

АНОТАЦІЯ

Горголь К.О. Молекулярно-генетичні основи діагностики захворювань пародонта в осіб молодого віку. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 221 – стоматологія. – Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України, Київ, 2020.

В дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуальної задачі сучасної стоматології - створення системи діагностичних заходів щодо виявлення захворювань тканин пародонта в осіб молодого віку (18-25 років) шляхом вивчення на біохімічному і молекулярно-генетичному рівні потенційних маркерів ризику.

На підставі поглибленого вивчення ролі біохімічних і молекулярно-генетичних механізмів розвитку патологічних змін в тканинах пародонта осіб молодого віку (18-25 років) було визначено 4 варіанта молекулярно-генетичних профілів із змінами в ротовій рідині вмісту оксиду азоту, інтерлейкіна-4, інтерлейкіна-1 β і фактору некрозу пухлин- α , що стало підставою для розробки нового способу прогнозування розвитку та ранньої діагностики на етапі передхвороби гінгівіту та початкових стадій пародонтиту із впровадженням нового алгоритму диспансеризації з персоніфікованим контролем пародонтологічного статусу.

На I етапі дослідження було проаналізовано 170754 медичні карти осіб молодого віку (18-25 років) за період 2011-2016 р.р. із визначенням середньорічної пародонтологічної захворюваності на рівні - 0,18%, тоді як в результаті проведення об'єктивного пародонтологічного обстеження 155 студентів цього ж віку захворювання пародонта були виявлені у 73,55%.

На II етапі дослідження з метою визначення особливостей клінічного перебігу захворювань пародонта в осіб молодого віку було проведено спеціалізоване пародонтологічне обстеження (індекс РМА, глибина ПК, втрата епітеліального прикріплення, кровотеча ясен, рухомість зубів, індекс

ОHI-S) 155 осіб (18 до 25 років) із розподіленням на групи: I - особи з інтактним пародонтом; II - особи з катаральним гінгівітом; III - особи з генералізованим пародонтитом початкового, I ступеня. Для визначення ролі можливих факторів ризику (стать, тютюнопаління, гіподинамія, дієтичні уподобання) у розвитку захворювань пародонта кожен обстежений заповнював розроблену анкету-опитувальник.

З метою визначення біохімічного фенотипу і дослідження молекулярно-генетичного профілю, після отримання інформованої згоди, було відібрано 80 осіб (24 чоловічої статі і 56 - жіночої), які були розподілені на групи: I (21) - інтактний пародонт; II (22) - хронічний катаральний гінгівіт; III (37) - генералізований пародонтит початкового, I ступеня. Для визначення біохімічного фенотипу в обстежених трьох груп натщесерце без стимуляції в одні і ті ж ранкові години здійснювали забір ротової рідини для визначення інтерлейкінів (IL-1 β , IL-4), ФНП- α і вмісту нітритів. Для дослідження молекулярно-генетичного профілю одночасно за допомогою букальних щіточок забирали букальний епітелій з подальшим заморожуванням зразків при температурі -20°C. Для визначення генів-маркерів захворювань пародонта з букального епітелію була виділена геномна ДНК з подальшим аналізом за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) поліморфних варіантів по гену ACE: I/I, I/D, D/D; по гену TNF- α : G308G, G308A, A308A; по гену eNOS: G894G, G894T, T894T.

На заключному етапі з метою апробації нового алгоритму диспансеризації з персоніфікованим контролем пародонтологічного статусу було проведено клінічне спостереження тривалістю 12 міс. (контрольні точки обстежень: 3, 6 і 12 міс.) за 40 особами молодого віку з різними поліморфними варіантами досліджуваних генів.

Отримані результати. Виявлено, що інтенсивність і поширеність захворювань пародонта в осіб молодого віку має найбільшу залежність від шкідливої звички - тютюнопаління. Наявність регулярного фізичного навантаження позитивно впливає на стан тканин пародонта.

