

RĪGAS STRADIŅA UNIVERSITĀTE

ZANE LAURIŅA

**Periodonta veselības epidemioloģiskais un
funkcionālmorfoloģiskais pētījums**

Specialitāte - periodontoloģija

Promocijas darbs

Darba zinātniskie vadītāji:

**Habilitēta medicīnas doktore,
profesore Māra Pilmane**

**Medicīnas doktore,
profesore Rūta Care**



Promocijas darbs veikts ar ESF projekta „Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē” atbalstu. Vienošanās Nr. 2009/0147/1Dp/1.2.1.2/09/IPIA/VIAA/009

Rīga, 2010

Satura rādītājs

1. Darbā lietotie saīsinājumi	5
2. Ievads	7
2.1. Darba aktualitāte	6
2.2. Darba mērķis	7
2.3. Darba uzdevumi	7
2.4. Darba hipotēzes	8
3. Literatūras apskats	9
3.1. Periodonta veselības stāvoklis pasaulē un Latvijā	9
3.2. Smaganu audu raksturojums	11
3.2.1. Smaganu audu attīstība	12
3.2.2. Smaganu audu uzbūve	13
3.2.3. Smaganu audu funkcijas	16
3.2.4. Patoloģiskas smaganu audu izmaiņas iekaisuma gadījumā	17
3.3. Gēnu un transkripcijas faktoru darbības raksturojums	18
3.3.1. Sonic hedgehog gēna (Shh) raksturojums	18
3.3.2. Bar homebox 1 gēna (Barx1) raksturojums	18
3.3.3. Muscle segment homebox gēna (Msx2) raksturojums	19
3.3.4. Nukleārā transkripcijas faktora kappa beta (NF-κB) raksturojums	20
3.4. Augšanas faktoru un to receptoru darbības raksturojums	21
3.4.1. Nervu augšanas faktora (NGF) un nervu augšanas faktora receptora p75 (NGFRp75) raksturojums	21
3.4.2. Insulīna augšanas faktora receptora - I (IGF-IR) raksturojums	22
3.4.3. Fibroblastu augšanas faktora (FGF) raksturojums	23
3.5. Šūnu adhēzijas molekulas un citokīni	23
3.5.1. Intercelulārās adhēzijas molekulas - 1 (ICAM-1) raksturojums	23
3.5.2. Audu iekaisuma marķiera interleikīna - 10 (IL-10) raksturojums	24
3.6. Antimikrobiālā aizsardzība	25
3.7. Apoptozes procesa raksturojums	25

4. Materiāli un metodes	27
4.1. Pētījuma materiāli	27
4.1.1. Epidemioloģiskā pētījuma materiāla raksturojums	27
4.1.2. Morfoloģiskā pētījuma materiāla raksturojums	28
4.2. Pētījuma metodes	30
4.2.1. Epidemioloģiskā pētījuma metodes	30
4.2.1.1. Community Periodontal Index noteikšana	30
4.2.1.2. Piestiprinājuma zuduma noteikšana	31
4.2.1.3. Zaudēto zobu skaita noteikšana	31
4.2.2. Morfoloģiskā pētījuma metodes un reaģīvi	31
4.2.2.1. Morfoloģiskā metode	31
4.2.2.2. Biotīna un streptovīdīna imūnhistoķīmiskā metode	32
4.2.2.3. TUNEL metode	33
4.2.3. Datu statistiskās apstrādes metodes	33
4.2.3.1. Epidemioloģiskā pētījuma metodes	33
4.2.3.2. Morfoloģiskā pētījuma metodes	34
5. Rezultāti	35
5.1. Epidemioloģiskā pētījuma rezultāti	35
5.1.1. Community Periodontal Index atradne	35
5.1.2. Piestiprinājuma zuduma atradne	37
5.1.3. Zaudēto zobu skaita atradne	38
5.2. Morfoloģiskā pētījuma rezultāti	39
5.2.1. Morfoloģiskās metodes atradnes	39
5.2.2. Imūnhistoķīmiskās pētījuma metodes atradnes	39
5.2.2.1. Gēnu un transkripcijas faktora NF-κB ekspresija	39
5.2.2.1.1. Shh atradnes	39
5.2.2.1.2. Barx1 atradnes	42
5.2.2.1.3. Msx2 atradnes	45
5.2.2.1.4. NF-κB atradnes	47

5.2.2.2. Augšanas faktoru un to receptoru ekspresija	48
5.2.2.2.1. NGF un NGFRp75 atradnes	48
5.2.2.2.2. IGF-IR atradnes	53
5.2.2.2.3. FGF atradnes	55
5.2.2.3. Šūnu adhēzijas molekulas un citokīnu ekspresija	56
5.2.2.3.1. ICAM-1 atradnes	56
5.2.2.3.2. IL-10 atradnes	59
5.2.2.4. Antimikrobiālā β defensīna atradnes	62
5.2.2.5. Apoptozes atradnes	65
5.2.2.6. Savstarpējās korelācijas	66
6. Diskusija	68
7. Secinājumi	83
8. Darba novitāte	86
9. Pateicības	87
10. Vēres	88
11. Publikācijas, ziņojumi kongresos un konferencēs par pētījuma tēmu	107
12. Pielikums	109

1. Darbā lietotie saīsinājumi

Saīsinājums	Angliskais nosaukums	Latviskais skaidrojums
Barx1	Bar - like homebox 1 gene	Bar homebox 1 gēns
Bmp2	Bone morphogenetic protein 2	Kaula morfoģenētiskais proteīns 2
Bmp4	Bone morphogenetic protein 4	Kaula morfoģenētiskais proteīns 4
CPI	Community Periodontal Index	Sabiedrības periodontālais indekss
EGF	Epidermal growth factor	Epidermālais augšanas faktors
FGF	Fibroblast growth factor	Fibroblastu augšanas faktors
FGF-IR	Fibroblast growth factor receptor - I	Fibroblastu augšanas faktora receptors - I
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule - 1	InterCelulārās adhēzijas molekula - 1
IGF-I	Insulin - like growth factor - I	Insulīna augšanas faktors - I
IGF-II	Insulin - like growth factor - II	Insulīna augšanas faktors - II
IGF-IR	Insulin - like growth factor receptor - I	Insulīna augšanas faktora receptors - I
IFN-γ	Interferon - gamma	Interferons - gamma
IL-1	Interleukin - 1	Interleikīns - 1
IL-4	Interleukin - 4	Interleikīns - 4
IL-8	Interleukin - 8	Interleikīns - 8
IL-10	Interleukin - 10	Interleikīns - 10
IκB	IκB kinase	IκB kināze
Msx2	Muscle segment homebox 2 gene	Muscle segment homebox 2 gēns
mRNA	Messenger Ribonucleic acid	Mesendžera ribonukleīnskābe
NF-κB	Nuclear factor kappa beta	Nukleārais faktors kappa beta
NGF	Nerve growth factor	Nervu augšanas faktors
PMN	Polymorphnuclear leycocytes	Polimorf nukleārie leukocīti
PK	Periodontal pocket	Periodontālā kabata
PGE-2	Prostaglandin E2	Prostoglandīns E2
NGFRp75	Nerve growth factor receptor p75	Nervu augšanas faktora receptors p75
Shh	Sonic hedgehog gene	Sonic hedgehog gēns
TGF-β	Transforming growth factor - beta	Transformējošais augšanas faktors - beta
TNF-α	Tumor necrosis factor - alpha	Tumora nekrozes faktors - alfa

2. Ievads

2.1. Darba aktualitāte

Pasaulē, tāpat, kā arī Latvijā, vērojama strauja populācijas novecošanās tendence (Peterssen un Ogava, 2005). Procentuāli lielākajai daļai iedzīvotāju ar gadiem novēro zobus balstošo kaulaudu un smaganu izmaiņas jeb periodonta saslimšanas. Galvenais periodontālo saslimšanu cēlonis ir bakteriālais aplikums un tā izstrādātie toksīni. Savlaicīgi neveikta periodonta ārstēšana būtiski ietekmē pacienta dzīves kvalitāti, jo novēro - smaganu asiņošanu, periodontālo kabatu attīstību, smaganu klīniskā pietūpuma zudumu, zobu kustīgumu, kā arī to zaudējumu. Periodonta saslimšanas vienmēr jāuztver kā risks infekcijas izplatībai organismā. Daudzie klīniskie pētījumi pierāda neapstrīdamu šo saslimšanu saistību ar tādām vispārējām saslimšanām kā cukura diabēts un sirds un asinsvadu slimības (Soskolne un Klinger, 2001; Friedewald et al., 2009).

Periodontālo audu destrukciju, kuru izsauc iekaisuma un imunoloģiskās kaskādes reakcijas, kontrolē ģenētiski mehānismi (Page et al., 1997). Smaganu audu šūnas aktīvi izstrādā vielas cīņā pret bakteriālas dabas kairinātāju, tādējādi nodrošinot lokālu imunitāti. Dažādi augšanas faktori un to receptori regulē šūnu migrāciju, proliferāciju, proteīnu un starpsūnu komponentu sintēzi (Parker et al., 2002).

Neskatoties uz daudzajiem *in vitro* un *in vivo* veiktajiem pētījumiem mutes, sejas un žokļu rajonā, salīdzinoši maz datu liecina par kraniofaciālajā morfoģenēzē iesaistīto gēnu ekspresiju periodontālajos audos. Transkripcijas faktoru nozīme literatūrā vairāk aplūkota kontekstā ar citām hroniska iekaisuma dabas saslimšanām, tādām kā reimatoīdais artrīts, astmu, *lichen planus*. Salīdzinoši maz analizēta augšanas faktoru un to receptoru ekspresija, citokīnu un šūnu adhēzijas molekulu atradne, kā arī antimikrobiālie proteīni smaganu un rievu epitēlijā. Atrodami ļoti maz datu par programmētās šūnu nāves norisi un atradni smaganu audu materiālā.

Lai novērtētu periodonta veselības stāvokli pieaugušajiem, bija nepieciešams veikt epidemioloģisku pētījumu, jo pēdējā plaša mēroga apskate Latvijas iedzīvotājiem tika veikta 1992. gadā ICS-II pētījuma ietvaros. Tāpēc 2005. gadā tika veikts epidemioloģisks pētījums par periodonta veselības stāvokli pieaugušajiem vecuma grupā 35-44 un 65-74 gadi. Mūsu veiktajā epidemioloģiskajā pētījumā periodonta veselība Latvijas iedzīvotājiem bija vāja, jo

vesels periodonts 35-44 un 65-74 gadu vecuma grupās tika novērots attiecīgi tikai 13,9% un 4,1% izmeklēto, kas liecina par izteiktu iekaisuma izsauktu periodonta patoloģiju, tālab nolēmām smaganu audu stāvokli analizēt sīkāk – morfoloģiski. Mūsu veiktais pētījums bija pirmais šāda veida pētījums Latvijā, kurā tika aplūkoti periodontālās patoloģijas kompleksie morfofunkcionālie aspekti.

2.2. Darba mērķis

Epidemioloģiskajā pētījumā noteikt periodonta veselības stāvokli, periodontālā pietiprinājuma zudumu un zaudēto zobu skaitu 35-44 un 65-74 gadu vecuma grupā Latvijā.

Morfoloģiskajā pētījumā noteikt hroniska periodontīta pacientu smaganu audu materiālā gēnus, augšanas/transkripcijas faktorus, antimikrobiālos peptīdus, šūnu adhēzijas molekulas un citokīnus, kā arī apoptozi un veikt imūnhistoķīmisku izmeklēšanu.

2.3. Darba uzdevumi

1. Noteikt periodonta stāvokli vecuma grupā 35-44 un 65-74 gadi, izmantojot Community Periodontal Index (CPI) un periodontālā pietiprinājuma zudumu.
2. Analizēt ar hematoksilīnu un eozīnu krāsoto hroniskā periodontīta pacientu smaganu audu materiālu.
3. Imūnhistoķīmiski noteikt gēnu (Shh, Barx1, Msx2) un nukleārā transkripcijas faktora kappa beta ekspresijas relatīvo daudzumu hroniskā periodontīta pacientu smaganu audu materiālā.
4. Imūnhistoķīmiski noteikt augšanas faktoru un/ vai to receptoru (NGF, NGFRp75, IGF-IR, FGF) ekspresijas relatīvo daudzumu hroniskā periodontīta pacientu smaganu audu materiālā.
5. Imūnhistoķīmiski noteikt šūnu adhēzijas molekulas (ICAM-1), citokīna (IL-10), antimikrobiālā peptīda ekspresijas relatīvo daudzumu hroniskā periodontīta pacientu smaganu audu materiālā.
6. Noteikt apoptozes izplatību hroniskā periodontīta pacientu smaganu audu materiālā.
7. Veikt datu statistisko apstrādi, lai noteiktu augstākminēto faktoru atradni hroniskā periodontīta pacientiem.

2.4. Darba hipotēzes

1. Periodonta veselības rādītāji 35-44 un 65-74 gadu vecuma grupās raksturo kopējo periodonta veselības stāvokli Latvijas populācijā.
2. Hronisks periodontīts saistās ar noteiktām gēnu, augšanas/transkripcijas faktoru, ICAM-1, IL-10, β defensīnu un apoptozes relatīvā daudzuma un novietojuma izmaiņām gan smaganu, gan rievu epitēlijā.
3. Hroniska periodontīta patogēnētisko ainu ietekmē iekaisuma smaguma līmenis smaganu audos.

3. Literatūras apskats

3.1. Periodonta veselība pasaulē un Latvijā

Periodonta veselība raksturo mutes dobuma higiēnas līmeni, pacienta motivāciju, kā arī zobārsta - pacienta sadarbības regularitāti un rezultātu. Periodonta funkcijas tiek novājinātas hroniska bakteriālā aplikuma izsauktā iekaisuma rezultātā. Periodonta saslimšanas skar cilvēkus visā pasaulē visās vecuma grupās un to sastopamības biežums ir augsts. Visbiežāk sastopamā periodontālā patoloģija bērnu un pusaudžu vecumā ir hronisks gingivīts. Galvenais priekšnoteikums tā attīstībai ir bakteriālā aplikuma akumulācija un nepietiekoša mutes dobuma higiēna (Mariotti, 1999; Kinane, 2001; William et al., 2001). Tā attīstību pastiprina lokāli un sistēmiski veicinoši faktori (Meyle un Gonzales, 2001; Albandar un Rams, 2002), iekaisuma izmaiņas mutes dobumā, kas saistītas ar zobu šķilšanos un zobu zaudējumu (Clerehugh un Tugnait, 2001), kā arī hormonālie faktori pubertātes vecumā (Albandar un Rams, 2002). Galvenais hroniska gingivīta klīniskais rādītājs ir smaganu audu asiņošana, ko novēro pēc smaganu rievas izmeklēšanas ar periodontālo zondi. Ja iekaisums smaganu audos netiek savlaicīgi novērsts, tā smaguma pakāpe padziļinās. Periodontīts ir bakteriālā aplikuma izsaukta saslimšana, kas skar periodontu un tam raksturīgs smaganu audu klīniskā pietūpuma zudums periodontālās saites destrukcijas rezultātā un zobus balstošās kaula plātnes noārdīšanās. Periodontīta gadījumā novēro smaganu rievu padziļināšanos, ko dēvē par periodontālo kabatu un to nosaka izmantojot periodontālo zondi.

Papapanou (1996) gadā periodonta saslimšanu epidemioloģijas plašā pārskatā secināja, ka attīstītajās valstīs smagākās periodontīta formas sastopamas ne vairāk kā 10% indivīdu. Izteiktas periodonta saslimšanas skar tikai dažus zobus ikvienā vecuma grupā un cilvēku skaits, kuriem šīs saslimšanas novēro, palielinās līdz ar vecumu (Bown un Loe, 2000). Lielāko procentuālo daļu dziļu kabatu novēro cilvēkiem pēc 65 gadu vecuma, sakarā ar periodonta patoloģiju padziļināšanos (Borell et al., 2004).

Epidemioloģisko pētījumu dati liecina, ka Eiropas valstīs 35-44 gadu vecuma grupā: 2 - 40% indivīdu novēro periodontālās kabatas dziļākas par 6 mm, bet 13 - 54% - sekla periodonta

kabatas (4-5 mm). Seklas periodontālās kabatas Austrumeiropā vidēji diagnosticē 45% un Rietumeiropā 36% iedzīvotāju. Dziļas periodontālās kabatas Austrumeiropas valstīs novēroja pat līdz 30 - 40% izmeklēto pacientu, kamēr daudzās Rietumeiropas valstīs dziļas periodontālās kabatas novēroja mazāk kā 10% izmeklēto. Citās ekonomiski attīstītajās pasaules valstīs šis rādītājs vidēji ir 33%, savukārt, desmit nabadzīgākajās pasaules valstīs tas ir vidēji 40% (Sheiham un Netuveli, 2002).

Vidējais sekstantu skaits ar dziļām periodonta kabatām ir salīdzinoši zems – 0,1 - 0,8. Lielākajā daļā Rietumeiropas valstu dziļas periodonta kabatas novēro no 0,1 līdz 0,2 sekstantiem uz personu. *Sheiham* un *Netuveli* (2000) atzīmē, ka Eiropā periodontālā veselība uzlabojas.

Mūsu kaimiņvalsts Lietuvas epidemioloģisko pētījumu dati liecina, ka 35-44 gadu vecuma grupā dziļas periodontālās kabatas novēro 47% izmeklēto pacientu un 65-74 gadu vecuma grupā – 75%. Vesels periodonts ir tikai 5% indivīdu 35-44 gadu vecuma grupā un 0,4% - 65-74 gadu vecuma grupā (Skudutyte et al., 2002).

Pēc *Krustup* un *Peterssen* (2006) datiem - Dānijā 35-44 gadu vecuma grupā vesels periodonts ir 7,7% un 65-74 gadu grupā 2,4% izmeklēto, bet 4-5 mm vai pat dziļākas kabatas 35-44 gadu vecuma grupā novēro 42%, bet 65-74 gadu grupā vairāk kā 82% izmeklēto.

Latvijā veiktajā ICS – II pētījumā 35-44 gadus vecuma grupā vesels periodonts bija tikai 0,7%, 74,4% gadījumos bija zobakmens, seklas periodontālās kabatas 55,64%, bet 7,3% izmeklēto periodontālās kabatas bija dziļākas par 6 mm. Izslēgtie sekstanti bija 26,2%. Vidēji tikai 0,4 sekstanti bija ar veselu periodontu, 2,9 sekstantos novēroja zobakmeni, 1,2 sekstantos bija periodontālās kabatas 4-5 mm. 65-74 gadus vecu cilvēku grupā periodonta stāvokli novērtēt bija grūti, jo vidēji 78,2% sekstantu bija izslēgti. Vesela periodonta praktiski nebija – 0,08%. 45,8% novēroja 4-5 mm dziļas periodontālās kabatas, 10,5% - tās bija dziļākas par 6 mm. Šīs grupas viena no galvenajām pazīmēm bija zobu trūkums (Urtane et al., 1996).

Fox et al. (1994) konstatēja, ka ASV izmeklētajiem pacientiem bieži sastopams smaganu pietiprinājuma zudums – 56% pacientu tas bija lielāks par 6 mm. Pēc *Albandar et al.* (1999) datiem – 30-90 gadu grupā ASV populācijā – 53,1% novēroja smaganu pietiprinājuma zudumu, vidēji katram indivīdam bija skarti 19,6% zobu. Francijā veiktajā pētījumā

Bourgeois et al. (2007) secina, ka no visiem izmeklētajiem pacientiem, 95,4% novēroja piestiprinājuma zudumu, 46,6% tas bija ≥ 5 mm un bija sastopams tikai 0,8 sekstantos uz personu.

Zobu zaudējums ietekmē pacienta dzīves kvalitāti un mutes dobuma veselību. Iemesls zobu zaudējumam var būt ne tikai kariess, bet arī trauma, periodontīts. Zobu zaudējumu saista ar indivīda izglītības līmeni, kā arī ar sociālekonomisko situāciju valstī (Slade un Spencer, 1994).

Francijā veiktajā epidemioloģiskajā pārskatā konstatēts, ka 97% izmeklēto vecuma grupā 35-44 gadi bija vairāk kā 20 zobi (Hescot et al., 1997). *Copeland et al.* (2004) konstatēja, ka vecuma grupā 30 - 69 gadi desmit gadu robežās gan vīriešu, gan sieviešu grupā zaudēto zobu skaits vidēji pieauga par 0,6 zobiem. Arī Zviedrijā veiktā pētījumā 148 indivīdiem noteica vidējo zaudēto zobu skaitu 5 gadu laikā vecuma grupās 55, 65 un 75 gadi. Vecākajā grupā tika zaudēti 1,4 zobi, 65 gadu grupā 0,8, bet 55 gadu grupā 0,4 zobi (Warren et al., 2002). Tas liecina, ka zaudēto zobu skaitam ir saistība ar novecošanos un tas skar indivīdus dažādās vecuma grupās.

Ungārijā veiktajā pētījumā 35-44 gadu vecuma grupā - 21 un vairāk zobu bija 73,1%, mazāk kā 21 - 18,1%, mazāk par 15 - 6,9%, bet zobu nebija tikai 1,9% iedzīvotāju; 65-74 gadu vecuma grupā 21 un vairāk zobu bija 22,6%, mazāk kā 21 - 17,9%, mazāk par 15 - 39,7%, bet zobu nebija tikai 19,8% (Madléna et al., 2008).

1998. gadā tika publicēts pārskats, apkopojot datus no 1986. gada līdz 1996. gadam, par 65-74 gadu veco Eiropas iedzīvotāju totālu zobu zaudējumu un tas svārstījās robežās no 12,8%-69,6% (Bourgeois et al., 1998). Bezzobu stāvokļa līmenis dažādās populācijās pasaulē sastāda 26% līdz 48% un novēro ļoti plašu reģionālu atšķirību. Jāatzīmē, ka epidemioloģiskie pētījumi par bezzobu situāciju attīstītajās valstīs veikti pagājušā gadsimta 80-os, 90-os gados. Šajā laika periodā reģistrēti sekojoši dati vecumu grupās virs 65 gadi: Kanādā - 40% (Brodeur et al., 1996), ASV - 44% (Budtz-Jorgensen, 1999), Lielbritānijā - 46% (Steele et al., 2000), Japānā - 35% (Hamasha et al., 1998). Ievēribas cienīgs fakts, ka mūsu kaimiņiem Lietuvā tikai 11-15% iedzīvotāju novēro totālu zobu zaudējumu, kas ir mazāk kā aplūkojot visus Eiropas datus kopumā (Aleksejuniene et al., 2000).

Pēc Latvijā veikto epidemioloģijas pētījumu datiem pacientu skaits, kuriem ir pilnīgs zobu zaudējums, bet nav izgatavotas protēzes bezzobu situācijas aizvietošanai, ir palielinājies no 10,5% līdz 19,9% laika posmā no 1991. gada līdz 2005. gadam (Soboļeva et al., 2006).

3.2. Smaganu audu raksturojums

Vesels periodonts, kas aptver zobu, nodrošina pilnvērtīgu zoba funkciju mutes dobumā. To veido smaganas, periodontālā saite, alveolārais kauls un zoba saknes cements. Katrs no šiem komponentiem ir ar atšķirīgu audu struktūru, bioķīmisku uzbūvi un šūnu sastāvu, tomēr kopā tie veido izteikti vienotu un funkcionējošu kompleksu. Veselas smaganas klāj alveolāro kaulu un zoba saknes virsmu koronāli no zoba emaljas cementa robežas.

Anatomiski smaganas tiek iedalītas: brīvā smaganu mala, interdentalās smaganas un fiksētās smaganas. Smaganu audus veido divas atšķirīgu audu grupas, epitēlijs un saistaudi. Epitēlijs galvenokārt sastāv no šūnām, bet saistaudi no šūnām un šķiedrām un nefibroziem proteīniem, augšanas faktoriem, minerālvielām, lipīdiem un ūdens. Epitēliju, atkarībā no novietojuma, iedala trīs atsevišķos tipos:

- mutes dobuma epitēlijs jeb smaganu epitēlijs, kas izsekojams no mukogingivālās līnijas līdz smaganu malas virsotnei. To iedala marginālajās smaganās un fiksētajās smaganās.
- rievas epitēlijs, kas izklāj smaganu rievu un plešas no smaganu malas virsotnes līdz saistepitēlija viskoronālākajai daļai.
- saistepitēlijs, kas novietojas apikāli no smaganu rievas līdz punktam, apmēram 2,0 mm koronāli no alveolārā kaula virsotnes.

Novēro atšķirīgu epiteliālu ultrastruktūru (Schroeder un Lisgarten, 1997), kā arī dažādu citokīnu un šūnu virsmas marķieru ekspresiju katrā no šiem trim minētajiem epitēlija veidiem (Macenzie un Gao, 1993; Thorup et al., 1997).

3.2.1. Smaganu audu attīstība

Smaganu audi sastāv no epitēlija, kas attīstās no ektodermas un mezodermālas izcelsmes saistaudiem. Šo abu audu grupu sastāvā ir komponenti, kas veidojušies gan no mutes dobuma epitēlija, gan no zobu aizmetņiem (Lisgarten, 1972; Makenzie, 1988).

Smaganu audu epitēlijs sastāv no nekeratinizēta saistepitēlija, kas attīstās no emaljas orgāna, nekeratinizētā rievās epitēlija un keratinizētā smaganu epitēlija, kas veidojas no mutes dobuma epitēlija. Smaganu saistaudu elementi attīstās tieši no mutes dobuma gļotādas saistaudiem, bet dažas šķiedras (dentogingivālās) no zobu aizmetņa.

Pirms zoba šķilšanās, jau noformējušos zoba kroni līdz pat emaljas cementa robežai klāj reducētais emaljas epitēlijs, kas izveidojies, savienojoties ameloblastiem un šūnām no emaljas orgāna intermediālā slāņa (*stratum intermedium*). Šajā agrīnajā zoba šķilšanās stadijā epitēlijs zoba kroņa virsmai piestiprinās ar pusdesmosomu palīdzību. Zoba transgingivālās šķilšanās laikā, reducētais emaljas epitēlijs saplūst ar mutes dobuma epitēliju. Tā ir aizsākusies saistepitēlija veidošanās, kas turpinās līdz zobam ir sasniedzis oklūzijas līniju. Reducētā emaljas epitēlija iekšējā bazālā membrāna novietojas apikāli no emaljas cementa robežas un pēc tam izliecas atpakaļejošā virzienā, lai veidotu savienojuma vietu (ārējo bazālo membrānu) starp reducēto emaljas epitēliju un mutes dobuma gļotādas saistaudiem, kas apņem zoba kroņa daļu. Šīs kuboidālās šūnas, kas attīstījušās no ameloblastiem, sāk saplacināties un pagarināties, un novietojas paralēli zoba virsmai un kļūst līdzīgas saistepitēlija šūnām. Šīs šūnas (postsekretorie ameloblasti) ir zaudējušas spēju dalīties un tālab tās tiek izstumtas uz smaganu rievās pamatni (Lisgarten, 1972). Smaganu rievā sāk veidoties līdz ar zoba šķilšanos. Vienlaicīgi šūnas, kas attīstījušās no intermediālā slāņa, turpina transformēties šūnās, kas līdzīgas saistepitēlija šūnām. Šīs šūnas visas zoba dzīvildzes laikā saglabā proliferatīvo aktivitāti. Šūnas nepārtraukti dalās un migrē koronāli, tādējādi ļaujot saistepitēlijam saglabāt piestiprinājumu pie zoba virsmas un vienmērīgu atjaunošanās procesu (Bartold un Narayanan, 1998).

3.2.2. Smaganu audu uzbūve

Smaganu epitēlijs

Smaganu epitēlijs ir daudzkārtains plakans pārragots epitēlijs un to veido četri slāņi: bazālais slānis (*stratum basale*), dzeloņainais slānis (*stratum spinosum*), graudainais slānis (*stratum granulosum*) un korneālais slānis (*stratum corneum*) (Schroeder un Lisgarten, 1997). Tas ir

ūdenī šķīstošu vielu necaurlaidīgs un ir cieši piestiprināts pie smaganu saistaudu pamatnes. Parasti tas ir 0,2-0,3 mm biezs. Pārsvārā novēro izteiktus epitēlija ieliekumus un izliekumus tā savienošanās vietā ar saistaudiem. Bazālā slāņa šūnas ir salīdzinoši mazas, tās atrodas tuvu bazālai membrānai, kas atdala epitēliju no zemākesošajiem saistaudiem. Bazālās šūnas piestiprinās bazālās membrānas *lamina densa* ar daudzu pusdesmosomu palīdzību. Šīm šūnām piemīt proliferatīvs potenciāls un no tām šajā slānī veidojas jauni keratinocīti, kas tālāk migrē virzienā uz korneālo slāni. Vēl bazālajā slānī atrodamas Langerhansa šūnas, melanocīti un Merķeļa šūnas. Langerhansa šūnas ir imūnkompetentas šūnas, kurām ir liela nozīme imunitātes nodrošināšanā. Šīs specializētās šūnas izstrādā eksogēnos antigēnus un prezentē tos antigēnespecifiskajiem T limfocītiem, tādējādi tos aktivējot (Newcomb un Powel, 1986). Melanocīti attīstās no nervu kores un tāpēc tiem ir raksturīgi gari dendrītiski izaugumi, kas stiepjas starp keratinocītiem. Tie producē ievērojamu daudzumu melanīna, izsaucot brūngana pigmenta veidošanos smaganā. Merķeļa šūnas pārsvārā atrodamas smaganu epitēlija bazālajā slānī un to izcelsme vēl joprojām nav pilnībā noskaidrota. Iespējams, ka tās attīstās no nervu kores vai arī no epitēlija bazālā slāņa šūnām (Ness et al., 1987; Ramieri et al., 1992). Šīm šūnām cieši pievienojas intraepitēliāli esošie nervu gali un tādējādi veidojas Merķeļa šūnu – neirītu kompleksi. Uzskata, ka šie kompleksi darbojas mehanopercepcijā.

Dzeloņainā slāņa šūnas ir diezgan lielas, polihedrālas un savstarpēji veido ciešus kontaktus ar keratīna fibrillu un desmosomu palīdzību, tādējādi nodrošinot stabilu epitēlija struktūru. Graudainā slāņa virspusējās šūnas ir saplacinātas un to citoplazmā parādās keratohialīna granulas. Korneālā slāņa šūnas ir izteikti saplacinātas, bieži bez kodoliem un organellām un savā starpā novietojas ļoti blīvi (Schroeder un Lisgarten, 1997).

Smaganu epitēlija šūnām ir vismazākais proliferācijas potenciāls, salīdzinot ar saistepitēliju un rievās epitēliju, un to var izskaidrot ar ierobežojošo transformējošā augšanas faktora - beta (TGF- β) iedarbību uz epitēliālajām šūnām. Ir pierādīts, ka smaganu epitēlija šūnas ekspresē TGF- β un tā receptoru paaugstinātā daudzumā, salīdzinot ar saistepitēlija un rievās epitēlija šūnām (Lu et al., 1997).

Rievās epitēlijs

Rievās epitēlijs izklāj smaganu rievu cirkulāri ap zobu un tas robežojas ar smaganu epitēliju marginālās smaganas virsotnē un apikāli ar saistepitēliju. Labas mutes dobuma higiēnas

gadījumā novēro seklas smaganu rievās (≤ 3 mm). Veselu smaganu audu gadījumā tas vidēji ir 0,5 mm biezs (Lindhe un Rylander, 1975).

Epitēlija un saistaudu robeža ir viegli izlocīta, bet iekaisuma gadījumā šie epitēlija ieliekumi un izliekumi kļūst izteiktāki. Lai gan rievās epitēlijs ir daudzkārtains epitēlijs, graudainais slānis nav izteikts un parasti pārragošanās pazīmes nenovēro (parakeratinizācija). Izšķir iekšējo un ārējo rievās epitēlija zonu. Iekšējā slāņa šūnām jeb dzeloņainā slāņa šūnām ir tendence samazināties gareniskā virzienā un atrasties paralēli epitēlija virsmai (Schroeder, 1986). Šī slāņa šūnas satur mazāk tonofibrillu un desmosomu salīdzinot ar smaganu epitēlija dzeloņainā slāņa šūnām. Ārējais slānis satur dažādas šūnas ar neskartiem kodoliem un daudz citoplazmas organelām. Šo šūnu formas variē. Ārējā slāņa šūnām parasti novēro hidropisku deģenerāciju.

Iekaisuma gadījumā rievās epitēlijs ir izteikti infiltrēts ar polimorfnukleārajiem (PMN) leukocītiem un limfocītiem (Garant un Mulvihill, 1971). Desmosomas tiek zaudētas un paplašinās intercelulārā telpa. Rievās epitēlijs ir vairāk caurlaidīgs kā saistepitēlijs un tam piemīt paaugstināta lizosomāla aktivitāte (Lisgarten, 1972).

Saistepitēlijs

Veido smaganu audu piesaisti pie zoba struktūrām. Tas atšķiras no smaganu un rievās epitēlija pēc izcelsmes un struktūras. Biezumā tas var būt no dažām šūnām apikāli līdz pat 15-30 šūnām viskoronālākajā daļā, kur tas savienojas ar rievās epitēliju (Schroeder, 1981). Saistepitēliju veido bazālais un suprabazālais slānis. Bazālā slāņa šūnām piemīt izteikti proliferatīvs potenciāls, bet suprabazālā slāņa šūnām mitotisku kapacitāti nenovēro. Ārējās šūnas pagarinās un novietojas paralēli zoba virsmai (Schroeder un Lisgarten, 1997).

Epitēlija un saistaudu savienošanās vieta ir gluda un tikai izteikta iekaisuma gadījumā saistaudos tā ir izlocīta. Viscaur saistepitēlijā redzami PMN leukocīti. Tos atrod arī veselos smaganu audos, bet izteiktu to skaita palielināšanos novēro bakteriālā aplikuma akumulācijas gadījumā un tas ir cieši saistīts ar smaganu iekaisuma attīstību. Intraepiteliāli ir atrodami arī limfocīti, īpaši T limfocīti (Tonetti et al., 1995).

Saistepitēlijs ir izteikti caurlaidīgs ūdenī šķīstošām vielām un tādējādi saistaudos iekļūst baktēriju antigēni, lipopolisaharīdi un enzīmi. Retrogrādi no smaganu rievās caur saistepitēliju plūst smaganu rievās šķidrums, kas ir proteīniem bagāts un veidojies no seruma un

ekstracelulārā šķidruma transudāta. Tas satur antivielas, komplementu, enzīmus un veido antibakteriālu aizsargsistēmu.

Tieši caur saistepitēliju galvenokārt notiek PMN leukocītu migrācija uz smaganu rievu un to var uzskatīt par galveno leukocītu migrācijas ieeju smaganu rievā (Schroeder un Lisgarten, 1997). Šo migrāciju veicina saistepitēlija un saistaudu asinsvadu endotēlija šūnu adhēzijas molekulu ekspresija (Takeuchi et al., 1995).

Saistepitēlijam piemīt augstāks šūnu nomaiņas ātrums, salīdzinot ar smaganu un rievās epitēliju, vidēji 10-50 dienas. To skaidro ar TGF- β receptoriem, kas uz saistepitēlija šūnu virsmas ir daudz mazāk kā smaganu un rievās epitēlijā (Lu et al., 1997). Vēl nomaiņas ātrumu var ietekmēt epidermālais augšanas faktors (EGF), kas tiek ekspresēts vesela saistepitēlija gadījumā augstā līmenī (Chang et al., 1996).

Smaganu epitēlija starpšūnu telpa

Tā kā smaganu epitēliju pārsvarā veido šūnas, starpšūnu telpa aizņem ļoti mazu daļu no kopējās struktūras. Tieši pretēji saistaudiem, epitēlija ekstracelulārā matrice nesatur šķiedras. Visizteiktākās spraugas starp šūnām novērojamas saistepitēlijā, kas nodrošina tā izteikto caurlaidību. Starpšūnu telpa satur glikoproteīnus, taukus, ūdeni un proteoglikānus, kā arī šūnu virsmas molekulas. Visvairāk pētīti ir tieši proteoglikāni, atklājot hialuronānu, dekorīnu, sindekānu uz epiteliocītu virsmas un intercelulārajā telpā. Uz epitēlijšūnu citolemmām izteikti tiek ekspresēti arī glikoproteīni jeb šūnu virsmas integrīni un intercelulārās adhēzijas molekula - 1 (Larjava et al., 1996; Nylander et al., 2003). Smaganu epitēlija intercelulārā matrice nodrošina šūnu piesaisti, adhēziju pie zoba virsmas un bazālās membrānas, kā arī ūdens, dažādu vielu, antigēnu un aplikuma metabolītu transportu cauri epitēlijam.

3.2.3. Smaganu audu funkcijas

Smaganu un rievās epitēlijs pamatā veic aizsardzību pret ārējiem kairinātājiem. Saistepitēlijs ir ārkārtīgi svarīgs smaganu audu veselības nodrošināšanā. Tas ne tikai veido epiteliālo piestiprinājumu pie zoba virsmas, bet arī nodrošina abpusēju vielu transportu starp smaganu saistaudiem un mutes dobumu, jo tas ir caurlaidīgs ūdenī šķīstošām vielām (Page et al., 1997). Epiteliālās šūnas ir metaboliski aktīvas un spēj reaģēt uz ārējiem kairinājumiem, sintezējot dažādus citokīnus, adhēzijas molekulas, augšanas faktorus, enzīmus un antimikrobiālos

peptīdus. Lai aizsargātu smaganu audus no iekaisuma, traucēta bakteriālā aplikumā eliminācijas gadījumā, epiteliocīti sāk izteikti ekspresēt tādus citokīnus kā interleikīns - 1 (IL-1), interleikīns - 8 (IL-8), tumornekrozes faktoru - alfa (TNF- α) un intercelulārās adhēzijas molekulu - 1 (ICAM-1), kas ir iesaistīti neitrofilo leukocītu piesaistē iekaisuma vietai (Wang et al., 1995; Tonetti et al., 1998). Tāpat arī antimikrobiālie peptīdi, ko izstrādā epiteliālās šūnas, veido pirmās līnijas aizsargmehānismu cīņā pret bakteriālo infekciju, neitralizējot daudzus mikroorganismus (Dale, 2002). Tādējādi smaganu epitēlijs ir svarīgs organisma imūnās atbildes reakcijas pret periodonta patogēniem iniciators, regulators un „mediators”.

3.2.4. Patoloģiskās smaganu audu izmaiņas iekaisuma gadījumā

Daudzi procesi šūnās norisinās kā atbildes reakcija uz aplikuma akumulāciju. Smaganu epitēlija šūnas reaģē uz palielinātu aplikuma akumulāciju un pārvada signālus zemākesošajiem saistaudiem. Nav noskaidrots, kādā ceļā notiek šī signalizēšana - vai ar IL-1 un IL-8 palīdzību vai alternatīvā ceļā. Veids, kā šie abi ceļi krustojas, varētu būt realizēts ar dažādu šūnu starpniecību, kas atrodas epitēlijā. Piemēram, Langerhansa šūnu skaits, kas ir antigēnpresentējošās šūnas, iekaisuma gadījumā pieaug. Pēc literatūras datiem, iespējams, ka arī nervu šķiedras, kas inervē epiteliālās šūnas un iet caur saistaudiem, piedalās smaganu iekaisuma attīstībā.

Agrīna iekaisuma gadījumā smaganu audos novēro paaugstinātu TNF- α , TGF- β līmeni un šo citokīnu ietekmē smaganu epitēlija bazālā slāņa šūnas sāk izstrādāt kolagenāzi - 3 (MMP-13), kas izsauc saistaudu matricas degradāciju (Uitto et al., 1998).

Bakteriālā kairinājuma ietekmē epiteliālās šūnas sāk ekspresēt proinflatīvos citokīnus - IL-1 un IL-8. Šie citokīni ir iesaistīti neitrofilo leukocītu hemotaksē uz iekaisuma vietu (Tonetti et al., 1998). Papildus, epiteliālās šūnas, īpaši saistepitēlija šūnas, izstrādā šūnu intercelulārās adhēzijas molekulu - 1 (ICAM-1) un E - selektīnu. Arī šīs adhēzijas molekulas ir iesaistītas neitrofilo leukocītu piesaistē iekaisuma vietai (Pietrzak et al., 1996).

ICAM-1 ekspresija palielinās līdz ar neitrofilo leukocītu migrāciju, lai gan iekaisuma infiltrātam kļūstot ļoti blīvam, šīs molekulas ekspresijas līmenis samazinās (Gemmell et al., 1994). Šajā stadijā ICAM-1 ekspresija samazinās un citi faktori, kas saistīti ar vispārējām patoloģiskām izmaiņām audos, turpina virzīt neitrofilos leukocītus infiltrātā. Saistepitēlija

starpšūnu telpa sāk paplašināties līdz ar IL-1, IL-8, ICAM-1 un E - selektīna ekspresiju, kas veicina iekaisuma eksudāta migrāciju no smaganu saistaudiem uz smaganu rievu. Lai arī saistepitēlijs nodrošina efektīgu barjeru pret baktērijām un to produktiem, tāda agresīva baktērija kā, piemēram, *Porphyromonas gingivalis* var izjaukt tā integritāti un ļauj baktērijām un to produktiem izplatīties subgingivāli.

Progresējošā iekaisuma reakcija izsauc zemākesošo saistaudu matricas degradāciju vispirms ap asinsvadiem un tad blakus rajonos. Viena no pirmajām morfofunkcionālajām pazīmēm, ka hroniska gingivīta ainu nomaina periodontīts, ir apikāla saistepitēlija migrācija gar saknes virsmu ar sekojošu tā pagarināšanos. Tas norisinās tālab, ka agrāk veselie saistaudi saistepitēlija piestiprināšanās vietā zobam iekaisuma rezultātā ir destruēti. Saistepitēlijs migrē dziļāk gar saknes virsmu, lai atrastu neizmainītus saistaudus un veidotu funkcionējošu epiteliālo piestiprinājumu. Šī patoloģiskā procesa rezultātā izveidojas periodontālā kabata (PK).

Lai gan baktērijas ir galvenais periodonta saslimšanu izsaucējs, ir jāņem vērā arī organisma individuālā atbildes reakcija uz bakteriālas dabas kairinājumu.

3.3. Gēnu un transkripcijas faktoru darbības raksturojums

Organisma iekaisuma un imunoloģiskās atbildes reakcijas, kas rodas kā atbildes reakcija uz bakteriālā aplikumā esošajiem gram - negatīvajiem mikroorganismiem, ir ģenētiski kontrolētas (Hart un Kornman, 1997). Atšķirīgās periodontālo saslimšanu izpausmes katram pacientam individuāli skaidrojamas ar ģenētisko dažādību, tādējādi kontrolējot slimības gaitu un tās smaguma pakāpi. Transkripcijas faktori ir gēnu specifiski faktori un tie darbojas kā saite starp ģenētiskajiem un vides faktoriem.

3.3.1. Sonic hedgehog gēna (Shh) raksturojums

Shh ir Hedgehog gēnu ģimenes loceklis (Sonic, Desert un Indian hedgehog). Shh gēns ir svarīgs embriju mofoģenēzes un attīstības laikā (Hammerschmidt et al., 1997; Chiang et al., 1996; Ingham un McMahon, 2001; Varjosalo un Taipale, 2008). Tas nosaka dorsoventrālo centrālās nervu sistēmas (Echelard et al., 1993; Roelink et al., 1994) un anterioposterioro ķermeņa locekļu novietojumu (Riddle et al., 1993). Šim gēnam ir milzīga nozīme epiteliālās

plāksnes morfoloģijā no mutes dobuma līdz pat zarnu traktam, ietekmējot mutes dobuma ektodermas, rīkles endodermas un zarnu endodermas attīstību (Chuong et al., 2000).

Shh piedalās arī kraniofaciālajā morfoģenēzē, veicinot pluripotentu mezenhimālo šūnu tālāku diferenciāciju osteoblastu līnijā un stimulējot tādu gēnu ekspresiju, kas iesaistīti kaulaudu ģenēzē (Nybakken un Perrimon, 2002; Edwards et al., 2005).

