

REVISIONE SISTEMATICA DELLA QUALITÀ DEL REPORTING E DELLA METODOLOGIA NEGLI STUDI DI ASSOCIAZIONE TRA POLIMORFISMI DEI GENI DELL'IL-1 E PARODONTITE CRONICA

Citterio F*, Manavella V.*, Vidal-Ribero H.^o, Pulcini A.^o, Romano F.*, Aimetti M.*

*Dipartimento di Scienze Chirurgiche, C.I.R. Dental School, Sezione di Parodontologia, Università degli studi di Torino

^oUniversidad Complutense de Madrid, Departamento de Periodoncia

Riassunto

Introduzione: Gli studi che hanno analizzato l'associazione tra i polimorfismi dell'interleuchina-1 (IL-1) e la parodontite cronica hanno riportato risultati spesso contrastanti. L'obiettivo di questa revisione sistematica è valutare la qualità degli studi di associazione dei polimorfismi dei geni IL1A e IL1B e la parodontite in termini di metodologia scientifica e di reporting, per indagare quali fattori abbiano contribuito a generare risultati così contraddittori. **Materiali e Metodi:** Sono stati selezionati gli studi di tipo caso-controllo sull'associazione tra la parodontite cronica e i polimorfismi IL1A-889 e IL1B+3954. Due tabelle sono state predisposte per raccogliere le informazioni relative alla qualità del reporting dei dati e alla qualità della metodologia scientifica ed assegnare un punteggio ad ogni studio. **Risultati:** Dei 477 articoli identificati, sono stati selezionati 20 studi pertinenti. Per quanto riguarda la qualità del reporting il punteggio medio è stato di 13,05 +/- 2,60 punti su un massimo di 21 punti. In termini di metodologia il punteggio medio ottenuto è stato di 5,75 +/- 1,79 punti su un massimo di 14 punti. **Conclusioni:** la maggior parte degli studi pubblicati in letteratura presentano limiti in termini di qualità di reporting e di metodologia, inficiando la validità esterna e, dunque, la generalizzabilità di questi lavori.

Introduzione

La parodontite è una malattia sistemica multifattoriale complessa (1) ad ampia diffusione nella popolazione adulta. Dati epidemiologici relativi alla sua prevalenza nel nord dell'Italia evidenziano che circa il 40% delle persone è affetta da parodontite severa (2). I meccanismi eziopatogenetici della parodontite non sono ancora stati del tutto chiariti: la suscettibilità dell'ospite ed, in particolare, la variabilità genetica interindividuale svolgerebbe un ruolo centrale (3). E' stato osservato che individui differenti rispondono in modo diverso a stimoli simili (4). Da un'analisi dell'espressione della malattia in coppie di gemelli emerge che circa il 50% delle differenze nelle manifestazioni cliniche della patologia possa essere spiegato dal patrimonio genetico dei soggetti in esame (5).

La parodontite è una malattia complessa poligenica in cui si ritiene che siano coinvolti tra 5 e 20 geni. Per studiarne la componente genetica si è fatto ricorso all'analisi dei polimorfismi. Essendo facilmente riconoscibili è, infatti, possibile determinare la differente distribuzione delle varianti polimorfiche di un gene tra pazienti sani e pazienti malati e identificare le varianti alleliche di un gene associate alla malattia studiata. Tuttavia, bisogna considerare che studi con questo disegno sperimentale possono dimostrare un'associazione tra un fattore (il polimorfismo) e una condizione (la malattia) senza arrivare a inferire una relazione di causa-effetto. Inoltre, la natura poligenica della parodontite fa sì che la presenza di un polimorfismo non sia discriminante per determinare la presenza della malattia: individui sani possono presentare nel proprio genoma un allele associato alla malattia senza soffrire di nessuna condizione patologica. Attualmente, non è chiaro quale sia il significato clinico dell'associazione polimorfismo-malattia. In presenza di un'associazione positiva, infatti, i risultati potrebbero essere interpretati in modi differenti (4):

- L'allele associato alla malattia potrebbe essere effettivamente quello che predispone alla malattia.
- L'allele associato alla malattia potrebbe essere in disequilibrio con il gene che predispone alla malattia.
- L'associazione è dovuta alla stratificazione della popolazione (eterogeneità genetica tra diverse etnie).
- L'associazione è spuria e dovuta ad errori metodologici.

