



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI MILANO-BICOCCA

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Dottorato di ricerca in Parodontologia Sperimentale

**VALUTAZIONE DEL RUOLO DELLA
SUSCETTIBILITA' GENETICA ALLA MALATTIA
PARODONTALE CRONICA IN UNA
POPOLAZIONE ITALIANA :ANALISI DI ALCUNI
POLIMORFISMI GENETICI.**

Coordinatore: Prof. Marco Baldoni

Tesi di dottorato:Dott. Alberto Baldini

Matricola n.725085

Ciclo XXIII - Anno Accademico 2010/2011

Ringrazio il Laboratorio Biomolecular Diagnostic SRL di Firenze e in particolare la dott.ssa Fanti per avermi sostenuto e aiutato nella gestione dei dati genetici per lo svolgimento della tesi.

Inoltre , ringrazio mia moglie Alessia , i miei genitori e mia sorella Laura per avermi sempre incoraggiato e a volte sopportato per la mia passione per la ricerca.

Indice

1. Introduzione	Pag	4-48
2. Patogenesi della parodontite e il ruolo delle citochine nell'infezione parodontale:ruolo protettivo e distruttivo	Pag	49-67
3. Polimorfismi genetici nella malattia parodontale cronica (CP): revisione della letteratura.....	Pag	68-129
4. Scopo della Ricerca.....	Pag	130
5. Materiali e Metodi.....	Pag	131-134
6. Risultati.....	Pag	135-148
7. Discussione e conclusioni.....	Pag	148-150
8. Prospettive future.....	Pag	151-153

1)INTRODUZIONE

1.1 Infettogenomica parodontale.

Le creature multicellulari sono organismi in cui convive una simbiosi tra l'ospite e la colonizzazione batterica di uno o più batteri (1). Recenti lavori scientifici utilizzando le ricerche con tecnologie genomiche(DNA) hanno suggerito che la cavità orale può contenere più o meno 19000 filotipi di batteri.(2). Fattori genetici nell'ospite sembrano giocare il ruolo più importante nel decidere quali batteri (saprofiti o patogeni) siano in grado di colonizzare l'ospite. Questo ha portato al concetto di Infettogenomica ,un termine che era stato introdotto per definire lo studio dell'interazione tra le variazioni genetiche dell'ospite e la colonizzazione di batteri patogeni(3). In questa review(3) ,il termine era stato introdotto per includere il crescente numero di membri del microbiota batterico.La malattia parodontale è la più comune patologia infiammatoria cronica presente nell'uomo.

La risposta alle infezioni varia enormemente tra individui e può variare in maniera importante tra la salute dell'ospite e la patologia.L'esposizione dell'ospite ad un patogeno può dar luogo ad una resistenza al patogeno, ad una infezione subclinica oppure

ad una vera e propria infezione. Questi concetti hanno condotto ad un sempre crescente interesse alla valutazione dei fattori genetici predisponenti verso patologie infettive come la malaria, la tubercolosi, l'epatite e l'AIDS (4). I fattori genetici dell'ospite possono influenzare in almeno due modi la patologia infettiva: Invasione patogena e proliferazione patogena.

È ampiamente riconosciuto che l'inizio e la progressione della periodontite dipendono dalla presenza di microrganismi virulenti in grado di causare la malattia. Anche se i batteri sono gli agenti di avvio della periodontite, la risposta dell'ospite ai patogeni dell'infezione è fondamentale per la progressione della malattia (5). Dopo l'inizio, la malattia progredisce con la perdita di fibre collagene e l'attaccamento alla superficie del cemento, la migrazione apicale dell'epitelio giunzionale, la formazione di tasche periodontali approfondite, e di riassorbimento dell'osseo alveolare (5). Se non trattata, la malattia continua con la progressiva distruzione dell'osso, mobilità dei denti e la conseguente perdita degli stessi.

Fattori diversi entrano in gioco nel determinismo del danno tissutale. I batteri patogeni sono da considerare la prima causa dell'insorgenza della malattia parodontale, ma la semplice presenza di batteri può non essere sufficiente a generarla.

Il processo infiammatorio è inoltre influenzato da fattori ambientali, come il fumo, e da patologie acquisite (malattie sistemiche).

La periodontite rappresenta una malattia infiammatoria cronica mediata da interazioni ospite-parassita che si traduce nella perdita di attacco del tessuto connettivo tra l'osso alveolare e la radice del dente ed, infine, nella perdita dell'osso alveolare stesso. Dopo l'eliminazione della carica batterica, l'infiammazione si risolve, ma il tessuto osseo alveolare perso e la perdita dell'attacco di tessuto connettivo rimangono. Attualmente, il metodo più comunemente utilizzato per la valutazione della gravità della malattia è quello di determinare il livello di attaccamento clinico (AL) con la sonda parodontale. Per la valutazione della progressione della malattia viene eseguito il sondaggio clinico ottenuto in due o più esami differenti che devono essere analizzati in modo da determinare se verificano cambiamenti nell'attacco tra i vari esami. Sicuramente entra poi in gioco la componente della predisposizione genetica alla malattia parodontale. Nel sottocapitolo successivo vengono presi in considerazione i fattori di rischio ambientali per lo sviluppo della malattia parodontale.

1.2 I Fattori di Rischio per la parodontite cronica e aggressiva: evidenza scientifica.

Storicamente si è sempre creduto che tutti gli individui sono uniformemente suscettibili in egual modo alla malattia parodontale e che l'accumulo della placca, la scarsa igiene orale e forse il trauma occlusale fossero sufficienti a iniziare la malattia parodontale.

Comunque durante le passate quattro decadi è stato accettato che la malattia parodontale sia causato da infezioni causate da batteri specifici e che gli individui sono uniformemente suscettibili. Nelle più recenti pubblicazioni e lavori scientifici si vogliono invece individuare i fattori di rischio che possono alterare, prevenire la malattia parodontale. Esistono numerose evidenze empiriche e giustificazioni teoriche sostanziali che inducono ad accettare la credenza diffusa che molte patologie abbiano più di una causa, e cioè abbiano un'eziologia multifattoriale.(6).

Di conseguenza ,in ogni situazione particolare ,quando si studia una relazione causale ; è possibile mettere in discussione la specificità della relazione fra esposizione a un agente eziologico e l'effetto ,cioè la necessità o la sufficienza della condizione. Per esempio se dobbiamo parlare delle patologie infettive ,è noto come la presenza dell'agente microbico (condizione necessaria) non sia sempre

accompagnato da segni e sintomi caratteristici di quella patologia. Perciò l'agente microbico di per sé non è sufficiente a provocare alcuna manifestazione della patologia. L'insorgenza o meno della patologia dipende da fattori multipli supplementari diversi considerando le risposte specifiche dell'ospite, le esposizioni tossiche, le mancanze nutrizionali, lo stress emozionale.

Deve essere compiuta una distinzione importante tra un fattore causale di una patologia e un fattore di rischio. Un fattore di rischio può essere definito come una caratteristica che può essere associato alla patologia. Quindi un fattore di rischio può indicare un aspetto del comportamento personale o dello stile di vita, un'esposizione ambientale, o una caratteristica innata o ereditaria, che supportata da evidenze epidemiologiche, sia noto essere associato alle condizioni correlate con la patologia. Tale fattore di rischio o esposizione possono essere associati a una probabilità superiore di incorrere in una patologia particolare senza per questo necessariamente costituire un fattore causale. I Fattori di Rischio possono essere classificati in modificabili e non modificabili(7)

I fattori di rischio modificabili sono usualmente ambientali o atteggiamenti comportamentali mentre i fattori di rischio non modificabili sono usualmente intrinseci all'individuo e non facilmente modificabili. I fattori di rischio non modificabili sono conosciuti anche come determinanti. L'evidenza scientifica volta a identificare i fattori di rischio è usualmente derivata dai seguenti studi per valutare l'importante significato come fattore di rischio o

meno : Case reports, case series, case-control study, cross-sectional studies, longitudinal case study and controlled clinical trials (Interventional studies). Tutti questi studi possono identificare i fattori associati con una patologia sebbene non siano uguali come importanza. Lo studio longitudinale è in grado di identificare una relazione causale. Lo studio interventzionale dà invece la più forte evidenza della relazione causale e può determinare l'evidenza dell'eliminazione del fattore di rischio. Le associazioni tramite gli studi longitudinali e interventzionali determinano se i fattori di rischio sono determinanti basati sull'osservazione degli studi "cross sectional" e "case controlled".

Tra i fattori di rischio modificabili della malattia si distinguono : Il fumo, l'igiene orale, il diabete mellito, i microorganismi implicati nella malattia parodontale, i fattori psicologici (lo stress). Mentre nei rischi non modificabili sono indicati : i fattori genetici, la risposta dell'ospite, l'Osteoporosi, le Malattie Sistemiche, l'Obesità, e l'Età'. Per quanto riguarda i fattori genetici, questi ultimi saranno affrontati in seguito nel manoscritto mentre in questi capitoli saranno considerati tutti i fattori ambientali che la letteratura ha codificato come implicati nello sviluppo della malattia parodontale. In particolare in questo controllo della letteratura concernente questa fattoressa e la loro influenza sulla parodontite cronica e parodontite aggressiva separatamente secondo la classificazione di Armitage (8,9)

1.2 a: Il Fumo e la malattia parodontale cronica.

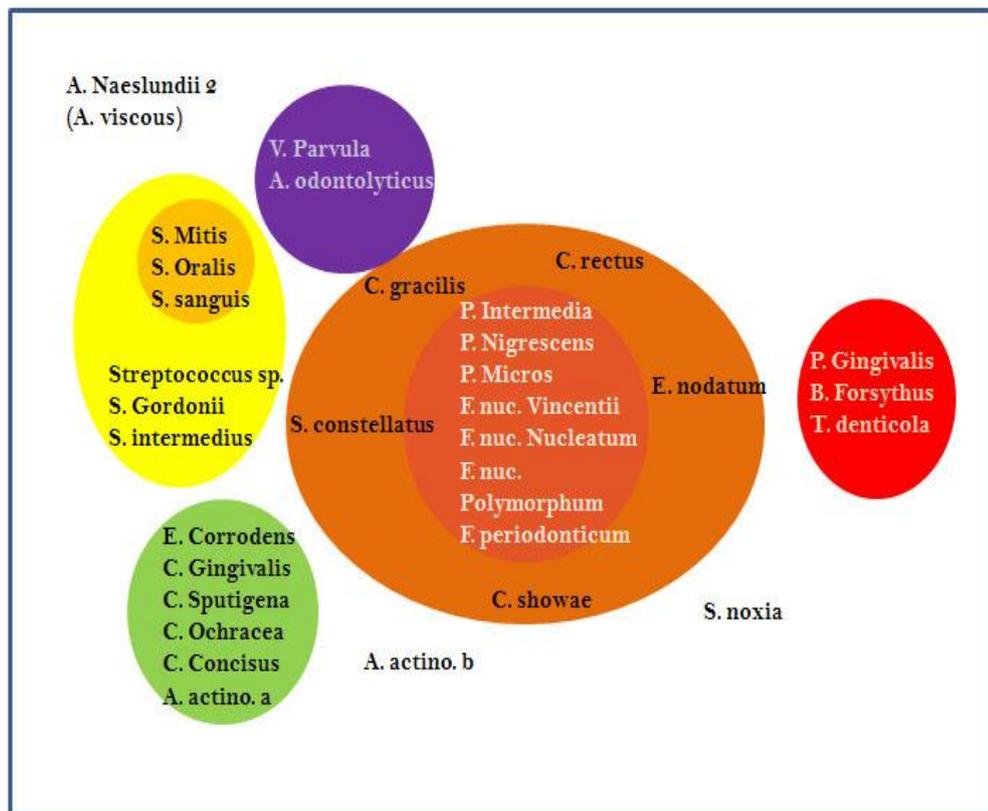
Nelle ultime decadi passate è stato sviluppato in molte pubblicazioni dell'effetto del fumo sulla malattia parodontale. Esistono più di 325 studi che hanno mostrato una relazione tra fumo e parodontite . (3,4, ,5,6 ,7 ,8 ,9 ,10).

E' stato riportato che i fumatori hanno un aumento della prevalenza e della severità della malattia parodontale ,così come una più alta prevalenza di perdita di elementi dentari e di edentulismo. L'effetto negativo del fumo sulla malattia parodontale ha mostrato essere dose dipendente (11,12 ,13 ,14,15) e maggiormente implicata nei pazienti più giovani (16 ,17 ,18 ,19 ,20). Comunque ,studi a lungo termine hanno mostrato che il fumo è associato con la recidiva di malattia parodontale durante la terapia di mantenimento parodontale (21). Tonetti (22) ha riportato che il fumo da sigaretta è associato a due o tre volte il rischio clinico di sviluppare la malattia parodontale e la perdita di denti. Alcuni studi hanno riportato che una più alta frequenza di placca dentale tra i fumatori rispetto ai non fumatori (23,24), mentre altri non hanno riscontrato gli stessi risultati

(25,26 ,27,28 ,29). I risultati rispetto all'effetto del fumo sul microbiota sottogengivale non sono univoci . Mentre alcuni studi non mostrano nessuna differenza nella prevalenza dei batteri patogeni tra i fumatori e i non fumatori (30,31 ,32 ,33), altri hanno ritrovato una più alta prevalenza tra gli utilizzatori del

tabacco. Zambon e al. (34) hanno trovato una più alta prevalenza di batteri patogeni *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* e *Porphyromonas gengivali* nei fumatori rispetto ai non fumatori. Anche Haffajee e Socransky (35) hanno ritrovato una più alta prevalenza delle otto specie più implicate nella malattia parodontale cronica di pazienti che ora fumano rispetto ai soggetti che hanno fumato nel passato e i non fumatori .

Basati sui dati del protocollo , i fumatori hanno una percentuale di batteri patogeni rispetto ai non fumatori senza aumento di placca con una differenza qualitativa e quantitativa da un punto di vista microbiologica rispetto ai non fumatori. Questi risultati suggeriscono che il fumo ha un effetto sull'ambiente sottogengivale ,che ,può determinare lo sviluppo di una flora batterica più patogena. Quando è esaminato l'effetto del fumo sull'infiammazione gengivale e sul sanguinamento ,molti studi hanno mostrato che i fumatori presentano con un più basso livello d'infiammazione gengivale e mostrare un minor sanguinamento gengivale rispetto ai non fumatori. (36,37 ,22)



Socransky 1999

Queste conclusioni suggeriscono che il fumo da sigaretta può modulare l'espressione della risposta alla placca dentale in una gengivite. Con l'introduzione dell'analisi multivariata che tiene in considerazione vari fattori confondenti, il significato di questa relazione è diventata più apparente. Sebbene i fumatori tendano ad avere una più povera attenzione all'igiene orale e un più basso livello socioeconomico, l'evidenza suggerisce che questi fattori giocano un ruolo solo parzialmente nella prevalenza della malattia parodontale nei fumatori. Studi che paragonano i fumatori con i non

fumatori con livelli simili di placca mostrano tasche più profonde e un aumento dell'aumento della perdita dei denti ,dell'attacco clinico e dell'osso alveolare tra i fumatori ,mentre i segni clinici d'infiammazione gengivale sono significativamente minori tra i fumatori (11,35 ,38).In un'analisi della data proveniente dalla National Health e Nutrition Examination Survey (NHANES III) ,che ha incluso 12329 adulti con denti presenti nel cavo orale (con un'età maggiore di 18 anni) degli Stati Uniti d'America ,Toma e Asma (39) hanno ritrovato che i fumatori soffrivano della malattia parodontale con una frequenza di quattro volte rispetto alle persone che non avevano fumato ,dopo l'aggiustamento per età, sesso, razza/etnicità ,educazione. I fumatori da più lungo tempo possono sviluppare con più facilità la malattia parodontale rispetto alle persone che non hanno fumato. Tra i fumatori ,c'e' una relazione dose-risposta tra il numero di sigarette fumate per giorno e la prevalenza di periodontite (odds ratio =2.settantanove per < 9 sigarette al giorno con un odds ratio=5.88 per > 31 sigarette il giorno).In questo protocollo si è visto che il 41,9% dei casi di malattia parodontale nella popolazione statunitense era da attribuire ai fumatori e che il 10,9% dei casi di malattia parodontale a vecchi fumatori. Basato sul risultato di questo studio e di altri autori ,gli autori finirono che il fumo è il rischio con più alta importanza per lo sviluppo della malattia parodontale e che più della metà dei casi di parodontite cronica negli Stati uniti è legata al fumo.

In una revisione sul meccanismo d'azione del fumo di tabacco sui

tessuti parodontali Palmer e al(40) hanno elencato numerosi modi con cui agisce. Essi hanno considerato l'effetto del fumo sulla placca, sul tessuto parodontale, sui neutrofili, linfociti e funzione dei fibroblasti e sul contenuto del fluido crevicolare. La difficoltà nel valutare del fumo sulla malattia parodontale è dai fattori dei confondenti associati con i fumatori come una più scarsa igiene orale, uno stato socioeconomico più basso e lo stress.

Esistono poi degli effetti diretti e indiretti associati con il fumo e la Malattia Parodontale come l'età e i suoi effetti sistemici che dà luogo a un'augmentata suscettibilità alla malattia parodontale e una più difficile risposta al trattamento. Ryder ha proposto che il fumo gioca un ruolo nella patogenesi della malattia parodontale modulando la risposta infiammatoria del sistema immunitario dell'ospite con una risposta più distruttiva.(41).

Un importante punto da notare è che la maggior parte degli studi non hanno notato differenza tra la malattia parodontale aggressiva e la malattia parodontale cronica.

1.2b: Il fumo e la malattia parodontale aggressiva

Esistono in letteratura solo pochi studi che specificamente esaminano la relazione tra fumo e malattia parodontale aggressiva.(32,33,42 ,43, ,44).

Studi che descrivono l'effetto del fumo sullo stato parodontale di giovani adulti non dovrebbero essere erroneamente inclusi.

La maggior parte degli studi è d'accordo nel ritenere che il fumo sia

un fattore di rischio nei pazienti con malattia parodontale aggressiva e finiscono con un aumento della severità della malattia parodontale.

In un importante studio ,Shenkein e al. (44) hanno riportato che il fumo era associato con un aumento dell'estensione e della severità in pazienti con una malattia parodontale aggressiva generalizzata.

Quest'associazione non è stata ritrovata in pazienti con parodontite aggressiva localizzata. Essi concludono che ,in pazienti con malattia parodontale aggressiva generalizzata ,il fumo era un significativo fattore di rischio per la perdita dell'attacco e per l'accelerata perdita dei denti anche in pazienti giovani.Kamma e al.(42) hanno esaminato l'effetto del fumo sul profilo delle citochine dei pazienti con malattia parodontale aggressiva e hanno trovato che il fumo disturba la relazione ospite-parassita ,portando a un peggioramento dei parametri parodontali tra i pazienti con malattia parodontale aggressiva che fumavano rispetto ai non fumatori,anche se i due gruppi avevano lo stesso livello di placca.In un'altra ricerca su giovani reclute militari ,con una più alta prevalenza di malattia parodontale aggressiva ,particolarmente la forma generalizzata era stata ritrovata nei fumatori.(45)

Darby e al(46) hanno riportato che in individui con malattia parodontale generalizzata aggressiva ,i fumatori avevano significativamente una più povera risposta clinica al trattamento rispetto ai non fumatori.

C'era anche significativamente una più importante riduzione in

percentuale della Prevotella intermedia dopo trattamento nei siti patologici in pazienti con parodontite aggressiva generalizzata che non erano fumatori. Huges e al.(47) hanno riportato una più debole risposta al trattamento iniziale parodontale nei fumatori e hanno enfatizzato che il fumo possa essere sia un fattore prognostico negativo per la terapia parodontale. Comunque, essi non hanno ritrovato una differenza significativa alla risposta al trattamento iniziale tra i vecchi fumatori e i pazienti che non hanno mai fumato, che rileva l'importanza della cessazione del fumo nella terapia parodontale. Ciononostante è stato ritrovato che il fumo è a proposito del peggioramento della malattia parodontale in pazienti con parodontite aggressiva ricevendo una regolare terapia di mantenimento durante uno studio con un follow up di cinque anni (48).

Basandosi sull'evidenza, il fumo da sigaretta sembra aggiungere un significativo rischio di sviluppare una malattia parodontale più invasiva in pazienti con parodontite aggressiva.

1.2 c: Igiene Orale e malattia parodontale cronica

L'evidenza che l'igiene orale (placca) sia un fattore di rischio per la parodontite è basata sull'evidenza risultata da trial clinici controllati che esaminavano il rapporto causa effetto a proposito della placca sulla gengivite, studi clinici hanno mostrato un miglioramento dei parametri parodontali dopo il controllo della placca, studi a lungo termine hanno mostrato una più importante perdita di elementi

dentari (considerando la parodontite la più importante causa di malattia parodontale) in pazienti con più scarsa igiene orale. Appare molto debole l'evidenza concernente, le forme aggressive di malattia parodontale.

In una serie di studi Loe e al.(49, 50,51) hanno stabilito una relazione causale tra placca e gengivite. Siccome tutte le parodontiti sono precedute da gengiviti (52), è stato suggerito che gengivite e parodontite rappresentano differenti aspetti di una stessa malattia(53).

Le gengiviti possono migliorare se trattate con utilizzo di antibiotici(54,55 ,56 ,57 , 58) come dalla clorexidina.Considerando lo spettro di attività di questi agenti che è diretta primariamente verso i microorganismi,la rilevanza della terapia antimicrobica verso i microorganismi per prevenire la gengivite è ovvia.

Lindhe e Nyman(59) e Rosling e al (60,61) hanno dimostrato che la progressione della parodontite può essere parzialmente arrestata da terapie chirurgiche accompagnate da trattamenti professionali di pulizia dentale eseguiti da igienisti due volte il mese, le manovre sono volte primariamente a controllare i livelli della placca batterica.Axelsson e Lindhe (62) ,in degli studi con sei anni di follow up ,hanno mostrato che pazienti che avevano un trattamento preventivo ogni 2 o 3 mesi ,avevano un abbassamento dei parametri indicatori della presenza della placca e una miglior salute parodontale.Axelsson e al (63) ha mostrato il controllo della placca sopragengivale è fondamentale per il mantenimento della salute

gingivale e parodontale.

In un cross-sectional studio basato sulla valutazione di 11338 di adulti americani ,Burt e al., (64) hanno mostrato che individui con elementi dentari con un'età maggiore di 25 anni,quelli che avevano perso meno denti avevano una miglior igiene orale e risultata d'indice di placca migliori.

Sebbene sia accettato che la riduzione dei livelli di accumulo della placca riduce l'incidenza,la severità e la recidiva della parodontite,Hujoel e al (65) hanno recentemente espresso delle riserve su questo concetto. Essi hanno valutato la letteratura e analizzato i risultati di tre trials randomized controller clinica con l'obiettivo di associare un miglioramento dell'igiene orale personale potesse diminuire il rischio di iniziare o l'evolversi della parodontite.

E' risultato che nessun randomized controller trial ha indicato che un miglioramento dell'igiene orale personale prevenga o possa controllare la parodontite cronica. Essi hanno finito che c'e' insufficiente evidenza sul ruolo del controllo personale della placca nella patogenesi della parodontite.Comunque,il termine "Igiene Orale" implica entrambe le procedure(significa l'atto di utilizzare lo spazzolino e il filo interdentale per rimuovere la placca dagli elementi dentali) come la valutazione dell'efficacia (riferendo i risultati dei procedimenti per ridurre l'accumulo della placca) . Infatti a volte i dentisti sono attenti nell'insegnare ai pazienti in un modo attento e puntuale a dedicarsi alla salute del cavo orale ma a

volte con scarsa efficacia. Sebbene ,quando nei randomized clinical trials ,si da' poco valore a come avviene il processo (frequenza di spazzo lamento e tecniche di spazzolamento) ma è essenziale valutare all'efficacia dell'igiene orale sulla qualità e quantità della placca. Nei tre randomized clinical trial valutati da Hujoel e al (65), è stato valutato l'effetto del controllo dell'igiene orale sulla parodontite rispetto alla valutazione del controllo della placca.

Tanner e Al.(66) hanno valutato gli indicatori di rischio in uno studio cross-sectional di giovani pazienti con parodontite (20-40 anni) e pazienti sani indicati come casi controllo. Essi hanno trovato una modesta e correlazione statistica tra i risultati dell'accumulo di placca e le valutazioni degli indicatori di parodontite. Questo tipo di associazione è stata ritrovata da Craig e al.(67) in una popolazione con simile età ma non in studi che consideravano una popolazione più anziana.(68, 69).

3.2 Igiene Orale e malattia parodontale aggressiva

La più importante evidenza riguardante l'eziologia batterica della malattia parodontale aggressiva viene dagli studi della forma localizzata di questa patologia.

In uno studio sul profilo clinico della "Parodontosi" ora individuata come parodontite aggressiva localizzata ,Baer (70) riportò l'infiammazione della gengiva è in comune negli individui con questa patologia e anche con quei soggetti usualmente esibiscono piccoli quantitativi di calcolo e placca. E' stato suggerito che

programmi d'insegnamento all'igiene orale ,sebbene effettivamente la formazione della placca e l'infiammazione della gengiva negli adolescenti,non possa essere effettivo nel controllo e l'inizio della parodontite aggressiva.(71)

In contrasto . è stato ritrovata un'associazione positiva da altri autori sull'ammontare della placca e le forme generalizzate di malattia parodontale aggressiva.(72)

Inoltre .Susin e Albandar (73),che hanno esaminato la prevalenza della parodontite aggressiva in una popolazione brasiliana ,hanno riportato i soggetti affetti avevano significativamente più alti livelli di placca,sanguinamento gengivale e calcoli sopragengivali rispetto ai casi controlli di medesima età.

1.2 d: Stress e malattia parodontale cronica

Osservazioni cliniche e studi epidemiologici suggeriscono che lo stress ,la depressione e l'ansietà' sono fattori potenziali che possono influenzare la malattia parodontale(74,75, 76 ,77) .

L'esatto impatto che lo stress può provocare sul tessuto parodontale ,sulla progressione della malattia parodontale e sulla risposta al trattamento parodontale non è stato chiaramente delucidato.Comunque,lo stress è considerato correntemente come un fattore di rischio per la malattia parodontale.(78,79).

Il meccanismo con cui lo stress potrebbe influenzare la progressione della malattia parodontale è stato diviso in due

categorie: uno è considerato tra “ i comportamenti che possono influenzare la salute” come la scarsa igiene orale,il consumo del fumo e dell'alcol e l'altro come uno dei “fattori patofisiologici” che possono portare a un aumento dei livelli di glucocorticoidi e livelli di catecolamine che indirettamente possono influenzare la situazione ormonale,i profili infiammatori e immunologici ,portando a un aumento della suscettibilità alla malattia parodontale.(80,81).

Negishi e al.(82) hanno esaminato l'effetto dello stile di vita sullo stato parodontale dei pazienti diabetici e hanno ritrovato che lo stile di vita e lo stress psicosociale può influenzare lo stato parodontale nei pazienti diabetici. Altri studi sull'uomo hanno proposto una correlazione tra malattia parodontale cronica ed effetti negativi della vita(83,84).

Sebbene la scarsa igiene orale sia strettamente correlata con eventi stressanti della vita(83,85),studi che hanno considerato altri fattori confondenti come l'eta',il sesso e il fumo,hanno riportato che lo stress possa giocare un ruolo nella progressione della malattia parodontale(83,86).

Comunque ,due altri studi hanno rilevato un'evidenza per tale associazione (87,88).In una revisione sistematica della letteratura che ha valutato lo stress come un fattore di rischio per la malattia parodontale,Peruzzo e al(89) hanno analizzato 14 studi che hanno considerato positiva tale associazione. Gli autori hanno presentato le loro conclusioni ,con alcune riserve ,in quanto i lavori scientifici

Considerati, presentavano differenti metodologie che potevano influenzare i risultati.

Se sono analizzati le conclusioni scientifiche dei diversi protocolli che esaminano la correlazione tra stress e malattia parodontale in lavori sull'uomo appare chiaro come non sia facile trarre delle conclusioni viste la mancanza di un metodo uniforme in grado di quantificare lo stress .Comunque ,dai dati attuali ,che sono derivati da studi cross-sectional e case-control ,si può desumere che il ruolo dello stress sulla malattia parodontale nell'uomo abbia una plausibile

Base patofisiologia ,che supporta l'evidenza attuale che lo stress possa essere associato a più severa malattia parodontale e più difficile risposta alla terapia parodontale.

1.2 e: Stress e malattia parodontale aggressiva

Page e al (90) hanno proposto che “ la malattia parodontale rapidamente progressiva” (ora riferita come malattia parodontale aggressiva generalizzata),aveva una distinta entità clinica ,suggerendo che la fase attiva della patologia fosse associata alla depressione.

Davis e al.(91) hanno notato che,per alcuni pazienti con malattia parodontale rapidamente progressiva ,la patologia appariva essere associata con lo stress e la depressione e la possibile importanza della relazione dello stress sul momento dell'insorgenza e il modo di progressione della patologia (116).