Встановлено, що визначення цитокінового профілю (IL-4 та IL-1 β) в ротовій рідині осіб молодого віку (18-25 років) відображає стадії розвитку патологічного процесу в пародонті: від інтактного пародонта до гінгівіту і пародонтиту початкового, I ступеня (IL-4 - $4,18 \pm 0,67$ пг/мл, $2,67 \pm 0,56$ пг/мл і $2,42 \pm 0,53$ пг/мл ($p < 0,05$), відповідно; IL-1 β - $131,34 \pm 26,54$ пг/мл, $265,44 \pm 34,14$ пг/мл ($p < 0,05$) і $393,99 \pm 13,96$ пг/мл ($p < 0,05$), відповідно). При порівнянні з особами, що не палять, виявлена більш висока чутливість до впливу тютюнопаління на вміст в ротовій рідині IL-4: серед осіб I групи - $2,18 \pm 0,75$ і $4,65 \pm 0,69$ пг/мл, відповідно; серед осіб II групи - $1,26 \pm 0,26$ і $2,81 \pm 0,61$ пг/мл; серед осіб III групи $2,17 \pm 0,89$ і $2,62 \pm 0,63$ пг/мл. Відзначено підвищення в ротовій рідині осіб обох статей з гінгівітом і пародонтитом рівня прозапального цитокіну ФНП- α (у жінок в 2 і 9 разів, $p = 0,0003$, у чоловіків в 3 і більше 10 разів, $p = 0,0015$). Таким чином, підтверджена прогностична значимість цих показників в ініціації та розвитку генералізованих захворювань пародонта.

В результаті молекулярно-генетичного обстеження було виявлено наступний розподіл поліморфних варіантів по гену ACE: I/I - 20,00%, I/D - 37,50%, D/D - 42,50%; по гену TNF- α : G308G - 63,75%, G308A - 30,00%, A308A - 6,25%; по гену eNOS: G894G - 40,00%, G894T - 43,75%, T894T - 16,25%. При цьому встановлено, що ризик розвитку захворювань пародонта в осіб молодого віку був підвищений при наявності генотипів D/D гена ACE, алелі D гена ACE, G308A гена TNF- α , T894T гена eNOS, алелі 894T гена eNOS. Ризик розвитку пародонтиту серед обстежених був достовірно ($p < 0,05$) нижчим при наявності комбінацій поліморфних варіантів I/I по гену ACE і G308G по гену TNF- α , I/D по гену ACE і G894G по гену eNOS, а також G894G по гену eNOS і G308G по гену TNF- α , а ризик розвитку гінгівіту був достовірно ($p < 0,05$) нижчим при наявності комбінацій поліморфних варіантів I/I по гену ACE і G308G по гену TNF- α , що пояснюється протективною дією комбінацій даних генів.

На підставі вперше визначених серед осіб молодого віку (18-25 років) з різним станом пародонта 4 варіантів молекулярно-генетичних профілів, був розроблений спосіб прогнозування розвитку і діагностики передхвороби захворювань пародонта (Патент України на корисну модель. Реєстраційний номер G01N 33/48 (2006.01) A61B 5/00 от 25.04.2018). Клінічне випробування цього способу шляхом спостереження за 40 особами молодого віку з різним пародонтологічним статусом і різними генетичними профілями протягом 12 міс. підтвердило його ефективність. Воно стало основою для розробки нового протоколу пародонтологічної диспансеризації осіб молодого віку (18-25 років) з різним станом пародонта, що складається, в залежності від молекулярно-генетичного профілю, з 5 диспансерних груп: I - особи з превалюванням генотипу D/D гена ACE, присутністю генотипу A308A гена TNF- α і T894T гена eNOS; II - особи з переважанням генотипів G894G гена eNOS, G308G гена TNF- α і відсутністю генотипу D/D гена ACE; III - особи з переважанням генотипу I/D гена ACE, відсутністю генотипів A308A гена TNF- α і T894T гена eNOS, які об'єднали осіб з гінгівітом або пародонтитом. IV - особи з інтактним пародонтом, у яких присутні генотипи I/I гена ACE, G308G гена TNF- α або G894G гена eNOS; V - особи з інтактним пародонтом, у яких виявлені поліморфізми I/D або D/D гена ACE, G308A або A308A гена TNF- α , G894T або T894T гена eNOS.