3.3.2. Barx homebox 1 gēna (Barx1) raksturojums

Barx1 ir homeobox transkripcijas faktoru Bar apakšklases loceklis. Pētījumi, kas veikti pelēm un cāļiem, apstiprina Barx1 gēna lielo nozīmi zobu un kraniofaciālās mezenhīmas, kas attīstījusies no nervu kores, attīstībā (Tissier-Seta et al., 1995; Barlow et al., 1999). Barx1 gēns tiek ekspresēts mezenhimālajās šūnās molāru zobu attīstības laikā. Aplūkojot molāru zobu aizmetņu attīstību, Barx1 vispirms tiek ekspresēts predentālajā mezenhīmā (ektomezenhīmā), ļoti ierobežotā šūnu grupā. Šī ektomezenhīma ir veidojusies no nervu kores. Vēlāk Barx1 ekspresija turpinās molāru zobu mezenhīmā un tā derivātos, bet nekad incizīvu zobu attīstības laikā (Tissier-Seta et al., 1995; Tucker et al., 1998). Tādējādi, Barx1 ir gēns, kas veicina no predentālās ektomezenhīmas šūnām veidojošos vairāku pauguru zobus. Interesanti, ka šis proteīns tiek arī izteikti ekspresēts kuņģa mezenhīmā tā attīstības laikā pelēm un cāļiem (Tissier-Seta et al., 1995; Kim et al., 2005).

Cilvēka Barx1 gēns ir 91% identisks peles Barx1 gēnam, 89% līdzīgs cāļa gēnam aminoskābju līmenī, 87% peles DNA un 84% cāļa DNA nukleotīdu līmenī (Gould un Walter, 2000). Cilvēku Barx1 tiek ekspresēts dažādos audos kā, piemēram, sirds, sēklinieki, varavīksnene, sejas audos.

3.3.3. Muscle segment homeobox 2 gēna (Msx2) raksturojums

Msx2 homeoproteīni ir kodēti ar transkripcijas faktoru palīdzību. Msx2 gēnu ģimene ietver trīs ļoti atšķirīgus gēnus: Msx1, Msx2, Msx3. Šie homeoproteīni pie DNA spirāles piesaistās atšķirīgi un to transkripcijas spējas ir dažādas. Msx1 un Msx2 tiek plaši ekspresēti dažādos orgānos, īpaši vietās, kur novēro epiteliomezenhimālo audu mijiedarbību (Davidson, 1995). Šo gēnu ekspresiju regulē tādi molekulāri signāli, kā kaula morfoģenētiskais proteīns 2 (Bmp2) un kaula morfoģenētiskais proteīns 4 (Bmp4) (Chen et al., 1996; Bei un Maas, 1998). Novēro izteiktu Msx1 un Msx2 ekspresiju kraniofaciālajos audos, kas skaidri norāda uz šo

gēnu nozīmi mutes, sejas un žokļu attīstībā (Berdal et al., 2008). Msx2 gēns ir ļoti nozīmīgs zobu attīstībā. Zoba aizmetņa veidošanās agrīnajā stadijā Msx2 gēns tiek ekspresēts tikai mezenhīmā un tieši zem zoba plātnītes, tādējādi lokalizējot zoba kārpiņas mezenhīmas un epiteliālā emaljas mezgla atrašanās vietu (MacKenzie et al., 1995). Vēlāk, zoba aizmetņa attīstības laikā, epiteliālās šūnas, kas atrodas zoba aizmetņa augšdaļā, pārstāj proliferēt un izveidojas emaljas mezgls, kas nosaka zoba kroņa formu (McCollum un Sharpe, 2001). Pierādīts, ka Msx2 inducē apoptozi *in vivo* (Takahashi et al., 1998), īpaši zobu attīstības laikā (Jernvall et al., 1998) ar Bmp4 proapoptisko signālmolekulu palīdzību (Graham et al., 1994; Israsena un Kessler, 2002).

3.3.4. Nukleārā transkripcijas faktora kapa beta (NF-κB) raksturojums

Specifisku gēnu ekspresiju kontrolē transkripcijas faktori. Tieši transkripcijas faktori ir tie, kas inducē gēnu transkripciju (Silverman un Maniatis, 2001). Transkripcijas faktori paši ir gēnu produkti. Nukleārais transkripcijas faktors kapa beta ir viens no visvairāk pētītajiem. NF-κB pārstāv Rel/NF-κB ģimeni, kas sastāv no pieciem proteīniem: p65 (RelA), p50, p52, c-Rel and RelB. Visi pieci locekļi ir atbildīgi par DNS piesaisti, dimerizāciju un nukleāro translokāciju. NF-κB ekspresiju aktivē tādi kairinātāji kā dažādi citokīni, augšanas faktori, DNA bojājoši aģenti, nāves receptori. NF-κB var tikt aktivēts arī citoplazmas vai kodola stimulācijas rezultātā. Neaktīvo šūnu citoplazmā NF-κB atrodas latentā stāvoklī un veido kompleksus ar IκB kināzes proteīnu ģimeni (Chen un Greene, 2004). Pēc šo šūnu stimulācijas NF-κB transkripcionālā aktivitāte tiek iedarbināta, NF-κB atbrīvojas no IκB un novēro strauju tā translokāciju kodolā (Li un Karin, 2000). Galvenais aktivācijas ceļš tiek saukts par kanonisko un noris ar inducējošās IκB degradāciju, ļaujot NF-κB dimēriem (parasti p65/p50) nonākt šūnas kodolā un uzsākt gēnu transkripciju (Karin, 1999).

NF-κB uzskata par ļoti svarīgu daudzās imūnās un iekaisuma atbildes reakcijās (Hoffman un Baltimore, 2006). NF-κB regulē tādus atšķirīgus bioloģiskus procesus kā imūno atbildes reakciju, attīstību, šūnu augšanu un to izdzīvošanu (Silverman un Maniatis, 2001; Ghosh et al., 2002).

Hroniska periodontīta skartajos audos izteiktā daudzumā sastopami baktēriju izstrādātie lipopolisaharīdi, iekaisuma citokīni, TNF- α un IL-1 β , kas ir tieši NF- κ B aktivatori (Gemmell et al., 2001; Andreakos et al., 2005; Bascones et al., 2005). Nozīmīgu aktivitātes palielinājumu hroniska periodontīta skartajos smaganu audos novēro NF- κ B dimēriem p50 un p65 (Ambili et al., 2005). NF- κ B regulē daudzu proinflammatoro gēnu ekspresiju, kas ir iesaistīti periodontīta progresijā un attīstībā (Pahl, 1999; Barnes un Karin, 1997; Milward et al., 2007).

NF- κ B aktivācija ir minēta daudzām hroniskām iekaisuma slimībām kā reimatoīdais artrīts, astma, *lichen planus*, pankreatīts, *Helicobacter pylori* inducētais gastrīts. Daudzi sistēmiski stāvokļi, kas bieži tiek novēroti saistībā ar hronisku periodontītu, kā ateroskleroze un otrā tipa diabēts, arī saistīti ar NF- κ B aktivāciju (Taylor et al., 2004; Demmer un Desvarieux, 2006). Patoloģiska NF- κ B regulācija noved pie dažādu slimību, īpaši imūnu slimību un audzēju, attīstības.

3.4. Augšanas faktoru un to receptoru darbības raksturojums

Augšanas faktori ir citokīni, kas regulē saistaudu šūnu migrāciju, proliferāciju, proteīnu un citu ekstracelulārās matricēs komponentu sintēzi. Mērķa šūnu atbilde uz augšanas faktoriem ir atkarīga no to specifisko receptoru ekspresijas. Augšanas faktoram, saistoties ar mērķa šūnas receptoru, tiek izsaukta intracelulāru signālu kaskāde, kas sasniedz kodolu un izraisa bioloģisku atbildi. Augšanas faktoru piesaiste receptoriem ir liganda - receptora mijiedarbība. Šie receptori ir transmembrānas antigēni, kas, piesaistoties augšanas faktora virsmai, izsauc intercelulāru signālu kaskādi, stimulējot šūnu hemotaksi, augšanu, diferenciāciju un ekstracelulārās matricēs produkciju (Parkar et al., 2002). Šī mijiedarbība ir ļoti specifiska un var būt vienkārša, kad viens ligands saistās pie viena šūnas receptora, kā arī kompleksa, kad viens vai vairāki augšanas faktori saistās pie viena vai vairākiem receptoriem. Receptoram ir ekstracelulārā daļa, kas saistās ar augšanas faktoru, un intracelulārā daļa, kas saistās ar signāla transdukcijas sistēmu un aktivē to. Šajā sistēmā ietilpst transkripcijas faktors, kas ir intracelulārs proteīns. Aktivētais transkripcijas faktors nonāk kodolā, kur saistās pie kodola DNS un inducē jauna gēna ekspresiju. Jaunā gēnu ekspresija ir tā, kas izmaina šūnas funkciju.

3.4.1. Nervu augšanas faktora (NGF) un nervu augšanas faktora receptora p75 (NGFRp75) raksturojums

NGF ir glikoproteīns, ko producē ne tikai nervu sistēmas papildus šūnas, kā astrocīti un oligodendrocīti, bet arī fibroblasti, keratinocīti, endotēlija šūnas (Micera et al., 2001; Micera et al., 2006). Tas norāda, ka NGF darbojas arī ārpus nervu sistēmas un tāpēc to dēvē par pleiotrofisku faktoru (Lambiasi et al., 2004). Tas tiek ekspresēts dažādos audos, bet mehānisms, kas regulē NGF sintēzi un atbrīvošanu, vēl nav pilnībā noskaidrots. Audos tas pārsvarā tiek sintezēts prekursoru veidā un tam piemīt izteikti neirotrofiska darbība, stimulējot neirītu augšanu (Fahnestock et al., 2004). NGF stimulē centrālo un perifēro sensoro un simpātisko neironu augšanu, diferenciāciju un izdzīvošanu to attīstības laikā un arī pēc traumām. Tas ir vislabāk raksturotais augšanas faktors no visiem neirotrofiniem. Tam piemīt ne tikai neirāla aktivitāte, bet tas piedalās arī dzīšanas procesos (Lawman et al., 1985), regulē imūnās un iekaisuma atbildes reakcijas caur tiešu un/vai netiešu ietekmi uz imūnkompetentām šūnām. NGF piedalās imūnajā atbildē, stimulējot IL-2 receptora ekspresiju gāļētājšūnās (Thorpe et al., 1987). NGF piemīt arī spēcīga antiapoptotiska darbība, kas tiek veikta caur p75 receptoru, kas atrodas uz šūnu virsmas (Descamps et al., 2001). Tā ekspresija paaugstinās iekaisuma un slimību laikā, kā arī organisma/audu attīstības laikā. Paaugstināts NGF līmenis hroniski iekaisušos audos izskaidrojams ar tā multifunkcionālo dabu.

NGF ir īpašs augšanas faktors, jo salīdzinājumā ar citiem, tam ir divi atšķirīgi receptori un tiem ir dažādas funkcijas. NGF receptori ir: tropomiozīna trkA tirozīna kināzes receptors (p140 trkA NGFR) un p75 pan-neirotrofīna receptors (NGFRp75). p75 ir tumornekrozes faktora receptora ģimenes loceklis un ir zemas-afinitātes neirotrofīna receptors, ko galvenokārt producē makrofāgi. Tā uzdevums ir vadīt šūnu izdzīvošanu, apoptozi, intercelulārās signalizēšanas mehānismus neironālos audos.

p75 receptors kalpo par progenitoro šūnu marķieri mutes dobuma epitēlija audos. Šīs šūnas ir nepieciešamas, lai atjaunotu homeostāzi audos un arī bojāto audu reģenerācijai. Tām piemīt augsts proliferatīvs potenciāls, kas tiek spēcīgi aktivizēts traumu un/vai augšanas faktoru stimulācijas rezultātā. *Hatakeyama et al.* (2007) ziņo, ka NGFRp75 bagātīgi ekspresē smaganu un rievu epitēlija bazālā slāņa šūnas.

3.4.2. Insulīna augšanas faktora receptora - I (IGF-IR) raksturojums

IGF-IR ir tirozīnkināzes receptors un IGF ģimenes loceklis. Tas ir augstas afinitātes receptors, kas piesaistās gan pie insulīna augšanas faktora - I (IGF-I), gan pie insulīna augšanas faktora -

II (IGF-II). Tā uzdevums ir sargāt šūnas no apoptozes, vadīt dažādu audu augšanu un diferenciāciju, piedalīties mitogēnēzē un angiogēnēzē (Baserga et al., 1999; Prisco et al., 1999). IGF-IR gēna ekspresiju ietekmē fizioloģiski un patoloģiski procesi organismā. Ir atrasts, ka badošanās rezultātā paaugstinās IGF-I piesaiste dažādu audu grupām un novēro divas reizes lielāku IGF-IR matricas ribonukleotīda (mRNA) atradni (Thissen et al., 1994). Vēl IGF-IR ekspresiju ietekmē dažādi cirkulējoši un lokāli darbojošies augšanas faktori kā fibroblastu augšanas faktors (FGF) un trombocītu augšanas faktors. FGF palielina IGF-IR aktivitāti divas reizes, bet pats IGF-I samazina IGF-IR transkripcionālo aktivitāti (Thissen et al., 1994; Wener un Katz 2004).

Periodontā IGF sistēma inducē spēcīgu anti-apototisku darbību. IGF-IR regulē periodontālās saites fibroblastu proteīnu sintēzi *in vitro* un veicina brūču dzīšanu *in vivo* (Ivanovski et al., 2001).

3.4.3. Fibroblastu augšanas faktora (FGF) raksturojums

FGF ir ļoti svarīga nozīme audu morfoģenēzē, regulējot šūnu proliferāciju, diferenciāciju un migrāciju. Pieauguša cilvēka organismā šis faktors kontrolē nervu sistēmu, audu reģenerāciju, brūču dzīšanu un audzēju angiogēzi (Givol et al., 2003).

Fibroblastu augšanas faktora receptors - I (FGF-IR) ir augstas afinitātes receptors, kas tiek aktivizēts FGF piesaistes rezultātā. Šis receptors ir viens no četriem tirozīnkināzes receptoriem FGF sistēmā (Hunter, 2000; Schlessinger, 2000). To skaits uz vienas šūnas virsmas var būt no 2000 – 120 000 un šī atšķirība ir atkarīga no šūnu veida.

Arī periodontālo audu ekstracelulārajā matricā, kā arī cementā FGF tiek ekspresēts un savas funkcijas veic lokāli ar FGF-IR palīdzību (Gao et al., 1996).

3.5. Šūnu adhēzijas molekulas un citokīni

3.5.1. Intercelulārās adhēzijas molekulas - 1 (ICAM-1) raksturojums

ICAM-1 pieder imunoglobulīnu ģimenei un ir ekspresēta gan epiteliālajās, gan endoteliālajās šūnās, gan arī uz leukocītu virsmas (Bevilacqua et al., 1989). Tā virza leukocītus uz iekaisuma vietu ar „šūna pie šūnas” adhēzijas palīdzību un ar leukocītu ekstravazāciju caur vaskulārajām endotēlijām, jo atrodas uz citokīnu aktivētā endotēlija virsmas. ICAM-1 ir galvenā adhēzijas

molekula, kas tiek ekspresēta uz endoteliālajām šūnām un tā piesaistās pie $\beta 2$ - integrīniem uz leukocītu virsmas.

ICAM-1 ekspresija ir nozīmīgi paaugstināta iekaisuma vietās un šī molekula ir iesaistīta tādu iekaisuma saslimšanu patogēnēzē kā reimatoīdais artrīts (Nakayamada et al., 2003).

ICAM-1 ekspresiju veicina dažādi patogēni mikroorganismi (Huang, 1996). Pacientiem ar hronisku periodontītu, salīdzinot ar veselu kontroles materiālu, smaganu audu materiālā ir paaugstināts proinflammatoro citokīnu – IL-10, IL-6, TNF- α , IL-8 un adhēzijas molekulas ICAM-1 līmenis. Šo citokīnu un ķemokīnu darbības rezultātā izveidojas blīvs mononukleāras dabas infiltrāts, kas galvenokārt sastāv no T šūnām un makrofāgiem (Graves un Jiang, 1995; Graves un Cochran, 2003).

Ir pētījumi, kas pierāda, ka ICAM-1 tiek ekspresēta uz endotēlija šūnām tuvu saistepitēlijam un šī molekula vada leukocītu migrāciju uz smaganu audiem (Moughal et al., 1992; Nylander et al., 2003). Tomēr strauji progresējoša un izteikta periodontīta gadījumā, novēro leukocītu adhēzijas deficītu. Šī defekta rezultātā PMN leukocīti nespēj migrēt caur smaganu asinsvadu sienīgas endotēlijam (Etzioni et al., 1992).

Tonetti et al. (1998) ziņo, ka periodontīta gadījumā saistepitēlija virsējo slāņu šūnu citolemmās novēro izteiktu ICAM-1 un IL-8 ekspresiju. Vairāki pētījumi uzrāda pozitīvu korelāciju starp ICAM-1 līmeni saistepitēlijā un klīnisko pazīmju intensitāti (Moughal et al., 1992; Gemmell et al., 1994).

3.5.2. Audu iekaisuma marķiera interleikīna - 10 (IL-10) raksturojums

IL-10 ir otrā tipa citokīns, kas ir galvenais IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28 un IL-29 ģimenē (Commins et al., 2008). IL-10 piemīt visizteiktākā pretimūnā un pretiekaisuma aktivitāte no visiem ģimenes locekļiem. Šo citokīnu producē T šūnas (Th2, Tr1, Th1, Th17, CD8+) (McGuirk un Mills, 2002), monocīti, makrofāgi, dendrītiskās šūnas, B šūnas (Fillatreau et al., 2008), granulocīti, ieskaitot eozinofīlus un tuklās šūnas (Ryan et al., 2007). No neimūnām šūnām IL-10 avoti ir keratinocīti, epitēlijšūnas un pat audzēju šūnas (Moore et al., 2001; Williams et al., 2004). IL-10 galvenokārt iedarbojas uz dendrītiskajām šūnām un makrofāgiem un inhibē dedrītisko šūnu diferenciāciju un nobriešanu, ka arī nomāc iekaisuma citokīnu un mediatoru produkciju tajās. IL-10 izteikti samazina tādu iekaisuma citokīnu produkciju kā IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α , kā arī interferona - gamma (IFN- γ) sekrēciju. IL-10

nomāc IL-1 ekspresiju transkripcijas līmenī (Wang et al., 1995). IL-10 ne tikai vājina imūnās atbildes reakciju, bet tieši pretēji - arī aktivizē B limfocītus un pagarina B šūnu dzīvildzi (Cai et al., 1999). IL-10 ar savu darbību nomāc matricē metaloproteināžu un nukleārā faktora kappa beta darbību, tādējādi kavējot audu destruktiju (Garlet et al., 2004; Zhang un Teng, 2006).

IL-10 ekspresija periodontīta skartajos smaganu audos ir būtiska pret bakteriālo kairinājumu, vājinot TNF- α un IFN- γ ietekmi. IL-10 atradnei ir tendence paaugstināties periodontīta gadījumā, salīdzinot ar gingivītu. Individuāla IL-10 līmeņa variācija periodontālajos audos tiek uzskatīta par svarīgu slimības iznākuma noteicēju (Bozkurt et al., 2006; Garlet et al., 2006; Honda et al., 2006). Novērotas arī iedzimtas izmaiņas IL-10 produkcijā polimorfisku izmaiņu rezultātā IL-10 gēna struktūrā (Yilmaz et al., 2005). Ģenētiskais polimorfisms IL-10 gēnā var tikt izmantots kā marķieris, lai noteiktu risku periodontīta attīstībai (Summer et al., 2007).

3.6. Antimikrobiālā aizsardzība

Antimikrobie peptīdi jeb defensīni ir pirmie, kas veic aizsargfunkciju pret bakteriālo infekciju epiteliālajos audos (Weinberg et al., 1998). Tie ir iekšējās imunitātes komponente, kuru uzdevums ir uzturēt audu integritāti. Defensīni ir mazi katjonu cisteīna antimikrobiālie peptīdi (Dale, 2002) un tiem piemīt plaša spektra antimikrobiālā aktivitāte pret gram-pozitīvām un gram-negatīvām baktērijām, sēnītēm un vīrusiem (Diasmond et al., 2001). Defensīni iedarbojas uz mikrobu anjonu virsmu, veidojot poras un pārraujot to membrānas. Defensīni lokalizējas dažādos smaganu audu slāņos un tiem ir atšķirīgas funkcijas dažādās periodonta ekoloģiskās nišās (Dale, 2002). Defensīni tiek iedalīti divās grupās: α defensīni un β defensīni. α - defensīnus ekspresē neitrofilie leukocīti, bet β - defensīnus dažādu orgānu un audu epitēlijšūnas (ādā, plaušās, aizkuņģa dziedzerī, dzemdē, acīs, degunā, mutes dobumā). Ir zināmi vairāk kā trīsdesmit β - defensīni, bet pārsvarā tiek aplūkoti tikai -1, -2, -3, kas tiek plaši ekspresēti mutes dobumā. β D2 un β D3 ekspresiju veicina bakteriālā aplikuma izsaukts kairinājums, kā arī tādi citokīni kā IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , kamēr β D1 epiteliālajos audos izdalās pastāvīgi un neatkarīgi no kairinātāja dabas un intensitātes (Dale, 2002). β D1 ekspresijas līmenis katram indivīdam ir atšķirīgs un ir saistīts ar ģenētiskajām atšķirībām DEFB1 gēna kodēšanā (Saitoh et al., 2004).

Tiek ziņots, ka α un β defensīni lokalizējas dažādās smaganu epitēlija daļās. β - defensīni tiek ekspresēti smaganu un rievu epitēlijā, bet α - defensīni saistepitēlijā. β D1 un β D2 lokalizējas rievu epitēlijā, bet nav atrodams saistepitēlijā, turpretī β D3 tiek atrasts smaganu epitēlija bazālo šūnu slānī (Dale et al., 2001). Šo likumsakarību varētu skaidrot ar to, ka β D3 funkcionē kā savienotājmolekula starp iekšējo un adaptīvo imūno sistēmu, starp smaganu epitēliju un saistaudiem (Lu et al., 2005; Hosokawa et al., 2006). Periodontam patogēnās baktērijas kā *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* un *Fusobacterium nucleatum* inducē β - defensīnu ekspresiju mutes dobuma keratinocītos (Vankeerberghen et al., 2005; Ouhara et al., 2006; Taguchi un Imai, 2006).

3.7. Apoptozes procesa raksturojums

Apoptoze ir programmēta šūnu nāve, kas ir nepieciešama organisma attīstības un funkcionēšanas laikā, likvidējot nevēlamas un kaitīgas šūnas (Lawen, 2003). Apoptoze ir dabīgi noritošs process un atšķirībā no nekrozes, šūnu komponentu sabrukums tiek kontrolēts, radušies galaprodukti starpšūnu telpā nenonāk un akūtu iekaisuma atbildes reakciju nenovēro. Apoptotiskās šūnas saraujas un zaudē kontaktus ar blakus šūnām. Novēro hromatīna kondensāciju un DNS sadalīšanos 180 – 200 bp lielos fragmentos (Vaux un Strasser, 1996; Nagata, 2000). Apoptotiskos ķermenīšus fagocitē makrofāgi un tādējādi tiek uzturēta homeostāze un radīts līdzsvars starp šūnu proliferāciju un apoptozi. Apoptozes procesu var ierosināt šūnu augšana faktoru deficīts (Hock et al., 2001) kā arī nāves receptoru parādīšanās uz šūnu virsmas (Osella-Abate et al., 2001). Iekaisuma izsauktajā audu bojājumā lielā skaitā atrod PMN leukocītus, kas hemotakses ceļā nonāk iekaisuma rajonā un tieši apoptoze ir viens no ierobežojošajiem mehānismiem kā organisms spēj cīnīties pret neitrofilo leukocītu pārprodukciju (Savill, 1997). Apoptozes process ir nepieciešams, lai nervu un imūnās sistēmas darbībā nerastos traucējumi, kā arī, lai kaitīgās vīrusu inficētās šūnas un audzēju šūnas tiktu iznīcinātas. Pētījumi liecina, ka šūnu apoptozi vada cisteīna proteāzes jeb kaspāzes (Los et al., 1999; Fischer et al., 2003). Hroniska periodontīta skartos audos, atšķirībā no veselu smaganu audiem, novēro paaugstinātu kaspāžu aktivitāti, kas ir spēcīgs apoptozes riska rādītājs (Pycroft et al., 2002; Alikhani et al., 2003; Bantel et al., 2005).

Kā viens no noteicošiem faktoriem periodontālo audu destrūkcijā ir šūnu apoptoze un to izsauc specifiskas patogēnas baktērijas (Bascones et al., 2004). Pacienti ar hronisku

periodontītu apototisko šūnu skaits sastāda apmēram 10% no kopējās šūnu populācijas, skarot gan epiteliālās, gan fibroblastu šūnas, gan arī iekaisuma šūnas (Koulouri et al., 1999; Wang et al., 1999; Jarnbring et al., 2002). *Gamonal et al.* (2001) ziņo, ka smaganu audos lielākā daļa apototisko šūnu, kurās novēro DNS fragmentāciju, ir tieši neitrofilie leukocīti. To skaidro ar PMN leukocītu spēju nodrošināt nepārtrauktu aizsardzību pret bakteriālas dabas kairinājumu smaganu audos (Tonetti et al., 1998). Hroniska periodontīta pacientiem tieši smaganu rievās visapikālākajā daļā novērojama visizteiktākā epiteliālo šūnu apoptoze, kas rodas kā atbildes reakcija uz jau nobriedušu subgingivālā aplikuma slāni. Šūnu apoptoze ir svarīga iekaisuma atbildes reakcijā uz hronisku bakteriālo kairinājumu un *Tonetti et al.* (1998) ziņo par augstu apototisko šūnu koncentrāciju iekaisuma infiltrātā. Apototiskās šūnas ekspresē proteīnu p53. Apoptozi smaganu audu materiālā aplūko pēc morfoloģiskajiem kritērijiem, kā arī plaši pielietojot TUNEL tehniku (terminal deoxynucleotidyl transferase – mediated dUTP nick – end labeling), kas balstās uz DNA fragmentācijas noteikšanu. Hroniska periodontīta gadījumā tiek atrasts palielināts skaits TUNEL pozitīvu iekaisumu šūnu (*Gamonal et al.*, 2001).

4. Materiāli un metodes

4.1. Pētījuma materiāls

4.1.1. Epidemioloģiskā pētījuma materiāls

Šis pētījums tika veikts 2005. gadā, apskatot vecuma grupas 35-44 gadi un 65-74 gadi, kas atbilst Pasaules Veselības organizācijas iedzīvotāju vecuma grupu sadalījumam. Šo vecuma grupu paraugkopas izveidošanai tika izmantoti Centrālās statistikas pārvaldes dati par iedzīvotāju skaita, vecuma un dzimuma struktūras sadalījumu Latvijā, apskatei izvēloties 7 lielākās Latvijas pilsētas (Rīga, Daugavpils, Jelgava, Jūrmala, Liepāja, Rēzekne, Ventspils) un to atbilstošos rajonus. Pētījumā apskatīto iedzīvotāju vecuma un dzimuma struktūra izraudzīta atbilstoši Latvijas iedzīvotāju vecuma un dzimuma struktūrai šajās teritorijās. Vecuma grupā 35-44 tika izvēlēts apskatīt attiecīgi 361 cilvēku, bet vecuma grupā 65-74 gadi - 246 cilvēkus. Katrā pilsētā un rajonā, lai veiktu apskati, tika izraudzīta veselības aprūpes iestāde vai citu iestāžu medicīniskais kabinets, izmantojot nejaušo atlasī. Attiecīgās pilsētas vai rajona iedzīvotāji, tika apskatīti pēc nejaušības principa, ņemot vērā nepieciešamo apskatei cilvēku skaitu pa vecuma grupām, līdz katrā vecuma grupā nepieciešamais apskatīto skaits tika

sasniegts. Pētījumā tika iekļauti pacienti, kas deva atļauju. Šis pētījums veikts ar Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejas atļauju (skatīt pielikumā).

Apskati veica septiņi zobārstniecības speciālisti, tai skaitā arī autore. Pirms datu vākšanas tika veikta speciālistu kalibrācija, nosakot *Cohen kappa* koeficientu. Speciālisti, kuru *Cohen kappa* koeficients nepārsniedza 0,60, apskatē nepiedalījās.

Apskati veica izmantojot zobārstniecības spoguļus, neasas zondes un periodonta zondes. Apskate tika veikta pēc iespējas vienādos apstākļos, izmantojot optiskās šķiedras gaismas lampu (ROR Int Aps), lai gaismas stars būtu vienāds. Iegūtos datus reģistrēja klīniskās apskates kartēs (WHO Oral Health Assessment Form) kodētā veidā.

4.1.2. Morfoloģiskā pētījuma materiāls

Pētījumā tika iekļauti pacienti, kas ārstējās RSU Stomatoloģijas institūta periodontoloģijas nodaļā un kuru veselības stāvoklis, pēc medicīniskās anamnēzes datiem, ir labs. Tika izveidotas gadījuma un kontroles grupas jeb hroniskā periodontīta un kontroles grupa. Tika izstrādāti iekļaušanas un izslēgšanas kritēriji gan hroniskā periodontīta (1. tabula), gan kontroles grupās (2. tabula). Diagnoze – hronisks periodontīts tika uzstādīta, vadoties pēc klīniskajiem un rentgenoloģiskajiem atradumiem. Hroniskā periodontīta grupā tika iekļauti pacienti, kuriem pēc konservatīvās periodontālās ārstēšanas periodontālo kabatu (PK) dziļums nebija samazinājies un bija nepieciešams veikt ķirurģisku ārstēšanu to samazināšanai. Kontroles grupā tika iekļauti pacienti, kuriem tika veikta klīniskā zoba kroņa pagarināšanas operācija lai uzlabotu estētiku zobu protezēšanas nolūkos.

1. tabula. Iekļaušanas un izslēgšanas kritēriji hroniskā periodontīta grupā.

Iekļaušanas kritēriji	Izslēgšanas kritēriji
-----------------------	-----------------------

• vīrieši un sievietes, kuriem nepieciešama ķirurģiska periodontāla ārstēšana periodontālo kabatu samazināšanai; • vispārējās veselības stāvoklis labs (pacienti, kuri neslimo ar hroniskām vispārējām saslimšanām, cukura diabētu, sirds-asinsvadu saslimšanām, hepatītu, epilepsiju, onkoloģiskām slimībām un nesmēķē); • mutes dobuma higiēna laba; • smaganu asiņošanu pēc periodontālās zondēšanas atsevišķiem zobiem novēro; • periodontālās kabatas $\geq 5\text{mm}$ konstatē; • pietūpzinājuma zudumu novēro; • rentgenoloģiski kaula zudumu konstatē.	• vispārējā veselība: - grūtniecība; - hroniskas vispārējas saslimšanas; - cukura diabēts; - sirds-asinsvadu saslimšanas; - epilepsija; - onkoloģiskas saslimšanas; - smēķēšana. • periodonta stāvoklis: - mutes dobuma higiēna slikta; - zoba kustīgums II, III, IV pakāpē; - furkācijas atvērums II, III pakāpē; - kaula balsts zobam $\geq 2/3$ no sakņu garuma.
--	--

2. tabula. Iekļaušanas un izslēgšanas kritēriji kontroles grupā.

Iekļaušanas kritēriji	Izslēgšanas kritēriji
-----------------------	-----------------------

• vīrieši un sievietes, lai veiktu klīniskā zoba kroņa pagarināšanu; • vispārējās veselības stāvoklis labs (pacienti, kuri neslimo ar hroniskām vispārējām saslimšanām, cukura diabētu, sirds-asinsvadu saslimšanām, hepatītu, epilepsiju, onkoloģiskām slimībām un nesmēķē); • mutes dobuma higiēna laba; • smaganu asiņošanu pēc periodontālās zondēšanas nenovēro; • periodontālās kabatas zondējot nekonstatē; • zobu kustīgumu nenovēro; • kaula zudumu nenovēro (kaula augstums rentgenoloģiski 1,5-2 mm no emaljas cementa robežas).	• vispārējā veselība: - grūtniecība; - hroniskas vispārējas saslimšanas; - cukura diabēts, - sirds-asinsvadu saslimšanas; - epilepsija; - onkoloģiskas saslimšanas; - smēķēšana. • periodonta stāvoklis: - mutes dobuma higiēna slikta; - periodontālās kabatas dziļākas par 3 mm; - zoba kustīgums; - furkācijas atvērums; - rentgenoloģiski novēro kaula zudumu.
---	---

Kritērijiem atbilda 15 hroniskā periodontīta pacienti (3. tabula) un 10 kontroles grupas pacienti (4. tabula). Pētījumā piedalījās 8 vīrieši vecumā no 26 līdz 49 gadiem un 17 sievietes vecumā no 29 līdz 53 gadiem.

Periodontālās lēveroperācijas laikā, pirms mukoperiostālā lēvera atslāņošanas, ap zobiem tika veikta paramargināla un intrakrevikulāra incīzija un nevajadzīgais audu materiāls savākts tālākai morfoloģiskai apstrādei. Smaganu audu materiālā tika aplūkots smaganu un rievās epitēlijs. Smaganu audu materiāls pētījumā izmantots ar Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejas atļauju (skatīt pielikumā). No pacientiem saņemta rakstiska piekrišana materiāla izmantošanai pētījumā.

3. tabula. Pētījumā iekļauto 15 hroniskā periodontīta pacientu apraksts.

Nr.	Vecums	Dzimums	Iegūšanas veids
-----	--------	---------	-----------------

1.	34	S	operācija PK samazināšanai
2.	35	S	operācija PK samazināšanai
3.	37	S	operācija PK samazināšanai
4.	38	S	operācija PK samazināšanai
5.	41	V	operācija PK samazināšanai
6.	42	V	operācija PK samazināšanai
7.	44	S	operācija PK samazināšanai
8.	46	V	operācija PK samazināšanai
9.	48	V	operācija PK samazināšanai
10.	49	V	operācija PK samazināšanai
11.	49	V	operācija PK samazināšanai
12.	51	S	operācija PK samazināšanai
13.	51	S	operācija PK samazināšanai
14.	51	S	operācija PK samazināšanai
15.	53	S	operācija PK samazināšanai

V - vīrietis, S - sieviete, PK – periodontālā kabata.

4. tabula. Pētījumā iekļauto 10 kontroles pacientu apraksts.

Nr.	Vecums	Dzimums	Iegūšanas veids
1.	26	V	operācija klīniskā kroņa pagarināšanai
2.	29	S	operācija klīniskā kroņa pagarināšanai
3.	32	S	operācija klīniskā kroņa pagarināšanai
4.	35	S	operācija klīniskā kroņa pagarināšanai
5.	36	S	operācija klīniskā kroņa pagarināšanai
6.	37	S	operācija klīniskā kroņa pagarināšanai
7.	37	S	operācija klīniskā kroņa pagarināšanai
8.	38	V	operācija klīniskā kroņa pagarināšanai
9.	45	S	operācija klīniskā kroņa pagarināšanai
10.	50	S	operācija klīniskā kroņa pagarināšanai

V - vīrietis, S - sieviete.

4.2. Pētījumu metodes

4.2.1. Epidemioloģiskā pētījuma metodes

4.2.1.1. Community Periodontal Index noteikšana (CPI)

Periodonta stāvokļa novērtēšanai izmantojām CPI (*Community Periodontal Index*) indeksu, kas ir pielietojams epidemioloģiskajos pētījumos, lai novērtētu periodontālās veselības rādītājus populācijā. CPI tika noteikts trijos augšžokļa un trijos apakšžokļa rajonos (sekstantos), izmeklējot dd 17, 16, 11, 26, 27 augšžoklī un dd 47, 46, 31, 36, 37 apakšžoklī un katrā sekstantā reģistrēja augstāko mērījumu (5. tabula). Mērījumus veica izmantojot speciālu graduēto zondi.

5. tabula. Community Periodontal Index (CPI) rādītāji.

0	Nenovēro smaganu asiņošanu pēc zondēšanas, zobakmeni, periodontālās kabatas
---	---

1	Novēro asiņošanu pēc zondēšanas
2	Virssmaganu vai zemsmaganu zobakmens
3	Periodontālā kabata 4-5 mm
4	Periodontālā kabata 6 un vairāk mm
X	Izslēgts sekstants (sekstantā mazāk kā 2 zobi)
9	Nav atzīmēts

4.2.1.2. Piestiprinājuma zuduma noteikšana

Pirmo reizi Latvijā tika noteikts arī smaganu piestiprinājuma zudums, kas liecina par periodonta patoloģijas smaguma pakāpi. Arī šo indeksu ieviesusi PVO (Pasaules Veselības organizācija) periodontālā stāvokļa novērtēšanai epidemioloģiskajos pētījumos. Tas tāpat tika noteikts trijos augšžokļa un trijos apakšžokļa rajonos (sekstantos). Mērījumus veica izmantojot graduēto zondi un fiksējot lielāko mērījumu. Piestiprinājuma zudumu nosaka mērot attālumu no emaljas cementa robežas līdz periodontālās kabatas pamatnei. Tas tika reģistrēts šādi: piestiprinājuma zudums 0-3 mm; 4-5 mm; 6-8 mm; 9-11 mm; 12 un vairāk mm. Tika noteikts vidējais un procentuālais piestiprinājuma zudums katram indivīdam katrā sekstantā.

4.2.1.3. Zaudēto zobu skaita noteikšana

Izmeklēto pacientu datus reģistrēja klīniskās apskates kartēs, kur tika atzīmēts arī zaudēto zobu skaits. Zaudēto zobu skaita iedalījums bija šāds: neviena zaudēta zoba; līdz 4 zaudētiem zobiem, 5 līdz 8 zaudēti zobi, 9 līdz 12 zaudēti zobi, vairāk kā 12 zaudēti zobi.

4.2.2. Morfoloģiskā pētījuma metodes un reaktīvi

4.2.2.1. Morfoloģiskā metode

Savāktu pacientu un kontroles grupas audu materiālu morfofunkcionālo pētījumu nolūkā tālāk histoloģiski apstrādāja RSU Anatomijas un antropoloģijas institūtā. To 24 stundas fiksēja Stefanini šķīdumā, vēlāk atūdeņoja un ieguldīja parafīnā. No audu materiāla gatavoja 5-8 μm biezus riezumus, kurus krāsoja ar hematoksilīnu un eozīnu pārskata gaismas mikroskopijai (Лилли, 1969).

4.2.2.2. Biotīna un streptovīdīna imūnhistoķīmiskā metode

Smaganu audu materiālu 4-8 stundas fiksēja maisījumā, kurš saturēja 2% formaldehīda un 0,2% pikrīnskābes 0,1 M fosfātu buferi (pH 7,2). Sekoja 12 stundu materiāla skalošana tiroīda buferī, kas saturēja 10% saharozi. Vēlāk audus ieguldināja parafīnā un ar mikrotomu sagrieza 3-5 µm biezumā. Griezumus skaloja fosfātu buferšķīdumā 10 minūtes. Pēc tam griezumus 20 minūtes inkubēja ar kazas 10% serumu, lai mazinātu fona nokrāsošanos, tad 60 minūtes turpināja inkubāciju ar primārām antivielām mitrā kamerā istabas temperatūrā (Hsu et al., 1981). Griezumus skaloja ar fosfātu buferšķīdumu un 30 minūtes inkubēja ar sekundāro antivielu – DAKO LSAB + KIT peroxidase (EURO-DIAGNOSTICA, Dako, Dānija). Griezumus gatavoja, lai ar biotīna un streptavidīna imūnhistoķīmisko metodi noteiktu Shh, Barx1, Msx2, NF-κB, NGF, NGFRp75, IGF-IR, FGF, ICAM-1, IL-10, β-defensīnus (6. tabula).

6. tabula. Ar biotīna un streptavidīna imūnhistoķīmisko metodi noteiktie lielumi.

Faktors	Iegūts	Kods	Darba atšķaidījums	Avots
Shh	pele	AF 464	1:60	<i>R&D Systems, Vācija</i>
Barx1	trusis	ab 26156	1:250	<i>Abcam, UK</i>
Msx2	pele	ab 22601	1:400	<i>Abcam, UK</i>
NF-κB	trusis	ab 7971	1:100	<i>Abcam, UK</i>
NGF	trusis	ab 6199	1:500	<i>Abcam, UK</i>
NGFRp75	trusis	M3507	1:150	<i>DakoCytomation, Dānija</i>
IGF-IR	kaza	AF-305	1:100	<i>R&D Systems, Vācija</i>
FGF	trusis	ab 10646	1:100	<i>Abcam, UK</i>
ICAM- 1	kaza	BBA17	1: 1000	<i>R&D Systems, Vācija</i>
IL-10	trusis	ab 34843	1: 400	<i>Abcam, UK</i>
β-defensin	kaza	AF 2758	1:100	<i>R&D Systems, Vācija</i>

Imūnhistoķīmiski noteikto rādītāju relatīvā biežuma novērtēšanai tika pielietota literatūrā plaši pielietotā puskvantitatīvā skaitīšanas metode (Tobin et al., 1990; Pilmane et al., 1998). Faktoru ekspresijas biežumu analizēja viena griezuma trīs redzes laukos (7. tabula).

7. tabula. Puskvantitatīvās metodes relatīvā biežuma apzīmēšana.

-	Pozitīvas struktūras redzes laukā neatrod
0/+	Ļoti retas pozitīvas struktūras redzes laukā
+	Neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā
++	Vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā
+++	Daudz pozitīvu struktūru redzes laukā
++++	Ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā

4.2.2.3. TUNEL metode apoptozes noteikšanai

TUNEL metodē tika izmantots apoptozes komplekts: *In Situ Cell Death Detection*, POD Cat. no.1684871, Roche Diagnostics DNase I (Roche) pēc *Negoescu et al.* (1998) gadā aprakstītās tehnikas. Kriogriezumus 10 minūtes turēja istabas temperatūrā fosfāta bufera šķīdumā (PBS), kas saturēja 0,25% TritonX-100. Endogēnās peroksidāzes aktivitātes bloķēšanai griezumus uz 30 minūtēm ievietoja 50 ml PBS+500μl 30% H₂O₂ un novietoja uz vibratora. Pēc tam griezumus trīs reizes pa 5 minūtēm skaloja fosfātu bufera šķīdumā. Pēc skalošanas preparātus ievietoja citrāta buferī un 10 minūtes karsēja mikroviļņu krāsnī pie 700 W, kam sekoja 5 minūšu skalošana ar PBS. Sekoja griezumu atdzesēšana destilētā ūdenī, krāsošana ar deoksinukleotidāzi (DNase I) 1mg/ml 10 minūtes, lai ierosinātu saišu pārrāvumu, atkārtota skalošana fosfātu buferī, bloķēšana ar 0,1% vērša seruma albumīnu un fosfātu bufera šķīdumu. Griezumu inkubēja ar TUNEL mix (Tdt-T gala deoksinukleotīdtransferāze un digoksigēna iezīmēti nukleotīdi) 37° C mitrā kamerā 60 minūtes. Peroksidāzes iezīmēšanai griezumi tika noklāti ar diaminobenzidīna hromogēnu (Vector, kataloga No SK 4100) uz 7 minūtēm, pēc tam atkārtoti skaloti destilētā ūdenī un kodoli krāsoti ar Harris hematoksilīnu 20 sekundes.

Šūnu skaitīšanai tika izvēlēti nejauši 3 redzes lauki, kas savā starpā nepārklājās.

