



Republic of Iraq  
Ministry of Higher Education  
And Scientific Research  
University of Baghdad  
College of Dentistry



**ASSOCIATION OF NLRP3 AND IKK $\beta$  GENES  
POLYMORPHISMS WITH PERIODONTITIS AND  
SALIVARY CASPASE-1 AND TNF- $\alpha$  LEVELS  
(CASE-CONTROL STUDY)**

A dissertation submitted to the council of the College of Dentistry/  
University of Baghdad in partial fulfilment of the requirement for the  
Degree of Doctorate of Philosophy in Periodontics

Submitted by

**Athraa Ali Mahmood**

B.D.S., M.Sc. Periodontics

Supervised by

**Assistant Prof. Dr Raghad Fadhil Abbas**

B.D.S., M.Sc., Ph.D. Periodontics

**2023 A.D.**

**1444 A.H.**

# ABSTRACT

## Introduction

Periodontitis is a complicated inflammatory disease caused by genetics and other factors that affect immunological fitness. NLRP3 regulates the maturation and release of the cytokines and activation of the caspase-1 and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) in response to stimuli, which have a role in periodontitis pathogenesis. IKK $\beta$  modulates osteoclast development and is necessary for inflammation-induced bone loss, making IKK $\beta$  and NLRP3 single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with periodontitis susceptibility. This study was designed to investigate the association of NLRP3 and IKK $\beta$  genes polymorphisms with periodontitis and salivary caspase-1 and TNF- $\alpha$  levels in Arabs Iraqi populations.

## Materials and methods

This case-control study enrolled 94 subjects aged 30-55 years. The control group (n=32) had healthy periodontium, while the case group had periodontitis (n=62). Unstimulated salivary levels of caspase-1 and TNF- $\alpha$  were estimated using an enzyme-linked-immunosorbent assay (ELISA), periodontal parameters were recorded, and 2ml of venous blood was collected for genetic-analysis of some polymorphisms in NLRP3 and IKK $\beta$  genes for each individual.

## Results

Hardy Weinberg equilibrium revealed non-significant differences in all groups for NLRP3 genotypes at rs10925024, rs4612666, rs34777555, and rs10754557. Regarding rs10925024, there were 35 SNPs in periodontitis and 10 in the control group, with significant differences between groups and positive association with clinical attachment loss (CAL), while other NLRP3 SNPs did not have any difference. Regarding IKK $\beta$  SNPs, the odd ratio (OR)

in periodontitis was 5.264 for rs17875746 and 0.900 for rs12676482. rs17875746 allele-T was associated with periodontitis (OR=6.750). In addition, a positive association of rs17875746 was shown with positive family history, CAL, and gingival recession.

Finally, concerning TNF- $\alpha$  and caspase-1, salivary levels increased in periodontitis and positively correlated with all clinical parameters and each other. For differentiating periodontal health and periodontitis, the Area under the curve of TNF- $\alpha$  and caspase-1 were 0.978 and 0.998, while the proposed cut-off points were 128.163 pg/ml and 1.626 ng/ml, respectively.

### **Conclusion**

A high frequency of NLRP3 and IKK $\beta$  genes polymorphisms may increase periodontitis genetic susceptibility. In addition, caspase-1 and TNF- $\alpha$  showed high sensitivity and specificity in diagnosis and distinguishing periodontitis from periodontal health. Finally, NLRP3 rs10925024 and IKK $\beta$  rs17875746 were positively associated with TNF- $\alpha$  and caspase-1 in Arab Iraqi patients, which may suggest a significant role in the pathogenesis of periodontitis.

## الخلاصة

### المقدمة:

التهاب دواعم السن هو مرض التهابي معقد تسببه الوراثة وعوامل أخرى تؤثر على الاستجابة المناعية. ينظم NLRP3 نضوج وإطلاق السيتوكينات، وتنشيط الكاسبسات مثل كاسباس-1 و عامل نخر الورم-ألفا استجابة لإشارات الخطر ، والتي لها دور في التسبب في التهاب دواعم السن. بينما  $IKK\beta$  ينظم تطور خلايا ناقصات العظم وهو ضروري لفقدان العظام الناجم عن الالتهاب ، مما يجعل تعدد أشكال النيوكليوتيدات المفردة لل  $IKK\beta$  و NLRP3 مرتبطة بقابلية التهاب دواعم السن. وكان هدف الدراسة معرفة ما إذا كانت تعدد الأشكال الجيني لل  $IKK\beta$  و NLRP3 في السكان العرب العراقيين مرتبطة بالتهاب دواعم الأسنان والعلامات الحيوية للعبية كاسباس -1 وعامل نخر الورم-ألفا.

