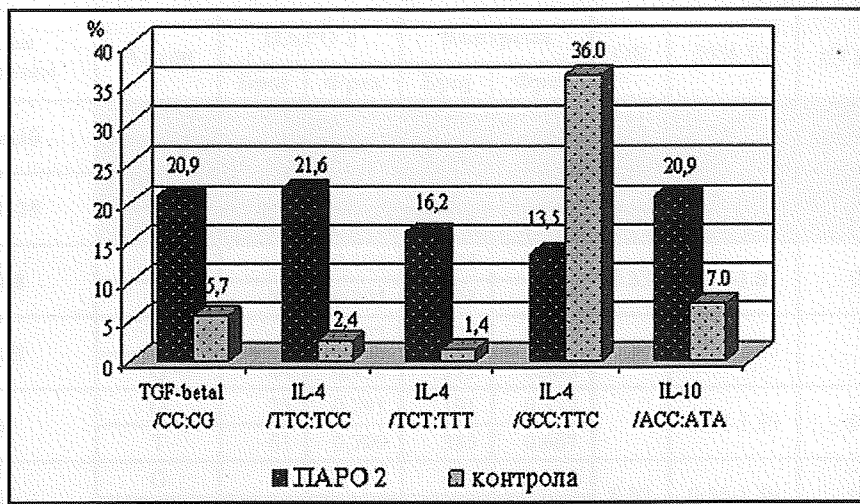
Кај TGF- β 1 полиморфизмот постои сигнификантна разлика (p<0.001) во дистрибуцијата на CC : CG хаплотипните зиготи. Носителите на CC : CG генотип имаат 4.38 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=4.38 (95% CI 1.64-11.57).

За IL-4 TTC:TCC хаплотипниот зигот постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата (p<0.001) каде што носителите имаат 11.00 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=11.00 (95% CI 3.32-36.88) и TCT:TTT хаплотипниот зигот чии носители имаат 13.65 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија (p<0.001) OR=13.65 (95% CI 3.18-61.62).

За полиморфизмот IL-4 GCC:TTC најдовме протективна улога во однос на развивањето на пародонтопатијата (p<0.01) OR=0.28 (95% CI 0.09-0.78).

Кај IL-10 хаплотипниот зигот постои сигнификантна разлика (p<0.01) во дистрибуцијата на ACC:ATA. Носителите на ACC:ATA имаат 3.50 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=3.50 (95% CI 1.36-8.88), односно постои асоцијација помеѓу носителството на ACC:ATA генотип и настанувањето на ПАРО2.

Во анализите на полиморфизмот на хаплотипните зиготи кај останатите цитокински гени не е утврдена нивна протективна улога, односно асоцијација со развивањето на ПАРО2.



Слика 16. Процентуална застапеност на цитокинскиот генски полиморфизам (хаплотипни зиготи), каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на ПАРО 2.

На табела број 14 прикажани се резултати во врска со фреквенциите на цитокинските полиморфни алели кај пациентите со трет клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРО3) и контролната група.

На слика 17. прикажани се цитокинските полиморфни алели кај кои е регистрирана протективна/асоцијативна улога во настанувањето на пародонтопатијата.

Табела број 14 Фреквенции на цитокинските полиморфни алели кај заболените од трет клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРО3) наспроти контролната група кај македонската популација

Цитокински полиморфизам	Алели	ПАРО 3		Контрола		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher / p
		Број	Фрек	Број	Фрек				
IL-1 α -889	C	70	0.833	482	0.814	1.14	0.60-2.20	0.67	/
	T	14	0.167	110	0.186				
IL-1 β -511	C	63	0.733	404	0.671	1.34	0.79-2.30	0.25	/
	T	23	0.267	198	0.329				
IL-1 β +3962	C	68	0.791	439	0.729	1.40	0.79-2.53	0.23	/
	T	18	0.209	163	0.271				
IL-1R pst11079	C	60	0.714	399	0.663	1.27	0.75-2.17	0.35	/
	T	24	0.286	203	0.337				
IL-1RA mspa111100	T	60	0.698	420	0.698	1.00	0.60-1.69	1.00	/
	C	26	0.302	182	0.302				
IL-4R α +1902	A	74	0.860	502	0.834	1.23	0.62-2.48	0.53	/
	G	12	0.140	100	0.166				
IL-12B -1188	A	53	0.780	433	0.744	1.22	0.64-2.33	0.52	/
	C	15	0.221	149	0.256				
IFN γ UTR5644	T	33	0.423	259	0.52	0.68	0.41-1.13	0.11	/
	A	45	0.577	239	0.48				

продолжува

Цитокински полиморфизам	Алели	ПАРО 3		Контрола		OR	95% CI	χ^2/p наод	Fisher / p
		Број	Фрек	Број	Фрек				
TGF- β 1 cdn10	T	22	0.275	282	0.502	0.38	0.22-0.65	0.000***	/
	C	58	0.725	280	0.498				
TGF- β 1 cdn25	G	57	0.713	532	0.947	0.14	0.07-0.27	0.000***	/
	C	23	0.288	30	0.053				
TNF- α -308	A	9	0.105	74	0.123	0.83	0.37-1.81	0.63	/
	G	77	0.895	528	0.877				
TNF- α -238	A	2	0.023	27	0.045	0.51	0.08-2.25	/	0.27
	G	84	0.978	575	0.955				
IL-2 -330	G	25	0.291	191	0.332		0.48-1.39	0.44	/
	T	61	0.709	383	0.667				
IL-2 +166	G	62	0.721	422	0.735	0.93	0.55-1.59	0.78	/
	T	24	0.279	152	0.265				
IL-4 -1098	G	4	0.059	177	0.306	0.14	0.04-0.41	0.000***	/
	T	64	0.941	401	0.694				
IL-4 -590	C	54	0.794	382	0.662	1.97	1.03-3.81	0.03*	/
	T	14	0.206	195	0.34				
IL-4 -33	C	42	0.618	479	0.837	0.31	0.18-0.56	0.000***	/
	T	26	0.382	93	0.163				
IL-6 -174	C	29	0.338	182	0.302	1.17	0.71-1.95	0.51	/
	G	57	0.663	420	0.698				
IL-6 nt565	A	29	0.337	173	0.287	1.27	0.76-2.09	0.34	/
	G	57	0.663	429	0.713				
IL-10 -1082	A	51	0.593	352	0.589	1.02	0.63-1.65	0.94	/
	G	35	0.470	246	0.411				
IL-10 -819	C	66	0.767	435	0.727	1.24	0.71-2.18	0.43	/
	T	20	0.233	163	0.273				
IL-10 -590	A	21	0.244	173	0.289	0.79	0.45-1.38	0.39	/
	C	65	0.756	425	0.711				

p<0.05*

p<0.01**

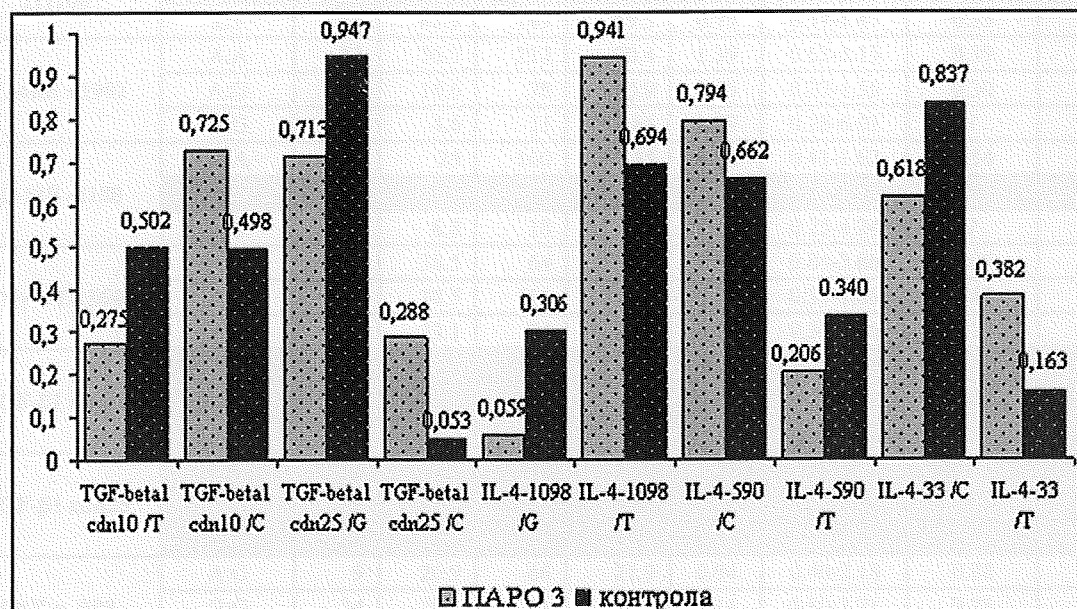
p<0.001***

Кај TGF- β 1cdn10 полиморфизмот за $p<0.001$ постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на T и C алелите. Носителите на T алелот имаат помал ризик за развивање на пародонтопатија OR=0.38 (95% CI 0.22-0.65)

Кај TGF- β 1cdn25 полиморфизмот за $p<0.001$ постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на алелите. Носителите на G алелот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија за разлика од носителите на C алелот OR=0.14 (95% CI 0.07-0.27), односно C алелот и кај двата испитувани полиморфизми на TGF- β има асоцијативна улога со пародонталната болест. Кај IL-4-1098 полиморфизмот за ($p<0.001$) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на алелите и G алелот има протективна улога во однос на развивањето на пародонтопатијата OR=0.14 (95% CI 0.04-0.41).

Кај IL-4-590 цитокините постои сигнификантна разлика ($p<0.05$) во дистрибуцијата на алелите. Носителите на C алели имаат 1.97 пати поголем ризик да за-

болат од пародонтопатија од носителите кои имаат Т алели OR=1.97 (95% CI 1.03-3.81). Кај IL-4-33 цитокинскиот полиморфизам за (p<0.001) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на алелите. Испитаниците со С алели имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија од пациентите со Т алели OR=0.31 (95% CI 0.18-0.56). Во останатите анализи на цитокинскиот генски полиморфизам (алели) не е утврдена нивна протективна улога, односно асоцијација со развивањето на ПАРОЗ.



Слика 17. Цитокински полиморфни алели кај кои е регистрирана протективна / асоцијативна улога во настанувањето на ПАРОЗ

На табела број 15 прикажани се резултати во врска со генотипскиот цитокински полиморфизам кај пациентите со ПАРОЗ и испитаниците од контролната група. На слика 18. прикажани се процентите на генотипската дистрибуција каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на ПАРОЗ.

Табела број 15. Застапеност на цитокинските генотипови кај заболените од трет клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРОЗ) наспроти контролната група кај македонската популација

Цитокински полиморфизам	Генотип	ПАРОЗ		Контрола		OR	95% CI	χ^2 /р наод	Fisher /р
		број	Фрек	број	Фрек				
IL-1 α -889	С:С	28	66.7	204	68.9	0.90	0.43-1.90	0.77	/
	С:Т	14	33.3	74	25	1.50	0.71-3.15	0.25	/
	Т:Т	0	0	18	6.08	0.00	0.00-1.93	/	0.09
IL-1 β -511	С:С	22	51.2	143	47.5	1.16	0.58-2.30	0.65	/
	С:Т	19	44.2	118	39.2	1.23	0.61-2.45	0.53	/
	Т:Т	2	4.6	40	13.3	0.32	0.05-1.42	/	0.08

продолжува

Цитокински полиморфизам	Генотип	ПАРО 3		Контрола		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher / p
		број	Фрек	број	Фрек				
IL-1 β +3962	C:C	26	60.5	174	57.8	1.12	0.56-2.25	0.74	/
	C:T	16	37.2	91	30.2	1.37	0.67-2.79	0.36	/
	T:T	1	2.3	36	12	0.18	0.01-1.24	/	0.04*
IL-1R pst11079	C:C	22	52.4	133	44.2	1.39	0.69-2.78	0.32	/
	C:T	16	38.1	133	44.2	0.78	0.38-1.58	0.46	/
	T:T	4	9.5	35	11.6	0.80	0.23-2.53	/	0.46
IL-1RA mspa 111100	C:C	1	2.3	30	10	0.22	0.01-1.54	/	0.08
	C:T	24	55.8	122	40.5	1.85	0.93-3.70	0.05	/
	T:T	18	41.9	149	49.5	0.73	0.37-1.47	0.35	/
IL-4R α +1902	A:A	33	76.7	212	70.4	1.39	0.62-3.15	0.39	/
	A:G	8	18.6	78	25.9	0.65	0.27-1.55	0.30	/
	G:G	2	4.6	11	3.65	1.29	0.28-6.01	/	0.49
IL-12B -1188	A:A	22	25	160	55	0.82	0.41-1.62	0.54	/
	A:C	9	20.4	113	38.8	0.41	0.17-0.92	0.02*	/
	C:C	3	6.8	18	6.2	1.11	0.25-4.24	/	0.54
IFN γ UTR5644	A:A	15	38.5	64	25.7	1.81	0.84-3.86	0.09	/
	A:T	15	38.5	111	44.6	0.78	0.37-1.63	0.47	/
	T:T	9	23.1	74	29.7	0.71	0.30-1.66	0.39	/
TGF- β 1 cdn10	C:C	22	55	65	23.1	4.06	1.95-8.48	0.000***	/
	C:T	14	35	150	53.3	0.47	0.22-0.98	0.03*	/
	T:T	4	10	66	23.5	0.36	0.11-1.12	/	0.04*
TGF- β 1 cdn25	C:G	19	47.5	30	10.7	7.57	3.45-16.69	0.000***	/
	G:G	19	47.5	251	89.3	0.11	0.05-0.24	0.000***	/
	C:C	2	5	0	0	/	/	/	0.02*
TNF- α -308	A:G	9	20.9	66	21.9	0.94	0.40-2.18	0.88	/
	G:G	34	79.1	231	76.7	1.14	0.50-2.71	0.73	/
	A:A	0	0	4	1.32	0.00	0.00-11.01	/	0.58
TNF- α -238	A:G	2	4.6	23	7.6	0.59	0.09-2.73	/	0.37
	G:G	41	95.3	276	76.7	1.86	0.40-11.79	/	0.32
	A:A	0	0	2	0.7	0.00	0.00-29.21	/	0.76
IL-2 -330	G:G	5	11.6	27	9.4	1.27	0.40-3.74	/	0.41
	G:T	15	34.9	137	47.7	0.59	0.28-1.20	0.11	/
	T:T	23	53.5	123	42.9	1.53	0.77-3.06	0.19	/
IL-2 +166	G:G	25	58.1	162	56.4	1.07	0.54-2.16	0.83	/
	G:T	12	27.9	98	34.1	0.75	0.34-1.59	0.42	/
	T:T	6	13.9	27	9.4	1.56	0.54-4.32	0.35	/
IL-4 -1098	G:T	4	11.8	175	60.5	0.09	0.03-0.27	/	0.000***
	T:T	30	88.2	113	39.1	11.68	3.79-40.23	/	0.000***
	G:G	0	0	1	0.4	0.00	0.00-151.01	/	0.89
IL-4 -590	C:C	20	58.8	97	33.7	2.81	1.29-6.18	0.00**	/
	C:T	14	41.2	187	64.9	0.32	0.15-0.67	0.000***	/
	T:T	0	0	4	1.4	0.00	0.00-13.45	/	0.64
IL-4 -33	C:C	20	58.8	209	72.6	0.53	0.24-1.16	6.08	/
	C:T	2	5.9	61	21.3	0.23	0.04-1.03	0.03*	/
	T:T	12	35.3	16	5.6	9.20	3.56-23.83	0.000***	/
IL-6 -174	C:C	5	11.6	25	8.3	1.45	0.46-4.32	/	0.32
	C:G	19	44.2	132	43.8	1.01	0.51-2.02	/	0.96
	G:G	19	44.2	144	47.8	0.86	0.43-1.72	/	0.65
IL-6 nt565	A:A	5	11.6	25	8.3	1.45	0.46-4.32	/	0.32
	A:G	19	44.2	123	40.9	1.15	0.57-2.28	0.68	/
	G:G	19	44.2	153	50.8	0.77	0.38-1.52	0.41	/

продолжува

Цитокински полиморфизам	Генотип	ПАРО 3		Контрола		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher / p
		број	Фрек	број	Фрек				
IL-10 -1082	A:A	14	32.6	70	23.4	1.10	0.51-2.31	0.79	/
	A:G	23	53.5	212	70.9	0.09	0.04-0.21	0.000***	/
	G:G	6	13.9	17	5.7	2.02	0.66-5.93	0.16	/
IL-10 -819	C:C	25	58.1	155	51.8	0.66	0.32-1.36	0.22	/
	C:T	16	37.2	125	41.8	0.49	0.24-1.01	0.04*	/
	T:T	2	4.6	19	6.35	0.54	0.08-2.54	/	0.32
IL-10 -590	A:A	2	4.6	28	9.4	0.35	0.06-1.60	/	0.11
	A:C	17	39.5	117	39.1	0.63	0.31-1.27	0.16	/
	C:C	24	55.8	154	51.5	0.62	0.30-1.26	0.15	/

p<0.05*

p<0.01**

p<0.001***

Кај IL-12B -1188/ A:C за (p<0.05) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на генотипот. Носителите на A:C генотип имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.41 (95% CI 0.17-0.92). Кај TGF- β 1cdn10 цитокините постои сигнификантна разлика (p<0.001) во дистрибуцијата на C:C генотипот. Носителите на C:C генотип имаат 4.06 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=4.06 (95% CI 1.95-8.48). За (p<0.05) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на TGF- β 1cdn10/ C:T генотипот. Носителите на C:T генотипот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.47 (95% CI 0.22-0.98).