4.2.3. Datu apstrādes statistiskās metodes

4.2.3.1. Epidemioloģiskais pētījums

Datu statistiskā analīzē izmantotas aprakstošās un analītiskās statistikas metodes. Tika veikta statistiskā datu analīze, nosakot vidējo sekstantu skaitu un CPI procentuālu sadalījumu pa sekstantiem vecuma grupā 35-44 un 65-74 gadi, kā arī vidējo CPI katrā vecuma grupā. Statistiski tika aprēķināts vidējais sekstantu skaits katrā smaganu piestiprinājuma zuduma pakāpē, kā arī procentuālais piestiprinājuma zuduma sadalījums pa sekstantiem 35-44 un 65-74 gadu vecuma grupā. Noteikts procentuālais zaudēto zobu un vidējais esošo zobu skaits abās vecuma grupās. CPI, piestiprinājuma zuduma, zaudēto zobu skaita procentuālo sadalījumu noteica, izmantojot biežuma tabulas. Procentuālā sadalījuma atšķirību statistisko ticamību noteica, izmantojot Pearson hī kvadrāta testu. CPI sadalījuma pa sekstantiem un piestiprinājuma zuduma sadalījuma aprakstīšanai izmantoja centrālās tendences rādītājus, vidējo aritmētisko un izkliedes rādītājus (standartnovirzi un standartklūdu). Vidējo lielumu salīdzināšanai tika izmantots Stjudenta t tests. Statistiskajā analīzē izmantojām divu vai

vairāku izlašu salīdzināšanas matemātiskās metodes, kas ļāva salīdzināt dažādas pacientu grupas, kuras atšķir kāda konkrēta aprakstoša pazīme (Altman, 1999; Rosner, 2000). Par atšķirību statistiskās ticamības līmeni pieņēma 5% ticamības līmeni, t.i., kļūdas varbūtība nepārsniedza 5%. Statistiskā datu analīze tika veikta, izmantojot datu statistiskās apstrādes standarta programmu – SPSS-PC 9,05 (SPSS Inc., USA).

4.2.3.2. Morfoloģiskais pētījums

Datu statistiskā analīzē izmantotas aprakstošās un analītiskās statistikas metodes. Gēnu (Shh, Barx1, Msx2), transkripcijas faktora – kappa beta (NF- κ B), augšanas faktoru un to receptoru (NGF, NGFRp75, IGF-IR, FGF) kā arī ICAM-1, IL-10, β defensīna un apoptozes procentuālo sadalījumu kontroles un hroniskā periodontīta grupās noteica, izmantojot biežuma tabulas.

Rādītāju sastopamības atšķirības novērtēšanai izmantoja neparametriskos datu analīzes testus, proti, Mann - Whitney testu (Mann un Whitney, 1947). Apoptozes rādītāju aprakstīšanai izmantoja centrālās tendences rādītājus, vidējo aritmētisko un izkliedes rādītājus (standartnovirzi un standartklūdu). Divu grupu salīdzināšanai izmantojām neatkarīgu izlašu Stjudenta t testu. Statistiskajā analīzē izmantojām divu vai vairāku izlašu salīdzināšanas matemātiskās metodes, kas ļāva salīdzināt dažādas pacientu grupas, kuras atšķir kāda konkrēta aprakstoša pazīme. Par atšķirību statistiskās ticamības līmeni pieņēma 5% ticamības līmeni, t.i., kļūdas varbūtība nepārsniedza 5%. Statistiskā analīze tiek veikta ar SPSS-PC 9,05 (SPSS Inc., USA) datorprogrammas palīdzību.

5. Rezultāti

5.1. Epidemioloģiskā pētījuma rezultāti

5.1.1. Community Periodontal Index atradne

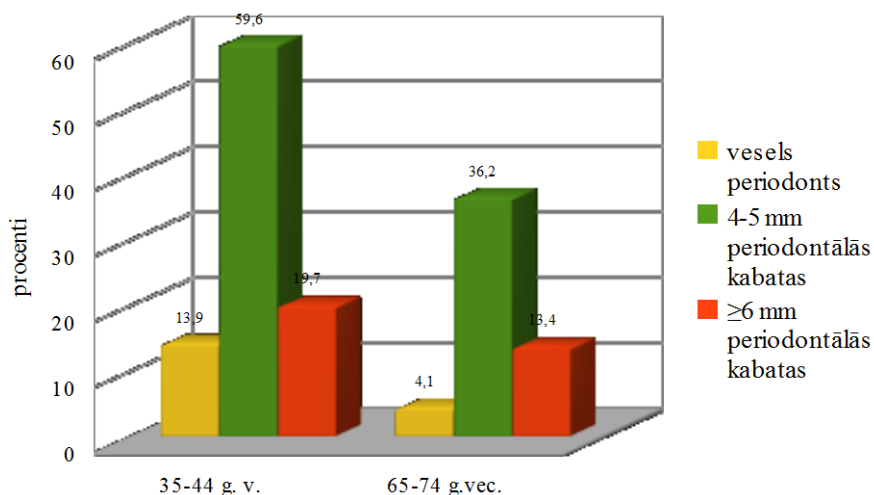
Analizējot CPI indeksu, 2005. gadā 35-44 gadu vecuma grupā izmeklēto pacientu ar veselu periodontu bija 13,9%, ar periodontālām kabatām 4-5 mm – 59,6%, ar periodontālām kabatām 6 mm un vairāk – 19,7%.

65-74 gadu vecuma grupā pacientu ar veselu periodontu bija 4,1%, ar periodontālām kabatām 4-5 mm – 36,2%, ar periodontālām kabatām 6 mm un vairāk – 13,4% (1. attēls).

Rezultāti bija statistiski ticami ($p \leq 0,05$): vesels periodonts ($p=0,001$), periodontālās kabatas 4-5 mm ($p=0,000$) un periodontālās kabatas 6 mm un vairāk ($p=0,000$).

Vidējais CPI rādītājs vecuma grupā 35-44 gadi bija $2,8 \pm 0,84$, bet vecuma grupā 65-74 gadi $3,5 \pm 2,29$.

1. attēls. Periodonta stāvoklis Latvijas iedzīvotājiem 2005. gadā.



Vecuma grupā 35-44 gadi vidējais sekstantu skaits ar veselu periodontu (CPI 0) bija 0,2, smaganu asiņošanu (CPI 1) – 0,3, zobakmeni (CPI 2) – 1,9, periodontālām kabatām 4-5 mm (CPI 3) – 1,5 un periodontālām kabatām 6 mm un vairāk (CPI 4) – 0,6.

Vecuma grupā 65-74 gadi CPI 0 (vesels periodonts) bija 0,05, CPI 1 (asiņošana) – 0,02, CPI 2 (zobakmens) – 0,8, CPI 3 (periodontālās kabatas 4-5mm) – 0,5, CPI 4 (periodontālās kabatas 6mm un vairāk) – 0,1 (8. tabula).

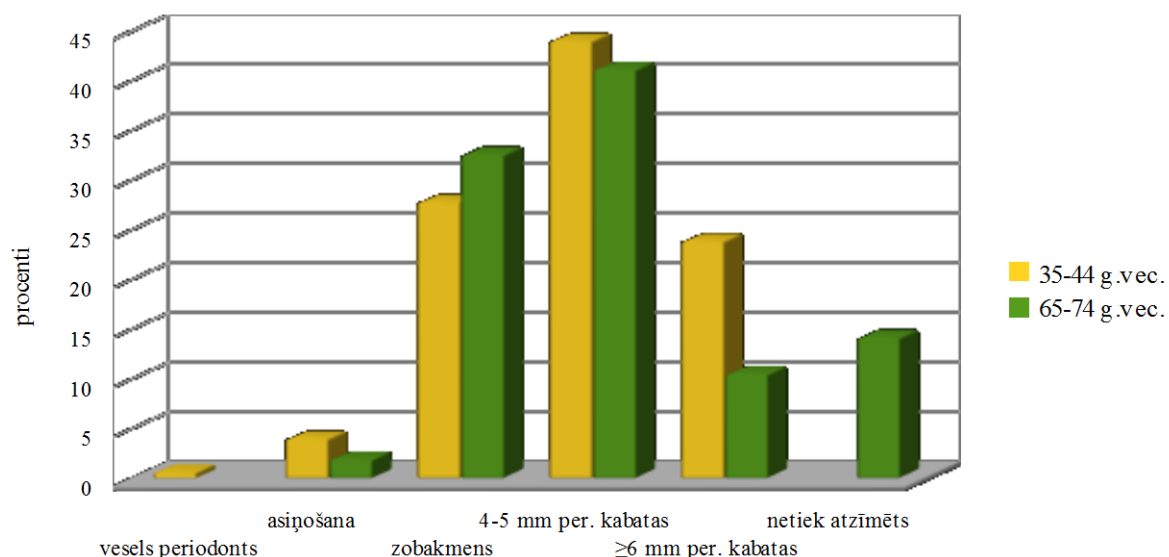
8. tabula. Vidējais sekstantu skaits ar CPI sadalījumu un standarta novirzi Latvijas iedzīvotājiem 2005. gadā.

Vecums	Veseli	Asiņo	Zobakmens	4-5mm per. kabata	≥6mm per. kabata	Netiek atzīmēts
35-44	0,2±0,95	0,3±0,92	1,9±1,79	1,5±1,6	0,6±1,39	0,6±1,00
65-74	0,05±0,4	0,02±0,16	0,8±1,28	0,5±1,00	0,1±0,46	0,6±1,16

Aplūkojot procentuālo CPI sadalījumu pa sekstantiem, 35-44 gadu vecuma grupā veselo (CPI 0) bija 0,5%, smaganu asiņošanu (CPI 1) novēroja 3,9%, zobakmeni (CPI 2) - 27,7%, periodontālās kabatas 4-5 mm (CPI 3) novēroja 43,9%, 6 mm un dziļākas periodontālās kabatas (CPI 4) – 23,8%.

65-74 gadu vecuma grupā veselo (CPI 0) nebija – 0%, smaganu asiņošana (CPI 1) tika novērota – 1,8%, zobakmens bija (CPI 2) – 32,5%, 4-5 mm periodontālās kabatas (CPI 3) – 41,1%, 6mm un dziļākas smaganu kabatas (CPI 4) – 10,4%. Sakarā ar izteiktu zobu zaudējumu netika atzīmēti 14,1% sekstantu (2. attēls). Šī atšķirība bija statistiski nozīmīga ($p=0,000$).

2. attēls. Procentuālais CPI sadalījums pa sekstantiem Latvijas iedzīvotājiem 2005. gadā.



5.1.2. Piestiprinājuma zuduma atradne

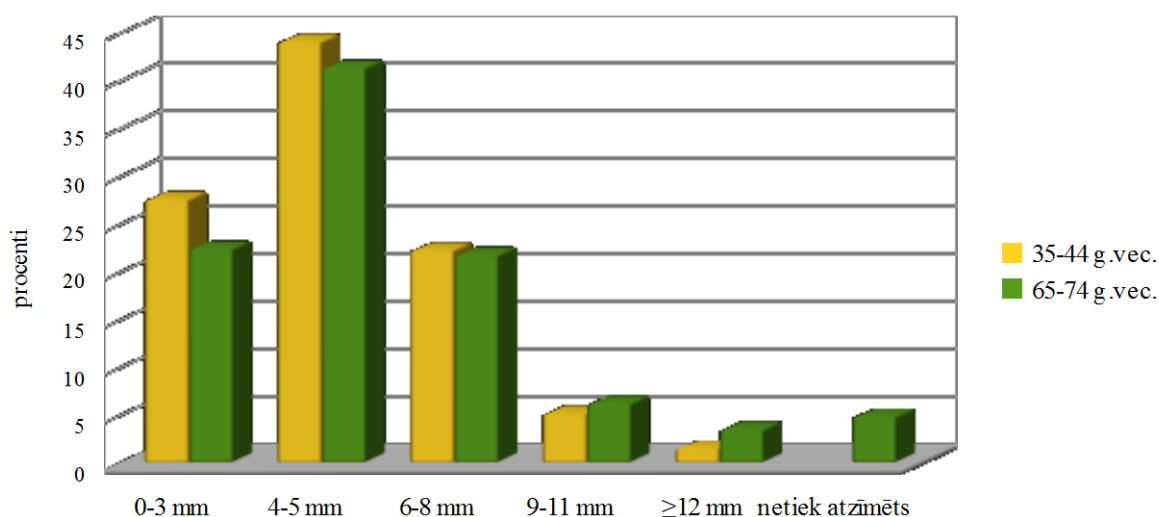
Vecuma grupā 35-44 gadi vidējais sekstantu skaits ar piestiprinājuma zudumu 0-3 mm bija 2,4, 4-5 mm – 1,6, 6-8 mm – 0,6, 9-11mm – 0,1, 12 mm un vairāk – 0,01. 65-74 gadu vecuma grupā vidējais sekstantu skaits ar piestiprinājuma zudumu 0-3 mm bija 0,6, 4-5 mm – 0,6; 6-8 mm – 0,2, 9-11 mm – 0,04, 12 mm un vairāk – 0,03 (9. tabula).

9. tabula. Vidējais sekstantu skaits ar piestiprinājuma zudumu un standarta novirzi Latvijas iedzīvotājiem 2005. gadā.

Vecums	0-3 mm	4-5 mm	6-8 mm	9-11 mm	≥12 mm	Netiek atzīmēts
35-44	2,4±2,07	1,6±1,63	0,6±1,35	0,1±0,47	0,01±0,14	0,6±1,00
65-74	0,6±1,25	0,6±1,03	0,2±0,66	0,04±0,28	0,03±0,19	0,6±1,16

Procentuāli apskatot smaganu piestiprinājuma zudumu pa sekstantiem 35-44 gadu vecuma grupā 0-3 mm bija 27,4%, 4-5 mm – 43,9%, 6-8 mm – 22,1%, 9-11 mm – 5,0%, 12 mm un vairāk – 1,4%. Savukārt 65-74 gadu vecuma grupā 0-3mm bija 22,9%, 4-5mm – 41,2%, 6-8mm – 21,6%, 9-11mm – 6,0%, 12mm un vairāk – 3,3% (3. attēls). Iegūtie dati uzrāda statistisku ticamību ($p=0,001$).

3. attēls. Procentuālais piestiprinājuma zuduma sadalījums pa sekstantiem Latvijas iedzīvotājiem 2005. gadā.



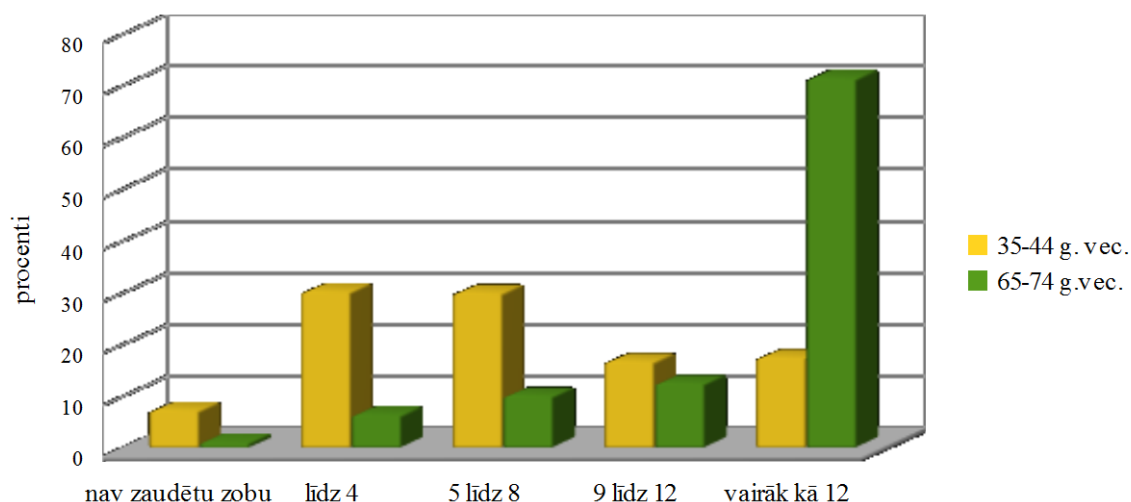
5.1.3. Zaudēto zobu skaita atradne

Tika aplūkots arī zaudēto zobu skaits katrā vecuma grupā. 35-44 gadu vecuma grupā neviena zaudēta zoba bija 6,9%, līdz 4 zaudēti zobi – 29,9%, 5-8 zobi – 29,6%, 9-12 zobi – 16,3%, vairāk kā 12 zobi – 17,1%.

Savukārt 65-74 gadu vecuma grupā neviena zaudēta zoba bija 0,81%, līdz 4 zaudēti zobi – 6,1%, 5-8 zobi – 9,7%, 9-12 zobi – 12,2%, vairāk kā 12 zobi – 71,1% (4. attēls). Trūkstošo zobu sadalījums 65-74 gadu vecuma grupā statistiski ticami atšķīrās no sadalījuma 35-44 gadu grupā ($p<0,01$).

Vidējais zobu skaits 35-44 gadu grupā bija $22,6\pm 7,53$, bet vecuma grupā 65-74 gadi $10,5\pm 9,74$.

4. attēls. Procentuālais zaudēto zobu daudzums 35-44 un 65-74 gadu vecuma grupās Latvijā 2005. gadā.



5.2. Morfoloģiskā pētījuma rezultāti

5.2.1. Morfoloģiskās pētījuma atradnes

Kontroles grupa

Kontroles grupas pacientu audu morfoloģiskā aina uzrādīja relatīvi vieglu saistaudu infiltrāciju ar iekaisuma šūnām (1. attēls pielikumā). Novēroja intraepiteliālu limfocītu infiltrāciju, biežāk rievās epitēlijā (2. attēls). Vienā gadījumā tika konstatēts, ka iekaisuma infiltrāts var atrasties arī tālu no bazālās membrānas (3. attēls pielikumā). Smaganu epitēlijā vietām novēroja izteiktus bazālo šūnu serdes izaugumus zem epitēlija saistaudos (4. attēls pielikumā). Rievās epitēlijā vietām konstatējām starpšūnu telpas paplašināšanos un epiteliocītu vakuolizāciju augšējos slāņos (5. attēls pielikumā). Balstoties uz augstākminēto, turpmāk īpašu vērību piešķirām tikai pacientu materiālam un kontroles audus praktiski pie vispārpieņemtās normas pieskaitījām tikai nosacīti, lai gan aprakstījām atsevišķi.

Hroniskā periodontīta grupa

Analizējot 15 hroniskā periodontīta grupas pacientu pārskata preparātus, konstatējām audu morfoloģiskās ainas atšķirību, salīdzinot ar kontroles grupas pacientu materiālu. Visos pārskata preparātos bija atrodama vidēja līdz pat ļoti izteikta smaganu saistaudu infiltrācija ar iekaisuma šūnām (6. attēls pielikumā). Hroniskā iekaisuma infiltrātā dominēja makrofāgi, neitrofilie leukocīti un limfocīti, kā arī epiteloīdās šūnas (7. attēls pielikumā). Nereti smaganu epitēlijs veidoja bazālo šūnu serdes zemāk novietotajos saistaudos (8. attēls pielikumā). Arī epitēlijā bija novērojama intraepiteliāla iekaisuma šūnu infiltrācija (9. attēls pielikumā), galvenokārt rievās epitēlijā.

Gan smaganu, gan rievās epitēlijs uzrādīja bazālo šūnu hiperplāzijas pazīmes (10. attēls pielikumā). Nereti rievās epitēlija bazālais slānis bija vakuolizēts un nevienmērīga biezuma (11. attēls pielikumā).

5.2.2. Imūnhistoķīmiskās pētījuma metodes atradnes

5.2.2.1. Gēnu un transkripcijas faktora NF-κB ekspresija

5.2.2.1.1. Shh atradnes

Smaganu epitēlijs

Četrpadsmit hroniskā periodontīta grupas paraugos tika atrasta Shh gēna ekspresija un šī atradne svārstījās no atsevišķām līdz daudz pozitīvām šūnām redzes laukā (10. tabula).

Shh gēns visos pacientu smaganu epitēlija paraugos tika ekspresēts šūnu citoplazmas perinukleārā zonā. Pozitīvās struktūras bija atrodamas gan izklīdus (12. attēls pielikumā), gan arī perēķļveidīgi (13. attēls pielikumā).

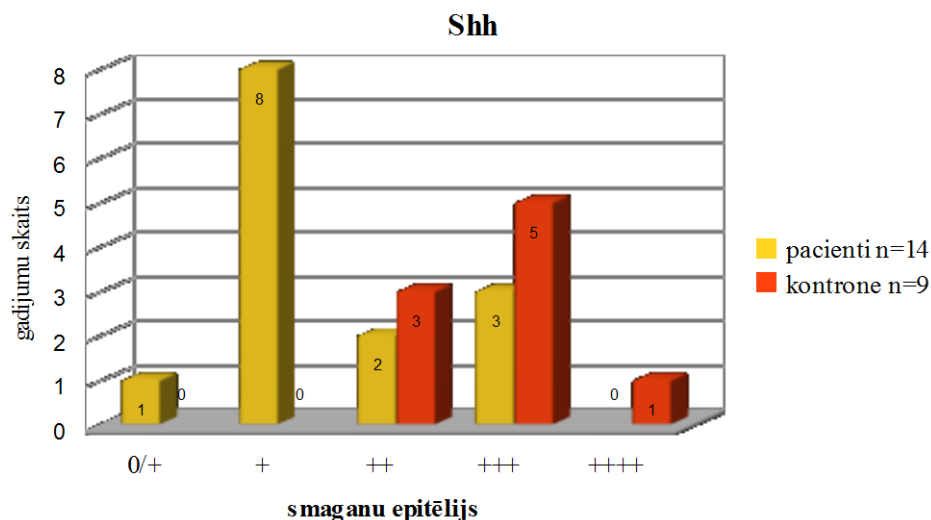
10. tabula. Shh pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniska periodontīta grupas (n=14) un kontroles grupas (n=9) pacientu smaganu epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	34	+
2.	S	37	++
3.	S	38	+
4.	V	41	+
5.	V	42	+++
6.	S	44	+
7.	V	46	++
8.	V	48	++
9.	V	49	++
10.	V	49	+
11.	S	51	+
12.	S	51	+
13.	S	51	0/+
14.	S	53	+++
Kontroles grupa			
1.	V	26	++++
2.	S	29	+++
3.	S	32	+++
4.	S	35	++
5.	S	37	++
6.	S	37	++
7.	V	38	+++
8.	S	45	+++
9.	S	50	+++

Shh – Sonic hedgehog gēns: 0/+ atsevišķas šūnas; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu; +++ izteikti daudz šūnu; ++++ ļoti izteikti daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete.

Shh ekspresiju konstatējām četrpadsmit hroniskā periodontīta pacientiem. Astoņos hroniskā periodontīta pacientu paraugos konstatējām Shh ekspresiju dažās šūnās (57,1%); trīs paraugos daudzās (21,4%), divos vidēji daudz (14,2%) un vienā gadījumā iekrāsotas bija tikai atsevišķas struktūras redzes laukā (7,1%) (5. attēls).

5. attēls. Shh pozitīvo struktūru relatīvais daudzums hroniska periodontīta pacientu smaganu epitēlijā.



Shh – Sonic hedgehog gēns: 0/+ atsevišķas šūnas; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu; +++ izteikti daudz šūnu; ++++ ļoti izteikti daudz šūnu.

Kontroles pacientu materiālā Shh ekspresiju citoplazmā ap kodoliem novērojām deviņiem pacientiem un tā bija robežās no vidēji daudz līdz ļoti daudz pozitīvām struktūrām redzes laukā (10. tabula, 14., 15. attēls pielikumā). Kontroles pacientu materiālā izteiktu Shh ekspresiju konstatējām pieciem pacientiem (50,0%), trīs pacientu paraugos novērojām vidēju (30,0%), un tikai vienā gadījumā ļoti izteiktu ekspresiju (10,0%).

Shh gēna ekspresijas relatīvais daudzums smaganu epitēlijā hroniskā periodontīta grupā bija mazāks kā kontroles grupā un tas statistiski ticami atšķīrās ($z=2,230$, $p=0,025$).

Rievas epitēlijs

Hroniska periodontīta grupā Shh gēna pozitīvas struktūras atradām četru hroniskā periodontīta pacientu materiālā no piecpadsmit izmeklētajiem un to konstatējām šūnu citoplazmā, vairāk perinukleārajā zonā (11. tabula). Ekspresiju novērojām dažās un vidēji daudz šūnās redzes laukā. Hroniskā periodontīta divos paraugos tika atrasta Shh gēna ekspresija dažās šūnās (33,3%) un divos gadījumos vidēji daudz pozitīvu struktūru (33,3%) redzes laukā.

11. tabula. Shh pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniskā periodontīta grupas (n=4) un kontroles grupas (n=4) pacientiem rievās epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresijas
Hroniska periodontīta grupa			
1.	V	42	++
2.	S	44	+
3.	V	48	++
4.	S	51	+
Kontroles grupa			
1.	S	35	+++
2.	S	37	0/+
3.	S	45	+++
4.	S	50	+++

Shh – Sonic hedgehog gēns: 0/+ atsevišķas šūnas; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete.

Shh pozitīvas šūnas rievās epitēlijā novērojām četriem no desmit kontroles grupas pacientiem (11. tabula). Izteikta Shh ekspresija kontroles grupas rievās epitēlijā bija sastopama trīs pacientiem (60,0%), bet vienā gadījumā konstatējām atsevišķas struktūrās redzes laukā (20,0%). Arī kontroles grupas materiālā šī gēna proteīns tika ekspresēts epiteliocītu perinukleārajā zonā.

Shh pozitīvo struktūru daudzums rievās epitēlijā hroniskā periodontīta un kontroles pacientu grupās statistiski ticami savā starpā neatšķiras ($z=1,121$, $p=0,262$).

5.2.2.1.2. Barx 1 atradnes

Smaganu epitēlijs

Hroniska periodontīta grupā Barx1 ekspresiju konstatējām trīspadsmit pacientiem un tā bija robežās no atsevišķām šūnām redzes laukā līdz izteiktai (12. tabula). Ekspresiju novērojām ne tikai epiteliālo šūnu citoplazmā (16., 17. attēls pielikumā), bet arī makrofāgos, kas atradās starp epiteliocītiem (18. attēls pielikumā).

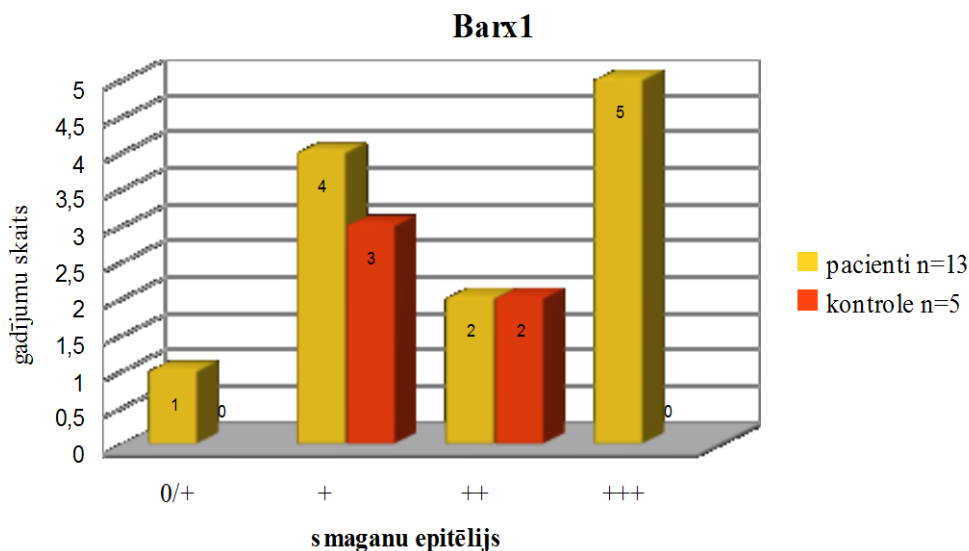
Analizējot hroniskā periodontīta pacientu paraugus, izteiktu Barx1 ekspresiju smaganu epitēlijā konstatējām pieciem pacientiem (38,4%), diviem pacientiem vidēji (15,3%), četriem dažās šūnās redzes laukā (30,7%), vienam pacientam izteikti (7,6%) un vienam pacientam atsevišķās šūnās redzes laukā (7,6%) (6. attēls).

12. tabula. Barx1 šūnu relatīvais daudzums hroniska periodontīta grupas (n=13) un kontroles grupas (n=5) pacientiem smaganu epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresijas
Hroniska periodontīta grupa			
1.	S	34	+++
2.	S	35	++++
3.	S	37	0/+
4.	S	38	+
5.	V	41	+++
6.	V	42	++
7.	S	44	+
8.	V	46	+++
9.	V	49	++
10.	V	49	+++
11.	S	51	+
12.	S	51	+
13.	S	53	+++
Kontroles grupa			
1.	V	26	++
2.	S	29	++
3.	S	35	+
4.	S	36	+
5.	S	37	+

Barx1 – Barx homebox 1 gēns: 0/+ atsevišķas šūnas; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu; +++ izteikti daudz šūnu; ++++ ļoti izteikti daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete.

6. attēls. Barx1 pozitīvo struktūru relatīvais daudzums hroniska periodontīta pacientu rievās epitēlijā.



Barx1 – Barx homebox 1 gēns: 0/+ atsevišķas šūnas; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu; +++ izteikti daudz šūnu.

Kontroles grupas pacientu materiālā pozitīvu Barx1 atradni konstatējām pieciem pacientiem no desmit izmeklētajiem un ekspresija trīs pacientiem bija dažu (30,0%) un diviem pacientiem daudz šūnu (20,0%) citoplazmās (12. tabula).

Vidējais relatīvais Barx1 saturošo struktūru daudzums bija ievērojami lielāks kā kontroles grupas pacientu audos un tas statistiski ticami atšķīrās ($z=2,029$, $p=0,042$).

Rievas epitēlijs

Hroniska periodontīta grupā Barx1 ekspresiju konstatējām epitēlija šūnu citoplazmā piecu pacientu paraugos no piecpadsmit izmeklētajiem (13. tabula). Barx1 pozitivitāte diviem pacientiem bija dažās šūnās (28,5%) un trīs pacientiem izteiktā daudzumā (42,8%) redzes laukā (19., 20. attēls pielikumā).

Kontroles grupā Barx1 ekspresiju novērojām diviem pacientiem no desmit izmeklētajiem dažu epiteliocītu citoplazmā (40,0%) (13. tabula).

13. tabula. Barx1 šūnu relatīvais daudzums hroniska periodontīta grupas (n=5) un kontroles grupas (n=2) pacientu rievās epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	34	+++
2.	S	38	+
3.	V	42	+
4.	V	46	+++
5.	S	51	+++
Kontroles grupa			
1.	S	35	+
2.	S	45	+

Barx1 – Barx homebox 1 gēns: + dažas šūnas; +++ izteikti daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete.

Lai arī kopumā hroniskā periodontīta grupas pacientu rievās epitēlija materiālā bija vērojams relatīvi lielāks Barx1 imūnreaktīvo struktūru daudzums, nekā kontroles grupas audos, šīs atšķirības nebija statistiski ticamas ($z=1,471$, $p=0,141$).

5.2.2.1.3. Msx2 atradnes

Smaganu epitēlijs

Hroniskā periodontīta grupas desmit paraugos no piecpadsmi izmeklētajiem, tika atrasta Msx2 gēna ekspresija. Šī ekspresija svārstījās no atsevišķām līdz pat izteikti daudz iekrāsotām šūnu citolemmām redzes laukā (14. tabula). Ekspresija bija novērojama ne tikai smaganu epitēlija šūnās (21. attēls pielikumā), bet vienā gadījumā arī starp tām esošajos makrofāgos (22. attēls pielikumā).

14. tabula. Msx2 pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniskā periodontīta (n=10) un kontroles grupas (n=4) pacientu smaganu epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	34	++++
2.	S	37	0/+
3.	V	42	0/+
4.	S	44	++++
5.	V	46	0/+
6.	V	48	0/+
7.	V	49	+
8.	S	51	++
9.	S	51	+++
10.	S	53	0/+
Kontroles grupa			
1.	S	32	0/+
2.	S	36	+++
3.	S	37	0/+
4.	S	50	0/+

Msx2 – Muscle segment homebox 2 gēns: 0/+ atsevišķas; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu; +++ izteikti daudz šūnu; ++++ ļoti izteikti daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete.

Kopumā Msx2 gēns pieciem hroniskā periodontīta grupas pacientam tika ekspresēts atsevišķās šūnās (33,3%), izteikti daudz trīs pacientiem (20,0%), vienam pacientam dažās šūnās (6,6%) un vienam pacientam redzes laukā vidēji daudz (6,6%).

Četriem pacientiem no visiem izmeklētajiem kontroles grupā atradām pozitīvu Msx2 gēna ekspresiju šūnu citoplazmā, turklāt perēkļveidīgi epitēlija audus (14. tabula, 23. attēls pielikumā). Trīs kontroles grupā pacientiem Msx2 gēns tika konstatēts atsevišķās šūnās (30,0%), bet tikai vienam pacientam smaganu epitēlijā novēroja izteiktu ekspresiju (10,0%).

Lai arī kopumā hroniskā periodontīta grupas pacientu smaganu epitēlija materiālā bija vērojams relatīvi lielāks Msx2 imūnreaktīvo struktūru daudzums, nekā kontroles grupas audos, šīs atšķirības nebija statistiski ticamas ($z=1,420$, $p=0,155$).

Rievas epitēlijs

Msx2 ekspresiju konstatējām tikai divos paraugos no piecpadsmit izmeklētajiem hroniskā periodontīta grupā (15. tabula) un to novērojām epiteliocītu citoplazmā (24. attēls pielikumā).

Vienam pacientam gan hroniskā periodontīta (12,5%), gan kontroles grupā (25,0%) konstatējām atsevišķas un vienam pacientam hroniskā periodontīta grupā (12,5%) dažas pozitīvas struktūras redzes laukā, kas ekspresēja Msx2 gēnu (15. tabula).

15. tabula. Msx2 pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniska periodontīta grupas (n=8) un kontroles grupas (n=1) pacientu rievās epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	35	0/+
2.	S	51	+
Kontroles grupa			
1.	S	36	0/+

Msx2 – Muscle segment homeobox 2 gēns: 0/+ atsevišķas šūnas; + dažas šūnas. V - vīrietis, S - sieviete.

Salīdzinot Msx2 pozitīvo struktūru daudzumu hroniskā periodontīta un kontroles grupas smaganu epitēlija materiālā, statistiski ticami atradni neieguvām ($z=0,112$, $p=0,911$).

5.2.2.1.4. NF-κB atradnes

Smaganu epitēlijs

Hroniska periodontīta grupas sešos paraugos no 15 izmeklētajiem, tika atrasta NF-κB ekspresija šūnu kodolos un vienā gadījumā to novērojām arī starp epiteliocītiem esošajos makrofāgos (25. attēls pielikumā) gan perēkļveidīgi, gan arī atsevišķi esošos (26. attēls pielikumā). NF-κB pozitīvi bija atsevišķi, daži un arī vidēji daudz šūnu kodolu redzes laukā (16. tabula).

NF-κB ekspresiju šūnu kodolos novērojām trīs pacientiem dažās šūnās (20,0%), diviem pacientiem atsevišķās šūnās (13,3%) un vienam pacientam vidēji daudz šūnās redzes laukā (6,6%).

Kontroles grupas pacientu materiālā NF-κB ekspresiju konstatējām atsevišķās un dažās šūnās redzes laukā, kopumā četru paraugu šūnu kodolos no desmit izmeklētajiem (16. tabula). NF-κB kontroles grupā konstatējām atsevišķās šūnās trīs pacientiem (33,3%) un vienam pacientam dažās šūnās (11,1%) redzes laukā.

16. tabula. NF- κ B pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniska periodontīta grupas (n=6) un kontroles grupas (n=4) pacientu smaganu epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	34	+
2.	S	38	+
3.	V	49	0/+
4.	S	51	++
5.	S	51	0/+
6.	S	53	+
Kontroles grupa			
1	V	26	0/+
2.	S	29	+
3.	S	36	0/+
4.	S	37	0/+

NF- κ B – nukleārais faktors kappa beta: 0/+ atsevišķas šūnas; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu. V - vīrietis, S - sievietē.

Salīdzinot NF- κ B pozitīvo struktūru daudzumu hroniskā periodontīta un kontroles grupas smaganu epitēlija materiālā, statistiski ticami atradni neieguvām ($z=0,168$, $p=0,866$).

Rievas epitēlijs

Nevienā no analizētajiem hroniskā periodontīta un kontroles grupas paraugiem NF- κ B pozitīvas struktūras rievas epitēlijā nekonstatējām.

5.2.2.2. Augšanas faktoru un to receptoru ekspresija

5.2.2.2.1. NGF un NGFRp75 atradnes

NGF atradnes

Smaganu epitēlijs

NGF ekspresiju konstatējām trīspadsmit hroniskā periodontīta pacientu paraugos un atradne svārstījās no atsevišķām šūnām līdz izteiktam šūnu daudzumam redzes laukā (17. tabula).

NGF pozitīvas struktūras pārsvarā tika novērotas epitēlijā, epiteliocītu citoplazmā (27. attēls pielikumā) un atsevišķos gadījumos to ekspresēja arī intraepitēliālas iekaisuma šūnas.

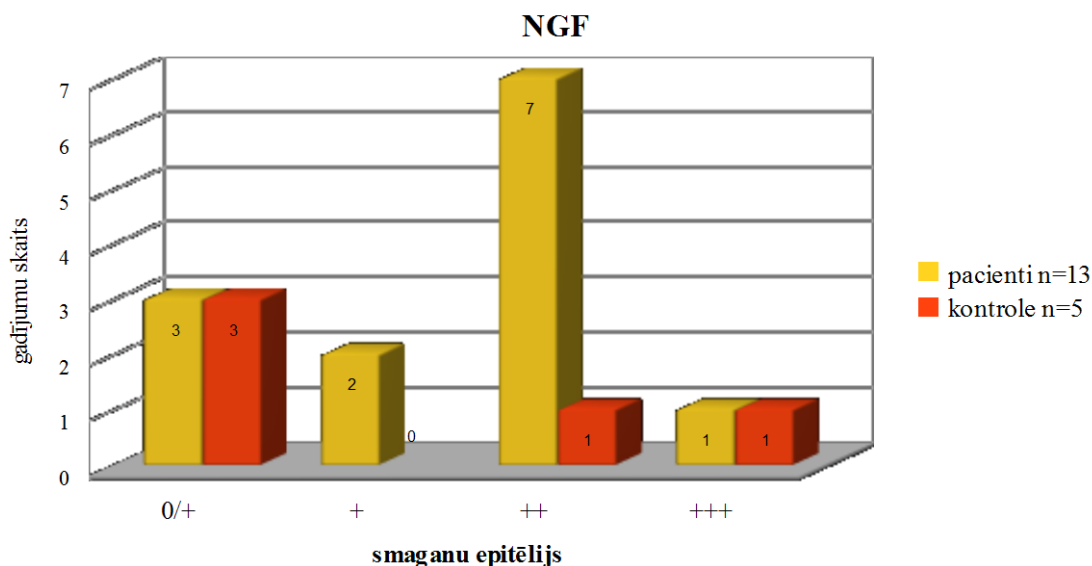
17. tabula. NGF pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniskā periodontīta grupas (n=13) un kontroles grupas (n=5) pacientu smaganu epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	34	++
2.	S	37	++
3.	S	38	+
4.	V	41	0/+
5.	V	42	++
6.	S	44	+
7.	V	46	+++
8.	V	48	0/+
9.	V	49	++
10	V	49	++
11.	S	51	0/+
12.	S	51	++
13.	S	53	++
Kontroles grupa			
1	V	26	0/+
2.	S	29	++
3.	S	36	+++
4	S	37	0/+
5.	S	37	0/+

NGF – nervu augšanas faktors: 0/+ atsevišķas šūnas; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu; +++ izteikti daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete.

Analizējot hroniskā periodontīta grupas paraugus, septiņiem hroniskā periodontīta pacientiem konstatējām vidēji izteiktu NGF ekspresiju (50,0%), trīs pacientiem atsevišķas iekrāsotas šūnas (21,4%), diviem - dažas pozitīvas šūnas (14,2%) un vienam izteiktu ekspresiju (7,1%) (7. attēls).

7. attēls. NGF pozitīvo struktūru relatīvais daudzums hroniskā periodontīta pacientu smaganu epitēlijā.



NGF – nervu augšanas faktors: 0/+ atsevišķas šūnas; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu; +++ izteikti daudz šūnu.

Kontroles grupas paraugos NGF pozitīvas šūnas konstatējām pieciem pacientiem no desmit izmeklētajiem (17. tabula) un ekspresiju novērojām ne tikai epiteliocītos un iekaisuma šūnās, bet vienā gadījumā arī neiroendokrīnajās šūnās (28. attēls pielikumā). Trīs pacientiem NGF ekspresiju novērojām atsevišķās šūnās (30,0%), vienam pacientam vidēji daudzās (10,0%) un vienam pacientam daudz šūnās (10,0%) redzes laukā.

Vidējais relatīvais NGF saturošo struktūru daudzums hroniskā periodontīta grupā bija lielāks kā kontroles grupas pacientu audos un tas statistiski ticami savā starpā atšķīrās ($z=2,244$, $p=0,024$).

Rievas epitēlijs

NGF ekspresiju rievas epitēlijā konstatējām tikai vienā hroniskā periodontīta grupas paraugā un pozitīvas bija atsevišķas struktūras redzes laukā (16,6%), turpretī kontroles grupā tas netika ekspresēts nevienā no paraugiem un sekojoši, NGF ekspresija kontroles un pacientu grupā statistiski ticami neatšķīrās ($z=0,816$, $p=0,414$).

NGFRp75 atradnes

Smaganu epitēlijs

Hroniskā periodontīta grupā tika atrasta bagātīga NGFRp75 ekspresija piecpadsmit pacientu paraugos. Pozitīvā NGFRp75 atradne bija robežās no dažām šūnām redzes laukā līdz pat ļoti izteiktai ekspresijai (18. tabula). NGFRp75 pacientu smaganu audu materiālā pārlicinoši tika ekspresēts tikai bazālā slāņa šūnās, to citolemmās (29. attēls pielikumā).

18. tabula. NGFRp75 pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniskā periodontīta grupas (n=15) un kontroles grupas (n=9) pacientu smaganu epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniska periodontīta grupa			
1	S	34	+++
2.	S	35	+++
3.	S	37	++
4.	S	38	++++
5.	V	41	++
6.	V	42	+++
7.	S	44	+++
8.	V	46	+++
9.	V	48	+
10	V	49	++
11.	V	49	++++
12.	S	51	++++
13.	S	51	+++
14.	S	51	+++
15.	S	53	+++
Kontroles grupa			
1.	V	26	+++
2.	S	29	++
3.	S	35	++++
4.	S	36	++++
5.	S	37	++
6.	S	37	++
7.	S	45	++++
8.	S	50	+++

NGFRp75 – nervu augšanas faktora receptors p75: + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu; +++ izteikti daudz šūnu; ++++ ļoti izteikti daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete

Astoņiem pacientiem hroniskā periodontīta grupas materiālā NGFRp75 ekspresija bija izteikta (53,3%), trīs pacientiem ļoti izteikta (20,0%) un trīs pacientiem vidēji izteikta (20,0%).

Kontroles grupā ekspresiju novērojām astoņiem pacientiem un tā bija robežās no dažām šūnām redzes laukā līdz ļoti izteiktai (18. tabula). Arī kontroles grupas materiālā pozitīva NGFRp75 ekspresija bija novērojama tikai bazālā slāņa šūnās, konkrēti to šūnapvalkos (30. attēls pielikumā). Kontroles grupas materiālā trīs pacientiem tā bija ļoti izteikta (33,3%), trīs pacientiem vidēja (33,3%) un diviem pacientiem izteikta (20,0%).

Salīdzinot NGFRp75 pozitīvo struktūru daudzumu hroniskā periodontīta un kontroles grupas smaganu epitēlija materiālā, statistiski ticami atradni neieguvām ($z=0,220$, $p=0,825$).

Rievas epitēlijs

Hroniskā periodontīta grupas četru pacientu paraugos no piecpadsmit izmeklētajiem tika atrasta NGFRp75 ekspresija bazālā slāņa šūnu citolemmās. NGFRp75 atradne svārstījās no dažām līdz vidēji daudz šūnām redzes laukā (26. tabula). Diviem hroniskā periodontīta grupas pacientiem konstatējām vidēju (40,0%), vienam izteiktu ekspresiju (20,0%) un vienam pacientam atsevišķas pozitīvas šūnas redzes laukā (20,0%) (19. tabula).

