УДК: 616.314.17–008.1:613.84

ЦИТОКИНСКАТА ПРОДУКЦИЈА КАЈ ПУШАЧИ И НЕ ПУШАЧИ СО ПАРОДОНТАЛНА БОЛЕСТ

Миндова С., Накова М., Ѓоргоски И., Исијановска Р., Ивановски К., Пешевска С., Стефановска Е., Николовска Ј.

СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - Скопје, Катедра за болести на устата и пародонтот

Целта на овој труд беше да се утврдат ефектите на пушењето врз прогресијата на пародонталната болест, преку проследување на: ткивната и серумската динамика на инфламаторните медијатори (ТНФ-α, ИЛ-1β). Реализација на поставената цел беше спроведена на Клиниката за болести на устата и пародонтот каде беше формирана испитувана група (45) сочинета од пациенти пушачи со дијагностицирана хронична пародонтална болест и контролна група (45) непушачи со пародонтопатија (класифицирана според ААП од 1999 година) на возраст од 40 до 60 години. Според бројот на испушени цигари пациентите од испитуваната група беа поделени во три подгрупи од 15 испитаници. Првата подгрупа ја сочинуваа пациенти кои пушат до 10 цигари на ден, (лесни пушачи). Втората подгрупа ја сочинуваа пациенти кои пушат од 10 до 20 цигари на ден (умерени пушачи). Третата подгрупа ја сочинуваа пациенти кои пушат над 20 цигари на ден (страсни пушачи). Кај двете групи на испитаници беа нотирани индексните вредности на дентален плак по Silness-Loe (ИДП), гингивална инфламација по Loe Silnes (ИГИ), гингивално крвавење по Cowell (ИГК) како и степенот на губиток на атачмент (Ramfjord). По извршениот клинички преглед кај двете групи на испитаници по пат на венепункција беа земани 5 мл крв од v cubitalis каки и биоптичен материјал од гингивата. Кај двете групи (контролна и испитувана) во биоптичниот материјал и во серумските примероци беше верификувано квантитативното присуство на интерлеукин еден бета (ИЛ-1β), тумор некрозен фактор алфа (ТНФ). Од добиените резултати може да се констатира дека вредностите на ТНФ-α во гингивалното ткиво детектираа разлика на просечните вредности кај трите испитувани подгрупи која е статистички сигнификантна. Анализата на серумските вредности на ИЛ-1β детектираа разликата на просечните вредности кај трите испитувани подгрупи (пушачи) која е статистички сигнификантна.Позитивна сигнификантна корелација помеѓу пародонталниот индекс на Ramfjord со ТНФα во гингивалното ткиво и серум во испитуваните групи. Литературните податоци индицираат дака пушењето е аларм, предупредувачки сигнал за појава на пародонтална болест. На стоматолозите клиничари им останува обврската за сериозен точен пристап во дијагностицирањето, идентификација на ризик факторите и третирањето на пародонталната болест.

Клучни зборови: пародонтопатија, ТНФ-α, ИЛ-1β, пародонтални индекси

Пушењето може да се вклучи во етиопатогенезата на пародонталната болест по пат на ослободување на проинфламаторните цитокини и инфламаторните медијатори кои можат да започнат каскада на биохемиски реакции, и да предизвикат пародонтално и ендотелно оштетување (16). Затоа пациентите кои пушат можат да се сметаат за системски засегнати и при отсуство на јасни клинички симптоми на заболувањето (10).

Општо прифатено е дека голем дел од пародонтално ткивната деструкција забележана при пародонталната болест кај пушачите е посредувана преку ослободување на проинфламаторни цитокини од локалните ткива и имуните клетки во одговор на бактериската флора и нејзините метаболити особено липополисахаридите. Комбинацијата на никотинот и бактерискиот липополисахарид како системски иницијатор може да активира импресивна каскада на инфламаторни цитокини кои се способни да предизвикуваат васкуларни и коагулациски компликации поврзани со пародонталната болест (23). Неколку проинфламаторни цитокини партиципираат во имунопатогенезата на пародонталната болест, но најубедливи докази за оваа вклученоста во литературата има за ИЛ-1β и ТНФ-α (10). Нивното појавување во плазмата кај пушачи има добро дефинирана временска поврзаност, индикативна за цитокинската каскада. Во насока на ткивно деструктивните ефекти се смета дека ИЛ-1β регрутира инфламаторни клетки, го олеснува полиморфонуклеарното иницирање, ја зголемува синтезата на инфламаторните медијатори (простагландините, матриксните метолопротеинази) ја инхибира колгенската синтеза и ги активира Б-лимфоцитите (10).