Кај TGF- β 1cdn25 цитокинскиот полиморфизам испитаниците со C:G генотип имаат 7.57 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија (p<0.001) OR=7.57 (95% CI 3.45-16.69), додека носителите на G:G генотипот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија (p<0.001) OR=0.11 (95% CI 0.05-0.24), што значи дека G:G генотипот има протективна улога во однос на развивањето на пародонтопатијата.

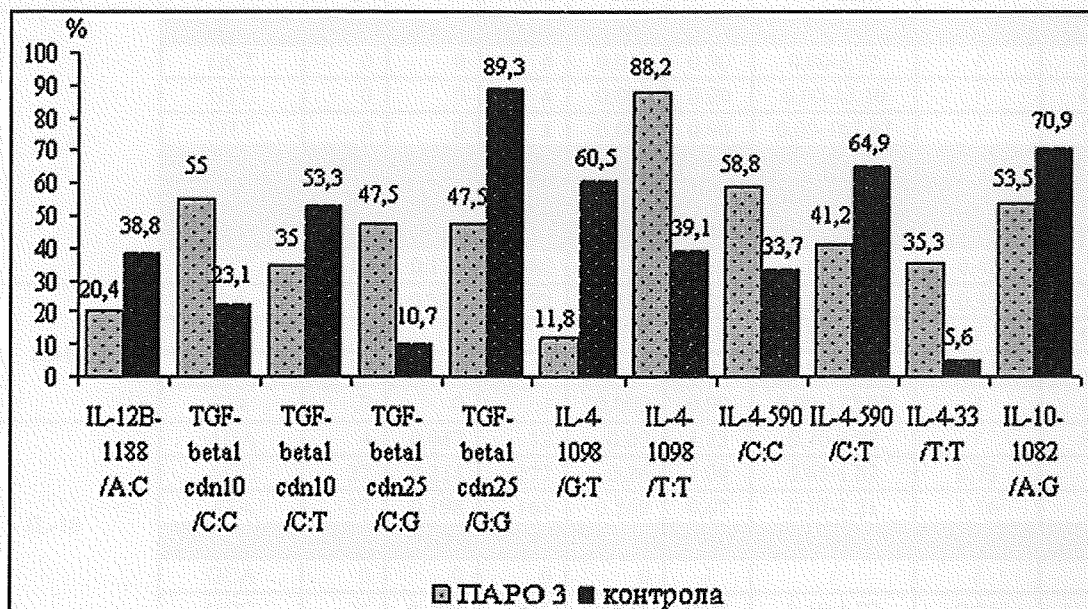
Кај IL-4-1098 цитокинскиот полиморфизам постои сигнификантна разлика (p<0.001) во дистрибуцијата на G:T и T:T генотипот. Носителите на G:T генотипот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR=0.09 (95% CI 0.03-0.27), додека носителите на T:T генотипот имаат 11.68 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=11.68 (95% CI 3.79-40.23), односно постои асоцијација помеѓу носителството на T:T генотипот и настанувањето на пародонтопатијата.

Кај IL-4-590/C:C постои сигнификантна разлика (p<0.01) во дистрибуцијата на генотипот. Носителите на C:C генотипот имаат 2.81 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR=2.81 (95% CI 1.29-6.18). За (p<0.001) постои сигнификантна разлика во дистрибуцијата на C:T генотипот за IL-4-590. Носителите на C:T генотипот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија OR =0.32 (95% CI 0.15-0.67), што му дава протективна улога во однос на развивањето на пародонтопатијата.

Кај IL-4-33 цитокинскиот полиморфизам постои сигнификантна разлика ($p < 0.001$) во дистрибуцијата на T : T генотипот. Пациентите со T : T генотип имаат 9.20 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR = 9.20 (95% CI 3.56-23.83).

Носителите на A:G генотипот кај IL-10-1082 полиморфизмот имаат помал ризик да заболат од пародонтопатија на што ни укажува високо значајната разлика во дистрибуциите помеѓу испитуваната и контролната група за овој генотип ($p < 0.001$) OR=0.09 (95% CI 0.04-0.21).

Во останатите анализи на генотипскиот цитокински генски полиморфизам не е утврдена нивна протективна улога, односно асоцијација со развивањето на ПАРОЗ.



Слика 18. Генотипската дистрибуција на цитокинските полиморфизми каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на ПАРОЗ.

На табела број 16 прикажани се резултатите од хаплотипската застапеност на цитокинските полиморфизми кај заболениите од ПАРОЗ наспроти контролната група кај македонската популација.

На слика 19. прикажана е дистрибуцијата на цитокинскиот генски полиморфизам (хаплотип), каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на ПАРОЗ.

Табела бр.16 Хаплотипска застапеност на цитокинските полиморфизми кај заболените од трет клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРОЗ) наспроти контролната група кај македонската популација

Цитокински полиморфизам	Хаплотип	ПАРОЗ		Контрола		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher / p
		Број	Фрек	Број	Фрек				
TGF- β 1	CC	22	0.275	30	0.533	6.73	3.49-12.97	0.000***	/
	CG	36	0.45	250	0.444	1.02	0.62-1.68	0.93	/
	TC	1	0.013	0	0	/	/	/	0.12
	TG	21	0.263	282	0.502	0.35	0.20-0.61	0.000***	/
TNF- α	AA	0	0	0	0	/	/	/	/
	AG	9	0.105	74	0.123	0.83	0.37-1.81	0.63	/
	GA	2	0.023	26	0.043	0.53	0.08-2.35	/	0.29
	GG	75	0.872	502	0.833	1.36	0.67-2.81	0.37	/
IL-2	GG	24	0.279	178	0.31	0.86	0.50-1.46	0.56	/
	GT	1	0.012	14	0.024	0.47	0.02-3.48	/	0.39
	TG	38	0.442	244	0.425	1.07	0.66-1.73	0.77	/
	TT	23	0.267	138	0.24	1.15	0.67-1.98	0.59	/
IL-4	GCC	4	0.059	163	0.284	0.16	0.05-0.46	/	0.000***
	GCT	0	0	8	0.014	0.00	0.00-5.73	/	0.40
	GTC	0	0	4	0.007	0.00	0.00-13.10	/	0.64
	GTT	0	0	1	0.001	0.00	0.00-147.47	/	0.89
	TCC	36	0.529	202	0.353	2.06	1.21-3.52	0.00**	/
	TCT	14	0.206	4	0.007	36.81	10.81-137.81	/	0.000***
	TTC	2	0.029	110	0.192	0.13	0.02-0.54	0.000***	/
	TTT	12	0.176	80	0.14	1.32	0.64-2.67	0.42	/
IL-6	CA	29	0.337	172	0.288	1.27	0.76-2.11	0.33	/
	CG	0	0	9	0.015	0.00	0.00-4.16	/	0.29
	GG	57	0.662	420	0.698	0.85	0.51-1.42	0.51	/
	GA	0	0	1	0.002	0.00	0.00-122.37	/	0.88
IL-10	ACA	4	0.047	12	0.02	1.13	0.30-3.92	/	0.51
	ACC	27	0.314	177	0.26	1.09	0.65-1.82	0.73	/
	ATA	17	0.198	161	0.269	0.67	0.37-1.21	1.16	/
	ATC	3	0.035	2	0.003	10.77	1.44-93.52	/	0.02*
	GCA	0	0	0	0	/	/	/	/
	GCC	35	0.407	246	0.411	0.98	0.60-1.59	0.94	/

p<0.05*

p<0.01**

p<0.001***

Значајни разлики во хаплотипската дистрибуција најдовме за TGF- β 1, IL-4 и IL-10 цитокинските гени. Кај TGF- β 1 значајни разлики имаше за C:C и T:G дистрибуцијата (p<0.001).

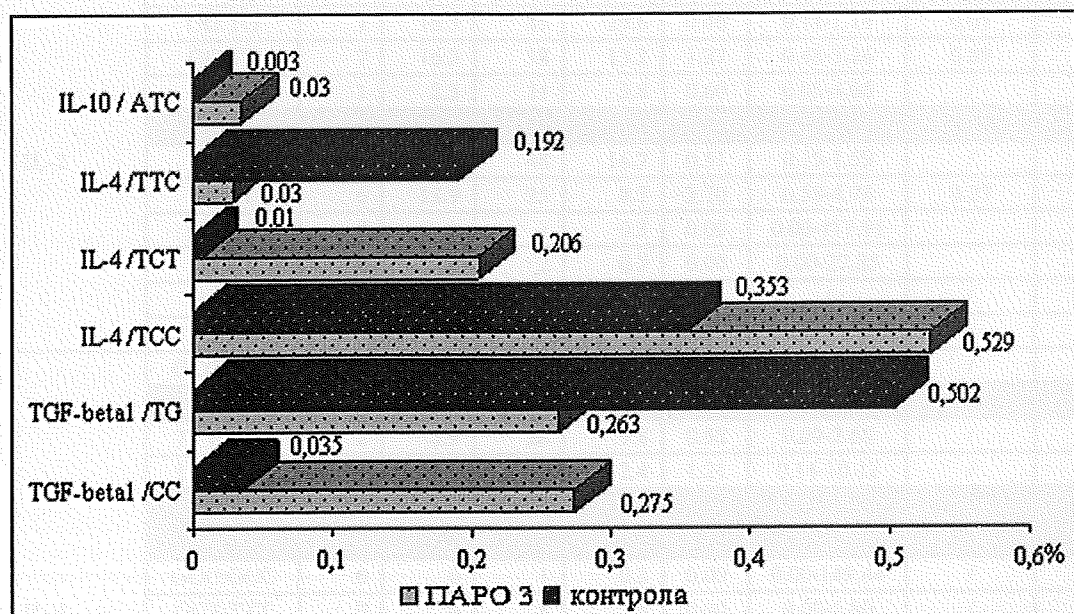
Носителите на CC хаплотип имаат 6.73 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија од OR=6.73 (95% CI 3.49-12.97), додека TG хаплотипот има про-теktivна улога во однос на развивањето на пародонтопатијата OR=0.35 (95% CI 0.20-0.61).

Кај IL-4 цитокинските полиморфизми статистичката анализа покажа асоцијација помеѓу носителството на TCC хаплотипот и 2.06 пати поголем ризик за

настанувањето на пародонтопатија ($p < 0.01$) $OR = 2.06$ (95% CI 1.21-3.52), додека носителите на TCT хаплотип имаат 36.81 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија ($p < 0.001$) $OR = 36.81$ (95% CI 10.81-137.81). IL-4/TTC хаплотипот има протективна улога во однос на развивањето на ПАРОЗ ($p < 0.001$) $OR = 0.13$ (95% CI 0.02-0.54), исто така значајна беше и протективната улога на IL-4/GCC ($p < 0.001$) $OR = 0.16$ (95% CI 0.05-0.46).

Кај IL-10 цитокинскиот полиморфизам носителите на ATC хаплотипот имаат 10.77 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија ($p < 0.05$) $OR = 10.77$ (95% CI 1.44-93.52), односно постои асоцијација помеѓу носителството на ATC хаплотипот и заболувањето.

Во останатите анализи на цитокинскиот генски полиморфизам (хаплотип) не е утврдена нивна протективна улога, односно асоцијација со развивањето на пародонтопатијата.



Слика 19. Дистрибуција на хаплотипскиот цитокински генски полиморфизам каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на ПАРОЗ.

На табела број 17 прикажани се добиените вредности за застапеноста на хаплотипните зиготи на цитокинските полиморфизми кај пациентите со ПАРОЗ и испитаниците од контролната група. На слика 20. прикажана е процентуалната застапеност на цитокинскиот генски полиморфизам (хаплотипни зиготи), каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на ПАРОЗ.

Табела бр.17. Застапеност на хаплотипните зиготи на цитокинските полиморфизми кај заболените од трет клинички стадиум на пародонтопатија (ПАРОЗ) наспроти контролната група кај македонската популација.

Цитокински полиморфизам	Генотип	ПАРОЗ		Контрола		OR	95% CI	χ^2/p наод	Fisher / p
		Број	Фрек	Број	Фрек				
TGF- β 1	CG:CG	4	10	49	17.4	0.53	0.15-1.64	0.24	/
	CG:TG	11	27.5	136	48.4	0.40	0.18-0.88	0.01*	/
	TG:TG	4	10	66	23.5	0.36	0.11-1.12	0.05	/
	TG:CC	2	5	14	5	1.00	0.22-4.59	/	0.62
	CC:CG	16	40	16	5.7	11.04	4.57-26.84	0.000***	
	TC:CG	1	2.5	0	0	/	/	/	0.12
	CC:CC	2	5	0	0	/	/	/	0.02*
TNF- α	AG:GG	9	20.9	66	21.9	0.94	0.40-2.18	0.88	/
	GA:GG	2	4.6	24	8	0.56	0.09-2.60	/	0.34
	GG:GG	32	74.4	206	68.4	1.34	0.62-2.97	0.43	/
	AG:AG	0	0	4	1.3	0.00	0.00-11.01	/	0.58
	GA:GA	0	0	1	0	0.00	0.00-123.66	/	0.88
	AA:GG	0	0	0	0	/	/	/	/
IL-2	GG:GG	5	11.6	27	9.4	1.27	0.40-3.74	/	0.41
	GG:TG	7	16.3	85	29.6	0.46	0.18-1.14	0.07	/
	GG:TT	7	16.3	38	13.2	1.27	0.48-3.26	0.59	/
	GT:TG	1	2.3	11	3.8	0.60	0.03-4.66	/	0.52
	TG:TG	13	30.2	50	17.4	2.05	0.94-4.44	0.04*	/
	TG:TT	4	9.3	48	16.7	0.51	0.15-1.59	/	0.15
	TT:TT	6	13.9	25	8.7	1.70	0.58-4.74	0.27	/
	GT:GG	0	0	1	0.3	0.00	0.00-117.91	/	0.87
	GT:TT	0	0	2	0.7	0.00	0.00-27.85	/	0.76
	GT:GT	0	0	0	0	/	/	/	/
TG:GG	0	0	0	0	/	/	/	/	
IL-4	GCC:TCC	3	8.8	26	9.1	0.97	0.22-3.63	/	0.63
	TCC:TCC	15	44.1	68	23.8	2.53	1.15-5.56	0.01*	/
	TTT:TCC	2	5.9	28	9.8	0.58	0.09-2.66	/	0.36
	TTC:TCC	1	2.9	7	2.4	1.21	0.14-10.12	/	0.59
	GCC:TTT	0	0	32	11.2	0.00	0.00-1.20	/	0.02*
	TCT:TTT	10	29.4	4	1.4	29.38	7.67-121.76	/	0.000***
	GCC:GCC	0	0	1	0.3	0.00	0.00-149.44	/	0.89
	GCT:TTT	0	0	8	2.8	0.00	0.00-5.80	/	0.40
	GCC:TTC	1	2.9	103	36	0.05	0.00-0.38	/	0.000***
	TTT:TTT	0	0	4	1.4	0.00	0.00-13.36	/	0.64
	GTC:TCC	0	0	4	1.4	0.00	0.00-13.36	/	0.64
	GTT:TCC	2	5.9	1	0.4	17.81	1.22-511.47	/	0.03*
	TCT:TCT	0	0	0	0	/	/	/	/
	TTC:TCT	0	0	0	0	/	/	/	/
GTT:GCC			0	0	/	/	/	/	
IL-6	CA:CA	5	11.6	25	8.3	1.45	0.46-4.30	/	0.32
	CA:GG	19	44.2	122	40.7	1.16	0.58-2.30	0.66	/
	GG:GG	19	44.2	144	48	0.86	0.43-1.71	0.64	/
	CG:GG	0	0	9	3	0.00	0.00-4.17	/	0.29
	GA:CG	0	0	0	0	/	/	/	/

