



Република Македонија
Универзитет "Св. Кирил и Методиј" - Скопје
Стоматолошки факултет – Скопје
Катедра за болести на устата и пародонтот

Емилија Стефановска

**ИНФЛАМАТОРНИТЕ ЦИТОКИНИ И НИВНАТА УЛОГА ВО
МОДУЛИРАЊЕТО НА КЛИНИЧКАТА ЕКСПРЕСИЈА НА
ПЛАК-ИНДУЦИРАНАТА ГИНГИВАЛНА ИНФЛАМАЦИЈА**

докторска дисертација

Скопје, 2011 година

Република Македонија
Универзитет “Св. Кирил и Методиј” - Скопје
Стоматолошки факултет – Скопје
Катедра за болести на устата и пародонтот

Емилија Стефановска

**ИНФЛАМАТОРНИТЕ ЦИТОКИНИ И НИВНАТА УЛОГА ВО
МОДУЛИРАЊЕТО НА КЛИНИЧКАТА ЕКСПРЕСИЈА НА
ПЛАК-ИНДУЦИРАНАТА ГИНГИВАЛНА ИНФЛАМАЦИЈА**

докторска дисертација

Ментор
Проф. д-р Марија Накова

Скопје, 2011 година

Ментор:

**Проф. д-р Марија Накова, dr. sci
Стоматолошки факултет - Скопје**

Членови на комисија за одбрана:

1. Проф. д-р Златанка Белазелкоска, dr. sci
2. Проф. д-р Мирјана Поповска, dr. sci
3. Проф. д-р Ицко Ѓорѓоски, dr. sci
4. Проф. д-р Киро Ивановски, dr. sci
5. Проф. д-р Марија Накова, dr. sci

Научна област: стоматологија, пародонтологија

Привилегија е да се има учител и ментор како мојот, проф д-р Марија Накова. Нејзе и ја должам најголемата благодарност за поддршката, инспирацијата, водството, сугестиите и кооперативноста укажани во текот на реализирањето на оваа докторска дисертација .

Искрено се заблагодарувам на проф д-р Киро Ивановски за несебично подареното време, помошта и ангажманот во комплетирањето на овој труд .

Посебна благодарност изразувам на проф д-р Ицко Ѓорѓоски од Институтот за биологија при Природно - математичкиот факултет во Скопје, за беспрекорно извршениот лабораториски дел од студијата .

На крај сакам да им се заблагодарам на мојата ќерка Евгенија и сопругот Даме, кои ми ја дадоа целосната поддршка да се истрае на овој пат .

АБСТРАКТ

ИНФЛАМАТОРНИТЕ ЦИТОКИНИ И НИВНАТА УЛОГА ВО МОДУЛИРАЊЕТО НА КЛИНИЧКАТА ЕКСПРЕСИЈА НА ПЛАК ИНДУЦИРАНАТА ГИНГИВАЛНА ИНФЛАМАЦИЈА

АБСТРАКТ:

Тргувајќи од сознанијата дека инфламаторниот одговор во пародонталното ткиво е регулиран од оркестрирана мултипна цитокинска мрежа чиј мониторинг во инфламирано пародонтално ткиво би можел да биде објективен параметар за евалуација на активноста на пародонталното заболување ја поставивме и целта на нашата студија: утврдување на можната асоцираност и инволвираност на инфламаторните цитокини (IL-1 α , IL-1 β , и TNF- α) и нивната модулација во клиничката експресија на плак-индуцираната гингивална инфламација. За нејзина реализација ги одредивме: степенот и тежината на инфламаторно-деструктивните промени во пародонтот проследени преку индексите на пародонталното здравје, гингивално-флуидните и серумски нивоа на инфламаторните цитокини (IL-1 α , IL-1 β и TNF- α) кај испитуваните групи и нивната корелација со гингиво-пародонталните клинички параметри, како и нивната меѓусебна асоцираност.

На Клиниката за болести на устата и пародонтот проследивме вкупно 90 пациенти поделени во три групи. Првата група, која воедно претставуваше и контролна група, ја сочинуваа 30 здрави пациенти без знаци за гингивална или пародонтална болест (верифицирана клинички). Втората група ја сочинуваа 30 пациенти со дијагностицирана гингивална болест во различен стадиум на клиничка експресија, сите без знаци за почетна алвеоларно-коскена деструкција (верифицирана клинички и рентгенолошки). Третата група беше со 30 пациенти и дијагностицирана рана форма на пародонтална болест (AAP 1999), исто така верифицирана клинички и рентгенолошки. Од клиничките испитувања беше извршена проценка на гингиво-пародонталното здравје следено преку индексите на: ИДП (Silness - Loe), ИГИ (Loe -Silness), ИГК (Cowell), АЕМ (AAP, 1999) и ИКР (Miller-Pelzer).

Лабораториските испитувања за детектирање на гингивално-флуидните нивоа на инфламаторните цитокини (IL-1 α , IL-1 β и TNF α) како и нивната серумска концентрација беа одредени со помош на високо сензибилизираниот хуман ELISA систем. Добиените резултати ја потврдија високо статистички сигнификантната разлика на гингивално-флуидните и серумските нивоа на IL1- α , IL1- β и TNF- α во рамките на сите испитувани групи ($p < 0,05$), освен за серумската концентрација на IL1- β кај здравите испитаници. Регистрирана е и меѓусебна асоцираност на гингивално-флуидните и серумските вредности на инфламаторните цитокини IL1- α , IL1- β и TNF- α со индексните клинички параметри за ИДП, ИГИ и ИГК, но не и за индексот на АЕМ и ИКР.

Инфламаторните цитокини (IL1- α , IL1- β и TNF- α) во двата испитувани медиуми, а пред се во гингивалниот флуид, кај сите испитувани групи, укажуваат на потентното имуно-модулаторно влијание кое тие го манифестираат врз експресијата на плак-индуцираната гингивална инфламација, што од своја страна ја потврдуваат нивната улога како репрезенти на предклиничката иницијација на инфламаторните процеси и потентни индикатори на гингиво-пародонталните оштетувања.

Клучни зборови: дентален плак, гингивална инфламација, инфламаторни цитокини, гингивален флуид, серумска концентрација, пародонтопатија.

ABSTRACT

INFLAMMATORY CYTOKINES AND THEIR ROLE IN MODULATION OF CLINICAL EXPRESSION AT PLAQUE INDUCED GINGIVAL INFLAMMATION

ABSTRACT:

Starting from cognition that inflammatory response in periodontal tissue is regulated from orchestral multiple cytokines network, which monitoring in inflamed periodontal tissue can be objective parameter for evaluation the activity of periodontal disease, we determined the aim of our study: to ratify the possible association and involment of inflammatory cytokines (IL1- α , IL1- β and TNF- α) and their modulation in clinical expression of plaque-induced gingival inflammation. For their realization we determined: the level and intensity of inflammatory and destructive changes in the periodontal tissue, proceed by indexes of periodontal health, gingival- fluid and serum levels of inflammatory cytokines (IL1- α , IL1- β and TNF- α) at the examined groups and their relation with gingival and periodontal parameters, also and their association.

At the Clinic of Oral pathology and Periodontology we proceed total 90 patients divided in three groups. First group, which was the control group, consist 30 healthy patients without any signs of gingival or periodontal disease(verified clinically). Second group consist 30 patients with diagnosed gingival disease with different stage of clinical expression, all of them without signs of initial alveolar-bone destruction (verified clinically and with radiograph). The third group was with 30 patients and diagnosed periodontal disease at the early stage (AAP,1999), also verified clinically and with radiograph. From clinical examination we performed the rating of gingival and periodontal health by: indexes of dental plaque (IDP,Silness-Loe), index of gingival inflammation (IGI, Loe-Silness),index of gingival bleeding (IGB, Cowell), index of apical epithelial migration (AEM, AAP,1999), and index of alveolar-bone resorption (ABR, Miller-Pelzer). Laboratory analyzes for detection of gingival-fluid levels of inflammatory cytokines (IL1- α , IL1- β and TNF- α) and their serum concentration were detected by high sensitive human ELISA system. Obtained results confirmed the high statistical significant differences of gingival-fluid and serum levels of IL1- α , IL1- β and TNF- α in the frame of all examined groups ($p < 0,05$), except for the serum levels of IL1- β at health examiners. We recorded interrelated association between gingival and serum scores of inflammatory cytokines (IL1- α , IL1- β and TNF- α) with clinical index parameters for IDP, IGI, IGB, but not for index of AEM and ABR.

Inflammatory cytokines (IL1- α , IL1- β and TNF- α) in both examined mediums , particular in gingival fluid, at all examined groups, indicate their potential immune-modulated influence on the expression of plaque-induced gingival inflammation, confirmed their role like represents of preclinical initiation of the inflammatory processes and potent indicators of gingival and periodontal destroys.

Key words: dental plaque, gingival inflammation, inflammatory cytokines, gingival fluid, serum concentration, periodontal disease.