Soltanto uno studio “controller” ha esaminato l’associazione tra lo stress e la malattia parodontale aggressiva(116).

Lo studio ha valutato la possibile associazione tra il numero rilevante di fattori psicosociali e la malattia parodontale aggressiva generalizzata .Il significato delle variabili psicosociali ha portato alla comparazione di tre gruppi: 50 pazienti con malattia parodontale rapidamente progressiva (malattia parodontale aggressiva generalizzata),50 pazienti con malattia parodontale cronica e 50 pazienti senza malattia parodontale (casi-controllo).

I pazienti inclusi nel gruppo con malattia parodontale aggressiva generalizzata presentavano in maniera significativa la depressione e solitudine comparati con i pazienti con malattia parodontale cronica e i casi controllo.

1.2 f: Malattie sistemiche e malattia parodontale cronica

E’ stato valutato che certe malattie sistemiche possono aumentare il rischio d’infezioni parodontali(28,42,62,78,87).

Neutropenia e altre discrasie di malattie del sangue è stato dimostrato possano avere un profondo effetto sui tessuti parodontali, ma i dati ottenuti negli ultimi anni hanno considerato un’importante lista di condizioni mediche che potrebbero soffrire d’influenza sullo sviluppo e progressione della parodontite.

Nel 1999 ,la classificazione delle parodontiti ,se una malattia sistemica ha un profondo effetto sullo sviluppo e la progressione delle infezioni parodontali,la categoria della malattia parodontale è

riferita a “ Parodontite come una Manifestazione delle Malattie sistemiche “(7).

Nella maggior parte dei casi ,le malattie sistemiche l’hanno incluse in questa categoria come associato con altri disordini ematologici o certe malattie genetiche che provocano problemi al parodonto o causano maggiori disordini nella risposta dell’ospite ai cambiamenti microbiologici.

Esempi includono deficienze sia quantitative sia qualitative dei neutrofili ,Sindrome di Down e infezioni estensive da immunodeficienza del virus (HIV).

Come una patologia infiammatoria ,la parodontite si manifesta se la risposta dell’ospite o la funzione immunitaria è inadatta.

E’ stato riconosciuto che individui con sia quantitativa (agranulocitosi neutropenia) o qualitativa deficienza dei neutrofili (chemio tattica o fagocitosi),mostrano una severa distruzione dei tessuti parodontali.Wilton e al.(194) ha proposto che mentre la distruzione dei tessuti parodontali di tutti i denti è correlata a una mancanza quantitativa dei neutrofili,difetti qualitativi sono associati con la distruzione parodontale localizzata di certi denti.

Severe parodontiti estese sono state collegate a cicliche,croniche,neutropenie famigliari benigne (11,93,159,163).Queste patologie possono provocare patologie anche sulla dentatura decidua.

In aggiunta,disordini funzionali dei leucociti come la Sindrome di Chediak –Higashi ,una patologia che provoca un’alta suscettibilità

all'infezione batterica, è dimostrato essere legato a una perdita di grandi quantitativi di osso alveolare e dei denti(36,78,155,173).

Il legame tra HIV e il manifestarsi di una malattia parodontale è stata recentemente valutata. Scalet e al.(152) ,soggetti affetti da HIV possono avere una severa parodontite localizzata(149,193,195), ma non è stata provata una diretta relazione causa ed effetto. Comunque,alcuni studi suggeriscono che in soggetti affetti da HIV e immunocompromessi ,una malattia parodontale preesistente può esacerbarsi e l'infezione da HIV può considerarsi come una situazione scatenante la malattia parodontale (14,137,199).

L'evidenza attuale non può supportare che l'HIV sieropositività possa essere favorente per il peggioramento della malattia parodontale.

In contrasto con queste patologie sistemiche,esistono molte altre patologie sistemiche che hanno un effetto meno devastante sulle risposte dell'ospite alle infezioni batteriche. Esempi di queste patologie includono il Diabete Mellito,l'Osteoporosi,l'Artrite Reumatoide e l'Obesità'.

1.2g: Diabete Mellito e Malattia parodontale cronica

Loe (98) ha suggerito che la parodontite è la sesta complicanza del diabete. In molti lavori scientifici è dimostrata una diretta relazione tra diabete mellito e malattia parodontale(80,113).

Esiste anche un'evidenza che dimostra come i pazienti con

parodontite hanno una più alta incidenza di sviluppare la patologia del Diabete rispetto ai pazienti senza parodontite (162).

In uno studio cross-sectional su 1426 pazienti ,Grossi e al. (54) hanno riportato che il Diabete possa essere l'unica patologia sistemica associata positivamente a una perdita di attacco clinico (Odds ratio uguale a 2,32).

I pazienti con diabete mellito di tipo 1(insulino-dipendente) e di tipo 2 (non inculino dipendente) hanno un egual rischio di sviluppare la malattia parodontale (174).

La prevalenza,e la severità della parodontite tra i diabetici ,è stata attribuita alla riduzione della funzionalità dei neutrofili (109) e all'ipersecrezione di mediatori dell'inflammazione come l'interleuchina 1,fattore tumorale della necrosi alfa e le prostaglandine .Questi effetti del Diabete possono ,in soggetti affetti dalla patologia sistemica , renderli più suscettibili alla distruzione tissutale (154) interferendo sulla produzione e sul metabolismo del collagene.

Nel 2001, Taylor ha condotto una ricerca su Med Line esaminando la malattia parodontale come una complicanza del diabete e l'effetto della terapia parodontale sul controllo glicemico(170).

La maggior parte degli articoli hanno indicato che soggetti con diabete avevano un aumento della prevalenza,dell'estensione e della severità nell'evolversi della patologia parodontale.

Due ricerche in particolare hanno mostrato come i pazienti diabetici mostrano la possibilità aumentata del doppio di avere una perdita

dell'attacco clinico rispetto agli individui senza diabete (10,123,138,174).

Sebbene la prevalenza e la severità della parodontite nei diabetici sia stato dimostrato, essere più importante che nelle persone non diabetiche, Soskolne (161) abbia presentato un'analisi basata sui dati valutando la popolazione Indiana dei Pima(120) ,che la durata della malattia parodontale nei soggetti diabetici e non era identica.

Questo ha suggerito che il decorso clinico della parodontite nei diabetici è quasi identico ai non diabetici'implicazione di questa conclusione è che l'aumentata prevalenza e la severità della parodontite nei diabetici è il risultato di una più precoce insorgenza della patologia e non a causa di una più rapida distruzione del tessuto.

Appare quindi chiaro che il controllo della patologia diabetica dovrebbe essere un fattore, un fattore decisivo in ogni trattamento parodontale ,soprattutto nei casi più gravi.

1.2 h: Osteoporosi e Malattia parodontale cronica

Recenti pubblicazioni hanno puntualizzato l'attenzione sul legame tra l'osteoporosi e la malattia parodontale (6 9).

Questa relazione è emersa dal fatto che in entrambe le condizioni è implicata la perdita dell'osso negli umani .Comunque,mentre l'osteoporosi è un disordine metabolico e la parodontite è una patologia infiammatoria ,esse differiscono nella loro patogenesi ma

presentano comuni fattori di rischio che potrebbero spiegare la proposta associazione tra entrambe le condizioni.

L'assunto che un aumento del rischio di malattia parodontale è la presenza di osteoporosi è basata sull'ipotesi che l'osteoporosi è nella perdita della densità minerale dell'osso nel corpo, includendo il mascellare o la mandibola.

La risultante bassa densità nelle ossa della mascellare porta a un aumento a un aumento della porosità dell'osso alveolare, un indicativo alterato "pattern" trasecolare e un più rapido riassorbimento dell'osso seguendo l'infezione con batteri patogeni. Un'altra spiegazione è derivata dal fatto che fattori sistemici che colpiscono il rimodellamento osseo possono anche modificare la risposta tissutale locale all'infezione è derivato dal fatto che fattori sistemici che colpiscono il rimodellamento osseo possono anche modificare la risposta tissutale locale all'infezione parodontale provocando il rilascio sistemico d'interleuchina uno e interleuchina 6.

Una ridotta densità dell'osso alveolare (165), una riduzione dell'altezza della cresta, la perdita dei denti e altri sistemi indicatori della presenza di malattia parodontale, come la misura del sondaggio parodontale e la perdita di attacco clinico, sono state esaminate sulla densità minerale scheletrica ossea in studi cross-sectional.(185,188). Sebbene molti di questi studi suggeriscano un'associazione tra osteoporosi e parodontite negli umani, quest'associazione è debole e ancora da verificare.

(40,71,165,191,200).

In una revisione effettuata da Wactawski –Wende(187), si è visto che sette dei diciassette studi hanno riportato una relazione positiva tra osteoporosi e perdita di attacco clinico. Undici dei diciannove studi hanno ritrovato un'associazione tra osteoporosi e perdita di elementi dentari.

Altri studi hanno mostrato risultati negativi o risultati equivoci. La maggior parte di questi studi avevano un disegno cross-sectional e soltanto pochi di questi erano studi prospettici (127,186,187).

Studi longitudinali sono necessari per determinare la natura dell'effetto dell'osteoporosi sull'osso alveolare e la perdita dei denti. Uno studio che ha esaminato 189 donne in menopausa da oltre 7 anni hanno riportato un'associazione tra perdita della densità minerale dell'osso e aumento del rischio di un aumento della perdita dei denti (85).

Si può concludere che la maggior parte degli studi hanno ipotizzato che ci sia una relazione tra osteoporosi e malattia parodontale. Comunque, molti degli studi sono stati non controllati, con un disegno cross-sectional, avevano una casistica limitata e la casistica era ristretta a un gruppo di popolazione di donne in postmenopausa, la validità di tali conclusioni sono limitate. Studi addizionali, ben controllati, con un numero ampio di casi, studi longitudinali prospettici sono necessari per chiarire la situazione e prevedere un più chiaro significato per capire il meccanismo con cui la malattia parodontale e l'osteoporosi siano

associati.

1.2 I: Obesità e Malattia parodontale cronica

Dopo la placca dentale (scarsa igiene orale) .E' stato suggerito che l'obesità' è secondo solamente al fumo come fattore di rischio per la distruzione infiammatoria tissutale parodontale (122).Un'associazione positiva tra obesità e parodontite è stata recentemente mostrata in studi epidemiologici sull'uomo e sull'animale.(139)

Saito e al(147) hanno mostrato nel 1998,per la prima volta,l'associazione tra obesità e malattia parodontale negli umani. Essi hanno ritrovato ,basati sulla loro analisi cross-sectional ,che il rischio di sviluppo della loro malattia parodontale dopo l'aggiustamento dei cofattori era 3.4 in persone con un indice corporeo di 25-29,9 Kg/m² e 8.6 in quelli con un indice corporeo maggiore di 30 Kg/m².

Prima di uno studio eseguito sulla popolazione brasiliana,la maggior parte dei rapporti di associazione tra indice di massa corporea e parodontite erano basati su una popolazione giapponese e americana (NHANES III)(1,31,122,145,146,147)

Allo Zahrani e al. (1) nel 2003 hanno dimostrato che un indice di massa corporea maggiore di 30 Kg/m² predispone una persona a una più severa perdita di attacco clinico e Linden e al.(95) nel 2007 ,hanno riportato che l'obesita' era associata alla malattia parodontale in un gruppo omogeneo di persone dai 60 ai settanta

anni uomini Europei.

Altri studi hanno indicato che la distribuzione della massa grassa gioca un ruolo cruciale nell'associazione con la malattia parodontale.(1,146,196).

Genco e al (46) hanno dimostrato che l'indice della massa corporea è stato positivamente correlato con la severità della perdita dell'attacco parodontale e questa relazione è modulata dalla resistenza all'insulina. Comunque, è stato ritrovato che il mantenimento di un peso normale con una regolare attività fisica è stato associato a una più bassa prevalenza di malattia parodontale(2,3,74,112,189).

Il meccanismo biologico con cui l'obesità è associata alla malattia parodontale non è stata ancora ben stabilito:comunque,le citochine che derivano dal tessuto adiposo chiamate adipochine o adipocitochine ,possono giocare un ruolo in questo collegamento nel modulare la malattia parodontale. (75).

1.2 m: Obesità e Malattia parodontale aggressiva

Secondo la classificazione del 1999 della Malattia Parodontale ,uno dei più importanti parametri per diagnosticare la Malattia Parodontale Aggressiva è che l'individuo dovrebbe essere di buona salute generale.(7,90).

Questo significa che le malattie sistemiche possono essere considerate responsabili per il manifestarsi di malattie parodontali. Comunque le modificazioni della risposta dell'ospite al diabete e

all'obesita' possono certamente influenzare il decorso clinico della malattia parodontale aggressiva in un modo simile alla malattia parodontale cronica.

Comunque ,dovrebbe essere menzionato che prima della classificazione del 1999 emergesse,gravi patologie genetiche sistemiche erano associate con parodontiti gravi in bambini e adolescenti ed erano state definiti dei termini di classificazioni correlati con l'età ' come parodontite pre-puberale e parodontite generalizzata giovanile.

La più importante caratteristica che queste patologie sistemiche che lega questa grave patologie parodontali in giovani pazienti era il loro effetto negativo sulla risposta alla placca microbiologica che aumenta la suscettibilità dei pazienti a un'estesa perdita d'osso dovuta a problemi parodontali e perdita precoce di elementi dentari. Questo gruppo di patologie include ma non è limitata a Neutropenia,ipofosfatasemia,leucemie,sindrome di Chediak-Higashi,deficienza di adesione dei leucociti,Sindrome di Papillon Lefebvre,Trisomia del cromosoma 21,Histiocitosi e Agranulocitosi,La parodontite severa dei giovani pazienti con alcune di queste condizioni sistemiche sono stati caratterizzate come casi di “ Parodontiti come manifestazioni di patologie sistemiche”.Invero, in alcuni giovani pazienti con una grave e importante patologia parodontale si dovrebbe sospettare una patologia sistemica che aumenta la suscettibilità all'infezione.

Un ' appropriata gestione di questi pazienti richiede un tentativo per

individuare il ruolo che la patologia sistemica gioca sulla severità della malattia parodontale.

1.2 n Conclusioni: Il fumo aumenta la severità sia della parodontite cronica che di quella aggressiva .L'igiene orale ,considerata come livelli di placca , è direttamente associata con la severità della patologia in entrambe le parodontiti ,sebbene studi nella forma localizzata di parodontite aggressiva ,hanno stabilito che no c'e' una correlazione tra livelli di placca e presenza di patologia.

Il livello di presenza della placca è notoriamente un indicatore dell'igiene orale ed è correlato con il comportamento quotidiano del soggetto.

Fattori psicologici sembrano giocare un ruolo sia nella parodontite cronica sia in quella aggressiva anche le nostre conoscenze su questa eventuale connessione sono ancora deficitarie.

Le patologie sistemiche ,come definito nella classificazione del 1999 (7) non possono essere considerati dei fattori di rischio per entrambe le patologie sia parodontite cronica che aggressiva. Casi di parodontite grave possono essere causati da importanti effetti che hanno modificato profondamente le difese dell'ospite (come nelle patologie con maggiore immunosoppressione) di una patologia sistemica conosciuta e individuata come :” Parodontiti come manifestazioni di Patologie sistemiche”.Comunque patologie sistemiche che possono portare a una perturbazione della

suscettibilità dell'ospite all'infezione (a es. Diabete Mellito) possono alterare il decorso clinico sia di una parodontite cronica sia aggressiva.

Riassumendo ,i rischi individuati per lo sviluppo della malattia parodontale sono molto simili sia per la parodontite cronica sia aggressiva.

L'evidenza per differenti rischi associati per i due gruppi di pazienti appare povera e basata su studi su un piccolo gruppo di soggetti.

Studi su larga scala che individuino fattori di rischio individualizzati per uno o entrambi i due tipi di parodontite non sono ancora stati effettuati.

Questi studi appaiono difficili da effettuarsi sia per la bassa prevalenza della parodontite aggressiva e sia per i loro costi.

Comunque ,si deve compiere uno sforzo per eseguire uno studio multicentrico includendo popolazione in cui la parodontite cronica e l'aggressiva siano presenti in maniera significativa.

Bibliografia

(1) Mc Fall-Ngai, M. Henderson B, Ruby ER. The influence of cooperative bacteria on animal host Biology.

Cambridge: Cambridge University Press .(2005)

(2) Keijser BJF, Zaura E, Huse SM, van der Vossen JMBM. Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults.

J Dent Res 87,1016-1020.

(3) Kellam P, Weiss RA. Infectogenomics : insights from the host genome into infectious diseases.

Cell 124,695-697.

(4) Bellamy R. Susceptibility to infectious diseases : the importance of host genetics. Cambridge :

Cambridge University Press.(2004)

(5) Nibali N, Donos N, Henderson B. Periodontal Infectogenomics.

Journal of Medical Microbiology (2009), 58, 1269-1274.

(6) Kleinbaum DG, Kupper LL, Morgenstern H. Epidemiologic Research. Principles and quantitative methods .

1 Ed New York, Ny: Van Nostrand Reinhold.

(7) Van Dyke T, Dave S. Risk factors for periodontitis.

J Int Acad Periodontol. 2005 January; 7(1): 3-7.

(8) Armitage GC. Classifying periodontal disease – a long standing dilemma.

Periodontol 2000 2002:30:9-23.

(9) Armitage GC .Development of a classification system for periodontal diseases and conditions .

Ann Periodontolog 1999 :4:1-6.

(3) Gelskey SC.Cigarette smoking and periodontitis :methodology to assess the strength of evidence in support of a causal association.

Community Dent Oral Epidemiol 1999 :27:16-24.

(4) Gustafsson A,Asman B,Bergstrom K.Cigarette smoking as an aggravating factor in inflammatory tissue-destructive diseases.Increase in tumor necrosis factor –alpha priming of peripheral neutrophils measured as generation of oxygen radicals.

Int J Clin Lab Res 2000 :30:187-190.

(5) Haber J.Cigarette smoking : a major risk factor for periodontitis.

Compendium 1994 :15:1002,1004-1008 passim ;quiz 1014.

(6) Haber J,Wattles J,Crowley M,Mandell R,Joshapura K,Kent RL:Evidence for cigarette smoking as major risk factor for periodontitis .J.Periodontol 1993 :64:16-23.

(7) Heikkinen AM,Pajukana R,Pitkaniemi J,Broms U,Sorsa T,Koskenvuo M,Meurman JH.The effect of smoking on periodontal health of 15 –to 16 –year –old adolescents .

J Periodontol 2008 :79:2042-2047.

(8) Laxman VK ,Annaji S.Tobacco use and its effects on the periodontium and periodontal therapy .

J Contemp Dent Pract 2008:9:97-107.

(9) Preber H,Kant T,Bergstrom J.Cigarette smoking ,oral hygiene

and periodontal health in Swedish army conscripts.

J Clin Periodontol 1980 :7:106-113.

(10) Rivera –Hidalgo F. Smoking and periodontal disease.

Periodontol 2000 2003:32:50-58.

(11) Calsina G, Ramon JM, Echeverria JJ. Effects of smoking on periodontal tissues.

J Clin Periodontol 2002 :29 :771-776.

(12) Grossi SG , Zambon JJ, Ho AW, Koch G., Dunford RG, Machtei EE, Norderyd OM, Genco RJ. Assessment of risk for periodontal disease . I Risk indicators for attachment loss .

J Periodontol 1995;66:23-29.

(13) Grossi SG, Genco RJ, Machtei EE, Ho AW, Koch G, Dunford R, Zambon JJ, Hausmann E. Assessment of risk for periodontal disease. II Risk indicators for attachment loss .

J Periodontol. 1994;65:260-267.

(14) Loos BG, Lepper –van de Straat FG, van de Winkel JG, van der Velden U. Fc-gamma receptor polymorphisms in relation to periodontitis .

J Clin Periodontol 2003:30:595-602.

(15) Martinez –Canus P, Lorca A, Magan R. Smoking and periodontal disease severity. *J Clin Periodontol* 1995:22:743-749.

(16) Haber J, Wattles J, Crowley M, Mandell R, Joshipura K, Kent RL. Evidence for cigarette smoking as a major risk factor for periodontitis. *J Periodontol* 1993:64: 16-23.

(17) Linden GJ, Mulally BH. Cigarette smoking and periodontal

destruction in young adults.

J Periodontol 1994:65:718-723.

(18) Mager DL, Haffajee AD, Socransky SS. Effects of cigarette smoking on periodontal status of healthy young adults.

J Periodontol 2000:71:73-78.

(19) Preber H, Kant T. Effect of tobacco –smoking on periodontal tissue of 15 –year old schoolchildren.

J. Periodontol Res 1973: 8:278-283.

(20) Schekein HA, Gunsolley JC, Koertge TE, Schenkein JG, Tew JG. Smoking and its effects on early –onset periodontitis .

J Am Dent Assoc 1995:126:1107-1113.

(21) Rieder C, Joss A, Lang NP. Influence of compliance and smoking habits on the outcomes of supportive periodontal therapy (SPT) in a private practice.

Oral Health Prev Dent 2004 :2:89-94.

(22) Tonetti MS. Cigarette smoking and periodontal diseases :etiology and management of disease.

Ann Periodontol 1998:3:88-101.

(23) Kristoffersen T. Periodontal conditions in Norwegian soldiers – an epidemiological and experimental study.

Scand J Dent Res 1970 :78:34-53.

(24) Preber H, Kant T, Bergstrom J. Cigarette smoking ,oral hygiene and periodontal health in Swedish army conscripts .

J Clin Periodontol 1980:7:106-113.

(25) Alexander AG. The relationship between tobacco smoking

calculus and plaque accumulation and gingivitis.

Dent Health (London) 1970:9:6-9.

(26) Bastiaan RJ, Waite IM. Effects of tobacco smoking on plaque development and gingivitis.

J Periodontol 1978 :49 :480-482.

(27) Bergstrom J, Preber H. The influence of cigarette smoking on the development of experimental gingivitis.

J Periodontal Res 1986:21:668-676.

(28) Lie MA, van der Weijden GA, Timmerman MF, Loos BG, van Steenberghe TJ, van der Velden U. Oral microbiota in smokers and non smokers in natural and experimentally –induced gingivitis.

J. Clin Periodontol 1998:25:677-686.

(29) Sheiham A. Periodontal disease and oral cleanliness in tobacco smokers.

J Periodontol 1971:42:259-263.

(30) Bostrom L, Bergstrom J, Dahlen G., Linder LE. Smoking and subgingival microflora in periodontal disease .

J Clin Periodontol 2001:28:212-219.

(31) Gomes SC, Nonnenmacher C, Susin C, Oppermann RV, Mutters R, Marcantonio RA. The effect of a supragingival plaque –control regimen on the subgingival microbiota in smokers and never-smokers :evaluation by real-time polymerase chain reaction .

J. Periodontol 2008:79:2297-2304.

(32) Johnson GK, Hill M. Cigarette smoking and the periodontal patient.

J Periodontol 2004 :75:196-209.

(33) Mager DL, Haffajee AD, Socransky SS. Effects of periodontitis and smoking on the microbiota of oral mucous membranes and saliva in systemically healthy subjects .

J Clin Periodontol 2003 :30: 1031-1037.

(34) Zambon JJ, Grossi SG, Machtei EE, Ho AW, Dunford R, Genco RJ. Cigarette smoking increases the risk for subgingival infection with periodontal pathogens.

J Periodontol 1996 :67:1050-1054.

(35) Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to the subgingival microbiota .

J Clin Periodontol 2001:28:377-388.

(36) Bergstrom J. Short –term investigation on the influence of cigarette smoking upon plaque accumulation.

Scand J Dent Res 1981:89:235-238.

(37) Clarke NG, Shephard BC, Hirsch RS. The effects of intraarterial epinephrine and nicotine on gingival circulation.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1981 :52:577-582.

(38) Papapanou PN. Periodontal diseases : epidemiology .

Ann Periodontol 1996:1:1-36.

(39) Tomar SL, Asma S. Smoking –attributable periodontitis in the United States: findings from NHANES III. National Health and Nutrition Examination Survey .

J Periodontol 2000:71:743-751.

(40) Palmer RM, Wilson RF, Hasan AS, Scott DA. Mechanism of

action of environmental factors-tobacco smoking.

J Clin Periodontol 1996:1:1-36.

(41) Ryder MI ,The influence of smoking on host response in periodontal infections.

Periodontol 2000 2007 : 43 :267-277.

(42) Kamma JJ,Giannopoulou C,Vasdekis VG,Mombelli A. Cytokine profile in gingival crevicular fluid of aggressive periodontitis :influence of smoking and stress.

J Clin Periodontol 2004:31:894-902.

(43)Mullally BH,Breen B,Linden GJ. Smoking and patterns of bone loss in early –onset periodontitis.

J Periodontol 1999:70:394-401.

(44)Shenkein HA,Gunsolley JC,Koertge TE,Tew JG,Smoking and its effects on early –onset periodontitis .

J Am Dent Assoc 1995:126:1107-1113.

(45) Levin L,Baev V,Lev R,Stabholz A,Ashkenazi M. Aggressive periodontitis among young Israeli army personnel.

J Periodontol 2006:77:1392-1396.

(46) Darby IB,Hodge PJ,Riggio MP,Kinane DF.Clinical and microbiological effect of scaling and root planing in smoker and non-smoker chronic and aggressive periodontitis patients.

J Clin Periodontol 2005:32:200-206.

(47) Huges FJ,Syed M,Koshy B,Bostanci N,McKay IJ,Curtis MA,Marcenes W,Croucher RE.Prognostic factors in the treatment of generalized aggressive periodontitis :II.Effects of smoking on

initial outcome .

J Clin Periodontol 2006 :33:671-676.

(48) Kamma JJ, Baehni PC. Five –year maintenance follo –up of early –onset periodontitis patients .

J. Clin Periodontol 2003 :30:562-572.

(49) Loe H, Theilade E, Jensen SB, Schiott CR. Experimental gingivitis in man.

J Periodontol 1965 :36 :177-187.

(50) Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy .II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition.

Acta Odontol Scand 1964 :22:121-135.

(51) Theilade E, Wright WH, Jensen SB, Loe H. Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation.

J Periodontol Res 1966 :1:1-13.

(52) Schatzle M, Loe H, Burgin W, Anerud A, Boysen H, Lang NP. Clinical course of chronic periodontitis. I. Role of gingivitis .

J Clin Periodontol 2003 :30:887-901.

(53) Kinane DF, Attstrom R. Advances in the pathogenesis of periodontitis . Group B consensus report of the fifth European Workshop in Periodontology .

J Clin Periodontol 2005:32(Suppl .6):130-131.

(54) Davies RM, Jensen SB, Schiott CR, Loe H. The effect of topical application of chlorhexidine on the bacterial colonization of the teeth and gingiva.

J Periodontol Res 1970:5:96-101.

(55)Gjerme P,Baastad KL,Rolla G.The plaque –inhibiting capacity of 11 antibacterial compounds .

J Periodontology Res 1970: 5:102-109.

(56) Loe H,Schiott CR. The effect of mouthrinses and topical application of chlorexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man.

J Periodontol Res 1970:5:79-83.

(57) Loe H,Schiott CR,Karring G,Karring T.Two years oral use of chlorexidine in man.I .General design and clinical effects.

J Periodontol Res 1976 :11:135 -144.

(58)Schiott CR,Loe H,Jensen SB,Kilian M,Davies RM,Glavind K.The effect of chlorexidine mouthrinses on the human oral flora.

J Periodontol Res 1970 :5:84 -89.

(59) Lindhe J,Nyman S.The effect of plaque control and surgical poscket elimination on the establishment and maintenance of periodontal health.A longitudinal study of periodontal therapy in cases of advanced diseases.

J Clin Periodontol 1975 :2 :67-79.

(60) Rosling B,Nyman S,Lindhe J.The effect of systematic plaque control on bone regeneration in infrabony pockets.

J Clin Periodontol 1976:3:38-53.

(61) Rosling B,Nyman S,Lindhe J,Jern B.The healing potential of the periodontal tissues following different techniques of periodontal surgery in plaque-free dentitions.A 2 year clinical study.

J Clin Periodontol 1976 :3 :233 -250.

(62)Axelsson P,Lindhe J.Effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults.Results after 6 years.

J Clin Periodontol 1981 :8 :239 -248.

(63)Axelsson P,Nystrom B,Lindhe J.Results after 30 years of maintenance

J Clin Periodontol 2004 :31 :749 -757.

(64)Burt BA,Ismail AL,Eklund SA.Periodontal disease ,tooth loss,and oral hygiene among older Americans.

Community Dent Oral Epidemiol 1985 :13 :93-96.

(65)Hujoel PP,Cunha-Cruz J,Loeshe WJ,Robertson PB.Personal oral hygiene and chronic periodontitis:a systematic review.

Periodontol 2000 2005:37:29-34.