ТНФ-α е главен сигнал за клеточна апоптоза, коскена ресорпција, продукција на матриксните металопротеинази (ММП), експресија на интерцелуларната адхезивна молекула (ICAM) и продукцијата на ИЛ-6 (24,5). Пушачи со пародонтална болест имаат сигнификантно повисоки плазмени нивоа на ТНФ-α и ИЛ-6 во споредба од непушачи (28). Иако никотонот ја зголемува продукцијата на ИЛ-1α и ИЛ-1β од кератиноцитите (11) тоа сепак не влијае врз ИЛ-1β продукцијата од периферните моноцити или од гингивалните мононуклеарни клетки (21). Комбинација на никотин и липополисахарид ја намалува ИЛ-1β секрецијата (19). Овие наоди укажуваат дека различни клеточни типови одговараат различно на никотинската изложеност. Никотинот е најшироко испитувана компонента на тутунот, но тутунските продукти содржат илјадници хемикали кои имаат потенцијално влијание на домаќиновиот одговор, па затоа дополнителни клинички испитувања се потребни за расветлување на ефектите од пушењето на цитокинската продукција. Респектирајќи ги литературните податоци за партиципацијата на пушењето врз системското здравје, како и известувањата за влијанието во патогенетските збиднувања при пародонталната болест, особено актуелизирани во последната декада, ја поставивме и целта на трудот: да се утврдат ефектите на пушењето врз прогресијата на пародонталната болест, преку проследување на: ткивната и серумската динамика на инфламаторните медијатори (ТНФ-α, ИЛ-1β),

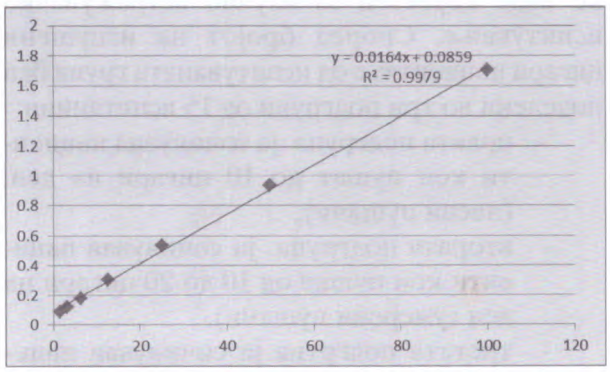
Материјал и метод

За реализација на поставената цел на Клиниката за болести на устата и пародонтот беше формирана испитувана група (45), сочинета од пациенти пушачи со дијагностицирана хронична пародонтална болест и контролна група (45) непушачи со пародонтопатија (класифицирана според ААП од 1999 година) на возраст од 40 до 60 години. Дијагнозата беше дефинирана врз база на анамнестичките сознанија, клиничкиот преглед и РТГ наодот. Особено внимание на анамнестичкото проследување беше посветено за добивање на темелни податоци за верификација на отсуство на било какво системско заболување, како и потпишување на согласност од пациентите за нивно одобрување дека земениот материјал ке биде користен за научно истражувачко испитување. Според бројот на испушени цигари пациентите од испитуваната група беа поделени во три подгрупи од 15 испитаници:

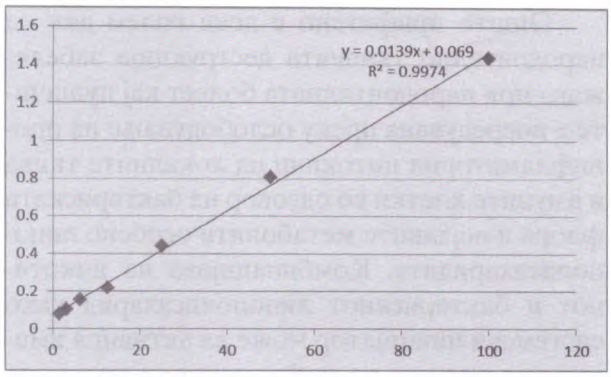
- првата подгрупа ја сочинуваа пациенти кои пушат до 10 цигари на ден, (лесни пушачи),
- втората подгрупа ја сочинуваа пациенти кои пушат од 10 до 20 цигари на ден (умерени пушачи),
- третата подгрупа ја сочинуваа пациенти кои пушат над 20 цигари на ден (страсни пушачи).

Кај двете групи на испитаници по извршениот клинички преглед, беа нотирани индексните вредности на дентален плак по Silness-Loe (ИДП), гингивална инфламација по **Loe Silnes (ИГИ),** гингивално крвавење по **Cowell (ИГК)** како и степенот на губиток на атачмент (**Ramfjord**).

По извршениот клинички преглед и нотирање на индексните вредности (ИДП, ИГИ, ИГК, и степенот на губиток на атачмент) кај двете групи на испитаници по пат на венепункција беа земани 5 мл крв од v cubitalis како и биоптичен материјал од гингивата. Крвта беше земана во стерилни епрувети и дистрибуирана на Институтот за физиологија при Медицинскиот факултет во Скопје. По приемот на крвта истата беше оставена да отстои 2 часа на собна температура. По ретракција на коагулумот серумот се центрифугираше со Becman центрифуга на 5000 вртежи. Биоптичните исечоци од гингивалното ткиво (интердентална папила) беа земани во асептични услови под инфилтрациона анестезија. Земениот материјал заедно со серумските примероци беше веднаш ставан во стерилни кивети, веднаш замрзнуван во течен азот на -70C°. На местото на извршената биопсија беше направена хемостаза и аплициран протективен завој а пациентите утредента беа контролирани. Кај двете групи (контролна и испитувана) во биоптичниот материјал и во серумските примероци беше верификувано квантитативното присуство на интерлеукин еден бета (ИЛ-1β),



Слика 1. *Проценка на линеарноста на методата за детекција на ТНФ-α. Сензитивност 4 pg/ml*