КРАТКА СОДРЖИНА

1	ВОВЕД И ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД	1
2	ЦЕЛ НА ТРУДОТ	12
3	МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД	14
4	РЕЗУЛТАТИ	21
5	ДИСКУСИЈА	56
6	ЗАКЛУЧОЦИ	75
7	ЛИТЕРАТУРА	81

ВОВЕД И ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД

ВОВЕД И ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД

Пародонтопатиите претставуваат хронични инфламаторни заболувања, кои се карактеризираат со деструктивен инфламаторен процес кој го афектира забно-потпорниот апарат вршејќи ресорпција на алвеоларната коска, што резултира со евентуална загуба на забно-потпорните структури (139). Хистолошки гледано пак, овие состојби се карактеризираат со инфламаторно клеточна акумулација во екстраваскуларното гингивално сврзно ткиво. (83, 94, 118, 128.)

Утврдено е дека бројните бактериски специеси изолирани од субгингивалниот дентален плак се тесно поврзани со појавата и прогресијата на пародонталното заболување (1). Голем број од нив опстојуваат во пародонталниот џеб и го инвадираат пародонталното ткиво, а имуниот систем не може секогаш ефикасно да ги елиминира микроорганизмите. Оваа патолошка ситуација доведува до хронична инфламација и континуиран одговор на домаќинот кој резултира со ткивна деструкција. Локалниот одговор на домаќинот кон овие бактерии вклучува регрутација на леукоцити и субсеквентно ослободување на инфламаторни медијатори и цитокини, за кои се смета дека имаат клучна улога во патогенезата на пародонталната болест преку инволвирање на имунолошките и биолошките механизми.

Податоците за пародонталното заболување од публикуваните клинички студии во последните години даваат подобри објаснувања за природата и историјата на ова заболување. Пародонталните лезии се препознаваат како хронични состојби кои се карактеризираат со релативно краток период на егзацербација, а подолг период на ремисија (121).

Медицинската практика и идентификацијата на многу системски заболувања е тесно зависна од лабораториските дијагностички процедури за анализа на биолошки флуиди и ткива.

Овие тестови овозможуваат идентификација на специфични биохемиски медијатори, микробиолошки агенси или целуларни нарушувања кои се директно асоцирани со различни патолошки процеси.

Традиционалните пародонтални дијагностички методи ја вклучуваат проценката на клиничките параметри и радиографската дијагностика. Преостанатите методи имаат за цел проучување на инфламаторниот одговор на домаќинот.

Додека имунофлуоресцентните боења на биоптични примероци се користат за дијагноза на автоимуните заболувања кои ја афектираат гингивата и мукозата, лабораториските дијагностички процедури од страна на денталните професионалци не се воопшто искористени во клиничкиот менаџмент на пациентите со кариес и пародонтопатија и истите сеуште не претставуваат рутина.

Освен тоа, фактот дека класично развиените клинички показатели на пародонталното заболување кои се потврдиле како слаби идентификатори или предиктори на активната фаза на заболувањето (58), поттикнале мноштво интереси за развивање на нови тестови за дијагноза и третман на пародонталната болест (43, 140). Овие тестови биле фокусирани на идентификација на микрофлората од субгингивалниот плак асоцирана со пародонталното заболување и одговорот на домаќинот кон настанатата инфекција.

Одговорот на домаќинот кон периопатогените микроорганизми може да биде истражуван на многу начини. Најмалку инвазивните пристапи ги вклучуваат анализите на гингивалниот цервикаларен флуид, инфламаторен трансудат кој се ослободува циркумферентно во гингивалниот сулкус. Овој трансудат е продукт на крвниот серум, примарно составен од инфламаторни клетки, повеќе забележителни полиморфонуклеарни леукоцити и серумски протеини (27).

Придружните конституенти ги вклучуваат бактериите, ткивно-распадните продукти, ензими, антитела, комплемент и бројни инфламаторни медијатори. (5). Со оглед на фактот дека гингивалниот цервикаларен флуид е продукт на пародонталните ткива, анализата на неговите конституенти може да претставува ран индикатор за ткивно-инфламаторните состојби во ткивото кои конечно ќе се манифестираат како клинички лезии.

Друга предност од користењето на анлаизите од гингивалниот флуид како база за дијагностички тест е тоа дека многу популарниот систем на колекционирање на флуидот (метил целулоза филтер стрипови) овозможува од повеќе страни во устата да бидат земени примероци и истите бидат анализирани. Ова секако претставува предност, со оглед дека тежината на хуманото пародонталното заболување е варијабилна категорија во рамките на една афектирана дентиција.

Студиите за истражувањата на гингивалниот флуид датираат од пред повеќе од 50 години (19), но споредбените испитувања на флуидната продукција и флуидните конституенти започнале во доцните 1950-ти години со студиите на (Brill и Krasse и Brill и Bjorn (22, 23).

Тие рани студии и истражувања кои следат во наредните 20 години се фокусирани на механизмите на гингивално-флуидната продукција и колекција на голем број конституенти кои може да бидат детектирани во флуидот.

Многубројни истражувачи се обиделе да ги искористат елементите присутни во гингивалниот флуид за идентификација или утврдување на активноста на заболувањето, за детерминирање на неговата прогресија, за антиципирачките фактори за ризик кон одредена болест и за нивно искористување како индикатори на ткивната загуба или мониторинг на одговорот од соодветниот третман (28). Овие елементи како што се: интрацелуларни ензими, протеини, имуноглобулини и цитокини може да се ослободат од ткивата или клетките на домаќинот, а исто така и од слични продукти од бактериите присутни во гингивалниот сулкус и истите може да бидат квантифицирани (31, 133, 142).

Евалуацијата на целуларниот имун одговор во гингивалниот флуид била оневозможена заради игнорирање на специфичните медијатори кои имаат патолошка сигнификатност и недостаток на сензитивни техники за квантификација на овие медијатори застапени во мали количини во флуидот. Со идентификацијата и дескрипцијата на цитокините и развојот на моноклоналните антитела кои се користат за нивна идентификација, целуларната имуна активност во гингивалниот флуид денес може да се истражува.

Првата идентификација на цитокинската активност во гингивалниот флуид била забележана од страна на Charon и сор. (24) и Mergehhagen (87), кои ја проучувале активноста на интерлеукин 1 во флуидот.

Од неодамна ELISA тестот (enzyme-linked immunosorbent assays) се користи за идентификација и на интерлеукините во гингивалниот цервикуларен флуид (47).

Помеѓу конституентите во гингивалниот флуид присутни при одредено заболување или отсутни во здраво ткиво, може да се идентификуваат некои конституенти кои се асоцирани со активната прогресија на пародонтално-тквивната деструкција. Овде се вбројуваат: алкалната фосфатаза, аспартат аминок-трансферазата, простагландините, имуноглобулините, еластазата и интерлеукините (26, 38, 39, 49, 52).

Постојат многу малку неинвазивни процедури кои може да ја следат иницијацијата и развојот на заболувањето. Од многубројните анализи на флуидот од гингивалниот сулкус откриени се различни целуларни и хуморални реакции кај здрави индивидуи и индивидуи со пародонтална болест.

Неспецифичниот одбранбен систем во гингивалниот флуид може да се детерминира преку цитокините или интерлеукините кои овозможуваат идентификација на афектираните регии кои претставуваат ризик за пациентот.

Пародонталната болест претставува инфективен процес кој се карактеризира со деструкција на сврзното ткиво и субсеквентна загуба на периодонталната инсерција и ресорпција на алвеоларната коска. Грам негативните бактерии и нивните продукти или конституенти како липолисахаридите се едни од најодговорните за овие процеси (135). Кај пародонталната болест, неутрофилните гранулоцити играат важна улога во одржување на тквивната хомеостаза, која е асоцирана со бактериите од денталниот биофилм. Неутрофилите и останатите одбранбени клетки мигрираат низ инфламираното гингивално ткиво после бактериската инвазија, со преминација во сврзното ткиво на пародонталниот џеб (37, 51, 82, 88).

Хемотактичните фактори кои пак може да се ослободат од периодонталните патогени или од домаќинот се синтетизираат и либерираат во зоната на инфламација (131).

Мноштвото од мононуклеарните клетки перзистираат во сврзното ткиво формирајќи периваскуларен инфилтрат, а помала количина од нив се откриени и во епителот (71). Ослободувањето на високи нивоа на лизозомални ензими од неутрофилите генерира серија на реакции (79).

На тој начин продукцијата на матриксметалопротеиназите се претпоставува дека е еден од главните механизми на ткивната деструкција на домаќинот (18, 45, 60,67).

Бактериските продукти и цитокините кои потекнуваат од епителот исто така ги активираат мононуклеарните клетки од ткивото, на тој начин засилувајќи го локалниот имун одговор. Во пародонтално-ткивната деструкција, цитокините не се само важен одбранбен медијатор во гингивалниот сулкус, туку и медијатор на сврзно-ткивната деструкција (82).