La prima interpretazione è, di solito, quella che viene utilizzata quando sono eseguiti studi caso-controllo per analizzare l'associazione tra una malattia e un gene candidato. Per quanto riguarda la parodontite l'approccio del gene candidato ha individuato in particolare modo polimorfismi relativi alle citochine che hanno un ruolo chiave nella regolazione della risposta immunitaria innata e adattativa. La più analizzata in letteratura è la superfamiglia dell'interleuchina-1 (IL-1) composta da 11 proteine distinte, codificate da geni principalmente localizzati sul cromosoma 2 (Tabella 1), di cui le più studiate sono:

- IL-1 α (gene *IL1A*)
- IL-1 β (gene *IL1B*)

Queste proteine regolano il riassorbimento osseo, la proliferazione dei fibroblasti e la migrazione di cellule infiammatorie ed immunitarie nei tessuti parodontali. Inoltre, modulano la sintesi della prostaglandina-E2 e delle metalloproteinasi della matrice e dei suoi agenti inibitori. Queste azioni conferiscono all'IL-1 la plausibilità biologica necessaria perché si consideri il suo gene come gene candidato negli studi di associazione con la parodontite. I polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) dei geni *IL1* più studiati in relazione con la parodontite sono:

- SNP in posizione *IL1A* -889 (in legame con +4845)
- SNP in posizione *IL1B* +3954 (a volte identificato anche come +3954 a causa di variazioni di nomenclatura).

L'attenzione verso questi SNP è aumentata dal 1997 quando Kornman et al. (6) osservarono per la prima volta un'associazione tra "genotipo composto" dell'IL-1 e aumentata severità della parodontite in pazienti caucasici non fumatori. Il "genotipo composto" veniva definito come la presenza contemporanea degli alleli polimorfici *IL1A*-899 e *IL1B*+3953. Contrariamente, Meisel et al. (7,8) hanno osservato che il "genotipo composto" del gene *IL1* si associava con la parodontite nei fumatori, mentre altri autori hanno osservato una ridotta prevalenza di questi polimorfismi in popolazioni non caucasiche (9). Inoltre, studi successivi hanno riportato risultati spesso contrastanti. Pertanto, anche se alcuni studi hanno fornito risultati promettenti, i polimorfismi dei geni *IL1* non possono ad oggi essere considerati fattori di rischio per l'inizio o la severità della parodontite. Diversi sono i fattori che potrebbero avere contribuito a risultati così eterogenei. Quelli più rilevanti potrebbero riguardare differenze nelle classificazioni delle malattie parodontali utilizzate nei differenti studi, mancanza di omogeneità nei criteri di selezione dei casi e dei controlli, la gestione statistica ed analitica dei fattori di rischio e la gestione dei campioni genetici prelevati dagli individui presi in esame. Sulla base di queste considerazioni, obiettivo di questa revisione sistematica è valutare la qualità degli studi di associazione dei polimorfismi dei geni *IL1A* e *IL1B* e la parodontite in termini di metodologia scientifica e di reporting, per indagare quali fattori abbiano contribuito a generare risultati così contraddittori. Infine, ulteriore obiettivo è, alla luce dei limiti degli studi analizzati, fornire delle indicazioni per migliorare la ricerca futura in ambito genetico.

Materiali e Metodi

Focused Question

Il protocollo è stato elaborato seguendo la check list del "PRISMA" (Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis) statement (10) con l'obiettivo di rispondere alla seguente domanda: "Qual è la qualità in termini di reporting e di metodologia scientifica degli studi di associazione tra i polimorfismi dei geni dell'IL-1 e la parodontite cronica?"