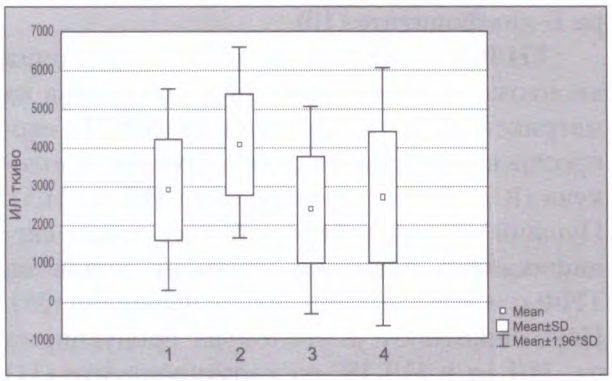


Слика 2. *Проценка на линеарноста на методата за детекција на ИЛ-1β. Сензитивност 4 pg/ml.*

тумор некрозен фактор алфа (ТНФ-α) Elisa метода на Институтот за биологија при Природно-математичкиот факултет во Скопје.

Резултати

На графикон 1 даден е приказ на просечните вредности на ИЛ-1β во гингивалното ткиво во испитуваната група со подгрупите и контролната група, при што вредностите се повисоки од референтните вредности.



Графикон 1. *Грфички приказ на просечните вредности на ИЛ-β во гингивално ткиво кај испитуваната група со подгрупите и контролната група*

На табела 1 дадени се просечните вредности на ИЛ-1β во гингивалното ткиво при што разликата која се регистрира помеѓу просечните вредности во испитуваната гру-

***ТАБЕЛА 1.** ПРИКАЗ НА ANALYSIS OF VARIANCE - АНАЛИЗА НА ВАРИЈАНСА НА ПРОСЕЧНИТЕ ВРЕДНОСТИ НА ИЛ-1β ВО ТКИВО ВО ИСПИТУВАНАТА ГРУПА СО ПОДГРУПИ*

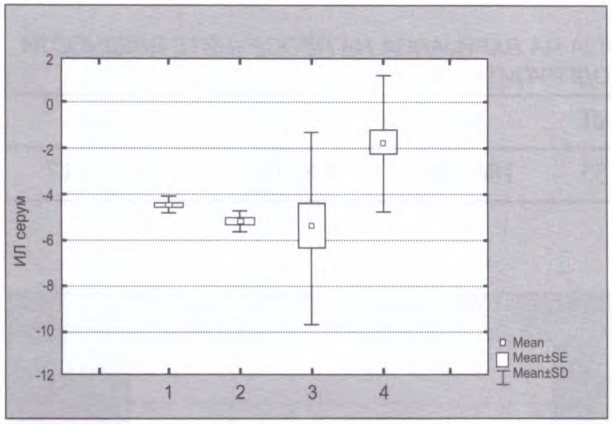
SS	df	MS	SS	df	MS	f	p
18106143	3	6035381	116465643	52	2239724	2,694699	0,055417

па со подгрупите е статистички несигнификантна за p>0,05 P- 0,055417.

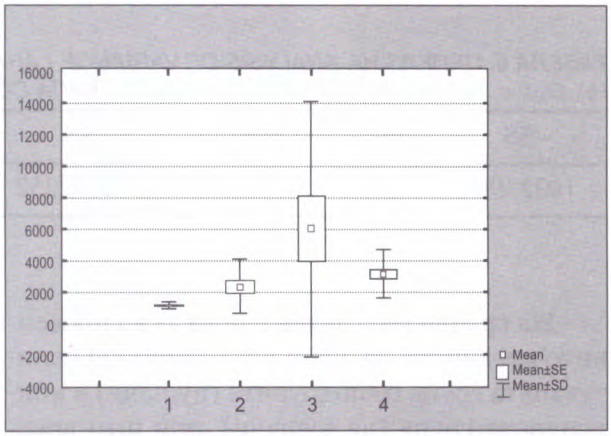
На графикон 2 даден е приказ на просечните вредности на ИЛ-1β во серум во испитуваната група со подгрупите и контролната група, при што вредностите се повисоки од референтните вредности.

На табела 2 дадени се просечните вредности на ИЛ-1β во серум при што разликата помеѓу просечните вредности на испитуваната група со подгрупите е статистички сигнификантна за p - 0,002890

На табела 3. приказ на post - hoc Tukey HSD тест за ИЛ-1β во серум ја потврдува сигнификантноста на измените за ИЛ-1β во серумот воглавно помеѓу третата подгрупа и контролната група.



***Графикон 2.** Графички приказ на просечните вредност на ИЛ - 1β во серум во испитуваната група со подгрупите и контролната група*



***Графикон 3.** Графички приказ на просечните вредност на ТНФ-α во серум во испитуваната група со подгрупите и контролната група*

***ТАБЕЛА 2.** ПРИКАЗ НА ANALYSIS OF VARIANCE НА ПРОСЕЧНИТЕ ВРЕДНОСТИ НА ИЛ-1β ВО СЕРУМ ВО ИСПИТУВАНАТА ГРУПА СО ПОДГРУПИТЕ*