Инфламаторните цитокини се дефинирани како цитокини (солубилни протеини), кои се индуцираат за време на инфламаторниот одговор и се тесно асоцирани со развојот и прогресијата на заболувањето.

Како такви се наброени: IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8 и TNF- α , кои генерално се класифицирани како инфламаторни цитокини и истите се обсервирани како елевирани нивоа во гингивалниот флуид кај пациенти со пародонтална болест (69, 73).

Овие цитокини се декларирани како потентно корисни дијагностички и прогностички маркери на активноста на пародонталното заболување и процесот на заздравување.

Со оглед дека доминантна карактеристика на пародонталната афекција претставува ресорпцијата на алвеоларната коска, особено внимание е посветено токму на улогата на овие инфламаторни медијатори (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α) во патогенетските процеси и нивното засилено влијание на коскената ресорпција.

Драгоцен податок е фактот дека цитокините кои имаат важна улога во инфламаторните одговори се значајни регулатори и на нормалната ткивна хомеостаза. Всушност mRNA експресијата на цитокините кои се асоцирани со пародонталната афекција до одреден степен во клинички здраво гингивално ткиво е генетски детерминирана (21, 80, 95).

На пример, во здраво пародонтално ткиво, IL-1 ја стимулира пролиферацијата на кератиноцитите, фибробластите и ендотелните клетки (62).

IL-1 ја зголемува и фибробластната синтеза на колаген тип 1, на колагеназа, на хијалуронидаза и на фибронектин. И покрај тоа што цитокините се продуцираат од локално инфилтрираните имунокомпетентни клетки, како што се Т клетките и моноцитите во афектираните регии, клеточните типови кои нормално го сочинуваат ткивото (фибробласти, епителни клетки и ендотелни клетки) се исто така инволвирани во цитокинската продукција за време на инфламаторниот одговор (74).

Интерлеукин 1 е полипептид со голем број различни активности и улога во имунитетот, инфламацијата, ткивната деструкција и ткивната хомеостаза (34, 56, 61, 76, 89, 93, 122, 123, 126).

Следејќи ја неговата активност, тој се синтетизира од различни клеточни типови, вклучувајќи ги макрофагите, моноцитите, лимфоцитите, васкуларните клетки, мозочните клетки, клетките на кожата и фибробластите (53).

IL-1 α и IL-1 β се само 27% хомологни на ниво на аминокиселини, но имаат слични биолошки функции.

Потврдено е дека IL-1 α и IL-1 β се врзани за ист рецептор, кој е откриен на повеќе клеточни типови со различна густина (108).

Познато е дека ИЛ-1 ја стимулира пролиферацијата на кератиноцитите, фибробластите и ендотелните клетки и ја зголемува синтезата на колаген тип 1, колаген тип 2, проколаген, колагеназа, хијалуронидаза, фибронектин и простагландин Е2 и на тој начин претставува критична компонента во хомеостазата на пародонталните ткива.

Како и да е, нерестриктивната продукција на IL-1 може да доведе до ткивно оштетување. Локална ексцесивна продукција на IL-1 од клетките кои го сочинуваат периодонциумот овозможува стимулирање на гингивалните и периодонталните фибробласти, по автокрин или паракрин начин да индуцираат продукција на останати цитокини, матрикс деградирачки ензими и простагландин Е2.

Овие медијатори може да бидат одговорни за ефектуирање на сврзно-ткивната деструкција, која доведува до загуба на атачмент.

На тој начин се претпоставува дека IL -1 има клучна улога во патогенезата на различни коскени заболувања, вклучувајќи ја и пародонталната болест.

IL-1 α , IL-1 β и TNF- α ја стимулираат коскената ресорпција, а го инхибираат и коскено-создавање (93, 124, 126). Исто така IL-1 има синергистична улога заедно со TNF во коскено-ресорптивната активност (13, 134). Многу *in vitro* студии откриле дека IL-1 β е сигнификантно повеќе потентен отколку IL-1 α или TNF- α во посредувањето врз ефектите на коската (4, 44, 137).

Друга важна активност на IL-1 во патолошките случувања во пародонтот е индуцирање на продукцијата на матриксометалопротеиназите (45, 61). IL-1 овозможува зголемување на елевираниите нивоа на проколагеназите во гингивалните фибробласти и клетките на периодонталниот лигамент (114).

Stashenko и *сop.*, Faizuddin и *сop.*, Orozco и *сop.*, ја потврдуваат позитивната корелација помеѓу нивоата на IL-1 β во гингивалните ткива и загубата на атачментот (42, 96,124).

TNF- α исто така претставува проинфламаторен цитокин кој што се секретира првенствено од моноцитите и макрофагите, а потенцијално може да биде инволвиран во патогенезата на пародонталните лезии, одговорен за неговата способност за активација на PMN, да предизвика алтерации на ендотелијалните клеточни функции, и да индуцира продукција на колагеназа и PGE-2 од фибробластите (15).

Тој ја индуцира секрецијата на колагеназата од фибробластите, ресорпцијата на рскавиците и коската, на тој начин вклучувајќи се во деструкцијата на пародонтално-ткивните структури (4, 25,41, 86, 109, 138). Кај одредени макрофаги, TNF- α ја индуцира синтезата на IL-1 и простагландин E-2.

TNF- α исто така ги активира остеокластите, поттикнувајќи ја на тој начин коскената ресорпција (13, 68, 134).

Утврдени се неговите синергистички ефекти со коскено-ресорптивните активности на IL-1 и покрај тоа што е докажано дека двете форми на IL-1 се најмалку 10 пати повеќе потентни во индукцијата на коскената деминерализација (13, 68, 90, 134).

Липополисахаридите ослободени од Грам негативните бактерии од пародонтот може да иницираат продукција на TNF- α од периферните крвни моноцити (135), кој доведува не само до алвеоларно-коскена ресорпција, но и до зголемување на синтезата на колагеназата од хуманите гингивални фибробласти. Всушност, претходните истражувања го потврдуваат фактот дека гингивалните фибробласти стимулирани *in vitro* со TNF- α се способни да го разградат колагенот (86).

Кога се генерираат инфламаторните одговори во било кое ткиво, експресијата на различни цитокини е вообичаено зголемена и тогаш настанува дисрегулација на локалниот имун одговор. Многу истражувања потврдуваат дека нерестриktivна продукција на цитокини доведува до одредено заболување и евентуална негова прогресија. Ова ја зголемува можноста да објективно се дијагностицира тежината на инфламацијата преку мониторинг на цитокинските нивоа и профилот на инфламираните регии.

Со цел да се дијагностицира активноста на заболувањето во пародонталните ткива, научниците откриле можна асоцираност помеѓу нивоата на различните цитокини во гингивалниот флуид и пародонталниот статус или состојба.

Потврдено е од страна на многу истражувачи дека IL-1 α , IL-6, IL-8, и TNF- α може да се детектираат во гингивалниот флуид (46, 103, 112, 115). Некои од нив ја истакнуваат претпоставката дека цитокинските нивоа во гингивалниот флуид се тесно асоцирани со тежината на инфламаторниот одговор и пародонтално-ткивната деструкција (29, 85, 124).

Masada и соработниците (85) потврдуваат дека нивоата на IL-1 во гингивален флуид се зголемуваат во региите зафатени со пародонтална деструкција, а маркантна редуција на IL-1 нивоата се забележува следејќи ги ефектите после третманот на заболувањето.

Тие исто така коментираат дека IL-1 β се детектира почесто отколку IL-1 α во гингивален флуид кај нетретирани пациенти со пародонтална афекција.

Reinhardt и колегите (110) укажуваат на зголемени нивоа на IL-1 α , IL-1 β , и IL-6 кај пациенти со рефракторна пародонтопатија.

Детектираните повисоки нивоа на IL-6 во гингивален флуид во однос на IL-1, упатуваат на претпоставката дека IL-6 може да игра значајна улога во идентификацијата на пациенти склони кон рефракторна пародонтална афекција и нејзините потчинети механизми.

Исто така детектирани се повисоки нивоа на IL-8 во гингивален флуид кај пациенти со пародонтопатија и истите сигнификантно корелираат со нивоата IL-1 β (103).

Други автори пак укажуваат дека нивоата на IL-1 β не корелираат со клиничката проценка на плак индексот, индексот на крварење или длабочината на пародонталниот џеб (141).

Во студијата на Gorska и сор. биле одредувани серумските концентрации на IL1- β и TNF- α кои укажуваат на високо индивидуални варијации во цитокинскиот профил, и не постоење на асоцираност помеѓу цитокинските концентрации и клиничките параметри. Но сепак, високо нотираните нивоа на IL1- β и TNF- α во инфламирани ткивни биоптични примероци ја потврдуваат нивната релевантна улога во степенот и тежината на пародонталното заболување (55).