19. tabula. NGFRp75 pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniska periodontīta grupas ($n=4$) un kontroles grupas ($n=4$) pacientu rievās epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	37	++
2.	S	35	+++
3.	S	51	+
4.	S	53	++
Kontroles grupa			
1.	S	29	+++
2.	S	32	+
3.	S	35	++++
4.	S	36	++

NGFRp75 – nervu augšanas faktora receptors p75: + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu; +++ izteikti daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete.

NGFRp75 kontroles grupā konstatējām četros paraugos no desmit izmeklētajiem un tā ekspresija kontroles grupas rievās epitēlijā bija variabla no atsevišķām struktūrām redzes laukā līdz pat ļoti izteiktai (19. tabula). Rievas epitēlijā NGFRp75 arī atradām vienīgi bazālā slāņa šūnu citolemmās (31. attēls pielikumā). NGFRp75 procentuāli vienādā daudzumā

(20,0%) tika atrasts atsevišķu un dažu šūnu citolemmās, kā arī izteiktā un pat ļoti izteiktā daudzumā redzes laukā.

Salīdzinot NGFRp75 pozitīvo struktūru daudzumu hroniskā periodontīta un kontroles grupas rievās epitēlija materiālā, statistiski ticami atradni neieguvām ($z=0,427$, $p=0,669$).

5.2.2.2.2. IGF-IR atradnes

Smaganu epitēlijs

Hroniska periodontīta grupas materiālā IGF-IR ekspresiju atradām septiņiem pacientiem no piecpadsmit izmeklētajiem. Pozitīvā atradne svārstījās no atsevišķām šūnām redzes laukā līdz pat ļoti izteiktai ekspresijai smaganu epitēlijā (20. tabula). Ekspresiju novērojām smaganu epitēlija šūnapvalkos, vairāk bazālajā un polimorfo šūnu slānī (32. attēls pielikumā). Vienā gadījumā izteiktu ekspresiju novēroja intensīvāk tieši bazālajā slānī (33., 34. attēls pielikumā). IGF-IR ekspresiju hroniska periodontīta grupā konstatējām atsevišķu, dažu un ļoti daudzu šūnu citolemmās vienādā procentuālā sadalījumā, katrā grupā iekļaujot divus pacientus (16,7%). Ļoti izteiktu IGF-IR ekspresiju smaganu epitēlijā novērojām vienam pacientam (8,3%).

20. tabula. IGF-IR pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniskā periodontīta grupas ($n=7$) un kontroles grupas ($n=7$) pacientu smaganu epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	34	0/+
2.	S	35	++
3.	S	37	+++
4.	V	42	++++
5.	V	48	++
6.	V	49	0/+
7.	S	53	++++
Kontroles grupa			
1.	V	26	+++
2.	S	29	++++
3.	S	36	0/+
4.	S	37	+++
5.	V	38	++++
6.	S	45	++
7.	S	50	+++

IGF-IR – insulīna augšanas faktora receptors - I: 0/+ atsevišķas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu; +++ izteikti daudz šūnu; ++++ ļoti izteikti daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete.

Septiņos kontroles grupas pacientu paraugos konstatējām IGF-IR pozitīvas šūnu citolemmas (35. attēls pielikumā). Ekspresiju novērojām atsevišķās šūnās redzes laukā līdz pat ļoti izteiktai pozitivitātei (20. tabula). Trīs pacientiem konstatējām izteiktu ekspresiju (37,5%), diviem pacientiem ļoti izteiktu (25,0%), vienam pacientam vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā (12,5%) un vienam tikai atsevišķas struktūras redzes laukā (12,5%).

Salīdzinot IGF-IR pozitīvo struktūru daudzumu hroniskā periodontīta un kontroles grupas smaganu epitēlija materiālā, statistiski ticami atradni neieguvām ($z=1,702$, $p=0,088$).

Rievas epitēlijs

Pozitīva IGF-IR atradni konstatējām sešos hroniskā periodontīta pacientu paraugos no piecpadsmi izmeklētajiem un ekspresija bija atsevišķās struktūrās redzes laukā, kā arī vidēji daudz (21. tabula). Pozitivitāti pret IGF-IR antivielu novēroja rievas epitēlija šūnapvalkos.

21. tabula. IGF-IR pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniskā periodontīta grupas (n=6) un kontroles grupas (n=2) pacientu rievas epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	34	0/+
2.	S	35	++
3.	S	38	0/+
4.	S	44	0/+
5.	V	48	++
6.	S	51	0/+
Kontroles grupa			
1.	S	37	++
2.	S	50	++

IGF-IR – insulīna augšanas faktora receptors - I: 0/+ atsevišķas šūnas; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete.

Analizējot IGF-IR ekspresiju konstatējām, ka četriem pacientiem hroniskā periodontīta grupā tā bija atrodama atsevišķās šūnās (50,0%) un diviem pacientiem tā bija vidēji daudz (25,0%).

Diviem kontroles grupas pacientiem rievas epitēlijā konstatējām IGF-IR vidējā daudzumā (66,6%) (21. tabula, 36., 37. attēls pielikumā). IGF-IR ekspresiju novēroja epiteliocītu citolemmās, iekaisuma šūnās, kas rezidē epitēlijā, un saistaudu šūnās.

Salīdzinot IGF-IR pozitīvo struktūru daudzumu hroniskā periodontīta un kontroles grupas rievās epitēlija materiālā, statistiski ticami atradni neieguvām ($z=0,649$, $p=0,516$).

5.2.2.2.3. FGF atradnes

Smaganu epitēlijs

Hroniskā periodontīta grupas smaganu epitēlijā tika konstatēta FGF ekspresija vienpadsmit pacientiem. Ekspresiju novēroja robežās no atsevišķām šūnām redzes laukā līdz vidēji daudz šūnām (22. tabula). Pozitīvas bija epiteliocītu citoplazmas (38. attēls pielikumā). FGF novērojām dažās šūnās sešiem pacientiem (42,8%), vidēji daudz četriem pacientiem (28,5%) un atsevišķās šūnās vienam pacientam (7,1%).

22. tabula. FGF pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniskā periodontīta grupas ($n=11$) un kontroles grupas ($n=6$) pacientu smaganu epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	34	+
2.	S	37	0/+
3.	V	41	++
4.	V	42	++
5.	S	44	+
6.	V	46	+
7.	V	49	+
8.	S	51	++
9.	S	51	++
10.	S	51	++
11.	S	53	+
Kontroles grupa			
1.	S	29	0/+
2.	S	32	0/+
3.	S	36	++
4.	S	37	0/+
5.	S	45	+
6.	S	50	0/+

FGF – fibroblastu augšanas faktors: 0/+ atsevišķas šūnas; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete.

Kontroles grupas pacientu paraugos FGF ekspresiju konstatējām sešos paraugos no desmit izmeklētajiem un tā svārstījās no ļoti retām šūnām redzes laukā līdz maz šūnām (39. attēls pielikumā) (22. tabula). Kontroles grupā šūnu pozitivitāti uz FGF antivielu novērojām

atsevišķās šūnās četriem pacientiem (44,4%), vienam pacientam dažās šūnās (11,1%) un vienam pacientam vidēji daudz (11,1%) (40. attēls pielikumā).

Salīdzinot FGF pozitīvo struktūru daudzumu hroniskā periodontīta un kontroles grupas smaganu epitēlija materiālā, statistiski ticami atradni neieguvām ($z=1,661$, $p=0,096$).

Rievas epitēlijs

FGF hroniskā periodontīta grupā tika ekspresēts tikai vienam pacientam un ekspresija bija vidēji izteikta (33,3%), turpretī kontroles grupā diviem pacientiem to konstatējām dažās (50,0%) un vienam pacientam ļoti retās šūnās (25,0%) (23. tabula).

23. tabula. FGF pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniska periodontīta grupas ($n=1$) un kontroles grupas ($n=3$) pacientu rievas epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	34	++
Kontroles grupa			
1.	S	36	+
2.	S	45	+
3.	S	50	0/+

FGF – fibroblastu augšanas faktors: 0/+ atsevišķas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete.

Salīdzinot FGF pozitīvo struktūru daudzumu hroniskā periodontīta un kontroles grupas rievas epitēlija materiālā, statistiski ticami atradni neieguvām ($z=0,711$, $p=0,370$).

5.2.2.3. Šūnu adhēzijas molekulas un citokīnu ekspresija

5.2.2.3.1. ICAM-1 atradnes

Smaganu epitēlijs

Hroniskā periodontīta grupā četrpadsmit pacientiem tika atrasta ICAM-1 ekspresija šūnu citolemmās (24. tabula). Ekspresija bija robežās no dažām šūnām redzes laukā līdz pat ļoti izteiktai (41., 42. attēls pielikumā).

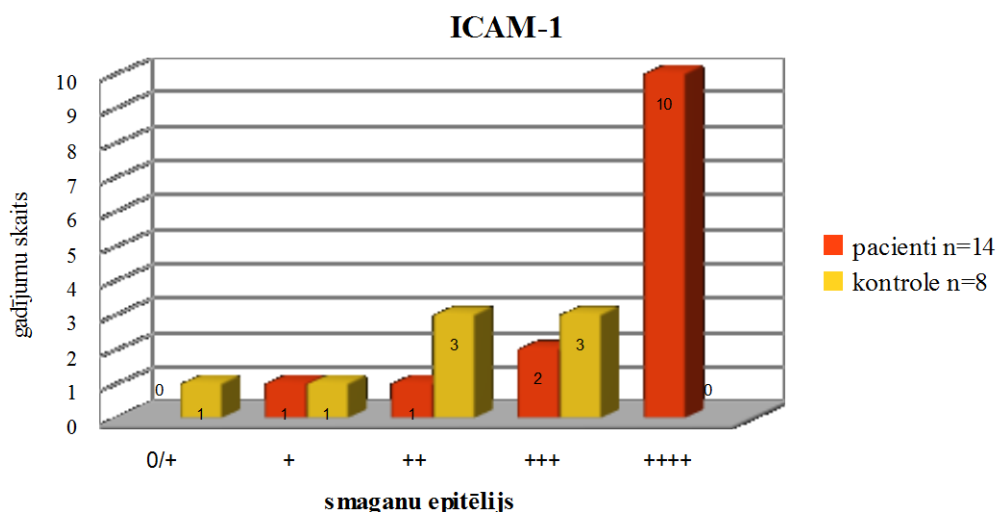
Hroniskā periodontīta grupā desmit pacientiem smaganu epitēlijā konstatējām ļoti izteiktu ICAM-1 ekspresiju (71,4%), diviem pacientiem izteiktu (14,2%), vienam pacientam vidēji daudz pozitīvas šūnas (7,1%) un vienam pacientam dažas pozitīvas šūnas (7,1%) (8. attēls).

24. tabula. ICAM-1 pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniskā periodontīta grupas (n=14) un kontroles grupas (n=8) pacientu smaganu epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	34	++++
2.	S	35	+
3.	S	37	++++
4.	S	38	++++
5.	V	41	+++
6.	V	42	++++
7.	S	44	++++
8.	V	46	++
9.	V	48	++++
10.	V	49	+++
11.	V	49	++++
12.	S	51	++++
13.	S	51	++++
14.	S	53	++++
Kontroles grupa			
1.	V	26	+
2.	S	29	++
3.	S	35	+++
4.	S	36	+++
5.	S	37	0/+
6.	S	37	+++
7.	V	38	++
8.	S	45	++

ICAM-1 – intercelulārās adhēzijas molekula - 1: 0/+ atsevišķas šūnas; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnas; +++ izteikti daudz šūnu; ++++ ļoti izteikti daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete.

8. attēls. ICAM-1 pozitīvo struktūru relatīvais daudzums hroniska periodontīta pacientu



smaganu epitēlijā.

ICAM-1 – intercelulārās adhēzijas molekula - 1: 0/+ atsevišķas šūnas; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnas; +++ ļoti izteikti daudz šūnu.

Astoņu kontroles pacientu materiālā konstatējām variablu ICAM-1 ekspresiju (24. tabula). Tā bija gan izteikta trīs pacientiem (33,3%) (43., 44. attēls pielikumā), gan trīs pacientiem vidēja (33,3%), kā arī vienam pacientam to novēroja dažās (11,1%) un arī atsevišķās šūnās (11,1%). Totālas ekspresijas gadījumā tomēr bazālā slāņa šūnu citolemmas šo molekulu nesaturēja.

Pētījumā konstatējām, ka ICAM-1 pozitīvo struktūru daudzums smaganu epitēlijā hroniska periodontīta grupas pacientiem ir ievērojami lielāks, nekā kontroles grupā, un šī atšķirība ir statistiski ticama ($z=3,248$, $p=0,0012$).

Rievas epitēlijs

Hroniskā periodontīta grupā ICAM-1 ekspresiju konstatējām epiteliocītu citolemmās desmit pacientiem no piecpadsmit izmeklētajiem (25. tabula). Pieciem pacientiem ekspresija bija vidēja (50,0%), trīs pacientiem izteikta (30,0%), vienam pacientam ļoti izteikta (10,0%) un vienam pacientam bija iekrāsotas tikai dažu šūnu citolemmas (10,0%).

25. tabula. ICAM-1 pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniska periodontīta grupas (n=10) un kontroles grupas (n=4) pacientu rievās epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	34	++
2.	S	35	++
3.	V	42	+++
4.	S	44	++++
5.	V	46	+
6.	V	48	++
7.	V	49	++
8.	V	49	+++
9.	S	51	++
10.	S	53	+++
Kontroles grupa			
1.	S	35	+++
2.	S	36	+++
3.	S	37	++
4.	S	45	+

ICAM-1 - intercelulārās adhēzijas molekula - 1; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu; +++ daudz šūnu; ++++ ļoti daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete.

ICAM-1 ekspresiju novērojām četriem kontroles grupas pacientiem no desmit izmeklētajiem. Kontroles grupā diviem pacientiem novērojām izteiktu (50,0%), vienam pacientam vidēju (25,0%) un vienam - dažas iekrāsotas šūnu citolemmas, kas bija pozitīvas uz ICAM-1 (25,0%) (25. tabula).

Salīdzinot ICAM-1 pozitīvo struktūru daudzumu hroniskā periodontīta un kontroles grupas rievās epitēlija materiālā, statistiski ticami atradni neieguvām ($z=0,151$, $p=0,880$).

5.2.2.3.2. IL-10 atradnes

Smaganu epitēlijs

Hroniskā periodontīta grupā visiem piecpadsmit izmeklētajiem pacientiem konstatējām pozitīvu IL-10 ekspresiju. To novēroja bazālā slāņa šūnu citolemmās (45., 46. attēls pielikumā) un ekspresija bija vidēja, izteikta un ļoti izteikta (26. tabula).

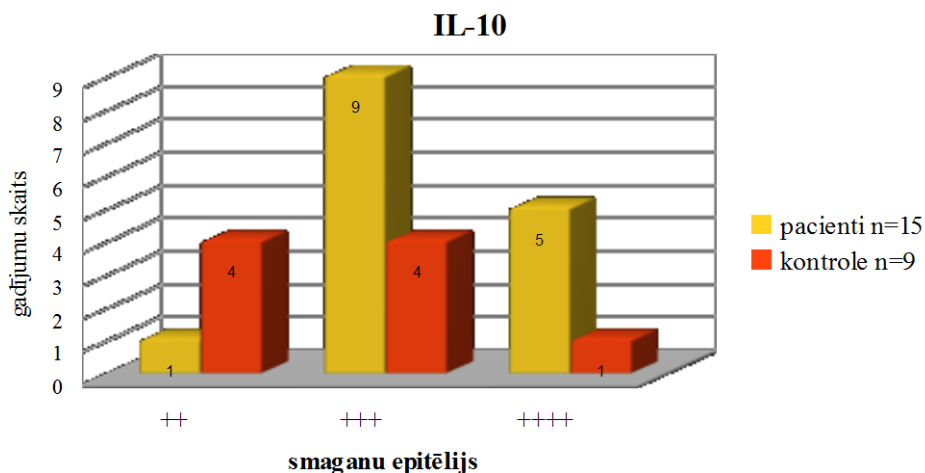
26. tabula. IL-10 pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniskā periodontīta grupas (n=15) un kontroles grupas (n=9) pacientu smaganu epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	34	++++
2.	S	35	+++
3.	S	37	+++
4.	S	38	++++
5.	V	41	++++
6.	V	42	+++
7.	S	44	++++
8.	V	46	+++
9.	V	48	++
10.	V	49	+++
11.	V	49	+++
12.	S	51	++++
13.	S	51	+++
14.	S	51	+++
15.	S	53	+++
Kontroles grupa			
1.	V	26	+++
2.	S	29	++
3.	S	32	+++
4.	S	35	++++
5.	S	36	+++
6.	S	37	++
7.	S	37	+++
8.	S	45	++
9.	S	50	+++

IL-10 – interleikīns - 10: 0/+ atsevišķas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu; +++ izteikti daudz šūnu; ++++ ļoti izteikti daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete.

Hroniskā periodontīta grupā no visiem izmeklētajiem pacientiem – deviņiem novēroja izteiktu (60,0%), pieciem pacientiem ļoti izteiktu (33,3%) un vienam pacientam vidēji izteiktu IL-10 ekspresiju bazālo šūnu citolemmās (6,6%) (9. attēls).

9. attēls. IL-10 pozitīvo struktūru relatīvais daudzums hroniska periodontīta pacientu smaganu epitēlijā.



IL-10 – interleikīns - 10: ++ vidēji daudz šūnu; +++ izteikti daudz šūnu; +++++ ļoti izteikti daudz šūnu.

Deviņiem kontroles grupas pacientiem novēroja IL-10 ekspresiju. Četriem kontroles grupas pacientiem IL-10 smaganu epitēlijā ekspresējās izteikti (40,0%), trīs pacientiem vidējā daudzumā (40,0%) un vienam ļoti izteikti (10,0%)(47. attēls pielikumā) (26. tabula).

Pētījumā konstatējām, ka IL-10 pozitīvo struktūru daudzums smaganu epitēlijā hroniska periodontīta grupas pacientiem ir lielāks, nekā kontroles grupā, un šī atšķirība ir statistiski ticama ($z=2,332$, $p=0,019$).

Rievas epitēlijs

Gan hroniskā periodontīta grupas, kā arī kontroles grupas materiālā ekspresiju atradām četriem pacientiem no visiem izmeklētajiem. IL-10 ekspresiju rievas epitēlijā hroniskā periodontīta grupā konstatējām izteikti trīs pacientiem (75,0%) un vienam pacientam vidēji daudz (25,0%) (27. tabula).

Kontroles grupā 50,0% pacientu novērojām izteiktu ekspresiju un pusei vidēju (50,0%) (27. tabula).

27. tabula. IL-10 pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniskā periodontīta (n=4) un kontroles pacientu (n=4) rievās epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	34	+++
2.	S	38	+++
3.	S	44	+++
4.	S	51	++
Kontroles grupa			
1.	S	35	+++
2.	S	36	+++
3.	S	37	++
4.	S	50	++

IL-10 – interleikīns - 10: ++ vidēji daudz šūnu; +++ izteikti daudz šūnu. S - sievietes.

Salīdzinot IL-10 pozitīvo struktūru daudzumu hroniskā periodontīta un kontroles grupas rievās epitēlija materiālā, statistiski ticami atradni neieguvām ($z=0,683$, $p=0,494$).

5.2.2.4. Antimikrobiālā β defensīna atradnes

Smaganu epitēlijs

Hroniska periodontīta pacientu grupas vienpadsmit paraugos no piecpadsmit izmeklētajiem tika atrasta pozitīva β defensīna ekspresija. Ekspresija bija no atsevišķām struktūrām redzes laukā līdz pat ļoti izteiktai (28. tabula). Ekspresiju novēroja šūnu citolemmās (48. attēls pielikumā). Hroniska periodontīta grupā četriem pacientiem šūnu citolemmas iekrāsojās izteikti (30,7%), trīs pacientiem maz (23,0%), trīs pacientiem atsevišķas šūnas (23,0%) un vienam pacientam ļoti izteikti (7,6%).

28. tabula. β defensīna pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniska periodontīta grupas (n=11) un kontroles grupas (n=8) pacientu smaganu epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	34	0/+
2.	S	35	0/+
3.	S	37	++++
4.	S	38	+
5.	V	42	+++
6.	S	44	0/+
7.	V	46	+
8.	V	48	++++
9.	V	49	++++
10.	S	51	+
11.	S	53	++++
Kontroles grupa			
1.	V	26	0/+
2.	S	29	+
3.	S	32	+++
4.	S	35	++
5.	S	36	+++
6.	S	37	++
7.	S	37	++
8.	V	38	+++

β defensīns: 0/+ atsevišķas šūnas; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnas; +++ izteikti daudz šūnu; ++++ ļoti izteikti daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete.

β defensīna ekspresiju novēroja astoņiem kontroles grupas pacientiem (28. tabula) (49., 50. attēls pielikumā). Defensīnu ekspresiju smaganu epitēlijā kontroles grupā izteikti konstatēja trīs pacientiem (33,3%), vidēji izteikti trīs pacientiem (33,3%), dažas struktūras vienam pacientam (11,1%) un atsevišķas vienam pacientam (11,1%).

Salīdzinot β defensīna pozitīvo struktūru daudzumu hroniskā periodontīta un kontroles grupas smaganu epitēlija materiālā, statistiski ticami atradni neieguvām ($z=0,445$, $p=0,656$).

Rievas epitēlijs

β defensīna ekspresiju rievas epitēlijā hroniskā periodontīta grupā konstatējām pieciem pacientiem no piecpadsmit izmeklētajiem un tā bija sastopama šūnu citolemmās (29. tabula). Vienam pacientam rievas epitēlija šūnu citolemmas iekrāsojās izteikti (14,2%), vienam

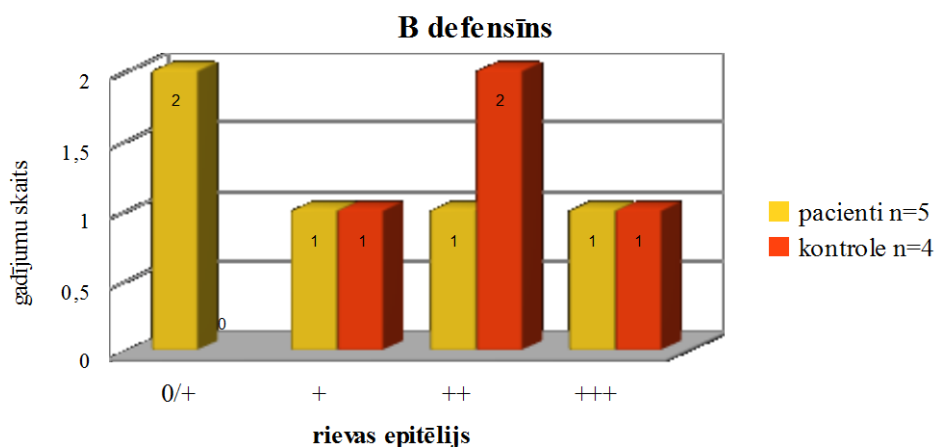
pacientam vidēji (14,2%), diviem pacientiem atsevišķas šūnas (28,5%) un vienam pacientam vāji (14,2%)(10. attēls).

29. tabula. β defensīna pozitīvo šūnu relatīvais daudzums hroniska periodontīta grupas (n=5) un kontroles grupas (n=4) pacientu rievās epitēlijā.

Nr.	Dzimums	Vecums	Ekspresija
Hroniskā periodontīta grupa			
1.	S	35	0/+
2.	S	38	+
3.	V	49	+++
4.	S	51	0/+
5.	S	53	++
Kontroles grupa			
1.	S	36	+
2.	S	37	++
3.	S	45	++
4.	S	50	+++

β defensīns: 0/+ atsevišķas šūnas; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnu; +++ izteikti daudz šūnu. V - vīrietis, S - sieviete.

10. attēls. β defensīna pozitīvo struktūru relatīvais daudzums hroniska periodontīta pacientu rievās epitēlijā.



β defensīns: 0/+ atsevišķas šūnas; + dažas šūnas; ++ vidēji daudz šūnas; +++ izteikti daudz šūnu; +++++ ļoti izteikti daudz šūnu.

Kontroles grupas materiālā ekspresiju konstatējām četriem pacientiem no desmit izmeklētajiem un tā bija no dažām struktūrām redzes laukā līdz pat izteiktai (29. tabula).

Pētījumā konstatējām, ka β defensīna pozitīvo struktūru daudzums rievās epitēlijā hroniska periodontīta un kontroles grupas pacientiem atšķiras un šī atšķirība ir statistiski ticama ($z=2,017$, $p=0,043$).

5.2.2.5. Apoptozes atradne

Smaganu epitēlijs

Konstatējām apoptotiskās šūnas ar tipiskām morfoloģiskām pazīmēm gan perēkļveidīgi, gan izklīdus hroniskā periodontīta pacientu materiālā (51., 52., 53. attēls pielikumā). Programmēto šūnu nāvi novērojām ne tikai epiteliocītu, bet arī iekaisuma šūnu, kas rezidēja epitēlijā, kodolos. Vienā hroniskā periodontīta pacientu paraugā apoptozi neatradām.

Visos kontroles grupas paraugos tika atrastas gan atsevišķas, gan arī dažas un vidēji daudz apoptotiskas šūnas.

Pēc neatkarīgu izlašu t testa, smaganu epitēlijā apoptotisko šūnu vidējais skaits hroniska periodontīta pacientu grupā ir statistiski ticami ($p=0,002$, $t=4,950$) lielāks par vidējo skaitu kontroles grupā ($p=0,017$, $t=2,919$) (30. tabula).

30. tabula. Vidējais apoptotisko šūnu skaits ar standartdeviāciju hroniskā periodontīta un kontroles grupas pacientu smaganu epitēlijā.

Šūnas	Grupa	Pacientu skaits	Vidējais $\pm$ SD
Smaganu epitēlijs	Hron. periodontīts	15	$36,0 \pm 7,28$
	Kontrole	10	$15,6 \pm 5,35$

Rievas epitēlijs

Rievas epitēlijā materiālā konstatējām atsevišķas, dažas un vidēji daudz TUNEL pozitīvas šūnas. Tās bija sastopamas visā epitēlija biezumā, tomēr salīdzinoši mazā skaitā.

Pēc neatkarīgu izlašu t testa, rievās epitēlijā apoptotisko šūnu vidējais skaits hroniska periodontīta pacientu grupā nav statistiski ticams ($p=0,121$, $t=1,760$), salīdzinot ar vidējo skaitu kontroles grupā (31. tabula).

31. tabula. Vidējais apoptotisko šūnu skaits ar standartdeviāciju hroniskā periodontīta un kontroles grupas pacientu rievās epitēlijā.

Šūnas	Grupa	Pacientu skaits	Vidējais $\pm$ SD
Rievas epitēlijs	Hron. periodontīts	8	$10,2 \pm 5,82$
	Kontrole	4	$7,4 \pm 5,50$

5.2.2.6. Savstarpējās korelācijas

Hroniskā periodontīta pacientiem smaganu epitēlijā konstatējām ļoti izteiktu ICAM-1 atradni, izteiktu Barx1 gēna, IL-10, β defensīna un NGFRp75 ekspresiju, kā arī vidēji daudz NGF un tikai dažas Shh gēna un FGF pozitīvas šūnas, turpretī rievās epitēlijā novērojām ļoti izteikta IL-10 ekspresija, izteiktu β defensīna atradni, vidēju NGFR un ICAM-1 ekspresiju, kā arī dažas Barx1 un IGF-IR pozitīvas šūnas (32. tabula).

Apkopojot rezultātus, tika veikta visu meklēto faktoru savstarpējās korelācijas analīze gan smaganu, gan arī rievās epitēlijā. Konkrētas korelācijas starp datiem neatradām, tomēr novērojām, ka transkripcijas faktora NF- κ B ekspresijai smaganu un rievās epitēlijā, ir tendence būt saistītai ar izteikto pretiekaisuma citokīna IL-10 ekspresiju, kā arī Barx1 gēna izteiktā atradne hroniskā periodontīta pacientu smaganu epitēlija materiālā, saistāma ar FGF ekspresiju.

.

6. Diskusija

Epidemioloģiskais pētījums

Community Periodontal Index

2005. gadā Latvijā veiktais pētījums apstiprina, ka 35-44 gadu vecuma grupā dziļas periodonta kabatas atrod 19,7%, bet sekas 59,6% iedzīvotāju, turpretim 65-74 gadu vecuma grupā 13,4% novēro dziļas periodonta kabatas, bet sekas 36,2% iedzīvotāju. Lai arī procentuāli periodontālo kabatu sastopamība vecuma grupā 35-44 gadi ir lielāka un periodonta patoloģijas, aplūkojot vidējo un procentuālo sekstantu skaitu, ir novērojamas biežāk, tomēr vesels periodonts vecuma grupā 65-74 gadi bija tikai 4,1% pret 13,9% veselo 35-44 gadu grupā. To varētu saistīt ar faktu, ka atzīmē vairāk zaudētu zobu. Kopumā vecuma grupā 65-74 gadi netika atzīmēti 14,1% sekstantu un tas liecina par lielu skaitu zaudētu zobu.

Mūsu pētījuma dati apstiprina, ka 2005. gadā Latvijā periodonta saslimšanas ir izplatītas, bet salīdzinot ar ICS-II pētījumu, ko veica 1993. gadā, periodonta patoloģiju sastopamībai ir tendence samazināties. 2005. gadā abās vecuma grupās veselu periodontu novēroja procentuāli vairāk, ka arī mazāk izslēgto sekstantu daudzumu vecuma grupā 65-74 gadi, salīdzinot ar ICS-II pētījumu, kas liecina par daudz mazāk zaudētu zobu skaitu. Pirmo reizi šādu tendenci novēroja pētījumā, kuru veica Rīgā 1998. gadā (Care et al., 2000; Bērziņa un Care, 2003).

Salīdzinājumā ar Lietuvā veikto pētījumu (Skudutyte et al., 2002), mūsu pētījumā veselu periodontu abās vecuma grupās novēroja daudz biežāk un dziļu periodontālo kabatu bija mazāk, tomēr kontekstā ar pasaules datiem, periodontālās veselības rādītāji valstī 35-44 gadu grupā ir vāji. Lielbritānijā *Morris et al.* (2001) ziņo, ka periodontālās kabatas dziļākas par 5,5 mm novēro tikai 5% pieaugušo vecuma grupā 35-44 gadi. Zviedrijā vecuma grupā 31-40 gadi tikai 6,7% izmeklēto pacientu konstatēja periodontālās kabatas $\geq$ par 5 mm un 5,6% tās bija $\geq$ 6 mm (Soder et al., 1994).

Latvijā vecuma grupā 65-74 gadi veselu periodontu sastop 4,1% izmeklēto pacientu, kamēr *Krustup* un *Petersen* (2006) ziņo, ka Dānijā tas ir 1,5 reizes zemāks – 2,4%. Arī periodontālo kabatu procentuālais sadalījums Latvijā ir zemāks, bet, iespējams, tas saistīts ar izteiktāku zaudētu zobu skaitu.

Periodontālā piestiprinājuma zudums

2005. gadā veiktajā pētījumā periodontālā piestiprinājuma zudumu novēroja abās vecuma grupās. 35-44 gadu grupā tas bija izteiktāks robežās no 0-3 mm, 4-5 mm un 6-8 mm, bet vecuma grupā 65-74 gadi - 9-11 mm un 12 mm robežās. Tas liecina, ka izteiktas pakāpes periodontālā piestiprinājuma zudums vecākajā izmeklēto pacientu grupā pieaug un to var izskaidrot ar periodonta patoloģijas padziļināšanos. Arī *Holtfreter et al.* (2009) ziņo par nozīmīgu piestiprinājuma zuduma un mērījumu pieaugumu palielinoties pacientu vecumam. 4,7% izmeklēto pacientu vecuma grupā 65-74 gadi to neatzīmēja, jo novēroja daudz zaudētu zobu.

Trūkst zinātnisku datu, lai mūsu pētījumā aplūkoto periodontālā piestiprinājuma zuduma atradni Latvijas populācijā varētu interpretēt un salīdzināt, jo iepriekš šādi izmeklējumi nav veikti. Salīdzinot ar literatūras datiem, piestiprinājuma zudums Latvijas populācijā ir procentuāli augsts, lai gan datus ir grūti salīdzināt konkrētu vecuma grupu sadalījuma trūkuma dēļ. *Susin et al.* (2004) Brazīlijā veiktajā pētījumā vecuma grupā no 30-103 gadiem, piestiprinājuma zudumu ≥ 5 mm un ≥ 7 mm, novēroja attiecīgi 79,0% un 36,0% izmeklēto. Citā pētījumā, kas arī tika veikts Brazīlijā, tika izmeklēts 491 cilvēks vecuma grupā 21-70 gadi. Vismaz vienu atradni ar periodontālā piestiprinājuma zudumu katram indivīdam ≥ 5 mm un ≥ 7 mm, konstatēja attiecīgi 72,1% un 60,9% izmeklēto (*Silva-Boghossian et al.*, 2009), katram vidēji skarot 15,8% virsmu ar piestiprinājuma zudumu 5-6 mm un 9,1 % ar piestiprinājuma zudumu ≥ 7 mm. *Bouchard et al.* (2006) Francijā veiktajā pētījumā piestiprinājuma zudumu lielāku par 5 mm vecuma grupā 35-64 gadi konstatēja 19,7% izmeklēto.

Bouchard et al. (2006) pētījumā konstatēts, ka vecumam un dzimumam ir liela nozīme periodontālā piestiprinājuma zuduma attīstības prognozēšanā, jo lielākoties to novēro vīriešiem gados. *Brothwell et al.* (2009) secina, ka vidējo klīniskā piestiprinājuma līmeni katram indivīdam ietekmē vecums, zobu tīrīšanas un diegošanas biežums, zobakmens daudzums, kā arī cukura diabēts anamnēzē. Mūsu pētījumā šie riska faktori gan nebija noteikti, tālab novērtēt to ietekmi uz Latvijas populācijas periodonta veselību nav iespējams.

Zaudēto zobu skaits

2005. gadā veiktajā pētījumā mēs aplūkojām procentuālo zaudēto zobu skaitu, lai varētu noteikt situāciju valstī. Vecuma grupā 35-44 gadi lielāko procentuālo zaudēto zobu skaitu novērojām pacientiem grupā līdz 4 zobiem un tas sastādīja 29,9%, bet 65-74 gadu vecumā grupā vairāk kā 12 zobi bija zaudēti 71,1% izmeklēto pacientu. Vidējais zobu skaits 35-44 gadu grupā bija divas reizes lielāks ($22,6 \pm 7,53$) par zobu skaitu, kas sastopams vecuma grupā 65-74 gadi ($10,5 \pm 9,74$). Tas norāda, ka 65-74 gadu vecumā lielākai daļai Latvijas iedzīvotāju ir funkcionējošā sakodiena traucējumi, kas apgrūtina dzīves kvalitāti.

Zaudēto zobu skaits Latvijā vecuma grupā 35-44 gadi, salīdzinājumā ar citu valstu datiem, ir augsts. Piemēram, kanādiešu populācijā vidējais zobu skaits 30-49 gadu grupa bija 27,6 (Miller un Locker, 1994), kas ir vidēji par 5 zobiem vairāk. Ungārijā veiktajā pētījumā 73,1% izmeklēto 35-44 gadu grupā konstatēja 21 un vairāk zobu, kas bija procentuāli vairāk kā Latvijā (Madléna et al., 2008). Augstu zaudēto zobu skaitu novēroja Brazīlijā veiktajā pētījumā (Barbato et al., 2007). Šajā pētījumā tika izvērtēts ne tikai zaudēto zobu skaits, bet arī un demogrāfisko un sociālekonomisko faktoru ietekme 35-44 gadu vecuma grupā. Vidējais zaudēto zobu skaits bija 11 un tika atrasta korelācija starp dzimumu, dzīves vietu, zemu sociālekonomisko stāvokli, zemu izglītības līmeni un vecumu.

Miller un Locker (1994) ziņo, ka Kanādas iedzīvotājiem, vecākiem par 65 gadiem, vidējais zobu skaits bija 17,3, kas ir gandrīz divas reizes augstāks rādītājs kā Latvijā. Ungārijā veiktajā pētījumā 65-74 gadu vecuma grupā 21 un vairāk zobu bija 22,6%, mazāk kā 21 – 17,9% un mazāk par 15 – 39,7% (Madléna et al., 2008). Turpretim Latvijā 71,1% izmeklēto pacientu ir zaudēti vairāk kā 12 zobi.

Kopumā valstī mutes dobuma veselības stāvoklis mūsu iedzīvotājiem ir slikts, jo mutes dobuma veselības veicināšanas programmas valsts līmenī darbojas vāji, galvenokārt finansiāla trūkuma rezultātā. Funkcionālā sakodiena atjaunošanai un mutes veselības uzlabošanai ir jāparedz ievērojami lielāks integrētās specializētās zobārstniecības apjoms Latvijā.

Morfofunkcionālais pētījums

Morfoloģiskā aina

Pētījumā, laika posmā no 2007. gada līdz 2009. gadam, tika ieslēgti pacienti, kas izvērtējot iekļaušanas un izlēgšanas kritērijus, atbilda hroniskā periodontīta un kontroles grupas izveides prasībām, tālab pacientu atlasī nevaram uzskatīt par nejaušu. Periodontālās ķirurģijas veikšanas trūkums mūsu pētījumā iekļauto pacientu skaitu sašaurināja, ko mēs varam minēt par nosacītu darba nepilnību. Neskatoties uz to, ka pēc rūpīgas klīniskas un rentgenoloģiskas periodonta izmeklēšanas un kritēriju atbilstamības pacientu iekļaušanai kontroles grupā, piecu pacientu pārskata preparātos konstatējām izteiktu iekaisumu un pacientu materiāls tālākai izmeklēšanai netika izmantots. Tas ļoti nozīmīgi apgrūtināja kontroles grupas izveidi, kā galveno šķērslī minot iekaisumu audos. Arī literatūras dati pierāda, ka no iekaisuma brīvi smaganu audi ir atrodami tikai sterilos apstākļos audzētiem dzīvniekiem (Ericsson et al., 1987) un veseli smaganu audi vienmēr satur atsevišķas iekaisuma šūnas. Arī pacienti ar neapmierinošiem mutes dobuma higiēnas rādītājiem pētījumā netika iekļauti, jo bija nepieciešams veikt periodontālo ķirurģisko ārstēšanu un izteiktā aplikuma klātbūtne apgrūtinātu pēcoperatīvo audu dzīšanu. Tā kā mutes dobuma higiēnas rādītāji gan pēc pasaules datiem (Kinane, 2001; William et al., 2001), gan pēc Latvijas datiem ir vāji (Urtane et al., 1996; Care et al., 2000; Bērziņa un Care, 2003), varam uzskatīt, ka iekaisums smaganu audos viennozīmīgi lielākai populācijas daļai būs atrodams. To arī, veicot detalizētu smaganu audu izmeklēšanu, konstatējām un iegūtie rezultāti to statistiski apstiprināja, ka iekaisums būtiski ietekmē audu atbildes reakciju gan kontroles, gan hroniskā periodontīta grupā.

Kontroles grupas materiālā iekaisuma šūnas bija saistaudos un intraepitēliāli, pārsvarā rievās epitēlijā. Tas izskaidrojams ar palielinātu rievās epitēlija caurlaidību salīdzinājumā ar smaganu epitēliju, kura virsma ir daļēji pārragota. Smaganu epitēlija virsējais slānis kavē baktēriju un to produktu nokļūšanu saistaudos, turpretī rievās epitēlijs to pieļauj.

Hroniskā periodontīta grupas preparātos saistaudos bija novērojams hronisks iekaisuma šūnu infiltrāts, kas sastāvēja no makrofāgiem, plazmocītiem un limfocītiem. Iekaisuma smaguma pakāpi raksturoja iekaisuma šūnu daudzums attiecībā pret saistaudu matrici. Novērojām gan atsevišķus blīvi infiltrētus iekaisuma rajonus, gan arī ļoti izteiktas saistaudu pārmaiņas, kad

starp iekaisuma šūnām bija atrodami blīvi kolagēno šķiedru kūļi (fibroze). Pieļaujam, ka iekaisuma mediatoru stimulē augstākminēto saistaudu remodelāciju. Tas norāda arī, ka, piemēram, citokīnu ekspresija vēl tikai vairāk piesaista iekaisuma šūnas un padziļina iekaisuma smaguma pakāpi (Graves un Jiang, 1995; Graves un Cochran, 2003).

Izteikta iekaisuma gadījumā smaganu audos novērojām fibrotiskas pārmaiņas, kas acīmredzot veidojas izmainītu epiteliāli/mezenhimālo attiecību pārmaiņu rezultātā. Audos konstatējām daļēju bazālās membrānas destruktiju. Epiteliālās šūnas bija zaudējušas kontaktus ar blakusesošajām šūnām un saistaudu stroma bija iekļuvusi epitēlija struktūrā, kā arī epiteliālās šūnas izaugumu veidā migrējušas dziļi saistaudu stromā. *Kantarci et al.* (2006) ziņo, ka saistaudu augšanas faktora paaugstināta ekspresija fibrotisku smaganu epiteliālajās šūnās, veicina vēl izteiktāku fibrotiskā procesa attīstību. Fibrozes rezultātā tiek izmainīta dažādu vielu un signālmolekulu difūzija starp epitēliju un saistaudiem, kas pastiprina patomorfoloģisko ainu.

Vienā kontroles materiālā novērojām „attālinātu” no epitēlija iekaisuma reakciju saistaudos. Iekaisuma infiltrāts bija dziļi saistaudu struktūrā, kas liecina par iekaisuma procesa hronizāciju un iekapsulēšanos un to, iespējams, izsauc imunoloģiski procesi, kas uztur konstantu imūnās atbildes reakciju pret bakteriālu kairinājumu. *Eastcott et al.* (1990) ziņo, ka Thelper - 2 šūnām piemīt aizsargājoša nozīme periodontāla iekaisuma attīstībā un, ka lēnā iekaisuma progresijas gaita periodontālajos audos, ir šīs Th2 šūnu darbības rezultātā. Lai arī attālinātā iekaisuma aina mūsu pētījumā konstatēta kontroles grupas smaganu epitēlijā, jāņem vērā, ka šo grupu mēs nodēvējām par nosacītās kontroles grupu, jo iekaisums tajā ir klātesošs. Arī tādām pretiekaisuma citokīnam kā interleikīns - 4 (IL-4) piemīt spēja iekaisumu periodontālajos audos ierobežot, jo tas regulē Thelper -1 šūnas, bloķē interleikīna - 2 darbību un interferona gamma sekrēciju (Reinhardt et al., 1989). Audu destruktija tiek ierobežota un iekaisums attīstās ļoti lēni. Samazinātas IL-4 ekspresijas rezultātā zūd nosacītā audu homeostāze, iekaisums kļūst aktīvs un strauji progresē.

Sonic hedgehog gēns (Shh)

Shh atradām gan smaganu, gan rievās epitēlijā gan pacientu, gan nosacītajā kontroles grupā. Iegūtie rezultāti uzrādīja statistisku ticamību starp kontroles un hroniskā periodontīta grupām, kur Shh ekspresija izteiktāka bija tieši kontroles grupā. Ekspresiju novērojām gan

perēķļveidīgi, gan izkļiedus epiteliocītu šūnu citoplazmās. Literatūras datus par Shh darbību un ekspresijas biežumu pieauguša cilvēka periodontālajos audos netradām. Paši šos iegūtos rezultātus saistām ar Shh spēju regulēt šūnu ciklu, ko tas var veikt, ja piesaistas *Patched* (Ptc) ģimenes receptoriem, aktivējot *Smoothed* (Smo) transmembrānas proteīnu (Barnes et al., 2001; Oliver et al., 2003). Šī proteīna ekspresija ir nomākta Shh signāla trūkuma gadījumā (McMahon, 2000). Neskatoties uz to, ka Shh darbības mehānisms šūnas cikla regulācijā nav vēl pilnībā izpētīts, ir atrasts, ka tas veicina šūnu proliferāciju, regulējot ciklīna D1 darbību (Oliver et al., 2003). Shh gēns veicina cilvēku keratinocītu proliferāciju *in vitro* un *in situ*, neitralizējot ciklīnatkarīgo kināzi, kas ir iesaistīta fizioloģiskā augšanas ierobežošanā (Fan un Khavan, 1999). Iespējams, Shh funkcija ir arī nodrošināt audu reģenerāciju, jo tas ir iesaistīts šūnu cikla regulācijā. Shh ekspresiju novēroja arī elpceļu epitēlijā, kurā noritēja dzīšanas process (Stewart et al., 2003; Watkins et al., 2003).