продолжува

Цитокински полиморфизам	Генотип	ПАРОЗ		Контрола		OR	95% CI	χ^2 / p наод	Fisher / p
		Број	Фрек	Број	Фрек				
IL-10	ACC:ACC	6	13.9	21	7	2.15	0.72-6.10	0.12	/
	ACC:ATA	5	11.6	21	7	1.74	0.54-5.27	/	0.22
	ACC:GCC	10	23.2	114	38.1	0.49	0.22-1.09	0.06	/
	ATA:ATA	1	2.3	19	6.4	0.35	0.02-2.58	/	0.25
	ATA:GCC	8	18.6	93	31.1	0.51	0.21-1.19	0.09	/
	GCC:GCC	6	13.9	17	5.7	2.69	0.88-7.86	0.04*	/
	GCC:ACA	3	7	3	1	7.40	1.14-47.95	/	0.03*
	ATC:GCC	2	4.7	2	0.7	7.24	0.71-74.42	/	0.08
	ACA:ATA	1	2.3	9	3	0.77	0.09-6.21	/	0.64
	GCA:ACA	0	0	0	0	/	/	/	/
	ATC:ACA	0	0	0	0	/	/	/	/
	ATC:ATA	1	2.3	0	0	/	/	/	0.13
	ATC:ACC	0	0	0	0	/	/	/	/
	GCA:ATA	0	0	0	0	/	/	/	/

p<0.05*

p<0.01**

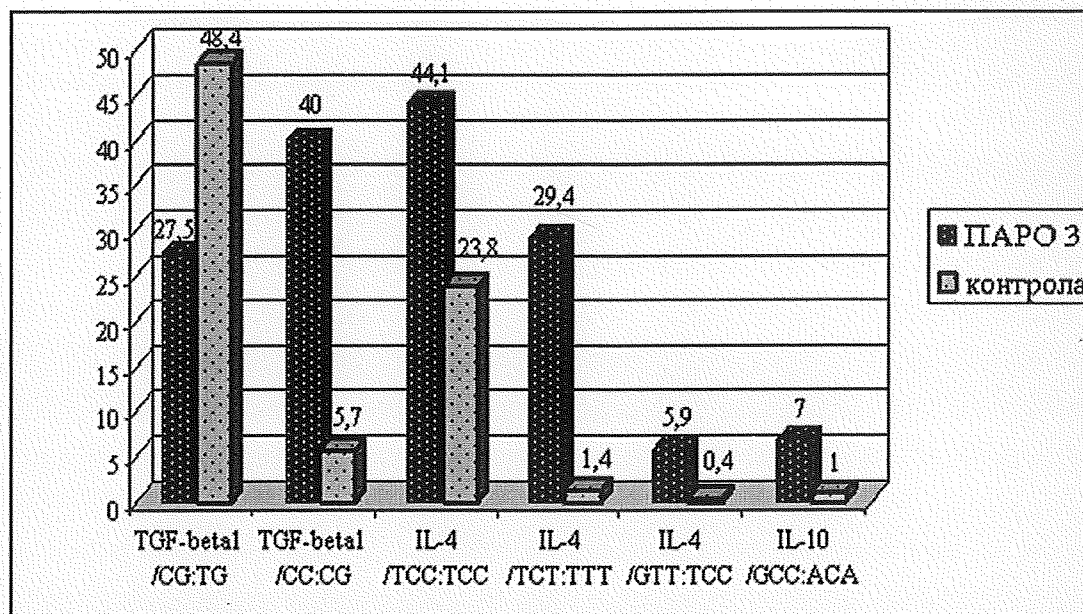
p<0.001***

Кај TGF- β 1 хаплотипните зиготи постои сигнификантна разлика (p<0.001) во дистрибуцијата на CC:CG генотипот. Носителите на CC : CG генотип имаат 11.04 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија OR = 11.04 (95% CI 4.57-26.84), односно постои асоцијација, додека CG:TC генотипот има протективна улога p<0.05 OR=0.40 (95% CI 0.18-0.88) поради значајно повисоката дистрибуција кај контролната група.

Кај IL-4 хаплотипните зиготи постои асоцијација помеѓу TCC:TCC генотипот (p<0.05) OR=2.53 (95% CI 1.15-5.56), TCT:TTT генотипот (p<0.001) OR=29.38 (95% CI 7.67-121.76) и GTT:TCC (p<0.05) OR=17.81 (95% CI 1.22-511.47) и настанувањето на пародонтопатијата, каде што носителите на TCT:TTT генотипот имаат дури 30 пати поголема асоцираност со пародонтопатијата.

Кај IL-10 цитокинскиот полиморфизам постои асоцијација помеѓу носителството на GCC:ACA генотипот и настанувањето на пародонтопатијата, односно носителите на овој генотип имаат 7.40 пати поголем ризик да заболат од пародонтопатија (p<0.05) OR=7.40 (95% CI 1.14-47.95).

Во останатите анализи на хаплотипските зиготи на цитокинските гени не е утврдена нивна протективна улога, односно асоцијација со развивањето на пародонтопатијата.



Слика 20. Дистрибуција на цитокиниот генски полиморфизам (хаплотипни зиготи), каде е регистрирана протективна улога, односно асоцијација во настанувањето на паро 3.

Адултната пародонтопатија се дефинира како хронично инфламаторно заболување каде што грам негативните микроорганизми го иницираат и го одржуваат инфламаторниот имун одговор. Инфламацијата е добро координиран процес кој се карактеризира со зголемена васкуларна пермеабилност следена со миграција на полиморфонуклеарните леукоцити, моноцитите и лимфоцитите од крвните садови во атакираното ткиво, како и со нивно поттикнување да секретираат инфламаторни медијатори кои ќе доведат до каскада на биохемиски и целуларни случувања. Хуморалните фактори, специфичните антитела и комплементот им помагаат на неутрофилите во опсонизацијата и фагоцитозата на бактериите (81).

Оваа инфламација од состојба на хроничен гингивит, може да прогредира кај сукцептибилните индивидуи во хронична деструктивна инфламаторна состојба на пародонталното ткиво и да доведе до ресорпција на алвеоларната коска (8). Иако многубројните студии ја потврдуваат улогата на микроорганизмите, како и на некои фактори од надворешната средина во етиопатогенезата, во најновите научни соопштенија се повеќе се потенцира улогата на генетските фактори во предиспозицијата и прогресијата на пародонталното заболување (64). Подршката за овој аспект на етиологијата на пародонтопатијата доаѓа од бројните студии кои укажуваат на фактот дека генетските фактори, односно имунорегулаторните гени влијаат на инфламаторниот имун одговор кој во зависност од таа повратна спрега може да даде протективни или деструктивни резултати.

Прогресијата на пародонтопатијата се должи на комбинација од надворешните влијанија, имуниот одговор и генетските фактори. Потврдена е способноста на микроорганизмите од денталниот плак за директна деградација на ткивото, меѓутоа сврзното ткиво и коската се деструираат во најголема мерка по пат на автодеградациони механизми, поради високото ткивно ниво на инфламаторни цитокини, ткивни деструктивни ензими (како матрикс металопротеиназа) и простагландини од една страна и ниското ниво на анти-инфламаторни цитокини (106). Високо ниво на анти-инфламаторни цитокини како IL-1beta и TNF алфа биле опишани во инфламираното пародонтално ткиво и биле во силна корелација со пародонталната деструкција, што води до хипотезата дека некои индивидуи одговараат на пародонталната инфекција со продукција на високо ниво на инфламаторни медијатори кои се причина за деструкција на припојниот епител, што понатаму доведува до губиток на атачмент. Исто така постојат и други цитокини кои влијаат врз продукција на многу медијатори кои го менаџираат инфламаторниот процес (137).

Секоја неконтролирана продукција на овие инфламаторни цитокини може да има свој удел во патогенезата на заболувањето. Иако е докажана улогата на инфламаторните цитокини како протективен фактор наспроти специфичната бактериска инфекција (13) и тоа дека е потребна нивна висока продукција за елиминација на бактериската инфекција, сепак истата може да доведе до деструкција на ткивната архитектура, како што е случајот со пародонталната болест, што ја потврдува хипотезата за генетски базирана имуна модулација која се јавува како одговор на гингивалната инфламација.

Од сето ова произлезе и основниот интерес на нашето истражување дека индивидуалните разлики во имуниот одговор, кои условуваат разлики во приемчивоста кон пародонтопатијата се контролирани од генетските фактори и надворешните влијанија во една интерактивна спрега. Генетскиот бекраунд влијае на мноштво функции кои што се однесуваат на инфламацијата, инфламаторниот одговор, вродениот и стекнатиот имунитет, бактериската колонизација и експресијата на пародонталната болест (15).

Хроничната пародонтопатија не можеме да ја сметаме за “ едноставно генетско заболување ” каде што мутацијата на еден ген предизвикува пореметување во експресијата на одреден протеин, туку како комплексно заболување каде што многу гени заедно со надворешните влијанија учествуваат во појавата и јачината на заболувањето. Генските варијанси (полиморфизми), кои земаат свое учество во комплексните инфективни заболувања се превалентни во секоја популација и многу често се различни помеѓу здравите и болните индивидуи. Многу од овие полиморфизми може да бидат функционално неутрални, но некои може да имаат директно функционално значење во генската транскрипција, РНК стабилноста или кодирањето на самите протеини. Најголемиот број на достапни резултати за генската асоцијација денеска се концентрирани на полиморфизмите на гените кои имаат улога во инфламаторниот одговор (122).

Сакајќи да дадеме одговор за асоцијацијата на цитокинскиот генски полиморфизам со пародонтопатијата кај македонската популација ја спроведовме оваа студија каде што се сконцентриравме на анализа на генската структура кај испитуваните со пародонтопатија како ентитет, од една страна и испитувањето на цитокинскиот полиморфизам кај различните фенотипови кои се јавуваат во рамките на заболувањето.

Примерокот од 132 испитаници спрема цитираната светска литература спаѓа во средно голем што ни овозможи да имаме валидна интерпретација на добиените

резултати (149). Сите гени што се проследени во нашата студија играат улога во инфламацијата и имунитетот и како такви би можеле да делуваат на алтериран имун одговор што води до развој на пародонтопатија. Испитуваните функционални полиморфизми делуваат или врз концентрациите на протеините кои што ги одредуваат или на нивната функционална активност, што ги прави одлични маркери за овој тип на генска асоцијативна студија. Исто така, поради докажаниот ефект на пушењето врз гингиворагијата и степенот на коскена деструкција кај пародонтопатијата (89), а за да добиеме што поверодостојни резултати за етиопатогенетската улога на генетските фактори, во нашата студија вклучивме исклучиво непущачи.

Во однос на алелската фреквенца добивме висока статистичка значајност за дистрибуцијата на алелите G-T за IL-4 -1098 и алелите C-T за IL-4-33. И кај двата испитувани полиморфизми тимин базата на позиција -1098 и -33 беше асоцирана со испитуваната група и тоа за IL-4-1098\T фреквенцијата беше 0.908, за IL-4-33/T фреквенцијата за тимин базата беше 0.315, што покажа висока статистичка значајност во однос на контролната група и укажува на асоцијативната улога на пореткиот T алел во појавата на хроничната пародонтопатија кај македонската популација.

IL-4 како дел од стекнатиот имун систем учествува како регулатор и медијатор во ефекторните фази на имуниот одговор и има автокрино и паракрино дејство. Основна физиолошка улога е да ги регулира реакциите во кои учествуваат Ig-E, мастоцитите и еозинофилите. IL-4 има круцијална улога кај астма што се должи на неговото влијание на B клетките да се трансформираат од IgM во IgE. Зголемување на количеството на IgE е докажано во гингивалното ткиво кај индивидуи со хронична пародонтопатија (88). Во пародонталните лезии IL-4 може да ги активира B лимфоцитните клетки да продуцираат IgE и IgG наспроти липополисахаридите кои ги лачат пародонталните бактерии (68). Од тој аспект гледано, се чини дека имуните механизми на алергиските нарушувања може да бидат слични со патогенезата на пародонталната болест.

Нашите наоди за алелската фреквенција за полиморфизмот на IL-4 -590 (C-T) не покажаа статистичка сигнификантност во однос на здравите индивидуи, што е во согласност со резултатите на Scarel (125), кој во својата студија кај мултиетничка бразилска популација не добил асоцијација на овој полиморфизам со пародонтопатија. Во студијата на Gonzales (43) не е докажана асоцијацијата на IL-4-590 C-T полиморфизмот со агресивна пародонтопатија, меѓутоа алелската фреквенција покажала разлики помеѓу јапонците и белците и тоа 25% повисока во корист на Јапонската популација. Michel (97) детектирал сигнификантна повр-

заност на полиморфизмот С-Т за IL-4-590 кај белци со агресивна пародонтопатија и нивото на IL-4 во серумот на овие пациенти, со што ја постулирал асоцијацијата односно влијанието на овој полиморфизам врз фенотипска експресија на IL-4. Овие контрадикторни резултати најверојатно се должат на етничките разлики на испитаниците во различните студии, но сепак го аспектираат алелскиот цитокински полиморфизам за IL-4-590 како маркер што е инволвиран во комплексната генска имунорегулација на пародонтопатијата.

Исто така, нашиот асоцијативен наод во однос на другите два полиморфизми на IL-4 цитокинскиот ген (SNPs -1098 и -33), за кои не наидуваме на податоци во светската литература, ни даваат за право да ги посочиме токму нив како цел на понатамошни истражувања.

Дејствата на TGF beta1 во имуниот систем се плеотропни. Оние кои што го прават многу важен во патогенезата на забнопотпорната деструкција се поттикнување на синтезата на матрикс модифицирачките ензими, како што се матриксните металлопротеинази и клеточните рецептори за матриксните протеини. Исто така е значајна неговата инхибиција на активација на макрофагите и полиморфонуклеарите, при што неговите зголемени вредности детерминирани генетски, би довеле до неуспешна елиминација на примарниот бактериски атак врз гингивалното ткиво и продлабочување на инфламацијата во подлабоките ткива од пародонталниот комплекс (29). Ова е значајна поткрепа на нашиот наод за високо значајната асоцијативната улога на С-Г полиморфизмот кај TGF beta1cdn25 цитокинскиот ген, од каде заклучивме дека носителите на G алелот за овој цитокин се со намален ризик од пародонтална болест, односно дека пореткиот С алел е асоциран со пародонтопатијата кај македонската популација. Добивме и статистичка значајност за протективната улога на T алелот кај TGF beta 1 cdn10, односно асоцираноста на С алелот кај нашата испитувана група наспроти контролната. Овој наод ни дозволува да го промовираме полиморфизмот на TGF beta 1 генот како значаен маркер за пародонтопатија кај македонската популација.

Генотипската анализа за инфламаторните цитокини, покажа силна асоцијативна поврзаност за IL-1 beta-511/С:Т генотипот кај нашата група испитаници наспроти контролната група и беше застапен со 52.6% кај болните со пародонтопатија, а статистичката обработка покажа 1.75 пати поголем ризик за носителите на овој генотип, односно покажавме постоење на асоцијација помеѓу носителството на С:Т генотипот и пародонтопатијата кај македонската популација. Анализата на другите полиморфизми на IL-1 генот (IL-1A -889 и IL-1B+3962) кај нашата испитувана група не покажа значајна асоцираност со пародонтопатијата, што е во потполна согласност за истите испитувани полиморфизми кај грчката популација (119, 120), наспроти студиите за позитивна асоцираност на овие гени со пародонтопа-

тијата кај американската популација (31, 38), што не наведува да заклучиме дека овој твр. медитерански регион има значајни разлики во однос на пројавувањето на одредени полиморфизми кај гените, во однос на другите географски региони.

Проинфламаторниот цитокин интерлеукин 1 има многу значајна улога во пародонталната ткивна деструкција, со тоа што ја стимулира коскената деструкција и учествува во продукцијата на протеазата и арахноидонската киселина, активности што се директно поврзани со пародонтопатијата. Протеинското ниво на IL-1beta е зголемено во гингивалниот флуид и гингивалното ткиво кај пациенти со пародонтопатијата (59).

Зголемување на нивото на IL-1beta објавиле и студии кои се базирале на експериментално предизвикување на гингивит и пародонтопатија (18). Симултаната инхибиција на IL-1 и TNF, во многу силен степен, довеле до превенција на губиток на алвеоларна коска во експериментални анимални студии (4). Групата на гени кои ја регулираат продукцијата на овие цитокини се идентификувани на долгиот крак на хромозомот 2. Оваа група е составена од IL-1A, IL-1B и IL-RA (рецептор антагонист) гените. Плочи на поединечна база на полиморфизмот (SNPs) на IL-1 locus, нивните функционални консеквенци и нивната поврзаност со приемчивоста и јачината на различни хронични инфламаторни заболувања опишани се во литературата (33). Присуството на пореткиот алел T за овој полиморфизам е поврзан со неколку медицински состојби како јувенилен ревматоиден артритис (JRA), системски лупус еритематодус (SLE), улцеративен колит, миастениа гравис, алопеција и некои форми на дијабет (25). Наодите за влијанието на IL-1B -511 полиморфизмот во достапната литература се крајно контрадикторни и се корисен пример за ограниченото разбирање на улогата на генскиот полиморфизам во развојот на пародонтопатијата. Откако е идентификуван генетскиот полиморфизам за гените одговорни за регулација на IL-1, најсовремените истражувања го доведуваат во врска композитниот генотип на IL-1 генскиот кластер, (кој вклучува симултано присуство на најмалку една копија од алелот T од IL-1A-889 полиморфизмот и најмалку една копија од алелот T од IL-1B+3962 полиморфизмот), со висока предиспонираност кон развојот на силно изразена пародонталната деструкција (66).