Criteria di Inclusione

Al fine di selezionare studi pertinenti sono stati applicati i seguenti criteri di inclusione:

- Studi di tipo caso-controllo che hanno analizzato pazienti affetti da parodontite cronica, in condizione di salute sistemica
- Studi in lingua italiana, inglese, spagnola
- Studi pubblicati su riviste con impact factor superiore a 2.0
- Studi che analizzano l'associazione tra parodontite cronica e almeno uno dei due seguenti polimorfismi:
 - SNP in posizione *IL1A* -889
 - SNP in posizione *IL1B* +3954

Gli studi in altre lingue sono stati esclusi per l'impossibilità di lettura da parte degli Autori. Sono stati inclusi solo studi con un disegno caso-controllo perché l'obiettivo di questa revisione sistematica è determinare la qualità di questo tipo di studi che sono ad oggi i più diffusi in ambito di ricerca genetica parodontale. Sono stati scelti solo gli studi che considerano i polimorfismi dei geni *IL1A* e *IL1B* perché sono quelli più studiati in associazione con la parodontite. Allo stesso modo sono stati selezionati solo gli studi pubblicati su riviste con impact factor superiore a 2.0, basandosi sull'ipotesi che la qualità degli studi pubblicati su queste riviste sia metodologicamente superiore, anche se questa scelta potrebbe rappresentare un limite di questa revisione.

Strategia della Ricerca

La ricerca elettronica è stata effettuata su PubMed, fino a Dicembre 2015 incluso, utilizzando la seguente stringa di ricerca:

(polymorphism OR mutation OR variant) AND (IL-1 OR interleukin-1 OR IL-1 OR cytokine) AND (periodontitis OR periodontal disease OR periodontal condition* OR periodontal health OR periodontosis OR periodontal breakdown OR periodontal destruction).

La ricerca è stata effettuata combinando termini MeSH e testo libero.

La ricerca manuale è stata effettuata sulle seguenti riviste da Gennaio 1997 a Ottobre 2015:

- Journal of Periodontology
- Journal of Periodontal Research
- Journal of Clinical Periodontology
- Journal of Dental Research

Selezione degli Studi

La selezione degli studi è stata dapprima eseguita valutando titoli e abstract da parte di 2 revisori indipendenti (F.C. e V.M.). Per non escludere nessun lavoro potenzialmente rilevante gli articoli selezionati da un revisore e non dall'altro sono stati inclusi nella prima selezione e letti integralmente. La concordanza inter-revisore è stata valutata tramite k di Cohen.

I due revisori indipendentemente hanno poi letto integralmente gli articoli selezionati. L'esclusione di un articolo si basava sui criteri di inclusione prestabiliti. Eventuali discordanze sono state risolte da un terzo revisore (M.A.). La concordanza inter-revisore è stata calcolata tramite k di Cohen.

Estrapolazione dei Dati

Due revisori (F.C. e V.M) hanno estrapolato indipendentemente i dati, compilando un'apposita tabella riassuntiva (Tabella 2). Ogni eventuale disaccordo è stato discusso con un terzo revisore (M.A.). L'analisi si è incentrata sulla qualità degli studi inclusi in questa revisione. Come messo in evidenza da Kinane et al. (4) esistono vari fattori di confondimento che possono inficiare i risultati degli studi di associazione in ambito parodontale. Sono stati presi in esame i seguenti aspetti: la classificazione delle malattie e delle condizioni parodontali utilizzata, la malattia parodontale presa in esame, i criteri diagnostici utilizzati per identificare i casi, i polimorfismi analizzati, la numerosità campionaria, la condizione parodontale dei controlli, il paese di provenienza e l'etnia, l'esposizione a diversi fattori di rischio o determinanti di rischio dei casi e dei controlli, il metodo di analisi del DNA e di individuazione dei polimorfismi, il controllo dell'osservanza della legge di Hardy-Weinberg e le conclusioni principali tratte dagli Autori degli studi.

Due tabelle sono state predisposte per raccogliere le informazioni relative alla qualità del reporting dei dati (Tabella 3) e alla qualità della metodologia scientifica (Tabella 4), associando ad ogni risposta un punteggio. La prima, redatta sulla base delle indicazioni presenti nello "STROBE ("Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology") statement" (11), prende in esame aspetti relativi all'adeguatezza di titolo, abstract, introduzione, materiali e metodi, risultati e conclusioni (vedi Tabella 3). La tabella relativa alla qualità metodologica è stata elaborata prendendo in considerazione gli aspetti metodologici che gli studi di associazione tra parodontite e polimorfismi dovrebbero rispettare secondo Kinane et al. (4) (vedi Tabella 4). Infine, per ogni articolo sono stati assegnati un punteggio complessivo e un valore percentuale indicante la proporzione di criteri soddisfatti rispetto al totale. Lo stesso tipo di analisi è stata condotta per ogni criterio, indicando il numero e la percentuale di articoli che lo rispettavano.