(66)Tanner AC,Kent R.Jr,Van Dyke T,Sonis ST,Murray LL,Kent RL Jr.Clinical and other risk indicators for early periodontitis in adults.

J Periodontol 2005 :76 :573 -581.

(67)Craig RG,Yip JK,Mijares DQ,LeGeros RZ,Socransky SS,HaffajeeAD.Progression of destructive periodontal diseases in three urban minority populations: role of clinical and demographic factors.

J Clin Periodontol 2003:30:1075-1083.

(68) Haffajee AD,Socransky SS,Lindhe J,Kent RL,OkamotoH,Yoneyama T.Clinical risk indicators for periodontal

attachment loss.

J Clin Periodontol 1991;18:117-125.

(69) Tanner A, Maiden MF, Macuch PJ, Murray LL, Kent RL.jr. Microbiota of health ,gingivitis ,and initial periodontitis.

J Clin Periodontol 1998 :25:85-89.

(70) Baer PN. The case for Periodontosis as a clinical entity .

J Periodontol 1971;42:516-520.

(71) Albandar JM, Buischi YA, Oliveira LB, Axelsson P. Lack of effect of oral hygiene training on periodontal disease progression over 3 years in adolescents.

J Periodontol 1995;66:255-260.

(72) Page RC, Altman LC, Ebersole JL, Vandesteen GE; Dahlberg WH, WILLIAMS BL, Osterberg SK. Rapidly progressive periodontitis . A distinct clinical conditions .

J Periodontol 1983;54:197-2009.

(73) Susin C, Albandar JM. Aggressive periodontitis in an urban population in southern Brazil.

J Periodontol 2005;76:468-475.

(74) Boyapati L, Wang HL. The role of stress in periodontal disease and wound healing .

Periodontol 2000 2007;44:195-210.

(75) Breivik T, Thrane PS, Murison R, Gjermo P. Emotional stress effects on immunity, gingivitis and periodontitis .

Eur J Oral Sci 1996 :104:327-334.

(76) Freeman R, Goss S. Stress measures as predictors of

periodontal disease –a preliminary communication .

Community Dent Oral Epidemiol 1993 :21: 176-177.

(77) Genco RJ, Ho Aw, Grossi SG, Dunford RG, Tedesco LA. Relationship of stress ,distress and inadequate coping behaviors to periodontal disease.

J Periodontol 1999:70:711-723.

(78) Genco RJ. Current view of risk factors for periodontal diseases.

J Periodontol 1996:67:1041-1049.

(79) Genco RJ, Ho Aw, Kopman J, Grossi SG; Dunford RG, Tedesco LA. Models to evaluate the role of stress in periodontal disease .

Ann Periodontol 1998:3:288-302.

(80) Boyapati L, Wang HL. The role of stress in periodontal disease and wound healing.

Periodontol 2000 2007 :44:195-210.

(81) Wiebe DJ, McCallum DM, Health practices and hardiness as mediators in the stress-illness relationship.

Health Psychol 1986 :5:425-438.

(82) Negishi J, Kawanami M, Terada Y, Matsuhashi C, Ogami E, Iwasaka K, Hongo T. Effect of lifestyle on periodontal disease status in diabetic patients.

J Int Acad Periodontol 2004:6:120-124.

(83) Croucher R., Marcenes WS, Torres MC, Hughes F, Sheiham A. The relationship between life-events and periodontitis .A case control study.

J Clin Periodontol 1997:24:39-43.

(84) Green LW;Tryon WW,Marks B,Huryrn J.Periodontal disease as a function of life event stress.

J Human Stress 1986:12:32-36.

(85)Deinzer R,Ruttermann S,Mobes O,Herforth A.Increase in gingival inflammation under academic stress on oral hygiene –a potential link between stress and plaque –associated disease?

J Clin Periodontol 1998:25:431-433.

(86)Hilger JB,Hugo FN;Bandeira DR,Bozzetti MC.Stress ,cortisol ,and periodontitis in a population aged 50 years and over.

J Dent Res 2006:85:324-328.

(87) Castro GD,Oppermann RV,Haas AN,Winter R,Alchieri JC.Association between psychosocial factors and periodontitis : a case control study.

J Clin Periodontol 2006:33:109-114.

(88)Solis Ac,Lotufo RF,Pannuti CM,Brunheiro EC,Marques AH,Lotufo-Neto F.Association of periodontal disease to anxiety and depression symptoms, and psychosocial stress factors.

J Clin Periodontol 2004:31:633-638.

(89) Peruzzo DC,Benatti BB,Ambrosano GM,Nogueira –Filho GR,Sallum EA,Casati MZ,Nociti FH Jr.A Systematic review of stress and psychological factors as possible risk factors for periodontal disease.

J Periodontol 2007:78:1491-1504.

(90) Page RC,Altman LC;Ebersole JL,Vandesteen GE,Dahlberg WH,Williams BL,Osterberg SK.Rapidly progressive periodontitis

.A distinct clinical condition.

J Periodontol 1983;54:197-209.

(91) Davies RM,Smith RG,Porter SR.Destructive forms of periodontal disease in adolescents and young adults.

Br Dent J 1985;158:429-436.

2 PATOGENESI DELLA PARODONTITE E IL RUOLO DELLE CITOCINE NELL'INFEZIONE PARODONTALE: RUOLO PROTETTIVO E DISTRUTTIVO.

2.1 L'Infezione parodontale: le citochine immunitarie e infiammatorie nell'osso alveolare.

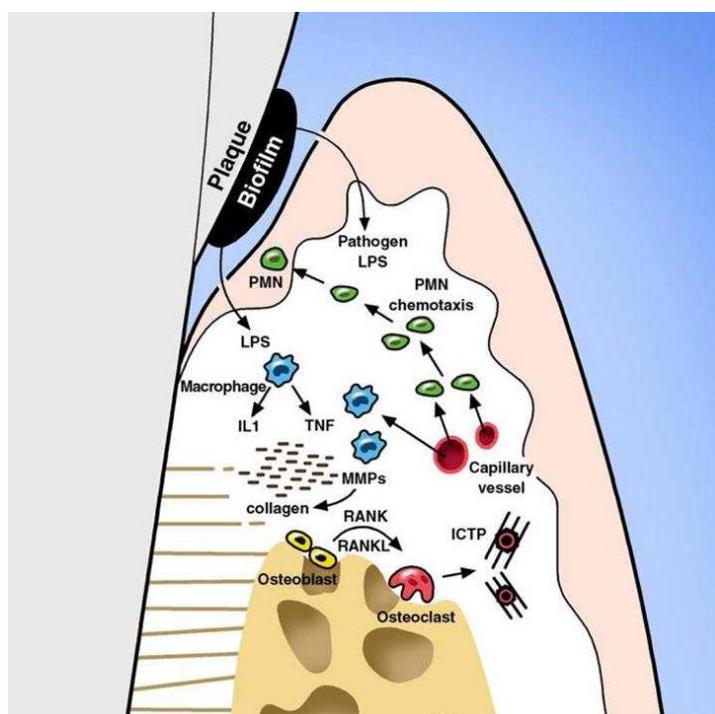
E' evidente che la patologia parodontale nell'uomo ha un'eziologia eterogenea incominciando dall'insediamento dei batteri nell'ambiente sub gengivale e considerando poi per lo sviluppo della patologia fattori sociali e comportamentali (che abbiamo visto nel primo capitolo) e fattori genetici ,tutte queste situazioni sono modulate dalla risposta immunitaria e infiammatoria dell'ospite.(1,2,3).

Come risultato della maturazione del biofilm ,le specie patogenetiche che si sviluppano nelle tasche parodontali rilasciano fattori virulenti ,antigeni che provocano e manifestano i meccanismi di difesa dell'ospite,cusando danni alle cellule,ai tessuti tramite un'alterata regolazione delle interazioni infiammatorie che consistono normalmente di neutrofili,monociti/macrofagi,cellule dendritiche,cellule T e cellule B .(4).

Comunque la presenza di vari fagociti innati come neutrofili,monociti/macrofagi,che sono capaci di combattere e uccidere i patogeni che invadono il tessuto parodontale, è breve .(5).

Questo provoca una limitata o incompleta sterilizzazione del

biofilm resiliente e i tessuti infettati sono bombardati dai persistenti patogeni accompagnati da un'inflammatione dove i potenti mediatori pro-infiammatori e le citochine prevalgono (Interleuchina 1, fattori tumorali necrotici alfa, gamma interferone, interleuchina 6) (6,7).



V.fig 1: Vari attori del “solco gengivale” da Lindhe

Poi come la patologia procede ci si avvicina verso uno stadio più avanzato ed è associato a un'immunità adattativa cellulo-mediata ,la distruzione significativa del tessuto coinvolge il riassorbimento dell'osso alveolare e la continua perdita di collagene e matrice extracellulare che è necessario per l'attacco o la guarigione tissutale(6,7 ,8).

Ci sono due importanti vie che regolano il bilanciamento tra il tessuto gengivale e il rimodellamento osseo e di conseguenza il controllo della perdita dell'osso parodontale.La prima interessa le interazioni tra osteoblasti e l'osso durante la formazione e il riassorbimento dell'osso durante i processi fisiologici di rimodellamento dell'osso.

La prima via è quella delle regolazioni del sistema” paracrine e “ autocrine ” , con interessamento fattori di crescita dei fibroblasti e fattori di crescita come l'insulina ,essi esercitano la loro azione sui recettori degli osteoblasti inducendoli a formare nuovo osso. In parallelo,recettori degli ormoni endocrini come l'ormone della tiroide ,della paratiroide ,dell'insulina,del progesterone ,della prolattina,della vitamina D3 ,estrogeni e retinoidi,sono espressi sulla superficie degli osteoblasti per mediare le loro individuali e sinergiche funzioni. (9).

La seconda via è quella che considera le citochine infiammatorie e/o osteoclasto genico che sono prodotte durante l'infiammazione dei tessuti e il trauma o l'assalto sistemico che sono responsabili della perdita dell'osso sotto condizioni patologiche

(stress, infiammazione o situazioni autoimmunitarie).

Comunque questo equilibrio è alterato ,per esempio,nelle patologie infiammatorie dell'osso come la malattia parodontale e l'artrite reumatoide.(10),dove la regolazione del rimodellamento osseo appare non più bilanciato con il risultato di avere un aumentato numero di osteoclasti e quindi un'irreversibile perdita di osso(11).

2.2 Il rimodellamento fisiologico dell'osso.

Il tessuto osseo nello scheletro adulto è continuamente rimodellato ,un processo in cui il vecchio osso è sostituito dal nuovo osso in ristrette aree dello scheletro è chiamato “Unità multicellulare ossea”.

E' stato stimato che esistono un 2×10^6 unità multicellulari e che il 10 % dello scheletro è rinnovato ogni anno.

Il rimodellamento coinvolge il riassorbimento osseo osteoclastico ,seguito poi da formazione di nuovo osso(v. FIG num2)

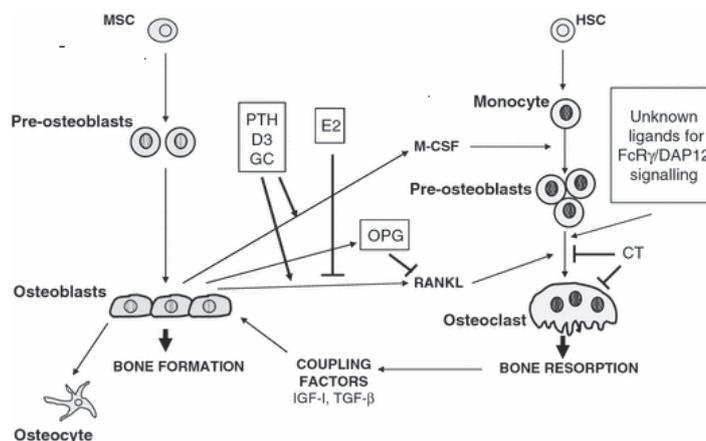


FIG num due. Da “Periodontology 2000, Vol 52 ,2010,163-206. Yen-Chubn et al .

Quando questi processi sono in equilibrio ,la massa ossea rimane costante.

2.3 Il rimodellamento osseo indotto dall'infiammazione.

Oltre ai molti segnali locali e sistemici che determinano il livello di riassorbimento e di formazione ossea ,le cellule dell'osso sono sensibili a una varietà di molecole espresse in differenti situazioni patologiche.(v. Fig num 2)

Molti sforzi nella ricerca devono essere fatti per valutare quali molecole ,presenti nelle reazioni infiammatorie son capaci di interessare le cellule ossee (12).

La maggior parte degli studi ha analizzato l'effetto dei mediatori infiammatori ,incluse le citochine,le prostaglandine e le chinine ,sulla formazione degli osteoclasti e molto meno a ciò che interessa gli osteoblasti e la formazione ossea.

Comunque la perdita dell'osso può essere causata sia dall'aumento del riassorbimento osseo che dalla diminuita formazione ossea,questa è la situazione nel caso di osteoporosi postmenopausali.Nell'infiammazione cronica parodontale ,comunque ,ci sono motivi per suggerire che entrambi il riassorbimento e la formazione ossea si manifestano e il risultato è una lesione osteologica o sclerotica che appare clinicamente. Per ragioni etiche,comunque,non è stato possibile in dettaglio ,utilizzando metodi clinici ,valutare l'attività cellulare dell'osso.

Probabilmente lo sviluppo rapido dell'immagine funzionale presto permetterà di studiare la storia naturale della parodontite a livello cellulare utilizzando tecniche non invasive.

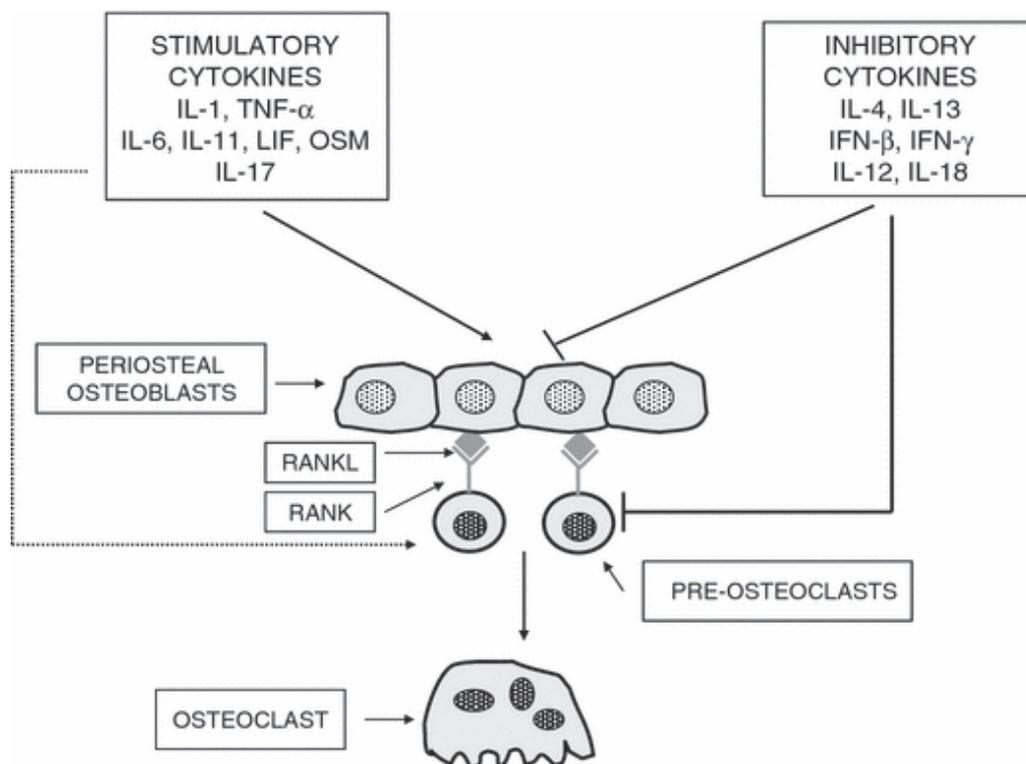


FIG 2. da Da "Periodontology 2000, Vol 52, 2010, 163-206.

Yen-Chubn et al .

2.4 Patogenesi della parodontite : dalla gengivite alla parodontite e l'interazione ospite e parassita.

Nel 1976 ,Page e Schroeder classificarono la progressione della lesione gengivale /parodontale in quattro fasi o lesioni :*iniziale precoce, stabilizzata e avanzata.*(Lindhe)

Se si lascia accumulare placca sul terzo gengivale della superficie del dente senza spazzolarlo si sviluppa un'inflammatione. Nell'arco di 24 ore(*lesione iniziale*) si manifestano dei cambiamenti nel plesso vascolare perché affluisce una maggior quantità di sangue ,aumenta lo spazio tra le cellule adiacenti all'epitelio capillare con un aumento della permeabilità del letto micro vascolare in questo modo le proteine e i fluidi possono riversarsi nei tessuti. Il flusso di GCF(Gingival crevicular fluid) aumenta ,i biofilm batterici rilascia sostanze nocive ed è diluito sia nel solco gengivale sia nel tessuto.

I batteri e i loro prodotti possono essere sciacquati dal solco e finire poi nella saliva. Durante la prima fase ,si manifesta una migrazione dei PMN (Polimorfo nucleati) favorita dalla presenza di diverse molecole di adesione (ICAM-1 : intercellular adhesion molecule-1 ed ELAM-1:endothelial lekocyte adhesion molecule-1),tali molecole permettono il legame dei PMN alle venule aiutando le cellule a lasciare il vaso (Lindhe).

I PMN poi tramite un gradiente chemio tattico migrano verso il solco gengivale grazie a fattori microbici chemio tattiche .

Dopo circa 7 giorni di accumulo della placca(*Lesione precoce*) ,i vasi sotto l'epitelio giunzionale rimangono dilatati per cui si ha una

maggior migrazione di fattori infiammatori ,si ha un aumento di dei letti capillari con un maggior arrossamento della gengiva marginale(Egelberg 1967,Lindhe e Rylander 1975)

Nell'infiltrato predominano i linfociti e i PMN in questa fase ,molti fibroblasti hanno segni di degenerazione,sembra che ciò avvenga per apoptosi liberando spazio per i leucociti .Inoltre si ha una distruzione di fibre collagene che permette l'infiltrazione di cellule infiammatorie.

Per aumentare la difesa nei confronti dei batteri le cellule basali dell'epitelio giunzionale e sulcolare sono in fase di proliferazione per cercare di rinforzare la barriera meccanica nei confronti dei batteri della placca.

Quando l'esposizione alla placca continua, la risposta infiammatoria del tessuto gengivale aumenta (*Lesione Stabilizzata*);il flusso del GCF s'incrementa ,i leucociti invadono l'epitelio giunzionale e il connettivo. La lesione stabilizzata è dominata da Plasmacellule .Man mano continua l'infiammazione e aumenta l'infiltrato ,l'epitelio giunzionale è sostituito dall'epitelio della tasca e non è più aderente alla superficie del dente.

L'epitelio della tasca ospita notevoli quantità di leuciti e PMN .

Quando la tasca si approfondisce la placca continua, la sua crescita in direzione apicale .I tessuti gengivali oppongono una debole risposta al sondaggio (*Lesione Avanzata*) .La lesione avanzata è simile a quella stabilizzata ma rispetto alla precedente si manifesta la perdita di tessuto connettivo e di osso alveolare.(Lindhe)

La lesione quindi non è più localizzata ai tessuti gengivali, ma le cellule infiltrate si estendono lateralmente e apicalmente nel tessuto connettivo dell'apparato dell'attacco. Nella lesione avanzata le Plasmacellule giocano il ruolo più importante .

Concludendo ,nella progressione dallo stato di salute alla gengivite e alla parodontite intervengono numerosi fattori,non ancora completamente noti,che influenzano i tempi dello sviluppo.

Inoltre prevale una variabilità tra i diversi individui e i diversi siti,sia per i fattori aggravanti sia per la suscettibilità' propria individuale. (Predisposizione Genetica).

2.5 Il ruolo protettivo o distruttivo delle varie citochine nella perdita dell'osso durante l'infezione parodontale .

Con risposta a uno stimolo infiammatorio nel tessuto sinoviale e parodontale ,sotto l'influsso dei leucociti,nel sito infiammatorio giungono molte cellule quali per esempio neutrofile,monociti,macrofagi e cellule dendritiche .(13 ,14).

In particolare i macrofagi secernono molte citochine pro infiammatorie e mediatrici dell'infiammazione includendo Tumor Necrosis factor-alpha,interleuchina -1b,interleuchina 6,interleuchina 7 ,interleuchina 10,interleuchina 11,interleuchina 17,come prostaglandine E 2,che possono regolare l'attivit  osteoclastica in particolare sulla situazione parodontale con conseguenze patologiche. (v Tabella num 1).

E' evidente che il Tumor Necrosis alfa   una citochina molto potente pro infiammatoria con effetti sia sul sistema immunitario sia sul sistema scheletrico.

Il ruolo di tale citochina nella distruzione dell'osso e perdita dell'osso   stata ampiamente documentata.

L'Interleuchina 1 insieme alla citochina Tumor necrosis alfa giocano un ruolo importante nella perdita parodontale dell'osso (15,16,17).

2.6.Ruolo delle Interleuchine nella Parodontite

E' chiaro ormai come le Cellule Immuno-competenti possono interagire con le cellule ossee come trovato da ricercatori parodontali ed endocrinologi e in particolari, i leucociti attivati nel sangue periferico rilasciano in vitro una sostanza che può determinare il riassorbimento osseo ,tale sostanza è denominata “Osteoclast activating factor”.(18).

10 anni dopo ,un gruppo di ricercatori di Boston ha indicato che tale osteoclast activating factor era l'interleuchina 1 alfa.(19).

Da allora molti ricercatori hanno dimostrato nel riassorbimento osseo l'attività di entrambi interleuchina 1alfa e interleuchina 1 beta.

Sono state inoltre valutate altre interleuchine che potevano avere sia un effetto stimolante sia inibitorio sul riassorbimento osseo.

Alcune interleuchine agiscono indirettamente sugli osteoblasti ,fibroblasti gengivali,cellule del legamento parodontale e altre agiscono direttamente sugli osteoclasti. Altre interleuchine potevano interagire con l'attività degli osteoblasti (v. Tabella unum.3).

Interleuchina uno

L'Interleuchina 1 è una citochina pro infiammatoria che stimola l'espressione di molti geni associati all'infiammazione e alle malattie autoimmunitarie considerando per esempio quelle proteine che codificano la cicloossigenasi 2 .

Interleuchina 6

Nel parodonto è espressa dagli osteoblasti ,fibroblasti gengivali e cellule del legamento parodontale.L'interleuchina 6 stimola la formazione degli osteoclasti.

Tabella 3. Gli effetti delle varie citochine sulla osteoclasto genesi.

Citochina	Riassorbimento Osseo	Formazione degli Osteoclasti stimolata (+) o inibita (-) via osteoblasti o cellule immunitarie	Formazione degli osteoclasti stimolata (+) or inibita (-) per via osteoclasti maturi (OC) o precursori degli osteoclasti (OCp)
IL-1	↑	+ (direttamente)	+ (direttamente sugli OC)
IL-4	↓	- (direttamente)	- (indirettamente sugli OCp)
IL-6	↑	+ (direttamente)	+ (OC); - (OCp) ?
IL-7	↑ or ↓ (?)	+ (direttamente)	+ (indirettamente sugli OCp)
IL-8	↑	+ (direttamente)	
IL-10	↓		- (direttamente sugli OCp)

Tabella 3. Gli effetti delle varie citochine sulla osteoclasto genesi.

Citochina	Riassorbimento Osseo	Formazione degli Osteoclasti stimolata (+) o inibita (-) via osteoblasti o cellule immunitarie	Formazione degli osteoclasti stimolata (+) or inibita (-) per via osteoclasti maturi (OC) o precursori degli osteoclasti (OCp)
IL-11	↑	+ (direttamente)	
IL-12	↓		- (direttamente sugli OCp)
IL-13	↓	- (direttamente)	- (indirettamente sugli OCp)
IL-15	↑ e ↓	+ (direttamente)	- (direttamente sui OCp)
IL-17	↑	+	+ (direttamente sui OCp)
IL-18	↓		- (direttamente sui OCp)
IL-21	↑	?	?
IL-22	↑	+ (direttamente) ?	?
IL-23	↑	+ (direttamente)	+ (direttamente sui

Tabella 3. Gli effetti delle varie citochine sulla osteoclasto genesi.

Citochina	Riassorbimento Osseo	Formazione degli Osteoclasti stimolata (+) o inibita (-) via osteoblasti o cellule immunitarie	Formazione degli osteoclasti stimolata (+) or inibita (-) per via osteoclasti maturi (OC) o precursori degli osteoclasti (OCp)
IL-26	?	?	OCp) ?
IL-27	↓		- (OCp)
IL-32	↑		+ (direttamente o sui OCp)
IL-33	↓	?	?
TNF- α	↑	+ (direttamente)	+ (direttamente o sui OCp)
PGE ₂	↑	+	
LIF	↑	+	
OSM	↑	+	
CT-1	↑	+	
IFN- α	↓		- (direttamente o sui OCp)

Tabella 3. Gli effetti delle varie citochine sulla osteoclasto genesi.

Citochina	Riassorbimento Osseo	Formazione degli Osteoclasti stimolata (+) o inibita (-) via osteoblasti o cellule immunitarie	Formazione degli osteoclasti stimolata (+) or inibita (-) per via osteoclasti maturi (OC) o precursori degli osteoclasti (OCp)
IFN- β	↓	+	- (direttamente o sui OCp)
IFN- γ	↓ (o↑)	+ (direttamente)	+ (indirettamente sugli OCp)
PTHrP	↑	+	+ (direttamente sugli OCp)
TGF- β	Alta ↑ Bassa ↓	+	+ o - (direttamente sugli OC & OCp)
BMP-2 o BMP famiglia (etc.)	↑	+	- (direttamente sugli OC & OCp)

Da Periodontology 2000 Vol 52 ,2010.Yen Chun G.,Ulf H.Lerner et al. mod Baldini (2011)

Interleuchina 10.

L'Interleuchina 10 inibisce la formazione degli osteoclasti agendo direttamente sui progenitori degli osteoclasti.

L'osservazione che l'Interleuchina 10 e' suscettibile alla perdita di osso indotto dal P.gingivalis dimostra un ruolo protettivo dell'effetto dell'iterleuchina 10 sulla malattia parodontale.