Студијата на Jepsen (59) покажала дека моноцитите од периферна крв кај индивидуи со најмалку една копија од алелот T за IL-1 B+3962 продуцираат четири пати повеќе IL-1beta како одговор на бактериски инсулт со периопатогени, за разлика од моноцитите од генотип негативните индивидуи по однос на овој полиморфизам. Секој човек наследува една копија од IL-1 генот од секој родител.

Индивидуите што имаат две копии (хомозиготни) за најчестиот IL-1 B+3962 полиморфизам алел C продуцираат нормални количини на IL-1beta (5,2 нанограми / мл), додека пак индивидуите кои се хомозиготи за полиморфизмот поврзан со пародонтопатија (алел T) продуцираат четири пати повеќе IL-1 бета од нормалната

продукција (19,9 нанограми / мл) . Индивидуите кои имаат една копија на алелот С и една копија на алелот Т за IL-1В+3962 полиморфизмот, значи хетерозиготните особи, продуцираат приближно два пати повеќе IL-1бета. (12,4 нанограми / мл) .

Engbertson во својата студија докажал 3.6 пати зголемено ниво на IL-1 бета во пародонталното ткиво и гингивалниот флуид кај пациенти носители на IL-1В-511/Т алел, наспроти оние со IL-1В-511/С (33) . Контрадикторни на овие резултати прикажал Meisel (89) каде што заболените од пародонтопатија кои биле пушачи (пушењето е докажан ризик фактор за пародонтопатијата), биле носители на пореткиот Т алел, додека кај пациентите кои не пушеле не постоела статистичка значајност помеѓу пародонтопатијата и носителството на Т алелот за IL-1А и IL-1В. Katabriga (16) во својата лонгитудинална 10 годишна студија, не докажал статистички значаен губиток на пародонтопатичните заби кај IL-1 генотип позитивните пациенти. Mark (86) во својата студија добил позитивна асоцијација за хетерозиготните носители на С:Т генотипот за IL-1 алфа -889 кај хронична пародонтопатија наспроти контролната група , што е во спротивност со нашиот наод за овој полиморфизам. Неговиот наод за IL-1В+3962 цитокинскиот полиморфизам, е во согласност со нашите наоди за IL-1В+3962, каде што не постоеше асоцијација помеѓу овој полиморфизам и пародонтопатијата кај македонската популација. Исто така не добил асоцијација ниту за еден од можните генотипски фреквенции за IL-1В-511, што е спротивно на нашите наоди.

Од добиените наши резултати за генотипската дистрибуција на TGF beta 1 можеме да ја заклучиме протективната улога на С:Т генотипот кај TGF beta 1 cdn10, односно дека носителите на овој генотип имаат помал ризик да развијат пародонтопатија. Асоцијативната улога на С:С генотипот за пародонталната болест кај македонската популација беше со многу силна статистичка значајност и носителите на овој генотип имаат 2.25 пати поголем ризик да развијат пародонтопатија во однос на другите. Од анализата на TGF beta cdn25 полиморфизмот ја воочивме многу силната асоцијативна поврзаност на С:G генотипот каде што статистички добивме 4.6 пати поголем ризик за развој на болеста за носителите на овој генотип, наспроти протективната улога на хомозиготната G:G застапеност. Овој наш наод е во согласност со наодот на Vabel (6), кој добил значајна застапеност на G:G генотипот за TGF beta cdn25 полиморфизмот кај контролната група, наспроти пациентите со хронична пародонтопатија и заклучил дека овој единечен нуклеотиден полиморфизам (SNPs) е асоциран со сукцептибилноста кон хронична пародонтопатија кај испитуваната популација. Овие наоди не бевме во можност да ги компарираме и со други автори поради фактот што во достапната литература не најдовме на нивна интерпретација.

IL-2 е цитокин кој го продуцираат Т helper1 клетките и тој е учесник во целуларниот имун одговор, со тоа што е вклучен во активација и стимулација на макро-

фагите и Т клеточната прилиферација, а исто така има удел и во остеокласната активност при коскена ресорпција. Поради улогата во инфламаторниот процес кај пародонтопатија се дошло до заклучок дека полиморфизмот во промоторниот регион на овој ген може да го модифицира нивото на експресија на цитокинет (127). Поддршка на овој став доаѓа и од страната на други автори кои преку независни студии покажале дека некои субјекти може да бидат твр. високо продуктивни за IL-2 за разлика од другите со ниска продукција на овој интерлеукин, која разлика е генетски условена (145). Полиморфизмот на позиција -330 /T-G на IL-2 генскиот промотер бил востановен од John (52), меѓутоа во литературата до сега има многу малку достапни податоци за неговата улога на полиморфичен маркер за одредување на јачината на пародонталната болест кај различни популации.

Од анализата на IL-2 генотипската фреквенција кај нашата испитувана група добивме асоцијативна поврзаност за хомозиготите за генотипот G:G, кој што кај болните од пародонтопатија беше застапен со 17.3% наспроти 9.4% кај контролната група, каде што статистичката анализа покажа два пати поголем ризик за развој на пародонтопатија за носителите на овој генотип, наспроти протективната улога на хетерозиготниот генотип G:T кој се јави со 47.7% кај контролната група. Со овој наш наод можеме да ја потенцираме асоцијативната поврзаност на пародонтопатијата кај македонската популација со носителството на G:G генотипот кај IL-2 цитокинскиот полиморфизам.

Овој наш наод е во согласност со наодот во студијата на Scarel-Caminaga (124) кој не нашол сигнификантно значајни разлики во алелската и генотипската фреквенција на овој ген помеѓу пациенти со умерена и силна пародонтопатија во споредба со контролната група, меѓутоа кога ги прегрупираше пациентите и ги оставил само оние со силна форма како испитувана група, добил асоцијација на G алелот со пародонталната болест. Фреквенцијата на генотипот T:T била сигнификантно поголема кај контролната група, во споредба со пациентите со силно изразена форма на пародонтопатија, па носителите на T:T генотип имале 2.5 пати помала шанса да ја развијат болеста наспроти индивидуите кои се хетерозиготи или хомозиготи за G:G .

Што се однесува до нашиот наод за IL-4 генотипската фреквенција, спроведовме генотипизирање на 3 места на IL-4 генот. За IL-4-1098 добивме висока протективна улога на генотипот G:T за неразвивање на заболувањето и носители на овој генотип беа 60.5% од контролната група, наспроти само 16.3 од болните со пародонтопатија, за разлика од генотипот T:T, каде што хомозиготите имаат дури седум пати поголема шанса да развијат пародонтопатија и овој генотип беше застапен со 82.6% кај нашата испитувана група. Во нашите наоди за IL-4-590 најдовме значајна разлика за C:T генотипот како протективен во однос на пародонталната болест, што не е во согласност со студијата на Scarel Caminaga (125) кој што го

испитувал овој полиморфизам кај бразилската популација.

Можно е дека различни резултати може да има во рамките на различни популации или раси, меѓутоа анализата на белците и јапонците во трудот на Gonzales (43) не покажала влијание на расниот бекграунд врз полиморфизмот за IL-4-590 C-T кај пациенти со агресивна пародонтопатија. Истражување за IL-4-590 C-T полиморфизмот спровел и Pontes (110) и не заклучил дека тој значајно влијае на хроничната пародонтопатија кај бразилците со афро-американско потекло.

За IL-4-33 C:T генотипот добивме протективна улога, наспроти високо сигнификантната поврзаност на алелот T со појава на пародонтопатија, па отаму носителите на хомозиготниот T:T генотип имаат 5.96 пати поголеми можности да развијат пародонтопатија. Со овој наод го потврдуваме и нашиот претходен наод за алелската фреквенција на IL-4-33 каде што исто ја потенциравме асоцијативната улога на IL-4-33/T алелот и пародонтопатијата кај македонската популација.

Интерлеукиноот 10 е протеин кој што го лачат активираните макрофаги, некои лимфоцити и некои не-лимфоцитни клетки. Тој има две важни дејства: го инхибира создавањето на цитокини како TNF, IL-1 и IL-12 во макрофагите и ја инхибира акцесорната функција на макрофагите да ги активираат лимфоцитите. Вкупниот ефект на овие негови дејства е инхибиција на вродениот и на стекнатиот имунитет при инфламаторни состојби. Нивото на експресија на IL-10 може да биде модулирано од генски полиморфизам во промоторниот регион кој е локализиран наспроти стартниот кодон на генот (146). Постојат три единечни нуклеотидни полиморфизми (SNPs) во IL-10 генот на позиција -1082, -819 и -592 почнувајќи од страната на транскрипција, кои се асоцирани со алтерирана синтеза на IL-10 под дејство на инфламаторен стимулус(1).

IL-10-1082/G алелот е асоциран со висока ин витро продукција на IL-10(64). IL-10 -819 полиморфизмот претставува диморфен полиморфизам на C алелот со T, се наоѓа во регионот на негативна регулаторна функција и може да предизвика зголемена продукција на естрогени хормони кои имаат силно влијание во патогенетскиот процес на пародонтопатијата (74). Од наодите на Scarel (123) можеме да ја согледаме сигнификантна разлика за IL-10-819 полиморфизмот, каде што индивидуи со T:T генотип за овој полиморфизам, се три пати повеќе асоцирани со можноста да развијат пародонтопатија, додека кога биле анализирани само женските пациенти, поради неговото дејство врз естрогените хормони таа асоцијативна улога се искачила за 4 пати, за разлика од хомозиготите за C:C кои имале значајно помал ризик од пародонтална болест. Слични вредности биле добиени и за -592 локусот помеѓу контролната и групата со хронична пародонтопатија, каде што индивидуи со C:C генотип биле заштитени од развој на пародонтопатија.

За IL-10-1082 полиморфизмот авторите не нашле статистички значајни разлики, што е различно од нашите наоди, во контекст на единечните нуклеотидни места каде се детектирани разликите. Имено, во нашата студија ние добивме висока статистичка значајност за IL-10-1082 полиморфизмот каде хомозиготите за G:G имаат 2.59 пати поголем ризик да развијат пародонтопатија, наспроти хетерозиготите носители на A:G генотипот. Нашите наоди за -819 и -592 полиморфизмот не покажаа значајни разлики во дистрибуција на генотиповите помеѓу испитуваната и контролната група, што само уште еднаш ја потврдува значајноста на различните етникуми кои се разликуваат по варијациите на местата на појава на полиморфизмите кај цитокинските гени.

Од дистрибуцијата на хаплотиповите аранжирани како алели за да ги согледаме сите можни комбинации на дадените цитокински полиморфизми, ги добивме следниве сигнификантни наоди. Кога ги групиравме алелите за двата анализирани TGF beta 1 полиморфизми добивме четири можни комбинации на хаплотипови, од кои хаплотипот CC имаше силна асоцијативна поврзаност со пародонталната болест, па носителите на овој хаплотип имаат 4 пати поголема веројатност да развијат пародонтопатија во однос на другите хаплотипови. Ова го потврдува нашиот наод кај алелската дистрибуција на TGF beta 1 полиморфизмот каде што носителите на C алелот покажаа силна асоцираност со болеста. Од друга страна TG хаплотипската фреквенца се покажа како протективна, поради значајно поголемата дистрибуција кај контролната група, што уште еднаш ни дава за право да ја истакнеме протективната улога на T алелот за TGF бета 1 цитокинскиот полиморфизам за пародонталната болест кај македонската популација.

TNF (tumor necrosis factor) alfa има најглавна улога во регулацијата на одговорот кон грам негативните бактерии, има улога во реакцијата на вродениот имун систем кон инфламацијата и претставува значајна врска помеѓу акутното воспаление и специфичниот имун одговор (14). Тој претставува продукт на единствен генски локус сместен помеѓу главниот ткивно совпадлив комплекс на шестиот хромозом кај луѓето. Локалните ефекти на малите количини на TNF се критични за ефикасна одбрана од микроорганизмите, што го прави особено значаен во патогенезата на пародонталното заболување. Така на пример покажано е неговото силно влијание врз ресорпцијата на алвеоларната коска и неговата вклученост во деградација на сврзното ткиво (4), па отаму идејата дека индивидуалната приемчивост за пародонтопатија би можела да биде поврзана со генетски детерминирани разлики во продукцијата на TNF alfa.

Авторите кои се занимавале со оваа проблематика откриле неколку полиморфизми на генот на TNF алфа , кои што биле одговорни за промени во транскрипционата активност, а на што се должи и промената во фенотипската експресија на TNF alfa (39). И во овој случај, како и во полиморфизмот на другите гени по-

стојат значителни етнички разлики. -308 и -238 полиморфизмите на TNF alfa имале значително поголема преваленца кај белците, додека неколку други полиморфизми ексклузивно се јавуваат во Јапонската популација. Постојат наоди дека G-A промената на позиција-308 доведува до 2-3 пати поголема транскрипциона активност на TNF alfa, откако тој ќе биде стимулиран со бактериски липополисахариди (154). Докажано е дека стимулираните мононуклеари од периферна крв кај пациенти со пародонтопатија, кај кои што има транзиција на аденин на -308 позицијата, продуцираат сигнификантно повисоки вредности за TNF алфа, кои што кога организмот е изложен на бактериски стимулус доведуваат до деструктивна имуна реакција, за разлика од индивидуи кои имаат гуанин на таа позиција (39). Овој податок треба да се докаже низ поголем број на случаи и студии, затоа што врската помеѓу -308 TNF алфа полиморфизмот и пародонтопатијата би била логична само доколку разликата во алелската дистрибуција, покрај промени во транскриптивната активност доведува и до сигнификантни промени на TNF алфа експресијата во инфламираното пародонтално ткиво. Иако биолошките вредности за TNF алфа не се во целост потврдени кај сите индивидуи кај кои е докажан TNF алфа полиморфизмот, се претпоставува дека овој генотип би можел да биде прогностички маркер за пародонтопатијата.

Во нашето испитување на хаплотипската дистрибуција на двата полиморфизми за TNF алфа -308 и -238, добивме релативно хомогена дистрибуција каде што од 230 вкупно добиени хаплотипови кај сите пациенти со пародонтопатија, дури двеста беа хомозиготи за GG алелите, само 26 имаа аденин на -308 позицијата и гуанин на -238, што значи AG хаплотип, кои што резултати не покажаа статистички значајна разлика со контролната група. Сигнификантност добивме само за носителите на GA хаплотипот кој што има протективна улога во развивањето на пародонтопатијата кај македонската популација. Овој наш наод е во согласност со некои автори, кои опишале сигнификантни разлики во алелската дистрибуција кај пациенти со напредната пародонтопатија и здрави индивидуи и тоа многу интересен е податокот дека TNF алфа G алелот на позиција -308 бил пофреквентен значајно кај пациентите со пародонтопатија (20). Сепак, други автори го сметаат најчесто TNF алфа -308 A алелот како генетски маркер за приемчивост кон пародонтопатија поради неговата способност да ја влијае врз продукцијата на TNF alfa. Овие разлики во наодите може да ги протолкуваме врз основа на фактот дека хроничната пародонтопатија иако има силен генетски беграунд сепак во голема мерка зависи и од влијанијата од надворешната средина кои делуваат врз патогенетските случувања, како и докажаните популациски разлики (36).

Анализата на хаплотипската дистрибуција за алелите на IL-4 генот на трите различни SNPs -1098, -590 и -33 кај нашата група испитаници покажа исклучително

значајни разлики во однос на контролната група. Хаплотиповите TTC и GCC покажаа силна протективна улога во однос на пародонталната болест кај македонската популација, затоа што од анализираниите вкупно 572 хаплотипа кај контролната група беа застапени со скоро 50 %, односно со 273, додека кај испитуваната група од вкупно 184 анализирани хаплотипови на овие отпаѓаа само 36. За разлика од нив TCC хаплотипот покажа асоцијативна врска со пародонтопатијата, каде што статистичката обработка покажува дека носителите на TCC хаплотипот имаат 1.75 пати поголем ризик од пародонтопатија во однос на оние кои го немаат овој хаплотип. Исто така многу силна асоцираност со пародонтопатијата покажа и TCT хаплотипот, кој што го имаа само 4 од 572 хаплотипови кај контролната група и за кој статистичката анализа покажа 22.33 пати поголем ризик за пародонтопатија кај носителите на овој хаплотип. Ова е во потполна согласност со нашиот претходен наод за алелската дистрибуција на IL-4 полиморфизмите, каде што носителите на T алеот на позиција -1098 и -33 покажаа силна асоцираност со пародонталната болест кај македонската популација.