Mūsu pētījumā Shh ekspresija nebija ierobežota kāda konkrēta epitēlija slāņa robežās, kas, iespējams, norāda uz šūnu fenotipa iespējamo maiņu hroniska iekaisuma gadījumā. Tomēr Shh spēja ietekmēt intraepitēliālu šūnu diferenciāciju, sākot no bazālā slāņa līdz virsējam, joprojām nav pilnībā izziņāta.

Muscle segment homebox gēns (Msx 2)

Msx2 gēna ekspresiju konstatējām gan smaganu, gan rievās epitēlijā. Izteiktāku Msx2 pozitīvo šūnu daudzumu novērojām smaganu epitēlijā un vairāk tieši pacientiem. Vienā gadījumā konstatējām Msx2 gēna ekspresiju smaganu epitēlijā esošajos makrofāgos. Statistiski ticamu atšķirību starp pacientu un kontroles grupām neieguvām.

Iespējams, ka mūsu pacientiem Msx2 ekspresija saistaudos un to šūnās saistās ar šī rajona balstaudu un pašu saistaudu reģenerāciju patoloģiskos iekaisuma apstākļos, tomēr tas vēl būtu jāpierāda, nosakot gēnu saistošos receptorus.

Datus par šī gēna ekspresiju pieauguša cilvēka smaganu un rievās epiteliocītos literatūras datus neatradām. Lielākā daļa pētījumu balstās uz šī gēna iespējamo funkciju izpēti agrīnās zoba attīstības laikā. Šis gēns ir Msx gēnu ģimenes loceklis un tā ekspresiju regulē kaula morfoģenētiskie proteīni Bmp2 un Bmp4 (Chen et al., 1996; Bei un Maas, 1998). Vēl Msx gēnu ģimenē iekļauts Msx1, bet šie gēni savstarpēji atšķiras pēc to piesaistīšanās spējām DNS spirālei un transkripcionālās aktivitātes.

Nav izslēgts, ka izmaiņas Msx2 gēna izstrādāto specifisko signālu rezultātā var izsaukt dažādu ļaundabīgu audzēju attīstība mutes sejas žokļu rajonā, jo tā ekspresija pieauguša cilvēka organismā netiek ierobežota un tam piemīt proliferatīva ietekme uz šūnām. Šo hipotēzi apstiprina literatūras dati, ka ameloblastomas audu izpēte imūnhistoķīmiski uzrāda šī gēna esamību un šī audzēja metastazēšanos un/vai atgriezeniskumu varētu skaidrot ar tā variablu ekspresiju epiteliālajās šūnās (Carinci et al., 2003; Malewski et al., 2005). Arī *Takahashi et al.* (1998) ziņo par Msx2 gēna izolāciju no dažādu audzēju šūnām, pārsvarā no karcinomas audzēja. *Hamada et al.* (2007), pretēji augstākminētajiem literatūras datiem, konstatējis Msx2 nomācošu darbību uz audzēju šūnām.

Bar homebox 1 gēns (Barx1)

Smaganu un rievās epitēlijā gan hroniskā periodontīta, gan kontroles grupas gadījumā konstatējām variablu Barx1 gēna ekspresiju. Smaganu epitēlijā ieguvām statistiski ticamu atšķirību starp kontroles un pacientu grupām, novērojot izteiktāku Barx1 ekspresiju pacientiem. Pārsteidzošā ekspresija mūsu pētītajā smaganu audu materiālā liecina par šī gēna darbību arī pieaugušu cilvēku dzīves laikā. Literatūrā sastopamie pētījumi lielākoties veikti, izmantojot eksperimentālos dzīvniekus to embrionālās vai agrīnās attīstības laikā, tāpēc iegūtos datus interpretēt ir grūti.

Pelei Barx1 atrasts žaunu loku, saišu, molāru zobu papillu un kuņģa sienā (Tissier- Seta et al., 1995; Barlow et al., 1999; Kim et al., 2005). Celulārās adhēzijas molekulas un II tipa kolagēns pastiprina Barx1 ekspresiju mezenhimālu šūnu sakopojumos. Tā nozīme kraniofaciālajā attīstībā noteikta, izmantojot zebraszivs modeli un konstatēts, ka Barx1 tiek ekspresēts kraniālajā nervu korē un žaunu loku skrimšļos. Eksperimentāli samazinot Barx1 ekspresiju, novēroja skrimšļa audu zudumu žaunu lokos un mikrognātijas attīstību bez apoptotiskā procesa pastiprināšanās šūnās. Tas liecina, ka Barx1 ir nepieciešams šūnu proliferācijā un hondrocītu diferenciācijā. Pētījumā tika konstatēta FGF un BMP signālmolekulu nozīme žaunu loku attīstībā un šo faktoru ietekme uz Barx1 ekspresiju. FGF ir nepieciešams Barx1 gēna nepārtrauktai ekspresijai žaunu lokos skrimšļa rajonos (Barlow et al., 1999).

Iespējams, Barx1 ekspresiju mūsu pētījuma hroniskā periodontīta grupas smaganu un rievās epitēlijā veicinājis tieši FGF, jo arī iekaisuma gadījumā noris periodontālā reģenerācija, ko

stimulē FGF caur saviem receptoriem. Visticamāk, ka Barx1 gēna nozīme pieauguša cilvēka audos ir saistīta ar tā piedalīšanos šūnas cikla regulācijā un šūnu proliferācijā. Tas varētu izskaidrot Barx1 un FGF mijiedarbību, nodrošinot periodontālo audu reģenerāciju un audu homeostāzi iekaisuma apstākļos.

Nukleārais transkripcijas faktors kappa beta (NF-κB)

Mūsu pētījumā NF-κB ekspresija smaganu epitēlijā gan pacientu, gan kontroles grupā bija pārsteidzoši vāja un rievās epitēlijā to vispār nekonstatējām. Tas liecina par to, ka, lai arī iekaisums gan pacientu, gan arī nosacītajā kontroles grupā ir klātesošs, darbojas mums nenoskaidroti kompensatori bloķējoši mehānismi, kas pretēji NF-κB, atbild par periodontālo audu struktūru, uzbūvi un funkcijām, ar mērķi uzturēt homeostāzi un nomāc iekaisuma radītās izmaiņas. Šī atradne ir pretrunā ar datiem, ka tieši NF-κB ir viens no hroniskā iekaisumā iesaistītajiem transkripcijas faktoriem, kas veicina iekaisuma attīstību, nomācot apoptozi, jo izstrādā dažādus pretapoptotiskus proteīnus (Lizzul et al., 2005).

NF-κB aktivāciju, iespējams, nomāc mūsu pētījumā analizētā pretiekaisuma citokīna interleikīna -10 izteiktā ekspresija gan hroniskā periodontīta, gan kontroles grupā smaganu un rievās epitēlijā. Ir pierādīts, ka šī citokīna izteiktā ekspresija iekaisuma skartajos audos asociējas ar zemāku slimības aktivitāti (Lappin et al., 2001; Garlet et al., 2004). Literatūrā gan šādu korelāciju starp NF-κB un IL-10 neaplūko, tādēļ šis mūsu atradums vērtējams kā novators un oriģināls.

NF-κB aktivē *toll-like* receptori, kas lielā skaitā atrasti uz epiteliālo šūnu virsmas (Ren et al., 2005). Tie ir galvenie receptori baktēriju atpazīšanā, jo reaģē uz bakteriālo produktu lipopolisaharīdiem un baktēriju dezoksiribonukleīnskābi. Arī periodontālo baktēriju izstrādātie produkti izsauc *toll-like* receptoru aktivāciju uz mutes dobuma šūnu un imūno šūnu virsmas un tādējādi attīstās virkne intercelulāro signālu (Asai et al., 2001). Šo receptoru ietekmes rezultātā uz NF-κB, tiek iedarbināti iekaisuma un imūnie procesi, kam seko izteikta citokīnu, hemokīnu un dažādu enzīmu produkcija periodontīta skartajos audos (Bascones et al., 2005). Aktivētais nukleārais faktors kappa beta ietekmē proinflammatoro gēnu transkripciju un tas attiecīgi ieslēdz ģenētiskās kontroles mehānismus periodontīta attīstībā (Huang et al., 2004). Tādējādi, ja būtu iespējams panākt NF-κB darbības neitralizāciju, varētu samazināt periodontīta ģenētiskās attīstības risku.

Nervu augšanas faktors (NGF)

Hroniskā periodontīta slimniekiem atradām pārliecinošu nervu augšanas faktora ekspresiju smaganu epitēlijā, turpretī pusei kontroles grupas pacientu šī faktora ekspresiju nenovēroja nemaz. Pārējā kontroles grupas materiālā dominēja atsevišķas NGF pozitīvās šūnas redzes laukā. Statistiskā ticamība apstiprināja šo likumsakarību, ka tieši iekaisuma skartajos audos tā ekspresija ir izteiktāka. Mūsu pētījumā hroniskā periodontīta grupā to ekspresēja epiteliocīti vidēji izteiktā daudzumā. Arī literatūrā min, ka epiteliocīti ir vienas no šūnām, kas izstrādā un atbrīvo NGF caur TrK tirozīnkināzes receptoriem (Micera et al., 2003, 2004). Šo augšanas faktoru ekspresē arī citas šūnas kā fibroblasti, keratinocīti, endotēlija šūnas, neitrofilie leukocīti, makrofāgi, limfocīti, tuklās šūnas un ir atklāts, ka NGF ir kā vienojošs faktors starp šūnām, kas ir iesaistītas audu dzīšanas procesā. Paaugstināta NGF ekspresija audos regulē brūču dzīšanu un veicina audu remodelāciju hroniska iekaisuma gadījumā, veicinot epitelizāciju un saistaudu augšanu (Kawamoto un Matsuda, 2004). Tas liecina, ka nervu augšanas faktoram piemīt epiteliālo šūnu migrācijas un proliferācijas regulatora funkcijas. Šī mitogēnā aktivitāte NGF piemīt pateicoties tiešai ietekmei uz integrīnu produkciju un netiešai darbībai, veicinot epiteliālā augšanas faktora ekspresiju un funkciju audos (Di Marco et al., 1993). Bez šīs audu atjaunojošās funkcijas tam piemīt arī spēcīga pretapoptotiska darbība, ko tas realizē caur nerva augšanas faktora receptoru p75 (Descamps et al., 2001).

Aizvien vairāk literatūrā atrod datus par NGF nozīmi brūču dzīšanā un audu atjaunošanā jeb remodelācijā, ko tas veic kopā ar profībrogēniem faktoriem (Desmouliere et al., 1995, 1997). *In vitro* un *in vivo* pētījumi liecina, ka fibroblasti ir vieni no NGF mērķa šūnām dzīstošu audu rajonos un, ka fibrotiskos audos ādā, plaušās un radzenē imunohistoķīmiski atrod NGF un tā receptorus - TrK tirozīnkināzi un nervu augšanas receptoru p75 (Micera et al., 2001). Audu remodelācija ir dinamisks process audos, kur atrod arī granulācijas audu veidošanos.

NGF ekspresija hroniskā periodontīta grupas paraugos liecina par šī augšanas faktora nozīmi audu remodelācijas un dzīšanas procesos periodontālajos audos. Lai arī mūsu pētījumā NGF ekspresiju slimnieku grupā novērojām epiteliocītu citoplazmā, noteikti, ka šis faktors koordinē citu šūnu saskaņotu darbību periodontālajos audos. Tādējādi pētījumā konstatētās

fibrotiskās izmaiņas iekaisuma skartajos smaganu audos korelē ar NGF ekspresiju tajos, jo tas veicina fibrotisku procesu un granulācijas audu veidošanos fibroblastu stimulācijas rezultātā. Interesanti, ka vienā kontroles grupas smaganu epitēlija paraugā konstatējām NGF ekspresiju atsevišķās neiroendokrīnajās šūnās, kas epitēlijā bija izvietotas izkliedus nelielā ierobežotā rajonā. *Tachibana* un *Nawa* (2002) ziņo, ka šāda veida neiroendokrīnās šūnas mutes dobuma epitēlija bazālā slānī ekspresē dažādus neiroendokrīnus marķierus un neuropeptīdus, kas nepieciešami neirālās aktivitātes uzturēšanai.

Nervu augšanas faktora receptors p75 (NGFRp75)

Mūsu pētījumā hroniskā periodontīta grupā un kontroles grupā NGFRp75 tika ekspresēts tikai bazālā slānī šūnās gan smaganu, gan rievās epitēlijā. Smaganu epitēlijā dominēja izteikta ekspresija, turpretī rievās epitēlijā tā bija variabla no vidēji daudz NGFRp75 pozitīvām šūnām līdz pat izteikti daudzām redzes laukā.

NGFRp75 ir viens no astoņiem TNF α receptoriem, kas ir iesaistīti šūnu diferenciācijā, augšanā un proliferācijā (*Nakamura et al.*, 2007). *Fantini et al.* (1995) viens no pirmajiem ziņoja par šī receptora ekspresiju bazālā slānī šūnās un to, ka šis receptors varētu tikt izmantots kā mutes dobuma gļotādas neiroķīmiskais marķieris. Tas tiek uzskatīts arī par potenciālu keratinocītu cilmes šūnu marķieri ne tikai mutes dobuma gļotādā (*Nakamura et al.*, 2007), bet arī barības vada gļotādā (*Okumura et al.*, 2003). *Hatakeyama et al.* (2007) ziņoja par NGFRp75 izteikto ekspresiju smaganu un rievās epitēlija bazālā slānī iztīpumos, un autors apgalvo, ka šī slānī šūnas satur cilmes šūnas, kas nodrošina nepārtrauktu smaganu epitēlija atjaunošanos. *Ghazizadeh* un *Taichman* (2005) gadā konstatējis izkaisītu cilmes šūnu atrašanos gar bazālo membrānu. Arī mutes dobuma *lichen planus* gadījumā novēro pozitīvu NGFRp75 šūnu ekspresiju bazālajā slānī, kas liecina par nepārtrauktu epitēlija atjaunošanos un dod iespēju kontrolēt šīs slimības gaitu (*Hayashi et al.*, 2008).

Bez šīs šūnu saglabāšanas funkcijas, NGFRp75 piemīt arī spēcīga apoptozi izraisoša spēja. Tas ir viens no šūnu nāves receptoriem (*Aschenasy*, 2002). Šī NGFRp75 funkcija aktivizējas, ja tas uz šūnu virsmas tiek ekspresēts viens pats, bez TrK tirozīnkināzes receptoru klātbūtnes. Ja šūna NGFRp75 receptoru ir ekspresējusi, bet šis receptors nav izveidojis kompleksus ar TrK tirozīnkināzes receptoriem, konkrētā šūna nolemta programmētai šūnas nāvei. *Hayashi et*

al. (2008) pētījumā secināts, ka mutes dobuma *lichen planus* destruktīvo potenciālu ierobežo vienlaicīga uz šūnas virsmas ekspresēto NFGRp75 un TrK tirozīnkināzes receptoru klātbūtne. Mūsu analizētajā materiālā izteiktā NFGRp75 ekspresija, visticamāk, saistīta ar reģeneratīvo potenciālu. Arī hroniskā periodontīta gadījumā, neskatoties uz dažādu iekaisuma veicinošu citokīnu darbību, kas izsauc smaganu audu remodelāciju, bazālā slāņa šūnas ir proliferētspējīgas.

Statistisku ticamību starp pacientu un kontroles grupām nevienā no epitēlijiem atrast neizdevās. To varētu skaidrot ar šī receptora divējādo (proliferatīvo un tieši pretēji apoptotisko) dabu un darbību gan veselos smaganu audos, gan hroniska iekaisuma skartos audos.

Insulīna augšanas faktora receptors - I (IGF-IR)

Gan slimnieku, gan kontroles grupas smaganu epitēlija materiāla paraugos konstatējām variablu IGF-IR ekspresiju (no atsevišķām šūnām redzes laukā līdz pat ļoti daudz pozitīvām struktūrām). Rievas epitēlijā izteiktāku ekspresiju novērojām tieši pacientiem gadījuma grupā. Statistiskas atšķirības netika atrastas ne smaganu, ne rievas epitēlijā starp pacientu un kontroles grupām, tomēr, iespējams, ka šo variablu ekspresiju var izskaidrot ar citu dažādu faktoru ietekmi uz periodontu.

Baserga (1999) ziņo, ka IGF-IR ekspresiju audos ietekmē bāziskais fibroblastu augšanas faktors, kas mūsu pētījumā epitēlijā tika ekspresēts spēcīgāk smaganu epitēlijā hroniskā periodontīta grupas paraugos. Otrkārt, šo dažādo ekspresijas līmeni vēl varētu skaidrot ar IGF pretapoptotisko darbību, kuru tas veic, ja izveido kompleksus ar IGF-IR (Hernandez-Sanchez et al., 1997). Tā kā šūnu dzīves ciklu un dzīvildzi ietekmē arī citi faktori, piemēram, NGF un tā receptors, IGF-IR ekspresija uz šūnu virsmas varētu būt ierobežojoša, ar mērķi regulēt šūnu nomaiņas ātrumu.

Vienam pacientam konstatējām izteiktu IGF-IR ekspresiju ne tikai uz epiteliocītu virsmas polimorfo šūnu slānī, bet arī ļoti izteiktu uz bazālā slāņa šūnām un tas, iespējams, ir ar mērķi ierobežot reģeneratīvo potenciālu. Visbeidzot arī hroniskā iekaisuma gaita smaganu audos varētu būt variablās IGF-IR ekspresijas iemesls.

Fibroblastu augšanas faktors (FGF)

Vairākiem hroniskā periodontīta pacientiem smaganu epitēlijā konstatējām dažas un vidēji daudz FGF pozitīvas šūnas, turpretī rievās epitēlijā šī faktora ekspresija bija ļoti vāja. Arī statistiski ticamu atšķirību nenovērojām ne smaganu, ne rievās epitēlija materiālā. Pozitīvas bija šūnu citoplazmas, vietām šūnu citolemmas un ekspresiju novēroja izteiktāk polimorfo šūnu slānī. Arī *Takayama et al.* (2002) veiktajā pētījumā novēroja FGF ekspresijas pastiprināšanos smaganu epitēlijā virzienā no raga slāņa uz bazālo slāni. Atšķirībā no mūsu pētījumā iegūtajiem datiem, *Takayama* un līdzstrādnieku pētījumā FGF ekspresija tika novērota tikai uz šūnu citolemmām. Ir pierādīts, ka smaganu epiteliocīti paši neekspresē FGF mRNS un, ka šis faktors neaktīvā stāvoklī atrodas starpšūnu telpā. Šis augšanas faktors starpšūnu telpā ir piestiprinājies pie heparīnsulfāta proteīnglukonāta un nodrošina nepieciešamo smaganu epiteliocītu homeostāzi, diferenciāciju un/vai brūču dzīšanu (Takayama et al., 2002). Heparīnsulfāta proteoglikāns pasargā FGF no degradācijas, tādējādi ļaujot tam saglabāt bioloģisko ietekmi. *Takayama et al.* (2002) smaganu audu materiālu apstrādāja ar heparināzi un FGF ekspresija materiālā izteikti samazinājās, kas liecina par heparīnsulfāta proteoglikāna nozīmi.

Pētījumi pierādījuši, ka, lokāli aplicējot FGF, iespējams panākt kaula jaunveidošanos aplikācijas vietā un tas ir izrādījies efektīvs līdzeklis apgrūtinātas brūču dzīšanas gadījumā. Arī pētījumos ar *beagle* suņiem un pērtiķiem lokāla FGF aplicēšana uz eksperimentāli izveidota kaula defekta, uzlabojusi audu dzīšanu un periodontālo reģenerāciju (Takayama et al., 2001; Murakami et al., 2003; Sørensen et al., 2006). Būtiski, ka šī lokālā FGF uzklāšana brūces rajonā nav radījusi epitēlija iesaģšanu audos, ankilozi vai saknes rezorbciju. Tas liecina, ka FGF ir svarīgs periodontālās reģenerācijas veicinātājs un ka tas ietekmē un regulē smaganu epitēlija šūnu funkcijas.

FGF atradne mūsu pētītajā smaganu audu materiālā liecina, ka arī izteikta iekaisuma gadījumā hroniskā periodontīta pacientiem novēro periodontālo audu reģenerāciju.

Intercelulārā adhēzijas molekula - 1 (ICAM-1)

Šī intercelulārās adhēzijas molekula mūsu pētījuma smaganu epitēlija materiālā hroniskā periodontīta audos tika ekspresēta izteikti daudz. Arī *Nakayamada et al.* (2003) ziņo, ka ICAM-1 sastopamības biežums ir nozīmīgi paaugstināts iekaisuma rajonos. Tā ekspresiju iekaisuma rajonos veicina dažādi patogēni mikroorganismi, kas hroniska periodontīta

gadījumā procentuāli augstā līmenī sastopami gan periodontālās kabatās, gan arī smaganu audos (Huang et al., 1996). ICAM-1 uzdevums ir rekrutēt neitrofilos leukocītus uz iekaisuma rajonu, lai varētu uzsākt aktīvu, imunoloģisku atbildi pret bakteriālo kairinājumu un tā izsauktajām izmaiņām audos.

Šo likumsakarību arī mūsu pētījumā apstiprina statistiskā ticamība, ko novērojām smaganu epitēlijā. Lai arī ICAM-1 ekspresiju konstatējām arī rievās epitēlijā, tomēr statistiski ticamus rezultātus starp pacientu un kontroles grupām neieguvām, acīmredzot izteiktās šūnu izkliedes rezultātā. Būtiski, ka ICAM-1 ekspresija kontroles grupas materiālā liecina par iekaisuma esamību periodontā arī šajā grupā, kas vērtējams kā jauns un oriģināls pierādījums.

Interleikīns - 10 (IL-10)

Mūsu pētījumā konstatējām pārliecinoši izteiktu un statistiski ticamu IL-10 ekspresiju hroniskā periodontīta pacientu smaganu epitēlijā salīdzinot ar kontroles grupu.

Hroniska periodontīta gadījumā tiek izstrādāti tādi citokīni kā IL-1, prostaglandīns E2 (PGE-2) un IL-10. Interleikīns-1 un prostaglandīns E2 rada labvēlīga vidi Langerhansa šūnu jeb antigēnpresentējošo šūnu nobriešanai, kas vēlāk migrē uz limfoidajiem orgāniem un aktivē T limfocītus (Banchereau un Steinman, 1998). IL-10, tieši pretēji nomāc, šo šūnu migrāciju, piedalās imunosupresijā un veicina Langerhansa šūnu pārveidošanos makrofāgos (Iwasaki un Kelsall, 1999). Tādējādi izteikto IL-10 ekspresiju hroniskā periodontīta pacientu grupā varam izskaidrot ar organisma spēju šīs slimības attīstību ierobežot. Ir pierādīts, ka šī pretiekaisuma citokīna izteiktā ekspresija periodontīta skartajos audos asociējas ar zemāku slimības aktivitāti (Lappin et al., 2001; Garlet et al., 2004).

Interesanti, ka šūnapvalki izteiktāk bija iekrāsoti tieši bazālā slāņa šūnām, kas norāda uz iekaisuma šūnu migrācijas bloķēšanu bazālā virzienā, tādējādi ierobežojot iekaisuma progresiju. Arī palielinātā IL-10 ekspresija kontroles grupas materiālā gan smaganu, gan rievās epitēlijā liecina par esošā iekaisuma smaguma pakāpi smaganu audos. Mūsuprāt, tieši IL-10 vērtējams kā iekaisuma klātbūtni apliecinošs faktors smaganu audos.

β defensīni

Smaganu epitēlijā novērojām β defensīna ekspresiju gan kontroles, gan hroniskā periodontīta grupā un izteiktāka tā bija pacientiem. Šī atšķirība gan nav statistiski ticama acīmredzot lielās

pozitīvo šūnu izklīdes dēļ. Tomēr rievās epitēlijā β defensīna ekspresija tika konstatēta abu grupu paraugos, iegūstot statistiski atšķirīgus rezultātus. *Dale et al.* (2001) apstiprina šī defensīna ekspresiju gan smaganu, gan rievās epitēlijā. Arī citos orgānos kā ādā, trahejā, kungī atrasti β defensīni (*Mathew et al.*, 1999). Epiteliālās šūnās β defensīni tiek atbrīvoti mikroorganismu iedarbības rezultātā. Defensīni darbojas kā hemokīni un signālmolekulas, jo atbild uz antigēnspecifisko šūnu kairinājumu. To ekspresijas līmenis variē atkarībā no baktēriju un proinflammatoro citokīnu daudzuma (*Bowdish et al.*, 2005).

Interesanti, ka mūsu pētījumā β defensīns tika ekspresēts ne tikai epiteliocītu citoplazmā, bet arī uz šūnu virsmas. *Dale et al.* (2001) konstatēja β defensīnu ekspresiju diferencētās polimorfā slāņa šūnās. *Matsuzaka et al.* (2006) pētījumā noteica β defensīna ekspresiju dažādos epitēlija slāņos un iegūtos rezultātus salīdzināja ar pacienta vecumu. Interesanti, ka vecākiem cilvēkiem β defensīna ekspresija novērojama izteiktāk virsējā epitēlija slānī, bet jaunākiem polimorfo šūnu slānī. To skaidroja ar to, ka vecākiem cilvēkiem atsevišķas virsējā slāņa šūnas jau uzrāda keratinizācijas pazīmes, epitēlija šūnu nomaiņa norisinās lēnāk un novēro metaboliskus traucējumus proteīna diferenciacijā. Mūsu pētījumā novērojām izteiku β defensīna ekspresiju tieši polimorfo un virsējo šūnu slānī, kas, iespējams, saistīta ar izteiktu antimikrobā peptīda sintēzes stimulāciju iekaisuma apstākļos un intraepiteliālās infiltrācijas dēļ.

Apoptoze

Apoptoze bija novērojama hroniskā periodontīta un kontroles pacientu smaganu un rievās epitēlijā ar tendenci būt izteiktākai tieši hroniskā periodontīta pacientiem. Atradām, ka apoptozes process izteiktāk norisinās smaganu epitēlijā, kur apoptotisko šūnu vidējais skaits ir lielāks. Apoptozes process norit dabīgi, kad diferencētās šūnas nonākušas epitēlija virspusē un šūnu dzīves cikls tuvojas noslēgumam. Tomēr vienā kontroles pacienta paraugā konstatējām perēkļveidīgu apoptozes procesu tuvāk bazālajai membrānai un hromatīna perinukleāru kondensācija apoptotiskajās šūnās bija ļoti izteikta. Interesanti, ka vienā hroniskā periodontīta grupas paraugā apoptozi nevarējām atrast. Tas liecina par apoptotiskā procesa ierobežojumu laikā un, lai arī tas skar audus vienmēr, ir brīži, kad tas noris straujāk kā atbilde kādam izteiktam stimulētājfaktoram. Arī apoptotiskā procesa intensitāte dažādām šūnām variēja viena parauga robežās, ko izskaidro fakts, ka daudzas šūnas vienlaicīgi iziet apoptotisko

procesu, bet dažādos laika intervālos. Šie dati ir pretrunā dažu autoru minēto, ka apoptozes process novērojams vien dažas stundas (De Martinis et al., 2007), bet, iespējams, tas atkarīgs no audu veselības stāvokļa. *Jarnbring et al.* (2002) veiktajā pētījumā vairāk apoptotisko šūnu tika atrasts tieši smaganu epitēlijā, salīdzinot ar rievas epitēliju gan hroniskā periodontīta, gan kontroles grupas pacientiem. Tikai visapikālākajā rievas epitēlija daļā, kur tas robežojas ar saistepitēliju, apoptotisko šūnu skaits pārsniedza proliferatīvo šūnu daudzumu pacientiem ar hroniskā periodontīta diagnozi. Vēl šajā pētījumā konstatēja, ka no visām bazālā slāņa šūnām smaganu un rievas epitēlijā, proliferēt spējīgi bija tikai 5-12% keratinocītu. *Koulouri et al.* (1999) un *Sawa et al.* (1999) ziņo, ka apoptoze ir dabīga parādība iekaisušos periodontālajos audos, jo tā ir iesaistīta iekaisuma procesā un ir atrodama pozitīva korelācija smaganu audu destrukcijas smaguma pakāpei ar apoptotisko šūnu daudzumu. Apoptozi izsauc organisma aizsardzības mehānismi, kā arī mikrobiālie faktori (Peter et al., 1997; Gamonal et al., 2001). Tādējādi iegūtie apoptozes rādītāji liecina par smaganu un rievas epitēlija aktīvu spēju reaģēt uz bakteriālā aplikuma izsaukto iekaisumu, kas kopumā nodrošina audu homeostāzi. Iespējams, smaganu epitēlijs, kas vairāk reaģē uz tiešu antigēndarību, ātrāk sāk arī atbildes reakciju, bet rievas epitēlijs, kurā ir būtiska antenālo mazdiferencēto šūnu rezerve, tik ātri programmētai šūnu nāvei nepakļaujas.

7. Secinājumi

1. Vecuma grupā 35-44 gadi vesels periodonts ir tikai 13,9% izmeklēto, kas liecina par vājiem periodonta veselības rādītājiem, jo periodontālās kabatas, kā arī piestiprinājuma līmeņa zudums ir galvenā atradne šajā vecuma grupā.
2. Latvijas populācijā vecuma grupā 65-74 gadi salīdzinot ar 35-44 gadu vecumu, periodonta veselība pasliktinās, sekstantu skaits ar smaganu asiņošanu, zobakmeni un periodontālajām kabatām samazinās, kā arī piestiprinājuma zudums novērojams retāk, jo atrod daudz vairāk zaudētu zobu.
3. Lielākajai Latvijas populācijas pētītajai daļai iekaisums smaganu audos ir persistējošs, kas ir gaidīta, oriģināla un būtiska atradne. To apstiprina arī izteiktā ICAM atradne smaganu un rievās epitēlijā hroniskā periodontīta grupā, kas liecina par organisma aktīvo atbildes reakciju uz bakteriālas dabas kairinājumu, veicinot iekaisuma šūnu hemotaksi uz iekaisušiem audiem. Hroniskā periodontīta smaganu audu materiāls uzrāda visas audu iekaisumam raksturīgās morfoloģiskās pazīmes, kā bazālo šūnu hiperplāziju, audu infiltrāciju ar iekaisuma šūnām un saistaudu remodelāciju (fibrozi).
4. Hroniskā periodontīta grupā novēro izteiktu Barx1 ekspresiju smaganu epitēlijā un dažās šūnās rievās epitēlijā, kā arī variablu FGF ekspresiju abos epitēlijos, kas liecina par iespējamo fibroblastu augšanas faktora Barx1 ekspresijas stimulāciju, nodrošinot periodontālo audu reģenerāciju un audu homeostāzi iekaisuma apstākļos, piedaloties šūnu cikla regulācijā un šūnu proliferācijā.
5. Variablā Shh ekspresija gan smaganu, gan rievās epitēlijā hroniskā periodontīta pacientiem saistāma ar šī gēna literatūrā aprakstīto spēju regulēt šūnu ciklu un, iespējams, arī ar neviendabīgo audu reģenerāciju iekaisuma apstākļos, kā arī vēl citām nezināmām funkcijām.
6. NF-κB pārsteidzoši vājā ekspresija smaganu un rievās epitēlijā un subepitēlijā, skatoties uz persistējošo iekaisumu, liecina par kādu vēl nenoskaidrotu šī iekaisuma marķiera bloķējošo

mehānismu, kas prasa tālāku izpēti un, iespējams, saistās ar izteiktu interleikīna-10 ekspresiju.

7. Hroniskā periodontīta grupā smaganu un rievās epitēlijā ir augsts apoptotisko šūnu skaits, kas liecina par abu epitēliju aktīvu spēju reaģēt uz bakteriālā aplikuma izsaukto iekaisumu, iespējams kompensējot fibrozes rašanos. Tomēr nervu augšanas faktora ekspresija hroniskā periodontīta pacientu smaganu epitēlijā liecina par nosacītu apoptozes bloķēšanu paralēli šī augšanas faktora nozīmei audu dzīšanas procesā.
8. Interleikīna-10 ekspresija smaganu epitēlijā bazālā slāņā šūnapvalkos liecina par šī citokīna aktīvu, lokālu iekaisuma šūnu ierobežojošu un imunosupresējošu darbību periodontālajos audos, bloķējot iekaisuma šūnu migrāciju caur bazālo slāni.
9. IGF-IR ekspresija uz šūnu virsmas hroniskā periodontīta grupā ir vāja, kas liecina, ka tā pretapoptotisko darbību ierobežo citi faktori, piemēram, NGF un tā receptors. Hroniskā iekaisuma smaguma pakāpe smaganu audos, iespējams, saistās ar dažādo IGF-IR ekspresiju, kas korelēja ar NF- κ B un FGF rādītājiem.
10. β defensīna ekspresija galvenokārt epitēlija virsējos slāņos liecina par izteiktu antimikrobā peptīda sintēzes stimulāciju iekaisuma apstākļos hroniskā periodontīta pacientiem.
11. Hroniskā periodontīta pacientiem smaganu epitēliju raksturo **ļoti izteikta** ICAM-1 atradne, **izteikta** Barx1 gēna, IL-10, β defensīna un NGFR ekspresija, kā arī **vidēji daudz** NGF un **tikai dažas** Shh gēna un FGF pozitīvas šūnas. Kopumā tas liecina par visumā nelielu gēnu ekspresiju, savdabīgu iekaisuma norisi ar galveno citokīnu apregulāciju, bet NF- κ B nomākumu, izteiktu antimikrobo aktivitāti, inervāciju stimulējošo augšanas faktoru ekspresiju, bet saistaudus stimulējošo augšanas faktoru nomākumu. Izteiktā apoptoze smaganu epitēlijā liecina par ātru atbildes reakciju, aizsargājot epitēliju no iekaisuma attīstības. Svarīgākie marķieri: Shh, Barx1, Shh, NGF, IGF-IR, FGF.
12. Hroniskā periodontīta pacientiem rievās epitēlijā ir **ļoti izteikta** IL-10 ekspresija, **izteikta** β defensīna atradne, **vidēja** NGFR un ICAM-1 ekspresija, kā arī **dažas** Barx1 un IGF-IR

pozitīvas šūnas. Intensīvi izstrādājot augstākminēto antimikrobiālo peptīdu un pretiekaisuma citokīnus, rievas epitēlijs galvenokārt aizsargā zemākesošos saistaudus no aplikuma izsauktā iekaisuma, ierobežojot iekaisuma progresēšanu aiz bazālās membrānas, uz ko norāda arī samazinātie augšanas faktori. Apoptozes rādītāji, salīdzinot ar smaganu epitēliju, ir vājāki, kas liecina, ka rievas epitēlijs tik ātri programmētai šūnu nāvei nepakļaujas. Svarīgākie marķieri: Shh, ICAM-1, IL-10, β defensīns.

Kopsavilkums

2005. gadā Latvijā veiktais pētījums apstiprina, ka periodonta veselība vecuma grupā 65-74 gadi, salīdzinot ar 35-44 gadu vecuma grupu, pasliktinās. Izmeklēto sekstantu skaits ar smaganu asiņošanu, zobakmeni un periodontālajām kabatām, kā arī piestiprinājuma zudumu ir mazāks, jo procentuāli novēro daudz vairāk zaudētu zobu 65- 74 gadu vecuma grupā.

Esam konstatējuši, ka smaganu audiem ir raksturīgs relatīvs iekaisuma stāvoklis, kur dominē iekaisuma procesi un tie acīmredzot saistās ar izmaiņām faktoru ekspresijā. Smaganu epitēlijā hroniskā periodontīta pacientiem dominē ļoti izteikta ICAM-1 un izteikta Barx1 gēna, IL-10, β defensīna un NGFR atradne, turpretī rievas epitēlijā ļoti izteikti tika ekspresēti tikai IL-10 un izteikti β defensīns. Tas liecina, ka smaganu epitēlijs ne tikai aktīvi reaģē uz bakteriālā kairinājuma izsauktām izmaiņām, bet arī spēcīgi cīnās ar iekaisuma radītajām sekām visā epitēlija biezumā, nodrošinot audu reģenerāciju pat izteikta iekaisuma apstākļos, turpretī rievas epitēlijs galvenokārt aizsargā zemākesošos saistaudus no aplikuma izsauktā iekaisuma, izstrādājot augstākminēto antimikrobiālo peptīdu un pretiekaisuma citokīnu, kas cenšas ierobežot iekaisuma progresiju aiz bazālās membrānas. Datu korelācija konstatēta netika, kaut gan atsevišķos gadījumos tika atrasta dažu faktoru iespējamā savstarpējā mijiedarbība. Mūsuprāt, pārsteidzoši vāmajai vai pat neesošajai transkripcijas faktora NF- κ B ekspresijai smaganu un rievas epitēlijā, ir tendence būt saistītai ar izteikto pretiekaisuma citokīna IL-10 ekspresiju, kā arī Barx1 gēna izteiktā atradne hroniskā periodontīta pacientu smaganu epitēlija materiālā, saistāma ar FGF ekspresiju, tādējādi nodrošinot audu reģenerāciju iekaisuma apstākļos. Šo korelāciju statistisko trūkumu var skaidrot ar smaganu un rievas epitēliju pietiekoši tuvu novietojumu un šī morfoloģisko pārmaiņu atbilde abu epitēliju grupās ir diezgan viendabīga. Savukārt, oriģināli ir dati par Shh, kura ekspresija hroniskā periodontīta

pacientiēm būtiski samazinās, patlaban ir grūti skaidrojama un prasa tālāku padziļinātu par šo gēnu pētījumu.

10. Darba novitāte

1. Pirmo reizi Latvijas iedzīvotājiem noteikts periodontālā pietiprinājuma zudums un zaudēto zobu skaits.
2. Pirmo reizi Latvijā noteiktas gēnu, augšanas un transkripcijas faktoru, citokīnu, šūnas adhēzijas molekulu, antimikrobo peptīdu un apoptozes procesa kvantitatīvās un kvalitatīvās izmaiņas smaganu un rievu epitēlijā hroniskā periodontīta pacientiem.

9. Pateicības

Es izsaku sirsnīgu pateicību abiem saviem zinātniskajiem vadītājiem, profesorei, Dr. habil. med., Dr. med. Mārai Pilmanei un profesorei, Dr. med. Rūtai Carei par mana promocijas darba vadīšanu, par sniegtajiem padomiem un ieteikumiem, par atbalstu, iedrošinājumu un pacietību darba tapšanā.

Liels paldies RSU Stomatoloģijas institūta vadītājai profesorei, Dr. med. Ilgai Urtānei par sirsnību un atbalstu visā pētniecības darba laikā. Sirsnīga pateicība par statistisku datu apstrādi un palīdzību darba noformēšanā Irēnai Rogovskai.

Liels paldies RSU Anatomija un antropoloģijas institūta Morfoloģijas laborantei Natālijai Morozai un Jeļenai Fjodorovai par histoloģisko preparātu sagatavošanu un vērtīgajiem padomiem. Pateicos RSU Anatomija un antropoloģijas institūta tehniskajam darbiniekam Jānim Brēdem par atsaucību fotogrāfiju veikšanā.

Sirsnīga pateicība Doktorantūras nodaļas lietvedei Kristīnes Švānei par atsaucību doktorantūras laikā.

Liels paldies maniem RSU Stomatoloģijas institūta periodontoloģijas nodaļas kolēģiem par sapratni un lielo atsaucību darba tapšanā.

Mīļi pateicos savai ģimenei par atbalstu un iedrošinājumu.

10. Vėres

1. Albandar JM, Brunelle JA, Kingman A. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. // J Periodontol 1999; 70(1): 13-29.
2. Albandar JM, Rams TE. Risk factors for periodontitis in children and young persons. // Periodontology 2000 2002; 29: 207-222.
3. Aleksejuniene J, Holst D, Balciunienė I: Pattern of dental caries and treatment experience in elderly Lithuanians. // Gerodontology 2000; 17: 77-86.
4. Alikhani M, Alikhani Z, He H. Lipopolysaccharides indirectly stimulate apoptosis and global induction of apoptotic genes in fibroblasts. // J Biol Chem 2003; 278: 52901–8.
5. Altman DG. Practical statistics for medical research. – London: Chapman & Hall. 1999, 611.
6. Ambili R, Santhi WS, Janam P. Expression of activated transcription factor nuclear factor-kappa B in periodontally diseased tissues. // J Periodontol 2005; 76: 1148–53.
7. Andreakos E, Sacre S, Foxwell BM. The toll-like receptor-nuclear factor kappa B pathway in rheumatoid arthritis. // Front Biosci 2005; 10: 2478–88.
8. Asai Y, Ohyama Y, General K, Ogawa T. Bacterial fimbriae and their peptides activate human gingival epithelial cells through Toll-like receptor 2. // Infect Immun 2001; 69: 7387–95.
9. Ashkenazi A. Targeting death and decoy receptors of the tumour-necrosis factor superfamily. // Nat Rev Cancer 2002; 2: 420–430.
10. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. // Nature 1998; 392: 245.

11. Bantel H, Beikler T, Flemmig TF, Schulze-Osthoff K. Caspase activation is involved in chronic periodontitis. // FEBS Lett 2005; 579: 5559–64.
12. Barlow AJ, Bogardi JP, Ladher R, Francis-West PH. Expression of chick Barx1 and its differential regulation by FGF-8 and BMP signalling in maxillary primordial. // Dev Dyn 1999; 214: 291-302.
13. Barnes PJ, Karin M. NF- κ B. A pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases // N Eng J Med 1997; 336: 1066-1071.
14. Barnes EA, Kong M, Ollendirff V, Donoghue DJ. Patched 1 interacts with cyclin B1 to regulate cell cycle progression. // EMBO J 2001; 20:2214–2223.
15. Bascones A, Gamonal J, Gomez M. New knowledge of the pathogenesis of periodontal disease. // Quintessence Int 2004; 35: 706–716.
16. Bascones A, Noronha S, Gomez M. Tissue destruction in periodontitis: bacteria or cytokines fault? // Quintessence Int 2005; 36: 299–306.
17. Barbato PR, Muller Nagano HC, Zanchet FN. Tooth loss and associated socioeconomic, demographic and dental-care factors in Brazilian adults: an analysis of the Brazilian Oral Health Survey, 2002-2003. // Cad Saude Publica 2007; 23(8): 1803-14.
18. Baserga R. The IGF-I receptor in cancer research. // Exp Cell Res 1999; 253:1–6.
19. Bartold PM, Narayanan AS. Biology of periodontal connective tissues. // Quintessence books, USA, 1998; 160-162.
20. Bei M, Maas R. FGFs and BMP4 induce both Msx1-independent and Msx1-dependent signalling pathways in early tooth development. // Development 1998; 125: 4325–4333.
21. Berdal A, Molla M, Hotton D. Different Impact of Msx1 and Msx2 Homeogenes on mouse maxillofacial skeleton. // Cells Tissues Organs 2008; 16: 79-86.
22. Bērziņa S., Care R. Periodonta patoloģiju izplatība pusaudžiem Latvijā 1993.un 2001.gadā.// RSU Zinātniskie raksti 2003; 437-441.
23. Bevilacqua MP, Stengelin S, Gimbrone MA. Endothelial leukocyte adhesion molecule 1: an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins. // Science 1989; 243: 1160–1165.
24. Bouchard P, Boutouyrie P, Mattout C, Bourgeois D. Risk assessment for severe clinical attachment loss in an adult population. // J Periodontol 2006; 77(3): 479-89.