При першому обстеженні всі особи були навчені правилам індивідуальної гігієни, отримали рекомендації щодо раціону харчування, боротьби з гіподинамією, необхідності відмови від шкідливої звички - тютюнопаління. Клінічне спостереження тривало 12 міс. з контрольними обстеженнями через 3, 6 і 12 міс. При обстеженні через 12 міс., залежно від попередньо встановленого генетичного профілю, були визначені певні зміни в стані тканин пародонта. В осіб з I генетичним профілем, на тлі стабільно незадовільного гігієнічного стану порожнини рота, інтенсивність запального процесу в тканинах пародонта і кровоточивість ясен статистично значимо ($p < 0,05$) зростали. У частини обстежених з раніше діагностованим гінгівітом

була виявлена ВЕП з появою одиночних ПК, а у частини осіб з пародонтитом - збільшення ВЕП. Більшість осіб з I генетичним профілем дотримувались даним їм раніше рекомендаціям, а погіршення їх пародонтологічного статусу можливо пояснити наявністю в їх генетичному профілі поліморфізмів D/D гена ACE, A308A гена TNF- α або T894T гена eNOS, які є діагностичними маркерами пародонтиту. В осіб з II генетичним профілем, на фоні стабільно незадовільного гігієнічного стану порожнини рота, у 60% обстежених вираженість запальних процесів в тканинах пародонта не прогресувала, а у 40% - клінічні симптоми запалення виявлені не були, при тому, що більшість з цих осіб не дотримувались гігієнічних рекомендацій, не змінили свій раціон харчування і не припинили палити. Поліпшення їх пародонтологічного статусу можна пояснити наявністю в їх молекулярно-генетичних профілях поліморфних варіантів I/I гена ACE, G308G гена TNF- α або G894G гена eNOS, для яких характерна протективна дія в ініціації та розвитку генералізованих захворювань пародонта. В осіб з III генетичним профілем, на фоні поліпшення гігієнічного стану порожнини рота, клінічних ознак прогресування патологічного процесу виявлено не було, незважаючи на наявність в обстежених поліморфізмів I/D гена ACE, G308A гена TNF- α або G894T гена eNOS, що можливо пояснити виконанням всіх попередніх рекомендацій з повним усуненням шкідливої звички – тютюнопаління. В осіб з IV генетичним профілем у 58%, які не дотримувались даних ним раніше рекомендацій (погано чистили зуби, продовжували курити, не змінили свій раціон харчування, не займались спортом), наступило погіршення пародонтологічного статусу. При цьому 42% осіб, які дотримувались всіх отриманих раніше рекомендацій, зберегли свій пародонт здоровим.

Таким чином, вочевидь, що провідну роль у розвитку захворювань пародонта має індивідуальний генетичний профіль. Розроблений протокол диспансеризації з персоніфікованим контролем пародонтологічного статусу в залежності від біохімічного та молекулярно-генетичного профілю дозволяє виявити стан передхвороби, а також контролювати динаміку клінічного

перебігу гінгівіту і пародонтиту з своєчасним застосуванням профілактичних та лікувальних заходів.