SS	df	MS	SS	df	MS	f	p
131,2274	3	43,74245	512,7712	61	8,406085	5,203665	0,002890

***ТАБЕЛА 3.** ПРИКАЗ НА POST- HOC TUKEY HSD ТЕСТ*

група	I	II	III	IV
I		0,976066	0,056437	0,927190
II	0,976066		0,149832	0,685193
III	0,056437	0,149832		0,001469
IV	0,927190	0,685193	0,001469	

ТАБЕЛА 4. *ПРИКАЗ НА ANALYSIS OF VARIANCE - АНАЛИЗА НА ВАРИЈАНСА НА ПРОСЕЧНИТЕ ВРЕДНОСТИ НА ТНФ-α ВО ТКИВО ВО ИСПИТУВАНАТА ГРУПА СО ПОДГРУПИТЕ*

SS	df	MS	SS	df	MS	f	p
172206772	3	57402257	1,026871E+09	63	16299542	3,521710	0,019946

ТАБЕЛА 5. *ПРИКАЗ НА POST- HOC TUKEY HSD ТЕСТ*

група	I	II	III	IV
I		0,892155	0,019035	0,606196
II	0,892155		0,121257	0,981825
III	0,019035	0,121257		0,086497
IV	0,606196	0,981825	0,086497	

ТАБЕЛА 6. *ПРИКАЗ НА ANALYSIS OF VARIANCE - АНАЛИЗА НА ВАРИЈАНСА НА ПРОСЕЧНИТЕ ВРЕДНОСТИ НА ТНФ-α ВО ТКИВО ВО ИСПИТУВАНАТА ГРУПА СО ПОДГРУПИТЕ*

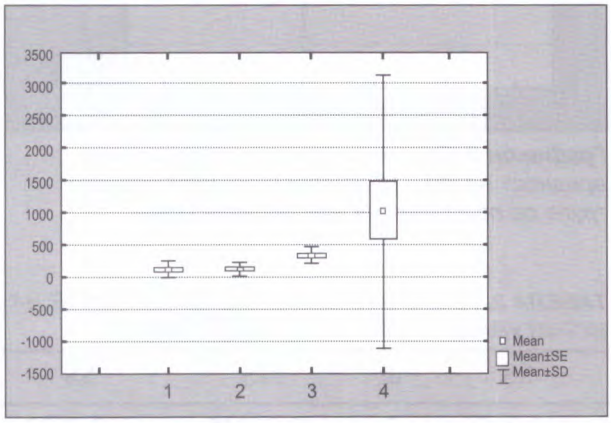
SS	df	MS	SS	df	MS	f	p
10223960	3	3407987	102332252	55	1860586	1,831673	0,152117

На графикон 3 даден е приказ на просечните вредности на ТНФ-α во ткиво кај испитуваната група со подрупите (пушачи) и контролната група (не пушачи), при што вредностите се повисоки од референтните вредности.

На табела 4 дадени се просечните вредности на ТНФ-α во ткиво при што разликата која се регистрира помеѓу просечните вредности на испитуваната група со подгрупите е статистички сигнификантна за p-0,019946

Табела 5 преставуваа приказ на post- hoc Tukey HSD тест за ТНФ-α во ткиво ја потврдува сигнификантноста на измените за ТНФ-α во ткиво воглавно помеѓу третата подгрупа и првата подгрупа.

На графикон 4 даден е приказ на просечните вредности на ТНФ-α во серум кај испитуванате група со подрупите (пушачи) и контролната група (не пушачи), при што вредностите се повисоки од референтните вредности.



Графикон 4. *Графички приказ на просечните вредност на ТНФ-α во серум во испитуваната група со подгрупите и контролната група*

На табела 6 дадени се просечните вредности на ТНФ-α во серум при што разликата која се регистрира помеѓу просечните вредности на испитуваната група со подгрупите е статистички не сигнификантна за p=0,152117

***ТАБЕЛА 7.** ПРИКАЗ НА КОРЕЛАЦИЈА ПОМЕЃУ ИНДЕКСОТ НА ГИНГИВАЛНА ИНФЛАМАЦИА (ИГИ) И ИЛ-1β ВО ТКИВО И СЕРУМ, И ТНФ-α ВО ТКИВО И СЕРУМ*

ИГИ	Spearman Rank Correlations	
IL-1β во ткиво	0,040712	p>0,05
IL-1β во серум	0,069382	p>0,05
TNFα во ткиво	-0,038940	p>0,05
TNFα во серум	-0,107279	p>0,05

На табела 7 даден е приказ на Spearman Rank Correlations при што се регистрира статистички несигнификантна позитивна корелација помегу ИГИ со ИЛ-1β во ткиво и серум, статистичка несигнификантна негативна корелација помегу ТНФ-α во ткиво и серум за p>0,05 (табела 11).

***ТАБЕЛА 8.** ПРИКАЗ НА КОРЕЛАЦИЈА НА ИНДЕКСОТ НА ГУБИТОК НА АТАЧМЕНТ (RAMFJORD) СО ИЛ-1β ВО ТКИВО И СЕРУМ, И ТНФ-α ВО ТЛИВО И СЕРУМ*

парадонтален индекс по Ramfjord	Spearman Rank Correlations	
IL-1β во ткиво	-0,189332	p >0,05
IL-1β во серум	-0,293635	p <0,05
TNFα во ткиво	0,385496	p <0,05
TNFα во серум	0,440052	p <0,05

На табела 8 даден е Spearman Rank Correlations тест при што се регистрира статистички сигнификантна позитивна корелација помеѓу пародонталниот индекс по Ramfjord со ТНФ-α во ткиво и серум, статистички несигнификантна негативна корелација помеѓу пародонталниот индекс по Ramfjord и ИЛ-1β во ткиво и P>0,05, а статистички сигнификантна негативна корелација со ИЛ-1β во серум.