25. Borrell LN, Burt BA, Neighbors HW, Taylor GV. Social factors and periodontitis in an older population. // *Am J Public Health* 2004; 94: 748-754.
26. Bourgeois D, Bouchard P, Mattout C. Epidemiology of periodontal status in dentate adults in France, 2002-2003. // *J Periodontal Res* 2007; 42(3): 219-27.
27. Bourgeois D, Nihtila A, Mersel A: Prevalence of caries and edentulousness among 65–74 year olds in Europe. // *Bull World Health Organ* 1998; 76: 413-417.
28. Bowdish DM, Davidson DJ, Scott MG, Hancock RE: Immunomodulatory activities of small host defense peptides. // *Antimicrob Agents Chemother* 2005, 49(5): 1727-1732.
29. Bozkurt FY, Yetkin AZ, Berker E. Anti-inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid in patients with periodontitis and rheumatoid arthritis: a preliminary report. // *Cytokine* 2006; 35: 180–185.
30. Brodeur J.M., Benigeri M., Naccache H., Olivier m., Payette M. Trends in the level of edentulism in Quebec between 1980 and 1993 // *Can Dent Assoc* 1996; 62: 159-160,162-166.
31. Brothwell D, Ghiabi E. Periodontal health status of the Sable Bay First Nation in Manitoba, Canada. // *Int J Circumpolar Health* 2009; 68(1): 23-33.
32. Brown LJ, Loe H. Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease. // *Periodontology* 2000; 2: 57-71.
33. Budtz-Jorgensen E. Epidemiology. In: *Dental and prosthetic status of older adults*. Chicago: Quintessence, 1999;1-21.
34. Cai G, Kastelein RA, Hunter CA. IL-10 enhances NK cell proliferation, cytotoxicity and production of IFN-gamma when combined with IL-18. // *Eur J Immunol* 1999; 29: 2658–2665.
35. Care R, Bērziņa S, Grīnvalde I, Senakola E. Periodonta slimību izplatība Latvijā // *RSU Zinātniskie raksti* 2000; 175-179.
36. Carinci F, Francioso F, Rubini C. Genetic portrait of malignant granular cell odontogenic tumour. // *Oral Oncol* 2003; 39(1): 69-77.

37. Chang KM, Lehrhaupt N, Lin LM, Feng J, Wu-Wang CY, Wang SL. Epidermal growth factor in gingival crevicular fluid and its binding capacity in inflamed and non-inflamed human gingiva. // *Arch Oral Biol* 1996; 41: 719-724.
38. Chen LF, Greene WC. Shaping the nuclear action of NF-kappaB. // *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 392-401.
39. Chen Y, Bei M, Woo I. Msx1 controls inductive signalling in mammalian tooth morphogenesis. // *Development* 1996; 122: 3035–3044.
40. Chiang C, Litingtung Y, Lee E. Cyclopia and defective axial patterning in mice lacking Sonic hedgehog gene function. // *Nature* 1996; 383: 407-413.
41. Chuong CM, Patel N, Lin J. Sonic hedgehog signaling pathway in vertebrate epithelial appendage morphogenesis: perspectives in development and evolution. // *Cell Mol Life Sci* 2000; 57: 1672-1681.
42. Clerehugh V, Tugnait A. Diagnosis and management of periodontal diseases in children and adolescents. // *Periodontology* 2000 2001; 26: 146-168.
43. Commins S, Steinke JW, Borish L. The extended IL-10 superfamily: IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, and IL-29. // *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1108–1111.
44. Dale BA. Periodontal epithelium: a newly recognized role in health and disease. // *Periodontol* 2000 2002; 30: 70-78.
45. Dale BA, Kimball JR, Krisanaprakornkit S. Localized antimicrobial peptide expression in human gingiva. // *J Periodontal Res* 2001; 36: 285-294.
46. Davidson D. The function and evolution of Msx genes: pointers and paradoxes. // *Trends Genet* 1995; 11: 405-12.
47. De Martinis M, Franceschi C, Monti D, Ginaldi L. Apoptosis remodeling in immunosenescence: implications for strategies to delay ageing. // *Curr Med Chem* 2007; 14(13): 1389-97.
48. Demmer RT, Desvarieux M. Periodontal infections and cardiovascular disease: the heart of the matter. // *J Am Dent Assoc* 2006; 137: 14S–20S.
49. Descamps S, Toillon RA, Adriaenssens E, Pawlowski V, Cool SM, Nurcombe V. Nerve growth factor stimulates proliferation and survival of human breast cancer cells through two distinct signaling pathways. // *J Biol Chem* 2001; 276: 17864–70.

50. Desmouliere A, Redard M, Darby I, Gabbiani G. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar. // *Am J Pathol* 1995; 46: 56–66.
51. Desmouliere A, Badid C, Bochaton-Piallat ML, Gabbiani G. Apoptosis during wound healing, fibrocontractive diseases and vascular wall injury. // *Int J Biochem Cell Biol* 1997;29:19–30.
52. Diasmond DL, Kimball JR, Krisanaprakornkit S. Detection of β defensins secreted by human oral epithelial cells. // *J Immunol Methods* 2001; 256: 65-76.
53. Di Marco E, Mathor M, Bondanza S, Cutuli N, Marchisio PC. Nerve growth factor binds to normal human keratinocytes through high and low affinity receptors and stimulates their growth by a novel autocrine loop. // *J Biol Chem* 1993; 268: 22238–846.
54. Eastcott JW, Yamashita K, Taubman MA, Smith DJ. Characterization of rat T-cell clones with bacterial specificity. // *Immunology* 1990; 71:120–126.
55. Echelard Y, Epstein DJ, St-Jacques B. Sonic hedgehog, a member of a family of putative signaling molecules, is implicated in the regulation of CNS polarity. // *Cell* 1993; 75: 1417-1430.
56. Edwards PC, Ruggiero S, Fantasia J. Sonic hedgehog gene-enhanced tissue engineering for bone regeneration. // *Gene Ther* 2005; 12(1): 75-86.
57. Ericsson I, Lindhe J, Liljenberg B, Persson AL. Lack of bacterial invasion in experimental periodontitis. // *J Clin Periodontol.* 1987; 14(8): 478-85.
58. Etzioni A, Frydman M, Pollack S. Brief report: recurrent severe infections caused by a novel leukocyte adhesion deficiency. // *N Engl J Med* 1992; 327: 1789–1792.
59. Fahnestock M, Yu G, Coughlin MD. ProNGF: a neurotrophic or an apoptotic molecule? // *Prog Brain Res* 2004; 146: 101–10.
60. Fan H, Khavari PA. Sonic hedgehog opposes epithelial cell cycle arrest. // *J Cell Biol* 1999; 147: 71–76.
61. Fantini F, Gianetti A, Benassi I, Cattaneo V, Magnoni C, Pincelli C. Nerve growth factor receptor and neurochemical markers in human oral mucosa: an immunohistochemical study. // *Dermatology* 1995; 190: 186-191.

62. Friedewald VE, Kornman KS, Beck JD, Genco R. The American Journal of Cardiology and Journal of Periodontology Editors' Consensus: Periodontitis and Atherosclerotic Cardiovascular Disease. // J Periodontol 2009; 80: 1021-1032.
63. Fillatreau S, Gray D, Anderton SM. Not always the bad guys: B cells as regulators of autoimmune pathology. // Nat Rev Immunol 2008; 8: 391-397.
64. Fischer U, Janicke RU, Schulze-Osthoff K. Many cuts to ruin: a comprehensive update of caspase substrates. // Cell Death Differ 2003; 10: 76-100.
65. Fox CH, Jette AM, McGuire SM, Douglass CV. Periodontal disease among New England elders. // J Periodontology 1994; 65: 676-684.
66. Gamonal J, Bascones A, Acevedo A. Apoptosis in chronic adult periodontitis analyzed by in situ breaks, electron microscopy, and immunohistochemistry. // J Periodontol 2001; 72: 517-525.
67. Garant P, Mulvihill J. The ultrastructure of leukocyte emigration through the sulcular epithelium in the beagle dog. // J Periodontal Res 1971; 6: 266-277.
68. Garlet GP, Cardoso CR, Silva TA. Cytokine pattern determines the progression of experimental periodontal disease induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* through the modulation of MMPs, RANKL, and their physiological inhibitors. // Oral Microbiol Immunol 2006; 21: 12-20.
69. Garlet GP, Martins W, Jr Fonseca BA. Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. // J Clin Periodontol 2004; 31: 671-679.
70. Gao J, Jordan TW, Cutress TW. Immunolocalisation of basic fibroblast growth factor (bFGF) in human periodontal ligament (PDL) tissue. // J Periodontol Res 1996; 31:260-264.
71. Gemmell E, Carter CL, Seymour GJ. Chemokines in human periodontal disease tissues. // Clin Exp Immunol 2001; 125: 134-41.
72. Gemmell E, Walsh LJ, Savage NW, Seymour GJ. Adhesion molecule expression in chronic inflammatory periodontal disease tissue. // J Periodontal Res 1994; 29: 46-53.
73. Ghazizadeh S, Taichman LB. Organisation of stem cells and their progeny in human epidermis. // J Invest Dermatol 2005; 124: 367-372.

74. Givol D, Eswarakumar VP, Lonai P. Molecular and cellular biology of FGF signaling. In: Epstein CJ, Erickson RP, Wynshaw-Boris A, editors. Inborn errors of development – the molecular basis of clinical disorders of morphogenesis. // Oxford University Press 2003; 367–79.
75. Gould DG, Walter MA. Cloning, characterisation, localisation, and mutation screening of human BARX1 Gene. // Genomics 2000; 68: 336–342.
76. Graham A, Francis-West P, Brickell P. The signalling molecule BMP4 mediates apoptosis in the rhombencephalic neural crest. // Nature 1994; 372: 684–686.
77. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. // J Periodontol 2003; 74: 391–401.
78. Graves DT, Jiang Y. Chemokines, a family of chemotactic cytokines. // Crit Rev Oral Biol Med 1995; 6: 109–118.
79. Hamada S, Satoh K, Hirota M, Kimura K. Bone morphogenic protein 4 induces epithelial-mesenchymal transition through Msx2 induction on pancreatic cancer cell line. // J Cell Physiol 2007; 213(3): 768–74.
80. Hamasha A.A., Hand J.S., Levy S.M. Medical conditions associated with missing teeth and edentulism in the institutionalized elderly // Spec Care Dentist 1998;18:123-127.
81. Hammerschmidt M, Brook A, McMahon AP. The world according to hedgehog. // Trends Genet 1997; 13: 1-42.
82. Hart TC, Kornman KS. Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. // Periodontol 2000 1997; 14: 202-15.
83. Hatakeyama S, Yaegashi T, Takeda Y, Kunitatsu K. Localisation of bromodeoxyuridine-incorporating, p63- and p75-expressing cells in the human gingival epithelium. // Journal of Oral Sciences 2007; 49(4): 287-291.
84. Hayashi K, Karatsaidis A, Schreurs O, Bjørnland T, Sugisaki M, Schenck K. NGF and its receptors TrkA and p75NTR in the epithelium of oral lichen. // J Oral Pathol Med 2008; 37(4): 241-8.
85. Hernandez-Sanchez C, Werner H, Roberts CT et al. Differential Regulation of Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I) Receptor Gene Expression by IGF-I and Basic Fibroblastic Growth Factor. // J Biol Chem 1997; 272 (8): 4663–4670.

86. Hescot P, Bourgeois D, Doury J: Oral health in 35–44 year old adults in France. // *Int Dent J* 1997, 47: 94-99.
87. Hock JM, Krishnan V, Onyia JE, Bidwell JP. Osteoblast apoptosis and bone turnover. // *J Bone Miner Res* 2001; 16(6): 975-84.
88. Hoffmann A, Baltimore D. Circuitry of nuclear factor kappaB signaling. // *Immunol Rev* 2006; 210: 171–86.
89. Holtfreter B, Schwahn C, Biffar R, Kocher T. Epidemiology of periodontal disease in the study of health in Pomerania. // *J Clin eriodontol* 2009; 36(2): 114-23.
90. Honda T, Domon H, Okui T. Balance of inflammatory response in stable gingivitis and progressive periodontitis lesions. // *Clin Exp Immunol* 2006; 144: 35–40.
91. Hosokawa I, Hosokawa Y, Komatsuzawa H. Innate immune peptide LL-37 displays distinct expression pattern from beta-defensins in inflamed gingival tissue. // *Clin Exp Immunol* 2006; 146: 218–225.
92. Huang GT, Eckmann L, Savidge TC. Infection of human intestinal epithelial cells with invasive bacteria upregulates apical intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 expression and neutrophil adhesion. // *J Clin Investig* 1996; 98: 572–583.
93. Huang GT, Zhang HB, Dang HN, Haake SK. Differential regulation of cytokine genes in gingival epithelial cells challenged by *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis*. // *Microb Pathog* 2004; 37: 303–12.
94. Hunter T. Signaling—2000 and beyond. // *Cell* 2000; 100: 113–27.
95. Hsu S, Raine L, Fanger H. The use of antiavidin antibody and avidin-biotin peroxidase complex in immunoperoxidase technics. // *Am J Clin Pathol* 1981; 75: 816.
96. Ingham PW, McMahon AP. Hedgehog signaling in animal development: paradigms and principles. // *Genes Dev* 2001; 15: 3059-3087.
97. Israsena N, Kessler JA. Msx2 and p21(CIP1/WAF1) mediate the proapoptotic effects of bone morphogenetic protein-4 on ventricular zone progenitor cells. // *J Neurosci Res* 2002; 69: 803–809.
98. Ivanovski S, Haase HR, Bartold PM. Isolation and characterisation of fibroblasts derived from regenerating human periodontal defects. // *Arch Oral Biol* 2001; 46: 679-688.

- 99.** Iwasaki A, Kelsall B. Freshly isolated Peyer's patch, but not spleen, dendritic cells produce interleukin 10 and induce the differentiation of T helper type 2 cells. // *J Exp Med* 1999; 190: 229.
- 100.** Jarnbring F, Somogyi E, Dalton J. Quantitative assessment of apoptotic and proliferative gingival keratinocytes in oral and sulcular epithelium in patients with gingivitis and periodontitis. // *J Clin Periodontol* 2002; 29(12): 1065–1071.
- 101.** Jernvall J, Aberg T, Kettunen P. The life history of an embryonic signaling center: BMP-4 induces p21 and is associated with apoptosis in the mouse tooth enamel knot. // *Development* 1998; 125: 161–169.
- 102.** Kalluri R, Neilson EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest* 2003; 112: 1776–84.
- 103.** Kantarci A, Black S, Xydas C, Murawel P, Uchida Y, Yucekal-Tuncer B, Atilla G, Emingil G, Uzel M, Lee A, Firatli E, Sheff M, Hasturk H, Van Dyke T, Trackman P. J. Epithelial and connective tissue cell CTGF/CCN2 expression in gingival fibrosis. // *Pathol* 2006; 210: 59–66.
- 104.** Karin M. How NF-kappaB is activated: The role of the IkappaB kinase (IKK) complex. // *Oncogene* 1999; 18: 6867-74.
- 105.** Kawamoto K, Matsuda H. Nerve growth factor and wound healing. // *Prog Brain Res* 2004;146: 369–84.
- 106.** Kim BM, Buchner G, Miletich I. The stomach mesenchymal transcription factor Barx1 specifies gastric epithelial identity through inhibition of transient Wnt signaling. // *Dev Cell* 2005; 8: 611–622.
- 107.** Kinane DF. Periodontal diseases in children and adolescents: introduction and classification.// *Periodontology* 2000 2001; 26: 7-15.
- 108.** Koulouri O, Lappin DF, Radvar M. Cell division, synthetic capacity and apoptosis in periodontal lesions analysed by in situ hybridisation and immunohistochemistry. // *J Clin Periodontol* 1999; 26: 552–559.
- 109.** Krustup U, Petersen PE. Periodontal conditions in 35-44 and 65-74-year-old adults in Denmark. // *Acta Odontol Scand* 2006; 64(2): 65-73.

- 110.Lambiase A, Micera A, Sgrulletta R. Nerve growth factor and the immune system: old and new concepts in the cross-talk between immune and resident cells during pathophysiological conditions. // *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2004; 4: 425–30.
- 111.Lappin DF, MacLeod CP, Kerr A. Anti-inflammatory cytokine IL-10 and T cell cytokine profile in periodontitis granulation tissue. // *Clin Exp Immunol* 2001; 123: 294–300.
- 112.Larjava H, Haapasalmi K, Salo T, Wiebe C, Uitto V-J. Keratinocyte integrins in wound healing and chronic inflammation of the human periodontium. // *Oral Dis* 1996; 2: 77–86.
- 113.Lawman MJ, Boyle MD, Gee AP, Young M. Nerve growth factor accelerates the early cellular events associated with wound healing. // *Exp Mol Pathol* 1985; 43: 274–81.
- 114.Lawen A. Apoptosis-an introduction. // *Bioessays* 2003; 25: 888–96.
- 115.Li N, Karin M. Signaling pathways leading to nuclear factor-kappa B activation. Methods. // *Enzymol* 2000; 319: 273-9.
- 116.Lindhe J, Rylander H. Experimental gingivitis in young dogs. // *Scand J Dent Res* 1975; 83: 314-326.
- 117.Listgarten MA. Normal development, structure and physiology and repair of gingival epithelium. // *Oral Sci Rev* 1972; 1: 3-67.
- 118.Lizzul PF, Aphale A, Malaviya R. Differential expression of phosphorylated NF- κ B/RelA in normal and psoriatic epidermis and downregulation of NF- κ B in response to treatment with etanercept. // *Journal of Investigative Dermatology* 2005; 124(6): 1275–1283.
- 119.Los M, Wesselborg S, Schulze-Osthoff K. The role of caspases in development, immunity, and apoptotic signal transduction: lessons from knockout mice. // *Immunity* 1999; 10: 629–639.
- 120.Lu H, Mackenzie IC, Levine AE. Transforming growth factor- β response and expression in junctional and oral gingival epithelial cells. // *J Periodontal Res* 1997; 32: 682-691.
- 121.Lu Q, Samaranayake LP, Darveau RP, Jin L. Expression of human beta-defensin-3 in gingival epithelia. // *J Periodont Res* 2005; 40: 474–481.
- 122.Mackenzie IC. Factors influencing the stability of the gingival sulcus. // *Periodontology today* 1988: 41–49.

123. MacKenzie A, Ferguson MWJ, Sharpe PT. Expression patterns of the homeobox gene, Hox-8, in the mouse embryo suggest a role in specifying tooth initiation and shape. // *Development* 1995; 115: 403-420.
124. Mackenzie IA, Gao Z. Patterns of cytokeratin expression in the epithelia of human gingiva and periodontal pockets. // *J Periodontal Res* 1993; 28: 49–59.
125. Madléná M, Hermann P, Jahn M, Fejérdy P. Caries prevalence and tooth loss in Hungarian adult population: results of a national survey. // *Public Health* 2008; 8: 364.
126. Malewski T, Milewitz T, Krzysiek J, Gregoraszczuk EL, Augustowska K. Regulation of Msx2 gene expression by steroid hormones in human nonmalignant and malignant breast cancer explants cultured in vitro. // *Cancer Invest* 2005; 23(3): 222-8.
127. Mann HB, Whitney DR (1947). On a test whether one or two random variables is statistically larger than the other. // *Annals of mathematical statistics* 18: 50-60.
128. Mariotti A. Dental Plaque – induced gingival diseases. // *Ann Periodontol* 1999; 4:7-17.
129. Mathew M, Jia HP, Guthmiller JM, Coch G, Graham S, Jonson GL. Production of β defensin antimicrobial peptides by oral mucosa and salivary glands. // *Infect Immunol* 1999; 67: 2740-2745.
130. Matsuzaka K, Sato D, Ichimara K, Hachimoto S. Age related differences in localisation of β defensins in human gingival epithelium. // *Bull Tokyo Dent Coll* 2006; 47 (4): 167-170.
131. McMahon AP. More surprises in the hedgehog signaling pathway. // *Cell* 2000; 100: 185–188.
132. McCollum MA, Sharpe PT. Developmental genetics and early hominid craniodental evolution. // *Bioessays* 2001; 23: 481–493.
133. McGuirk P, Mills KHG. Pathogen-specific regulatory T cells provoke a shift in the Th1/Th2 paradigm in immunity to infectious diseases. // *Trends Immunol* 2002; 23: 450–5.
134. Meyle B, Gonzales J. Influence of systemic disease on periodontitis in children and adolescents. // *Periodontology* 2000 2001; 26: 92-112.

135. Micera A, Vigneti E, Pappo O, Pickholtz D, Reich R, Bonini S. Nerve growth factor displays stimulatory effects on human skin and lung fibroblasts demonstrating a direct role for this factor in tissue repair. // *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98: 6162–7.
136. Micera A, Puxeddu I, Aloe L, Levi-Schaffer F. New Insight on the involvement of nerve growth factor in allergic inflammation and fibrosis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003;14:369–74.
137. Micera A, Lambiase A, Aloe L, Bonini Se, Levi-Schaffer F, Bonini St. Nerve growth factor involvement in the visual system: implications in allergic and neurodegenerative diseases. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004;15:411–7.
138. Micera A, Lambiase A, Puxeddu I, Aloe L, Stampachiacchiere B, Levi-Schaffer F. Nerve growth factor effect on human primary fibroblastic-keratocytes: possible mechanism during corneal healing. // *Exp Eye Res* 2006; 83: 747–57.
139. Miller Y, Locker D. Correlates of tooth loss in canadian adult population. // *Scientific Journal* 1994; 60(6); 549-555.
140. Milward MR, Chapple IL, Wright HJ, Millard JL, Matthews JB, Cooper PR. Differential activation of NF-kappaB and gene expression in oral epithelial cells by periodontal pathogens. // *Clin Exp Immunol* 2007; 148(2): 307-24.
141. Moore KW, de Waal MR, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. // *Annu Rev Immunol* 2001; 19: 683–765.
142. Morris AJ, Steele J, White DA. The oral cleanliness and periodontal health of UK adults in 1998. // *Br Dent J* 2001; 200(10): 557-561.
143. Moughal NA, Adonogianaki E, Thornhill MH, Kinane DF. Endothelial cell leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in gingival tissue during health and experimentally induced gingivitis. // *J Periodont Res* 1992; 27: 623–630.
144. Murakami S, Takayama S, Kitamura M. Recombinant human basic fibroblast growth factor (bFGF) stimulates periodontal regeneration in class II furcation defects created in beagle dogs. // *J Periodontal Res* 2003 Feb; 38(1): 97-103.
145. Nagata S. Apoptotic DNA fragmentation. // *Exp Cell Res* 2000; 256: 12-18.

146. Nakamura T, Endo K, Kinoshita S. Identification of human oral keratinocyte stem/progenitor cells by neurotrophin receptor p75 and the role of neurotrophin/p75 signaling. // *Stem Cells* 2007; 25(3): 628-38.
147. Nakayamada S, Saito K, Fujii K. Beta1 integrin-mediated signaling induces intercellular adhesion molecule 1 and Fas on rheumatoid synovial cells and Fas-mediated apoptosis. // *Arthritis Rheum* 2003; 48: 1239–1248.
148. Negoescu A, Guillermet C, Lorimier P, Brambilla E, Labat-Moleur F. Importance of DNA fragmentation in apoptosis with regard to TUNEL specificity. // *Biomed Pharmacother* 1998; 52(2): 252-8.
149. Ness KH, Norton TH, Dale BA. Identification of Merkel cells in oral epithelium using antikeratin and antineuro- endocrine monoclonal antibodies. // *J Dent* 1987; 66: 1154–1158.
150. Newcomb GN, Powel RN. Gingival Langerhans cells. Human gingival Langerhans cells in health and disease. // *J Periodontal Res* 1986; 21: 640–652.
151. Nybakken K, Perrimon N. Hedgehog signal transduction: recent findings. // *Curr Opin Genet Develop* 2002; 12: 503-511.
152. Nylander K, Danielsen B, Fejerskov O, Dabelsteen E. Expression of the endothelial leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) on endothelial cells in experimental gingivitis in humans. // *J Periodontol* 2003; 64: 355–357.
153. Okumura T, Shimada Y, Imamura M, Yasumoto S. Neurotrophin receptor p75NTR characterizes human esophageal keratinocyte stem cells in vitro. // *Oncogene* 2003: 4017-4026.
154. Oliver TG, Gräsfeder LL, Carroll AL. Transcriptional profiling of the Sonic hedgehog response: A critical role for N-myc in proliferation of neuronal precursors. // *Proc Nat Acad Sci USA*. 2003; 100: 7331–7336.
155. Osella-Abate S, Zaccagna A, Savoia P, Quaglino P, Salomone B, Bernengo MG. Expression of apoptosis markers on peripheral blood lymphocytes from patients with cutaneous T-cell lymphoma during extracorporeal photochemotherapy. // *J Am Acad Dermatol* 2001; 44(1): 40-7.

156. Ouhara K, Komatsuzawa H, Shibata H. Actinobacillus actinomycetemcomitans outer membrane protein 100 triggers innate immunity and production of beta-defensin and 18-kilodalton cationic antimicrobial protein through the fibronectin integrin pathway in human gingival epithelial cells. // Infect Immun 2006; 74: 5211–5220.
157. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE. Advances in pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. // Periodontol 2000 1997; 14: 216-248.
158. Pahl HL. Activators and target genes of Rel/NF- κ B transcription factors. // Oncogene 1999; 18: 6853-6866.
159. Papapanou PN. Periodontal diseases: epidemiology. Proceedings of the 1996 World Workshop in Periodontics. // Ann Periodontol 1996; 1: 1-36.
160. Parkar MH, Kuru L, Giouze M, Olsen I. Expression of growth-factor receptors in normal and regenerating human periodontal cells. // Arch Oral Biology 2002; 46: 275-284.
161. Peter ME, Heufelder AE, Hengartner MO. Advances in apoptosis research. // Proceedings of the National Academy of Sciences 1997; 94: 12736-12737.
162. Petersen PE, Ogawa H. Strengthening the prevention of periodontal disease: The WHO approach. // J Periodontol 2005; 76: 2187-2193.
163. Pietrzak ER, Savage NW, Walsh LJ. Human gingival keratinocytes express E-selectin (CD62E). // Oral Dis 1996; 2: 11–17.
164. Pilmane M, Rumba I, Sundler F, Luts A. Patterns of distribution and occurrence of neuroendocrine elements in lungs of humans with chronic lung diseases // Proc. of Latvian Academy of Sciences, Section B, 1998; 52: 144-152.
165. Prisco M, Romano G, Peruzzi F, Valentinis B, Baserga R. Insulin and IGF-1 receptors signalling in protection from apoptosis. // Horm Metab Res 1999; 31: 80-89.
166. Pycroft JM, Hann A, Moxham BJ. Apoptosis in the connective tissues of the periodontal ligament and gingivae of rat incisor and molar teeth at various stages of development. // Connect Tissue Res 2002; 43: 265–79.

167. Ramieri G, Panzica GC, Viglietti-Panzica C, Modica R, Springall DR, Polak JM. Non-innervated Merkel cells and Merkel-neurite complexes in human oral mucosa revealed using antiserum to protein gene product 9.5. // Arch Oral Biol 1992; 37: 263–269.
168. Reinhardt RA, McDonald TL, Bolton RW, Dubois LM. IgG subclasses in gingival crevicular fluid from active versus stable periodontitis. // J Periodontol 1989; 60: 44–50.
169. Ren L, Leung WK, Darveau RP, Jin L. The expression profile of lipopolysaccharide-binding protein, membrane-bound CD14, and toll-like receptors 2 and 4 in chronic periodontitis. // J Periodontol 2005; 76: 1950–9.
170. Riddle RD, Johnson RL, Laufer E. Sonic hedgehog mediates the polarizing activity of the ZPA. // Cell 1993; 75: 1401-1416.
171. Roelink H, Augsburger A, Heemskerk J. Floor plate and motor neuron induction by vhh-1, a vertebrate homolog of hedgehog expressed by the notochord. // Cell 1994; 76: 761-775.
172. Rosner B. Fundamentals of biostatistics. – New York: Duxbury, 200: 792.
173. Ryan JJ, Kashyap M, Bailey D. Mast cell homeostasis: a fundamental aspect of allergic disease. // Crit Rev Immunol 2007; 27: 15–32.
174. Saitoh M, Abiko Y, Shimabukuro S. Correlated expression of human beta defensin-1, -2 and -3 mRNAs in gingival tissues of young children. // Arch Oral Biol 2004; 49(10): 799-803.
175. Savill J. Apoptosis in resolution of inflammation. // J Leukoc Biol 1997; 61: 375–80.
176. Sawa T, Nishimura F, Ohyama H, Takahashi K, Takashiba S. In vitro induction of activation-induced cell death in lymphocytes from chronic periodontal lesions by exogenous Fas ligand. // Infect Immun 1999; 67: 1450–1454.
177. Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. // Cell 2000; 103: 211–25.
178. Schroeder HE. The periodontium. Berlin: Springer – Verlag, 1986:252-325.
179. Schroeder HE. Differentiation of human oral stratified epithelia. Basel: Karger, 1981.
180. Schroeder HE, Listgarten MA. The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. // Periodontol 2000 1997; 13: 91–120.
181. Sheiham S, Netuveli GS. Periodontal diseases in Europe. // Periodontology 2000 2002; 29: 104-121.

182. Silva-Boghossian CM, Luiz RR, Colombo AP. Periodontal status, sociodemographic, and behavioral indicators in subjects attending a public dental school in Brazil: analysis of clinical attachment loss. // *J Periodontol* 2009; 80(12): 1945-54.
183. Silverman N, Maniatis T. NF- κ B signaling pathways in mammalian and insect innate immunity. // *Genes Dev* 2001; 15: 2321-42.
184. Skudutyte R, Aleksejūniene J, Eriksen HM. Periodontal conditions among Lithuanian adults. // *Acta medica Lituanica* 2002; 1: 57-62.
185. Slade GD, Spencer AJ. Social impact of oral conditions among older adults. // *Aust Dent J* 1994; 39(6): 358-64.
186. Soboļeva U., Rogovska I., Pugacha J. Assessment of the received prosthetic treatment in the Latvian population // *Stomatoloģija*, 2006; 3: 36.
187. Soder PO, Jin LJ, Soder B, Wikner S. Periodontal status in an urban adult population in Sweden. // *Community Dent Oral Epidemiol* 1994; 22(2): 106-11.
188. Sørensen V, Wiedlocha A, Haugsten EM, Khnykin D et al. Different abilities of the four FGFRs to mediate FGF-1 translocation are linked to differences in the receptor C-terminal tail. // *Journal of Cell Science* 2006; 119: 4332-4341.
189. Socransky SS, Haffajee AD, Goodson JM, Lindhe J. New concepts of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1984; 11: 21-32.
190. Soskolne WA, Klinger A. The relationship between periodontal diseases and diabetes: an overview. // *Ann Periodontol* 2001; 6(1): 91-8.
191. Steele J.G., Treasure E., Pitts N.B., Morris J., Bradnock G. Total tooth loss in the United Kingdom in 1998 and implications for the future // *Br Dent J*, 2000; 189: 598-603.
192. Stewart GA, Hoyne G, Ahmad SA. Expression of the developmental Sonic hedgehog (Shh) signaling pathway is up-regulated in chronic lung fibrosis and the Shh receptor patched 1 is present in circulating T lymphocytes. // *J Pathol* 2003; 199: 488-495.
193. Summer AP, Kara N, Keles GC. Association of IL10 gene polymorphisms with severe generalized chronic periodontitis. // *J Periodontol* 2007; 78(3): 493-7.
194. Susin C, Dalla Vecchia CF, Oppermann RV, Haugejorden O, Albandar JM. Periodontal attachment loss in an urban population of Brazilian adults: effect of demographic, behavioral, and environmental risk indicators. // *J Periodontol* 2004; 75(7): 1033-41.

195. Susin C, Oppermann RV, Haugejorden O, Albandar JM. Tooth loss and associated risk indicators in an adult urban population from south Brazil. // *Acta Odontologica Scandinavica* 2005; 63: 85-93.
196. Tachibana T, Nawa T. Recent progress in studies on Merkel cell biology. // *Anat Sci Int* 2002; 77: 26–33.
197. Taguchi Y, Imai H. Expression of beta-defensin-2 in human gingival epithelial cells in response to challenge with *Porphyromonas gingivalis* in vitro. // *J Periodont Res* 2006; 41: 334–339.
198. Takahashi K, Nuckolls GH, Tanaka O. Adenovirus-mediated ectopic expression of Msx2 in even-numbered rhombomeres induces apoptotic elimination of cranial neural crest cells in ovo. // *Development* 1998; 125: 1627–1635.
199. Takayama SI, Yoshida Joji, Hirano H. Effects of basic fibroblast growth factor on human gingival epithelial cells. // *J Periodontol* 2002; 73: 1467-1473.
200. Takayama S, Murakami S, Shimabukuro Y, Kitamura M. Periodontal regeneration by FGF-2 (bFGF) in primate models. // *J Dent Res* 2001; 80(12): 2075-9.
201. Takeuchi Y, Sakurai K, Ike I, Yoshie H. ICAM-1 expressing pocket epithelium, LFA-1-expressing T cells in gingival tissue and gingival crevicular fluid as features characterizing inflammatory cell invasion and exudation in adult periodontitis. // *J Periodontal Res* 1995; 30: 426-435.
202. Taylor GW, Manz MC, Borgnakke WS. Diabetes, periodontal diseases, dental caries, and tooth loss: a review of the literature. // *Compend Contin Educ Dent* 2004; 25: 179–84,186–8,190.
203. Thissen JP, Ketelslegers JM, Underwood LE. Nutrition regulation of the insulin-like growth factors. // *Endocr Rev* 1994; 15: 80–163.
204. Thorpe LW, Werrbach-Perez K, Perez-Polo JR. Effects of nerve growth factor on the expression of interleukin-2 receptors on cultured human lymphocytes. // *Ann N Y Acad Sci* 1987; 496: 310–1.
205. Thorup AK, Dabelsteen E, Schou S, Gil SG, Carter WG, Reibel J. Differential expression of integrins and laminin- 5 in normal oral epithelia. // *APMIS* 1997; 105: 519–530.

206. Tissier-Seta JP, Mucchielli ML, Mark M. Barx1, a new mouse homeodomain transcriptional factor expressed in cranio-facial ectomesenchyme and the stomach. // *Mech Dev* 1995; 51: 3-15.
207. Tobin G, Yee D, Br  nner N, Rotwein P. A novel human insulin-like growth factor I Messenger RNA is expressed in normal and tumor cells. // *Mol Endocrinol* 1990; 4(12): 1914-20.
208. Tonetti MS, Imboden MA, Lang NP. Neutrophil migration into the gingival sulcus is associated with transepithelial gradients of interleukin-8 and ICAM-1. // *J Periodontol* 1998; 69: 1139–1147.
209. Tonetti MS, Straub AM, Lang NP. Expression of the cutaneous lymphocyte antigen and the alpha IEL beta 7 integrin by intraepithelial lymphocytes in healthy and diseased human gingiva. // *Arch Oral Biol* 1995; 40: 1125–1132.
210. Tonetti MS, Cortellini D, Lang NP. In situ detection of apoptosis at sites of chronic bacterially induced inflammation in human gingiva. // *Infect Immun* 1998; 66: 5190–5195.
211. Tucker AS, Matthews KL, Sharpe PT. Transformation of tooth type induced by inhibition of BMP signaling. // *Science* 1998; 282: 1136–1138.
212. Uitto VJ, Airola K, Vaalamo M, Johansson N, Putnins EE, Firth JD, Salonen J, Lopez-Otin C, Saarialho-Kere U, Kahari VM. Collagenase-3 (matrix metalloproteinase-13) expression is induced in oral mucosal epithelium during chronic inflammation. // *Am J Pathol* 1998; 152: 1489–1499.
213. Urt  ne I, Care R, Petersen PE. The 1993 Latvian Section of the WHO Second International Collaborative Study. // *The Study of Oral Health OUTCOMES – Copenhagen* 1996: 175.
214. Vankeerberghen A, Nuytten H, Dierickx K. Differential induction of human beta defensin expression by periodontal commensals and pathogens in periodontal pocket epithelial cells. // *J Periodontol* 2005; 76: 1293–1303.
215. Varjosalo M, Taipale J. Hedgehog: functions and mechanisms. // *Genes Dev* 2008; 22: 2454-2472.

- 216.Vaux DL, Strasser A. The molecular biology of apoptosis. // Proceedings of the National Academy of Sciences 1996; 93: 2239-2244.
- 217.Wang P, Wu P, Siegel MI. Interleukin (IL)- 10 inhibits nuclear factor κ B (NF κ B) activation in human monocytes. // J Biol Chem 1995; 270: 9558–63.
- 218.Wang PL, Shirasu S, Shinohara M. Induction of apoptosis in human gingival fibroblasts by a Porphyromonas gingivalis protease preparation. // Arch Oral Biol 1999; 44: 337–342.
- 219.Warren JJ, Watkins CA, Cowen HJ. Tooth Loss is very old:13-15-year incidence among elderly Iowans. // Community Dent Oral Epidemiol 2002; 30: 29-37.
- 220.Watkins DN, Berman DM, Burkholder SG, Wang B, Beachy PA, Baylin SB. Hedgehog signaling within airway epithelial progenitors and in small-cell lung cancer. // Nature 2003; 422: 313–317.
- 221.Weinberg A, Krisanaprakornkit S, Dale BA. Epithelial antimicrobial peptides: Review and significance for oral applications. // Crit Rev Oral Biol Med 1998; 9: 399-414.
- 222.Werner H, Katz J. The Emerging Role of the Insulin-like Growth Factors in Oral Biology. // J Dent Res 2004; 83(11): 832-836.
- 223.William M, Jenkins M, Papapanou PN. Epidemiology of periodontal disease in children and adolescents. // Periodontology 2000 2001; 26: 16-32.
- 224.Williams LM, Ricchetti G, Sarma U, Smallie T, Foxwell BM. Interleukin-10 suppression of myeloid cell activation – a continuing puzzle. // Immunology 2004; 113: 281–292.
- 225.Yilmaz V, Yentu SP, Saruhan-Direskeneli G. IL-12 and IL-10 polymorphisms and their effects on cytokine production. // Cytokine 2005; 30: 188–194.
- 226.Zhang X, Teng YT. 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. // Infect Immun 2006; 74: 4927–4931.
- 227.Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистология // М. Мир, 1969; 645с.

11. Publikācijas, ziņojumi kongresos un konferencēs par pētījuma tēmu

I Publikācijas

1. Care R., Brinkmane A., Krasone K., Ārne G., **Lauriņa Z.**, Stāmere U. Izmaiņas kariesa intensitātē un periodonta patoloģijās Latvijā 2004./2005. gadā. // RSU Zinātniskie raksti 2007: 365-370.

2. Pugaca J., Urtane I., Liepa A., **Laurina Z.** The relationship between the severity of malposition of the frontal teeth and periodontal health in age 15-21 and 35-44. // Baltic Dental and Maxillofacial Journal, Stomatologija 2007; 9(3): 86-90.
3. **Lauriņa Z.**, Care R., Pugača J., Urtāne I. Periodonta stāvoklis 35-44 un 65-74 gadu vecu iedzīvotāju grupā 2005. gadā Latvijā. // RSU Zinātniskie raksti 2008: 345-350.
4. **Laurina Z.**, Pilmane M., Care R. Genes, transcription factors and periodontal pathologies. // Acta Chirurgica Latviensis 2008; 8: 23-27.
5. **Laurina Z.**, Pilmane M., Care R. Growth factors/cytokines/defensins and apoptosis in periodontal pathologies. // Baltic Dental and Maxillofacial Journal, Stomatologija 2009; 11(2): 48-54.

II Tēzes

Starptautiski recenzētās tēzes:

1. Care R., Brinkmane A., Krasone K., Arne G., **Laurina Z.**, Stamere U. Caries experience and periodontal pathologies in 35-74 year old in Latvia in 2005. // The 1st Baltic Scientific Conference of Dentistry. Pärnu, Estonia, 20-21 October. - 2006. - P. 40.-41.
2. **Laurina Z.**, Pilmane M., Care R. Genes/transcription and growth factors and periodontal pathologies. // Baltic Morphology 4th Scientific Conference. - Institute of Anatomy and Anthropology, Riga, Latvia, 19-20 November. – 2007. – P. 45.
3. **Laurina Z.**, Pilmane M., Care R. Nerve growth factor, nerve growth factor receptor P75, apoptosis and periodontal pathologies. // 7th Congress of Baltic Association for Maxillofacial and Plastic Surgery, Riga, Latvia, 20-22 May. – 2010. - P. 72-73.

Vietējo konferenču tēzes:

1. Care R., Brinkmane A., Krasone K., Arne G., **Laurina Z.**, Stamere U. Izmaiņas kariesa intensitātē un periodonta patoloģijā Latvijā 2004. gadā. // RSU Medicīnas nozares Zinātniskā konference. - Rīga, 2006. gada 2.-3. marts. - 22. lpp.

2. **Lauriņa Z.**, Care R. Periodonta stāvoklis Latvijā 35-44 un 65-74 gadu vecuma grupā 2005. gadā. // RSU Medicīnas nozares Zinātniskā konference. - Rīga, 2007. gada 29.-30. marts. - 30 lpp.
3. **Lauriņa Z.**, Pilmane M., Care R. Augšanas faktoru/iekaisuma marķieru/defensīnu un apoptozes saistība ar periodonta saslimšanām. // RSU Medicīnas nozares Zinātniskā konference. - Rīga, 2008. gada 13.-14. marts. – 193. lpp.
4. **Lauriņa Z.**, Pilmane M., Care R. Gēni, transkripcijas faktori un periodonta patoloģijas. // 6. Latvijas ārstu kongress. - Rīga, 2009. gada 19.-21. jūnijs. – 51. lpp.
5. **Lauriņa Z.**, Pilmane M., Care R. Intercelulārās adhēzijas molekulas - 1, tumornekrozes faktora - α , interleikīna - 10 ekspresija periodontālajos audos. // RSU Medicīnas nozares Zinātniskā konference. - Rīga, 2010. gada 18.-19. marts. - 299. lpp.

III Prezentācijas

1. Lauriņa Z., Care R. Periodonta stāvoklis Latvijā 35-44 un 65-74 gadu vecuma grupā 2005. gadā. Mutisks referāts. Medicīnas nozares Zinātniskā konference. 2007. gada 29.-30. marts. Rīgas Stradiņa Universitāte.
2. Lauriņa Z., Pilmane M., Care R. Augšanas faktoru/iekaisuma marķieru/defensīnu un apoptozes saistība ar periodonta saslimšanām. Mutisks referāts. Medicīnas nozares Zinātniskā konference. 2008. gada 13.-14. marts. Rīgas Stradiņa Universitāte.
3. Laurina Z. Genes, growth and transcription factors and periodontal pathology. Mutisks referāts. Lietuvas periodontologu asociācijas rīkotā konference „Topicality in periodontology”. 2010. gada 27. februāris. Viļņa, Lietuva.
4. Lauriņa Z., Pilmane M., Care R. Intercelulārās adhēzijas molekulas - 1, tumornekrozes faktora- α , interleikīna – 10 ekspresija periodontālajos audos. Mutisks referāts. Medicīnas nozares Zinātniskā konference. 2010. gada 18.-19. marts. Rīgas Stradiņa Universitāte.

RSU ĒTIKAS KOMITEJAS LĒMUMS

Rīga, Dzirciema iela 16, LV-1007
Tel.409173

Komitejas sastāvs	Kvalifikācija	Nodarbošanās
1. Prof. L. Feldmane	Dr. habil. med.	patologs
2. Doc. G. Ancāne	Dr.med.	psihoterapeits
3. Prof. L.AberbergaAugškalne	Dr. habil.med.	fiziologs
4. Doc. A.Skutelis	Dr. med.	farmakologs
5. Doc. I Bārene	Dr.pharm.	farmaceits
6. Asoc.prof. U.Teibe	Dr. biol.	fiziķis

Pieteikuma iesniedzējs: R.Care
RSU Stomatoloģijas institūts

Pētījuma nosaukums: Mutes veselības situācijas novērtējums Latvijā.

Iesniegšanas datums: 27.10. 2003.

Izskatītie dokumenti :

(X) Pētījuma protokols:

(X) Pētījuma populācija: 845 pacienti 6-74 g.v.