Risultati

Selezione degli studi

La flow chart dello studio è riportata nella Figura 1. La ricerca su database elettronico ha selezionato 477 titoli. La ricerca manuale non ha individuato nessun articolo che non fosse già stato individuato dalla ricerca elettronica. La lettura dei titoli e degli abstract ha portato all'esclusione di 450 articoli. La concordanza inter-revisore è stata valutata "molto buona" ($\kappa = 0,877$, $SE = 0,029$; IC 95%: 0,819 - 0,934). Dei rimanenti 27 articoli è stato letto il testo integrale di 23. Quattro articoli non sono stati reperiti nel loro formato integrale. Dopo la lettura integrale del testo sono stati esclusi altri 3 articoli (12-14) con una concordanza inter-revisore del 100%. Al termine della selezione, 20 articoli sono stati inclusi nella revisione sistematica.

Analisi dei dati

Una panoramica degli aspetti salienti degli studi revisionati è presentata nella Tabella 2. La valutazione della qualità in termini di reporting e di metodologia scientifica è riassunta nella Tabella 5. Per quanto riguarda la qualità della presentazione il punteggio massimo di 21 punti non è stato raggiunto da nessuno studio. In media il punteggio è stato di 13,05 +/- 2,60 punti. Lo studio migliore per la qualità del reporting è stato quello condotto da Tanaka et al. (15) con 19 punti. Il peggiore è stato quello di Galbraith et al (16) con 9 punti. In media gli studi analizzati hanno rispettato il 62,15% (SD: 12,37%) dei criteri per la valutazione della qualità in termini di presentazione dei risultati. In generale, la maggior parte degli studi ha descritto con chiarezza il razionale scientifico dello studio (100%) ed enunciato l'obiettivo della ricerca (95%). Va evidenziato che quasi sempre (95%) i risultati vengono adeguatamente sintetizzati per rispondere all'obiettivo dello studio. I maggiori limiti si riscontrano nel calcolo della potenza statistica, analizzato solo

in 3 studi (9,15,17), e nella descrizione dei potenziali fattori di confondimento, descritti solo nel 25% dei lavori presi in esame. Analogamente emerge una carenza di dati relativi alla distribuzione dei polimorfismi aggiustata per i principali fattori di confondimento, che sono stati forniti in 6 studi. Un limite evidente di quasi tutti gli studi, ad eccezione di uno (15), si riscontra nella mancanza di informazioni sul periodo di reclutamento dei soggetti presi in esame.

Per quanto riguarda, invece, la qualità metodologica degli studi, il punteggio medio ottenuto su un massimo di 14 punti è stato di 5,75 punti (SD: 1,79). In media gli studi analizzati rispettano il 41,08% +/- 12,75% dei criteri definiti importanti per garantire una buona qualità metodologica. Il punteggio massimo ottenuto è stato 9 punti, risultato raggiunto da 2 articoli (15,18). Il punteggio più basso è stato quello dello studio di Galbraith et al. (16) che ha ricevuto 2 punti. In termini di metodologia i limiti sembrano essere ancora più evidenti rispetto a quelli sottolineati dall'analisi della qualità del reporting. I limiti più evidenti riguardano il controllo dei possibili fattori di confondimento. Tra questi, il fumo di sigaretta è il fattore controllato più frequentemente (70%), mentre al limite opposto vi è lo stress che non è mai stato preso in considerazione (0%). Per quanto riguarda l'igiene orale solamente 4 studi su 20 sono riusciti a controllarne adeguatamente gli effetti (7,15,19,20). I due più importanti determinanti di rischio per la malattia parodontale, ovvero l'età e lo stato socio-economico, non sono stati spesso presi in considerazione. Infatti, solo il 50% e il 25% rispettivamente degli studi ne tengono conto in modo appropriato. Solo 4 studi controllano almeno 3 possibili fattori di rischio contemporaneamente (15,21-23). L'analisi dei grafici (Figura 1 e 2) dimostra un andamento casuale nel tempo per quanto riguarda la qualità del reporting, mentre evidenzia un trend temporale positivo per quanto riguarda la qualità metodologica, con gli articoli più recenti che raggiungono i punteggi più alti.