Дискусија

Ризикот за појава на пародонталната болест и прогнозата на пациентите е поврзана со мноштво на ризик фактори како возраста стресот, присуството на специфични микроорганизми, генетиката, дијабетот, пушењето. Пушењето е еден од најзначајните фактори на околината поврзани со напредувањето на пародонталната болест (7, 30). Пушењето може да влијае на патогенезата на болеста кај индивидуата, да ја измени шемата на пародонталната болест во популацијата, како и да влијае на исходот од пародонталната терапија (3,12). Бројни истражувања (3,12,8) ги потврдиле негативните ефекти од пушењето врз пародонталното здравје. Механизмот со кој пушењето влијае врз оралното здравје се уште не е разбран ниту објаснет по пат на експерименти, а уште повеќе временската секвенца на процесот и влијанието на истите е секогаш екстремно тешко да се испита. Тежината и погресијата на пародонталната болест зависат од комплексните интеракции меѓу повеќето фактори на ризик, како што се микробиолошките, имунолошките, генетските како и возраста, полот и расата. Пушењето ја модулира деструкцијата на пародонциумот преку микроциркулацијата, имуниот систем, промените во сврзното ткиво и во метаболизмот на алвеоларната коска. Хистолошките студии на пародонталните структури докажуваат присуство на различни популации на инфламаторни клетки во пародонциумот. Литературни податоци (9), укажуваат дека цитокините се примарно одговорни за текот на болеста пред се поради нивната улога како медијатори кои ја насочуваат и ја регулираат инфламацијата. Цитокините се продуцираат локално во самото ткиво, дејствуваат и се разложуваат во ткивото, но во одредени состојби, како што е хронично перзистирање на дразбата, може да настане системско разлевање на цитокините. Цитокините се моќни хормони кои дејствуваат во многу мали концентрации изразени во нанометри. Еден од првите откриени и досега најмногу проучу-

ван е цитокинот ИЛ-1β. Тој се синтетизира главно од мононуклеарните клетки, претежно од моноцитните фагоцити, по стимулацијата од продуктите на инфламацијата или директно од бактериите. Поголеми вредности на ИЛ-1β се откриени во пародонталното ткиво (6), што се поврзува со значајната улога на ИЛ-1β во патогенетските механизми на пародонталната болест, по пат на стимулација на коскената ресорпција, секреција на протеинази, како и миграцијата на припојниот епител (18). Се смета дека во пародонталното ткиво ИЛ-1β потекнува од моноцитите, а неговата секреција е предизвикана од липополисахаридите на пародонтопатогените бактерии. Стимулираните клетки на периодонталниот лигамент се способни да го препознаат липополисахаридот (72) од бактериите и да предизвикаат цитотоксични ефекти.

ИЛ-1β претставува стимулатор на сврзноткивниот катаболизам потикнувајќи ја коскената ресорпција преку ослободувањето на големи количини на ПГЕ2 од фибробластите и моноцитите. За време на инфламаторните процеси во гингивата иако нивото на ИЛ-1β и ТНФ-α е ниско, сепак е доволно да предизвика промени на клетките и да учествува директно во имунолошките процеси.

Во реализираните испитувања на нашиот материјал, за нивото на ИЛ-1β во гингивалното ткиво кај трите подгрупи (пушачи)и контролната група не пушачи забележавме зголемување на вредностите на ИЛ-1β во однос на референтните вредности (графикон 1) Сметаме дека ова зголемување на нивото на ИЛ-1β во гингивалното ткиво во испитуваните групи, иако несигнификантно (табела 1), го потврдува учеството на овој цитокин во патогенетските механизми на пародонталната болест. Според (26,9) докажано е дека нивото на ИЛ-1β се зголемува со напредувањето на инфламацијата како и со напредувањето на пародонталната деструкција. ИЛ-1β учествува во регулацијата на експресијата на адхезивните молекули на фибробластите. Овие адхезивни молекули овозможуваат хемотакса на местото на инфламацијата со што им овозможува на лимфоцитите и моноцитите да се припојат на клетките од сврзното ткиво (30). Овие наоди укажуваат дека различни клеточни типови одговараат различно на никотинската изложеност. ИЛ-1β со својата зголемена концентрација индиректно влијае на активација на моноцитно макрофагниот систем во гингивалното ткиво со што се подржува локалната продукција на овој цитокин. Никотинот ја зголемува ИЛ1-α и ИЛ1-β продукцијата од кератиноцитите но не влијае на ИЛ1-β секрецијата, односно комбинација на никотин и ЛПС ја намалува секрецијата на ИЛ-1β (22, 30).

Нашите резултати се во согласност со наодите на (78,94) спротивни на (21,4,17).