() Informācija par pētījumu

(X) Piekrišana piedalīties pētījumā:

Ieteikums: informācijas formulārā ieteicams aprakstīt visu pētījuma gaitu (ko veiks) un uzsvērt, ka dalība pētījumā ir brīvprātīga

Lēmums: uzskatāms pozitīvs - piekrist biomedicīniskajam pētījumam **pēc papildinājumu iesniegšanas.**

Vārds, uzvārds: Līga AberbergaAugškalne Tituls: Dr.habil. med., prof.
priekšsēdētājs

Paraksts

L. Augškalne

Ētikas komitejas sēdes datums: 04.11.2003.



RSU ĒTIKAS KOMITEJAS LĒMUMS

Rīga, Dzirciema iela 16, LV-1007
Tel.67409137

Komitejas sastāvs	Kvalifikācija	Nodarbošanās
1. Asoc. prof. Olafs Brūvers	Dr.miss.	teologs
2. Professore Vija Sīle	Dr.phil.	filozofs
3. Asoc. prof. Guntars Pupelis	Dr.med.	ķirurgs
4. Docente Santa Purviņa	Dr.med.	farmakologs
5. Asoc. prof. Regīna Kleina	Dr.med.	patanatoms
6. Asoc. prof. Egils Korņevs	Dr.habil.med.	stomatologs

Pieteikuma iesniedzējs: Zane Lauriņa

RSU Stomatoloģijas institūts, Terapeitiskās stomatoloģijas katedra

Pētījuma nosaukums: Gēnu/ transkripcijas un augšanas faktoru saistība ar periodonta patoloģijām.

Iesniegšanas datums: 09.01.2008.

Izskatītie dokumenti:

(X) Pētījuma protokols:

(X) Pētījuma populācija: RSU Terapeitiskās stomatoloģijas katedras, periodontoloģijas nodaļas pacienti

(X) Informācija par pētījumu:

(X) Piekrišana dalībai pētījumā:

Citi dokumenti:

1. Piekrišanas formulārs pētījuma dalībniekiem

2. SIA „RSU Stomatoloģijas institūts” Terapeitiskās stomatoloģijas katedras vadītājas piekrišana

3. SIA „RSU Stomatoloģijas institūts” direktores piekrišana

Lēmums: piekrist biomedicīniskajam pētījumam.

Vārds, uzvārds: Olafs Brūvers

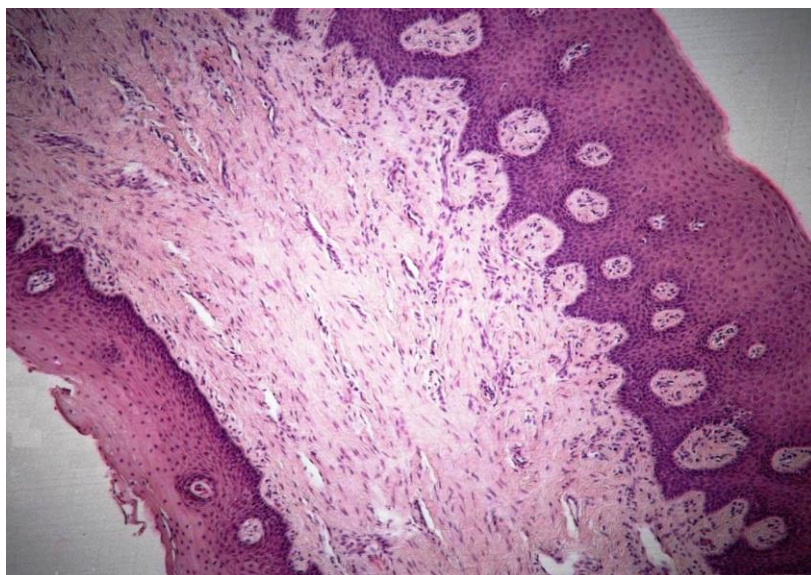
Tituls: Dr. miss., asoc. prof.
priekšsēdētājs

Paraksts



Ētikas komitejas sēdes datums: 10.01.2008.

1. attēls. Kontroles pacienta smaganu un rievas epitēlijs ar nelielu iekaisuma šūnu infiltrāciju subepitēlijā. Hematoksilīns un eozīns, x 100.



2. attēls. Limfocītu klātbūtne kontroles pacienta rievas epitēlijā. Hematoksilīns un eozīns, x 200.



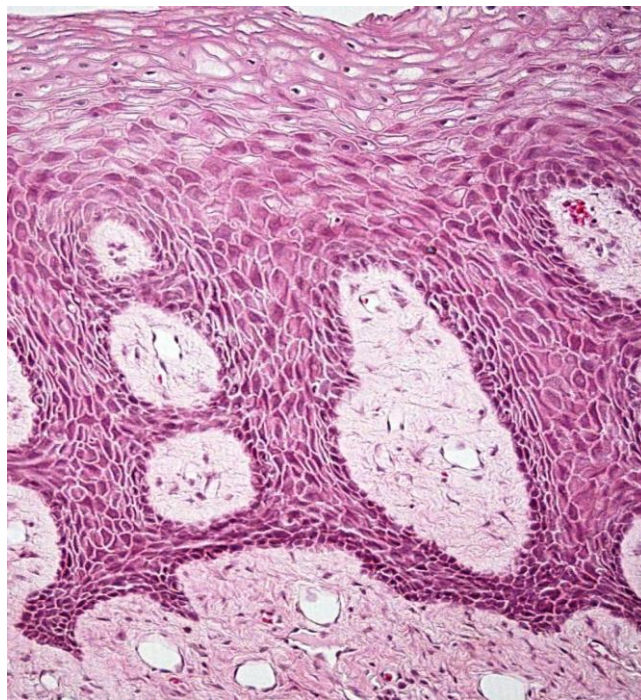
3. attēls. Iekaisuma šūnu infiltrāts kontrolas pacienta subepitēlijā aiz kolagēno šķiedru kūlīšiem. Hematoksilīns un eozīns, x 100.



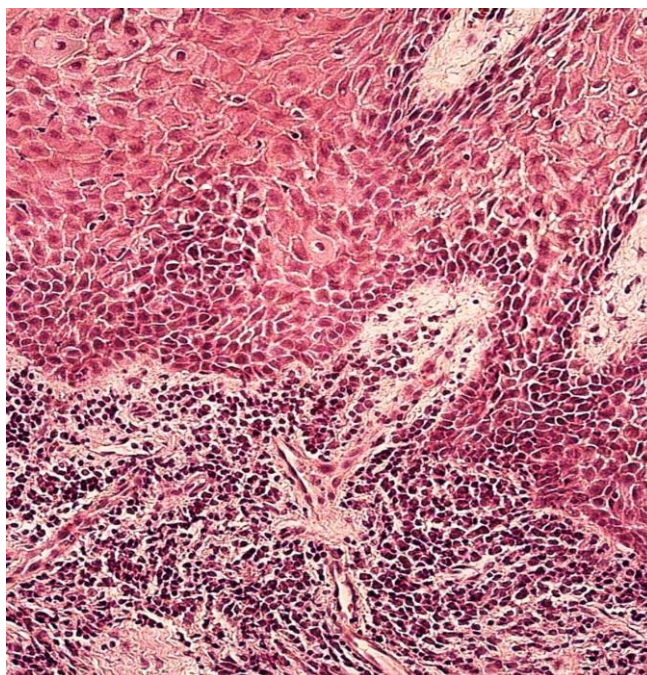
4. attēls. Smaganu epitēlija bazālo šūnu proliferācija saistaudos kontrolas pacientam. Hematoksilīns un eozīns, x 100.



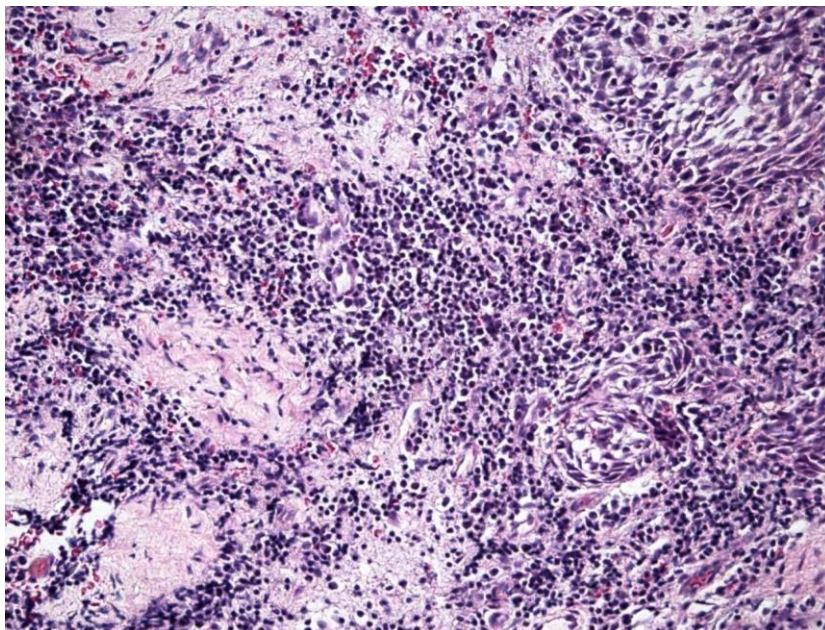
5. attēls. Rievas epitēlija augšējā slāņa šūnu vakuolizācija kontrolē pacientam. Hematoksilīns un eozīns, x 250.



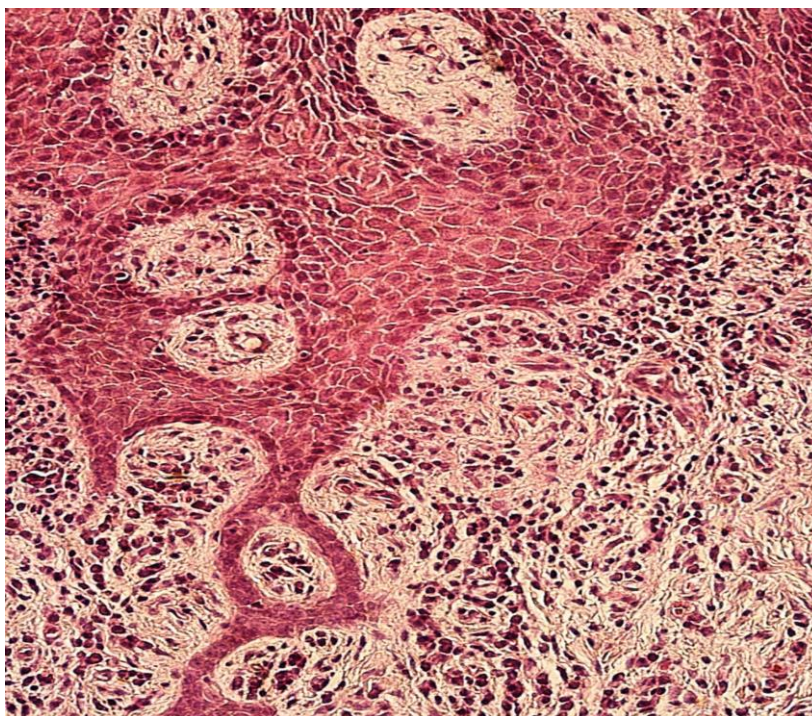
6. attēls. Bagātīga iekaisuma šūnu infiltrācija saistaudos hroniskā periodontīta pacientam. Hematoksilīns un eozīns, x 250.



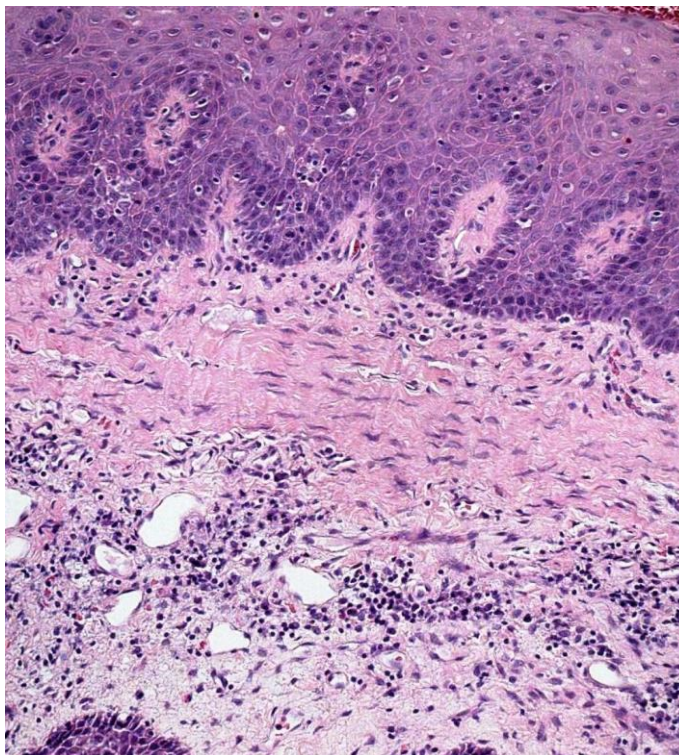
7. attēls. Izteikts iekaisuma šūnu, tostarp epiteliālo šūnu infiltrāts saistaudos hroniskā periodontīta pacientam. Hematoksilīns un eozīns, x 250.



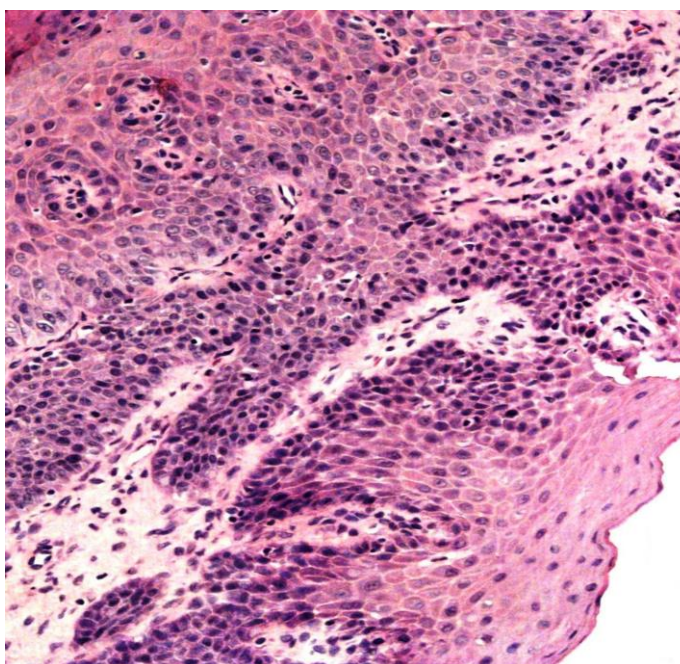
8. attēls. Fibrotiski audi un bagātīga iekaisuma šūnu infiltrācija. Hematoksilīns un eozīns, x 250.



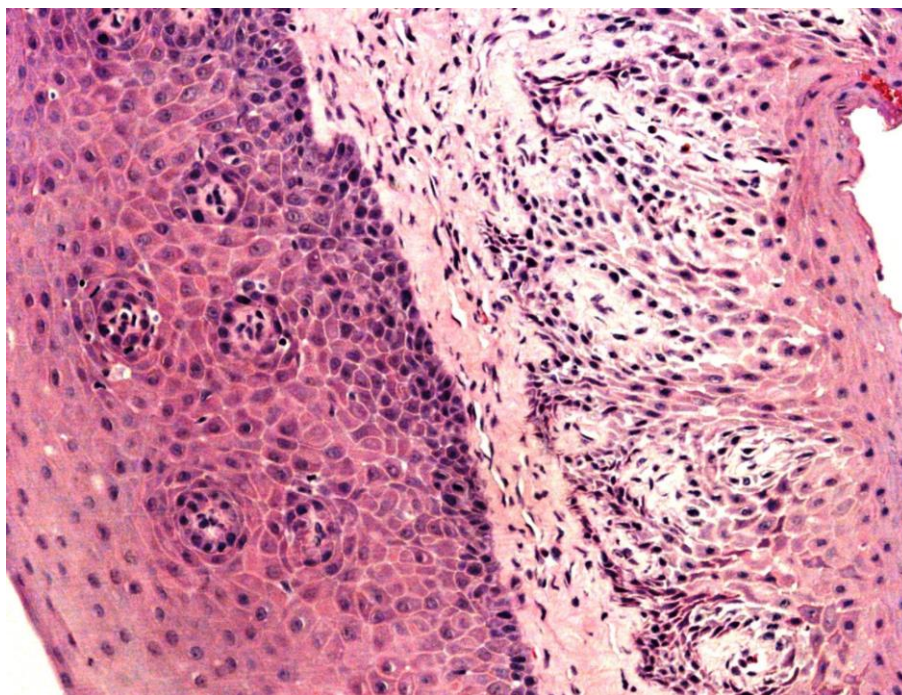
9. attēls. Atsevišķi limfocīti smaganu epitēlijā hroniska periodontīta pacientam. Hematoksilīns un eozīns, x 200.



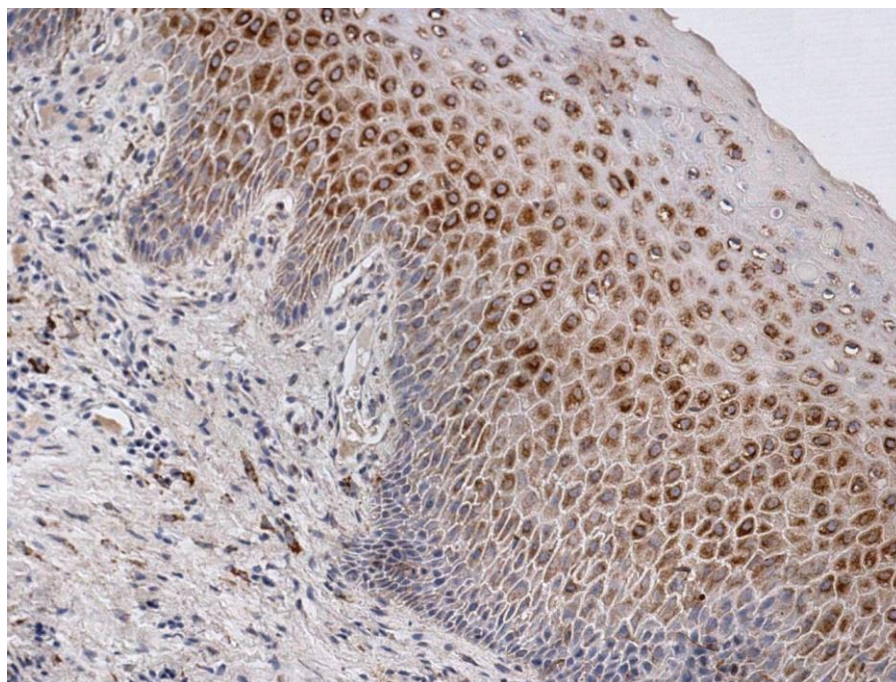
10. attēls. Smaganu un rievas epitēlija bazālo šūnu hiperplāzija hroniska periodontīta pacientam. Hematoksilīns un eozīns, x 200.



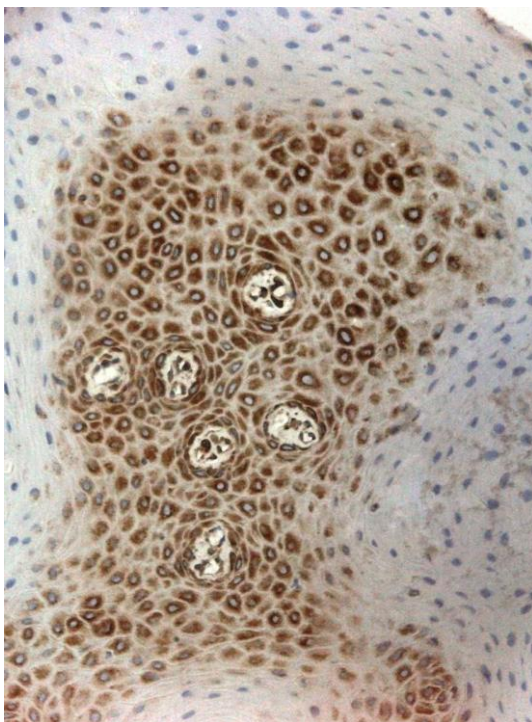
11. attēls. Bazālo šūnu vakuolizācija rievas epitēlijā hroniska periodontīta pacientam. Hematoksilīns un eozīns, x 200.



12. attēls. Izteikta Sonic hedgehog gēna (Shh) ekspresija smaganu epitēlijā, galvenokārt epitelioģītu citoplazmā hroniska periodontīta pacientam. Shh IMH, x 200.



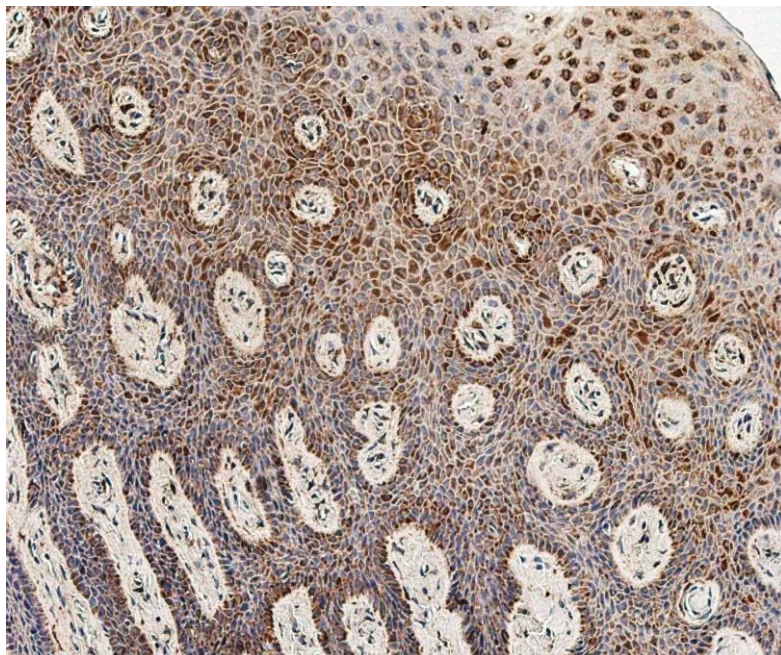
13. attēls. Vidēja, perēklļveidīga Sonic hedgehog gēna ekspresija epiteliocītu citoplazmā ap kodoliem hroniska periodontīta pacientam. Shh IMH, x 250.



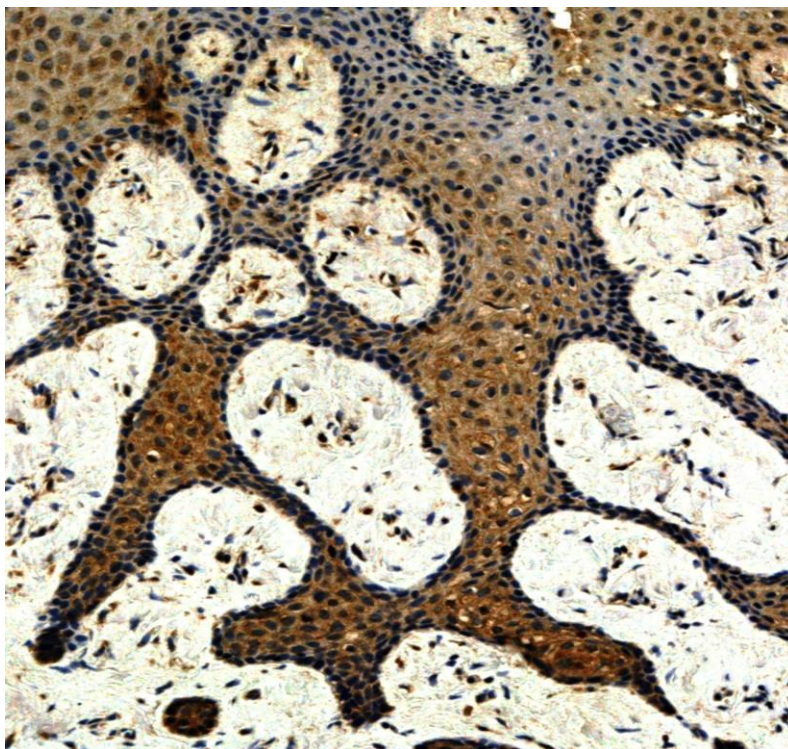
14. attēls. Vidēja Sonic hedgehog gēna ekspresija kontroles pacientu epiteliocītu kodolos un citoplazmā. Shh IMH, x 250.



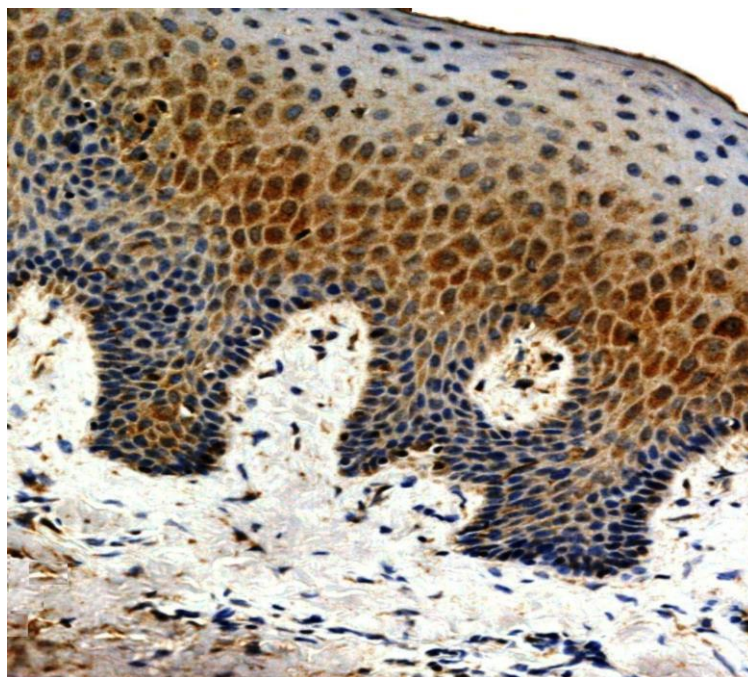
15. attēls. Izteikta Sonic hedgehog gēna ekspresija kontrolēs pacientam hiperplazētā smaganu epitēlijā. Shh IMH, x 200.



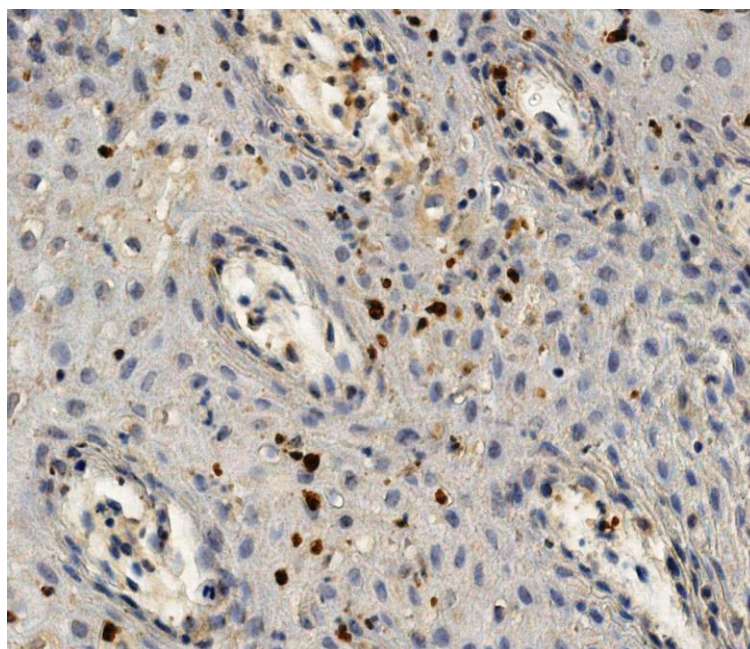
16. attēls. Bar homebox 1 gēna (Barx1) izteikta ekspresija hroniska periodontīta pacientam hiperplazētā smaganu epitēlija šūnu citoplazmā. Barx1 IMH, x 250.



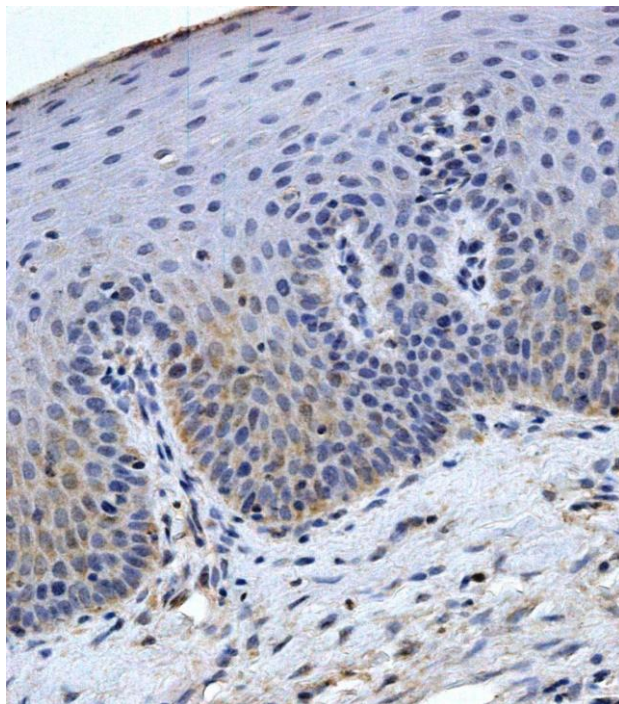
17. attēls. Bar homebox 1 gēna ekspresija epitēlija polimorfajās šūnās hroniska periodontīta pacientam. Barx1 IMH, x 250.



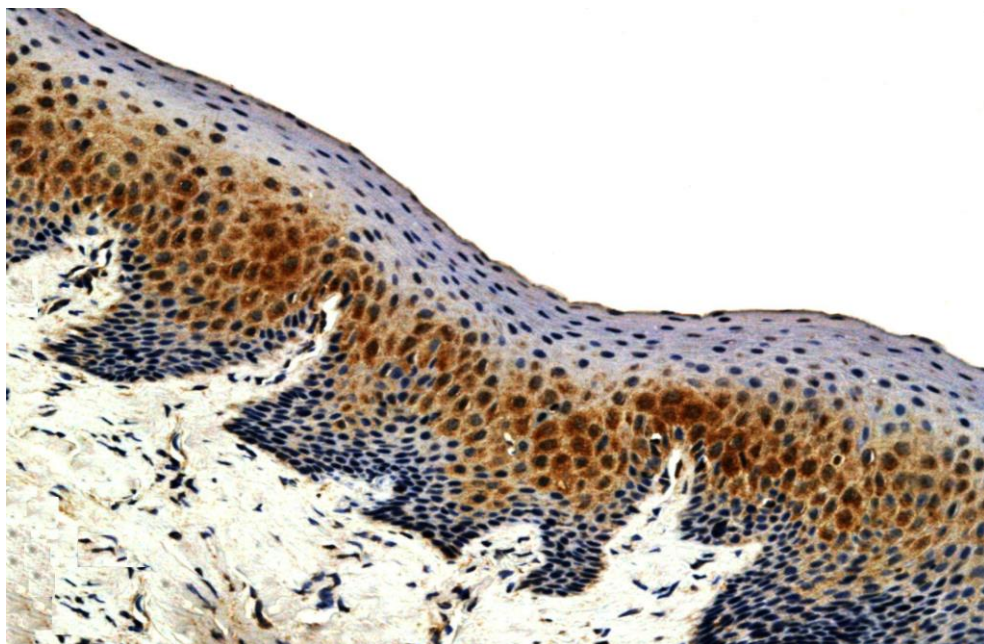
18. attēls. Bar homebox 1 gēna ekspresija atsevišķos makrofāgos un limfocītos hroniska periodontīta pacientam. Barx1 IMH, x 400.



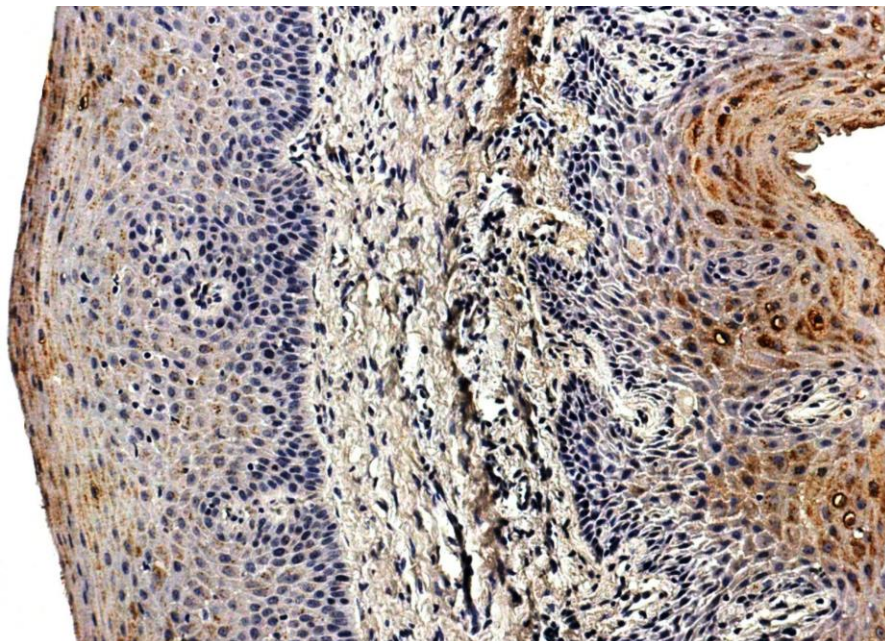
19. attēls. Bar homebox 1 gēna ekspresija perēkļveidīgi vidēji daudz epiteliocītu citoplazmā rievās epitēlijā hroniska periodontīta pacientam. Barx1 IMH, x 400.



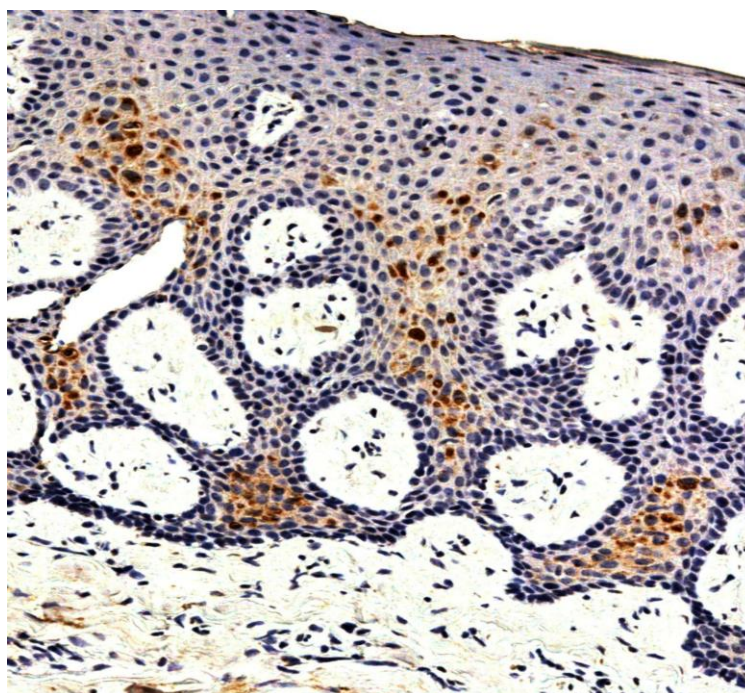
20. attēls. Bar homebox 1 gēna izteikta ekspresija smaganu epitēlija polimorfo šūnu citoplazmā kontroles pacientam. Barx1 IMH, x 250.



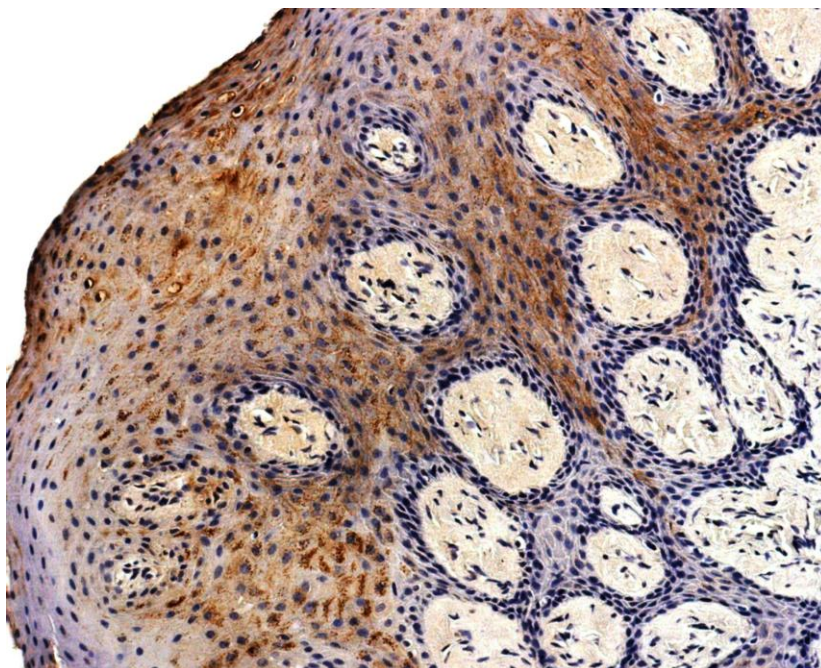
21. attēls. Muscle segment homebox 2 gēna (Msx2) ekspresija smaganu un rievās epitēlija polimorfo šūnu slānī hroniska periodontīta pacientam. Msx2 IMH, x 200.



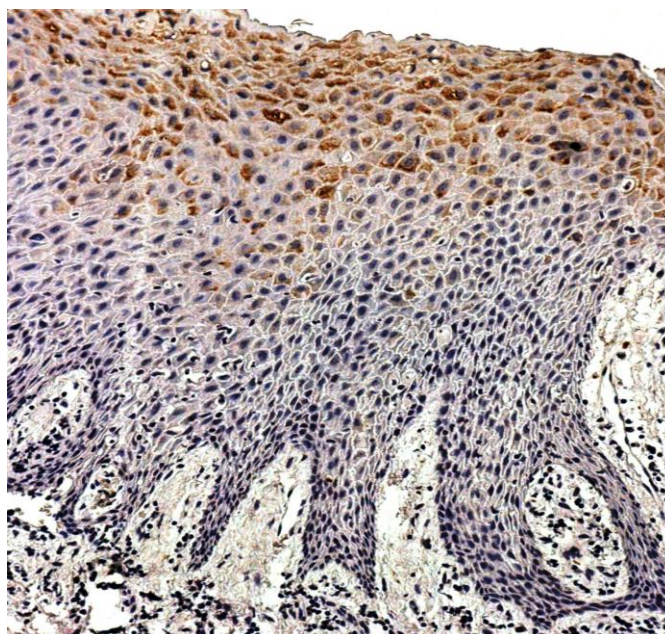
22. attēls. Muscle segment homebox 2 gēna ekspresija smaganu epitēlija makrofāgos hroniska periodontīta pacientam. Msx2 IMH, x 200



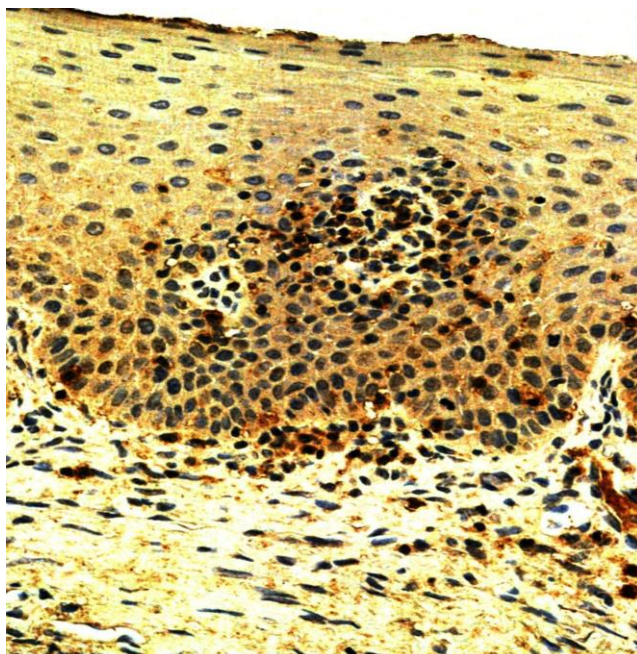
23. attēls. Muscle segment homebox 2 gēna ekspresija rievās epitēlijā hroniska periodontīta pacientam. Msx2 IMH, x 200.



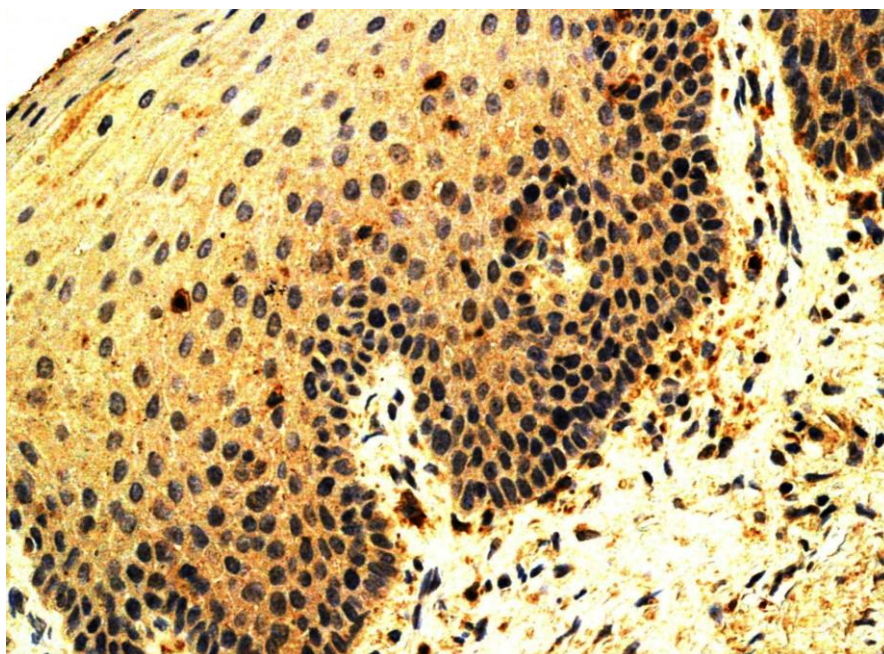
24. attēls. Muscle segment homebox 2 gēna ekspresija daudziem smaganu epiteliocītiem kontroles pacientam perēkļveidīgi citoplazmā, kā arī šūnapvalkos. Msx2 IMH, x 200.



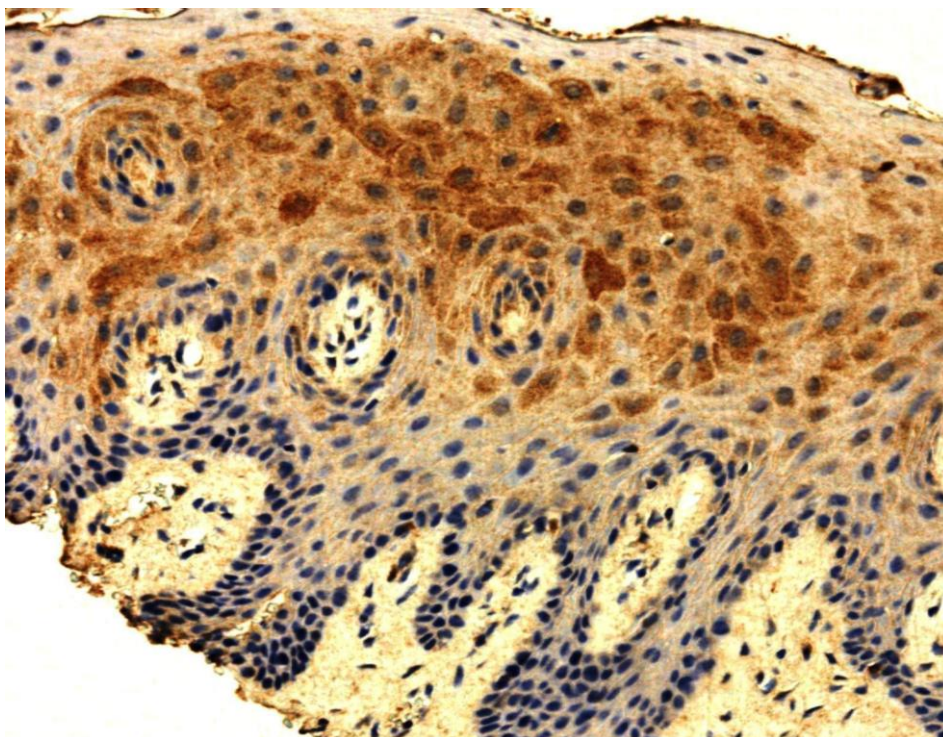
25. attēls. Nukleārā faktora kappā beta (NF-κB) ekspresija smaganu epitēlijā un dažu makrofāgu kodolos hroniska periodontīta pacientam. NF-κB IMH, x 400.