TNF- α исто бил детектиран во гингивален флуид, но не корелирал со гингивалниот индекс, плак индексот или со длабочината на пародонталниот џеб. Присуството на TNF алфа во гингивалниот флуид е исто така детектирано од страна на Rossomondo и сор. (115).

Тие во своите истражувања укажуваат на пониски концентрации на TNF во серумот, а кога истите биле детектирани во гингивален флуид, нивната концентрација била поголема.

Ogozco и сор. (96) исто така детектираат зголемени нивоа на IL1- β во гингивален флуид кај пациенти со пародонтопатија во однос на пациенти со гингивална болест, додека серумската концентрација на овие инфламаторни цитокини покажала многу ниски детектибилни нивоа.

Нотирањето на серумската концентрација за IL1- β ја потврдува студијата на Yavuzylmaz i соработниците кај пациенти со рапидно-прогресивна пародонтопатија, но и овде гингивално-флуидните концентрации се генерално повисоки во однос на серумските нивоа (143).

Користејќи го ELISA методот Rossomondo и соработниците (115) детектирале TNF- α во 21% од примероците. TNF- α во рамките на една афектирана регија бил детектиран со различни клинички индексни вредности, но неговото присуство во гингивалниот флуид се потврдило како независно од гингивалната инфламација, плакот и длабочината на џебот.

Оттука се претпоставува дека TNF- α може да претставува маркер на рана инфламаторна активност, заради недостаток на корелацијата на клиничката инфламација со TNF- α флуидните нивоа.

ЦЕЛ НА ТРУДОТ

ЦЕЛ НА ТРУДОТ

Според досегашните научни истражувања, инфламаторниот одговор во пародонталното ткиво е регулиран од оркестрирана цитокинска мрежа.

Мониторингот на мултипната цитокинска експресија во инфламирано пародонтално ткиво би можела да биде објективен параметар за евалуација на активноста на пародонталното заболување.

Тргувајќи од овие сознанија, ја поставивме и целта на нашата студија, да ја утврдиме можната асоцираност и инволвираност на инфламаторните цитокини (IL-1 α , IL-1 β , и TNF- α) и нивната модулација во клиничката експресија на плак-индуцираната гингивална инфламација. За нејзина реализација ги одредивме:

- степенот и тежината на инфламаторно-деструктивните промени во пародонтот, проследени преку индексите на пародонталното здравје;
- гингивално-флуидните нивоа на инфламаторните цитокини (IL-1 α , IL-1 β и TNF- α) кај испитуваните групи на пациенти и кај контролната група;
- серумската концентрација на IL-1 α , IL-1 β и TNF α кај испитуваните групи и контролната група;
- да ја утврдиме асоцираноста и влијанието на проинфламаторните цитокини (IL-1 α , IL-1 β и TNF- α) во клиничката експресија на гингивално-пародонталната афекција во корелација со ИДП (индекс на дентален плак), ИГИ (индекс на гингивална инфламација), ИГК (индекс на гингивално крварење) и АЕМ (индекс на апикална епителна миграција);
- степенот на корелација на серумската концентрација и гингивално-флуидните нивоа на проинфламаторните цитокини (IL-1 α , IL-1 β и TNF- α) кај испитуваните групи и контролната група;
- да дојдеме до сопствени сознанија за улогата на инфламаторните медијатори во модулирањето на клиничката слика на плак-индуцираната гингивална инфламација, како евентуални можни маркери за рана детекција на пародонтално-твивната деструкција.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

За реализација на поставената цел на Клиниката за болести на устата и пародонтот беа проследени вкупно 90 пациенти поделени во три групи.

Првата група, која воедно претставуваше и контролна група ја сочинуваа 30 здрави пациенти без знаци за гингивална или пародонтална болест (верифицирана клинички).

Втората група ја сочинуваа 30 пациенти со дијагностицирана гингивална болест во различен стадиум на клиничка експресија, сите без знаци за почетна алвеоларно-коскена деструкција (верифицирана клинички и рентгенолошки).

Третата група беше со 30 пациенти и дијагностицирана рана форма на пародонтална болест (загуба на атачмент до 3мм според класификацијата на ААР 1999), исто така верифицирана клинички и рентгенолошки.

Испитуваните пациенти немаа присутни општи заболувања и не беа приматели на антибиотска терапија во последните 3 месеци.

Кај испитуваните групи беа спроведени клинички, рентгенолошки и лабораториски испитувања, а кај контролната група само клинички и лабораториски испитувања.

Од клиничките испитувања беше извршена проценка на гингивопародон-

талното здравје следено преку индексите на:

- Индекс на дентален плак **ИДП** (Silness - Loe)
- Индекс на гингивална инфламација **ИГИ** (Loe -Silness)
- Индекс на гингивално крварење **ИГК** (Cowell)
- Индекс на епителна апикална миграција **АЕМ** (ААР,1999)
- Индекс на коскена ресорпција **ИКР** (Miller-Pelzer)

ИДП -Silness Loe (1963)

0- нема дентален плак на гингивалната третина од коронката;

1- плак има во тенок слој само покрај рабовите на гингивата и може да се детектира само со сонда, но не и си голо око;

2- умерена количина на дентален плак која зафаќа повеќе од една третина од забната коронка, но е присутен во гингивалниот сулкус или пародонталниот џеп;

3- голема количина на дентален плак по целата забна површина како и во сулкусот, џепот и интерденталниот простор.

ИГИ - Loe-Silness (1964)

0-не постои воспаление на гингивата, таа е со бледо розева боја цврста конзистенција и со ситно зрнеста структура;

1-блага до умерена инфламација која не ја зафаќа гингивата во целост;

2- умерена инфламација која ја зафаќа гингивата во целост, таа е со црвена боја, и посилено изразен едем;

3- јака инфламација на гингивата во целост, таа е со изразена црвена боја, многу зголемена.

ИГК - Cowell

0-Нема крвавење после сондирање;

1-Појава на крвавење после 30 секунди од сондирањето;

2-Крвавење непосредно после сондирање;

3-Спонтано крвавење.

Индекс на АЕМ (American Academy of Periodontology, 1999)

- прв клинички стадиум - слабо изразен губиток на атачмент до 2 мм;

- втор клинички стадиум - умерено изразен губиток на атачмент од 2 до 5 мм;

- трет клинички стадиум - силно изразен губиток на атачмент со над 5 мм апикална миграција на припојниот епител.

Рентгенолошки испитувања

Кај испитаниците од втората и третата група беше направена ортопантомографска снимка (panoramix) за детектирање и верифицирање на степенот на алвеоларно-коскената деструкција.

Рентгенолошките анализи беа извршени во Рентген лабораторијата при Стоматолошкиот клинички центар со помош на апаратот Ortophos 3 - Siemens.

Проценката за степенот на коскена деструкција го анализиравме по методот на Miller-Pelzer, според кој индексните вредности се означуваат од 1-5.

- 1- нормална алвеоларна коска, потполно очувана lamina dura, непроменета периодонтална линија;
- 2- почеток на пародонтопатија, задебелена периодонтална линија и благо истенчена lamina dura;
- 3- изразена пародонтопатија, напредната ресорпција на интердентален алвеоларен септум, а останатиот дел од алвеоларната коска е сочуван;
- 4- пародонтопатија во поодминат стадиум, многу јако изразена ресорпција на алвеоларен септум, со тенденција на ширење на процесот и во останатиот дел од алвеоларната коска;
- 5- ресорпцијата на алвеоларната коска е многу изразена, потполно е ресорбиран интерденталниот септум, болеста е во терминален стадиум.

Лабораториски иследувања

Лабораториските испитувања за детектирање на гингивално-флуидните нивоа на инфламаторните цитокини (IL-1 α , IL-1 β и TNF α ,) како и нивната серумска концентрација беа реализирани на Институтот за биологија при Природно-математичкиот факултет во Скопје.

Колекционирањето на флуидот го извршивме со Periopaper филтер хартија, од мезиобукалните површини на максиларните молари од соодветно испитуваните регии во времетраење од 30 секунди, во согласност со генералниот став дека начинот на колекционирање кој обезбедува најмалку интерференци се местото и времетрајето на колекционирањето, со аплицирање на филтер хартија на место на орифициумот на гингивалниот сулкус.

Забите од испитуваната регија претходно беа испрани со вода, беше отстранет супрагингивалниот дентален плак и изолирани со ватеролни, заради минимизирање на евентуална саливарна контаминација.

Гингивалниот флуид потоа го колекциониравме во соодветни микрокивети кои содржеа 0,5 мл солен фосфатен пуфер (phosphate buffered saline, pH =7,2) и смрзнати на t од -20 C до денот на анализирањето.

Примероците пред самата анализа беа центрифугирани, а потоа анализирани за IL-1 α , IL-1 β и TNF- α , користејќи го комерцијално достапниот ELISA метод.