Од хаплотипската анализа за IL-10 полиморфизмите кај нашата испитувана група од вкупно 222 анализирани, најзастапени беа ACC, ATA и GCC хаплотиповите, коишто исто така беа најмногу застапени и кај контролната група. Статистички сигнификантна разлика добивме единствено за ATC хаплотипот, кој што иако беше редок и кај двете групи, кај испитуваната група беше со фреквенција од 0.023 наспроти контролната каде што имаше фреквенција од само 0.003, па статистичката анализа покажа 6.9 пати поголем ризик кај носителите на овој хаплотип да развијат пародонтопатија. Scarel (123) во својата студија испитувајќи ја хаплотипната фреквенција на IL-10 не добил статистички значајни разлики помеѓу белци заболени од пародонтопатија наспроти контролната група, меѓутоа укажал на тренд на преминација на хаплотипот ACC кај контролната група кој што докажано делува на секреција на повисоко количество на IL-10, наспроти преминација на ATC хаплотипот кај групата со хронична пародонтопатија. Неговиот наод за значителна фреквенција на хаплотипот ATC кај испитуваната група, е во потполна согласност со нашиот наод за асоцијативната улога на ATC хаплотипот со пародонтопатијата кај македонската популација.

Во однос на дистрибуцијата на локусните хаплотипови аранжирани како генотипови, што се однесува до цитокиниот полиморфизам за TGF beta 1 кај нашата испитувана група добивме протективна улога за CG: TG генотипот што е во потполна согласност со неговата дистрибуција од 48.4 проценти кај контролната група. Наспроти него силна асоцијативна врска со пародонтопатијата кај македонската популација имаме за CC:CG генотипот, со 27,9 % кај заболениите од пародонтопатија, наспроти контролната група каде што овој генотип се јави со само 5,7% и

статистичката анализа покажа 6.4 пати поголем ризик кај индивидуите носители на овој генотип да развијат пародонтопатија. Од сите наши досегашни анализи на алелската, генотипската и хаплотипската анализа на TGF beta можеме да ја потенцираме силно изразената асоцијација на цитозин на позиција cdn10 и cdn25 како фактор кој што влијае врз модулација на фенотиската експресија на TGF и доведува до аберантен имун одговор наспроти периопатогените. Неговата важност како имунорегулатор е во тоа што спречува многи лимфоцитни одговори како на пример, ја инхибира пролиферацијата на T-Ly под дејство на митогени или во мешана лимфоцитна структура, го блокира созревањето на цитотоксичните T-Ly, ја инхибира активацијата на макрофагите и ги инхибира полиморфонуклеарните лимфоцити и ендотелни клетки во нивните воспалителни ефекти. Бидејќи во консултираната литература не наидовме на податоци за улогата на хаплотипската зиготна полиморфност на овој ген во развојот на пародонтопатијата, можеме да го понудиме нашиот наод како поттик за асоцијативни студии кај други популации и етникуми.

Анализата на хаплотипската дистрибуција на можните генотипови за IL-2 -330- и -238 покажа широка палета на групирање и кај испитуваната и кај контролната група кај македонската популација. Хомозиготите за GG:GG генотипска дистрибуција имаат два пати поголема можност да развијат пародонтопатија и се застапени со 17.3 проценти кај испитуваната наспроти контролната група каде што овој процент е 9.4. Наспроти овој наод мораме да го потенцираме наодот за GG:TG генотипот кој што има протективно дејство во однос на пародонталната болест и кој што се јавува кај скоро една третина кај контролната група, наспроти пациентите со хронична пародонтопатија каде е застапен со 15.5%. Овој наш наод е во потполна согласност со нашиот заклучок дека присуството на гуанин на позиција -330 и -238 кај IL-2 генскиот полиморфизам има протективна улога во развојот на пародонталната болест и можеме да сугерираме дека зема активно учество во нејзината патогенеза.

За IL-4 цитокинскиот генски полиморфизам, хаплотипската дистрибуција на генотипови во нашата студија покажа најсилна асоцираност со пародонталната болест кај TTC:TCC генотипот, кој што се јави со 12% кај испитуваната група наспроти само 2,4% кај контролната и за кој што статистичката анализа покажа 5.4 пати поголем ризик за развој на пародонтална болест кај носителите на овој генотип. Асоцијација со пародонтопатијата покажа и носителството на TCC:TCC генотипот со 1.7 пати поголем ризик за неговите носители. Протективна улога за развој на пародонтопатија добивме за GCC:TCC генотипот кој што го имаа 36% од контролната група наспроти 8.7 проценти од испитуваната. Ова е во согласност со нашиот претходен наод за силна асоцијација на TCC хаплотипот со пародонталната болест, така што можеме да ја потврдиме неговата имуномодулаторна улога во

патогенезата на пародонтопатијата кај македонската популација.

Како генски маркер овој цитокин е во корелација и со приемчивоста кон агресивната пародонтопатија кај белата популација (57). Тој е анти-инфламаторен цитокин кој има важна функција во модулација на В-клеточниот одговор. Алтерации во IL-4 генот може да ја зголемат јачината на болеста преку намалување на продукцијата на IL-4 (40). Различните студии покажале дека генскиот полиморфизам асоциран со заболувањата обично покажува различна етничка дистрибуција (63, 110).

Нашите наоди за хаплотипската дистрибуција на генотипови за IL-10 го потенцираа ACC:ATA како силен ризик фактор за развој на пародонтопатија каде што носителите имаат 2.39 пати поголем ризик за пародонтопатија , исто така и GCC:GCC го имаа 13,5% од пациентите со пародонтопатија наспроти 5.7 од контролната група што статистички покажа 2.59 поголем ризик за носителите на овој генотип да развијат пародонтопатија. ATA:GCC генотипот се покажа како значаен протективен фактор во однос на пародонталната болест и тој беше најзастапен генотип кај контролната група со некаде 31.1% од вкупниот број. За разлика од овој наш наод Scare (123) во својата студија укажува на силната протективна улога на хетерозиготниот GCC:ACC хаплотипот кон хроничната пародонтопатија, со осум пати помал ризик за носителите на овој хаплотип.

Анти-инфламаторните цитокини, каде што спаѓа и IL-10 имаат улога во контрола на инфламаторниот одговор. Анималните студии покажале дека нефункционалноста на IL-10 предизвикува засилена ресорпција на алвеоларната коска (2). Од тие причини IL-10 цитокиниот ген се смета за ген кој што би можел да има влијание врз приемчивоста кон пародонтопатијата. IL-10 како цитокин го продуцираат Т регулаторните и Т хелперните клетки макрофагите и В клетките и негова задача е да ги инхибира проинфламаторните цитокини. IL-10 е и В клеточен стимулатор , кој ја потенцира В клеточната пролиферација и диференцијација (117). Трите полиморфизми кои се опишани за IL-10 генот се во силен дисеквилибриум и се јавуваат во три преферирани хаплотипови: GCC, ACC и ATA. Хаплотипот GCC е асоциран со висока продукција на IL-10, што ни сугерира дека носителите на другите две генски варијанти би можеле да пројават посилен инфламаторен одговор во споредба со носителите на GCC хаплотипот.

Другите испитувани цитокини во нашата студија не покажаа сигнификантно значајни разлики во однос на контролната група, меѓутоа добиените многу значајни разлики за цитокинските полиморфизми кај пациентите со пародонтална болест наспроти здравите индивидуи кај македонската популација, ни дава за право да го потврдиме силното влијание на генетскиот фактор врз инфламаторниот процес.

Бидејќи нашата цел беше да ја утврдиме генетската поврзаност и кај различните фенотипски модификации на хроничната пародонтопатија, извршивме групирање на болните од пародонтопатија во три групи и тоа према клиничкиот губиток на атачмент. Кај сите овие групи ја спроведовме анализата на цитокинските полиморфизми во споредба со контролната група. Ова го направивме поради препораката од многу автори, дека кај хроничната пародонтопатија се препорачува класификација врз основа на јачина на болеста, изразен преку различниот степен на коскена деструкција, затоа што овој параметар се смета дека има високо релевантно прогностичко значење (142). Идентификацијата на генетскиот ризик фактор за пародонтопатија е комплицирана поради различната фенотипска експресија на болеста и променливите критериуми за нејзино класифицирање. Најновите студии донесуваат релевантни докази дека во зависност од стадиумот на хроничната пародонтопатија, постои степен на хетерогеност во генетскиот ризик фактор (51, 58).

Од аспект на алелската дистрибуција кај иницијалната, умерената и силно изразена форма на пародонтопатија кај нашите испитаници воочивме присутна сигнификантна разлика за IL-4 полиморфизмите кај сите испитувани подгрупи. Меѓутоа кај пациентите со терминален стадиум на пародонтопатија значајни разлики добивме за сите три SNPs полиморфизми на IL-4, каде што T алелот кај IL-4-1082 беше застапен со фреквенција од 0.941 и го немаа само двајца од пациентите. Силно значаен ризик фактор е T алелот од IL-4-33 полиморфизмот кој беше застапен со фреквенција од 0.382 кај испитуваната група со терминален стадиум наспроти 0.163 кај контролната, додека носителите на IL-4-590 /C имаа два пати поголем ризик да развијат пародонтопатија. Кај пациентите со умерена форма на пародонтопатија многу силна значајност добивме само за IL-4-1098 полиморфизмот, каде што T алелот се јави со фреквенција од 0.892 и претставува силен ризик фактор за пародонтопатија кај индивидуите што го поседуваат. Неочекуван беше податокот дека кај иницијалната пародонтопатија, покрај асоцијативната улога на T алелот за IL-4-1098, добивме силна асоцијација и со T алелот од IL-4-33 полиморфизмот, затоа што кај оваа подгрупа предност им даваме на надворешните влијанија во однос на генетскиот фактор, кои сами по себе не се доволни да предизвикаат посилна пародонтална деструкција. Сепак поддршка на овој наш став добивме од фактот дека ниту еден друг цитокин од испитуваните 13 кај иницијалниот стадиум на пародонтопатија по однос на алелската дистрибуција не покажа значајни разлики со контролната група. Scarel (125) во својот труд направил споредба помеѓу алелската и генотипската фреквенција за IL-4 полиморфизмот и не добил значајни разлики помеѓу различните стадиуми на заболувањето.

Што се однесува до анализата на TGF beta 1, кај пациентите со трет клинички стадиум на пародонтопатија добивме силна асоцијативна улога на С алелот како ризик фактор за пародонтопатија и за двата испитувани полиморфизми, додека кај вториот клинички стадиум на пародонтопатија, добивме јака асоцијација за С алелот меѓутоа само за TGFcdn25 полиморфизмот додека кај TGFcdn 10 немаше значајна разлика. Кај иницијалниот стадиум на пародонтопатија не постоеше значајност во дистрибуцијата на полиморфните алели за овој цитокински ген.

Што се однесува до генотипскиот полиморфизам за IL-4 цитокинскиот ген, кај првиот, вториот и третиот клинички стадиум на пародонтопатија, кај IL-4-1098 беше утврдена протективната улога на G:T генотипот, наспроти асоцијативната улога на T:T генотипот, каде што носителите на овој генотип во првиот и вториот клинички стадиум на пародонтопатија се изложени на 6 пати поголем ризик да развијат пародонтопатија, а кај третиот клинички стадиум со 11.68 пати поголем ризик. Заеднички за сите три групи беше и полиморфизмот за IL-4-33 каде што T:T генотипот имаше асоцијативна улога во настанувањето на пародонтопатијата со дури 9 пати поголем ризик за носителите со трет клинички стадиум на пародонтопатија. За IL-4-590 полиморфизмот разлики во однос на контролната група утврдивме само кај третиот клинички стадиум на пародонтопатија и тоа умерено значајна асоцијативна улога на C:C генотипот, наспроти силно сигнификантната протективна улога на C:T генотипот. Овој наш наод укажува дека IL-4 полиморфизмот има значајна улога во приемчивоста кон пародонтопатија кај македонската популација и дека има релација и со развојниот стадиум на болеста.

Прва ваква студија, во која полиморфизмот на IL-4 генот бил ставен во релација со јачината на пародонтопатијата спровел Gonzales (43), меѓутоа тој не нашол асоцијација помеѓу истражуваниот полиморфизам и стадиумот на пародонтопатија кај бразилската популација. Можно е дека различни резултати се појавуваат во различни популации и расни групи. Расните разлики се чести во полиморфниот систем (3) така да различни алели или групи од гени кои имаат интерактивна спрега доведуваат до експресија на различни клинички фенотипови кај различни популации (79). Од сите наши наоди за IL-4 полиморфизмот, како и од наодите на другите автори кои го истражувале, би можеле да кажеме дека е инволвиран во комплексната генетска состојба која ја модифицира фенотипската експресија на IL-4, како биолошки фактор кој има значајна улога во етиопатогенезата на пародонтопатијата.

Дека на стадиумот на пародонтопатија влијае полиморфниот статус на цитокинските гени укажа и фактот што полиморфизмот IL-10-1082 кај нашите испитаници беше присутен само кај терминалниот стадиум на пародонтопатија и тоа сигнификантна беше протективната улога на A:G генотипот. Овој наш наод е во

согласност со наодот на Scarel (123) кој ја потврдил протективната улога на IL-10-1082 за терминален стадиум на пародонтопатија кај белците во неговата студија, а не можел да ја докаже кај другите расни популации кои ги опфатил во своето истражување. Berlungh (7) во својата студија нашол асоцијација помеѓу IL-10-1097 генскиот полиморфизам и силно изразената хронична пародонтопатија кај шведската популација. Sumer (130) во својата студија кај турската популација нашол силна значајност во дистрибуцијата на IL-10-597 алелскиот полиморфизмот на позиција С-А кај пациенти со терминален стадиум на пародонтопатија, наспроти контролната група. Тој исто така укажал на асоцијацијата на СА генотипот кај IL-10-597 полиморфизмот и појавата на силно изразена пародонтопатија кај турската популација.

Интересен беше и податокот што се однесува до застапеноста на TGF полиморфизмот во однос на клиничките стадиуми на пародонтопатијата. Кај првата група не постоеше значајна разлика наспроти контролната со TGF полиморфизмот, што ја потврди нашата претпоставка дека првиот клинички стадиум на пародонтопатија е во релација со влијанието на надворешните етиолошки фактори повеќе отколку со генетскиот беграунд. Овој полиморфизам имаше значајна улога во вториот и третиот клинички стадиум на пародонтопатија и тоа, TGF beta 1 cdn25 C: G генотипот имаше асоцијативна улога, со 3.63 пати поголем ризик кај умерениот стадиум, наспроти 7.57 пати поголемиот ризик кај терминалниот стадиум на пародонтопатија. Наспроти овој наш наод, хомозиготниот G:G генотип имаше високо значајна протективна улога наспроти пародонталната болест и се јави со 89.3% кај контролната група, наспроти 69.8%, кај вториот клинички стадиум и 47.5% кај третиот клинички стадиум на пародонтопатија.

TGF beta 1 cdn10 полиморфизмот имаше значајни разлики во дистрибуцијата само кај терминалниот стадиум на пародонтопатија, и тоа C:C генотипот имаше високо значајна асоцијативна улога и се јави кај 55% од испитуваната група, наспроти протективната улога на C:T генотипот кој беше застапен со 55.5% кај контролната група. Со овој наш наод ја промовираме улогата на полиморфизмот на TGF beta 1 генот како маркер за фенотипската експресија на TGF која што е во корелација со степенот на коскена деструкција, затоа што има значајна улога во репаративниот процес на сврзното ткиво.

TGF како анаболен цитокин во пародонталното ткиво се јавува како реакција на хронично присуство на липополисахаридите (LPS) од бактериските клетки, се излучува главно од моноцитите и фибробластите и заедно со FGF (fibroblast grow factor), и IGF како и BMPs учествува во оркестрирањето на реизградбата на екстрацелуларниот матрикс, преку промоција на секрецијата на колаген и гликозааминогликани. Улогата на TGF е многу важна во заздравување на раните и со неговата активност се вградува во новите аспекти за регенеративна терапија во третманот

на пародонталната болест.

Интересен е и нашиот наод за улогата на IL-1B -511, каде што во првиот клинички стадиум на пародонтопатија С:Т генотипот имаше асоцијативна улога, а во вториот клинички стадиум С:С генотипот имаше протективна улога, додека овој полиморфизам немаше сигнификантна улога во третиот клинички стадиум на пародонтопатијата. Во литературата постојат најмногубројни и доста контрадикторни наоди за улогата на овој генски полиморфизам во етиопатогенезата на пародонтопатијата (33, 34, 136).