Податоциет на (14,15) ја покажуваат улогата на полиморфизмот на ИЛ-1 групата, во однос на зголеменит ризик за пародонтална болест. Meisel (15) укажува на можната поврзаност меѓу ИЛ-1 генотипот, пародонталната болест и пушењето. Пациентите со позитивен генотип споредени со пациенти со негативен фенотип покажуваат повисок ризик на напредна пародонтална болест (14). Овие податоци укажуваат на можната интеракција на двата ризик фактори, пушењето и генотипот. Фенотипски разлики постојат во нивото на интерлеукините кои кореспондираат со генотипот, и овие разлики влијат на пародонталната болест. ИЛ-1 групи на генотипот резултираат со зголемени вредности на проинфламаторни цитокини, а покачените вредности на интерлеукините кои се предизвикани од никотинот или од липополисахаригите претставуваат предиспонирачки фактори на пародонталната болест.

ИЛ-1β регрутира инфламаторни клетки, го олеснува полиморфонуклеарното иницирање, ја зголемува синтезата на инфламаторните медијатори (простагландините, матриксните метолопротеинази) ја инхибира колгенската синтеза и ги активира Б-лимфоцитите (5). Нашите резултати за серумското ниво на ИЛ-1β покажуваат зголемени вредности кај трите подгрупи и контролната група, при што разликата на просечните вредности се статистички сигнигикантни (табела

2). Добиените резултати на покачените вредности на ИЛ-1β во испитуваната група укажува на улогата на овој цитокин во патогенетските случувања на пародонталната болест како моќен индуктор на активната реакција на имунолошкиот систем кај пушачите, предизвикана од бактериската стимулација. Зголемувањето на бројот на испушени цигари, односно зголеменото дејствување на никотинот условува засилена реакција кај пушачите евидентирано на (табела 3). Нашите резултати кои се однесуваат за нивоата на ИЛ-1β во серум се во согласност со наодите на (10) а спротивни на (7,19,21,).

Еден од главните извори на ТНФ-α во инфламираните ткива се ткивните моноцити и макрофаги. Овој цитокин игра главна улога во имуните инфламаторните одговори. ТНФ-α и ИЛ-1β се вклучени во патогенетските механизми на пародонталната болест и се моќни индукатори на продукцијата на простагландините во многу клетки вклучувајќи ги гингивални фибробласти (17). Ова го потврдуваат и нашите резултати за зголемено присуство на ТНФ-α во гингивалното ткиво, над референтните кај испитуваните групи и контролната група (графикон 3), при што разликата на просечните вредности помеѓу испитуваните подгрупи е статистички сигнификантна за p=0,19946 (табела 4).

Нашите резултати кои се однесуваат на нивото на ТНФ-α во гингивалното ткиво кај пациенти со пародонтална болест (пушачи и непушачи) се во согласност (29) не најдовме податоци кои се однесуваат на присуството на ТНФ-α во гингивално ткиво кај пушачи за да ги конфротираме нашите резултати.

Со зголемувањето на бројот на испушени цигари се зголемува концентрацијата на инфламаторниот медијатор ТНФ-α кој уште повеќе ги продлабочува патолошките случувања на пародонталната болест, што е евидентно на (табела 5), каде тест разликата е воглавно меѓу третата подгрупа и првата подгрупа.

ТНФ-α го регулира реструктурирањето на коската преку клетките на периодонталниот лигамент, го модулира дејствувањето на остеобластите преку влијанието на колагенската синтеза, колагеназата, протеогликаните и простагландините (22, 25).

Во текот на нашите испитувања резултатите што ги добивме за ТНФ-α во серум покажуваат повисоки вредности во однос на референтните кај трите подгрупи и контролната група (графикон 4) но разликата на просечните вредности за ТНФ-α во серум помеѓу испитуваните групи се статистички несигнификантни за p-0,019946 (табела 6). Нашите резултати кои се однесуваат на нивото на ТНФ-α во серум кај пародонтално болни (пушачи и непушачи) се во согласност (29,7) не најдовме податоци кои се однесуваат на присуството на ТНФ-α во серум за да ги конфротираме нашите резултати.

Иако резултатите во испитуваната група со подгрупите не покажаа сигнификантност сепак сметаме дека периферните крвни моноцити одговараат кон липополисахаридите со зголемена продукција на ТНФ-α укажувајќи на активен одговор на имуниот систем кај пушачите, веројатно причинет од интензивираната бактериска стимулација која води до зголемена колагеназа од фибробластите коскена ресорпција со што се обезбедува додатен доказ за активација на клетките in vivo (1,2).

Никотинот ги зголемува интерклеточните адхезивни молекули (ИКАМ-1) и адхезијата на ендотелните леукоцитни молекули со што се зголемува количеството на солубилни ИКАМ-1 во серумот на пушачите. Оваа адхезија на молекулите може да влијае врз поврзувањето на леукоцитите за ендотелните клетки, обложувајќи ги капиларите посткапиларните венули и ова може да го попречи вклучувањето на важните одбрамбени клетки на местото на инфламацијата.

Пародонталниот статус детектиран со индексот на гингивална инфламација (ИГИ) не е поврзан со ткивните е серумските вредности на ТНФ-α и ИЛ-1β, што е евидентно од (табела 7) каде е регистрирана статистичка несигнификантна позитива корелација помеѓу ИГИ со ТНФ-α и ИЛ-1β во ткиво и серум.