За одредување на серумската концентрација на IL-1 α , IL-1 β и TNF- α од сите испитаници беше земено по пат на венепункција по 5ml. крв од v. cubitalis, истата беше центрифугирана, а серумот смрзнат на -20 C до денот на анализирањето, користејќи го исто така ELISA методот.

Метод за *in vitro* квантитативна детерминација на хумани интерлеукински концентрации (IL1- α , IL1- β и TNF- α) во серум и гингивален флуид
принцип на едностепена ELISA- метода со двоен сендвич за одредување на
citoкени

ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) методот се однесува на техниката наречена квантитативна имуноесеј сендвич техника. За оваа цел беше применуван високо сензибилизиран хуман ELISA систем BIOTRACK-TM од AMERSHAM PHARMACIA BIOTECH.

Принципот на изведување на методот се состои во тоа што ѕидовите на алвеолата на фабрички подготвената плоча се обложени со моноклонални антитела специфични за бараниот цитокин (IL1- α , IL1- β или TNF- α).

Стандардите или примероците потоа се додаваат во соодветните алвеоли од фабрички изготвените плочи и истите се инкубираат. После испирањето за отстранување на неврзаните количини на одредуваните цитокини и останатите компоненти од примерокот, се додаваат биотин-конјугираните поликлонални антитела специфични за цитокините и се инкубираат.

Ако истите се присутни ќе бидат врзани и ќе станат имобилизирани од страна на антителата обложени на алвеолите од плочите, а потоа затворени во сендвич од страна на конјугатот од биотин. Со цел квантитативно да се детерминира количината на (IL1- α , IL1- β или TNF- α), присутни во примероците, се додава конјугатот од Avidin од (HRP)-Horseradish Peroxidase на секоја плоча, а потоа се инкубира.

Avidin-от претставува тетрамер кој содржи идентични подединици кои имаат висок афинитет за врзување биотинот. Алвеолите потоа се испираат за да се отстрани неврзаниот HRP-конјугат од Avidin и TMB (3, 3'-5, 5' tetramethylbenzidine) субстратна солуција која се додава во секоја алвеола. Ензимот (HRP) и субстратот се оставаат да реагираат за краток инкубационен период. Само оние алвеоли кои содржат биотин-конјугирани антитела и ензим конјугиран Avidin ќе покажат промена на обојувањето. Ензим-субстратната реакција е завршена со додавање на раствор на сулфурна киселина, а промената на обојувањето се чита спектрофотометриски со бранова должина од 450+/- 2nm.

За да се одредат концентрациите на цитокините во примероците (серум и флуид) китот вклучува калибрачки растворувач за примероците. Придржувајќи се на системот за тестирање, стандардот е растворен со соодветна количина на калибрачки растворувач и се чита во исто време како и примероците. Ова овозможува да се компарираат серумските и флуидните концентрации (pg/ml) во однос на (OD) оптичката пропустливост.

Со споредување на добиените густини и обојувањето се одредува и концентрацијата на испитуваниот цитокин.

Статистичка-компјутерска обработка на податоците

Податоците добиени од изведените испитувања беа обработени со стандарни статистички параметри, за што ја користевме компјутерска програма "statistica for Windows" 7, со помош на следниве статистички методи:

Дескриптивно-статистички:

-обработка на статистичките серии според дефинираните варијабли и нивно табеларно и графичко прикажување;

Инференцијално-статистички:

-анализа на структурата на нумеричките статистички серии со помош на мерките на централна тенденција (просечна вредност), мерките на дисперзија (стандарна девијација);

-анализа на односите помеѓу одделни нумерички статистички серии со помош на Pearson-ов (r) коефициент на корелација;

-тестирање на значајност на разлики меѓу две аритметички средини, односно две пропорции со Student-ов t тест;

-тестирање на значајноста на разликите меѓу три аритметички средини беше одредувана со анализа на варијанса (ANOVA-Wilkson-ов тест);

Статистичките серии според дефинираните варијабли се табеларно и графички претставени.

РЕЗУЛТАТИ

РЕЗУЛТАТИ

Табела 1. Возрасна застапеност на испитуваните групи
(процентуална просечна вредност)

Возраст на испитуваните групи (год.)	16	17	18	19	20	21	22	32	34	35	36	вкупно	%
Здрави	5	10	5	10	/	/	/	/	/	/	/	30	17,6
со гингивална болест	/	/	3	7	5	10	5	/	/	/	/	30	23,9
со иницијална пародонтална болест	/	/	/	/	/	/	/	4	7	9	10	30	34,6

Табела 2. Просечни вредности за ИДП кај испитуваните групи

испитаници	X	SD	df	t	P
здрави	0,33	0,47	29	3,80	0,000672*
со гингивална болест	1,30	0,534	29	13,30	0,00000*
со иницијална пародонтална болест	1,73	0,44	29	21,10	0,00000*

Табела 3. Просечни вредности за ИГИ кај испитуваните групи

испитаници	X	SD	df	t	P
здрави	0,00	/	29	/	/
со гингивална болест	1,233	0,43	29	15,70	0,00000*
со иницијална пародонтална болест	2,93	0,25	29	63,32	0,00000*

Табела 4. Просечни вредности за ИГК кај испитуваните групи

<i>испитаници</i>	X	SD	df	t	P
здрави	0,00	/	29	/	/
со гингивална болест	0,86	0,345	29	13,72	0,00000*
со иницијална пародонтална болест	1,70	0,46	29	19,97	0,00000*

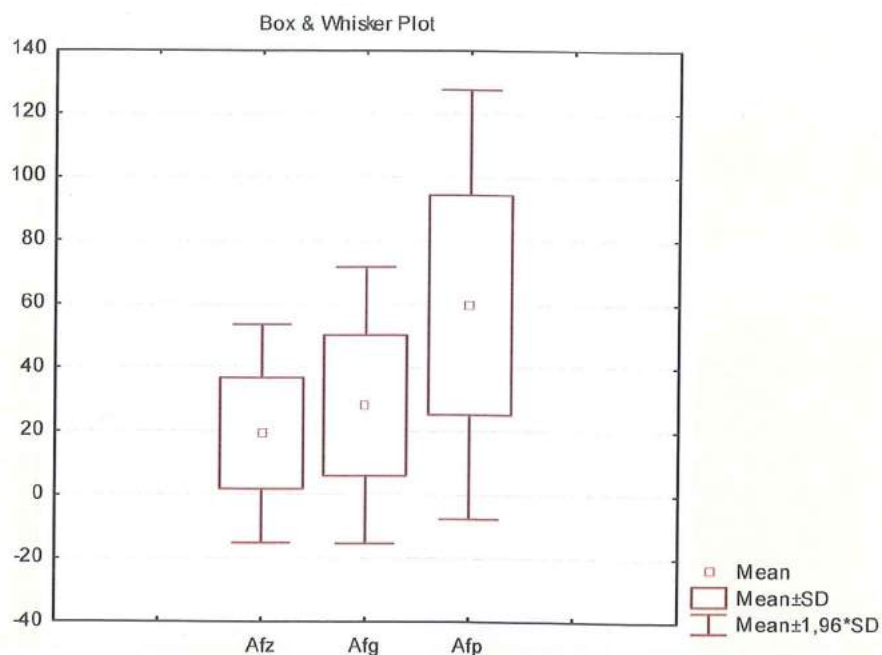
Табела 5. Просечни вредности за индекс на АЕМ кај испитуваните групи

<i>испитаници</i>	X	SD	df	t	P
здрави	0,00	/	29	/	/
со гингивална болест	0,00	/	29	/	/
со иницијална пародонтална болест	1,00	/	29	/	/

Табела 6. Просечни вредности за ИКР кај испитуваните групи

<i>испитаници</i>	X	SD	df	t	P
здрави	0,00	/	29	/	/
со гингивална болест	0,00	/	29	/	/
со иницијална пародонтална болест	2,00	/	29	/	/

Графикон 1. Просечни вредности за гингивално-флуидни нивоа на IL1- α кај испитуваните групи