BIBLIOGRAFIA

- 1) American Academy of Periodontology. The pathogenesis of periodontal diseases. *J Periodontol* 1999; 70: 457–470.
- 2) Mittrucker HW, Raupach B, Kohler A, Kaufmann SH. Cutting edge: role of B lymphocytes in protective immunity against *Salmonella typhimurium* infection. *J Immunol* 2000; 164: 1649–1652.
- 3) Pihlstrom BL, Ammons WF. Treatment of gingivitis and periodontitis. *J Periodontol* 1997; 68: 1246–1253.
- 4) Nishihara T, Koseki T. Microbial etiology of periodontitis. *Periodontol* 2000 2004; 36: 14–26.
- 5) Richards CD, Langdon C, Deschamps P, Pennica D, Shaughnessy SG. Stimulation of osteoclast differentiation in vitro by mouse oncostatin M, leukemia inhibitory factor, cardiotrophin-1 and interleukin-6: synergy with dexamethasone. *Cytokine* 2000; 12: 613–621.
- 6) American Academy of Periodontology. The pathogenesis of periodontal diseases. *J Periodontol* 1999; 70: 457–470.
- 7) American Academy of Periodontology. Diabetes and periodontal diseases. *J Periodontol* 2000; 71: 664–678.
- 8) Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* 1976; 34: 235–249.
- 9) Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodelling. *Ann N Y Sci* 2006; 1092: 385–396.
- 10) Sakellari D, Koukoudetsos S, Arsenakis M, Konstantinidis A. Prevalence of IL-1A and IL-1B polymorphisms in a Greek population. *Journal of Clinical Periodontology*. 2003;30(1):35–41.
- 11) Brett PM, Zygogianni P, Griffiths GS, et al. Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis. *Journal of*

- Dental Research. 2005;84(12):1149–1153.
- 12). Lopez NJ, Jara L, Valenzuela CY. Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease. *Journal of Periodontology*. 2005;76(2):234–243.
- 13). Sakellari D, Katsares V, Georgiadou M, Kouvatsi A, Arsenakis M, Konstantinidis A. No correlation of five gene polymorphisms with periodontal conditions in a Greek population. *Journal of Clinical Periodontology*. 2006;33(11):765–770.
- 14). Tervonen T, Raunio T, Knuutila M, Karttunen R. Polymorphisms in the CD14 and IL-6 genes associated with periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 2007;34(5):377–383.
- 15). Wagner J, Kaminski WE, Aslanidis C, et al. Prevalence of OPG and IL-1 gene polymorphisms in chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2007;34(10):823–827. [PubMed]
- 16). Struch F, Dau M, Schwahn C, Biffar R, Kocher T, Meisel P. Interleukin-1 gene polymorphism, diabetes, and periodontitis: results from the Study of Health in Pomerania (SHIP) *Journal of Periodontology*. 2008;79(3):501–507.
- 17). Geismar K, Enevold C, Sorensen LK, et al. Involvement of interleukin-1 genotypes in the association of coronary heart disease with periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2008;79(12):2322–2330. [PubMed]
- 18). Shirodaria S, Smith J, McKay IJ, Kennett CN, Hughes FJ. Polymorphisms in the IL-1A gene are correlated with levels of interleukin-1 α protein in gingival crevicular fluid of teeth with severe periodontal disease. *Journal of Dental Research*. 2000;79(11):1864–1869.
- 19). Anusaksathien O, Sukboon A, Sitthiphong P, Teanpaisan R. Distribution of interleukin-1 β +3954 and IL-1 α -889 genetic variations in a Thai population group. *Journal of Periodontology*. 2003;74(12):1796–1802.
- 20). Kobayashi T, Ito S, Yasuda K, et al. The combined genotypes of stimulatory and inhibitory Fc γ receptors associated with systemic lupus erythematosus and periodontitis in Japanese adults. *Journal of Periodontology*. 2007;78(3):467–474.
- 21). Kobayashi T, Ito S, Kuroda T, et al. The interleukin-1 and Fc γ

- receptor gene polymorphisms in Japanese patients with rheumatoid arthritis and periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2007;78(12):2311–2318.
- 22). Gonçalves LdeS, Ferreira SMS, Souza CO, Colombo APV. IL-1 gene polymorphism and periodontal status of HIV Brazilians on highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 2006;20(13):1779–1781.
- 23). Moreira PR, Costa JE, Gomez RS, Gollob KJ, Dutra WO. The IL1A (-889) gene polymorphism is associated with chronic periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *Journal of Periodontal Research*. 2007;42(1):23–30.
- 24). Tabor HK, Risch NJ, Myers RM. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. *Nature Reviews Genetics*. 2002;3(5):391–397.
- 25). Hart TC, Marazita ML, Wright JT. The impact of molecular genetics on oral health paradigms. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. 2000;11(1):26–56.
- 26). Galbraith GMP, Hendley TM, Sanders JJ, Palesch Y, Pandey JP. Polymorphic cytokine genotypes as

3) POLIMORFISMI GENETICI NELLA MALATTIA PARODONTALE CRONICA(CP):REVISIONE DELLA LETTERATURA

In letteratura esiste un considerevole numero di ricerche scientifiche che hanno valutato il ruolo dei geni e le loro varianti (polimorfismi) nella risposta dell'ospite nella parodontite, e nell'evoluzione della malattia. I polimorfismi genetici, in alcune situazioni, possono causare un cambiamento nelle proteine o nella loro espressione con possibili alterazioni nell'immunità innata e adattativa e questo può essere determinante nell'evoluzione della malattia.

I polimorfismi genici possono anche essere protettivi per una malattia.

La fisiopatologia della parodontite, come altri complessi di malattie, è caratterizzata da vari percorsi biologici che portano allo stesso fenomeno clinico. Molteplici geni e i loro polimorfismi possono dare tutti un piccolo contributo complessivo e indurre un rischio relativo nella progressione e nella gravità della malattia. I complessi di malattie sono tipicamente poligenici (1). I geni delle malattie nel complesso delle malattie sono perciò considerati geni modificati di malattie (24). E' importante capire che il numero e il tipo di geni modificati di malattie per le stesse malattie possono non essere gli stessi in differenti etnie. Nella presente revisione della letteratura esploriamo e riassumiamo la letteratura fino ad aprile 2009 sui

fattori apparenti di rischio genetico nella predisposizione alla parodontite cronica (CP).

3.1. Il ruolo della genetica nelle parodontiti croniche

L'evidenza del ruolo della componente genetica nelle parodontiti croniche (degli adulti) è stata condotta su studi di gemelli e famiglie. Il modello dei gemelli è probabilmente il metodo più efficace per studiare gli aspetti genetici di ogni malattia, comprese le malattie parodontali. Michalowicz e al. valutarono le condizioni parodontali (perdita di attacco, profondità delle tasche, indice gengivale e indice di placca) di 110 gemelli adulti con un'età media di 40 anni in una gamma dai 16 ai 70 anni (3).

I risultati indicano che fra il 38% e l'82% la varietà nella popolazione per queste misure può essere attribuita a fattori genetici. In uno studio su 117 coppie adulte di gemelli (2) le analisi includevano la valutazione dei fattori ambientali come il fumo e l'utilizzo di servizi odontoiatrici. I risultati mostravano che le parodontiti croniche avevano circa il 50% di ereditarietà, che era inalterata a seguito di varie correzioni di comportamenti fra cui il fumo. In contrasto, non c'era evidenza di ereditarietà per gengiviti dopo che diversi comportamenti i come, l'utilizzo di cure odontoiatriche e il fumo erano stati incorporati nelle analisi.

Velden e al. (33) studiarono con il metodo *famiglia studi design* l'effetto delle relazioni tra fratelli sulle condizioni parodontali in un

gruppo di giovani indonesiani privati di regolari cure dentali. I risultati delle analisi suggeriscono che anche in forme meno gravi che parodontiti può esserci un background genetico per la malattia. Anche nella popolazione olandese studi epidemiologici hanno suggerito che le parodontiti croniche si aggregano in famiglie (34). Sia dagli studi sui gemelli sia sulle famiglie si può concludere che le basi per l'aggregazione familiare delle parodontiti non appare batterio/ambiente/comportamentale in natura, ma piuttosto genetica e sembra formare le basi per l'aggregazione familiare delle parodontiti.

Una dettagliata ricerca della letteratura nella *data base* di PubMed fino ad aprile 2009 e' stata condotta usando le parole chiavi *Periodontitis, Periodontal disease* in combinazione con le parole *Genes, Mutation, o Polymorphism*. Gli studi selezionati per la revisione dovevano possedere i seguenti criteri d'inclusione (1) dovevano essere scritti in Inglese, (2) dovevano possedere uno studio caso-controllo che includesse pazienti con parodontiti croniche (CP) o adulte (AP) (3) dovevano riportare la distribuzione dei genotipi.

Nell'esecuzione della revisione abbiamo incontrato una varietà di nomenclature per le diagnosi dei casi e dei controlli e, durante gli anni, la nomenclatura per le diagnosi delle varie forme di parodontiti è cambiata. In questo studio abbiamo usato, il più possibile, le diagnosi delle parodontiti dai manoscritti originali. Ci siamo focalizzati sul ruolo dei polimorfismi genetici (soprattutto

singoli nucleotidi polimorfici (INPS) nella progressione delle periodontiti croniche (CP).

Nel presente esame, la più comune variante di luogo polimorfico nello studio della popolazione è detta “variante normale” (N-allele). Di conseguenza, se è un *locus*, ad esempio, bi-allelico, il minor frequente allele è designato come “rara variante” (R-allele) ma deve verificarsi nella popolazione con una frequenza $>1\%$. Presentiamo nelle tabelle la frequenza del tasso di R-allele (frequenza di N/R e R/R genotipi) fra casi e controlli. In aggiunta presentiamo nelle tabelle se gli autori dei citati documenti hanno riportato statisticamente delle differenze significative fra i casi e i controlli per un dato R-allele.

Molte ricerche genetiche nelle parodontiti si sono focalizzate sul gene polimorfico che gioca un ruolo nel sistema immunitario, nei processi distruttivi del tessuto, o nei meccanismi metabolici.

Le tabelle 1-12 presentano il gene polimorfico candidato investigato in relazione della progressione di CP. In questo esame un polimorfismo è stato considerato associato con la progressione di CP se un polimorfismo fosse indagato in numerosi studi e l’associazione si fosse replicata almeno una volta.

3.3. Geni candidati in relazione con le parodontiti croniche (CP)

3.3a) Polimorfismi nel cluster genico dell'IL1: l'interleuchina-1 (IL-1) è un potente mediatore proinfiammatorio che è soprattutto rilasciato da monociti, macrofagi e cellule dendritiche. Il rapporto fra i livelli di IL-1 α e IL-1 β , (citochine pro infiammatorie) e IL-1/IL - recettore antagonista (RA, citochina antinfiammatorie), è stato trovato aumentato nei tessuti con malattia parodontale e nel fluido crevicolare gengivale (53, 54).

La decodificazione dei geni per le proteine IL-1 α e IL-1 β e IL-1RA è situata in prossimità del cluster genico IL1 nel cromosoma 2q13-q21. Gli IL1A-889 e IL1B+3953 R-allele hanno mostrato un aumento e l'IL1RN VNTR r-allele, una riduzione della trascrizione del gene o della produzione dei livelli di proteina (17, 55, 56) risultante nel vettore individuale R-allele in una più pronunciata risposta IL-1 pro infiammatoria.

I genotipi IL1 appaiono essere i polimorfismi genetici più studiati nella CP (Tavole 1-4).

Kornman e al. (36) ha riportato in un genotipo composito, composto di polimorfismi IL1A-889 E IL1B +3953 entrambi portanti un R-allele, in relazione con le parodontiti. A oggi, i seguenti polimorfismi genici IL1 sono stati studiati in associazione con periodontiti croniche: IL1A -889 (in collegamento non equilibrato con +4845), IL-1B-511 (in collegamento non equilibrato con -31), IL1B +3954 (menzionato nella letteratura anche come +3953) e

IL1RN VNTR (in collegamento non equilibrato con +2018).

I risultati degli studi caso-controllo in caucasici e non caucasici sono presentati nelle Tabelle 1-4.

Tabella n.1(M.L.Laine ,modif.Baldini 2011)

IL1A -889 (+4845) C>T polimorfismo genetico e la percentuale dell'allele Rare (R)- in studio caso-controllo e associazione con la suscettibilita' alla malattia parodontale alla parodontite cronica.

Etnia dei soggetti	Pazienti		Controlli		Associato con parodontite	Riferimento bibliografico
	N	R-allele percentuale	N	R-allele percentuale		
Caucasici	32 ²	43%	32	38%	-	Gore et al.1998
Caucasici	105 ²	64%	53	60%	-	Laine et al. 2001
Caucasici	61	43%	800	50%	-	Thomson et al. 2001
Caucasici	84 ¹	48%	60	45%	-	Rogers et al. 2002
Caucasici	45	53%	110	43%	-	Sakellari et al. 2003
Caucasici	57	72%	100	56%	-	Brett et al. 2005
Caucasici	330 ³	44%	101	35%	-	Lopez et al. 2005
Caucasici	56	54%	90	49%	-	Sakellari et al. 2006
Caucasici	51	55%	178	43%	-	Tervonen et al. 2007
Caucasici	97	90%	97	79%	+	Wagner et al. 2007
Caucasici	893 ²	54%	493	49%	-	Struch et al. 2008
Caucasici	51 ¹	71%	168	60%	-	Geismar et al. 2008
Misto	83	69%	37	52%	-	Shirodaria et al. 2000
Asiatici (Tailandesi)	54	8%	43	23%	-	Anusaksathien et al. 2003
Giapponesi	58 ³	14%	44	16%	-	Kobayashi et al. 2007
Giapponesi	100 ³	20%	100	16%	-	Kobayashi et al. 2007
Brasiliani	29	14%	17	23%	-	Gonçalves et al. 2006 Moreira et al. 2007
Brasiliani	67	60%	41	41%	+	

TABELLA NUM 3 Tabella n.1(M.L.Laine ,modif.Baldini 2011)

Polimorfismo genetico a carico di *IL1B* -511 (-31) e *IL1RN* VNTR (+2018) percentuale del *Rare (R)*-allele in studi caso-controllo e associazione con la suscettibilita' alla malattia parodontale cronica.

<i>IL1</i>	Etnia dei soggetti	Pazienti		Controlli		Associato con parodontite	Referenze Bibliografiche
		<i>n</i>	<i>R</i> -allele Percentuale	<i>N</i>	<i>R</i> -allele Percentuale		
<i>B</i> -511 (-31) C>T	Caucasici	32	59%	32	59%	–	Gore ET al. 1998
	Caucasici	57	53%	100	49%	–	Brett et al. 2005
	Caucasici	51	43%	168	56%	–	Geismar et al. 2008
	Giapponesi	64	67%	64	78%	–	Soga et al. 2003
	Caucasici	105	46%	53	38%	(+)	Laine et al. 2001
<i>RN</i> VNTR (+2018 C>T)	Caucasici	51	45%	190	7%	+	Berdeli et al. 2006
	Caucasici	56	45%	90	30%	–	Sakellari et al. 2006
	Caucasici	51 ¹	34%	168	44%	–	Geismar et al. 2008
	Giapponesi	100 ²	6%	100	13%	–	Kobayashi et al. 2007

Tabella num 4 (M.L.Laine ,modif.Baldini 2011)

***IL 1* genotipo composito , che e' , la percentuale Rare (R) *IL1A* -889 (+4845) e *IL1B* +3954 (+3953), in studi caso-controllo e associazioni con la suscettibilita' alla malattia cronica parodontale cronica.**

Etnia dei Soggetti	Pazienti		Controlli		Associato Con Parodontite	Referenza bibliografica
	N	R-allele Percentuale	n	R-allele Percentuale		
Caucasici	32 ²	34%	32	28%	-	Gore et al. 1998
Caucasici	44	41%	46	28%	+	McDevitt et al. 2000
Caucasici	105 ²	46%	53	42%	-	Laine et al. 2001
Caucasici	132 ³	45%	73	42%	-	Papapanou et al. 2001]
Caucasici	61	28%	800	35%	-	Thomson et al. 2001
Caucasici	84 ²	26%	60	30%	-	Rogers et al. 2002
Caucasici	402	38%	414	34%	-	Meisel et al. 2003
Caucasici	45	34%	110	30%	-	Sakellari et al. 2003
Caucasici	330³	26%	101	10%	+	Lopez et al. 2005
Caucasici	56	41%	90	44%	-	Sakellari et al. 2006
Cinesi	244 ²	0%	56	3%	-	Armitage et al. 2000
Asiatici (Tailandesi)	54	0%	43	2%	-	Anusaksathien et al. 2003
Giapponesi	100 ³	0.2%	100	0.2%	-	Kobayashi et al. 2007
Indiani	90	14%	30	0%	+	Agrawal et al. 2006
Brasiliani	29	3%	17	12%	-	Gonçalves et al. 2006

Dalle tabelle appare chiaramente che fra i differenti studi anche fra soggetti esclusivamente caucasici, è stata vista una considerevole variazione per il tasso di portatori di IL1 R-allele. Per esempio, per il polimorfismo IL1A -889 (+4845) (tabella num 1), il tasso di presenza per R-allele varia dal 43% al 90% in pazienti e dal 35% al 79% nei controlli. Il tasso di portatori di IL1A -889 (+4845) R-allele in popolazioni asiatiche appare basso (8%-23%) (18, 20) in paragone ad altre popolazioni.

L'ultimo risultato dimostra un importante problema, il tasso di portatori di polimorfismi genetici può variare fra differenti etnie. Perciò, delle possibili positive associazioni fra polimorfismi genici e malattia in una popolazione può non essere necessariamente estrapolata da un'altra popolazione. Solo due studi (Wagner e Moreira) hanno riportato un'associazione fra i tassi di portatori di IL1A -889 R-allele e CP come un singolo fattore di rischio genetico.

Lo SNP IL1B +3954 (+3953) fu inizialmente proposto come fattore di rischio per le parodontiti fra i caucasici (tabella 2). Non di meno esistono risultati che sono in conflitto fra loro. Galbraith ET al. (25) trovò un'associazione fra R-allele e le parodontiti, e Gore et al. (5) osservò un'associazione con la gravità della distruzione parodontale. Anche Lopez et al. (11), Moreira et al. (30) e Wagner et al. (14) hanno associato IL1B +3954 R-allele con CP. Comunque, Rogers et al. (8) non trovò un'associazione per R-allele

ma per N-allele in CP. Fra i soggetti asiatici, il tasso di portamento di IL1B +3954 (+3953) R-allele è significativamente basso ($\leq 10\%$) (18, 20, 29) di quello nelle popolazioni caucasiche (13%-74%) (tavola 2).

Struch et al. (15) ha eseguito uno studio su larga scala sul polimorfismo IL1B + 3954 in una popolazione caucasica: in un gruppo di 893 pazienti CP e 493 controlli il tasso di portamento per R-allele era rispettivamente del 44% e del 39%, che non era significativo ($P = .07$)

Quattro studi hanno riportato un tasso di portatori per IL1B -511 (-3) R-allele e, a oggi, questo polimorfismo genetico non è stato associato con CP (tabella 3)

La presenza di R-allele era più alto fra i giapponesi (67%) che fra i caucasici (43%-59%) (5,10, 16, 29).

Pochi studi hanno indagato i polimorfismi nel gene IL1RN, codificando IL-1RA (tavola 3) ed erano riportati dei risultati ancora in conflitto fra loro. La presenza di R-allele è associata come un singolo fattore genetico di rischio con CP (45% contro 7% nei controlli) nei turchi caucasici (35). In combinazione con IL1A -889 e IL1B +3954, per l'IL1RN R-allele fu stabilito che ci fosse una relazione con la suscettibilità alla parodontite (6).

Kornman et al. (36) riportò che la presenza combinata di R-allele del gene IL1A in posizione -889 del nucleotide e R-allele del gene IL1B in posizione +3954 (+3953) del nucleotide, fu associata con la gravità delle parodontiti in pazienti caucasici non fumatori. Questa combinazione del tasso di portamento di R-allele fu designata come IL1 genotipo composito (36). Fin da quel tempo dei molti studi che indagano il genotipo IL1 composito in caucasici e non caucasici sono stati pubblicati (tavola 4).

Studi su popolazioni caucasiche hanno mostrato una prevalenza dal 10% al 46% per il genotipo composito, dove nelle popolazioni asiatiche (18, 20, 40) la prevalenza del genotipo composito IL1 era veramente bassa ($\leq 3\%$).

Dopo i risultati iniziali di Kornman et al. (36) molti studi caso-controllo hanno indagato il genotipo composito IL1 come un fattore di rischio apparente per la progressione di CP, la maggior parte nelle popolazioni caucasiche (tabella 4). Due studi hanno osservato un'associazione fra il genotipo composito IL1 e la progressione delle parodontiti in caucasici (11, 37) e uno studio in non caucasici (41). Meisel et al. (39) ha osservato che il genotipo composito IL1 era associato alle parodontiti in caucasici ma solo nei fumatori. Comunque, tutti gli altri studi hanno fallito nel replicare quest'associazione (tavola 4).

Ciò non di meno, è anche riportato che pazienti con genotipo composito IL1 più spesso offrono un rifugio putativo ai patogeni parodontali e contano un aumento di questi patogeni (147). E'

interessante che Laine et al. (6) hanno riportato un aumento della frequenza dell'R-allele dei geni IL1A, IL1B e IL1RN in pazienti non fumatori nei quali i patogeni parodontali *Porphyromonas gingivalis* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* potrebbero non essere individuati.

Questi ultimi risultati suggeriscono che i geni polimorfici IL1 possono giocare un ruolo nell'assenza di altri (apparenti) fattori di rischio.

Preso nell'insieme, il cluster di geni polimorfici IL1 non può essere considerato come un fatto di rischio per la progressione di CP per la popolazione del mondo intero. Comunque, per i pazienti caucasici con CP il genotipo composito IL1 e/o il genotipo IL1B +3953 potrebbero essere fattori di rischio genetico. I risultati della meta analisi di Nikolopoulos et al. (148) sostengono anche un'associazione fra il CP e i portatori di IL1A -889 e IL1B +3953 R-allele pure separatamente come in composito genotipo nei caucasici.

3.3 b) Polimorfismi nel gene TNFA. Il fattore di necrosi tumorale (TNF) è una citochina pro infiammatoria che possiede un ampio raggio di funzioni immunoregolatrici. TNF è prodotto da monociti, macrofagi e linfociti e potenzialmente stimola la produzione di mediatori secondari, incluse citochine o prodotti della ciclossigenasi con il conseguente ampliamento del grado d'infiammazione. Il gene TNFA è localizzato sul cromosoma 6p21.3 nel cluster genico del

Complesso Maggiore di Istocompatibilità. Molti studi caso – controllo sia nei caucasici sia nei non caucasici hanno indagato i polimorfismi genetici nel gene TNFA come apparente fattore di rischio per le parodontiti. Le SNPs nel gene codificante TNFA sono maggiormente studiate nella regione promotrice nelle posizioni -1031, -863, -857, -376, -308 e -238 ma anche nella regione di codifica nel primo introne sequenza in posizione +489. Il risultato di questi studi è sintetizzato nella tabella num 5.

Tabella num. 5 M.L.Laine ,modif.Baldini 2011

***TNFA* polimorfismo genetico e percentuale del *Rare (R)*-allele in studi casocontrollo e associazione con la suscettibilita' alla parodontite cronica.**

<i>TNFA</i> polimorfismo	Etnia dei soggetti	Pazienti		Controlli		Associato Con parodontite	Referenze Bibliografiche
		<i>n</i>	<i>R</i> -allele carriage	<i>n</i>	<i>R</i> -allele carriage		
-1031 T>C	Giapponesi	64 ²	36%	64	22%	+	Soga et al. 2003
-863 C>A	Giapponesi	64 ²	39%	64	25%	+	Soga et al. 2003
-857 C>T	Giapponesi	64 ²	39%	64	28%	+	Soga et al. 2003
-367 G>A	Misto	90	2%	264	2%	-	Craandijk et al. 2002
	Caucasici	32 ²	28%	32	24%	-	Galbraith et al. 1998
	Caucasici	40	20%	45	24%	+	Galbraith et al. 1999
	Caucasici	132	21%	114	24%	-	Fassmann et al. 2003
	Caucasici	81	36%	80	28%	-	Folwaczny et al. 2004
	Caucasici	60	22%	39	18%	-	Donati et al. 2005
	Caucasici	57	35%	100	40%	-	Brett e al. 2005
-308 G>A	Caucasici	56	16%	90	27%	-	Sakellari e al. 2006
	Caucasici	51	31%	178	23%	-	Tervonen e al. 2007
	Caucasici	54	31%	52	35%	-	Schulz e al. 2008
	Misto	90	27%	264	29%	-	Craandijk e al. 2002
	Giapponesi	64 ²	2%	64	3%	-	Soga e al. 2003
	Brasiliani	74	31%	51	44%	-	De Menezes e al. 2008

<i>TNFA</i>	Etnia dei soggetti	Pazienti		Controlli		Associato Con parodontite	Referenze Bibliografiche
		<i>n</i>	R-allele carriage	<i>n</i>	R-allele carriage		
polimorfismo -238 G>A	Caucasici	32 ²	6%	32	6%	–	Galbraith e al. 1998
	Caucasici	54	9%	52	15%	–	Schulz e al. 2008
	Misto	90	6%	264	6%	–	Craandijk e al.

Le differenze del tasso di portatori di R-allele fra giapponesi e altre popolazioni sono apparenti; in posizione -308 i tassi di portatori di R-allele per soggetti giapponesi erano solo del 2%-3% (tabella 5) (29) e per le altre popolazioni del 18%-44% (10, 12, 13, 25, 43-47). Per il TNFA -238 le frequenze di R-allele erano paragonabili fra differenti etnie (<15%) (tavola 5). Per gli altri polimorfismi TNFA sono stati riportati solo studi singoli e associazioni positive con CP sono state trovate per i loci -1031, -863 e -857 (29).

A oggi esistono dati molto limitati a supporto di associazioni fra ogni variazione di geni TNFA e la progressione di CP. Nonostante i TNFA -1031, -857 e -863 di SNP mostrati in associazione con CP nei giapponesi, queste conclusioni non sono state replicate (29).

3.3 c) Polimorfismi nei geni IL4 e IL4RA. L'interleuchina-4 (IL4) è una citosina pleiotropica che è prodotta da una sottopopolazione di cellule T helper 2 e può salvare i linfociti B da apoptosi e accrescere la loro sopravvivenza promuovendo la mediazione immunitaria del linfocita B. Il-4 regola anche verso il basso la funzione macrofagocitica (149). Il gene per IL4 è stato situato nel

cromosoma 5q31.1.

I polimorfismi del gene studiati nel gene IL4 sono sintetizzati nella tabella num 6. Un polimorfismo promotore IL4 -590 e un polimorfismo 70-bp VNTR sono i polimorfismi di IL4 più studiati. Studi caso-controllo non hanno mostrato relazioni fra il polimorfismo del gene IL4 e la progressione di CP in differenti popolazioni.

Tabella num 6. M.L.Laine ,modif.Baldini 2011

Polimorfismo genetico a carico di IL4 and IL4RA e percentuale del Rare (R)-allele in studi caso-controllo , e associazione con la suscettibilità alla parodontite cronica.

<i>IL4 gene</i>	<i>Etnia dei soggetti</i>	<i>Pazienti</i>		<i>Controlli</i>		<i>Ass parodontite</i>	<i>Referenze Bibliografiche</i>
		<i>n</i>	<i>R-allele percentuale</i>	<i>n</i>	<i>R-allele percentuale</i>		
-33 C>T	Caucasici	194	32%	158	25%	–	Holla e al. 2008
	Brasiliani	69	68%	44	57%	–	Scarel-Caminaga e al. 2003
	Africani-American	30	87%	30	81%	–	Pontes e al. 2004
-590 C>T	Caucasici	194	32%	158	25%	–	Holla e al. 2008
	Iraniani	26	33%	56	52%	–	Hooshmand e al. 2008
	Africani American	30	67%	30	57%	–	Pontes e al. 2004]
VNTR intron 3	Caucasici	194	31%	158	25%	–	Holla e al. 2008
RA Q551R	Caucasici	60	45%	39	39%	–	Donati e al. 2005

Comunque un aplotipo del polimorfismo di IL4 (portatore di R-

allele in tutti e 3 gli studi di SNPs) sono stati associati con CP (17.0% dei casi contro 11.0% dei controlli, OR 1.85) (49). Nessuna associazione è stata trovata per i polimorfismi di IL4RA in uno studio sui caucasici (46).

3.3.d) Polimorfismi nei geni IL6 e IL6R. Molteplici ruoli sono stati identificati per l'interleuchina-6 (IL6). E' liberata da differenti tipi di cellule e i loro livelli di secrezione sono determinati dal tipo di cellula e dalla natura dello stimolo (150, 151). Fu dimostrato che il gene IL6 era localizzato nel cromosoma 7p21. I polimorfismi dell'IL6 interessano i livelli della circolazione sierica dell'interleuchina-6. I portatori individuali di R-allele -174 ha ridotto i livelli plasmatici di IL-6 e presenta una debole trascrizione di attività di IL-6 quando paragonata con individuali N/N (152). Perciò una determinata bassa risposta genetica di IL-6 (il portatore -174 R-allele) può ostacolare la difesa individuale contro i patogeni parodontali.

I tassi di portatori di IL6 -174 R-allele variano nelle popolazioni caucasiche da 44% a 54%, nelle popolazioni brasiliane da 37% a 67%, e, incredibilmente, il -174 come i luoghi -190 e -597 sono non polimorfici nella popolazione giapponese (tavola 7). Tre di sei studi su popolazioni caucasiche e uno su due studi su popolazioni brasiliane hanno correlato il polimorfismo di IL6 -174 G>C con la progressione di CP. Con riguardo agli altri polimorfismi del gene IL6, lo studio su cecoslovacchi (57) suggerisce che il polimorfismo -572 può essere un fattore protettivo di CP. Inoltre, per gli altri

polimorfismi IL6 solo singoli studi sono stati riportati.

Concludiamo che il polimorfismo di IL6 -174 può essere associato con la progressione di CP. Comunque, una metanalisi dei polimorfismi di IL6 -174 non mostra nessuna associazione per il polimorfismo con CP (148).

Tabella num 7. M.L.Laine ,modif.Baldini 2011

Polimorfismo del gene IL6 and IL6R e percentuale dell'allele Rare (R)- in studi caso controllo e associazioni con la suscettibilità alla malattia parodontale cronica.