При проведенні планової санації студентської молоді у віці 18-25 років обов'язково потрібно визначати пародонтологічні індекси, оцінювати гігієнічний стан порожнини рота, проводити опитування з використанням розробленої анкети-опитувальника з метою виявлення можливих факторів ризику, а при виявленні найбільш значимого серед локальних факторів ризику - шкідливої звички тютюнопаління, проводити мотиваційні бесіди, необхідність відмови від цієї шкідливої звички. Необхідно визначати в ротовій рідині осіб молодого віку (18-25 років) вміст оксиду азоту, цитокінового профілю (IL-4 і IL-1 β), а також рівня прозапального цитокіну ФНП- α , які мають прогностичну значимість в ініціації та розвитку генералізованих захворювань пародонта. Потрібно обов'язково проводити молекулярно-генетичне обстеження осіб молодого віку (18-25 років) як з інтактним пародонтом, так і з захворюваннями пародонта для визначення поліморфних варіантів генів ACE, eNOS і TNF- α з метою визначення індивідуального варіанта молекулярно-генетичного профілю, що дозволяє визначити ризик розвитку захворювань пародонта на етапі передхвороби або контролювати перебіг існуючого захворювання. Використання нового протоколу диспансеризації осіб молодого віку (18-25 років) з персоніфікованим контролем пародонтологічного статусу в залежності від біохімічного та молекулярно-генетичного профілю дозволить попередити розвиток захворювань пародонта або допоможе досягти тривалої ремісії в розвитку катарального гінгівіту або початкового генералізованого пародонтиту з застосуванням своєчасних превентивних профілактичних підходів.

Ключові слова: особи молодого віку, генералізовані захворювання пародонта, біохімічний фенотип, молекулярно-генетичний профіль, букальний епітелій, ротова рідина

ANNOTATION

Gorgol K.O. Molecular Genetic Principles of Periodontal Disease Diagnosis in Young Adults. - Qualified scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for the Doctor's of Philosophy degree in specialty 221 –Stomatology.
– Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Ministry of health of Ukraine, Kyiv, 2020.

Thesis presents a theoretical generalization and a new solution for the current problem of modern dentistry - creating a system of diagnostic measures for detecting periodontal disease in young people (18-25 years old) by studying potential risk markers on the biochemical and molecular-genetic levels.

Based on an in-depth study of the role of biochemical and molecular-genetic mechanisms of pathological changes in periodontal tissues of young people (18-25 years old), 4 variants of molecular-genetic profiles with changes in nitric oxide, interleukin-4, interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α were identified, which became the basis for the development of a new method for predicting the development and early diagnosis of gingivitis and early stages of periodontitis at the stage of pre-disease with the introduction of a new algorithm with personalized control of periodontal status.

At I stage of the study, 170,754 medical cards of young people (18-25 years old) for the period 2011-2016 were analyzed, with the definition of the average annual periodontal morbidity at the level of 0,18%, while as a result of an objective periodontal examination of 155 students of the same age were diagnosed with periodontal disease in 73.55%.

At II stage of the study, to determine the features of the clinical course of periodontal disease in young people, a specialized periodontal examination (PMA index, PP depth, loss of epithelial attachment, bleeding gums, tooth mobility, OHI-S index) of 155 people (18-25 years old) was conducted with division into groups: I - persons with intact periodontium; II - persons with catarrhal gingivitis; III - persons with generalized periodontitis of initial, I degree. To determine the role of possible

risk factors (gender, smoking, hypodynamics, dietary preferences) in the development of periodontal disease, each subject filled out a questionnaire.

In order to determine the biochemical phenotype and study the molecular-genetic profile, after obtaining informed consent, 80 people (24 males and 56 females) were selected and divided into groups: I (21) - intact periodontium; II (22) - chronic catarrhal gingivitis; III (37) - generalized periodontitis of initial, I degree. To determine the biochemical phenotype, in the examined three groups on an empty stomach without stimulation at the same morning hours, oral fluid was taken to determine interleukins (IL-1 β , IL-4), TNF- α and nitrite content. To study the molecular-genetic profile, the buccal epithelium was removed simultaneously with the help of buccal brushes, followed by freezing of the samples at a temperature of -20°C. To determine the marker genes for periodontal disease from the buccal epithelium, genomic DNA was isolated with subsequent analysis by polymerase chain reaction (PCR) of polymorphic variants of ACE gene: I/I, I/D, D/D; of TNF- α gene: G308G, G308A, A308A; of eNOS gene: G894G, G894T, T894T.