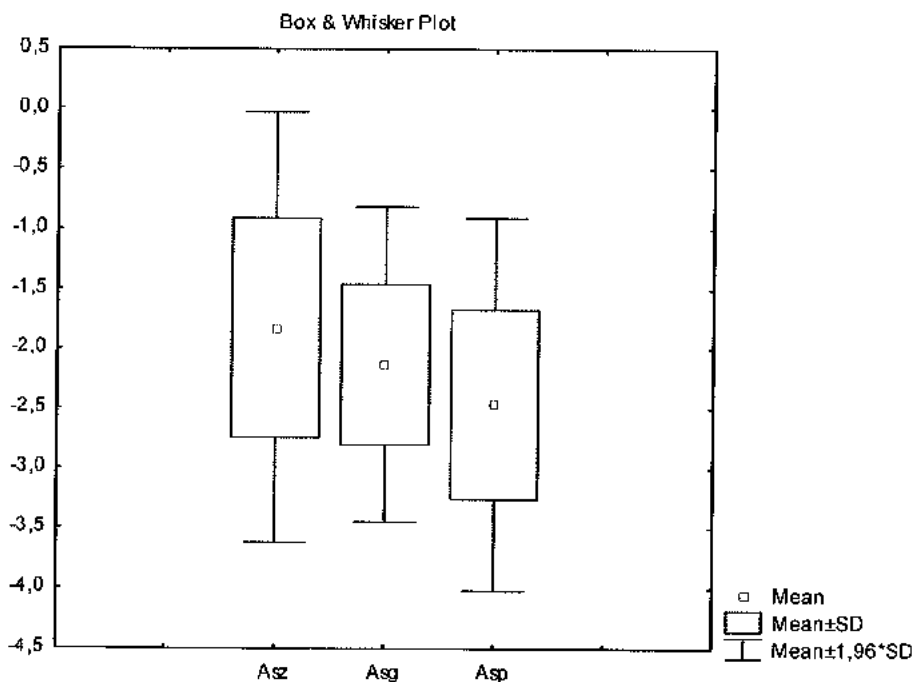


Табела 7. Просечни вредности за гингивално-флуидни нивоа на IL1- α кај испитуваните групи

испитаници	X	SD	df	t	P
здрави	19,39	17,49	29	6,07	0,000001*
со гингивална болест	28,27	22,12	29	7,00	0,00000*
со иницијална пародонтална болест	59,92	34,43	29	9,53	0,00000*

Анализата на варијанса (ANOVA) покажува дека постојат статистички значајни разлики во однос на гингивално-флуидни нивоа на IL1- α кај испитуваните групи (F= 56,50 p= 0,00000).

Графикон 2. Просечни вредности за серумски нивоа на IL1- α кај испитуваните групи

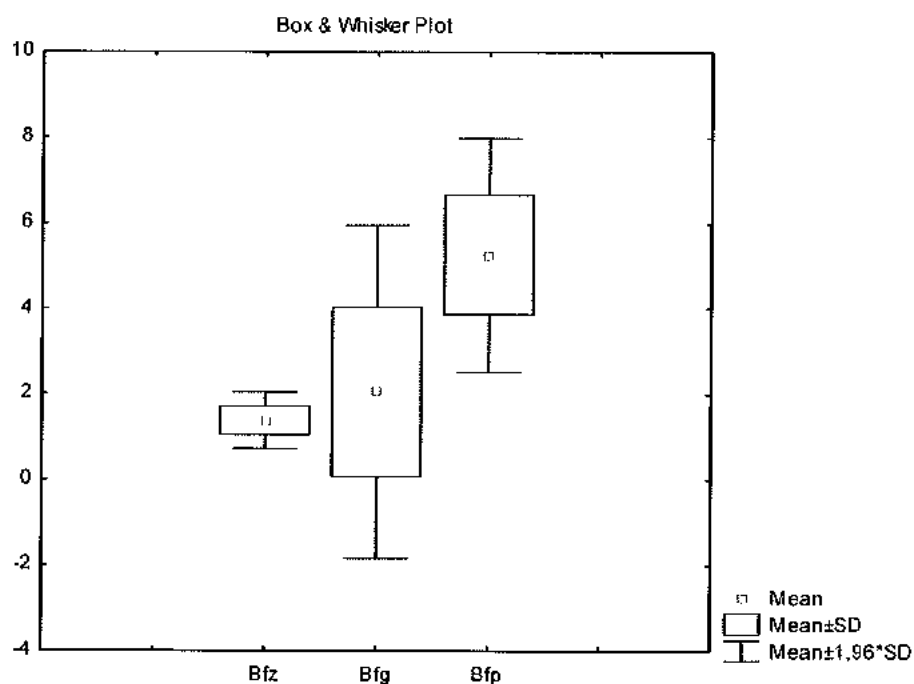


Табела 8. Просечни вредности за серумски нивоа на IL1- α кај испитуваните групи

испитаници	X	SD	df	T	P
здрави	-1,82	0,91	29	-10,92	0,00000*
Со гингивална болест	-2,13	0,67	29	-17,35	0,00000*
Со иницијална пародонтална болест	-2,46	0,79	29	-16,98	0,00000*

Анализата на варијанса (ANOVA) покажува дека постојат статистички значајни разлики во однос на серумските нивоа на IL1- α кај испитуваните групи (F= 232,89; p= 0,00000).

Графикон 3. Просечни вредности за гингивално-флуидни нивоа на IL1- β кај испитуваните групи

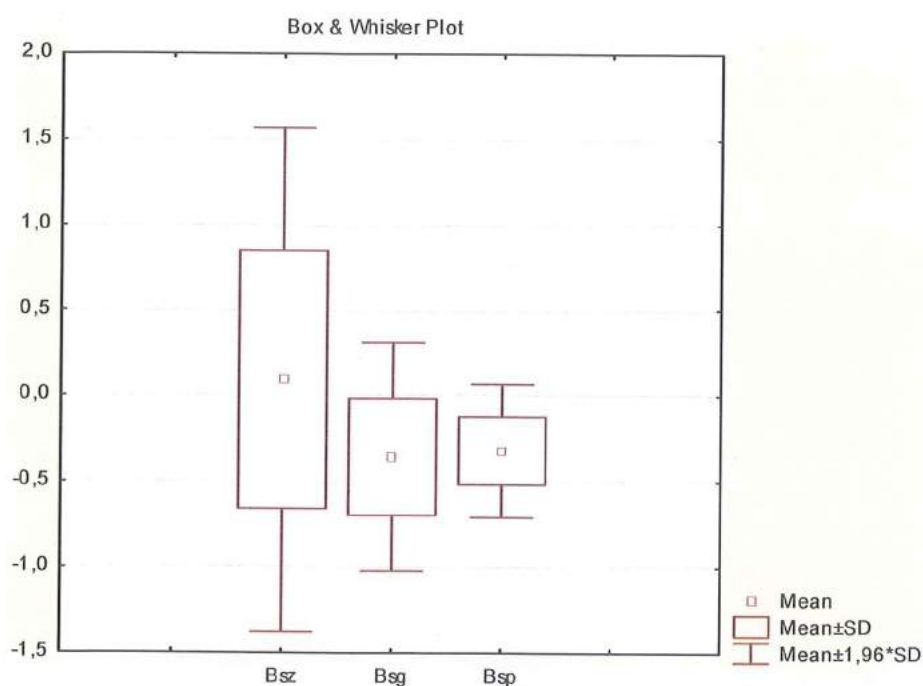


Табела 9. Просечни вредности за гингивално-флуидни нивоа на IL1- β кај испитуваните групи

испитаници	X	SD	df	t	P
Здрави	1,39	0,33	29	22,81	0,00000*
со гингивална болест	2,05	1,98	29	5,67	0,000004*
со иницијална пародонтална болест	5,25	1,39	29	20,68	0,00000*

Анализата на варијанса (ANOVA) покажува дека постојат статистички значајни разлики во однос на гингивално-флуидни нивоа на IL1- β кај испитуваните групи (F = 36,029; p = 0,00000).

Графикон 4. Просечни вредности за серумски нивоа на ИЛ1- β кај испитуваните групи

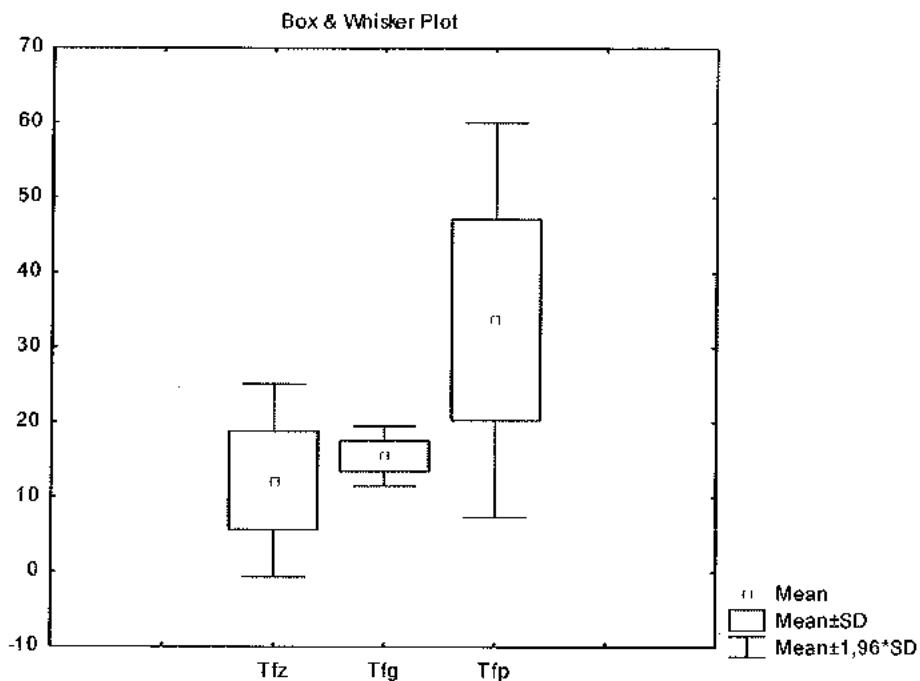


Табела 10. Просечни вредности за серумски нивоа на IL1- β кај испитуваните групи

испитаници	X	SD	df	t	p
Здрави	0,09	0,75	29	0,70	0,48
со гингивална болест	-0,35	0,33	29	-5,71	0,000004*
со иницијална пародонтална болест	-0,31	0,19	29	-8,76	0,00000*

Анализата на варијанса (ANOVA) покажува дека постојат статистички значајни разлики во однос на серумските нивоа на IL1- β кај испитаниците со гингивална болест и испитаниците со иницијална пародонтална болест.
(F = 109,259; p = 0,00000).