IL6 polimorfismo	Etnia dei soggetti	Pazienti		Controlli		Associato Con parodontite	Referenze Bibliografiche
		N	R-allele Percentuale	n	R-allele Percentuale		
-174 G>C	Caucasici	148	77%	107	84%	-	Holla e al. 2004
	Caucasici	57	61%	100	44%	+	Brett e al. 2005
	Caucasici	124	42%	116	28%	+ ²	Babel e al. 2006
	Caucasici	137	65%	82	62%	-	Wohlfahrt e al. 2006
	Caucasici	51	78%	178	79%	-	Tervonen e al. 2007
	Caucasici	326	61%	144	71%	+³	
	Afro-Americani	93	10%	45	16%	-	Nibali e al. 2009]
	Asiatici	87	20%	29	24%	-	
	Brasiliani	48	37%	36	67%	+⁴	Trevilatto e al. 2003
	Giapponesi	112	0%	77	0%	-	Komatsu e al. 2005
-190 C>T	Brasiliani	155 ¹	44%	54	37%	-	Moreira e al. 2007
	Giapponesi	112	0%	77	0%	-	Komatsu e al. 2005
-572 C>G	Caucasici	148	6%	107	20%	+⁴	Holla e al. 2004
	Giapponesi	112	37%	77	47%	-	Komatsu e al. 2005
	Caucasici	326	10%	144	8%	-	
	Afro-Americani	93	21%	45	13%	-	Nibali e al. 2009
	Asiatici	87	61%	29	55%	-	
-373 (A(n) T(m))	Giapponesi	112	12% (A9T11)	77	21% (A9T11)	+ ⁵	Komatsu e al. 2005

<i>IL6</i> polimorfismo	Etnia dei soggetti	Pazienti		Controlli		Associato Con parodontite	Referenze Bibliografiche
		N	R-allele Percentuale	n	R-allele Percentuale		
-597 G>A	Caucasici	148	78%	107	84%	-	Holla e al. 2004
	Giapponesi	112	0%	77	0%	-	Komatsu e al. 2005
-1363 G>T	Caucasici	326	14%	144	22%	+	Nibali e al. 2009
	Afro-Americani	93	1%	45	4%	-	
	Asiatici	87	5%	29	14%	-	
-1480 C>G	Caucasici	326	58%	144	56%	-	Nibali e al. 2009
	Afro-Americani	93	8%	45	16%	-	
	Asiatici	87	19%	29	24%	-	
-6106 A>T	Caucasici	326	38%	144	37%	-	Nibali e al. 2009
	Afro-Americani	93	36%	45	38%	-	
	Asiatici	87	38%	29	48%	-	
<i>R</i> +48892 A>C	Giapponesi	169	66%	70	66%	- (+ ⁶)	Galicia e al. 2006
<i>R</i> -183 G>A	Giapponesi	169	76%	70	74%	-	Galicia e al. 2006

3.3e) *Polimorfismi nel gene IL10*. L'interleuchina-10 (IL-10) è considerata una citochina antiinfiammatoria che regola a ribasso la risposta immunitaria pro infiammatoria dei monociti e dei macrofagi. Comunque, l'effetto stimolatore del linfocita B può anche stimolare la produzione di autoanticorpi (153). Come dato di fatto, auto-anticorpi possono giocare un ruolo nelle periodontiti (154-156). L'IL-10 è prodotta da monociti, macrofagi e cellule T e gioca un ruolo nella regolazione delle citochine pro infiammatorie come l'IL-1 e il TNF- α .

Il gene codificante per IL-10 è mappato sul cromosoma 1q31-q32 in un cluster con una relativa vicinanza con i geni dell'interleuchina, inclusi IL-19, IL-20 e IL-24. Molteplici polimorfismi promotori sono stati descritti nel gene IL-10: -1087 (-1082), -819 (-824), -627, -592 (-597) e -590 (tavola 8). I polimorfismi di IL-10 -1082, -819 e -592 mostrano un forte disequilibrio di *linkage* e formano 2 comuni aplotipi. Gli aplotipi possono essere determinati sulla base del polimorfismo IL10 -592 (69). Il polimorfismo R-allele di -592 è stato associato con la riduzione della sintesi di IL-10 in vitro e in vivo (157,158) e può essere condotto a sintesi alterate di IL-10 con risposta a stimoli infiammatori (69). IL-10 ha un ruolo protettivo verso la distruzione di tessuto parodontale, inibendo sia la matrice-metalloproteinase (MMP) sia per il sistema:attivatore del recettore del del fattore nucleare κ B (RANK) (159, 160). Perciò i trasportatori IL10 -592 R-allele possono essere meno protetti contro l'attacco batterico.

La tabella 8 riassume gli studi caso-controllo che investigano i polimorfismi genetici nel gene IL10 in associazione con la progressione di CP. I tassi di portatori di IL10 -1087 R-allele variano fra il 44% e l'81% nei caucasici. Il locus -1087 non è stato associato con la progressione di CP in molte popolazioni caucasiche. Comunque il -1087 N-allele era associato con CP nei caucasici svedesi (65).

Il polimorfismo d'il10 -819 è stato messo in correlazione con CP nei brasiliani ma non in altre popolazioni (67). Fino ad oggi tutti e

tre gli studi sul polimorfismo di IL10 -592 hanno trovato un alto tasso di portamento R-allele nella progressione di pazienti con CP (67-69). I tassi di portamento di IL10 -592 R-allele variano in differenti popolazioni fra il 68% e il 75% in pazienti con CP e fra il 41% e il 51% nei controlli.

Uno studio su pazienti giapponesi con CP (N = 34) e su controlli (N =52) ha analizzato aplotipi consistenti di polimorfismi dei geni di IL10 -1087, -819 e -592 (161).

Tabella num 8 M.L.Laine ,modif.Baldini 2011

Polimorfismo a carico *IL10* e percentuale dell'allele Rare (R)- in studi caso-controllo e associazione con la suscettibilità alla malattia parodontale cronica.

<i>IL10</i> Polimorfismo genetico	Etnia dei Soggetti	Pazienti		Controlli		Associato with periodontitis	Reference
		<i>n</i>	R-allele carriage	<i>n</i>	R-allele carriage		
-1087 (-1082) A>G	Caucasici	60	77%	39	69%	- (+ ³)	Berglundh e al. 2003
	Caucasici	57	67%	100	69%	-	Brett e al. 2005
	Caucasici	118	69%	114	74%	-	Babel e al. 2006
	Caucasici	51	63%	178	70%	-	Tervonen e al. 2007
	Caucasici	27	81%	34	70%	-	Reichert e al. 2008
	Mixed ¹	67	49%	43	61%	-	Scarel- Caminaga e al. 2004
	(Caucasici) (48)	(48)	(44%)	(36)	(61%)	(-)	
-819 (-824) C>T	Caucasici	27	26%	34	32%	-	Reichert e al. 2008
	Mixed ¹	67	76%	43	51%	+	Scarel- Caminaga e al. 2004
	(Caucasici) (48)	(48)	(77%)	(36)	(47%)	(+)	
	Turkish	75	56%	73	45%	-	Sumer e al.

<i>IL10</i> Polimorfismo genetico	Etnia dei Soggetti	Pazienti		Controlli		Associato with periodontitis	Reference
		<i>n</i>	<i>R</i> -allele carriage	<i>n</i>	<i>R</i> -allele carriage		
-627 C>A	Caucasici	57	32%	100	40%	-	Brett e al. 2005
	Mixed ¹	67	72%	43	51%	+	Scarel- Caminaga e al. 2004
-592 (-597) C>A	(Caucasici)	(48)	(75%)	(36)	(47%)	(+)	
	Mixed ²	116	71%	173	51%	+	Claudino e al. 2008
	Turkish	75	68%	73	41%	+	Sumer e al. 2007

Solo le frequenze aplotipiche sono state riportate e non sono state presentate le frequenze di genotipi separati. Nessuna significativa differenza per i tassi di portatori degli aplotipi del gene *IL10* è stata trovata fra pazienti e controlli. Impressionante è stata la completa assenza di portatori di N-allele alla posizione -1087 fra i giapponesi, in contrasto con i caucasici (tabella 8) dove -1087 N-allele è la più frequente variante (65, 161).

In conclusione, i tassi di portatori di *IL10* -592 R-allele sono stati associati con la progressione di CP e i risultati sono stati replicati (67-69). Perciò concludiamo che il polimorfismo di *IL10* -592 può essere un marcatore genetico per la progressione di CP:

3.3 f) *Polimorfismi nel gene FcyR*. I recettori dei leucociti per la parte costante d'immunoglobulina (FcR) legano le parti cellulari e

umorali del sistema immunitario che sono considerati essenziali per la difesa dell'ospite contro i batteri.

FcyRs è stato trovato in una larga varietà di cellule immunitarie nei tessuti parodontali (162). FcyRs è come giocare un ruolo nella patogenesi delle periodontiti (163). Microorganismi e batteri antigeni, marcati con anticorpi, possono essere fagocitati via FcyR sui neutrofili o internalizzate via FcyR da una varietà di cellule antigene presenti, inclusi monociti, macrofagi e cellule B. Le cellule T e le cellule natural killer possono diventare attive quando i batteri marcati IgC sono rimbalzate a queste cellule via FcyR; una varietà di citochine e chemocine possono essere rilasciate (164).

I geni FcyR sono stati trovati nel cromosoma 1 e codificato in tre classi principali di recettori: FcyRI (CD64), FcyRII (CD32) e FcyRIII (CD16). Queste classi sono poi suddivise in sotto classi: FcyRIa e b, FcyRIIa, b e c e FcyRIIIa e b. Le differenze nella struttura e nella funzione in FcyRIIIa, IIIA e b sono state descritte (164,165).

Tre studi che hanno indagato i polimorfismi di FcyRIIa, FcyRIIIa e FcyRIIIb sulle parodontiti sono riassunti nella tabella 9. Molti studi hanno indagato i polimorfismi di FcyRIIa su CP. Nei caucasici il tasso di portatori del FcyRIIa R-allele è relativamente alto: 63%-76% (70-73) e nelle popolazioni asiatiche il tasso di portatori è basso: 36%-62% (tabella 9). In generale, i polimorfismi FcyRIIa non sono associati con CP. Comunque Yamamota e al. (72) ha osservato una prevalente diminuzione di FcyRIIa R-allele fra

pazienti CP caucasici e controlli in un ampio studio caso-controllo. L'Omozigosità per N-allele era prevalentemente significativa in Pazienti CP fumatori (72).

Un basso tasso di portatori R-allele del gene FcyRIIIa è stato visto nei giapponesi in paragone ai caucasici. In una popolazione giapponese fu trovato che Il FcyRIIIa R-allele fosse sovra rappresentato in pazienti con ricorrente malattia parodontale (78). In contrasto, un altro studio giapponese mostrava che FcyRIIIa N-allele era sovra rappresentato in pazienti con parodontiti gravi contro pazienti con malattia moderata (76). Ma nessuno studio fu associato con i polimorfismi di FcyRIIIa con la progressione di CP.

Tabella num 9 M.L.Laine ,modif.Baldini 2011

Polimorfismo genetico a carico di FcyRIIa, FcyRIIIa, and FcyRIIIb e percentuale dell'allele Rare (R)-allele in studi caso-controllo e associazione con la suscettibilità alla malattia parodontale cronica

FcyR polimorfismo genetico	Etnia dei soggetti	Pazienti		Controlli		Associato Con parodontite	Referenze bibliografiche
		N	R-allele Percentuale	N	R-allele Percentuale		
	Caucasici	54	76%	24	71%	–	Colombo e al. 1998
	Caucasici	56	70%	61	75%	–	Loos e al. 2003
	Caucasici	213	63%	209	75%	– (+ ⁴)	Yamamoto e al. 2004
IIa 131 H>R	Caucasici	132	72%	72	74%	–	Wolf e al. 2006
	Giapponesi	100	44%	105	40%	–	Kobayashi e al. 1997
	Giapponesi	83	46%	104	39%	–	Kobayashi e al. 2000
	Giapponesi	89	42%	64	42%	–	Kobayashi e

FcyR polimorfismo genetico	Etnia dei soggetti	Pazienti		Controlli		Associato Con parodontite	Referenze bibliografiche
		N	R-allele Percentuale	N	R-allele Percentuale		
	Ab di Taiwan	50	50%	74	62%	–	al. 2001 Chung e al. 2003
	Giapponesi	58 ³	48%	44	36%	–	Kobayashi e al. 2007
	Giapponesi	100 ³	44%	100	39%	–	Kobayashi e al. 2007
	Giapponesi	56	73%	61	59%	–	Loos e al. 2003
	Giapponesi	100	42%	104	46%	–	Sugita e al. 1999
	Giapponesi	83	43%	104	46%	–	Kobayashi e al. 2000
	Caucasici	89	49%	64	39%	–	Kobayashi e al. 2001
	Caucasici	58 ³	40%	44	45%	–	Kobayashi e al. 2007
	Caucasici	100 ³	45%	100	45%	–	Kobayashi e al. 2007
	Caucasici	54	89%	24	75%	–	Colombo e al. 1998
	Caucasici	56	88%	61	92%	–	Loos e al. 2003
	Caucasici	132	84%	72	89%	–	Wolf e al. 2006
<i>IIIb NA1 > NA2</i>	Giapponesi	100	63%	105	64%	–	Kobayashi e al. 1997
	Giapponesi	83	64%	104	64%	–	Kobayashi e al. 2000
	Giapponesi	89	62%	64	56%	–	Kobayashi e al. 2001
	Giapponesi	73	74%	46	56%	+	Sugita e al. 2001
	Giapponesi	52	58%	55	57%	–	Yoshihara e al. 2001

FcyR polimorfismo genetico	Etnia dei soggetti	Pazienti		Controlli		Associato Con parodontite	Referenze bibliografiche
		<i>N</i>	<i>R</i> -allele Percentuale	<i>N</i>	<i>R</i> -allele Percentuale		
		Taiwan	50	62%	74		
Giapponesi	58 ³	66%	44	55%	–	Kobayashi e al. 2007	
Giapponesi	100 ³	66%	100	64%	–	Kobayashi e al. 2007	

E' palese che vi siano dei risultati in conflitto e i paragoni fra i differenti studi sono difficili poiché la prevalenza dei genotipi FcyR differisce fra soggetti di differenti ambienti etnici.

Il tasso di portatori di FcyRIIIb R-allele nei caucasici era relativamente alto (>75%) e negli asiatici era un po' più basso (55%-74%). Nei caucasici nessuna associazione è stata trovata fra il portatori FcyRIIIb R-allele e la progressione CP. Comunque in uno studio giapponese la presenza R-allele è stato associato con la progressione CP (79). Due studi di Kobayashi e al. (74, 76) hanno mostrato un'associazione con la ricorrenza della malattia CP e la gravità in combinazione con FcyRIIIa N-allele.

Inizialmente, si suggeriva che i polimorfismi nei geni FcyR giocavano un ruolo nelle parodontiti (166); comunque nel presente esame sulla progressione della CP, solo uno studio su dieci ha trovato CP associata con il polimorfismo di FcyRIIIa dei fumatori (72) e uno studio su nove con FcyRIIIb (79). Quindi concludiamo che i riportati polimorfismi del gene FcyR non sono associati alla

progressione di CP. Comunque, a oggi nessuna investigazione epidemiologica su larga scala è valida, e, conseguentemente, nessun chiaro e convincente dato è presentato per assegnare i polimorfismi del gene FcyR come fattori di rischio per CP.

3.3.h) Polimorfismi nel gene VDR. La vitamina D gioca un ruolo nel metabolismo osseo. Poiché il riassorbimento alveolare dell'osso è una delle caratteristiche principali della malattia parodontale, è plausibile che i mediatori del metabolismo osseo come il recettore della vitamina D (VDR) e i suoi polimorfismi genetici giochino un ruolo nella progressione della CP. In aggiunta alla mediazione nell'omeostasi ossea, la vitamina D e il suo recettore giocano un ruolo nella fagocitosi da monociti e influenzano la differenziazione monocitaria (167). Il gene umano VDR è localizzato nel cromosoma 12q12-q14. I polimorfismi genici nel gene VDR sono stati anche associati con malattie infettive, in particolare la tubercolosi (168, 169). I meccanismi con cui i polimorfismi del gene VDR possono influenzare la progressione CP non sono stati ancora chiariti. I polimorfismi Taq1, Bsm1 e Apa1 non cambiano la trascrizione della proteina anche se il polimorfismo Fok1 può essere funzionale creando un ulteriore codone di start (ACG a ATG) (170). Molteplici studi hanno identificato i polimorfismi VDR in relazione con CP a RFLP in posizioni Taq1, Bsm1, Fok1 e Apa1 (tabella 10) (10, 80-86). Molti studi sullo SNPs del gene VDR hanno trovato associazione con CP, comunque non sempre incondizionatamente

(tabella 10).

Il range di portatori di VDR *Taq1* R-allele è tra 42 e 78% in base all'etnia delle popolazioni, eccetto le popolazioni asiatiche, dove bassi tassi (4%-23%) sono stati riportati (tabella 10). Non il *Taq1* R-allele ma il N-allele è stato associato con la progressione di CP in molti studi (tabella 10). Un altro polimorfismo VDR (*Bsm1*) non ha mostrato associazione con CP come singolo SNP ma in differenti combinazioni aplo tipiche con altri polimorfismi VDR (84-86). Il gene VDR è un interessante candidato per la sua associazione con le parodontiti, poiché interessa sia il metabolismo osseo sia le funzioni immunitarie. Il VDR *Taq1* SNP può essere associazione alla progressione CP come singolo polimorfismo o in combinazione con altri polimorfismi del gene VDR

Tabella num 10 M.L.Laine ,modif.Baldini 2011

Il polimorfismo genetico a carico del recettore della vitamina D(VDR) e percentuale dell'allele *Rare (R)*- in studi caso-controllo e associazione con la suscettibilità alla parodontite cronica.

<i>Polimorfismo VDR gene</i>	Etnia	Pazienti		Controlli		Associato Con parodontiti	Reference
		<i>N</i>	<i>R-allele</i> percentuale	<i>n</i>	<i>R-allele</i> percentuale		
<i>Taq1</i> T>C	Caucasici	57	49%	100	78%	+	Brett e al. 2005
	Caucasici	58	53%	140	63%	+ ³	Nibali e al. 2008
	Cinesi	24	4%	39	5%	-	Sun e al. 2002
	Giapponesi	74	11%	94	23%	+ ⁴	Tachi e al. 2003

<i>Polimorfismo VDR gene</i>	Etnia Dei soggetti	Pazienti		Controlli		Associato Con parodontiti	Reference
		<i>N</i> percentuale	<i>R</i> -allele percentuale	<i>n</i> percentuale	<i>R</i> -allele percentuale		
<i>BsmI</i> A>G	Brasiliani	69	67%	44	45%	+ (+ ⁵)	de Brito e al. 2004
	Turchi	72	50%	102	42%	- (+ ⁶)	Gunes e al. 2008
	Giapponesi	52	21%	55	20%	-	Yoshihara e al. 2001
	Giapponesi	17	23%	80 ²	19%	- (+ ⁷)	Naito e al. 2007
<i>FokI</i> A>G	Brasiliani	69	86%	44	82%	- (+ ⁵)	de Brito Junior et al. 2004
	Turchi	72	86%	102	91%	- (+ ⁶)	Gunes e al. 2008
<i>Apal</i> G>T	Giapponesi	74	63%	94	54%	-	Tachi e al. 2003
	Giapponesi	17	47%	80 ⁶	69%	- (+ ⁷)	Naito e al. 2007
<i>Apal</i> G>T	Giapponesi	17	30%	80 ⁶	53%	- (+ ⁷)	Naito e al. 2007
	Turchi	72	54%	102	61%	- (+ ⁶)	Gunes e al. 2008

3.3 l) *Polimorfismi nello Patern(schema) di Riconoscimento dei Geni Recettore*. Il sistema immunitario innato riconosce il patogeno associato al patern molecolare (PAMPs) espresso nei microorganismi, ma non nelle cellule ospiti. Recettori extra e intracellulari come i recettori CD14, CARD15 e Toll-like (TLRs) riconoscono lo PAMPs del batterio Gram-positivo e Gram-negativo e media la produzione delle citochine necessarie per il maggior

sviluppo dell'immunità effettiva. Sia TLR2 sia TLR4 usano CD14 come un recettore.

3.3.m) Polimorfismi nel gene CD14. Il gene per CD14 è localizzato nel cromosoma 5q21-q23. Il polimorfismo del promotore CD14 -260 (-159) è localizzato alla sorgente del maggior sito di trascrizione, interessando l'attività di trascrizione e la densità di CD14 (171). L'Omozigosi individuale per R-allele aumenta i livelli di CD14 solubile nel siero e la densità di CD14 nei monociti (171). Il CD14 -260 R-allele è stato inizialmente associato con l'aumentato rischio d'infarto del miocardio (71) e con il morbo di Crohn (172). Dato che CD14 -260 N-allele conduce a un'espressione ridotta del recettore CD14, è associato i portatori individuali di N-allele possono essere più suscettibili a CP poiché sono meno protetto dal recettore CD14 (173).

Il tasso di portatori di CD14 -260 R-allele varia in differenti etnie dal 47% all'82%. Otto studi hanno indagato il polimorfismo CD14 -260 in soggetti CP caucasici (tabella 11), ma i risultati sono in conflitto fra loro. Due studi hanno trovato un'associazione con N-allele e un altro studio con R-allele, dove cinque studi non hanno trovato nessuna associazione con la progressione di CP (87,93).

Risultati per un altro polimorfismo (opposizione -1359) nel gene CD14 sono anche stati riportati (87, 90); non è stata trovata alcuna associazione con la progressione di CP. Comunque un'alta frequenza di N-allele e genotipo N/N del polimorfismo di CD14 -

1359 è stata trovata in pazienti con malattia parodontale grave rispetto ai pazienti con parodontiti lievi (tabella 11) (87).

Finiamo che il polimorfismo di CD14 può essere associato alla progressione di CP.

Tabella num 11 M.L.Laine ,modif.Baldini 2011

Il polimorfismo genetico a carico di CD14, TLR2, and TLR4 e percentuale dell'allele Rare (R)- in studi caso-controllo e associazione con la suscettibilità alla parodontite cronica.

Soggetti	Etnia dei	Pazienti		Controlli		Associato Con parodontite	Referenze bibliografiche
		n	R-allele percentuale	n	R-allele percentuale		
	Caucasici	135	74%	207	70%	-	Holla e al. 2002
	Caucasici	70	66%	75	76%	- (+ ³)	Folwaczny e al. 2004
	Caucasici	60	67%	39	77%	+ ⁴	Donati e al. 2005
	Caucasici	100	74%	99	71%	+ ⁵	Laine e al. 2005
CD14 - 260 ¹ C>T	Caucasici	95	75%	94	77%	-	James e al. 2007
	Caucasici	51	47%	178	57%	- (+ ⁶)	Tervonen e al. 2007
	Caucasici	60	67%	80	64%	-	Schulz e al. 2008
	Caucasici	72	76%	35	80%	-	Nicu e al. 2009
	Non-Caucasici	33	64%	22	86%	-	
	Giapponesi	163	75%	104	82%	- (+ ⁷)	Yamazaki e al. 2003
CD14 - 1359	Caucasici	135	43%	207	42%	-	Holla e al. 2002
	Caucasici	95	38%	94	35%	-	James e al. 2007

	Etnia dei Soggetti	Pazienti		Controlli		Associato Con parodontite	Referenze bibliografiche
		<i>n</i>	percentuale	<i>n</i>	percentuale		
<i>TLR2</i> Arg677Tr P	Caucasici	12 2	0%	12 2	0%	–	Folwaczny e al. 2004
	Caucasici	83	0%	10 6	0%	–	Berdeli e al. 2007
	Giapponesi	97	0%	10 0	0%	–	Fukusaki e al. 2007
	Cinesi	50	100%	10 0	100%	–	Zhu e al. 2008
<i>TLR2</i> Arg753Gln	Caucasici	12 2	3%	12 2	4%	–	Folwaczny e al. 2004
	Caucasici	83	13%	10 6	13%	–	Berdeli e al. 2007
	Giapponesi	97	0%	10 0	0%	–	Fukusaki e al. 2007
	Cinesi	50	0%	10 0	6%	–	Zhu e al. 2008
<i>TLR2</i> -183	Giapponesi	97	0%	10 0	1%	–	Fukusaki e al. 2007
<i>TLR2</i> -148	Giapponesi	97	0%	10 0	1%	–	Fukusaki e al. 2007
<i>TLR2</i> -146	Giapponesi	97	0%	10 0	1%	–	Fukusaki e al. 2007
<i>TLR2</i> +1350	Giapponesi	97	40%	10 0	28%	–	Fukusaki e al. 2007
<i>TLR2</i> +2343	Giapponesi	97	0%	10 0	3%	–	Fukusaki e al. 2007
<i>TLR4</i> Asp299Gly	Caucasici	12 2	4%	12 2	3%	–	Folwaczny e al. 2004
	Caucasici	57	11%	10 0	7%	–	Brett e al. 2005
	Caucasici	10 0	10%	99	9%	–	Laine e al. 2005

Etnia dei Soggetti	Pazienti		Controlli		Associato Con parodontit e	Referenze bibliografich e	
	<i>n</i>	percentual e	<i>n</i>	percentual e			
Caucasici	83	5%	106	6%	–	Berdeli e al. 2007	
Caucasici	171	14%	218	11%	–	Holla e al. 2007	
Caucasici	95	19%	94	17%	–	James e al. 2007	
Caucasici	51	25%	178	20%	–	Tervonen e al. 2007	
Caucasici	60	13%	80	9%	–	Schulz e al. 2008	
Giapponesi	97	0%	100	0%	–	Fukusaki e al. 2007	
Cinesi	50	0%	100	0%	–	Zhu e al. 2008	
	Caucasici	122	4%	122	4%	–	Folwaczny e al. 2004
	Caucasici	57	7%	100	18%	–	Brett e al. 2005
	Caucasici	100	10%	99	9%	–	Laine e al. 2005
	Caucasici	83	4%	106	5%	–	Berdeli e al. 2007
<i>TLR4</i> Thr399Ile	Caucasici	171	14%	218	10%	–	Holla e al. 2007
	Caucasici	95	22%	94	20%	–	James e al. 2007
	Caucasici	60	13%	80	9%	–	Schulz e al. 2008
	Giapponesi	97	0%	100	0%	–	Fukusaki e al. 2007
	Cinesi	50	0%	100	0%	–	Zhu e al. 2008
<i>TLR4</i> +3528	Giapponesi	97	0%	100	2%	–	Fukusaki e al. 2007
<i>TLR4</i>	Giapponesi	97	26%	10	29%	+	Fukusaki e al.

	Etnia dei Soggetti	Pazienti		Controlli		Associato Con parodontit e	Referenze bibliografich e
		<i>n</i>	percentual e	<i>n</i>	percentual e		
+3525				0			2007
<i>TLR4</i> +4022	Giapponesi	97	0%	10 0	1%	–	Fukusaki e al. 2007
<i>TLR4</i> +4529	Giapponesi	97	2%	10 0	1%	–	Fukusaki e al. 2007

3.3 n) *Polimorfismi nei geni TLR2 e TLR4*. I geni TLR2 e TLR4 mappano rispettivamente nei cromosomi 4q32 e 9q32-q33. E' stato riportato che i polimorfismi dei geni TLR2 Arg677Trp e Arg753Gln cambiano l'abilità di TLR2 di mediare una risposta agli elementi batterici (174). Due comuni polimorfismi di TLR4, Asp299Gly e Thr399Ile, affettano il dominio extracellulare della proteina TLR4, portando a un'attenuata efficacia della segnalazione di LPS e una ridotta capacità di suscitare infiammazione (175) il polimorfismo del gene TLR4 Asp299Gly è stato correlato con la sepsi e le infezioni causate dal batterio Gram-negativo (176). Il citato polimorfismo TLR è stato studiato da numerosi gruppi in associazione con periodontiti (tabella 11) (10, 13, 89-91, 94-97, 177). Comunque, a dispetto dell'importanza percepita di questi polimorfismi di TLR, nessuna relazione con CP è stata osservata.

Nove SNPs nei geni TLR2 e TLR4 sono stati studiati da Fukusaki e al. (95) in una popolazione giapponese, e il polimorfismo TLR4 +3725 è stato trovato associato a CP.

Molto interessante, il locus TLR2 677 non era polimorfico in popolazioni caucasiche e giapponesi (94, 95 , 177), ma il genotipo etero zigotico fu trovato nel 100% dei cinesi Han (96). I polimorfismi di TLR2 753 e TLR4 non erano, o in minima percentuale, polimorfici in popolazioni asiatiche. In popolazioni caucasiche il tasso di portatori di TLR4 299 e 399 di R-allele aveva un range fra 4% e 25% (tabella 11).

Sebbene il pattern di riconoscimento dei geni recettori sembra essere un buon candidato per la loro associazione con le parodontiti, le ricerche non hanno portato nessuna importante indicazione che possono essere associati con la progressione di CP.

3.3 o). Polimorfismi in Geni Misti. Polimorfismi di candidati misti di geni che sono stati studiati in relazione con CP sono elencati in tabella 12. Non sono discussi in dettaglio come i citati geni, poiché molti risultati negativi e/o pochissimi studi sono stati pubblicati per una significativa analisi. Comunque la tabella 12 illustra la varietà di candidati geni e la difficoltà di interpretare i risultati; anche se risultati positivi sono riportati, sono spesso in sottogruppi o condizionati.

Tabella num 12 M.L.Laine ,modif.Baldini 2011

Polimorfismi genetici e proteine codificate studiate in relazione alla

suscettibilità alla malattia parodontale.