At the final stage, in order to test a new algorithm of medical examination with personalized control of periodontal status, a clinical observation lasting 12 months was performed (checkpoints: 3, 6 and 12 months) for 40 young people with different polymorphic variants of the studied genes.

The obtained results. It was found that the intensity and prevalence of periodontal disease in young people is most dependent on a bad habit - smoking. The presence of regular sport exercise has a positive effect on the condition of periodontal tissues.

It was found that the determination of the cytokine profile (IL-4 and IL-1 β) in the oral fluid of young people (18-25 years old) reflects the stages of the pathological process in the periodontium: from intact periodontium to gingivitis and periodontitis of initial, I degree (IL-4 – 4,18 $\pm$ 0,67 pg/ml, 2,67 $\pm$ 0,56 pg/ml and 2,42 $\pm$ 0,53 pg/ml ($p<0,05$), respectively, IL-1 β – 131,34 $\pm$ 26,54 pg/ml, 265,44 $\pm$ 34,14 pg/ml ($p<0,05$) and 393,99 $\pm$ 13,96 pg/ml ($p<0,05$, respectively). In comparison with non-smokers, a

higher sensitivity to the effects of smoking on the content of IL-4 in the oral fluid: among persons of I group – $2,18 \pm 0,75$ and $4,65 \pm 0,69$ pg/ml, respectively ; among persons of II group – $1,26 \pm 0,26$ and $2,81 \pm 0,61$ pg/ml; among persons of III group $2,17 \pm 0,89$ and $2,62 \pm 0,63$ pg/ml. There was an increase of level of proinflammatory cytokine TNF- α in oral fluid of persons of both sexes with gingivitis and periodontitis (in women 2 and 9 times, $p=0,0003$, in men 3 and more 10 times, $p=0,0015$). Thus, the prognostic significance of these indicators in the initiation and development of generalized periodontal disease is confirmed.

As a result of molecular-genetic examination, the following distribution of polymorphic variants of ACE gene was revealed: I/I – 20,00%, I/D – 37,50%, D/D – 42,50%; of TNF- α gene: G308G – 63,75%, G308A – 30,00%, A308A – 6,25%; of eNOS gene: G894G – 40,00%, G894T – 43,75%, T894T – 16,25%. It was found that the risk of periodontal disease in young people was increased in the presence of genotypes D/D of ACE gene, allele D of ACE gene, G308A of TNF- α gene, T894T of eNOS gene, allele 894T of eNOS gene. The risk of periodontitis among the subjects was significantly ($p<0,05$) lower in the presence of combinations of polymorphic variants I/I of ACE gene and G308G of TNF- α gene, I/D of ACE gene and G894G of eNOS gene, as well as G894G of eNOS and G308G of TNF- α gene, and the risk of gingivitis was significantly ($p<0,05$) lower in the presence of combinations of polymorphic variants I/I of ACE gene and G308G of TNF- α gene, due to the protective effect of combinations of these genes.

Based on 4 variants of molecular-genetic profiles, identified for the first time among young people (18-25 years old) with different periodontal conditions, a method for predicting the development and diagnosis of periodontal disease was developed (Patent of Ukraine for utility model. Registration number A61B 5/00 from 25.04.2018). Clinical trial of this method by observing 40 young people with different periodontal status and different genetic profiles for 12 months confirmed its effectiveness. It became the basis for the development of a new protocol for periodontal examination of young people (18-25 years old) with different

periodontal conditions depending on the molecular-genetic profile, consisting of 5 dispensary groups: I - individuals with a predominance of D/D genotype of ACE gene, the presence of genotype A308A of TNF- α gene and T894T of eNOS gene; II - persons with predominance of genotypes G894G of eNOS gene, G308G of TNF- α gene and absence of D/D genotype of ACE gene; III - individuals with a predominance of I/D genotype of ACE gene, the absence of genotypes A308A of TNF- α gene and T894T of eNOS gene, which combined individuals with gingivitis or periodontitis. IV - persons with intact periodontium, in which there are genotypes I/I of ACE gene, G308G of TNF- α gene or G894G of eNOS gene; V - persons with intact periodontium, in which polymorphisms I/D or D/D of ACE gene, G308A or A308A of TNF- α gene, G894T or T894T of eNOS gene have been detected.