Кај првиот клинички стадиум на пародонтопатија добивме значаен резултат за IL-12B-1188 полиморфизмот и тоа протективна улога на А:С генотипот наспроти асоцијативната улога на С:С генотипот. Овој наш наод го објаснуваме со фактот дека интерлеукинот 12 е дел од вродениот имун систем и тој се јавува во улога на стимулатор на гама интерферон од клетките, влијае на Т-Ly да се диференцираат во Th-1 клетки и ја зголемува цитолитичната функција кај CD-8/T-Ly. Кај првиот клинички стадиум на пародонтопатија од големо значење е вродениот имунитет на организмите, кој што влијае на исходот на имуно-инфламаторната реакција со перипатогените и го условува понатамошниот тек на пародонталната деструкција.

Во однос на анализа на хаплотипскиот статус, сумарната анализа за сите три клинички стадиуми на пародонтопатија ја покажа инволвираноста на IL-4 генскиот полиморфизам со клиничкиот стадиум на заболувањето.

Кај иницијалната пародонтопатија протективна улога имаше GСС хаплотипот наспроти силно сигнификантната асоцијативна улога на ТСТ хаплотипот каде што носителите на овој хаплотип имаа 19.19 пати поголем ризик да развијат пародонтопатија што се гледа и од неговата дистрибуција од 0.136 кај испитуваната група, наспроти само 0.007 кај контролната група.

Кај вториот стадиум на пародонтопатија исто така добивме 12.53 пати поголем ризик од пародонтопатија за носителите на ТСТ хаплотипот за кој имавме дистрибуција од 0.081 кај испитуваната наспроти 0.007 кај контролната група. Кај оваа група добивме и асоцијативна улога на ТСС хаплотипот, наспроти докажаната протективна на GСС, кој го имаше три пати повеќе кај контролната отколку кај испитуваната група.

И кај третиот клинички стадиум на пародонтопатија се потврди силната асоцијативна улога на ТСТ хаплотипот кој што беше застапен со 0.206 кај испитуваната група и беше асоциран со 36.81 пати поголем ризик од пародонтопатија. Интересен беше и податокот за протективната улога на ТТС хаплотипот, кој што имаше повисоки вредности за контролната група и во двата претходни стадиуми на пародонтопатија, меѓутоа кај третиот покажа високо значајна разлика во дистрибуцијата и се јави кај само два испитаника од терминалниот стадиум на пародонтопатија наспроти 110 носители кај контролната група. Ова укажува на фактот

дека постои силна асоцијација на цитокинскиот генски полиморфизам на IL-4 и стадиумите на хроничната пародонтопатија.

Од анализата на нашите наоди, значајност за TGF beta 1 најдовме за вториот и третиот стадиум на пародонтопатија и тоа асоцијативна улога за CC хаплотипот со 2.88 и 6.73 пати поголем ризик од заболувањето, додека TG покажа значајна протективна улога само кај третиот клинички стадиум на пародонтопатија, каде што се јави со дистрибуција од 0.394 кај испитуваната група, наспроти 0.502 кај контролната. TGF како дел од стекнатиот имунитет има улога во етиопатогенезата на хронични заболувања особено во регенеративните способности на ткивото како одговор на некој деструктивен процес, па така нашиот наод за различната дистрибуција на овој полиморфизам го прават TGF beta 1 генот можеен маркер во степенот на деструкција на пародонталното ткиво, односно фенотипските варијации на пародонтопатијата.

IL-10 како дел од вродениот имунитет има главна улога во инхибиција на вродениот и на стекнатиот имунитет кон воспалението, што би можело да значи дека негова пореметена биолошка вредност би довела до неконтролирано јака инфламаторна реакција од која ќе произлезе и автодеструкција. Затоа е логичен нашиот наод за постоење на полиморфизам на IL-10-генот кој што условува различна фенотипска експресија на IL-10 и доведува до различен степен на коскена деструкција кај пародонтопатијата. Асоцијација добивме за ATС хаплотипот само кај третиот клинички стадиум на пародонтопатија, каде што носителите на овој хаплотип имаат 10.77 пати поголем ризик да развијат пародонтопатија. Овој наш наод е во согласност со наодот на Scarel кој нашол значаен процент на ATС хаплотипот кај испитуваната група со хронична пародонтопатија за IL-10 полиморфизмот, за разлика од ACC хаплотипот кој што имал предоминантно место кај контролната група.

Во однос на дистрибуцијата на хаплотипните зиготи за IL-2 цитокинскиот полиморфизам, кај првиот стадиум на пародонтопатија добивме значајна разлика за IL-2/GG:GG генотипот, кој што укажуваше на 3.61 пати поголем ризик за развој на пародонтопатија за носителите на овој генотип.

Овој наш наод е контрадикторен со наодот на Scarel (124) кој што не нашол значајност на разликите кај иницијална пародонтопатија за IL-2 полиморфизмот, меѓутоа неговиот наод ја потврдил асоцијативната улога на GG хомозиготите кај умерената и силно изразена форма на пародонтопатија, каде што носителите на TT генотипот биле 2.5 пати помалку изложени на ризикот да развијат пародонтопатија во однос на GG хомозиготите. Интересно е да се забележи дека TT е најфреквентниот генотип за IL-2 во студијата на Scarel (124) кај Бразилската популација, исто како и во студијата на John (52) за белците во Велика Британија. Во овој случај битно е да се каже дека бразилската популација е високо хетерогена

и има индивидуи со американско, афричко и европско потекло. Бидејќи расните разлики се чести во полиморфните системи (134) можно е дека генскиот маркер кој е користен во оваа студија има различна корелација со прогресијата на пародонталното заболување кај други популации или расни групи.

За IL-4 хаплотипскиот полиморфизам добивме значајни резултати кај сите три испитувани групи. IL-4/TCT:TTT имаше силна асоцијација со пародонтопатијата во сите три стадиуми од болеста со 17 пати поголем ризик кај првиот клинички стадиум, па се до 30 пати поголем ризик кај терминалниот стадиум на пародонтопатијата каде што носителство на овој композитен генотип имаа 29.4% од испитуваната група наспроти само 1.4% од контролната група. Интересно кај нашиот наод за IL-4 полиморфизмот е што кај терминалниот стадиум на пародонтопатија немаше значајно присуство на протективниот композитен генотип GCC:TTC, кој што е сигнификантно застапен кај првиот и вториот клинички стадиум на пародонтопатија и во нашите наоди укажува на заклучокот дека присуството на одредени протективни или асоцијативни композитни генотипови за IL-4 полиморфизмот имаат силно влијание врз развивањето на различен степен на пародонтална деструкција.

Од анализата на IL-10 генскиот полиморфизам асоцијација добивме за ACC:ATA генотипот кај вториот клинички стадиум на пародонтопатија и GCC:ACA генотипот кај терминалниот стадиум на пародонтопатија, што е спротивно на наодот на Scarel (123) и со наодот на Gonzales (44) кој што протективна улога му дава на GCC/ACC хетерозиготниот генотип.

Прва патолошка промена кај гингивитот и пародонтопатијата претставува васкулитот на малите крвни садови длабоко во сврзното ткиво (74). Васкуларната проодност многу се подобрува што резултира во преминување на сите крвни компоненти во сврзното ткиво (22). Серумските компоненти го преплавуваат сврзното ткиво донесувајќи ги сите компоненти на комплементот, плазмини, кинини и други плазма протеази на местото на инфламацијата. Голем број на полиморфонуклеарни леукоцити поминуваат во зафатеното ткиво и влегуваат во сулкусот или џебот. Со време В и Т лимфоцитите и макрофагите, од кои многу покажуваат морфологија на трансформирачки клетки, доминираат во инфилтратот, а после тоа следи појава на голем број плазма клетки. Иако продуктите на бактериите кои го колонизираат денталниот плак ги предизвикуваат овие настани (50), како медијатори на инфламација се вклучуваат и цитокините и производите на арахноидонска киселина кои го движат и појачуваат процесот. Крајната клиничка манифестација на овие настани е акутно и хронично воспаление (74).

Комплексната интеракција помеѓу цитокиниот генски полиморфизам и етиопатогенезата на пародонталната болест претставува современ тренд во светските научно - истражувачки кругови. Во најсовремената стручно-научна литература постојат податоци што укажуваат на веројатно многу важната улога на генскиот полиморфизам во патогенезата на општите хронични заболувања, па и пародонтопатијата како едно од нив, што претставува голем предизвик за експлорација на ова поле.

Со резултатите од нашата студија ќе добиеме за прв пат сознанија за цитокиниот генски полиморфизам и неговата дистрибуција кај македонската популација, како и неговото влијание врз степенот на ткивната деструкција и интензитетот на инфламацијата кај пародонталната болест, како едно хронично заболување, кај кое мултиплите генетски фактори имплицираат сигнификантен клинички ризик. Сознанијата извлечени од ова истражување заедно со понатамошната суптилна анализа на добиените резултати од нашата студија, ќе отворат простор за нов терапевски пристап кај генски сукцептибилните индивидуи.

Генските варијабилности на цитокинските гени кај индивидуите имаат влијание врз системското ниво на инфламаторните медијатори преку кои го одредуваат степенот и јачината на инфламаторниот одговор кај пародонталната афекција со периопатогени. Докажаните најчести високо-ризични полиморфизми, се наследуваат со генерации и создаваат кумулативни ефекти кои оформуваат еден високо-ризичен генетски профил. За негово дефинитивно оформување кај пародонталната болест, потребни се поопсежни студии спроведени врз различни популации и строго определени критериуми за дијагностичката постапка.

Потврдувањето на поврзаноста помеѓу генетичката предиспонираност и пародонталната болест во иднина ќе резултира во генотипизирање кое би било применувано кај сите пациенти со пародонтопатија во различните клинички стадиуми на болеста од различни аспекти:

- ◆ кај пациенти со рани знаци на пародонтопатија тестирањето би довело до прецизно детерминирање на терапевтскиот протокол што би довело до минимизирање на понатамошната прогресија на болеста и губење на забите

- ◆ кај пациенти во тек на пародонтолошки третман тестирањето би дало информација за одредување на поагресивен третман кај генотип позитивните пациенти и би помогнало во одредување на нивото на пародонтален и инфламаторен ризик при реставративна или имплант терапијата;

◆ кај пациенти кои се резистентни на пародонтална терапија, ако се генотип позитивни информацијата може да ги мотивира да ги редуцираат надворешните ризик фактори колку што е можно повеќе (домашна грижа-пофреквентно и квалитетно одржување на орална хигиена, со употреба на дополнителни помошни средства; почести посети на стоматолог; престанок со пушење итн);

◆ кај сите стоматолошки пациенти без знаци на пародонтопатија, како дел од иницијалното испитување и објективизација на нивниот ризик за појава на пародонтопатија, а со цел за превенција или навремена интервенција.

Следејќи ги поставените цели , по анализата на добиените резултати од испитувањето можеме да ги изведеме следните заклучоци во врска со:

7.1. Цитокинскиот полиморфизам и пародонтопатијата како ентитет

Најдовме асоцијативна улога кај пародонтопатијата кај македонската популација и

- цитокинските алели (TGF- β 1 cdn10/T, TGF- β 1 cdn25/G, IL-4-1098/G, IL-4-33/C)
- цитокинските генотипови (IL-12B-1188/A:C , TGF- β 1 cdn10/C:T, TGF- β 1 cdn25/G:G, IL-2-330/G:T, IL-4-1098/G:T, IL-4-590/C:T, IL-4-33/C:T, IL-10-1082/A:G)
- цитокинските хаплотипови (TGF- β 1 /TG, TNF- α /GA, IL-4/GCC, IL-4/TTC)
- цитокинските хаплотипни зиготи (TGF- β 1/CG:TG, IL-2/GG:TG, IL-4/GCC:TCC, IL-10/ATA:GCC)

Најдовме асоцијативна улога кај пародонтопатијата кај македонската популација и

- цитокинските алели (TGF- β 1 cdn10/C, TGF- β 1 cdn25/C, IL-4-1098/T, IL-4-33/T)
- цитокинските генотипови (IL-12B-1188/C:T, TGF- β 1 cdn10/C :C, TGF- β 1 cdn25/C :G, IL-2-330/G :G, IL-4-1098/T :T, IL-4-33/T :T, IL-10-1098/G :G)
- цитокинските хаплотипови (TGF- β 1/CC, IL-4/TCC, IL-4/TCT, IL-10-ATC)
- цитокинските хаплотипни зиготи (TGF- β 1CC:CG, IL-2GG:GG, IL-4/TTC:TCC, IL-4/TCT:TTT, IL-10/ACC:ATA, IL-10/GCC:GCC)

Кај останатите испитувани цитокински полиморфизми не добивме значајни резултати.

7.2. Цитокинскиот полиморфизам и фенотипската експресија на пародонтопатијата проследена преку различните стадиуми од аспект на клинички губиток на атачмент

Најдовме пројективна улога кај првиот клинички стадиум на пародонтопатијата (ПАР01) кај македонската популација и

- цитокинските алели (IL-4-1098/G , IL-4-33/C)
- цитокинските генотипови (IL-12B-1188/A :C, IL-4-1098/G :T)
- цитокинските хаплотипови (IL-2/TG, IL-4/GCC)
- цитокинските хаплотипни зиготи (IL-4/GCC:TTC)

Најдовме асоцијативна улога кај првиот клинички стадиум на пародонтопатијата (ПАР01) кај македонската популација и

- цитокинските алели (IL-4-1098/T , IL-4-33/T)
- цитокинските генотипови (IL-1 β -511/C :T, IL-12B-1188/C:C, IL-2-330/G:G, IL-4-1098/T:T, IL-4/T:T)
- цитокинските хаплотипови (IL-4/TCT)
- цитокинските хаплотипни зиготи (IL-2/GG:GG, IL-4/TCT:TTT)

Најдовме пројективна улога кај вториот клинички стадиум на пародонтопатијата (ПАР02) кај македонската популација и

- цитокинските алели (TGF- β 1 cdn25/G, IL-4-1098/G)
- цитокинските генотипови (IL-1 β -511/C:C, TGF- β 1 cdn25/G:G, IL-4-1098/G:T)
- цитокинските хаплотипови (IL-4/GCC:TCT)
- цитокинските хаплотипни зиготи (IL-4/GCC:TTC)

Најдовме асоцијативна улога кај вториот клинички стадиум на пародонтопатијата (ПАР02) кај македонската популација и

- цитокинските алели (TGF- β 1 cdn25/C, IL-4-1098/T)
- цитокинските генотипови (IL-1RAmspa111100/T :T, TGF- β 1 cdn25/C:G, IL-4-1098/T:T, IL-4-33/T:T)
- цитокинските хаплотипови (TGF- β 1/CC, IL-4/TCC, IL-4/TCT)
- цитокинските хаплотипни зиготи (TGF- β 1/CC:CG, IL-4/TTC:TCC, IL-4/TCT:TTT, IL-10/ACC:ATA)

*Најдовме асоцијативна улога кај иррејниот клинички стадиум на пародон-
топатијата (ПАРОЗ) кај македонската популација и*

- цитокинските алели (TGF- β 1 cdn10/T, TGF- β 1 cdn25/G, IL-4-590/T, IL-4-33/C)
- цитокинските генотипови (IL-12B-1188/A :C, TGF- β 1 cdn10/C:T, TGF- β 1 cdn25/
G:G, IL-4-1098/G:T, IL-4-590/C:T, IL-10-1082/A:G)
- цитокинските хаплотипови (TGF- β 1/TG, IL-4/TCC)
- цитокинските хаплотипни зиготи (TGF- β 1/CG:TG)

*Најдовме асоцијативна улога кај иррејниот клинички стадиум на пародонтопа-
тијата (ПАРОЗ) кај македонската популација и*

- цитокинските алели (TGF- β 1 cdn10/C, TGF- β 1 cdn25/C, IL-4-590/C, IL-4-33/T)
- цитокинските генотипови (TGF- β 1 cdn10/C:C, TGF- β 1 cdn25/C:G, IL-4-1098/T:T,
IL-4-590/C:C, IL-4-33/T:T)
- цитокинските хаплотипови (TGF- β 1/CC, IL-4/TCC, IL-4/TCT, IL-10/ATC)
- цитокинските хаплотипни зиготи (TGF- β 1/CC:CG, IL-4/TCC:TCC, IL-4/TCT:TTT,
IL-4/GTT:TCC, IL-10/GCC:ACA)

Кај останатите испитувани цитокински полиморфизми не добивме значајни резултати.

Од сите изведени досегашни заклучоци во можност сме да понудиме **генерален заклучок**:

Хроничната пародонтопатија кај македонската популација е во корелација со полиморфизмот кај алелите, генотиповите, хаплотиповите и хаплотипните зиготи кај следниве испитувани цитокински гени (IL-1B, IL-1RA, TGF-1, TNF, IL-2, IL-4, IL-10, IL-12B).

Интензитетот (позитивната односно негативната асоцијација) е различно асоциран кај трите стадиуми на пародонтопатијата.

Нашите резултати кај Македонската популација се разликуваат во некои полиморфизми од другите популации во светот и можат да се искористат за мета анализа на секој поединечен полиморфизам во светски рамки.