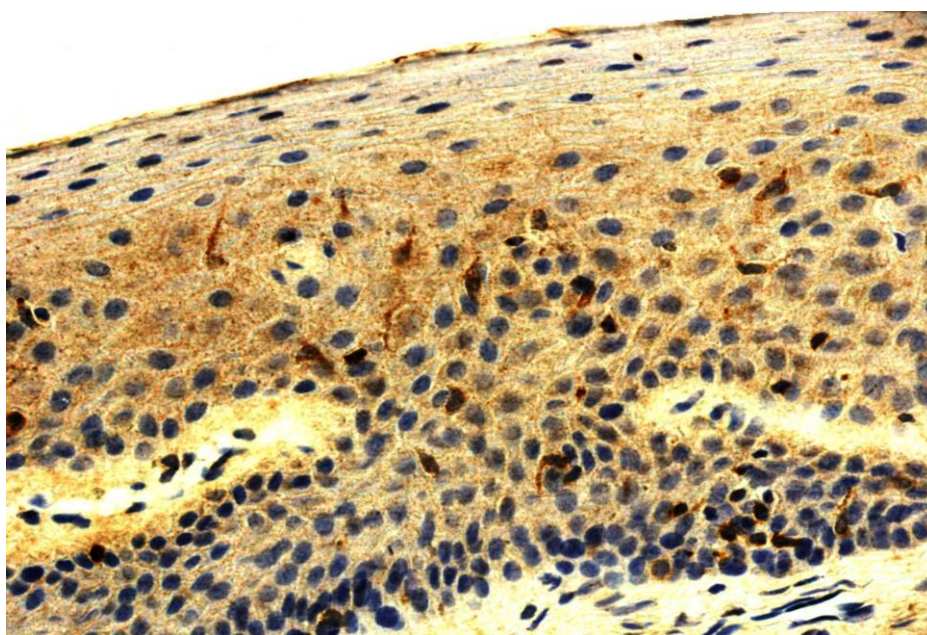
26. attēls. Nukleārā faktora kappā beta lokāla ekspresija smaganu epitēlijā un atsevišķu makrofāgu kodolos hroniska periodontīta pacientam. NF-κB IMH, x 400.



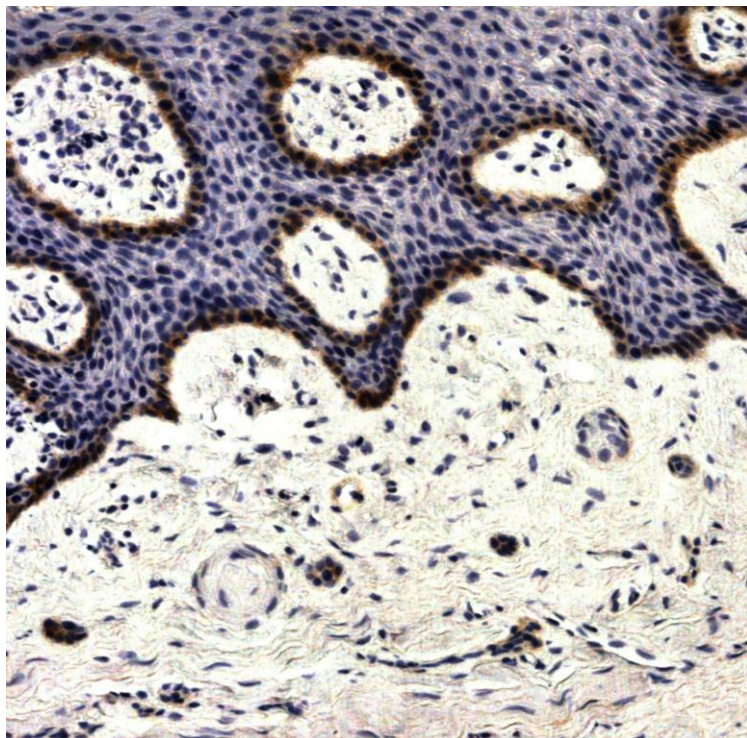
27. attēls. Vidēji daudz nervu augšanas faktora (NGF) šūnas polimorfo šūnu slānī hroniskā periodontīta pacientam. NGF IMH, x 250.



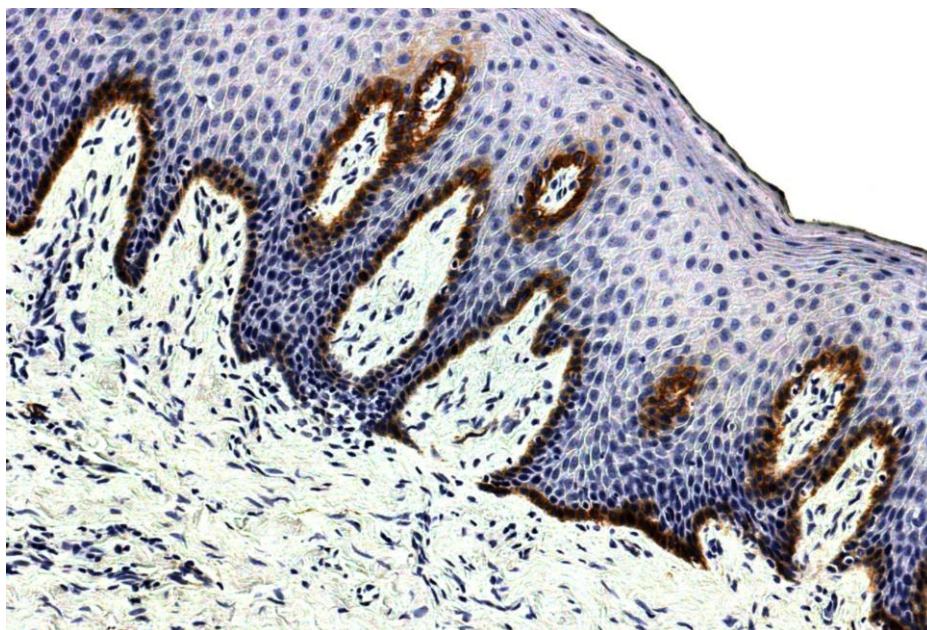
28. attēls. Nervu augšanas faktora ekspresija atsevišķās neironedokrīnajās šūnās smaganu epitēlijā kontrolē pacientam. NGF IMH, x 400.



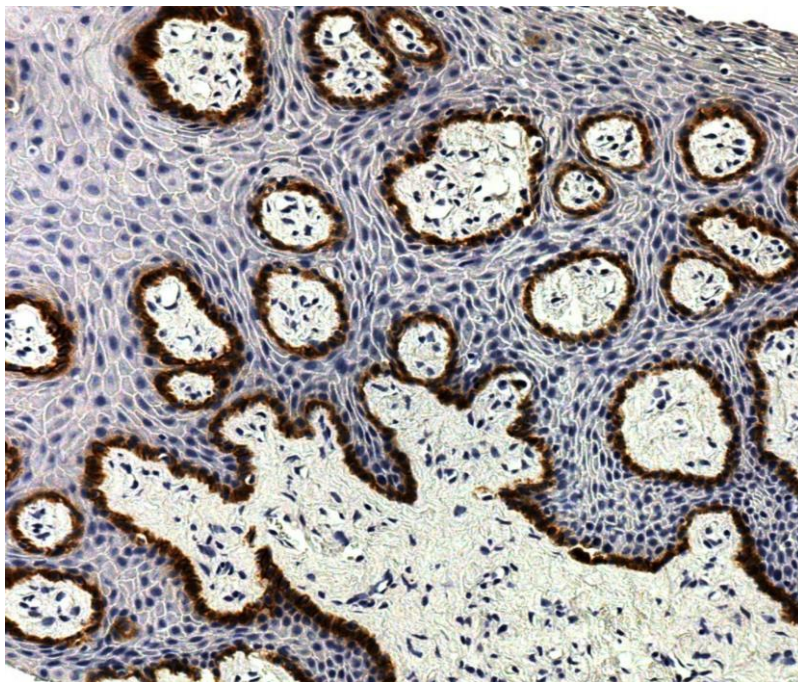
29. attēls. Bagātīga nervu augšanas faktora receptora (NGFR) ekspresija hroniska periodontīta pacienta visās bazālā slāņa šūnās. NGFR IMH, x 250.



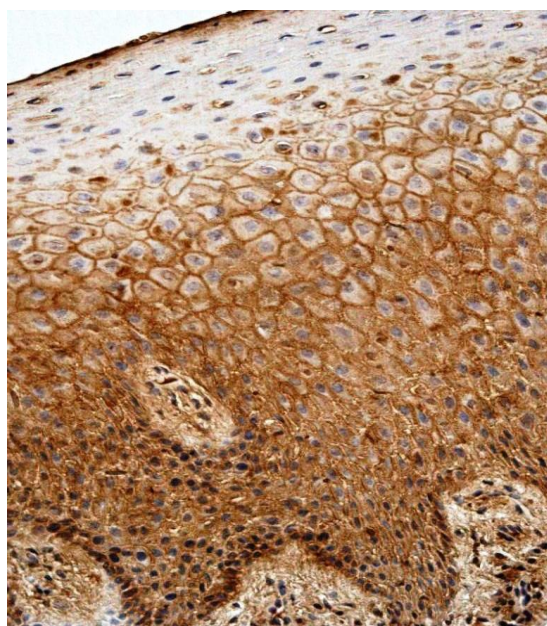
30. attēls. Izteikta nervu augšanas faktora receptora (NGFR) ekspresija smaganu epitēlija kontroles pacientu bazālā slāņa šūnās. NGFR IMH, x 200.



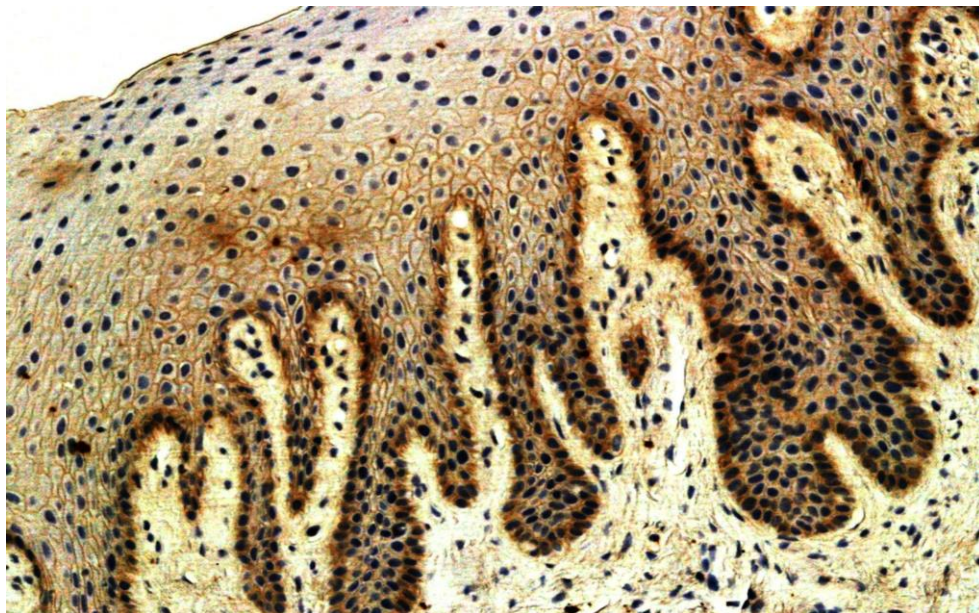
31. attēls. Bagātīga nervu augšanas faktora receptora (NGFR) ekspresija rievās epitēlijā bazālajās šūnās kontroles pacientam. NGFR IMH, x 200.



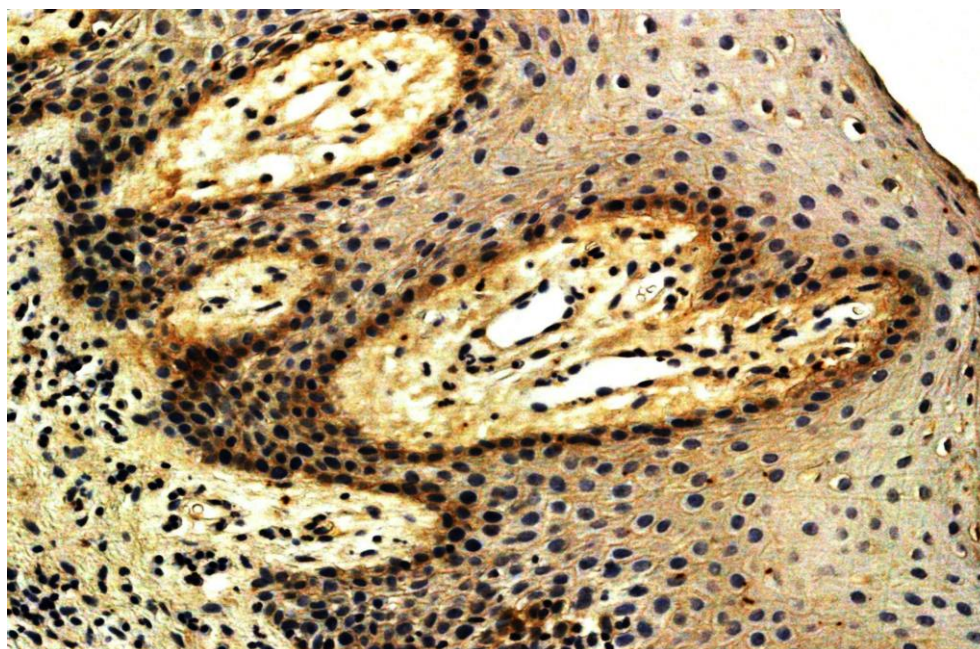
32. attēls. Insulīna augšanas faktora receptora (IGF-IR) ļoti izteikta ekspresija smaganu epitēlija bazālā un polimorfā slāņa epiteliocītu citolemmās hroniska periodontīta pacientam. IGF-IR IMH, x 250.



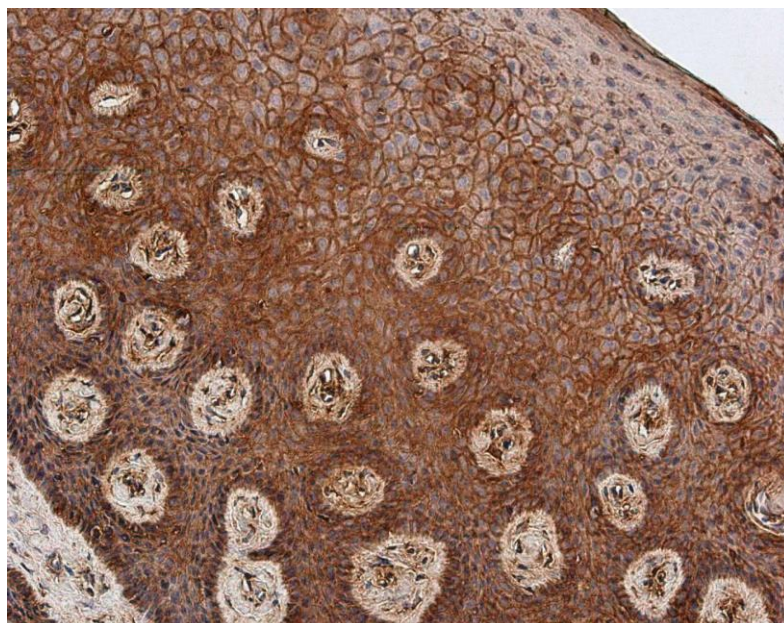
33. attēls. Insulīna augšanas faktora receptora izteikta ekspresija smaganu epitēlija dzeloņainā slāņa šūnu citolemmās, ļoti izteikta bazālā slāņa šūnu citolemmās hroniska periodontīta pacientam. IGF-IR IMH, x 250.



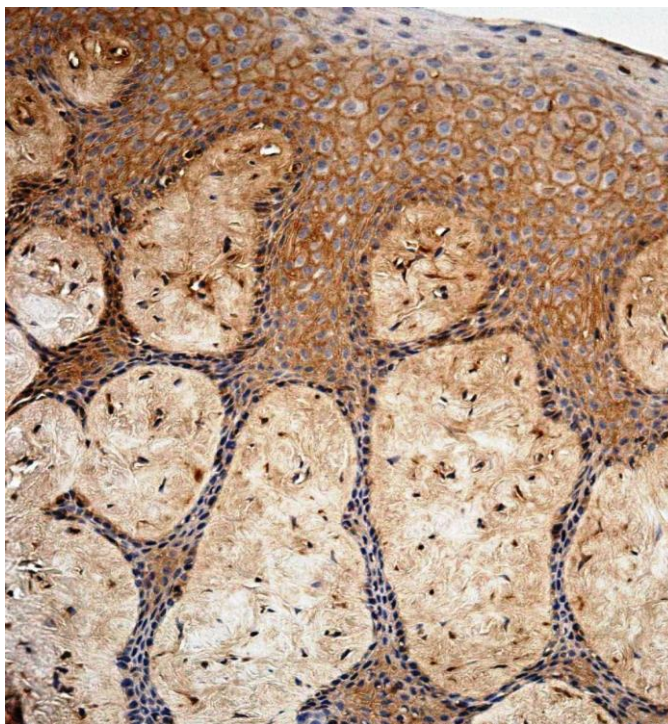
34. attēls. Insulīna augšanas faktora receptora ekspresija smaganu epitēlijā bazālo šūnu slānī hroniska periodontīta pacientam. IGF-IR IMH, x 250.



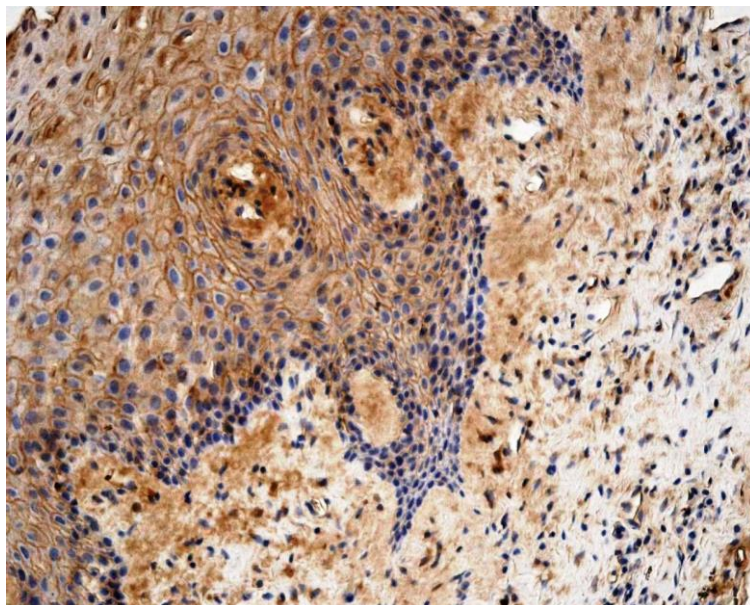
35. attēls. Insulīna augšanas faktora receptora bagātīga ekspresija smaganu epitēlija šūnu citolemmās kontrolē pacientam. IGF-IR IMH, x 250.



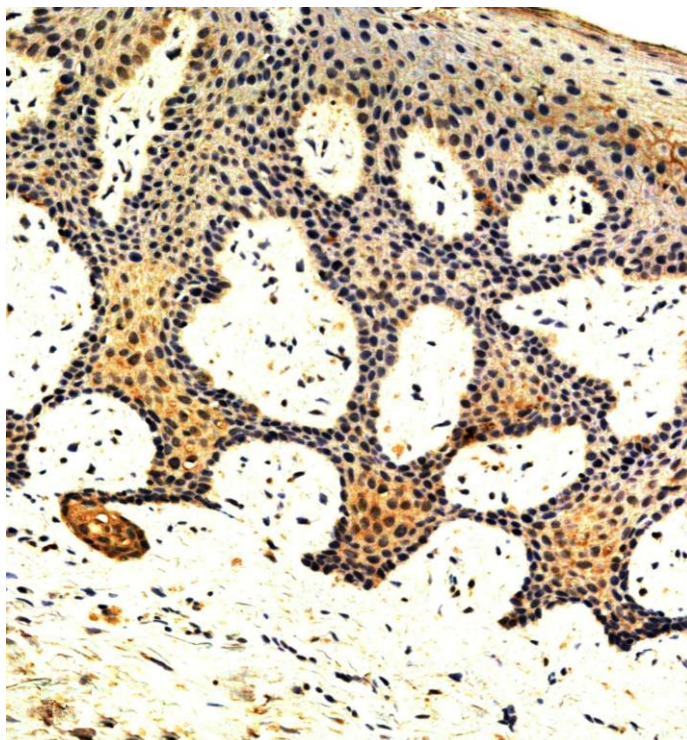
36. attēls. Insulīna augšanas faktora receptora pārēkļveida ekspresija smaganu epitēlija šūnapvalkos kontrolē pacientam. IGF-IR IMH, x 250.



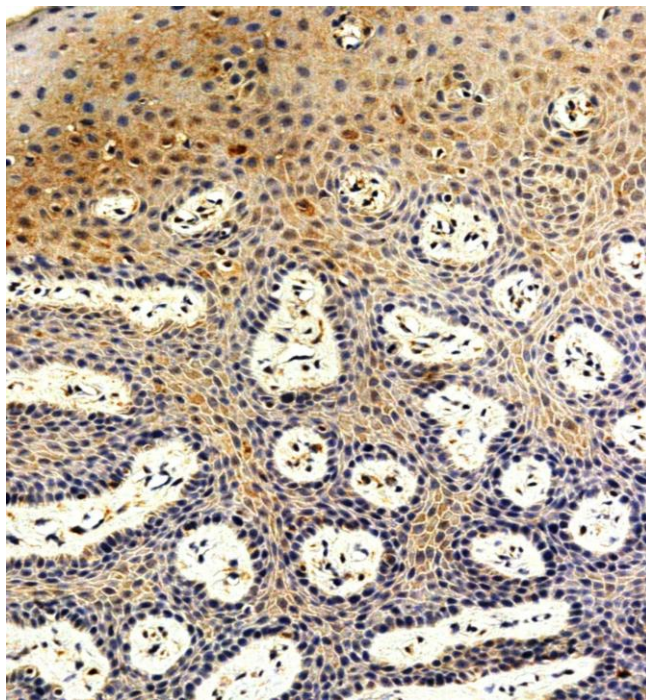
37. attēls. Insulīna augšanas faktora receptora perēkļveidīga ekspresija rievas epitēlija šūnu citolemmās un saistaudu šūnās kontroles pacientam. IGF-IR IMH, x 250.



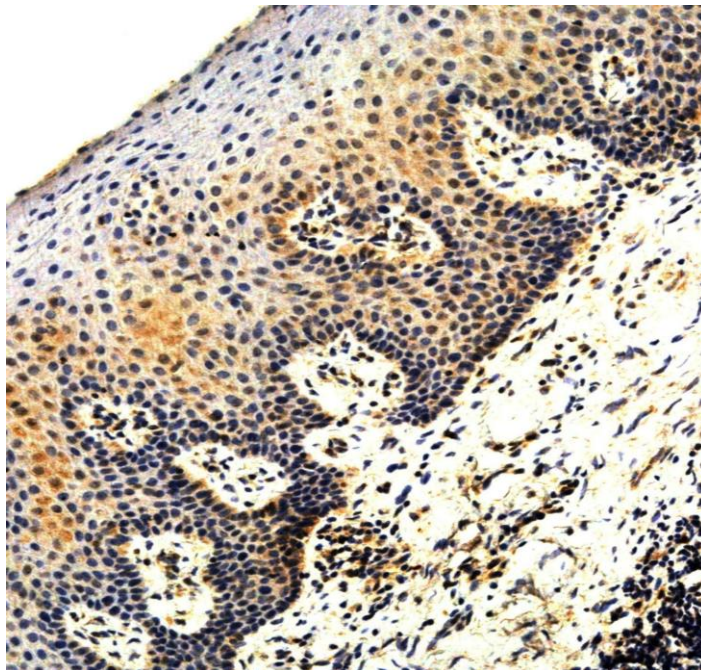
38. attēls. Fibroblasta augšanas faktors (FGF) vidēji daudz smaganu epitēlija šūnās hroniska periodontīta pacientam. FGH IMH, x 250.



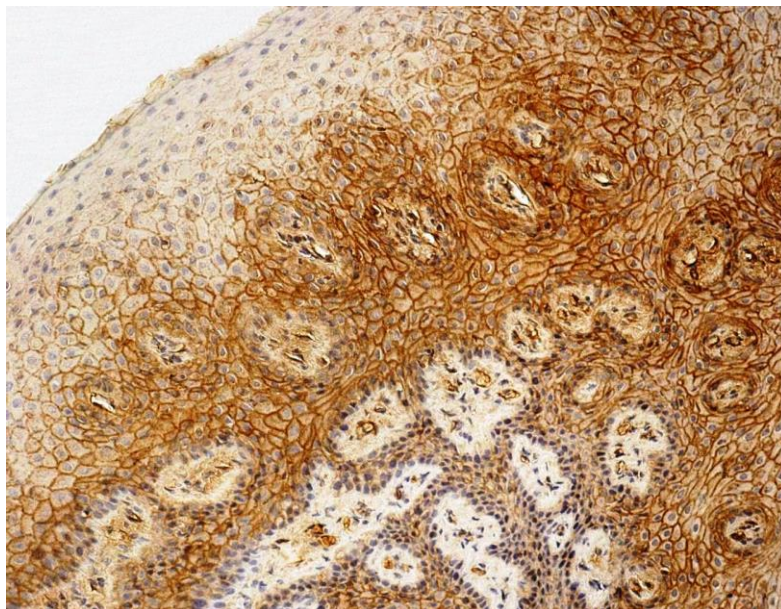
39. attēls. Fibroblastu augšanas faktora pozitīvas vidēji daudz rievas epitēlija šūnas hroniska periodontīta pacientam. FGH IMH, x 250.



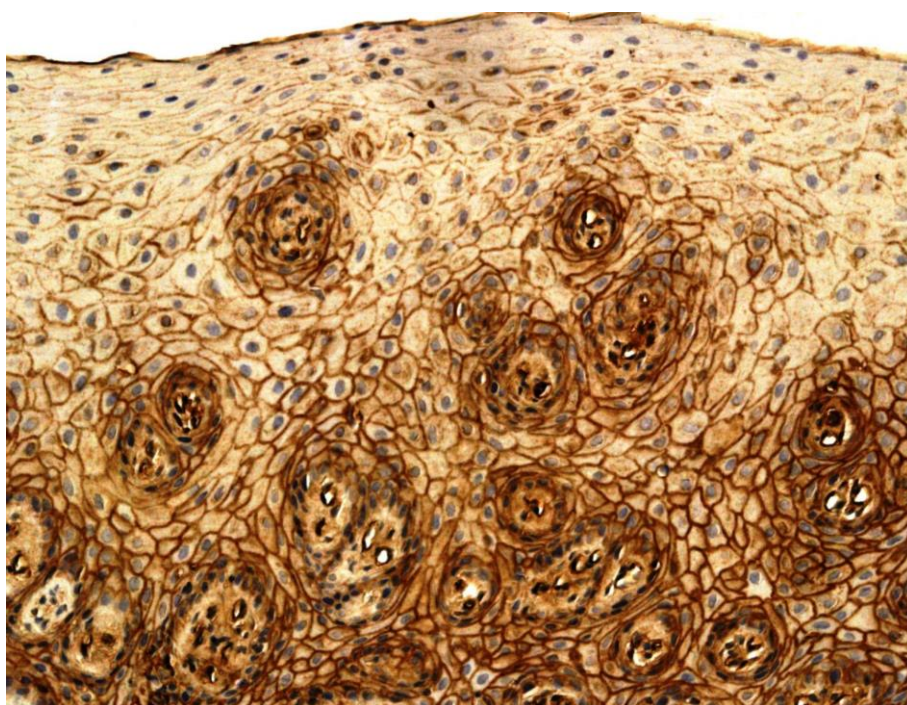
40. attēls. Fibroblastu augšanas faktora ekspresija smaganu epitēlija vidēji daudz šūnās kontroles pacientam. FGH IMH, x 250.



41. attēls. Bagātīga intercelulārās adhēzijas molekulas - 1 (ICAM-1) ekspresija daudzu smaganu epitēlija šūnu šūnapvalkos hroniska periodontīta pacientam. ICAM-1 IMH, x 200.



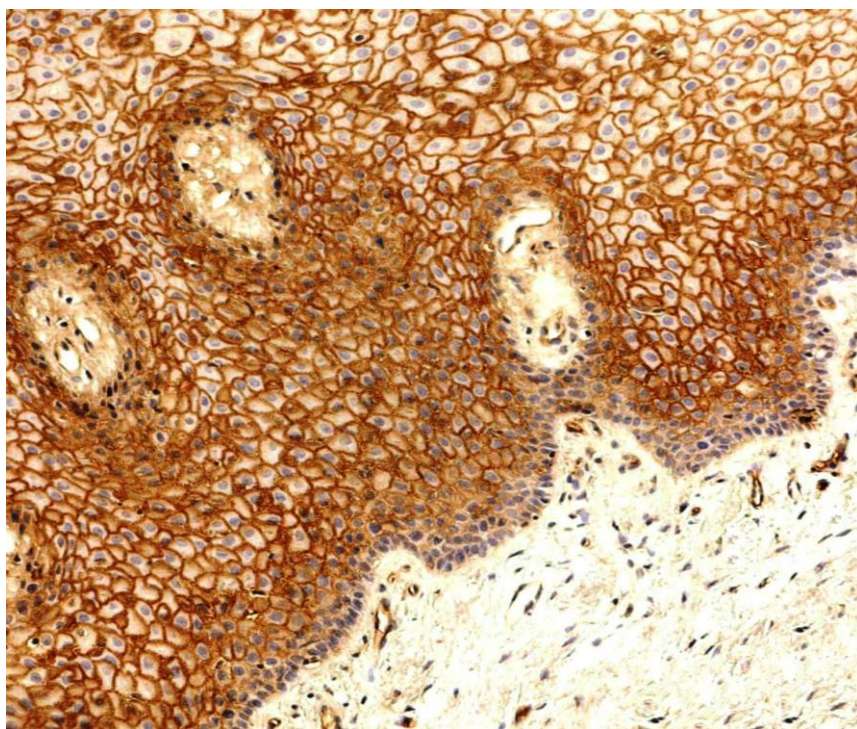
42. attēls. Intercelulārās adhēzijas molekulas - 1 bagātīga ekspresija lokāli smaganu epitēlijā hroniska periodontīta pacientam. ICAM-1 IMH, x 200.



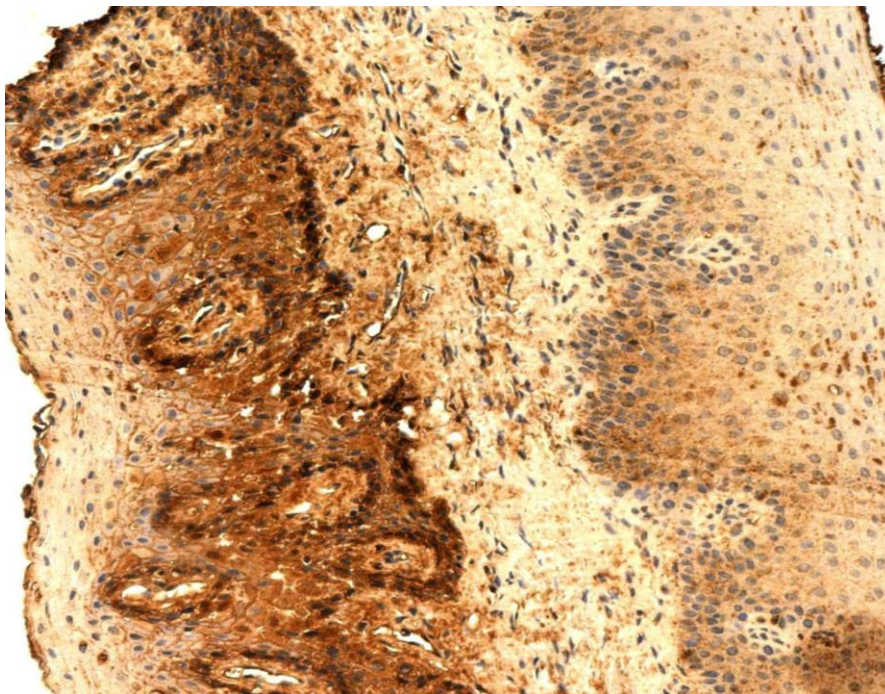
43. attēls. Intercelulārās adhēzijas molekulas - 1 bagātīga ekspresija kontroles pacientam.
ICAM-1 IMH, x 250.



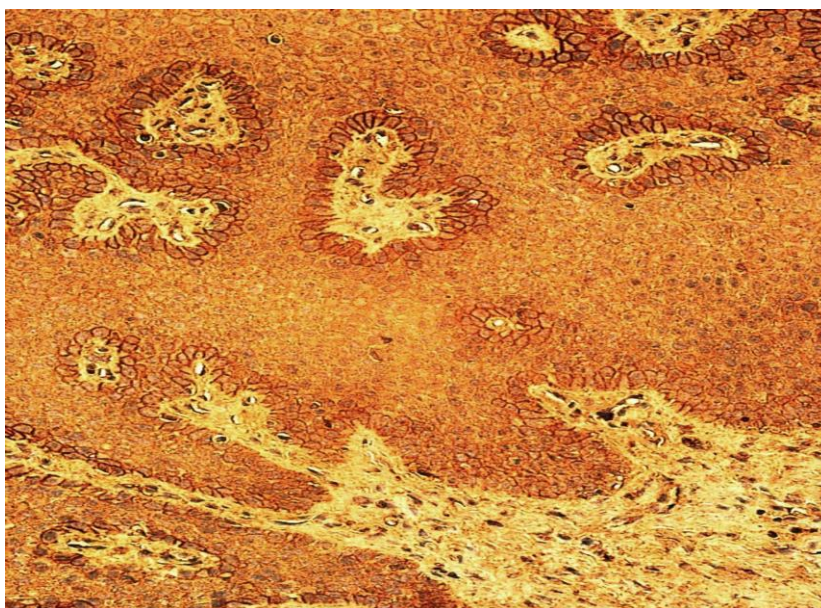
44. attēls. Intercelulārās adhēzijas molekulas - 1 bagātīga ekspresija kontroles pacientam.
ICAM-1 IMH, x 200.



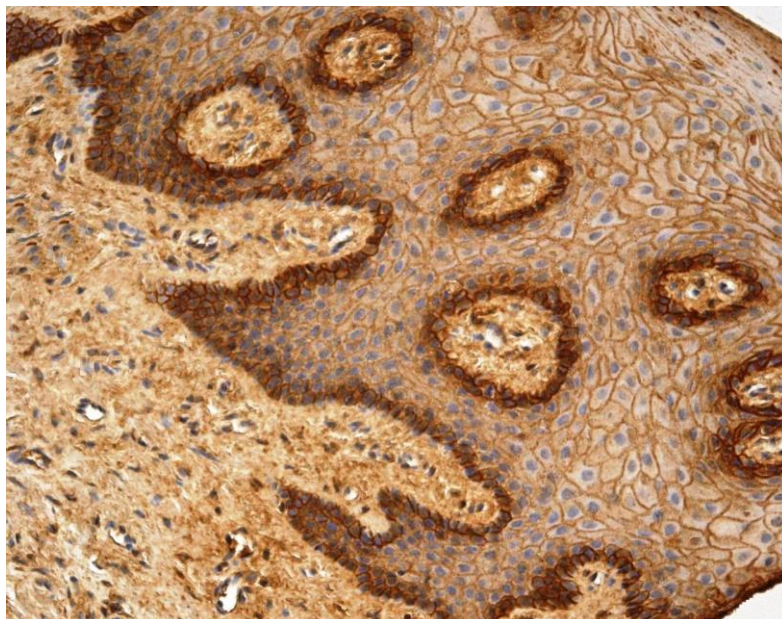
45. attēls. Interleikīna - 10 (IL-10) ekspresija hroniskā periodontīta pacientam smaganu un rievas epitēlijā. Bagātīga bazālā slāņa šūnapvalku pozitivitāte rievas epitēlijā. IL-10 IMH, x 200



46. attēls. Interleikīna - 10 ekspresija hroniskā periodontīta pacientu bazālā slāņa citolemmās. IL-10 IMH, x 200.



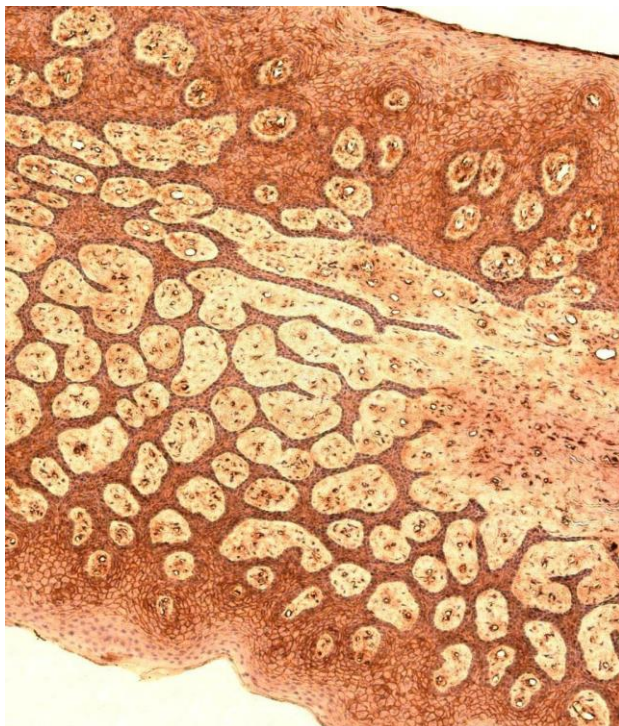
47. attēls. Interleikīna - 10 bagātīga ekspresija kontroles pacientu bazālā slāņa šūnās. IL-10 IMH, x 250.



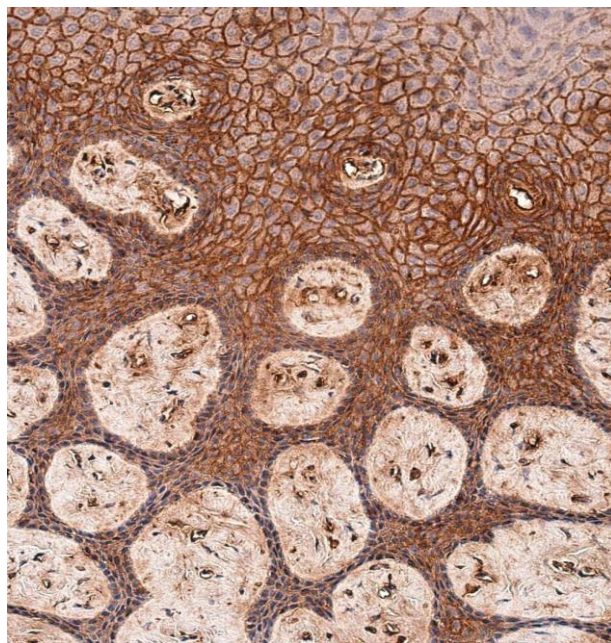
48. attēls. Ļoti izteikta β defensīna ekspresija smaganu epitēlijā hroniska periodontīta pacientam. β defensīna IMH, x 100.



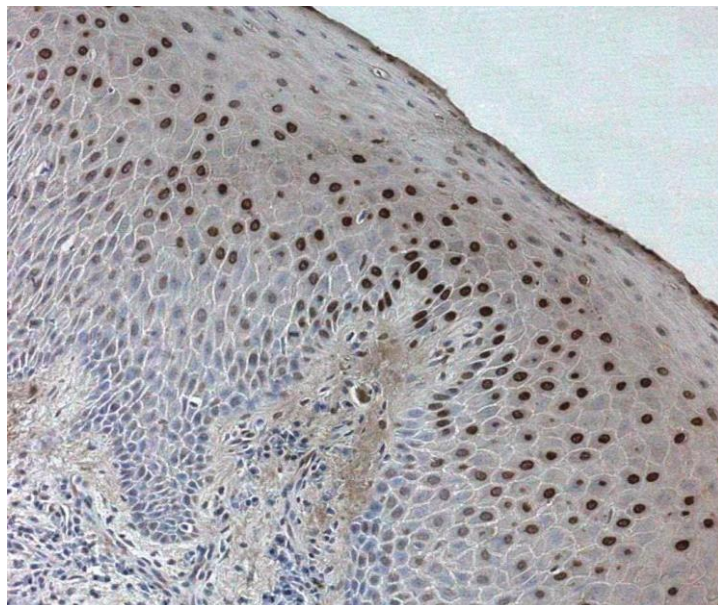
49. attēls. Bagātīga β defensīna ekspresija gan smaganu, gan rievas epitēlijā kontroles grupas pacienta materiālā. β defensīna IMH, x 100.



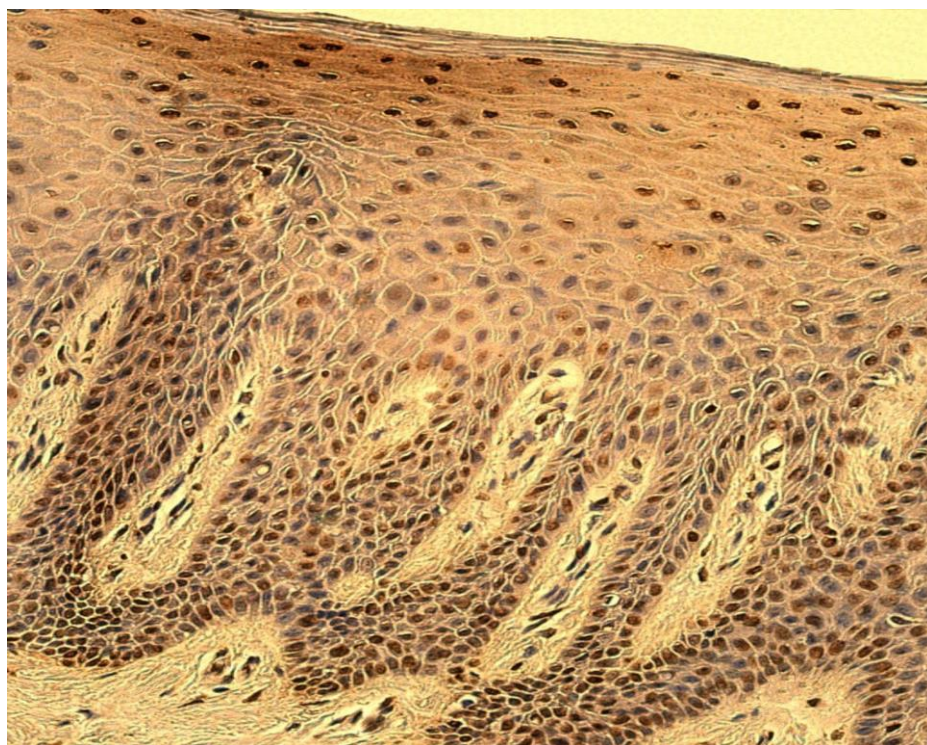
50. attēls. Bagātīga β defensīna ekspresija kontroles pacientu smaganu epitēlijā. β defensīna IMH, x 250.



51. attēls. Vidēji daudz apoptotiski smaganu epiteliocīti hroniska periodontīta pacientam. TUNEL, x 200.



52. attēls. Dažādas intensitātes vidēji daudz TUNEL pozitīvās šūnas smaganu epitēlijā hroniska periodontīta pacientam. TUNEL, x 250.



53. attēls. Totāla apoptoze hroniska periodontīta pacientam smaganu epitēlijā. TUNEL, x 400.