Позитивна корелација регистрирана е помеѓу губитокот на атачмент со серумски-

те и ткивните вредности на ТНФ-α прикажано, (табела 8) додека негативна корелација помеѓу ИЛ-1β во серум и ткиво со пародонталниот индекс по Ramfjord.

Сметаме дека ова се должи на недоволната сензитивност на клиничките индекси во детекција на промените кои се случуваат во текот на пародонталната болест. Клиничките параметри може да бидат земениво предвид при дефинирање на типот на пародонталната деструкција (активна/неактивна), но се немоќни за детерминирање на разликите во чуствителноста на организмот и имуноинфламаторниот одговор.

Секако дека има мало разбирање за ефектите од пушењето врз имунолошкиот систем, и како овие интеракции влијаат на пародонталното здравје. Директната корелација помеѓу промените условени од пушењето во функционирањето на имуниот систем и нарушеното пародонтално здравје останува да бидат потврдени во иднина.

Испитувањето на улогата на пушењето како ризик фактор во етиопатогенетските случувања кај пародонталнат болест, овозможена со верификација на инфламаторните маркаери ТНФ-α, ИЛ-1β, не упатуваат на следните заклучоци.

1. Анализата на ткивната динамика на ИЛ-1β во гингивалното ткиво детектира разлика на просечните вредности на овој маркер кај трите испитувани подгрупи (пушачи) која е статистички несигнификантна за $p<0,05$, при што просечните вредности кај трите подгрупи и контролната група се повисоки од референтните вредности. Сметаме дека ова зголемување на нивото на ИЛ-1β во гингивалното ткиво во испитуваните групи, иако несигнификантно го потврдува учеството на овој цитокин во патогенетските механизми на пародонталната болест. Зголемувањето на бројот на испушени цигари, односно зголеменото дејствување на никотинот условува засилена реакција кај пушачите.
2. Резултатите од анализата на серумските вредности на ИЛ-1β регистрира разликата на просечните вредности кај трите испитувани подгрупи (пушачи) која е статистички сигнификантна за $p=0,002890$, но просечните вредности на ИЛ-1β во серум се повисоки од референтните вредности кај трите подгрупи и контролната група. Покачените вредности на ИЛ1-β во испитуваната група укажува на улогата на овој цитокин во патогенетските случувања на пародонталната болест како и влијанието, односно зголеменото дејствување на никотинот условува засилена реакција кај пушачите.
3. Детектираната разлика на просечните вредности на ТНФ-α во гингивалното ткиво кај трите испитувани подгрупи е статистички сигнификантна за $p=0,019946$, но просечните вредности се повисоки од референтните во трите подгрупи и контролната група. Со зголемувањето на бројот на испушени цигари се зголемува концентрацијата на инфламаторниот медијатор ТНФ-α кој уште повеќе ги продлабочува патолошките случувања на пародонталната болест,
4. Резултатите на серумските вредност за ТНФ-α детектираат разлика на просечните вредности кај трите испитувани подгрупи која е статистички несигнификантна за $p=0,152117$ но просечните вредности на THF-α во серумот кај трите подгрупи и контролната група се повисоки од референтните вредности Иако резултатите во испитуваната група со подгрупите не покажаа сигнификантност сепак сметаме дека периферните крвни моноцити одговараат кон липополисахаридите со зголемена продукција на ТНФ-α укажувајќи на активен одговор на имуниот систем кај пушачите.
5. Статистички сигнификантна позитивна корелација помеѓу пародонтални-

от индекс на Ramfjord со ТНФα во гингивалното ткиво и серум во испитуваните групи укажува на валидноста на мерењето на ткивните и серумските концентрации на ТНФα, како индуктор на активноста на заболувањето.

CITOKINES PRODUCTION IN SMOKERS AND NOT SMOKERS WITH PERIODONTAL DISEASE

Mindova S., Nakova M., Gorgoski I., Isijanovska R., Ivanovski K., Peševska S., Stefanovska E., Nikolovska J.

Summary

The aim of the study was to determine effects of smoking on progression of periodontal disease verificated through: tissue and serum dynamic of inflammatory mediators (TNF-α, IL-1β). Experimental group consisted 45 patients-smokers with periodontal disease and control group 45 patients non-smokers with periodontal disease (AAP classification, 1999), at age 40-60.

According the number of cigarettes per day patients in experimental group were divided in three subgroups (each consisted 15 persons): I group: light smokers- up to 10 cigarettes per day, II group: moderate smokers- up to 10-20 cigarettes per day and III group: heavy smokers-above 20 cigarettes per day. In both groups were evidenced clinical indices: (IDP- index of dental plaque Silness-Loe; IGI- index of gingival inflammation Loe – Silness; index of gingival bleeding Cowell and level of attachment loss Ramfjord). After clinical examination in both groups was taken 5ml blood by venepunction from v. cubitalis, and gingival biopsy was performed. In bioptic material and serum specimens (of both groups) quantitative verification of IL-1β, TNF-α.Our results pointed that the levels of TNF-α, detected differences of mean values in three subgroups that were statistically significant. Analysis of the serum level of IL-1β, detected differences of mean values in three subgroups that were statistically significant. Positive significant correlation between Ramfjord index and TNF-α in gingival tissue and serum was noted. Literature indicates that smoking is alarm, warning signal for periodontal disease. Dentists –clinicians have an obligation of serious, through diagnostic protocol, identification of risk factors and treatment of periodontal disease.