Discussione

Gli studi esaminati in questa revisione presentano un certo livello di eterogeneità nella metodologia utilizzata che si riflette nei diversi punteggi ottenuti nella valutazione della qualità. In passato, a causa della variabilità metodologica osservata in questi studi, è stata messa in dubbio la possibilità di includere lavori simili in revisioni sistematiche o metanalisi. Ad ogni modo alcuni Autori hanno eseguito ugualmente analisi di questo tipo. Karimbux et al. (24) ad esempio, in una recente revisione sistematica, che includeva anche una meta-analisi effettuata su 13 lavori, ha dimostrato una debole associazione positiva tra i polimorfismi dei geni *IL1A* e *IL1B* e la parodontite cronica (OR = 1.48 e OR = 1.54 rispettivamente). L'eterogeneità tra i lavori presi in esame era significativa e potrebbe aver influito sui risultati ottenuti. La difficoltà di stabilire una associazione clinicamente e/o statisticamente significativa tra i polimorfismi del gene *IL1* e la parodontite potrebbe derivare da errori di metodologia. I risultati di questa revisione sistematica confermano i limiti metodologici dei lavori analizzati. In primo luogo la maggior parte degli studi non analizza correttamente i fattori di confondimento. Un fattore di confondimento si definisce come un fattore associato all'esposizione (in questo caso, la presenza del polimorfismo) e alla malattia (la parodontite), senza però essere un risultato dell'esposizione. In primo luogo il livello di igiene orale è un parametro che raramente è stato considerato negli studi presi in esame. Tuttavia, se gli individui del gruppo di controllo presentano un livello di igiene orale migliore in modo statisticamente significativo di quello degli individui del gruppo dei casi, bisogna chiedersi se i controlli sono realmente resistenti alla malattia e viceversa. In questo modo, una possibile allocazione sbagliata potrebbe mascherare i veri effetti del polimorfismo in esame. Inoltre, è anche importante tenere in considerazione le possibili interazioni epigenetiche tra il DNA dell'ospite e la flora batterica, aspetto considerato raramente negli studi revisionati.

Il ruolo del tabagismo come fattore di rischio parodontale è ampiamente dimostrato e la maggior parte degli studi ne tiene conto (6-8, 15, 18-21, 23, 25-29). Molti studi controllano il fattore "fumo" eseguendo l'analisi in gruppi "smoking-matched" o aggiustando i risultati in fase di analisi statistica. Altri studi infine hanno deciso di escludere i fumatori, giacché il rischio indotto dal fumo potrebbe mascherare gli effetti degli altri fattori presi in esame (6). Tuttavia, questa soluzione potrebbe non essere la più corretta, in quanto non permette di stabilire eventuali relazioni epigenetiche tra fumo di sigaretta e polimorfismi che, di fatto, sembrano avere un ruolo più che importante nel determinare il rischio parodontale. L'età e lo stato socio-economico sono determinanti di rischio, nel senso che aumentano le probabilità di essere stati esposti a veri fattori di rischio (30). Alcuni studi non ritengono necessario condurre un'analisi age-matched perché i pattern genetici non cambiano con l'età. Tuttavia, l'età è un determinante di rischio e se i controlli sono più giovani è plausibile che potrebbero essere ugualmente suscettibili pur non avendo ancora sviluppato la parodontite. In termine, invece, di stato socio-economico gli studi che utilizzano come controlli studenti universitari, dentisti o persone di ceti sociali più elevati, che hanno potuto usufruire di migliori cure

odontoiatriche nel corso della propria vita, potrebbero non evidenziare un'associazione tra i polimorfismi del gene *IL1* e la parodontite.