### المواد وطرق العمل:

تضمنت الدراسة 94 شخصًا تتراوح أعمارهم بين 30 و 55 عامًا. كانت المجموعة الضابطة (ن=32) لديهم لثة سليمة ، بينما كانت المجموعة المصابة بالتهاب دواعم السن (ن=62). تم تقدير المستويات الالعبية غير المحفزة كاسباس-1 و  $TNF-\alpha$  باستخدام مقاييس الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم ، وتسجيل الاعراض السريرية لمرض التهاب دواعم السن ، كما وتم جمع 2 مل من الدم الوريدي للتحليل الجيني لكل فرد.

### النتائج:

كشف توازن هاردي واينبرغ عن اختلافات غير مهمة في جميع المجموعات للأنماط الجينية المرتبطة مع NLRP3 في rs10925024 و rs4612666 و rs34777555 و rs10754557. فقد كان هنالك 35 طفرة في مرضى التهاب دواعم السن و 10 في المجموعة السليمة للنمط الجيني (rs10925024) مع فروق ذات دلالة إحصائية ، في حين أن تعدد أشكال النيوكليوتيدات المفردة الأخرى لم تكن كذلك. كما وارتبط فقدان الانسجة الرابطة و rs10925024 بشكل إيجابي مع مرض التهاب دواعم السن.

إضافة الى ذلك كانت نسبة احتمال الإصابة بمرض التهاب دواعم السن مع تعدد الأشكال الجيني  $IKK\beta$  هي 5.264 لطفرة rs17875746 و 0.900 لطفرة rs12676482. بينما ارتبط T-اليل في rs17875746 بالتهاب دواعم السن بمقدار 6.750. إضافة إلى ذلك ، هناك ارتباط إيجابي لطفرة rs17875746 مع تاريخ العائلة لمرض التهاب دواعم السن وفقدان الانسجة الرابطة وانحسار اللثة.

زادت مستويات لعاب عامل نخر الورم-ألفا و كاسباس-1 في مرضى التهاب دواعم السن وارتبطت بشكل إيجابي مع جميع المتغيرات السريرية وبعضها البعض. للتمييز بين اللثة السليمة والتهاب دواعم السن كانت قيمة المنطقة تحت منحنى عامل نخر الورم-ألفا وكاسباس-1 عالية جدا وهي (0.978 و 0.998) ، بينما كانت نقاط الفصل المقترحة هي 128.163 و 1.626 على التوالي.

#### الاستنتاجات:

قد يؤدي تعدد الأشكال الجينية في  $NLRP3$  و  $IKK\beta$  إلى زيادة القابلية الوراثية لالتهاب دواعم السن. علاوة على ذلك ، أظهر كاسباس-1 وعامل نخرالورم-ألفا حساسية وخصوصية عالية في التشخيص وتمييزمرض التهاب دواعم السن عن اللثة السليمة. أخيرًا ، يرتبط  $NLRP3$  rs10925024 و rs17875746 مع عامل نخر الورم-ألفا وكاسباس-1 في المرضى العراقيين العرب ، مما قد يشير إلى دورها المهم في التهاب دواعم السن.



جمهورية العراق  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
جامعة بغداد  
كلية طب الاسنان



ارتباط تعدد الأشكال الجيني **NLRP3** و **IKK $\beta$**  مع التهاب دواعم السن  
ومستويات اللعاب **Caspase-1** و **TNF- $\alpha$**   
(دراسة الحالات والشواهد)

اطروحة مقدمة الى مجلس كلية طب الاسنان في جامعة بغداد كجزء من متطلبات نيل شهادة  
الدكتوراه في امراض وجراحة ما حول الاسنان

قدمت من قبل

عذراء علي محمود

ماجستير امراض وجراحة ما حول الاسنان

اشراف

ا.م.د رغد فاضل عباس

دكتوراه أمراض وجراحة ما حول الأسنان