At the first examination, all individuals were taught the rules of personal hygiene, received recommendations on diet, combating hypodynamics, the need to give up a bad habit - smoking. Clinical follow-up lasted 12 months with control examinations after 3, 6 and 12 months. At examination after 12 months, depending on the previously established genetic profile, certain changes in the condition of periodontal tissues were identified. In persons with I genetic profile, against the background of stable unsatisfactory hygienic condition of oral cavity, the intensity of the inflammatory process in the periodontal tissues and bleeding gums statistically significantly ($p < 0,05$) increased. In some subjects with previously diagnosed gingivitis was found EAL with the appearance of single PPs, and in some people with periodontitis - an increase in EAL. Most individuals with I genetic profile followed their previous recommendations, and the deterioration of their periodontal status can be explained by the presence in their genetic profile of D/D polymorphisms of ACE gene, A308A of TNF- α gene or T894T of eNOS gene, which are diagnostic markers of periodontitis. In persons with II genetic profile, against the background of stable unsatisfactory oral hygiene, in 60% of those surveyed the severity of inflammatory processes in periodontal tissues did not progress, and in 40% - clinical symptoms of inflammation were not detected,

although most of these individuals did not followed hygienic recommendations, did not change their diet and did not stop smoking. The improvement of their periodontal status can be explained by the presence in their molecular genetic profiles of polymorphic variants I/I of ACE gene, G308G of TNF- α gene or G894G of eNOS gene, which are characterized by a protective effect in the initiation and development of generalized periodontal disease. In persons with III genetic profile, against the background of improved oral hygiene, no clinical signs of progression of the pathological process were detected, despite the presence in the examined of polymorphisms I/D of ACE gene, G308A of TNF- α gene or G894T of eNOS gene, which can be explained by compliance of all previous recommendations with complete elimination of the bad habit - smoking. In persons with IV genetic profile in 58% who did not follow given earlier recommendations (badly brushed teeth, continued to smoke, did not change their diet, did not engaged in sports), there was a deterioration of periodontal status. At the same time, 42% of people, who followed all the previously received recommendations, kept their periodontium healthy.

Thus, it is obvious, that the leading role in the development of periodontal disease has an individual genetic profile. The developed medical examination protocol with personalized control of periodontal status depending on the biochemical and molecular-genetic profile allows to detect the pre-disease state, as well as to control the dynamics of the clinical course of gingivitis and periodontitis with timely application of preventive and curative measures.

When carrying out planned rehabilitation of student youth aged 18-25 years, it is necessary to determine periodontal indices, assess the hygienic condition of the oral cavity, conduct surveys using the developed questionnaire to identify possible risk factors, and to identify the most significant among local risk factors - bad habit of smoking, to conduct motivational conversations, the need to give up this bad habit. It is necessary to determine the content of nitric oxide, cytokine profile (IL-4 and IL-1 β), as well as the level of proinflammatory cytokine TNF- α in the oral fluid of young people (18-25 years old), which have prognostic significance in the

initiation and development of generalized periodontal disease. It is necessary to conduct a molecular-genetic examination of young people (18-25 years old) with intact periodontium and periodontal disease to determine polymorphic variants of ACE, eNOS and TNF- α genes to determine the individual variant of the molecular-genetic profile, which allows to determine the risk of periodontal disease at the stage of pre-disease or to control the course of the existing disease. The use of a new protocol of medical examination of young people (18-25 years old) with personalized control of periodontal status depending on the biochemical and molecular-genetic profile will prevent the development of periodontal disease or help achieve long-term remission in the development of catarrhal gingivitis or initial generalized periodontitis with the use of timely preventive approaches.