Nonostante buona parte degli studi utilizzi la classificazione delle malattie e delle condizioni parodontali del 1999 (17-19,21,31,32), questa potrebbe non essere la più adeguata per dimostrare la associazione tra parodontite e polimorfismi. E' infatti possibile che malattie con profili genetici diversi, ma con aspetti clinici simili siano raggruppate nella stessa categoria di questa classificazione. La selezione dei pazienti potrebbe identificare soggetti affetti da malattie con differenti profili genetici. Per evitare questo problema, come suggeriscono vari Autori (33,34), una strategia potrebbe essere l'inclusione unicamente di fenotipi severi che non si prestino ad incertezza di classificazione. Per questa ragione abbiamo valutato quanti degli studi presi in esame avessero utilizzato criteri diagnostici quantomeno paragonabili a quelli proposti da Page & Eke (35) per la parodontite severa. Tuttavia, solo 1 studio su 20 ha adottato criteri simili (6). Un altro aspetto che dovrebbe essere considerato, sulla base dei dati pubblicati originalmente da Kornman (6), è la correlazione tra i polimorfismi e la severità della patologia. Tra gli studi revisionati solo 8 hanno fornito dati di associazione stratificando per la severità della patologia (7,18,20,27,36) (6).

Un altro aspetto rilevante è il numero di polimorfismi investigati contemporaneamente. E' dimostrato che la parodontite è una malattia poligenica e che 5-20 geni sono coinvolti nel determinare la suscettibilità. Inoltre, è stato dimostrato che un'interazione di tipo gene-gene potrebbe influenzare l'attività dei singoli alleli (33). Questo significa che un allele polimorfico, benché presente, potrebbe necessitare di un secondo polimorfismo per essere attivato. Nella presente revisione è stato impossibile assegnare un punteggio relativo al numero di polimorfismi che dovrebbero essere indagati contemporaneamente, dato che mancano informazioni su come questa analisi dovrebbe essere condotta e sul numero adeguato di polimorfismi da studiare nello stesso momento.

Infine, nonostante la maggior parte degli studi analizzati abbiano utilizzato un numero campionario superiore a 100, solo 3 studi, di cui 2 condotti sulla stessa popolazione (8,15,23), hanno analizzato il genotipo di almeno 1000 individui. In ambito genetico per studiare l'effetto di un polimorfismo (che spesso si esercita come un effetto debole) sono necessari campioni ad elevatissima numerosità. Per ovviare alla mancanza di significatività sarebbe opportuno che gli studi ampliassero il numero campionario. A tale scopo potrebbe essere meglio eseguire studi multicentrici. Tuttavia, l'aumento del numero campionario permetterebbe di aumentare la precisione, ma non l'esattezza dell'analisi statistica. Per migliorare l'esattezza è imprescindibile controllare adeguatamente i fattori di confondimento.

Migliorare la qualità del reporting potrebbe facilitare in futuro il compito di chi volesse eseguire lavori di revisione sistematica o meta-analisi in ambito genetico. Gli studi analizzati rispettano in media solo il 62,15% dei criteri che abbiamo ritenuto importanti da seguire nella presentazione di questa tipologia di studi. Contrariamente a quanto osservato in ambito metodologico, per quanto riguarda il reporting non emerge un trend di miglioramento temporale anche se lo STROBE statement (11) è stato pubblicato nel 2007. Probabilmente è necessario diffondere nella comunità scientifica l'importanza di questi aspetti.

I principali limiti di questa revisione sistematica sono relativi al fatto che è stato considerato un unico database e la restrizione a tre lingue. Un lavoro parallelo sta analizzando gli studi che hanno osservato l'associazione tra i polimorfismi del gene *IL1* e la parodontite aggressiva.

Conclusioni

In conclusione i risultati di questa revisione sistematica indicano che la maggior parte degli studi pubblicati in letteratura presentano limiti in termini di qualità la qualità di reporting e di metodologia scientifica. Questo inficia la validità esterna e, dunque, la generalizzabilità di questi lavori. Fino a quando non sarà disponibile un'evidenza scientifica basata su un maggiore rigore metodologico è difficile applicare i risultati ottenuti nella pratica clinica quotidiana.