Графикон 5. Просечни вредности за гингивално-флуидни нивоа на TNF- α кај испитуваните групи

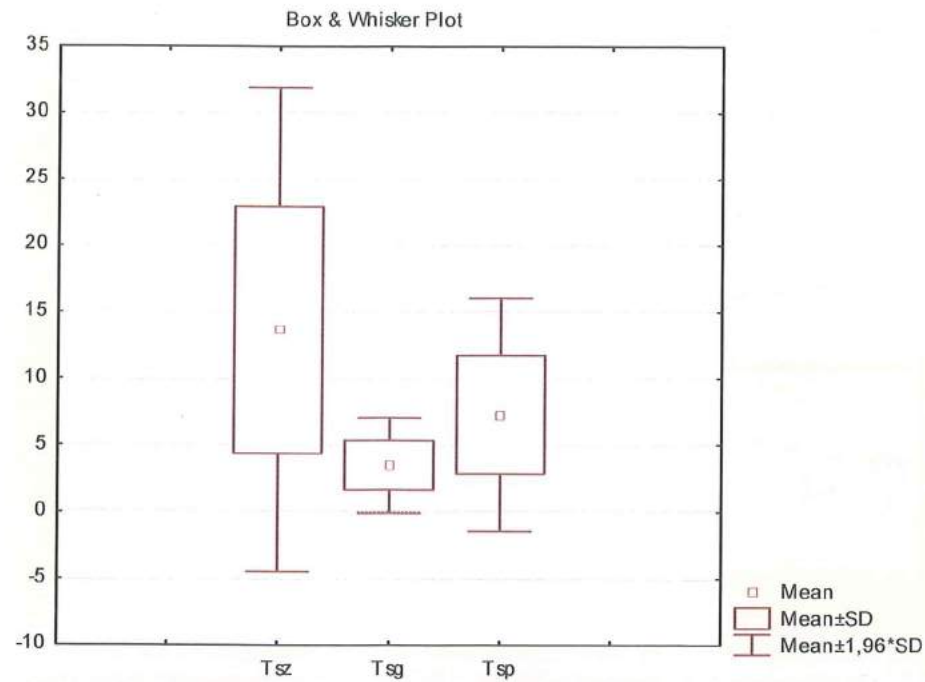


Табела 11. Просечни вредности за гингивално-флуидни нивоа на TNF- α кај испитуваните групи

испитаници	X	SD	df	t	P
Здрави	12,29	6,57	29	10,19	0,00000*
со гингивална болест	15,50	2,06	29	41,11	0,00000*
со иницијална пародонтална болест	33,72	13,41	29	13,76	0,00000*

Анализата на варијанса (ANOVA) покажува дека постојат статистички значајни разлики во однос на гингивално-флуидни нивоа на TNF- α кај испитуваните групи ($F = 110,09$; $p = 0,00000$).

Графикон 6.. Просечни вредности за серумски нивоа на TNF- α кај испитуваните групи

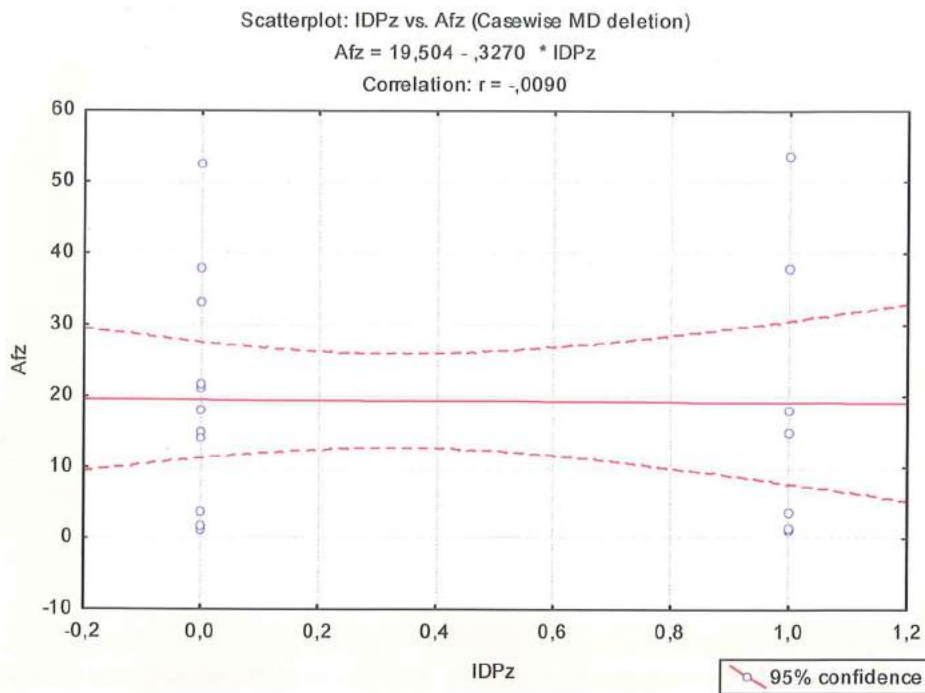


Табела 12. Просечни вредности за серумски нивоа на TNF- α кај испитуваните групи

<i>испитаници</i>	X	SD	df	t	P
здрави	13,68	9,26	29	8,08	0,00000*
со гингивална болест	3,51	1,83	29	10,51	0,00000*
со иницијална пародонтална болест	7,32	4,46	29	8,98	0,00000*

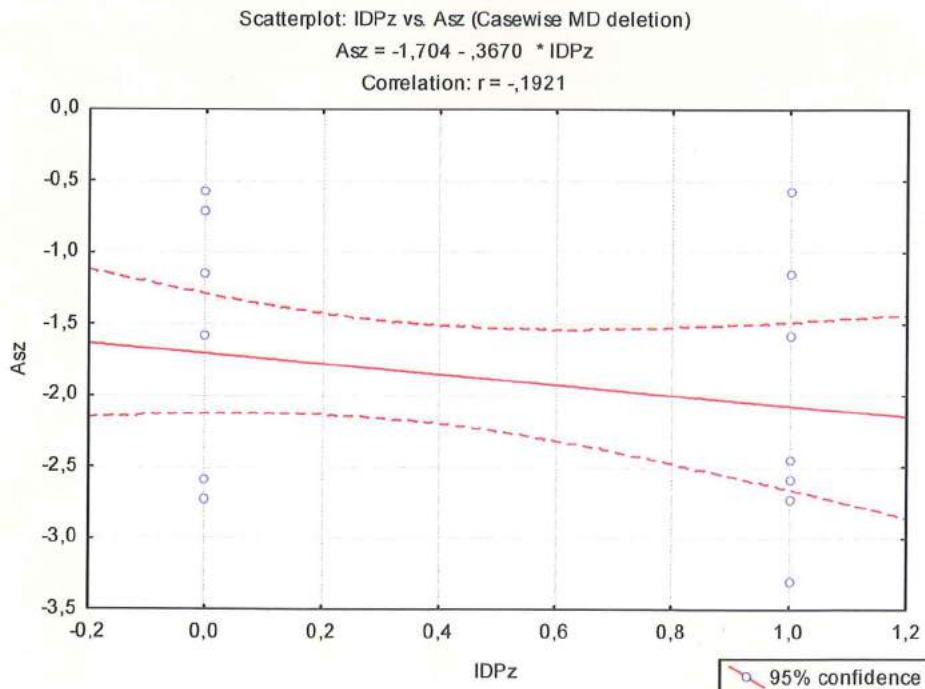
Анализата на варијанса (ANOVA) покажува дека постојат статистички значајни разлики во однос на серумските нивоа на TNF- α кај испитуваните групи ($F = 66,87$; $p = 0,00000$).