Polimorfismi in gene	Proteine prodotte	Referenze Bibliografiche	Associato Con parodontite
<i>ACE</i>	Angiotensin-converting enzyme	Holla e al. 2001	- (+ ¹)
<i>BPI</i>	Bactericidal/permeability-increasing protein	Glas e al. 2006	-
<i>CARD15 (NOD2)</i>	Caspase recruitment domain-15	Folwaczny e al. 2004 Laine e al. 2004	- -
<i>CCR5</i>	Chemokine receptor-5	Folwaczny e al. 2003 Wohlfahrt e al. 2006 Savarrio e al. 2007	- - -
<i>COL1A1</i>	Type 1 collagen	Sakellari e al. 2006	-
<i>COX-2</i>	Cyclooxygenase-2	Ho e al. 2008 Xie e al. 2009	+ +
<i>CTLA-4</i>	Cytotoxic T-lymphocyte antigen-4	Wohlfahrt e al. 2006	-
<i>DEFB1</i>	Human defensin 1	Wohlfahrt e al. 2006	-
<i>eNOS</i>	Endothelial nitric oxide synthase	Berdeli e al. 2006	+
<i>ER2</i>	Estrogen receptor-2	Zhang e al. 2004	-
<i>E-selectin</i>	E-selectin	Houshmand e al. 2009	+
<i>ET1</i>	Endothelin-1	Holla e al. 2001	-
<i>FasL</i>	Fas ligand	Wohlfahrt e al. 2006	-
<i>FBR</i>	Fibrinogen	Sahingur e al. 2003 Yasuda e al. 2003	+ ² +
<i>FcγRIIb</i>	Fcγ receptor IIb	Kobayashi e al. 2007	+
<i>GSTM1</i>	Glutathione-S-transferase M1	Concolino e al. 2007	+
<i>GSTT1</i>	Glutathione-S-transferase T1	Concolino e al. 2007	-
<i>ICAM-1</i>	Intercellular adhesion molecule-1	Wohlfahrt e al. 2006	-
<i>ICOS</i>	Inducible costimulator	Wohlfahrt e al. 2006	-

Polimorfismi in gene	Proteine prodotte	Referenze Bibliografiche	Associato Con parodontite
<i>IFNG</i>	Interferon γ	Hooshmand e al. 2008	-
		Reichert e al. 2008	-
<i>IFNGR1</i>	Interferon γ receptor-1	Fraser e al. 2003	- (+ ³)
		Babel e al. 2006	-
<i>IL2</i>	Interleukin-2	Scarel-Caminaga e al. 2002	-
<i>IL12</i>	Interleukin-12	Reichert e al. 2008	-
<i>IL12RB2</i>		Takeuchi-Hatanaka e al. 2008	-
<i>IL16</i>	Interleukin-16	Folwaczny e al. 2005	-
<i>IL18</i>	Interleukin-18	Folwaczny e al. 2005	-
<i>IL24</i>	Interleukin-24	Savarrio e al. 2007	-
<i>Lactoferrin</i>	Lactoferrin	Wu e al. 2009	-
<i>L-selectin</i>	L-selectin	Houshmand e al. 2009	-
<i>LTA</i>	Lymphotoxin- α	Holla e al. 2001	+
		Fassmann e al. 2003	- (+ ⁴)
<i>MBL</i>	Mannose binding lectin	Louropoulou e al. 2008	-
		Tsutsumi e al. 2009	-
<i>MMP1</i>	Matrix metalloproteinase-1	de Souza e al. 2003]	- (+ ⁵)
		Holla e al. 2004	-
		Itagaki e al. 2004	-
		Astolfi e al. 2006	-
		Cao e al. 2006	+
		Pirhan e al. 2008	+
Ustun e al. 2008	-		
<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase-1 (gelatinase	Holla e al. 2005	-

Polimorfismi in gene	Proteine prodotte	Referenze Bibliografiche	Associato Con parodontite
	A)	Gurkan e al. 2008	–
<i>MMP3</i>	Matrix metalloproteinase-3	Itagaki e al. 2004 Astolfi e al. 2006	– +
<i>MMP9</i>	Matrix metalloproteinase-9	de Souza e al. 2005 Holla e al. 2006 Keles e al. 2006 Gurkan e al. 2008	– – + –
<i>MMP12</i>	Matrix metalloproteinase-12	Gurkan e al. 2008	–
<i>MPO</i>	Myeloperoxidase	Meisel e al. 2002	– (+ ⁶)
<i>NAT2</i>	N-acetyltransferase-2	Meisel e al. 2000 Kocher e al. 2002	+ –
<i>OPG</i>	Osteoprotegerin	Wohlfahrt e al. 2006 Wagner e al. 2007 Baioni e al. 2008 Park e al. 2008	– – – – (+ ⁷)
<i>OPN</i>	Osteopontin	Wohlfahrt e al. 2006	–
<i>PAI1</i>	Plasminogen-activator-inhibitor-1	Holla e al. 2002 Gurkan e al. 2007	+ –
<i>RAGE</i>	Receptor for advanced glycation end products	Holla e al. 2001	+
<i>RANTES</i>	Regulated on activation, normal T cells expressed and secreted	Savarrio e al. 2007	–
<i>S100A8</i>	Calprotectin	Li e al. 2007	+ ⁸
<i>SFTPD</i>	Surfactant protein D	Glas e al. 2008 Holla e al. 2002	– –
<i>TGFB1</i>	Transforming growth factor- β_1	de Souza e al. 2003 Atilla e al. 2006 Babel e al. 2006	– + + ⁹
<i>TIMP2</i>	Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase	de Souza e al. 2005	–

Polimorfismi in gene	Proteine prodotte	Referenze Bibliografiche	Associato Con parodontite
<i>TNFR2</i>	Tumor necrosis factor receptor-2	Shimada e al. 2004	+
<i>t-PA</i>	Tissue plasminogen-activator	Gurkan e al. 2007	-

3.3 p). Discussione e conclusioni

Il progetto di studio che vede l'associazione caso-controllo è considerato un potente metodo per rilevare quanto frequentemente determinati polimorfismi dei geni, possono predisporre o no in questo caso alla malattia parodontale . Comunque questo progetto di studi è suscettibile a una varietà di potenziali errori metodologici. Un'importante preoccupazione è la selezione dei soggetti casi e controlli perché ha un grande impatto sull'esito dello studio. Per essere in grado di rilevare polimorfismi genetici che giocano un ruolo nella predisposizione alle malattie, una stretta classificazione del fenotipo deve essere impiegata durante la selezione della procedura di studio dei soggetti. Importanti sono i sintomi clinici come la profondità della tasca parodontale, la perdita di attacco e la perdita di osso alveolare sono tutte differenti forme di malattia periodontale. Anche la definizione dei soggetti di controllo può variare in differenti studi. Qualche resoconto caratterizza i suoi soggetti di controllo come pazienti con gengiviti o popolazioni di controllo. L'imprecisione nella classificazione della malattia di CP porta a difficoltosi studi caso-controllo e replicazione degli studi.

Un altro possibile pregiudizio negli studi caso-controllo è la diversità di ambienti etnici della coorte dello studio. Poiché la frequenza del genotipo e dell'allele può differire fra diverse etnie (178); soggetti casi e controlli dovrebbero essere selezionati in conformità a stessi ambienti etnici. Un fattore di rischio genetico per la progressione della malattia in una popolazione può non esserlo in un'altra popolazione.

Dal presente esame, è diventato chiaro che un importante numero di studi sulla progressione di CP è limitato dal modello di misura e potere. Conseguentemente, nessun polimorfismo di gene è stata ancora definitivamente mostrato, essere un fattore di rischio per la progressione di CP. Un numero sufficiente di casi e controlli può essere reclutato per minimizzare il rischio d'identificazione di associazioni di falsi positivi dovuti a una sola occasione o, al contrario, al fallimento nel rilevare una vera associazione fra un polimorfismo e una malattia (falsi negativi).

Tipico per complessi di malattie multifattoriali e poligenetiche è che ogni polimorfismo genetico ha generalmente solo un effetto modesto, e che l'interazione dei geni e dei loro polimorfismi con ogni altro (interazione gene-gene) e con fattori ambientali (interazione gene-ambiente) potenzialmente soffre d'influenza sul fenotipo osservato.

Comunque, svariate analisi, dovrebbero essere incluse per generare eventuali rapporti di cui tenere conto in prossimità dell'età e dei generi stabiliti di fattori di rischio come il fumo, fattori

microbiologici ed eventuali interazioni con altri polimorfismi dei geni.

Negli studi caso-controllo la selezione dei geni candidati e dei loro polimorfismi è basata su una conoscenza a priori della patogenesi e dei fenotipi della malattia. Conseguentemente, una delle più grandi sfide negli studi dei geni candidati rimane la selezione intelligente dei geni candidati e dei loro polimorfismi. Comunque, l'insieme delle conoscenze, a oggi, enorme ed effettivamente basata su metodi computerizzati, può essere d'aiuto per decidere a priori quali geni, polimorfismi e combinazioni (aplotipi) hanno la miglior possibilità d'influenza la progressione della malattia_(181, 182). Molte ricerche genetiche sulla progressione di CP sono state fino ad adesso focalizzata sui polimorfismi del gene che gioca un ruolo nel riconoscimento e l'eliminazione del batterio dal sistema immunitario, i processi di distruzione del tessuto o i meccanismi metabolici.

Metanalisi possono aiutare a razionalizzare i risultati da molti studi piccoli e conflittuali. Un tempo, dei molti studi era disponibile, metanalisi erano eseguiti per ottenere dati da studi differenti e determinare la frequenza dell'allele in differenti popolazioni. Comunque, metanalisi possono avere problemi inerenti come lo includere studi individuali che impiegano largamente differenti criteri di fenotipi.

Evidentemente, molti studi sui polimorfismi genici nella progressione di CP sono necessari impiegando un alto numero

d'individui.

Conclusioni definitive possono essere disegnate in conformità a molteplici studi su larga scala. Consorzi e studi collaborativi possono aiutare a sconfiggere le limitazioni di studi individuali.

In conclusione, la ricerca sui polimorfismi dei geni nei recenti anni ha avuto un successo limitato per dipanare significativamente e riprodurre i fattori genetici per la progressione di CP. Presi insieme i dati pubblicati sui polimorfismi dei geni in CP, ci portano alla conclusione che a questo punto c'è una relativamente larga variazione fra i differenti studi per i tassi di portamento R-allele, anche se lo studio è fatto sulle popolazioni dello stesso ambiente etnico. Non di meno, una certa evidenza sta emergendo che i polimorfismi nei geni IL1, IL6, IL10; VDR e CD14 possono essere associati con la progressione di CP in certe popolazioni. Studi futuri dovrebbero applicare più strettamente la classificazione della malattia, vasti studi su coorti, regolare rilevanti fattori di rischio in CP e includere analisi di multipli geni e polimorfismi.

Nuovi metodi statistici possono permettere una migliore valutazione di multipli geni e polimorfismi in stessi sentieri e interazioni con fattori ambientali. La possibilità di includere dati provenienti da molteplici geni e polimorfismi o aplotipi e dati ambientali, e modellare la loro interazione, ci darà una migliore valutazione di CP e della sua fisiopatologia.

Bibliografia

1. Borrell LN, Papapanou PN. Analytical epidemiology of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2005;32(supplement 6):132–158.
2. Michalowicz BS, Diehl SR, Gunsolley JC, et al. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2000;71(11):1699–1707.
3. Michalowicz BS, Aeppli D, Virag JG, et al. Periodontal findings in adult twins. *Journal of Periodontology*. 1991;62(5):293–299.
4. Offenbacher S, Barros SP, Beck JD. Rethinking periodontal inflammation. *Journal of Periodontology*. 2008;79(8, supplement):1577–1584.
5. Gore EA, Sanders JJ, Pandey JP, Palesch Y, Galbraith GMP. Interleukin-1 β allele 2: association with disease status in adult periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 1998;25(10):781–785.
6. Laine ML, Farre MA, Garcia-González MA, et al. Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis. *Journal of Dental Research*. 2001;80(8):1695–1699.
7. Thomson WM, Edwards SJ, Dobson-Le DP, et al. IL-1 genotype and adult periodontitis among young New Zealanders. *Journal of Dental Research*. 2001;80(8):1700–1703.
8. Rogers MA, Figliomeni L, Baluchova K, et al. Do interleukin-1 polymorphisms predict the development of periodontitis or the success of dental implants? *Journal of Periodontal Research*. 2002;37(1):37–41.

9. Sakellari D, Koukoudetsos S, Arsenakis M, Konstantinidis A. Prevalence of IL-1A and IL-1B polymorphisms in a Greek population. *Journal of Clinical Periodontology*. 2003;30(1):35–41.
10. Brett PM, Zygogianni P, Griffiths GS, et al. Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis. *Journal of Dental Research*. 2005;84(12):1149–1153.
11. Lopez NJ, Jara L, Valenzuela CY. Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease. *Journal of Periodontology*. 2005;76(2):234–243.
12. Sakellari D, Katsares V, Georgiadou M, Kouvatsi A, Arsenakis M, Konstantinidis A. No correlation of five gene polymorphisms with periodontal conditions in a Greek population. *Journal of Clinical Periodontology*. 2006;33(11):765–770.
13. Tervonen T, Raunio T, Knuutila M, Karttunen R. Polymorphisms in the CD14 and IL-6 genes associated with periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 2007;34(5):377–383.
14. Wagner J, Kaminski WE, Aslanidis C, et al. Prevalence of OPG and IL-1 gene polymorphisms in chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2007;34(10):823–827. [PubMed]
15. Struch F, Dau M, Schwahn C, Biffar R, Kocher T, Meisel P. Interleukin-1 gene polymorphism, diabetes, and periodontitis: results from the Study of Health in Pomerania (SHIP) *Journal of Periodontology*. 2008;79(3):501–507.
16. Geismar K, Enevold C, Sorensen LK, et al. Involvement of interleukin-1 genotypes in the association of coronary heart disease with periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2008;79(12):2322–2330. [PubMed]
17. Shirodaria S, Smith J, McKay IJ, Kennett CN, Hughes FJ. Polymorphisms in the IL-1A gene are correlated with levels of interleukin-1 α protein in gingival crevicular fluid of teeth with severe periodontal disease. *Journal of Dental Research*. 2000;79(11):1864–1869.
18. Anusaksathien O, Sukboon A, Sitthiphong P, Teanpaisan R. Distribution of interleukin-1 β +3954 and IL-1 α -889 genetic variations in a Thai population group. *Journal of Periodontology*. 2003;74(12):1796–1802.

19. Kobayashi T, Ito S, Yasuda K, et al. The combined genotypes of stimulatory and inhibitory Fcγ receptors associated with systemic lupus erythematosus and periodontitis in Japanese adults. *Journal of Periodontology*. 2007;78(3):467–474.
20. Kobayashi T, Ito S, Kuroda T, et al. The interleukin-1 and Fcγ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with rheumatoid arthritis and periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2007;78(12):2311–2318.
21. Gonçalves LdeS, Ferreira SMS, Souza CO, Colombo APV. IL-1 gene polymorphism and periodontal status of HIV Brazilians on highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 2006;20(13):1779–1781.
22. Moreira PR, Costa JE, Gomez RS, Gollob KJ, Dutra WO. The IL1A (-889) gene polymorphism is associated with chronic periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *Journal of Periodontal Research*. 2007;42(1):23–30.
23. Tabor HK, Risch NJ, Myers RM. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. *Nature Reviews Genetics*. 2002;3(5):391–397.
24. Hart TC, Marazita ML, Wright JT. The impact of molecular genetics on oral health paradigms. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. 2000;11(1):26–56.
25. Galbraith GMP, Hendley TM, Sanders JJ, Palesch Y, Pandey JP. Polymorphic cytokine genotypes as markers of disease severity in adult periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 1999;26(11):705–709.
26. Gonzales JR, Michel J, Rodriguez EL, Herrmann JM, Bodeker RH, Meyle J. Comparison of interleukin-1 genotypes in two populations with aggressive periodontitis. *European Journal of Oral Sciences*. 2003;111(5):395–399.
27. Drożdżik A, Kurzawski M, Safronow K, Banach J. Polymorphism in interleukin-1β gene and the risk of periodontitis in a Polish population. *Advances in Medical Sciences*. 2006;51(supplement 1):13–17.
28. Gustafsson A, Ito H, Asman B, Bergstrom K. Hyper-reactive mononuclear cells and neutrophils in chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2006;33(2):126–129.
29. Soga Y, Nishimura F, Ohyama H, Maeda H, Takashiba S,

- Murayama Y. Tumor necrosis factor-alpha gene (TNF- α) -1031/-863, -857 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) are associated with severe adult periodontitis in Japanese. *Journal of Clinical Periodontology*. 2003;30(6):524–531.
30. Moreira PR, de Sa AR, Xavier GM, et al. A functional interleukin-1 β gene polymorphism is associated with chronic periodontitis in a sample of Brazilian individuals. *Journal of Periodontal Research*. 2005;40(4):306–311.
31. Ferreira SB, Jr., Trombone APF, Repeke CE, et al. An interleukin-1 β (IL-1 β) single-nucleotide polymorphism at position 3954 and red complex periodontopathogens independently and additively modulate the levels of IL-1 β in diseased periodontal tissues. *Infection and Immunity*. 2008;76(8):3725–3734.
32. Kaarthikeyan G, Jayakumar ND, Padmalatha O, Sheeja V, Sankari M, Anandan B. Analysis of the association between interleukin -1 β (+3954) gene polymorphism and chronic periodontitis in a sample of the south Indian population. *Indian Journal of Dental Research*. 2009;20(1):37–40.
33. van der Velden U, Abbas F, Armand S, et al. The effect of sibling relationship on the periodontal condition. *Journal of Clinical Periodontology*. 1993;20(9):683–690.
34. Petit MD, van Steenberg TJ, Timmerman MF, de Graaff J, van der Velden U. Prevalence of periodontitis and suspected periodontal pathogens in families of adult periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology*. 1994;21(2):76–85.
35. Berdeli A, Emingil G, Gurkan A, Atilla G, Kose T. Association of the IL-1RN2 allele with periodontal diseases. *Clinical Biochemistry*. 2006;39(4):357–362.
36. Kornman KS, Crane A, Wang HY, et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 1997;24(1):72–77.
37. McDevitt MJ, Wang H-Y, Knobelmann C, et al. Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice. *Journal of Periodontology*. 2000;71(2):156–163.
38. Papapanou PN, Neiderud A-M, Sandros J, Dahlen G. Interleukin-1 gene polymorphism and periodontal status: a case-control study. *Journal of Clinical Periodontology*. 2001;28(5):389–

396.

39. Meisel P, Siegemund A, Grimm R, et al. The interleukin-1 polymorphism, smoking, and the risk of periodontal disease in the population-based SHIP study. *Journal of Dental Research*. 2003;82(3):189–193.
40. Armitage GC, Wu Y, Wang H-Y, Sorrell J, Di Giovine FS, Duff GW. Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage. *Journal of Periodontology*. 2000;71(2):164–171.
41. Agrawal AA, Kapley A, Yeltiwar RK, Purohit HJ. Assessment of single nucleotide polymorphism at IL-1A+4845 and IL-1B+3954 as genetic susceptibility test for chronic periodontitis in Maharashtrian ethnicity. *Journal of Periodontology*. 2006;77(9):1515–1521.
42. Craandijk J, van Krugten MV, Verweij CL, van der Velden U, Loos BG. Tumor necrosis factor- α gene polymorphisms in relation to periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2002;29(1):28–34.
43. Galbraith GMP, Steed RB, Sanders JJ, Pandey JP. Tumor necrosis factor alpha production by oral leukocytes: influence of tumor necrosis factor genotype. *Journal of Periodontology*. 1998;69(4):428–433.
44. Fassmann A, Holla LI, Buckova D, Vasku A, Znojil V, Vanek J. 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*. 2003;38(4):394–399.
45. Folwaczny M, Glas J, Torok H-P, Mende M, Folwaczny C. Lack of association between the TNF α G -308 A promoter polymorphism and periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 2004;31(6):449–453.
46. Donati M, Berglundh T, Hytonen A-M, Hahn-Zoric M, Hanson L-A, Padyukov L. Association of the -159 CD14 gene polymorphism and lack of association of the -308 TNFA and Q551R IL-4RA polymorphisms with severe chronic periodontitis in Swedish Caucasians. *Journal of Clinical Periodontology*. 2005;32(5):474–479.

47. Schulz S, Machulla HKG, Altermann W, et al. Genetic markers of tumour necrosis factor α in aggressive and chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2008;35(6):493–500.
48. de Menezes NG, Colombo APV. Lack of association between the TNF- α -308 (G/A) genetic polymorphism and periodontal disease in Brazilians. *Brazilian Oral Research*. 2008;22(4):322–327.
49. Holla LI, Fassmann A, Augustin P, Halabala T, Znojil V, Vanek J. The association of interleukin-4 haplotypes with chronic periodontitis in a Czech population. *Journal of Periodontology*. 2008;79(10):1927–1933.
50. Scarel-Caminaga RM, Trevilatto PC, Souza AP, Brito RB, Jr., Line SRP. Investigation of IL4 gene polymorphism in individuals with different levels of chronic periodontitis in a Brazilian population. *Journal of Clinical Periodontology*. 2003;30(4):341–345.
51. Pontes CC, Gonzales JR, Novaes AB, Jr., et al. Interleukin-4 gene polymorphism and its relation to periodontal disease in a Brazilian population of African heritage. *Journal of Dentistry*. 2004;32(3):241–246.
52. Hooshmand B, Hajilooi M, Rafiei A, Mani-Kashani KH, Ghasemi R. Interleukin-4 (C-590T) and interferon- γ (G5644A) gene polymorphisms in patients with periodontitis. *Journal of Periodontal Research*. 2008;43(1):111–115.
53. Stashenko P, Fujiyoshi P, Obernesser MS, Prostack L, Haffajee AD, Socransky SS. Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 1991;18(7):548–554.
54. Ishihara Y, Nishihara T, Kuroyanagi T, et al. Gingival crevicular interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in periodontally healthy and diseased sites. *Journal of Periodontal Research*. 1997;32(6):524–529.
55. Pociot F, Molvig J, Wogensen L, Worsaae H, Nerup J. A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 β (IL-1 β) gene correlates with IL-1 β secretion in vitro. *European Journal of Clinical Investigation*. 1992;22(6):396–402.
56. Andus T, Daig R, Vogl D, et al. Imbalance of the interleukin 1 system in colonic mucosa—association with intestinal inflammation and interleukin 1 receptor agonist genotype 2. *Gut*. 1997;41(5):651–

657.

57. Holla LI, Fassmann A, Stejskalova A, Znojil V, Vanek J, Vacha J. Analysis of the interleukin-6 gene promoter polymorphisms in Czech patients with chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2004;75(1):30–36.

58. Babel N, Cherepnev G, Babel D, et al. Analysis of tumor necrosis factor- β , transforming growth factor- β , interleukin-10, IL-6, and interferon- γ gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2006;77(12):1978–1983.

59. Wohlfahrt JC, Wu T, Hodges JS, Hinrichs JE, Michalowicz BS. No association between selected candidate gene polymorphisms and severe chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2006;77(3):426–436.

60. Nibali L, D' Aiuto F, Donos N, et al. Association between periodontitis and common variants in the promoter of the interleukin-6 gene. *Cytokine*. 2009;45(1):50–54.

61. Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, de Brito RB, Jr., de Souza AP, Line SRP. Polymorphism at position -174 of IL-6 gene is associated with susceptibility to chronic periodontitis in a Caucasian Brazilian population. *Journal of Clinical Periodontology*. 2003;30(5):438–442.

62. Komatsu Y, Tai H, Galicia JC, et al. Interleukin-6 (IL-6)—373 A9T11 allele is associated with reduced susceptibility to chronic periodontitis in Japanese subjects and decreased serum IL-6 level. *Tissue Antigens*. 2005;65(1):110–114.

63. Moreira PR, Lima PMA, Sathler KOB, et al. Interleukin-6 expression and gene polymorphism are associated with severity of periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *Clinical and Experimental Immunology*. 2007;148(1):119–126.

64. Galicia JC, Tai H, Komatsu Y, Shimada Y, Ikezawa I, Yoshie H. Interleukin-6 receptor gene polymorphisms and periodontitis in a non-smoking Japanese population. *Journal of Clinical Periodontology*. 2006;33(10):704–709.

65. Berglundh T, Donati M, Hahn-Zoric M, Hanson L-A, Padyukov L. Association of the -1087 IL 10 gene polymorphism with severe chronic periodontitis in Swedish Caucasians. *Journal of Clinical Periodontology*. 2003;30(3):249–254.

66. Reichert S, MacHulla HKG, Klapproth J, et al. The interleukin-10 promoter haplotype ATA is a putative risk factor for aggressive periodontitis. *Journal of Periodontal Research*. 2008;43(1):40–47.
67. Scarel-Caminaga RM, Trevilatto PC, Souza AP, Brito RB, Camargo LEA, Line SRP. Interleukin 10 gene promoter polymorphisms are associated with chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2004;31(6):443–448.
68. Sumer AP, Kara N, Keles GC, Gunes S, Koprulu H, Bagci H. Association of interleukin-10 gene polymorphisms with severe generalized chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2007;78(3):493–497.
69. Claudino M, Trombone APF, Cardoso CR, et al. The broad effects of the functional IL-10 promoter-592 polymorphism: modulation of IL-10, TIMP-3, and OPG expression and their association with periodontal disease outcome. *Journal of Leukocyte Biology*. 2008;84(6):1565–1573.
70. Colombo AP, Eftimiadi C, Haffajee AD, Cugini MA, Socransky SS. Serum IgG2 level, Gm(23) allotype and FcγRIIa and FcγRIIIb receptors in refractory periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 1998;25(6):465–474.
71. Loos BG, Leppers-Van de Straat FGJ, Van de Winkel JGJ, Van der Velden U. Fcγ receptor polymorphisms in relation to periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2003;30(7):595–602.
72. Yamamoto K, Kobayashi T, Grossi S, et al. Association of Fcγ receptor IIa genotype with chronic periodontitis in Caucasians. *Journal of Periodontology*. 2004;75(4):517–522.
73. Wolf DL, Neiderud AM, Hinckley K, Dahlén G, Van de Winkel JGJ, Papapanou PN. Fcγ receptor polymorphisms and periodontal status: a prospective follow-up study. *Journal of Clinical Periodontology*. 2006;33(10):691–698.
74. Kobayashi T, Westerdaal NAC, Miyazaki A, et al. Relevance of immunoglobulin G Fc receptor polymorphism to recurrence of adult periodontitis in Japanese patients. *Infection and Immunity*. 1997;65(9):3556–3560.
75. Kobayashi T, Sugita N, van der Pol W-L, et al. The Fcγ receptor genotype as a risk factor for generalized early-onset periodontitis in

- Japanese patients. *Journal of Periodontology*. 2000;71(9):1425–1432.
76. Kobayashi T, Yamamoto K, Sugita N, et al. The Fcγ receptor genotype as a severity factor for chronic periodontitis in Japanese patients. *Journal of Periodontology*. 2001;72(10):1324–1331.
77. Chung H-Y, Lu H-C, Chen W-L, Lu C-T, Yang Y-H, Tsai C-C. Gm (23) allotypes and Fcγ receptor genotypes as risk factors for various forms of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2003;30(11):954–960.
78. Sugita N, Yamamoto K, Kobayashi T, et al. Relevance of FcγRIIIa-158V-F polymorphism to recurrence of adult periodontitis in Japanese patients. *Clinical and Experimental Immunology*. 1999;117(2):350–354.
79. Sugita N, Kobayashi T, Ando Y, et al. Increased frequency of FcγRIIIb-NA1 allele in periodontitis-resistant subjects in an elderly Japanese population. *Journal of Dental Research*. 2001;80(3):914–918.
80. Yoshihara A, Sugita N, Yamamoto K, Kobayashi T, Miyazaki H, Yoshie H. Analysis of vitamin D and Fcγ receptor polymorphisms in Japanese patients with generalized early-onset periodontitis. *Journal of Dental Research*. 2001;80(12):2051–2054.
81. Nibali L, Parkar M, D’Aiuto F, et al. Vitamin D receptor polymorphism (–1056 Taq-I) interacts with smoking for the presence and progression of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2008;35(7):561–567.
82. Sun JL, Meng HX, Cao CF, et al. Relationship between vitamin D receptor gene polymorphism and periodontitis. *Journal of Periodontal Research*. 2002;37(4):263–267.
83. Tachi Y, Shimpuku H, Nosaka Y, et al. Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with chronic periodontitis. *Life Sciences*. 2003;73(26):3313–3321.
84. de Brito RB, Jr., Scarel-Caminaga RM, Trevilatto PC, de Souza AP, Barros SP. Polymorphisms in the vitamin D receptor gene are associated with periodontal disease. *Journal of Periodontology*. 2004;75(8):1090–1095.
85. Gunes S, Sumer AP, Keles GC, et al. Analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis.