Bibliografia

- Tabor HK, Risch NJ, Myers RM. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. *Nat Rev Genet.* 2002 Apr 30;3(5):391–7.
- Aimetti M, Perotto S, Castiglione A, Mariani GM, Ferrarotti F, Romano F. Prevalence of periodontitis in an adult population from an urban area in North Italy: findings from a cross-sectional population-based epidemiological survey. *J Clin Periodontol.* 2015 Jun 25;42(7):622–31.
- Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology* 2000. 1997 Jun;14:9–11.
- Kinane DF, Shiba H, Hart TC. The genetic basis of periodontitis. *Periodontology* 2000. 2005;39:91–117.

- Michalowicz BS, Aepli D, Virag JG, Klump DG, Hinrichs JE, Segal NL, et al. Periodontal findings in adult twins. *Journal of Periodontology*. 1991 May;62(5):293–9.
- Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1997 Jan;24(1):72–7.
- Meisel P, Siegemund A, Dombrowa S, Sawaf H, Fanghaenel J, Kocher T. Smoking and polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster (IL-1alpha, IL-1beta, and IL-1RN) in patients with periodontal disease. *Journal of Periodontology*. 2002 Jan;73(1):27–32.
- Meisel P, Schwahn C, Gesch D, Bernhardt O, John U, Kocher T. Dose-effect relation of smoking and the interleukin-1 gene polymorphism in periodontal disease. *Journal of Periodontology*. 2004 Feb;75(2):236–42.
- Armitage GC, Wu Y, Wang HY, Sorrell J, di Giovine FS, Duff GW. Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage. *Journal of Periodontology*. 2000 Feb;71(2):164–71.
- Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst Rev*. *BioMed Central*; 2015;4(1):1.
- Vandenberghe JP, Elm von E, Altman DG, Gøtzsche PC, Mulrow CD, Pocock SJ, et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): explanation and elaboration. *Epidemiology*. 2007 Nov;18(6):805–35.
- Braosi APR, de Souza CM, Luczyszyn SM, Dirschnabel AJ, Claudino M, Olandoski M, et al. Analysis of IL1 gene polymorphisms and transcript levels in periodontal and chronic kidney disease. *Cytokine*. Elsevier Ltd; 2012 Oct 1;60(1):76–82.
- Struch F, Dau M, Schwahn C, Biffar R, Kocher T, Meisel P. Interleukin-1 Gene Polymorphism, Diabetes, and Periodontitis: Results From the Study of Health in Pomerania (SHIP). *Journal of Periodontology*. 2008 Mar;79(3):501–7.
- Wu X, Offenbacher S, López NJ, Chen D, Wang HY, Rogus J, et al. Association of interleukin-1 gene variations with moderate to severe chronic periodontitis in multiple ethnicities. *J Periodontol Res*. 2014 Apr 2;50(1):52–61.
- Tanaka K, Miyake Y, Hanioka T, Arakawa M. Relationship between IL1 gene polymorphisms and periodontal disease in Japanese women. *DNA Cell Biol*. 2014 Apr;33(4):227–33.
- Galbraith GM, Hendley TM, Sanders JJ, Palesch Y, Pandey JP. Polymorphic cytokine genotypes as markers of disease severity in adult periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1999 Nov;26(11):705–9.
- Brett PM, Zygogianni P, Griffiths GS, Tomaz M, Parkar M, D'Aiuto F, et al. Functional Gene Polymorphisms in Aggressive and Chronic Periodontitis. *Journal of Dental Research*. 2005 Dec 1;84(12):1149–53.
- Moreira PR, Costa JE, Gomez RS, Gollob KJ, Dutra WO. The IL1A (-889) gene polymorphism is associated with chronic periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *J Periodontol Res*. Blackwell Publishing Ltd; 2007 Feb;42(1):23–30.
- Shete AR, Joseph R, Vijayan NN, Srinivas L, Banerjee M. Association of single nucleotide gene polymorphism at interleukin-1beta +3954, -511, and -31 in chronic periodontitis and aggressive periodontitis in Dravidian ethnicity. *Journal of Periodontology*. 2010 Jan;81(1):62–9.
- Papapanou PN, Neiderud AM, Sandros J, Dahlén G. Interleukin-1 gene polymorphism and periodontal status. A case-control study. *J Clin Periodontol*. 2001 May;28(5):389–96.
- Moreira PR, de Sa AR, Xavier GM, Costa JE, Gomez RS, Gollob KJ, et al. A functional interleukin-1 beta gene polymorphism is associated with chronic periodontitis in a sample of Brazilian individuals. *J Periodontol Res*. Munksgaard International Publishers; 2005 Aug;40(4):306–11.
- Lopez NJ, Jara L, Valenzuela CY. Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease. *Journal of Periodontology*. 2005 Feb;76(2):234–43.
- Meisel P, Siegemund A, Grimm R, Herrmann FH, John U, Schwahn C, et al. The interleukin-1 polymorphism, smoking, and the risk of periodontal disease in the population-based SHIP study. *Journal of Dental Research*. 2003 Mar;82(3):189–93.
- Karimbux NY, Saraiya VM, Elangovan S, Allareddy V, Kinnunen T, Kornman KS, et al. Interleukin-1 gene polymorphisms and chronic periodontitis in adult whites: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Periodontology*. 2012 Nov;83(11):1407–19.
- Ferreira SB, Trombone APF, Repeke CE, Cardoso CR, Martins W, Santos CF, et al. An interleukin-1beta (IL-1beta) single-nucleotide polymorphism at position 3954 and red complex periodontopathogens independently and additively modulate the levels of IL-1beta in diseased periodontal tissues. *Infect Immun*. American Society for Microbiology; 2008 Aug;76(8):3725–34.
- Wagner J, Kaminski WE, Aslanidis C, Moder D, Hiller K-A, Christgau M, et al. Prevalence of OPG and IL-1 gene polymorphisms in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. Blackwell Publishing Ltd; 2007 Oct;34(10):823–7.