Корисните генетски информации се од непроценливо значење во терапевтските стратегии насочени кон превенирањето на развојот на пародонтопатијата. Имено практичната примена на генетската предиспозиција би понудила потенцијални промени во раното детектирање, природот и третманот на пародонталната болест.

1. Aithal GP, Craggs A, Day CP, Welfare M, Daly A, Mansfield JC, et al. (2001). Role of polymorphisms in the interleukin-10 gene in determining disease susceptibility and phenotype in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 46:1520-1525.
2. Al-Rasheed, A., Scheerens, H., Rennick, D. M., Fletcher, H. M. & Tatakis, D. N. (2003) Accelerated alveolar bone loss in mice lacking interleukin-10. *Journal of Dental Research* 82, 632-635.
3. Anusaksathien, O., Sukboon, A., Sitthiphong, P. & Teanpaisan, R. (2003) Distribution of interleukin-1beta (+3954) and IL-1alpha (-889) genetic variations in a Thai population group. *Journal of Periodontology* 74, 1796-1802.
4. Assuma R, Oates T, Cohran D, et al IL-1 and TNF antagonist inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J Immunol* 1998;160:404-409
5. Armitagea G. C. Wu Y. Wang H. Y et al Low prevalence of a periodontitis - associated IL 1 composite genotype in individuals of Chinese heritage. *J Periodontol.* 71 (2000) 164-171
6. Babel N, Cherepnev G Babel D, et al. Analysis of tumor necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta, interleukin-10, IL-6, and interferon-gamma gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2006 Dec;77(12):1978-83.
7. Berglundh, T., Donati, M., Hahn-Zoric, M., Hanson, L. A. & Padyukov, L. (2003) Association of the - 1087 IL 10 gene polymorphism with severe chronic periodontitis in Swedish Caucasians. *Journal of Clinical Periodontology* 30, 249-254.
8. Birkedal-Hansen, H. (1993) Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *Journal of periodontal Research* 28, 500-510.
9. Bouma, G., Crusius, J. B., Oudkerk Pool, M., Kolkman, J. J., von Blomberg, B. M., Kostense, P. J., Giphart, M. J., Schreuder, G. M., Meuwissen, S. G. & Pena, A. S. (1996) Secretion of tumour necrosis factor alpha and lymphotoxin alpha in relation to polymorphisms in the TNF genes and HLA-DR alleles. Relevance for inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Immunology* 43, 456-463.
10. Brown TA Isolation of DNA by SDS-proteinase K treatment. *Essential Molecular Biology*, Vol No1. Oxford University Press Inc., New York, 1995. pg.52-3.
11. Baker J.P., Roopenian C.D. Genetic susceptibility to chronic periodontal disease *Microbes and Infection* 4 (2002) 1157-1167
12. Bazrafshani MR.Hajeer AH, Olliver WER , et al IL-1B and IL-6 gene polymorphisms encode significant risk for the development of recurrentaphtous stomatitis. (RAS). *Genes Immun* 2002;3:302-305

13. Birkedal-Hansen H. Role of cytokine and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodont Res* 1993;28:500-510.
14. Beutler B. Cerami A. The biology of cachectin/TNF-alpha primary mediator of the host response. *Ann Rev Immunol* 1989;7:625-655.
15. Bret P.M., Zygianni G.S. Tomaz M. et al Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis *J.Dent.Res* 84(12):1149-1153, 2005
16. Cattabriga M, Rotundo R, Muzzi L., et al Retrospective evaluation of the influence of the IL-1 genotype on radiographic bone levels in treated periodontal patients over 10 years. *J Periodontol* 2001;72:763-773
17. Caffesse RG. R de la Rosa M, G de la Rosa M. PST genotypes in a periodontally healthy population treated for mucogingival surgery (abstract) *J Dent Res* 1998;77(b):872
18. Cheng-Meei Liu, Lein-Tuan Hou, Man-Ying Wong, Edward F. Rossomando Relationships between clinical parameters, interleukin 1 beta and histopathologic findings of gingival tissue in periodontitis patients. *Cytokine*, vol 8, No 2 (February) 1996:pp161-167
19. Christgau, M., Aslanidis, C., Felden, A., Hiller, K. A., Schmitz, G. & Schmalz, G. (2003) Influence of interleukin-1 gene polymorphism on periodontal regeneration in intrabony defects. *Journal of Periodontal Research* 38, 20-27.
20. Craandijk, J., van Krugten, M. V., Verweij, C. L., van der Velden, U. & Loos, B. G. (2002) Tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms in relation to periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 29, 28-34.
21. Cullinan, M. P., Westerman, B., Hamlet, S. M., Palmer, J. E., Faddy, M. J., Lang, N. P. & Seymour, G. J. (2001) A longitudinal study of interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal disease in a general adult population . *Journal of Clinical periodontology* 28, 1137-1144.
22. Cutler, C. W., Stanford, T. W., Abraham, C., Cederberg, R. A., Boardman, T. J. & Ross, C. (2000) Clinical benefits of oral irrigation for periodontitis are related to reduction of proinflammatory cytokine levels and plaque. *Journal of Clinical Periodontology* 27, 134-143.
23. D'Aiuto, F., Parkar, M., Brett, P. M., Ready, D. & Tonetti, M. S. (2004) Gene polymorphisms in pro-inflammatory cytokines are associated with systemic inflammation in patients with severe periodontal infections. *Cytokine* 28, 29-34.
24. Di Giovine FS. Duff GW. Interleukin-1- the first interleukin. *Immunol Today* 1990;1:13-20
25. Di Giovine FS. Cork MJ. Crane A, et al. Novel genetic association of an IL-1 beta gene variation a +3953 with IL-1 beta protein production and psoriasis (abstract) *Cytokine* 1995;7:606.

26. Di Giovine FS, Takhsh E, Blakemore AI, Duff GW (1992). Single base polymorphism at-511 in the human interleukin-1 beta gene (IL1 beta). *Hum Mol Genet* 1:450.
27. Diehl, S. R., Wang, Y., Brooks, C. N., Burmeister, J. A., Califano, J. V., Wang, S & Schenkein, H. A. (1999) Linkage disequilibrium of interleukin-1 genetic polymorphisms with early-onset periodontitis. *Journal of Periodontology* 70, 418-430.
28. De Santis M, Zuccelli G. Interleukin 1 gene polymorphism and long term stability following guided tissue regeneration therapy. *J Periodontol* 2000;71:606-613.
29. De Souza, A. P., Trevilatto, P.C., Scarel-Caminaga, R. M., de Brito, R. B. & Line, S. R. (2003b) Analysis of the TGF- beta1 promoter polymorphism (C-509T) in patients with chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 30, 519-523.
30. Eassmann, A., Holla, L. I., Buckova, D., Vasku, A., Znojil, V. & Vanek, J. (2003) Polymorphisms in the +252 (A/G) lymphotoxin-alpha and the -308 (A/G) tumor necrosis factor-alpha genes and susceptibility to chronic periodontitis in a Czech Population. *Journal of Periodontal Research* 38, 394-399.
31. Ehmke, B., Kress, W., Karch, H., Grimm, T., Klaiber, B. & Flemmig, T. F. (1999) Interleukin-1 haplotype and periodontal disease progression following therapy. *Journal of Clinical Periodontology* 26, 810-813.
32. Endo, M., Tai, H., Tabeta, K., Kobayashi, T., Yamazaki, K & Yoshie, H. (2001) Analysis of single nucleotide polymorphisms in the 5'-flanking region of tumor necrosis factor-alpha gene in Japanese patients with early-onset periodontitis. *Journal of Periodontology* 72, 1554-1559.
33. Engebretson, S. P., Grbic, J. T., Singer, R. & Lamster, I. B. (2002) GCF IL-1beta profiles in periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* 29, 48-53.
34. Engebretson SP, Lamster IB, Herrera-Abreu M. The influence of IL-1 beta polymorphisms on expression of IL-1 beta and tumor necrosis factor alpha in periodontal tissue and gingival crevicular fluid. *J Periodontol* 1999;70:567-573
35. Feloutzis, A., Lang, N. P., Tonetti, M. S., Buring, W., Bragger, U., Buser, D., Duff, G. W. & Kornman, K. S. (2003) IL-1 gene polymorphism and smoking as risk factors for peri-implant bone loss in a well-maintained population. *Clinical Oral Implants Research* 14, 10-17.
36. Folwaczny, M., Glas, J., Torok, H. P., Mende, M. & Folwaczny, C. (2004) Lack of association between the TnF alpha G -308 A promoter polymorphism and periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* 31 449-453.
37. Francis S, Camp N, Dewberry R, et al. Interleukin 1 gene polymorphism and coronary artery disease. *Circulation* 1999;99:861-866

38. Fu Y, Korostoff JM, Fine DH, Wilson ME Fcy receptor genes as risk markers for localized aggressive periodontitis in African Americans. *J Periodontol* 2002;73:517-523.
39. Galbraith, G. M., Steed, R. B., Sanders, J. J. & Pandey, J. P. (1998) Tumor necrosis factor alpha production by oral leukocytes: influence of tumor necrosis factor genotype. *Journal of Periodontology* 69, 428-433
40. Galbraith GM, Hendley TM, Sanders JJ et al Polymorphic cytokine genotypes as markers of disease severity in adult periodontitis *J Clin Periodontol* 1999;26:781-785
41. Gemmell, E. Seymour, G. J. (2004) Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontology* 2000 35, 21-41.
42. Genco R. J. van Dyke T. E. Levine R.D. et al Molecular factors influencing neutrophil defects in periodontal diseases *J Dent Res.* 65 1986 1379-1391
43. Gonzales, J. R., Kobayashi, t., Michel, J., Mann, M., Yoshie, H. & Meyle, J. (2004) Interleukin-4 gene polymorphisms in Japanese and Caucasian patients with aggressive periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 31 384-389.
44. Gonzales, J. R., Michel, J., Dietsch, A., Hermann, J. M., Bodeker, R. H. & Meyle, J. (2002) Analysis of genetic polymorphisms at the interleukin-10 loci in aggressive and chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 29, 816-822.
45. Gonzales, J. R., Mitchell, J., Rodriguez, E. L., Herrmann, J. M., Bodeker, R. H. & Meyle, J. (2003) Comparison of interleukin-1 genotypes in two populations with aggressive periodontitis. *European Journal of Oral Sciences* 111, 395-399.
46. Goodson, J. M., Plays, M. D. & Socransky, S. S. (2000) Gingival bleeding accentuated by plaque in healthy IL-1 (+) genotype subjects. *Journal of Dental Research* 79 (Abstract 211), 171.
47. Gore, E. A., Sandres, J. J., Pandey, J. P., Palsch, Y. & Galbraith, G. M. (1998) Interleukin-1beta+3953 allele 2: association with disease status in adult periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 25, 781-785.
48. Graves, D. T. & Cochran, D. (2003) The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *Journal of Periodontology* 74, 391-401
49. Greenstein G, Hart TC. A critical assessment of interleukin-1 genotyping when used in a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis. *J Periodontol* 2002;73:231-247.
50. Gwinn MR, Sharma A., De Nardin E. Sequence analysis of chemotactic receptor DNA in LJP. *J Dent. Res* 1998;77:648.

51. Johan C. Wohlfahrt, Tianxia Wu, James S.Hodges, James E.Hinrichs, and Bryan S. Michalowicz. No Association Between Selected Candidate Gene Polymorphisms and Severe Chronic Periodontitis. *J. Periodontol* 2006; 77:426-436.
52. John S., Turner D, Donn R., et al Two novel biallelic polymorphisms in the IL-2 gene. *European Journal of Immunogenetics* 25, 419-420.
53. Haffaje AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontology* 2000 1994;5:78-111.
54. Hart TC, Kornman KS. Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontology* 2000 1997 ;14:202-15.
55. Hart TC. Genetic risk factors for early-onset periodontitis. *J Periodontol* 1996; 67:355-66.
56. Hassell TM, Harris EL. Genetic influences in caries and periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med* 1995;6(4):319-42.
57. Hodge PJ, Riggio MP, Kinane df. Failure to detect an association with IL-1 genotypes in European Caucasians with generalized early onset periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001;28:430-436.
58. Holla, L. I., Fassmann, A., Stejskalova, A., Znojil, V., Vanek, J. & Vacha, J. (2004) Analysis of the interleukin-6 gene promoter polymorphisms in Czech patients with chronic periodontitis. *Journal of Periodontology* 75, 30-36.
59. Honig, J., Rordorf-Adam, C., Siegmund, C., Wiedemann, W. & Erard, F. (1989) Increased interleukin-1 beta (IL-1 beta) concentration in gingival tissue from periodontitis patients. *Journal of Periodontal Research* 24, 362-367
60. Jepsen, S., Eberhard, J., Fricke, D., Hedderich, J., Siebert, R. & Acil, Y. (2003) Interleukin-1 gene polymorphisms and experimental gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology* 30, 102-106.
61. Jepsen S, Lohnert S, Acil Y, et al .The interleukin-1 genotype and experimental gingivitis. *J ClinPeriodontol* 2000;27:21.
62. Komatsu Y, Tai H, Galicia J.C., Shimada Y, Endo M, Akazawa K, Yamazaki K, Yoshie H. Interleukin-6 (IL-6) – 373 A9T11 allele is associated with reduced susceptibility to chronic periodontitis in Japanese subjects and decreased serum IL-6 level.
63. Kang, B. Y., Choi, Y. K., Choi, W. H., Kim, K. T., Choi, S. S., Kim, K. & Ha, N. J. (2003) Two polymorphisms of interleukin-4 gene in Korean adult periodontitis. *Archives of Pharmacal Research* 26, 482-486.
64. Kinane, D. F. & Hart, T. C. (2003) Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 14, 430-449.

65. Kinane, D. F., Hodge, P., Eskdale, J., Ellis, R. & Gallagher, G. (1999) Analysis of genetic polymorphisms at the interleukin-10 and tumour necrosis factor loci in early-on set periodontitis. *Journal of Periodontal Research* 34, 379-386.
66. Kornman KS Crane A, Wang H-Y, et al. The interleukin 1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 1997;27:72-7
67. Kornman, K. S., Crane, A., Wang, H. Y., di Giovine, F. S., Newman, M. G., Pirk, F. W., Wilson, T. G. Jr., Higginbottom, F. L. & Duff, G. W. (1997a) The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* 24, 72-77.
68. Kornman KS, di Giovine FS. Genetic variations in cytokine expression: a risk factor for severity of adult periodontitis. *Ann. Periodontol* 1998;3(1):327-38.
69. Kobayashi T, Westerdaal NA, Miyazaki A, Relevance of IgG Fc receptor polymorphism to recurrence of adult periodontitis in Japanese patients. *Infect Immun* 1997;65(9):3556-60.
70. Kobayashi T, van der Pol WL, van de Winkel JG, Hara K, Suigita N, Westerdaal NA, Yoshie H, Horigome T. Relevance of IgG receptor III b (CD16) polymorphism to handling of *Porphyromonas gingivalis*: implications for the pathogenesis of adult periodontitis. *J Periodontal Res* 2000;35:65-73.
71. Kobayashi, T., Sugita, N., van der Pol, W. L., Nunokawa, Y., Westerdaal, N. A., Yamamoto, K., van de Winkel, J. G. & Yoshie, H. (2000) The Fc gamma receptor genotype as a risk factor for generalized early-onset periodontitis in Japanese patients. *Journal of Periodontology* 71, 1425-1432.
72. Kobayashi, T., Westerdaal, N. A., Miyazaki, A., van der Pol, W. L., Suzuki, T., Yoshie, H., van de Winkel, J. G. & Hara, K. (1997) Relevance of immunoglobulin G Fc receptor polymorphism to recurrence of adult periodontitis in Japanese patients. *Infection and Immunity* 65, 3556-3560.
73. Kobayashi, T., Yamamoto, K., Sugita, N., van der Pol, W. L., Yasuda, K., Kaneko, S., van de Winkel, J. G. & Yoshie, H. (2001) The Fc gamma receptor genotype as a severity factor for chronic periodontitis in Japanese patients. *Journal of Periodontology* 72, 1324-1331.
74. Kinane DF, Hodge P, Eskdale J, Ellis R, Gallagher G (1999). Analysis of genetic polymorphisms at the interleukin-10 and tumour necrosis factor loci in early-onset periodontitis. *J Periodontal Res* 34:379-386.
75. Komatsu Y, Tai H, Galicia J.C., Shimada Y, Endo M, Akazawa K, Yamazaki K, Yoshie H. Interleukin-6 (IL-6) – 373 A9T11 allele is associated with reduced susceptibility to chronic periodontitis in Japanese subjects and decreased serum IL-6 level.
76. King RA, Rotter JI, Motulsky AG. The approach to genetic bases of common diseases. In: King RA, Rotter JI, Motulsky AG, editors. *The genetic basis of common diseases*. New York: Oxford University inc.;1992.