- Indian Journal of Medical Research. 2008;127(1):58–64.
86. Naito M, Miyaki K, Naito T, et al. Association between vitamin D receptor gene haplotypes and chronic periodontitis among Japanese men. *International Journal of Medical Sciences*. 2007;4(4):216–222.
87. Holla LI, Buckova D, Fassman A, Halabala T, Vasku A, Vacha J. Promoter polymorphisms in the CD14 receptor gene and their potential association with the severity of chronic periodontitis. *Journal of Medical Genetics*. 2002;39(11):844–848.
88. Folwaczny M, Glas J, Torok H-P, Fricke K, Folwaczny C. The CD14 -159C-to-T promoter polymorphism in periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 2004;31(11):991–995.
89. Laine ML, Morr  SA, Murillo LS, van Winkelhoff A-J, Pe a AS. CD14 and TLR4 gene polymorphisms in adult periodontitis. *Journal of Dental Research*. 2005;84(11):1042–1046.
90. James JA, Poulton KV, Haworth SE, et al. Polymorphisms of TLR4 but not CD14 are associated with a decreased risk of aggressive periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2007;34(2):111–117.
91. Schulz S, Zissler N, Altermann W, et al. Impact of genetic variants of CD14 and TLR4 on subgingival periodontopathogens. *International Journal of Immunogenetics*. 2008;35(6):457–464.
92. Nicu EA, Laine ML, Morr  SA, Van der Velden U, Loos BG. Soluble CD14 in periodontitis. *Innate Immunity*. 2009;15(2):121–128.
93. Yamazaki K, Ueki-Maruyama K, Oda T, et al. Single-nucleotide polymorphism in the CD14 promoter and periodontal disease expression in a Japanese population. *Journal of Dental Research*. 2003;82(8):612–616.
94. Berdeli A, Emingil G, Han Saygan B, et al. TLR2 Arg753Gly, TLR4 Asp299Gly and Thr399Ile gene polymorphisms are not associated with chronic periodontitis in a Turkish population. *Journal of Clinical Periodontology*. 2007;34(7):551–557.
95. Fukusaki T, Ohara N, Hara Y, Yoshimura A, Yoshiura K. Evidence for association between a Toll-like receptor 4 gene polymorphism and moderate/severe periodontitis in the Japanese population. *Journal of Periodontal Research*. 2007;42(6):541–545.

96. Zhu G, Li C, Cao Z, Corbet EF, Jin L. Toll-like receptors 2 and 4 gene polymorphisms in a Chinese population with periodontitis. *Quintessence International*. 2008;39(3):217–226.
97. Holla LI, Buckova D, Fassmann A, Roubalikova L, Vanek J. Lack of association between chronic periodontitis and the Toll-like receptor 4 gene polymorphisms in a Czech population. *Journal of Periodontal Research*. 2007;42(4):340–344.
98. Holla LI, Fassman A, Vasku A, Znojil V, Vanek J, Vacha J. Interactions of lymphotoxin α (TNF- β), angiotensin-converting enzyme (ACE), and endothelin-1 (ET-1) gene polymorphisms in adult periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2001;72(1):85–89.
99. Glas J, Torok H-P, Tonenchi L, et al. A645G (Lys216Glu) polymorphism of the bactericidal/permeability-increasing protein gene in periodontal disease. *International Journal of Immunogenetics*. 2006;33(4):255–260.
100. Folwaczny M, Glas J, Torok H-P, Mauermann D, Folwaczny C. The 3020insC mutation of the NOD2/CARD15 gene in patients with periodontal disease. *European Journal of Oral Sciences*. 2004;112(4):316–319.
101. Laine ML, Murillo LS, Morr  SA, Winkel EG, Pe a AS, van Winkelhoff AJ. CARD15 gene mutations in periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2004;31(10):890–893.
102. Folwaczny M, Glas J, Torok H-P, Fricke K, Folwaczny C. Prevalence of the chemokine receptor CCR5- Δ 32 gene mutation in periodontal disease. *Clinical Immunology*. 2003;109(3):325–329.
103. Savarrio L, Donati M, Carr C, Kinane DF, Berglundh T. Interleukin-24, RANTES and CCR5 gene polymorphisms are not associated with chronic adult periodontitis. *Journal of Periodontal Research*. 2007;42(2):152–158.
104. Ho Y-P, Lin Y-C, Yang Y-H, Ho K-Y, Wu Y-M, Tsai C-C. Cyclooxygenase-2 Gene-765 single nucleotide polymorphism as a protective factor against periodontitis in Taiwanese. *Journal of Clinical Periodontology*. 2008;35(1):1–8.
105. Xie C-J, Xiao L-M, Fan W-H, Xuan D-Y, Zhang J-C. Common single nucleotide polymorphisms in cyclooxygenase-2 and risk of severe chronic periodontitis in a Chinese population. *Journal of Clinical Periodontology*. 2009;36(3):198–203.

106. Berdeli A, Gurkan A, Emingil G, Atilla G, Kose T. Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp gene polymorphism in periodontal diseases. *Journal of Periodontology*. 2006;77(8):1348–1354.
107. Zhang L, Meng H, Zhao H, et al. Estrogen receptor- α gene polymorphisms in patients with periodontitis. *Journal of Periodontal Research*. 2004;39(5):362–366.
108. Houshmand B, Rafiei A, Hajilooi M, Mani-Kashani K, Gholami L. E-selectin and L-selectin polymorphisms in patients with periodontitis. *Journal of Periodontal Research*. 2009;44(1):88–93.
109. Sahingur SE, Sharma A, Genco RJ, De Nardin E. Association of increased levels of fibrinogen and the $-455G/A$ fibrinogen gene polymorphism with chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2003;74(3):329–337.
110. Yasuda K, Sugita N, Kobayashi T, Yamamoto K, Yoshie H. Fc γ RIIB gene polymorphisms in Japanese periodontitis patients. *Genes and Immunity*. 2003;4(8):541–546.
111. Concolino P, Cecchetti F, D'Autilia C, et al. Association of periodontitis with GSTM1/GSTT1-null variants—a pilot study. *Clinical Biochemistry*. 2007;40(13-14):939–945.
112. Reichert S, Machulla HKG, Klapproth J, et al. Interferon- γ and interleukin-12 gene polymorphisms and their relation to aggressive and chronic periodontitis and key periodontal pathogens. *Journal of Periodontology*. 2008;79(8):1434–1443.
113. Fraser DA, Loos BG, Boman U, et al. Polymorphisms in an interferon- γ receptor-1 gene marker and susceptibility to periodontitis. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2003;61(5):297–302.
114. Scarel-Caminaga RM, Trevilatto PC, Souza AP, Brito RB, Jr., Line SRP. Investigation of an IL-2 polymorphism in patients with different levels of chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2002;29(7):587–591.
115. Takeuchi-Hatanaka K, Ohyama H, Nishimura F, et al. Polymorphisms in the 5' flanking region of IL12RB2 are associated with susceptibility to periodontal diseases in the Japanese population. *Journal of Clinical Periodontology*. 2008;35(4):317–323.
116. Folwaczny M, Glas J, Torok H-P, et al. Prevalence of the $-295 T-to-C$ promoter polymorphism of the interleukin (IL)-16 gene in periodontitis. *Clinical and Experimental Immunology*.

2005;142(1):188–192.

117. Folwaczny M, Glas J, Torok H-P, et al. Polymorphisms of the interleukin-18 gene in periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology*. 2005;32(5):530–534.

118. Wu Y-M, Juo S-H, Ho Y-P, Ho K-Y, Yang Y-H, Tsai C-C. Association between lactoferrin gene polymorphisms and aggressive periodontitis among Taiwanese patients. *Journal of Periodontal Research*. 2009;44(3):418–424.

119. Louropoulou A, van der Velden U, Schoenmaker T, Catsburg A, Savelkoul PHM, Loos BG. Mannose-binding lectin gene polymorphisms in relation to periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2008;35(11):923–930.

120. Tsutsumi A, Kobayashi T, Ito S, et al. Mannose binding lectin gene polymorphism and the severity of chronic periodontitis. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*. 2009;32:48–52.

121. de Souza AP, Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, Brito RB, Jr., Line SRP. MMP-1 promoter polymorphism: association with chronic periodontitis severity in a Brazilian population. *Journal of Clinical Periodontology*. 2003;30(2):154–158.

122. Holla LI, Jurajda M, Fassmann A, Dvorakova N, Znojil V, Vacha J. Genetic variations in the matrix metalloproteinase-1 promoter and risk of susceptibility and/or severity of chronic periodontitis in the Czech population. *Journal of Clinical Periodontology*. 2004;31(8):685–690.

123. Itagaki M, Kubota T, Tai H, Shimada Y, Morozumi T, Yamazaki K. Matrix metalloproteinase-1 and-3 gene promoter polymorphisms in Japanese patients with periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2004;31(9):764–769.

124. Astolfi CM, Shinohara AL, da Silva RA, Santos MCLG, Line SRP, de Souza AP. Genetic polymorphisms in the MMP-1 and MMP-3 gene may contribute to chronic periodontitis in a Brazilian population. *Journal of Clinical Periodontology*. 2006;33(10):699–703.

125. Cao Z, Li C, Jin L, Corbet EF. Association of matrix metalloproteinase-1 promoter polymorphism with generalized aggressive periodontitis in a Chinese population. *Journal of Periodontal Research*. 2005;40(6):427–431.

126. Pirhan D, Atilla G, Emingil G, Sorsa T, Tervahartiala T, Berdeli A. Effect of MMP-1 promoter polymorphisms on GCF MMP-1 levels and outcome of periodontal therapy in patients with severe chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2008;35(10):862–870.
127. Ustun K, Alptekin NO, Hakki SS, Hakki EE. Investigation of matrix metalloproteinase-1 –1607 1G/2G polymorphism in a Turkish population with periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2008;35(12):1013–1019.
128. Holla LI, Fassmann A, Vasku A, et al. Genetic variations in the human gelatinase A (matrix metalloproteinase-2) promoter are not associated with susceptibility to, and severity of, chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2005;76(7):1056–1060.
129. Gurkan A, Emingil G, Saygan BH, et al. Gene polymorphisms of matrix metalloproteinase-2, -9 and -12 in periodontal health and severe chronic periodontitis. *Archives of Oral Biology*. 2008;53(4):337–345.
130. de Souza AP, Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, de Brito RB, Jr., Barros SP, Line SRP. Analysis of the MMP-9 (C-1562 T) and TIMP-2 (G-418C) gene promoter polymorphisms in patients with chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2005;32(2):207–211.
131. Holla LI, Fassmann A, Muzik J, Vanek J, Vasku A. Functional polymorphisms in the matrix metalloproteinase-9 gene in relation to severity of chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2006;77(11):1850–1855.
132. Keles GC, Gunes S, Sumer AP, et al. Association of matrix metalloproteinase-9 promoter gene polymorphism with chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2006;77(9):1510–1514.
133. Meisel P, Krause T, Cascorbi I, et al. Gender and smoking-related risk reduction of periodontal disease with variant myeloperoxidase alleles. *Genes and Immunity*. 2002;3(2):102–106.
134. Meisel P, Timm R, Sawaf H, Fanghanel J, Siegmund W, Kocher T. Polymorphism of the N-acetyltransferase (NAT2), smoking and the potential risk of periodontal disease. *Archives of Toxicology*. 2000;74(6):343–348.
135. Kocher T, Sawaf H, Fanghanel J, Timm R, Meisel P.

- Association between bone loss in periodontal disease and polymorphism of N-acetyltransferase (NAT2) *Journal of Clinical Periodontology*. 2002;29(1):21–27.
136. Baioni CS, de Souza CM, Ribeiro Braosi AP, et al. Analysis of the association of polymorphism in the osteoprotegerin gene with susceptibility to chronic kidney disease and periodontitis. *Journal of Periodontal Research*. 2008;43(5):578–584.
137. Park O-J, Shin S-Y, Choi Y, et al. The association of osteoprotegerin gene polymorphisms with periodontitis. *Oral Diseases*. 2008;14(5):440–444.
138. Holla LI, Bučková D, Fassmann A, Beneš P, Znojil V. Plasminogen-activator-inhibitor-1 promoter polymorphism as a risk factor for adult periodontitis in non-smokers. *Genes and Immunity*. 2002;3(5):292–294.
139. Gurkan A, Emingil G, Saygan BH, et al. Tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2007;78(7):1256–1263.
140. Holla LI, Kankova K, Fassmann A, et al. Distribution of the receptor for advanced glycation end products gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis: a preliminary study. *Journal of Periodontology*. 2001;72(12):1742–1746.
141. Li QY, Meng HX, Zhang L, et al. Correlation between single nucleotide polymorphisms in a calprotectin subunit gene and risk of periodontitis in a Chinese population. *Annals of Human Genetics*. 2007;71(3):312–324.
142. Glas J, Beynon V, Bachstein B, et al. Increased plasma concentration of surfactant protein D in chronic periodontitis independent of SFTPD genotype: potential role as a biomarker. *Tissue Antigens*. 2008;72(1):21–28.
143. Holla LI, Fassmann A, Benes P, Halabala T, Znojil V. 5 polymorphisms in the transforming growth factor- β 1 gene (TGF- β 1) in adult periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2002;29(4):336–341.
144. de Souza AP, Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, de Brito RB, Jr., Line SRP. Analysis of the TGF- β 1 promoter polymorphism (C-509T) in patients with chronic periodontitis. *Journal of Clinical*

- Periodontology. 2003;30(6):519–523.
145. Atilla G, Emingil G, Kose T, Berdeli A. TGF- β 1 gene polymorphisms in periodontal diseases. *Clinical Biochemistry*. 2006;39(9):929–934.
146. Shimada Y, Tai H, Endo M, Kobayashi T, Akazawa K, Yamazaki K. Association of tumor necrosis factor receptor type 2 + 587 gene polymorphism with severe chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2004;31(6):463–469.
147. Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Duff GW. Microbiological parameters associated with IL-1 gene polymorphisms in periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology*. 2000;27(11):810–818.
148. Nikolopoulos GK, Dimou NL, Hamodrakas SJ, Bagos PG. Cytokine gene polymorphisms in periodontal disease: a meta-analysis of 53 studies including 4178 cases and 4590 controls. *Journal of Clinical Periodontology*. 2008;35(9):754–767.
149. Hart PH, Vitti GF, Burgess DR, Whitty GA, Piccoli DS, Hamilton JA. Potential antiinflammatory effects of interleukin 4: suppression of human monocyte tumor necrosis factor α , interleukin 1, and prostaglandin E2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1989;86(10):3803–3807. [PMC free article]
150. Kishimoto T. Interleukin-6 and its receptor in autoimmunity. *Journal of Autoimmunity*. 1992;5(supplement 1):123–132.
151. Taylor PC, Feldmann M. New approaches to therapeutic immunomodulation for immune-mediated inflammatory disorders. *Current Opinion in Pharmacology*. 2004;4(4):368–371.
152. Fishman D, Faulds G, Jeffrey R, et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *Journal of Clinical Investigation*. 1998;102(7):1369–1376.
153. Rousset F, Garcia E, Defrance T, et al. Interleukin 10 is a potent growth and differentiation factor for activated human B lymphocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1992;89(5):1890–1893. [PMC free article]

154. Afar B, Engel D, Clark EA. Activated lymphocyte subsets in adult periodontitis. *Journal of Periodontal Research*. 1992;27(2):126–133.
155. Berglundh T, Liljenberg B, Tarkowski A, Lindhe J. The presence of local and circulating autoreactive B cells in patients with advanced periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2002;29(4):281–286.
156. Koutouzis T, Haber D, Shaddox L, Aukhil I, Wallet SM. autoreactivity of serum immunoglobulin to periodontal tissue components: a pilot study. *Journal of Periodontology*. 2009;80(4):625–633.
157. Crawley E, Kay R, Sillibourne J, Patel P, Hutchinson I, Woo P. Polymorphic haplotypes of the interleukin-10 5'-flanking region determine variable interleukin-10 transcription and are associated with particular phenotypes of juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 1999;42(6):1101–1108.
158. Koss K, Satsangi J, Fanning GC, Welsh KI, Jewell DP. Cytokine (TNF α , LT α and IL-10) polymorphisms in inflammatory bowel diseases and normal controls: differential effects on production and allele frequencies. *Genes and Immunity*. 2000;1(3):185–190.
159. Garlet GP, Martins W, Jr., Fonseca BAL, Ferreira BR, Silva JS. Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 2004;31(8):671–679.
160. Zhang X, Teng Y-TA. Interleukin-10 inhibits gram-negative-microbe-specific human receptor activator of NF- κ B ligand-positive CD4⁺-Th1-cell-associated alveolar bone loss in vivo. *Infection and Immunity*. 2006;74(8):4927–4931.
161. Yamazaki K, Tabeta K, Nakajima T, et al. Interleukin-10 gene promoter polymorphism in Japanese patients with adult and early-onset periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2001;28(9):828–832.
162. Yuan Z-N, Schreurs O, Gjeramo P, Helgeland K, Schenck K. Topical distribution of Fc γ RI, Fc γ RII and Fc γ RIII in inflamed human gingiva. *Journal of Clinical Periodontology*. 1999;26(7):441–447.

163. Nicu EA, Van der Velden U, Everts V, Van Winkelhoff AJ, Roos D, Loos BG. Hyper-reactive PMNs in FcγRIIIa 131 H/H genotype periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology*. 2007;34(11):938–945.
164. van der Pol W-L, van de Winkel JGJ. IgG receptor polymorphisms: risk factors for disease. *Immunogenetics*. 1998;48(3):222–232.
165. van Sorge NM, van der Pol W-L, van de Winkel JGJ. FcγR polymorphisms: implications for function, disease susceptibility and immunotherapy. *Tissue Antigens*. 2003;61(3):189–202.
166. Loos BG, John RP, Laine ML. Identification of genetic risk factors for periodontitis and possible mechanisms of action. *Journal of Clinical Periodontology*. 2005;32(supplement 6):159–179.
167. Selvaraj P, Chandra G, Jawahar MS, Rani MV, Rajeshwari DN, Narayanan PR. Regulatory role of vitamin D receptor gene variants of BsmI, ApaI, TaqI, and FokI polymorphisms on macrophage phagocytosis and lymphoproliferative response to mycobacterium tuberculosis antigen in pulmonary tuberculosis. *Journal of Clinical Immunology*. 2004;24(5):523–532.
168. Gelder CM, Hart KW, Williams OM, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and susceptibility to Mycobacterium malmoense pulmonary disease. *Journal of Infectious Diseases*. 2000;181(6):2099–2102.
169. Roth DE, Soto G, Arenas F, et al. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and response to treatment of pulmonary tuberculosis. *Journal of Infectious Diseases*. 2004;190(5):920–927.
170. Gross C, Eccleshall TR, Malloy PJ, Villa ML, Marcus R, Feldman D. The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican-American women. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1996;11(12):1850–1855.
171. Hubacek JA, Rothe G, Pit'ha J, et al. C(-260)→T polymorphism in the promoter of the CD14 monocyte receptor gene as a risk factor for myocardial infarction. *Circulation*. 1999;99(25):3218–3220.
172. Klein W, Tromm A, Griga T, et al. A polymorphism in the

CD14 gene is associated with crohn disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2002;37(2):189–191. 173. LeVan TD, Bloom JW, Bailey TJ, et al. A common single nucleotide polymorphism in the CD14 promoter decreases the affinity of Sp protein binding and enhances transcriptional activity. *Journal of Immunology*. 2001;167(10):5838–5844.

174. Bochud P-Y, Hawn TR, Aderem A. Cutting edge: a Toll-like receptor 2 polymorphism that is associated with lepromatous leprosy is unable to mediate mycobacterial signaling. *Journal of Immunology*. 2003;170(7):3451–3454.

175. Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC, et al. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nature Genetics*. 2000;25(2):187–191.

176. Agnese DM, Calvano JE, Hahn SJ, et al. Human Toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are associated with an increased risk of gram-negative infections. *Journal of Infectious Diseases*. 2002;186(10):1522–1525.

177. Folwaczny M, Glas J, Torok H-P, Limbersky O, Folwaczny C. Toll-like receptor (TLR) 2 and 4 mutations in periodontal disease. *Clinical and Experimental Immunology*. 2004;135(2):330–335.

178. Ioannidis JPA. Genetic associations: false or true? *Trends in Molecular Medicine*. 2003;9(4):135–138.

179. Ioannidis JPA. Effect of the statistical significance of results on the time to completion and publication of randomized efficacy trials. *Journal of the American Medical Association*. 1998;279(4):281–286.

180. Wang WYS, Barratt BJ, Clayton DG, Todd JA. Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. *Nature Reviews Genetics*. 2005;6(2):109–118.

181. Dean M. Approaches to identify genes for complex human diseases: lessons from Mendelian disorders. *Human Mutation*. 2003;22(4):261–274.

182. Hettne KM, Weeber M, Laine ML, et al. Automatic mining of the literature to generate new hypotheses for the possible link between periodontitis and atherosclerosis: lipopolysaccharide as a case study. *Journal of Clinical Periodontology*. 2007;34(12):1016–1024.

183. Ioannidis JPA. Why most published research findings are false. PLoS Medicine. 2005;2(8, article e124)

4)SCOPO DELLA RICERCA

Scopo della ricerca è valutare se esistono dei polimorfismi genetici che possono predisporre alla malattia parodontale cronica considerando un gruppo di soggetti italiani .In particolare vengono analizzati i polimorfismi genetici considerando quelli che sono stati più valutati in letteratura:

IL1a(-889),IL-1 b(+3954);IL-1RN(2018)

IL -10 (-1082 G>A,-819 C>T,-592C>A)

IL-6 (-174 G/C)

COX -2 (-765G/C)

Vitamin D Receptor (VDR Taql)

Con uno studio caso-controllo considerando e valutando le possibili interazioni.

5) MATERIALI E METODI

5.1 Selezione dei soggetti del protocollo e criteri d'inclusione

Sono stati selezionati 42 pazienti ,27 di sessi femminili e 12 di sesso maschile di un'età media di 59.59 ± 8.74 DS affetti da malattia parodontale cronica secondo i criteri dell'I.W.C. International Workshop for classification of Periodontal Diseases and Condition (Armitage 1999).

Ogni paziente dei 42 pazienti affetti da malattia parodontale cronica doveva mostrare una severa e generalizzata forma di patologia parodontale con almeno 5 siti con PPD > 6 mm localizzati in denti differenti e distribuiti tra i quattro quadranti, BOP e PUS. Ogni paziente ha firmato il consenso informato per eseguire il trattamento e il protocollo era stato accettato dal comitato etico .

Sono stati inoltre considerati come gruppo controllo 39 soggetti di un'età 55.9 ± 14.9 D.S. non affetti da malattia parodontale il gruppo dei casi controllo (soggetti sani) doveva avere almeno 50 anni senza tasche parodontali $>$ di 3mm e non dovevano mostrare evidenza radiografica di perdita ossea e storia di malattia parodontale.(v Tabella.1)

Tab. n. 1. Caratteristiche demografiche del gruppo pazienti e caso controllo

	CASI CONTROLLO (n =39)	MALATTIA PARODONTALE CRONICA (n =42)	
Età(mean ± SD)	55.9 ±14.9	59.59 ± 8.74	
Sesso Femminile (%)	30(76.92 %)	27(64.2 %)	
PPD (mm) (mean ± SD)	2.25 ± 0.35	6.26 ± 1.16	
BOP	25.6%	99.14%	
PUS	0.0	57.76%	

Criteri di Esclusione

I soggetti selezionati non devono riferire di essere affetti da patologie sistemiche che possano influenzare la progressione della malattia parodontale ,utilizzare i farmaci antinfiammatori , essere fumatori ,diabetici , affetti da epatite, o con infezione da HIV .Non possono essere incluse donne in gravidanza e in allattamento.

Raccolta del DNA

Il *test genetico* si fa mediante il bastoncino con punta in schiuma sterile (sterile foam tipped applicator), che, estratto dalla corretta busta deve essere vigorosamente strusciato sul lato interno della guancia per due minuti per poter poi essere inviato al laboratorio per le analisi.



Bastoncino con punta in schiuma sterile che preleva il DNA

Estrazione del DNA e valutazione genetica

Il genómico è stato isolato dal laboratorio Biomolecular Diagnostic utilizzando in kit commerciale (QIAGEN). La discriminazione allelica e' stata effettuata utilizzando una TaqMan1 SNP Genotyping Assays (rs731236 functionally tested by Applied Biosystems) con uno strumento StepOne (Applied Biosystems, Forster City, CA, USA) with 10 ng genomic DNA in 48 well plates. Thermocycler conditions were an initial 35 s denaturation at 95 8C, followed by 40 cycles of 95 8C for 10 s and 60 8C for 45 s.



Attrezzatura di laboratorio per il Test genetico



Paziente: LAS NIC
 Sesso: F
 Data di nascita: 07/08/1965
 Data del prelievo: 21/01/2011
 Richiedente: Dr. Baldini

- IL-1a (-889); IL-1b (+3954); IL-1RN (+2018)
- IL-10 (-1082G>A, -819C>T, -592C>A)
- IL-6 (-174G/C)
- COX-2 (-765G/C)
- Vitamin D Receptor (VDR TaqI)
- FUMO
- GRAVIDANZA

Risultato

↓

Normale risposta infiammatoria
GCC/GCC
CG
GG
tt
NO
NO

In rosso i risultati associati alla malattia parodontale

Valutazione del rischio: Basso Intermedio Alto Molto alto

COMMENTO: Lo screening genetico evidenzia un assetto genico relativo ad una normale risposta infiammatoria relativamente ai marcatori analizzati. Assenza di ulteriori fattori di rischio.

Conclusioni: La paziente presenta una bassa suscettibilità individuale allo sviluppo e alla progressione della malattia parodontale che lascia ipotizzare una buona risposta alla terapia. Considerato il profilo di rischio, suggeriamo il raggiungimento a guarigione di una percentuale di patogeni inferiore al 2%, con assenza dei batteri del complesso rosso. Consigliamo inoltre il mantenimento di un'accurata igiene orale domiciliare e di regolari controlli igienici professionali.

Riferimenti Bibliografici:
 IL-10: Hu et al. J Periodont Res 2009; IL-6: Nibali L. et al. J Dent Res 2007; COX-2: Ho Y-P J Clin Periodontol 2008;
 VDR: Morrison et al. Nature 1994.



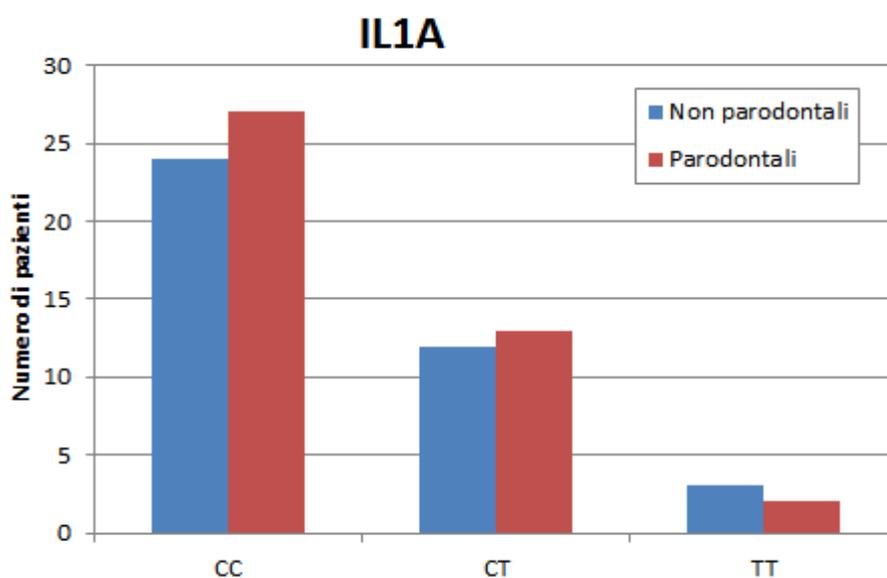
6)RISULTATI

6.1 Analisi Chi-square

Per un'analisi e rielaborazione statistica dei risultati ci si è avvalsi delle delle analisi del Chi quadro. Le analisi chi-quadro permettono di valutare se esiste una correlazione fra due variabili discrete, nel caso specifico i singoli polimorfismi con la presenza o assenza della malattia parodontale. Il test restituisce un p-value tanto basso quanto è forte la correlazione fra le due variabili. Nelle tabelle seguenti il valore 0 corrisponde ad assenza di malattia parodontale, mentre il valore 1 si riferisce ai pazienti parodontali. L'analisi statistica è stata fatta in tutti i polimorfismi valutati IL-1-a (-889),IL-1b(+3954),IL-1RN(+2018),IL-6(-174G/C),IL10(-1082G>A, -819C>T,-592C>A) COX-2(-765G/C),Vit D Receptor (VDR TaqI) valutando i casi parodontali e i casi controllo.