- Agrawal AA, Kapley A, Yeltiwar RK, Purohit HJ. Assessment of single nucleotide polymorphism at IL-1A+4845 and IL-1B+3954 as genetic susceptibility test for chronic periodontitis in Maharashtrian ethnicity. *Journal of Periodontology*. 2006 Sep;77(9):1515–21.
- Lopez NJ, Jara L, Valenzuela CY. Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease. *Journal of Periodontology*. 2005 Feb;76(2):234–43.
- Laine ML, Farré MA, González G, van Dijk LJ, Ham AJ, Winkel EG, et al. Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis. *Journal of Dental Research*. 2001 Aug;80(8):1695–9.
- Papapanou PN, Lindhe J, Sterrett JD, Eneroth L. Considerations on the contribution of ageing to loss of periodontal tissue support. *J Clin Periodontol*. 1991 Sep;18(8):611–5.
- Zuccarello D, Bazzato MF, Ferlin A, Pengo M, Frigo AC, Favero G, et al. Role of familiarity versus interleukin-1 genes cluster polymorphisms in chronic periodontitis. *Gene*. 2014 Feb 10;535(2):286–9.
- Sakellari D, Katsares V, Georgiadou M, Kouvatsi A, Arsenakis M, Konstantinidis A. No correlation of five gene polymorphisms with periodontal conditions in a Greek population. *J Clin Periodontol*. 2006 Nov;33(11):765–70.
- Scapoli C, Borzani I, Guarnelli ME, Mamolini E, Annunziata M, Guida L, et al. IL-1 Gene Cluster is Not Linked to Aggressive Periodontitis. *Journal of Dental Research*. 2010 Apr 15;89(5):457–61.
- Fiebig A, Jepsen S, Loos BG, Scholz C, Schäfer C, Rühling A, et al. Polymorphisms in the interleukin-1 (IL1) gene cluster are not associated with aggressive periodontitis in a large Caucasian population. *Genomics*. Elsevier Inc; 2008 Oct 10;:1–7.
- Page RC, Eke PI. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *Journal of Periodontology*. 2007 Jul;78(7 Suppl):1387–99.
- Gore EA, Sanders JJ, Pandey JP, Palesch Y, Galbraith GM. Interleukin-1beta+3953 allele 2: association with disease status in adult periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1998 Oct;25(10):781–5.

Riferimento

Filippo Citterio

E-mail: filippocitterio89@gmail.com