Key words: young people, generalized periodontal disease, biochemical phenotype, molecular-genetic profile, buccal epithelium, oral fluid

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Білоклицька ГФ, Горголь КО. Ведущие местные факторы риска в развитии воспалительных заболеваний пародонта у лиц молодого возраста. Стоматология. Эстетика. Инновации. 2017; (2): 203-214.
2. Белоклицкая ГФ, Горголь КО, Кирыченко СП. Оцінка прогностичної значимості поліморфізму G894T гену eNOS у осіб молодого віку (18-25 років) у виникненні захворювань тканин пародонта. Вісник стоматології. 2018; 1: 36-41.
3. Белоклицкая ГФ, Горголь КО, Кирыченко СП. Влияние полиморфизма G308A гена TNF- α у лиц молодого возраста (18-25 лет) на возникновение заболеваний тканей пародонта. Вісник стоматології. 2018; 2: 23-28.
4. Белоклицкая ГФ, Горголь КО, Кирыченко СП. Оценка прогностической значимости полиморфизма I/D гена ACE у лиц молодого возраста в возникновении заболеваний тканей пародонта. Вісник морської медицини. 2018; 1(79): 48-55.
5. Galyna Biloklytska, Kostiantyn Gorgol, Svitlana Kiryachenko. Evaluation of the prognostic significance of G894T polymorphism of eNOS gene, G308A of TNF- α gene and I/D of ACE gene in young people (18-25 years) in the onset of periodontal disease. Stomatologia Wspolczesna. 2018; (2): 8-17.
6. Білоклицька ГФ, Горголь КО, Кир'яченко СП. Спосіб прогнозування розвитку та ранньої діагностики на етапі передхвороби запальних та запально-дистрофічних захворювань тканин пародонта в осіб молодого віку (18-25 років). Патент на корисну модель. Реєстраційний номер G01N 33/48 (2006.01) A61B 5/00 від 25.04.2018, бюлетень №8.
7. Galyna Biloklytska, Kostiantyn Gorgol, Svitlana Kiryachenko. Evaluation of the prognostic significance of the salivary cytokine profile (IL-1 β and IL-4) of oral fluid in the development of initial periodontitis in young people. Stomatologia Wspolczesna. 2018; (5-6): 24-29.

8. Galyna Biloklytska, Kostiantyn Gorgol. Evaluation of prognostic significance of nitrite and cytokine profile (TNF- α) content in young people (18-25 years) in the development of periodontal tissue diseases. *Stomatologia Wspolczesna*. 2019; (1): 36-42.

9. Горголь КО. Структура захворюваності та вплив локальних факторів ризику на розвиток захворювань тканин пародонта у осіб молодого віку. Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. 2019; (33): 164-172.

10. G. Biloklytska, K. Gorgol, S. Kyriachenko. Genetic variants of ACE (I/D), TNF- α (308G/A), eNOS (894G/T) as risk indicators of periodontal diseases in young people (18–25 years). Збірник постерних доповідей міжнародного науково-практичного конгресу «EuroPerio-9».- Amsterdam, Netherlands. European Federation of Periodontology -. 2018. PR179.

11. Oksana Kopchak, Galyna Biloklytska, Kostiantyn Gorgol. Role of Changes in Cytokine Profile in Pathogenesis of Periodontitis. Збірник постерних доповідей міжнародного науково-практичного конгресу «107th FDI World Dental Congress».- San Francisco, California, U.S.A. *International Dental Journal*.- V. 69, Supplement 1.- 2019.- FC022.

12. Белоклицкая ГФ, Горголь КО. Диагностическая значимость генетических маркеров в развитии заболеваний тканей пародонта у лиц молодого возраста (18-25 лет). Збірник матеріалів Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції «YOUNG SCIENCE 2.0». 2020; 5-7.

13. Белоклицкая ГФ, Горголь КО. Новый протокол диспансеризации лиц молодого возраста (18–25 лет) с заболеваниями тканей пародонта, основанный на молекулярно-генетическом профиле. *Сучасна стоматологія*. 2020; (1): 52-57. DOI: 10.33295/1992-576X-2020-1-.