Key words: periodontal disease, TNF-α, IL-1β, lipid status, periodontal indices

Литература

1. Benowitz NL. Pharmacology of nicotine: addiction and therapeutics.Annu Rev Pharmacol Tozicol 1996;36:597-613.
2. Bergstrom J, Eliassen S. Noxious effect of cigarette smoking periodontal health. J Periodont Res 1987;22:513-7.
3. Bergstrom J, Perber H Tobaco use as risk fask factor.J Periodontol, 1994;65:545-550.
4. Bernzweig E, Payne JB, Reinhardt RA, Dyer JK, Patil KD. Nikotine and smokeless tobacco effects on gingival and peripheral blood mononuclear cells. J Clin Periodontol 1998;25:246-52.
5. Gemmel E, Marshall R,I, Seymor G.I Citokines and prostaglandines in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease.Periodontology 2000 1997;14:112-43.
6. Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, et all.Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. J Periodontol 1994;65:260-7.
7. Haffajee AD, Socransky SS.Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles.J Clin Periodontol 2000;28:283-295.
8. Hanes P, Scbuster G. Bleding and releanse of nicotine by human gingival fibroblasts. J Periodontol 1991;62:147-52.
9. Hillmann G, Hilmann B, Gartsen W. Immunohistological determination IL1beta in inflamed human gingival epithelium. Arch Oral Biol 1995;40:353-9.
10. Johnson GK, Todd GL, Johnson WT, Fung YK, Dubois LM. Effects of topical and systemic nicotine in gingival blood flow in dogs. J Dent Res 1991;70:906-909.
11. Jolcson N. Tobacco and oral diseasse. Br Dent J 2000;189:200-6.
12. Kjeldsen M, Holmstrup P, Bendtzen K. Marfinal periodontitis and citokines; A review of the literature. Journal of Periodontology 1993;nov: 1013-1022.
13. Martinez-Canut P, Lotca A, Morgan R. Smoking and periodontal disease severity. J Clin Periodontol 1996;22:743-9.
14. Meisel P, Seigemond A, Dombrova S et al. Smoking and polimorphisms of the interleukin-1 cluster (IL-1alfa, IL-1beta and IL-RW) in patients witn periodontal disease. J Periodontol 2002;73:27-32.

15. Meisel P, Siegemund A, Dombrova S, Sawaf H, Fenghaenel J, Kocher T. Smoking and polymorphisms ot the interleukin-1 gene cluster (IL-1alfa, IL1beta, and IL-1RN) in patiients with periodontal disease. J Periodontol 2000; 78:27-32.
16. Mooneu I, Hodge PI, Kinane DF. Humoral immune response in early-onset perodontitis; influence of smoking. J Periodontal Res 2001; 36: 227-232.
17. Palmer RM, Scott DA, Meekin TN, Poston RN, Odell EW, Wilson RF. Potential mechanisms of susceptibility to periodontitis in tobacco smokers. J Periodontal Res 1999;34:363-369.
18. Payne JB,Johnson GK, Reinhardt RA, Dyer JK, Maze CA, Dunning DG. Nicotine effects on PGE2 and IL-1b release by LPS-treated human monocytes. J Periodontal Res 1996;31:99-104.
19. Payne JB. Johnson GK. Reinhardt RA. Maze CR. Dyer JK. Patil KD Smokeless tobacco effects on moncyte secretion of PGE2 and IL-1 beta. J Periodontol 1994;65:937-41.
20. Pindborg J. Statistical examination of the significance of tobacco in the development of ulceromembranous gingivitis and in the formation of cslculus. J Dent Res 1947;26:261-4.
21. Rezavandi K, Palmer RM, Odell EW, Scott DA, Wilson RF. Expression of ICAM-1 and E-selectin in gingival tissues of smokers and non-smokers with periodontitis. J Oral Pathol Med 2002;31:59-64.
22. Scott DA, Palmer RM, Stapleton JA. Validation of smoking status in clinical research into inflammatory periodontal disease. J Clin Periodontol 2001; 28:715-22.
23. Tanur E, McQuade MJ, McPherson JC, Al-Hashimi IH, Rivera-Hidalgo F. Effects of nicotine on the strength of attachment of gingival fibroblast to glass and non-diseades human root surfaces. J Periodontol 2000;71:717-22.
24. Tappia PS, Troughnon KI, Langley-Evans SC, Cigarete smoking influences cytokine production and antioxidant defences. Clin Sci (Colch) 1995;88:485-9.
25. Timnerman MF, van der Wiejden GA. Risk factors for periodontitis In J Dent Hyg 2006;4:2-7.
26. Tipton DA. Dabbous MK Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblasts in vitro. J Periodontol 1995:577-97.
27. Tonetti MS, Pini-Prato G, CortelliniP. Effect of cigarette smoking on periodontal health following GTR in infrabony defects. A preliminary retrospective study. J Clin Periodontol 1995;22:229-234.
28. Wihelmsen L Coronary heart disease. Epidemiology of smoking intervention studies of smoking. Am Heart J 1998;115:242-7.
29. Wilson T. Effects of smoking on the periodontium. Quintessence internacional 1998;29:265-6.