Per quanto riguarda **all'IL 1a (-889)** i risultati sono visualizzabili nei grafici seguenti:

	0	1	ALL
CC	24	27	51
CT	12	13	25
TT	3	2	5
ALL	39	42	81



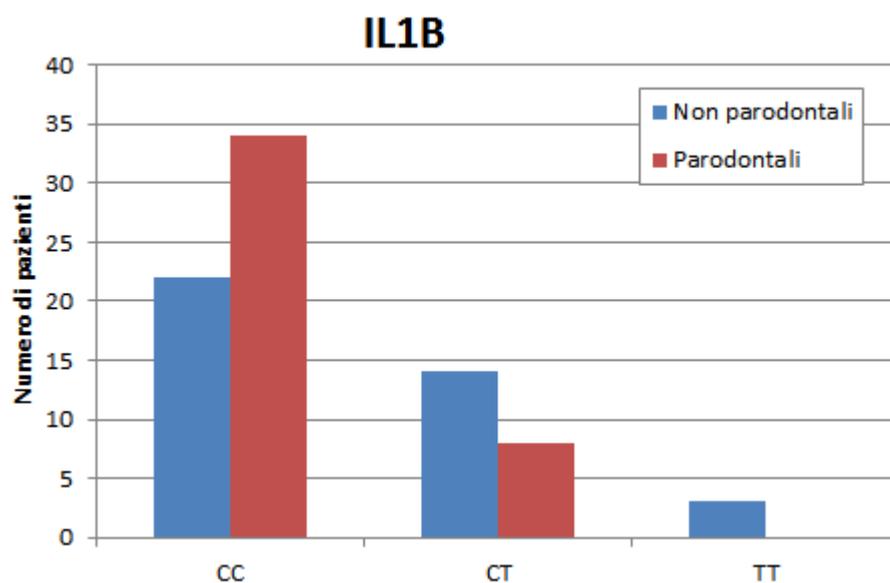
Pearson Chi-Square =0,306;DF=2;P-Value =0,858

Likelihood Ratio Chi-Square =0,307;DF=2;P-Value =0,858

Quindi l'IL-1a (-889) sembra essere un polimorfismo che non sia influente sulla malattia parodontale cronica da un punto di vista statistico.

Per quanto riguarda **all'IL-1b(+3954)** i risultati sono visualizzabili nei grafici seguenti:

	0	1	ALL
CC	22	34	56
CT	14	8	22
TT	3	0	3
ALL	39	42	81



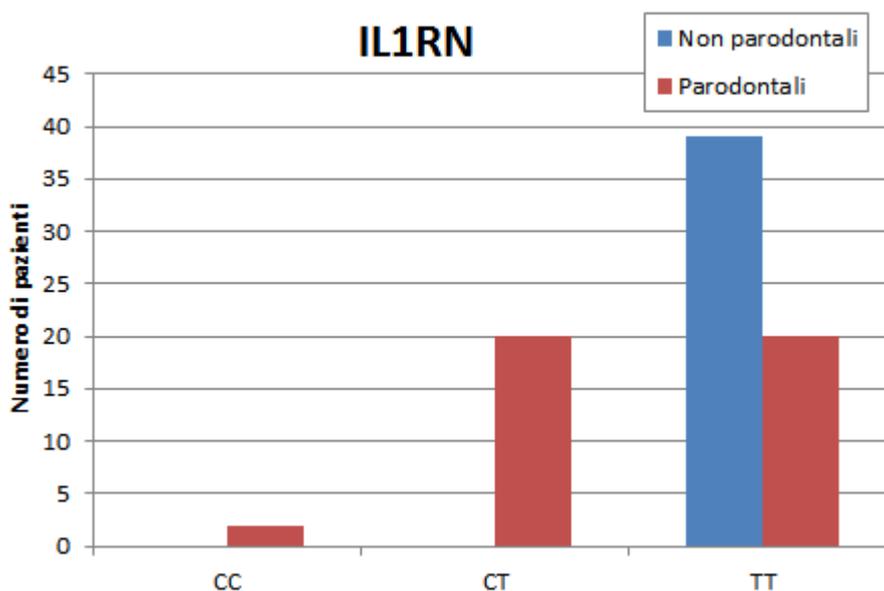
Pearson Chi-Square =7.106;DF=2;P-Value =0,029

Likelihood Ratio Chi-Square =8.297 ;DF =2;P-Value =0,016

Quindi appare una buona evidenza sperimentale dell'influenza del polimorfismo dell'IL-1b(+3954) sulla malattia parodontale.

Per quanto riguarda l'IL-1RN(+2018) i risultati sono visualizzabili nei grafici seguenti:

	0	1	ALL
CC	0	2	2
CT	0	20	20
TT	39	20	59
ALL	39	42	81



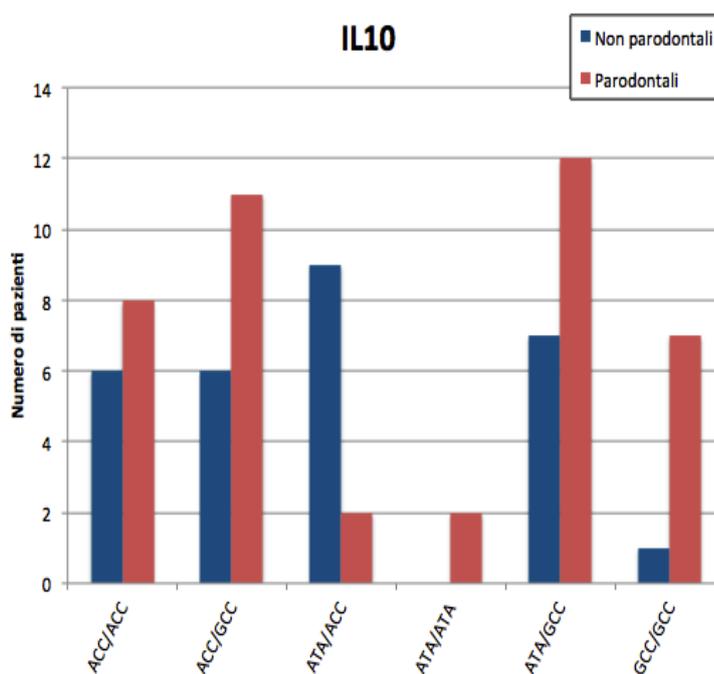
In questa valutazione si può considerare come in tutti i casi controllo (soggetti non parodontali) appare solo il polimorfismo TT. Perciò il Polimorfismo TT sembra essere protettivo nei confronti della Malattia Parodontale.

Per quanto riguarda l'IL-10(-1082G>A,-819C>T,-592C>A) i risultati sono visualizzabili nei grafici seguenti:

	0	1	All
ACC/ACC	6	8	14
ACC/GCC	6	11	17
ATA/ACC	9	2	11
ATA/ATA	0	2	2
ATA/GCC	7	12	19
GCC/GCC	1	7	18
All	39	42	81

In questo caso non è possibile effettuare l'analisi in quanto è presente un livello (ATA/ATA) con nessuna osservazione per quanto riguarda l'assenza di malattia parodontale e 2 sole osservazioni per la malattia parodontale. Vengono quindi rimossi dall'analisi i due pazienti non parodontali con polimorfismo IL10 ATA/ATA

	0	1	ALL
ACC/ACC	6	8	14
ACC/GCC	6	11	17
ATA/ACC	9	2	11
ATA/GCC	7	12	19
All	37	42	79



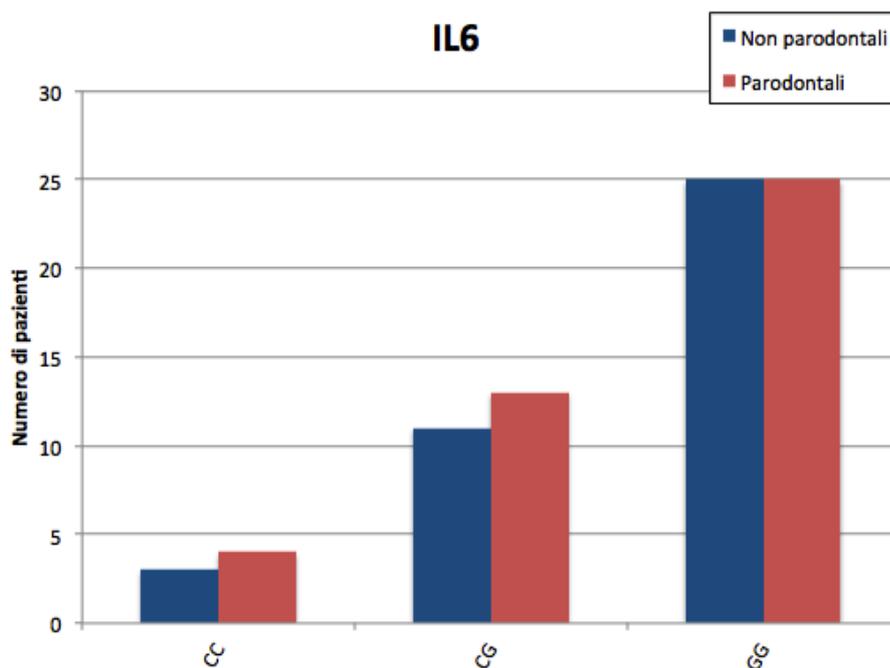
Pearson Chi-Square = 8,404; DF = 4; P-Value = 0,078

Likelihood Ratio Chi-Square = 8,813; DF = 4; P-Value=0,066.

Esiste quindi una modesta correlazione (ma superiore al livello di confidenza del 5%) fra il Polimorfismo dell'IL10 e la suscettibilità' o meno alla malattia parodontale.

Per quanto riguarda l'IL-6(-174G/C) i risultati sono visualizzabili nei grafici seguenti:

	0	1	All
CC	3	4	7
CG	11	13	24
GG	25	25	50
All	39	42	81



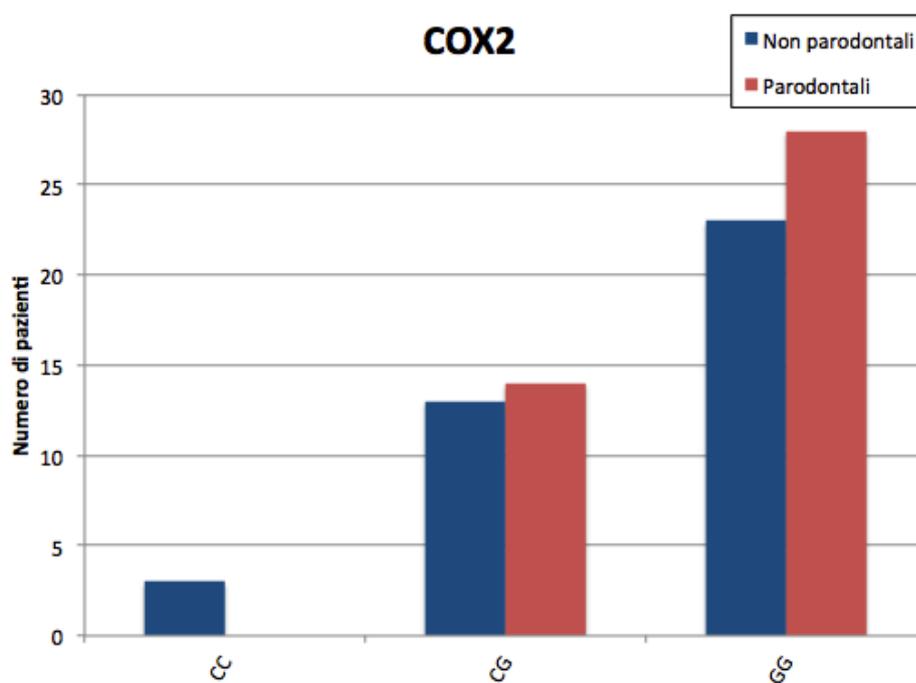
Pearson Chi-Square = 0,199; DF = 2; P-Value = 0,905

Likelihood Ratio Chi-Square = 0,199; DF = 2; P-Value = 0,905

In questo caso non viene evidenziata alcuna correlazione fra i Polimorfismi a livello dell'IL6 e la suscettibilità alla malattia parodontale.

Per quanto riguarda i polimorfismi a carico della **Cox-2** (-765G/C) i risultati sono visualizzabili nei grafici seguenti:

	0	1	All
CC	3	0	3
CG	13	14	27
GG	23	28	51
All	39	42	81



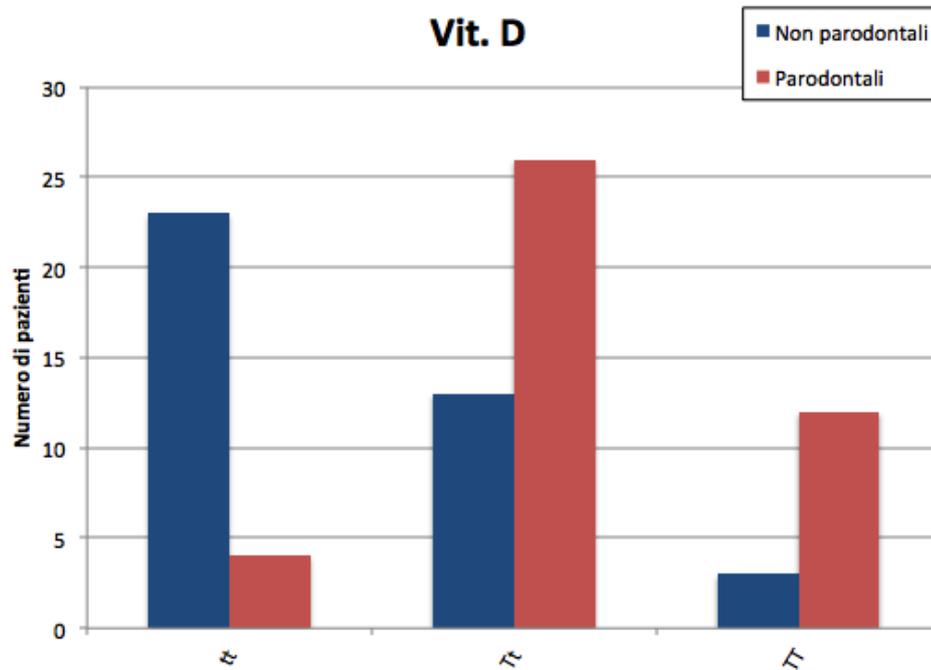
Pearson Chi-Square = 3,421; DF = 2; P-Value = 0,181

Likelihood Ratio Chi-Square = 4,576; DF = 2; P-Value = 0,101

Non vi è quindi un'evidenza netta della correlazione fra i Polimorfismi genetici della COX2 e malattia parodontale

Per quanto riguarda i polimorfismi a carico della **Vit D Receptor (VDR TaqI)** i risultati sono visualizzabili nei grafici seguenti:

	0	1	All
tt	23	4	27
Tt	13	26	39
TT	3	12	15
All	39	42	81



Pearson Chi-Square = 23,024; DF = 2; P-Value = 0,000

Likelihood Ratio Chi-Square = 24,866; DF = 2; P-Value = 0,000

Vi è quindi una forte correlazione fra i Polimorfismi della vitamina D e la predisposizione alla malattia parodontale.

ANALISI STATISTICA TIPO ANOVA

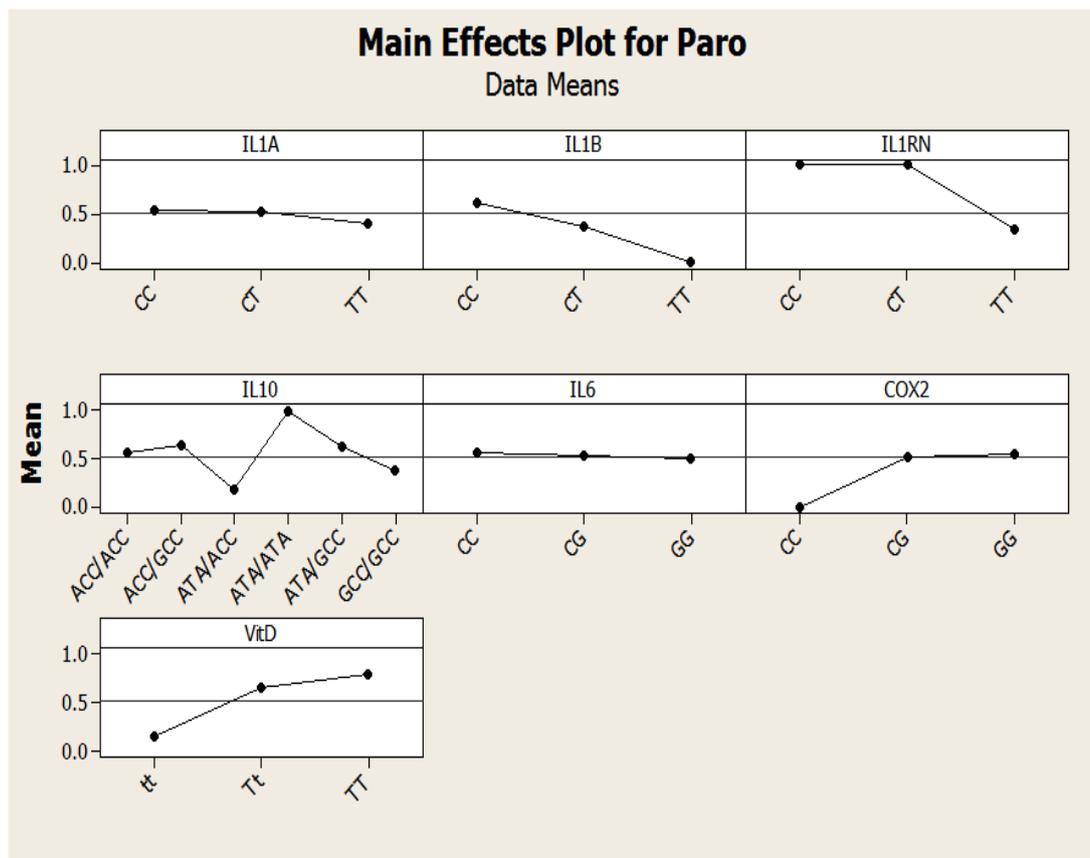
Si definisce un modello del tipo $y = A*x_1 + B*x_2 + \dots$. Il test valuta se il fattore x_i influenza o meno la risposta (e quindi se è rilevante per il modello). Il p-value restituito è la probabilità che il fattore non rientri nel modello (se è basso quindi rientra); si sceglie una soglia del 5% per comprendere o escludere un fattore

Source	Sum Sq.	d.f.	Mean Sq.	F	P
IL 6	1.33	5	0.267	1.56	0.182
COX 2	0.13	2	0.066	0.38	0.682
IL 10	1.62	2	0.808	4.73	0.012
Vit D	4.14	2	2.071	12.13	<0.001

Rimuovendo x_1 e x_2 dal modello (IL6 e COX2) perché hanno p-value elevato (bassa evidenza sperimentale che influenzino la risposta, in altre parole la malattia parodontale); ripeto l'analisi (il modello comprende solo x_3 e x_4)

Source	Sum Sq.	d.f.	Mean Sq.	F	P
IL 10	1.28	2	0.640	3.69	0.030
Bit D	6.17	2	3.087	17.78	<0.001

Confermata la significatività statistica dell'influenza di IL10 e vit. D sulla malattia parodontale; in particolare dal main effects plot:



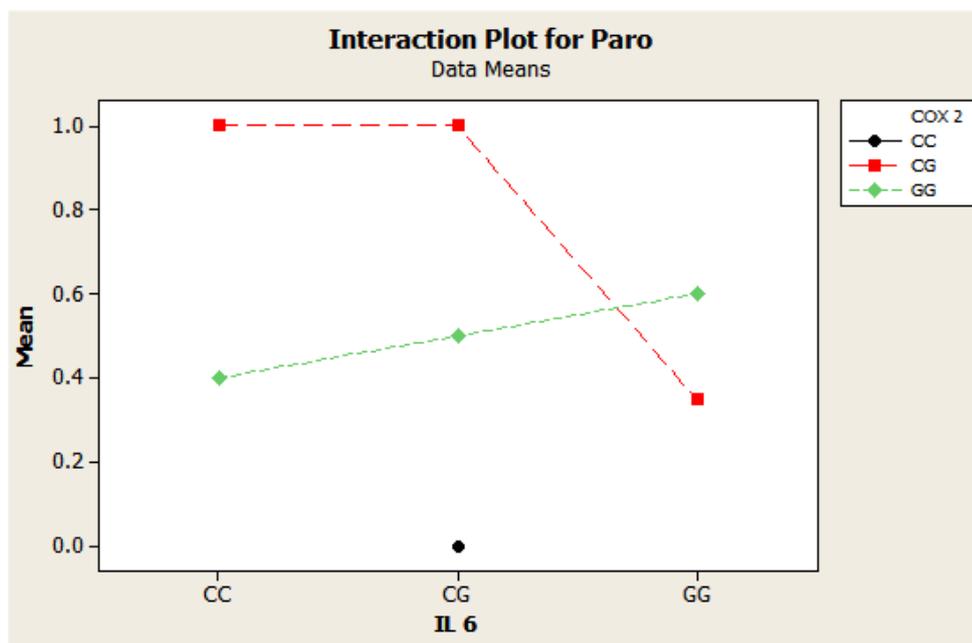
Si può intuire che i pazienti con il polimorfismo a livello del IL10 tipo ATA/ACC presentano minore incidenza della malattia parodontale rispetto agli altri; i Polimorfismi a carico dell' IL6 non hanno influenza; i polimorfismi a carico del COX2 sembrano avere influenza ma non è statisticamente significativa (come visto dall'ANOVA) e i polimorfismi a carico della vit. D hanno una forte incidenza (in particolare i tt hanno meno incidenza di malattia parodontale rispetto agli altri).

Tramite l'ANOVA si può valutare l'interazione fra i fattori complicando il modello (aggiungendo i prodotti fra due variabili). Considerando quindi l'interazione fra le due variabili rimosse dal modello (IL6 e COX2):

Source	Sum Sq.	d.f.	Mean Sq.	F	P
Il 10	1.56	2	0.780	5.37	0.007
Vit D	2.48	2	1.240	8.53	<0.001
Il 6; Cox 2	3.60	10	0.360	2.48	0.014

Si può notare quindi un'evidenza sperimentale (p-value 1.4%) dell'influenza dell'interazione fra IL6 e COX2 nella presenza o meno della malattia parodontale.

Per valutare quali sono le interazioni fra i vari livelli dei fattori si utilizza l'interaction plot di seguito.



Dal diagramma si nota come i valori di COX2 “CC” siano solo in corrispondenza di valori “CG” di IL6 (pallino nero), e questi casi siano non parodontali; questo può essere dovuto alla popolazione considerata oppure ad un effetto sistematico. Per quanto riguarda gli altri livelli:

- COX2 “CG” e IL6 “CC” oppure “CG” sono associati a malattia parodontale
- COX2 “CG” e IL6 “CG” sono poco spesso associati a malattia parodontale
- COX2 “GG” è indifferente ai valori di IL6 ed è presente in ugual modo in pazienti parodontali o non parodontali.

Le interazioni sono riassunte in tabella. Con “si” e “no” si indica presenza o assenza di malattia parodontale; nei casi indicati dal punto interrogativo non è possibile valutare l’interazione.

IL6 COX2	CC	CG	GG
CC	?	No	?
CG	Sì	Sì	No
GG	No	No	No

7)DISCUSSIONE E CONCLUSIONI :

La Parodontite viene considerata come una patologia complessa. Come altre patologie complesse (Malattia di Alzheimer, la malattia di Chron e le patologie Cardiovascolari) si manifesta con un fenotipo moderato ed è di natura lentamente e progressivamente cronica ha un inizio tardivo. E' importante notare come le patologie complesse siano associate a variazioni in geni multipli, ognuno dei quali porta a un piccolo contributo generale e un rischio relativo per il processo patologico. Appare comunque chiaro come il numero e il tipo dei geni modificatori della malattia per la stessa condizione possono non essere uguali per forme di parodontali, dipendenti da fattori ambientali e popolazione etnica differente ;inoltre ,essi sono influenzati dai fattori ambientali (interazioni gene- ambiente).

La possibile ipotesi di una componente genetica nell'eziopatogenesi e' stata ipotizzata fin dal 1935 (Loevy 1976). Dalla fine degli anni 90 del secolo scorso, la letteratura di argomento parodontale ha pubblicato molti lavori sui presunti fattori di rischio genetici per la predisposizione della parodontite (Michalowicz e. al.1991, Hart 1994).

La presenza di fattori di rischio genetici aumenta direttamente la probabilità di sviluppo della loro malattia parodontale mentre la loro assenza riduce tale possibilità. L'originalità' del nostro lavoro è stato quello di aver potuto analizzare numerosi polimorfismi genetici insieme mentre in letteratura sono stati indicati molti studi

che analizzavano studi caso controllo con un solo polimorfismo.

Nel nostro protocollo in cui è stato analizzato un gruppo di soggetti sia sani, sia affetti da malattia parodontale cronica in una popolazione italiana è risultato che i polimorfismi a carico l'IL-1b(+3954) e Vit D Receptor (VDR TaqI) sono predisponenti alla malattia parodontale cronica con un'evidenza statistica significativa. Valutando invece interrelazioni genetiche le relazioni COX2 "CG" e IL6 "CC" oppure "CG" sono associati a malattia parodontale con evidenza statistica.

I polimorfismi invece a carico dell'IL 1a (-889);IL 1 RN (+2018);IL -10(-1062 G>A,-819C>T,592C>A) ,IL 6 (-174 G/C),COX 2 (-765 G/C) non appaiono essere correlati in modo significativo con la malattia parodontale.

8)PROSPETTIVE FUTURE

I risultati della nostra sperimentazione appaiono stimolanti nel poter continuare nella ricerca di un'evidenza scientifica sull'individuazione dei polimorfismi genetici che possono predisporre o meno alla malattia parodontale. Inoltre ,ampiandone la casistica, sarà interessante in un futuro poter valutare il “peso” che ciascun polimorfismo o associazione di polimorfismi gioca nel possibile sviluppo della patologia . I risultati potrebbero portare a importanti indicazioni cliniche per una gestione più personalizzata dei pazienti parodontali e proporre inoltre campagne preventodontiche di screening per valutare in età precoce i soggetti che potrebbero essere predisposti allo sviluppo della malattia parodontale poi negli anni successivi.

BIBLIOGRAFIA

1. Borrell LN, Papapanou PN. Analytical epidemiology of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2005;32(supplement 6):132–158.
2. Michalowicz BS, Diehl SR, Gunsolley JC, et al. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2000;71(11):1699–1707.
3. Michalowicz BS, Aepli D, Virag JG, et al. Periodontal findings in adult twins. *Journal of Periodontology*. 1991;62(5):293–299.
4. Offenbacher S, Barros SP, Beck JD. Rethinking periodontal inflammation. *Journal of Periodontology*. 2008;79(8, supplement):1577–1584.
5. Gore EA, Sanders JJ, Pandey JP, Palesch Y, Galbraith GMP. Interleukin-1 β allele 2: association with disease status in adult periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 1998;25(10):781–785.
6. Laine ML, Farre MA, Garcia-González MA, et al. Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis. *Journal of Dental Research*. 2001;80(8):1695–1699.
7. Thomson WM, Edwards SJ, Dobson-Le DP, et al. IL-1 genotype and adult periodontitis among young New Zealanders. *Journal of Dental Research*. 2001;80(8):1700–1703.
8. Rogers MA, Figliomeni L, Baluchova K, et al. Do interleukin-1 polymorphisms predict the development of periodontitis or the success of dental implants? *Journal of Periodontal Research*. 2002;37(1):37–41.
9. Sakellari D, Koukoudetsos S, Arsenakis M, Konstantinidis A. Prevalence of IL-1A and IL-1B polymorphisms in a Greek population. *Journal of Clinical Periodontology*. 2003;30(1):35–41.
10. Brett PM, Zygogianni P, Griffiths GS, et al. Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis. *Journal of Dental Research*. 2005;84(12):1149–1153.
11. Lopez NJ, Jara L, Valenzuela CY. Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease. *Journal of Periodontology*. 2005;76(2):234–243.
12. Sakellari D, Katsares V, Georgiadou M, Kouvatsi A, Arsenakis

- M, Konstantinidis A. No correlation of five gene polymorphisms with periodontal conditions in a Greek population. *Journal of Clinical Periodontology*. 2006;33(11):765–770.
13. Tervonen T, Raunio T, Knuutila M, Karttunen R. Polymorphisms in the CD14 and IL-6 genes associated with periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 2007;34(5):377–383.
14. Wagner J, Kaminski WE, Aslanidis C, et al. Prevalence of OPG and IL-1 gene polymorphisms in chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2007;34(10):823–827. [PubMed]
15. Struch F, Dau M, Schwahn C, Biffar R, Kocher T, Meisel P. Interleukin-1 gene polymorphism, diabetes, and periodontitis: results from the Study of Health in Pomerania (SHIP) *Journal of Periodontology*. 2008;79(3):501–507.
16. Geismar K, Enevold C, Sorensen LK, et al. Involvement of interleukin-1 genotypes in the association of coronary heart disease with periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2008;79(12):2322–2330.