77. Laine ML, Farre MA, Gonzales G, van Duke LJ, Ham AJ, Winnel EG, Crusius JB, Vanderbrocke JP, van Winkel hoff AS, Pena AS. Polymorphisms of the interleukin 1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis. *J. Dent. Res.* 2001 Aug; 80(8):1695-9.
78. Lang NP, Tonetti MS, Suter J, Duff GW, Kornman KS. Effect of interleukin-1 gene polymorphisms on gingival inflammation assessed by bleeding on probing in a periodontal maintenance population. *J Periodontol* 2000; 35:102-107.
79. Loos, B. G., Leppers-Van de Straat, F. G., Van de Winkel, J. G. & Van der Velden, U. (2003) Fc gamma receptor polymorphisms in relation to periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 30, 595-602.
80. Loe H., Silness J.: Periodontal disease in pregnancy I Prevalence and severity *Acta Odont. Scand.* 21:553 1963.
81. Lee HJ, Kang IK, Chung CP, Choi SM. The subgingival microflora and gingival crevicular fluid cytokines in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol* 1995; 22:885-90
82. Loe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14-46 years of age. *J Clin Periodontol* 1986; 13(5):431-435.
83. Louie LG, Silver EW, Direskeneli GS, Schmelzer K, Kearney FC, Crowley J, et al. Worldwide variation in cytokine genes. In: Hansen JA, Dupont B, editor. *HLA 2004: immunobiology of the human MHC. Proceedings of the 13th International Histocompatibility Workshop and Congress.* Seattle (WA): INWG Press; 2004.
84. Lui C-M, Hou L-T, Wong M-Y, Rossomando EF. Relationship between clinical parameters, interleukin 1 B and histopathologic findings of gingival tissue in periodontitis patients. *Cytokine* 1996; 8:161-7
85. Lydie Izakovicova Holla, Antonin Fassmann, Andrea Stojskalova, Vladimir Znojil, Jiri Vanek, and Jiri Vacha. Analysis of the Interleukin – 6 Gene Promotor Polymorphisms in Czech Patients with Chronic Periodontitis. *J. Periodontol* 2004; 75:30-36.
86. Mark LI, Haffajee AD, Socransky SS, Kent RL Jr, Guerrero D, Kornman K, Newman M, Stashenko P. Effect of the interleukin 1 genotype on monocyte IL-1 beta expression in subjects with adult periodontitis. *J Periodontol* 2000; 35:172-177.
87. Malo D, Skamene E. Genetic control of host resistance to infection. *Trends Genet* 1994; 10:365-371.
88. McGee JM, Tucci NA, Edmundson TP, Serio CL, Johnson RB. The relationship between concentrations of pro-inflammatory cytokines within gingival and the adjacent sulcular depth. *J Periodontol* 1998; 69:865-871.

89. Meisel P, Siegemund A, Grimm R, Herrmann FH, John U, Schwahn C, Kocher T. The interleukin 1 polymorphism, smoking and the risk of periodontal disease in the population based SHIP study. *J. Dent. Res* 2003 Mar;82 (3):189-193.
90. Mc Devitt MJ, Wang HY, Knobelman C, Newman MG et al Interleukin 1 genetic association with periodontitis in clinical practise. *J Periodontol* 2000;71:156-163.
91. McGuire MK, Nunn ME. Prognosis versus actual outcome. 4. The effectiveness of clinical parameters and PST genotype in accurately predicting prognosis and tooth survival. *J Periodontol* 1999;70:49-56.
92. Michalowicz BS, Aeppli D, Virag JG. et al. Periodontal findings in adult twins. *J. Periodontol* 1991;62(5):293-9
93. Michalowicz BS, Aeppli DP, Kuba RK, A twin study of genetic variation in proportional radiographic alveolar bone height. *J. Dent Res* 1991; 70(11);1431-5
94. Michalowicz BS. Genetic and heritable risk factors in periodontal disease. *J. Periodontol* 1994;65(5 Suppl):479-88
95. Michalowicz BS., Wolff D., Klump J.E. et al Periodontal bacteria in adult twins. *J Periodontol*.70(1999)263-273.
96. Michalowicz BS., Diehl SR, Gunsolley JC, et al. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. *J Periodontol* 2000;71:1699-707.
97. Michel, J., Gonzales, J. R., Wunderlich, D., Diete, A., Herrmann, J. M. & Meyle, J. (2001) Interleukin-4 polymorphisms in early-on set periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 28, 483-488.
98. Molvig, J., Baek, L., Christensen, P., Manogue, K. R., Vlassara, H., Platz, P., Nielsen, L. S., Svejgaard, A. & Nerup, J. (1988) Endotoxin stimulated human monocyte secretion of interleukin 1, tumour necrosis factor alpha, and prostaglandin E2 shows stable inter individual differences. *Scandinavian Journal of Immunology* 27, 705-716.
99. Morse, H. R., Olomolaiye, O. O., Wood, N. A., Keen, L. J. & Bidwell, J. L. (1999), Induced heteroduplex genotyping of TNF-alpha, IL-1beta, IL-6 and IL-10 polymorphisms associated with transcriptional regulation *Cytokine* 11, 789-795.
100. Mytilineos J. CTS-13 th IHWC. MANUAL FOR CYTOKINE GENOTYPING BY THE PCR_SSP METHOD, 2002.
101. National Institutes of Health. Genetic architecture of complex phenotypes. Released on the internet, June 8, 1998.
102. Newman MG. Genetic risk for severe periodontal disease. *Compend Contin Educ Dent* 1997;18(9):881-4.

103. Newman M. Genetic, environmental, and behavioral influences on periodontal infections. *Compend Contin Educ Dent* 1998;19 (1):25-31.
104. Offenbacher S. Periodontal diseases:pathogenesis. *Ann Periodontol* 1996;1:821-878.
105. Parkhill JM, Henning J, Chapple, et al. Association of interleukin-1 gene polymorphism with early-onset periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000;27:682-689.
106. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: Summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol* 2000;14:216-248.
107. Papapanou PN, Neiderud AM, Sandros J, et al. Interleukin-1 gene polymorphism and periodontal status. A case control study. *J Clin. Periodontol* 2001;28:389-396.
108. Probert L, Plows D, Kontogeorgos G, Kollias G. The type interleukin-1 receptor acts in series with TNF to induce arthritis in TNF-transgenic mice. *Eur J Immunol* 1995;25:1794-1797.
109. Pociot F, Molvig J, Wogenset L. A Taq 1 polymorphism in the human interleukin 1-beta (IL-1beta) gene correlates with secretion in vitro. *Eur J Clin Invest* 1992;22:396-402.
110. Pontes, C. C., Gonzales, J. R., Novaes, A. B. Jr., Junior, M. T., Grisi, M. F., Michel, J., Meyle, J. & de Souza, S. L. (2004) Interleukin-4 gene polymorphism and its relation to periodontal disease in a Brazilian population of African heritage. *Journal of Dentistry* 32, 241-246.
111. Purcell S, Cherny SS, Sham PC (2003). Genetic power calculator: design of linkage and association genetic mapping studies of complex traits. *Bioinformatics* 19:149-150.
112. Qureshi ST, Skamene E, Malo D. Comparative genomics and host resistance against infectious disease. *Emerg Infect Dis* 1999;5:36-47.
113. Rady PL, Matalon R, Grady J, Smith EM, Hundall SD, Kellner LH, et al. Comprehensive analysis of genetic polymorphisms in the interleukin-10 promoter: implications for immune regulation in specific ethnic populations. *Genet Test*. 2004;8:194-203.
114. Ramfjord, S.P. The periodontal disease index PDI. *J. Periodontol* 38:602-629, 67.
115. Revel, M. (1989) Host defense against infections and inflammations: role of the multifunctional IL-6/IFN-beta2 cytokine. *Experientia* 45, 549-557.
116. Reinholdt J, Bay I, Svejgaard A. Association between HLA- antigens and periodontal disease. *J Dent. Res* 1997;56:1261-1263.
117. Roberts FA, Hockett RD Jr, Bucy RP, Michalek SM. Quantitative assessment of inflammatory cytokine gene expression in chronic adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1997;12(6):336-44.

118. Rogers MA, Figliomeni L, Baluchova K et al. Do interleukin-1 polymorphisms predict the development of periodontitis or the success of dental implants? *J Periodont Res* 2002;37:37-41.
119. Sakellari D, Katsares V, Georgiadou M, Kouvatzi A, Arsenakis M, Konstantinidis A. No correlation of five gene polymorphisms with periodontal conditions in a Greek population. *J Clin Periodontol* 2006; doi: 10. 1111/j.. 1600-051X. 2006.004983.x,
120. Sakellari D, Koukoudetsos S, Arsenakis M, Konstantinidis A. Prevalence of IL-1A and IL-1B polymorphisms in a Greek population. *J Clin Periodontol* 2003;30:35-41.
121. Salvi GE, Lawrence HP, Offenbacher S, Beck JD. Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* 2000 1997;14:173-201.
122. Salvador Nares The genetic relationships to periodontal disease *Periodontology* 2000, Vol 32,2003, 36-49.
123. Scarel-Caminaga, R. M., Trevilatto, P. C., Souza, A. P., Brito, R. B., Camargo, L. E. & Line, S. R. (2004) Interleukin 10 gene promoter polymorphisms are associated with chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 31, 443-448.
124. Scarel-Caminaga, R. M., Trevilatto, P. C., Souza, A. P., Brito, R. B. & Line, S. R. (2002) Investigation of an IL-2 polymorphism in patients with different levels of chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 29, 587-591.
125. Scarel-Caminaga, R. M., Trevilatto, P. C., Souza, A. P., Brito, R. B. Jr. & Line, S. R. (2003) Investigation of IL4 gene polymorphism in individuals with different levels of chronic periodontitis in a Brazilian population. *Journal of Clinical Periodontology* 30, 341-345.
126. Shapira, L., Stabholz, A., Rieckmann, P. & Kruse, N. (2001) Genetic polymorphism of the tumor necrosis factor (TNF)-alpha promoter region in families with localized early-onset periodontitis. *Journal of Periodontal Research* 36, 183-186.
127. Shapira, L., Wilensky A., Kinane D.F. effect of genetic variability on the inflammatory response to periodontal infection. *J.Clin.Periodontol* 2005; 32(Suppl.6):72-86.
128. Schneider S, Roessli D, Excoffier L. Arlequin version 2.000: a software for population genetics data analysis. Geneva (Switzerland): Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva; 2000.
129. Shirodaria S, Smith J, McKay IJ, Kennett CN, Hughes FJ (2000). Polymorphisms in the IL-1A gene are correlated with levels of interleukin-1alpha protein in gingival crevicular fluid of teeth with severe periodontal disease. *J Dent Res* 79:1864-1869.
130. Sumer AP, Kara N, Keles GC, Gunes S, Koprulu H, Bagci H. Association of interleukin-10 gene polymorphisms with severe generalized chronic periodontitis. *J. Periodontol.* 2007 Mar;78(3):493-7.

131. Slatkin M, Excoffier L. Testing for linkage disequilibrium in genotypic data using the Expectation-Maximization algorithm. *Heredity*. 1996;76(Pt 4):377-83.
132. Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Smith, C. & Duff, G. W. (2000) Microbiological parameters associated with IL-1 gene polymorphisms in periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology* 27, 810-818.
133. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, et al. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Periodontol* 1998;25:346-353.
134. Soafaer JA. Genetic approaches in the study of periodontal disease, *J Clin. Periodontol* 17(1990) 401-408.
135. Soga, Y., Nishimura, F., Ohyama, H., Maeda, H., Takashiba, S. & Murayama, Y. (2003) Tumor necrosis factor-alpha gene (TNF-alpha)-1031/-863, -857 single nucleotide polymorphisms (SNPs) are associated with severe adult periodontitis in Japanese. *Journal of Clinical Periodontology* 30, 524-531.
136. Stashenko P, Fujiyoshi P, Obernesser MS, Prostack L, Haffajee AD, Socransky SS. Levels of interleukin-1beta in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1991;18:548-554.
137. Stashenko, P., Jadinski, J. J., Fujiyoshi, P., Rynar, J & Socransky, S. S. (1991b) Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *Journal of Periodontology* 62, 504-509.
138. Spiroski M. Trajkov D. Petlichovski A. Strezova A, Efinska-Mladenovska O. Praktikum po imunologija i humana genetika .Institut za Imunobiologija I Humana Genetika , Medicinski Fakultet, Skopje ,2006.
139. Stephens JC, Schneider JA, Tanguay DA. Et al Haplotype variation and linkage disequilibrium in 313 human genes. *Science* 2001;293:489-493.
140. Suffredini, A. F. & O'Grady, N. P. (1999) Pathophysiological responses to endotoxin in humans. IN: Brade, H., Opal, S.M. & Vogel, S. N. (eds). *Endotoxin in Health and Disease*, pp. 817-830. New York: Marcel Dekker.
141. Sugita, N., Kobayashi, T., Ando, Y., Yoshihara, A., Yamamoto, K., van de Winkel, J. G., Miyazaki, H. & Yoshie, H. (2001) Increased frequency of Fc gammaRIIb-NA1 allele in periodontitis-resistant subjects in an elderly Japanese population. *Journal of Dental Research* 80, 914-918.
142. Suzuki A, Ji G, Numabe Y, Muramatsu M, Gomi K, Kanazashi M, et al. (2004). Single nucleotide polymorphisms associated with aggressive periodontitis and severe chronic periodontitis in Japanese. *Biochem Biophys Res Commun* 317:887-892.

143. Trevilatto, P. C., Scarel-Caminaga, R. M., de Brito, R. B. Jr., de Souza, A. P. & Line, S. R. (2003) Polymorphism at position-174 of IL-6 gene is associated with susceptibility to chronic periodontitis in a Caucasian Brazilian population. *Jurnal Clinical Periodontology* 30, 438-442.
144. Trajkov D. Arsov T., Petlichovski., A. Strezova A., Efinska-Mladenovska O., Spiroski M. Cytokine gene polymorphisms in population of ethnic Macedonians *Croat Med. J.* 2005;46(4):685-692
145. Trombelli, L., Tatakis, D. N., Scapoli, C., Bottega, S., Orlandini, E. & Tosi, M. (2004) Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. II. Identification of "high-responder" and "low-responder" subjects. *Jurnal Clinical Periodontology* 31, 239-252.
146. Turner, D. M., Williams, D. M., Sankaran, D., Lazarus, M., Sinnott, P. J. & Hutchinson. I. V. (1997). An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *European Journal of Immunogenetics* 24, 1-8.
147. Vann Shie RC, Grossi SG, Dunford RC. Fc gamma receptor polymorphisms are associated with periodontitis (abstract) *J Dent Res* 1998;77;648.
148. The American Academy of periodontology. Epidemiology of periodontal diseases (position paper). *J Periodontol* 1999;935-945.
149. Wade, A. B.: Validity of Anterior Segment Gingival Scores in Epidemiological Studies. *J Periodontol.*, 37:55, 1966.
150. Vassalli P. The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Ann Rev Immunol*, 1992;10:411-452.
151. Waldrop T.C. Anderson D.C. Hallmon W.W et al. periodontal manifestations of the heritable Mac-1 LFA-1 deficiency syndrome. Clinical, histopathological and molecular characteristics. *J periodontal.* 58 1987 400-416.
152. Walker JS. Van Dyke ET, Rich S., Kornmann SK, di Giovine SF, Hart CT. Genetic polymorphisms of the IL-1 alpha and IL-1 beta genes in African-American LJP patients and an African-American control population *J Periodontol* 2000;71:723-728.
153. Watterson GA. Heterosis or neutrality? *Genetics.* 1977;85:789-814.
154. Vickers, M. A., Green, F. R., Tery, C., Mayosi, B. M., Julier, C., Lathrop, M., Ratcliffe, P. J., Watkins, H. C. & Keavney, B. (2002) Genotype at a promoter polymorphism of the interleukin-6 gene is associated with baseline levels of plasma C-reactive protein. *Cardiovascular Research* 53, 1029-1034.
155. Wilson, A. G., Symons, J. A., McDowell, T. L., McDevitt, H. O. & Duff, G. W. (1997) Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 94, 3195-3199.

156. Wilson Me, Kalmar JR. Fcg RIIa (CD32):a potential marker defining susceptibility to localized juvenile periodontitis. J Periodontol 1996;67:323-331.
157. Yali Fu, Jonathan M, Korostoff, Daniel H. Fine, and Mark E. Wilson. Fcy Receptor Genes as Risk Markers for Localized Aggressive Periodontitis in African-Americans. J. Periodontol 2002; 73:517-523.
158. Yamazaki, K., Tabeta, K., Nakajima, T., Ohsawa, Y., Ueki, K., Itoh, H. & Yoshie, H. (2001) Interleukin-10 gene promoter polymorphism in Japanese patients with adult and early-onset periodontitis. Jurnal Clinical Periodontology 28, 828-832.
159. Zambon JJ. Periodontal diseases:microbial factors. Ann Periodontol 1996;1:879-925