Графикон 7. Корелација на ИДП со гингивално-флуидното нивоа на IL1- α кај здрави испитаници



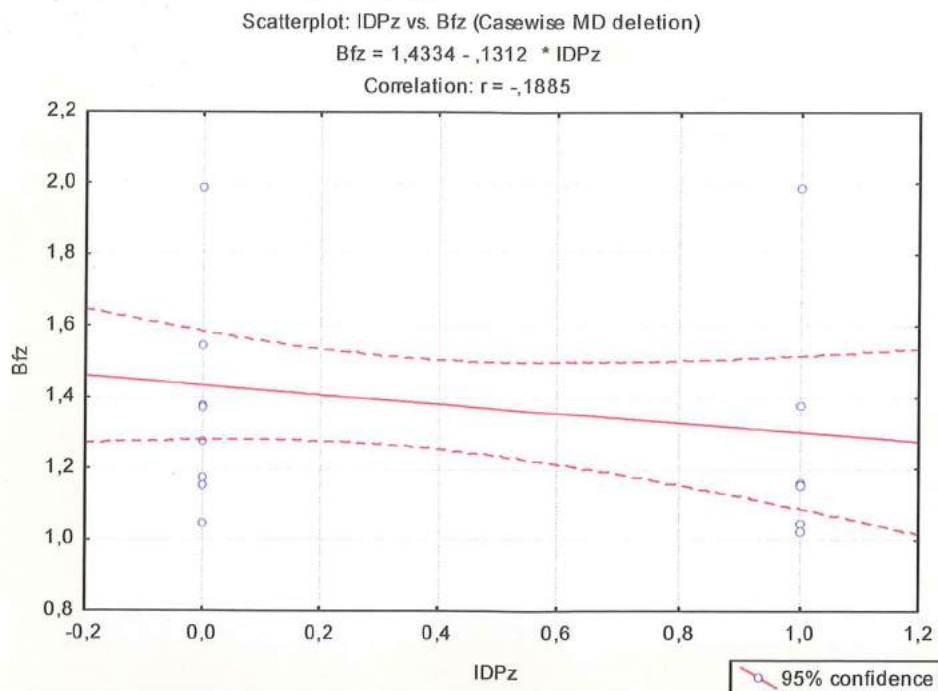
Pearson-овиот коефициент ($r = -0,009$) не покажува корелација на ИДП со IL1- α

Графикон 8. Корелација на ИДП со серумското ниво на IL1- α , кај здрави испитаници



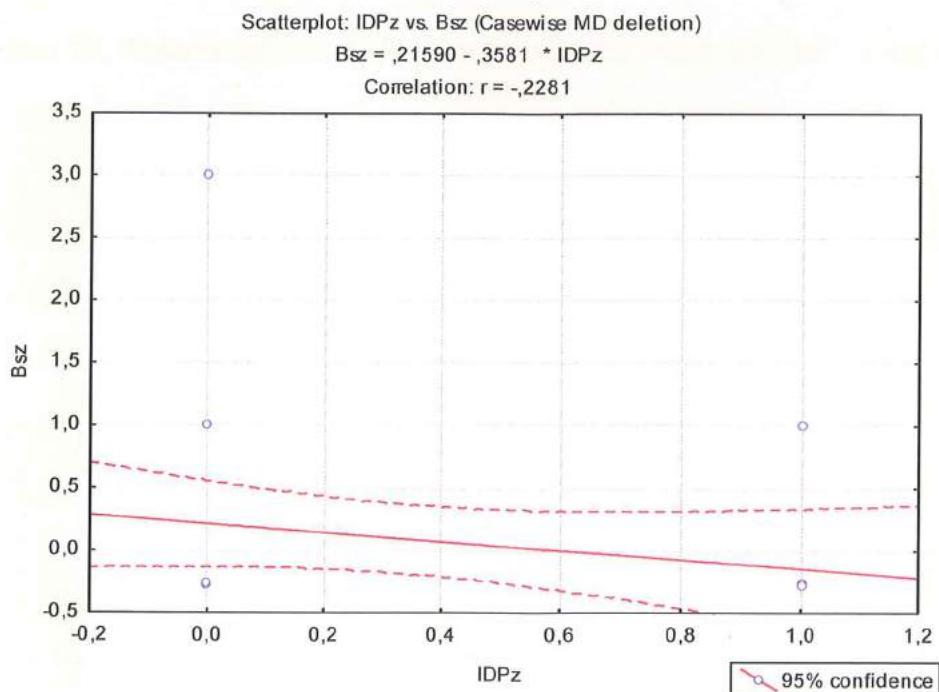
Pearson-овиот коефициент ($r = -0,19$) покажува слаба негативна корелација на ИДП со IL1- α

Графикон 9. Корелација на ИДП со гингивално-флуидното ниво на IL1- β , кај здрави испитаници



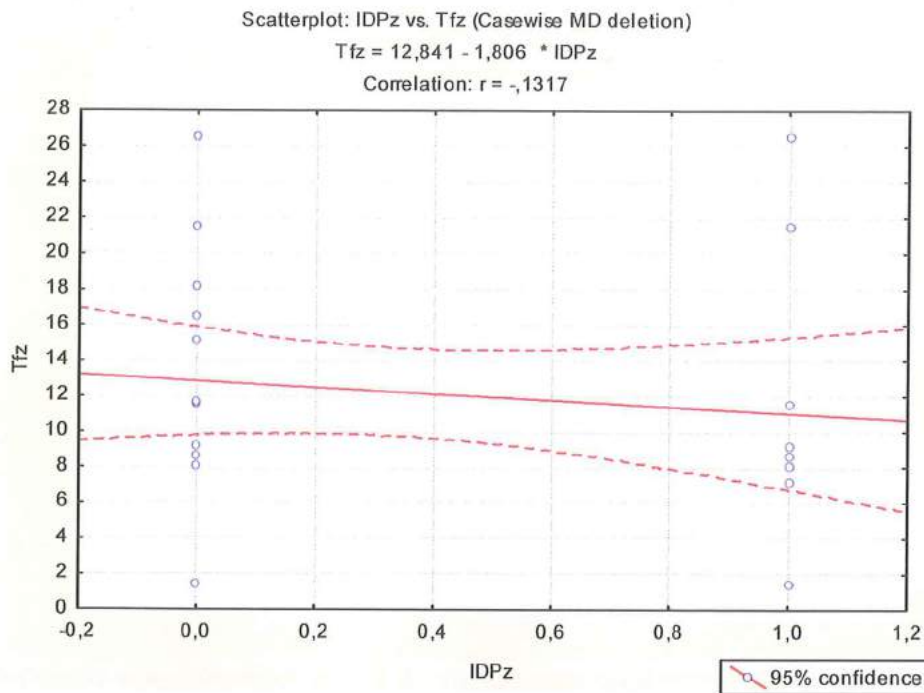
Pearson-овиот коефициент ($r = -0,19$) покажува слаба негативна корелација на ИДП со IL1- β

Графикон 10. Корелација на ИДП со серумското ниво на IL1- β кај здрави испитаници



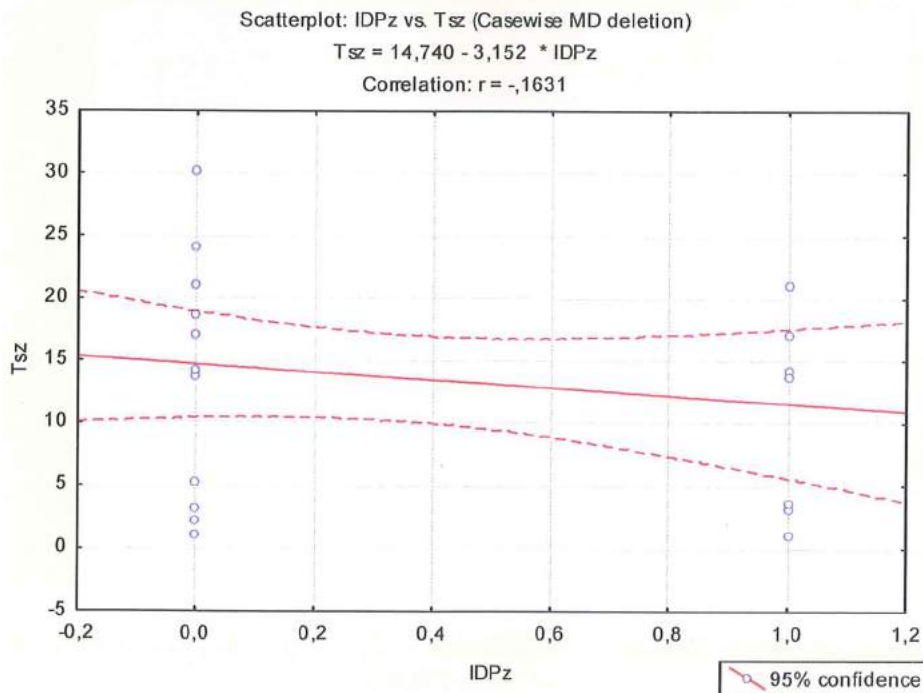
Pearson-овиот коефициент ($r = -0,23$) покажува слаба негативна корелација на ИДП со IL1- β

Графикон 11. Корелација на ИДП со гингивално-флуидното нивоа на TNF- α кај здрави испитаници



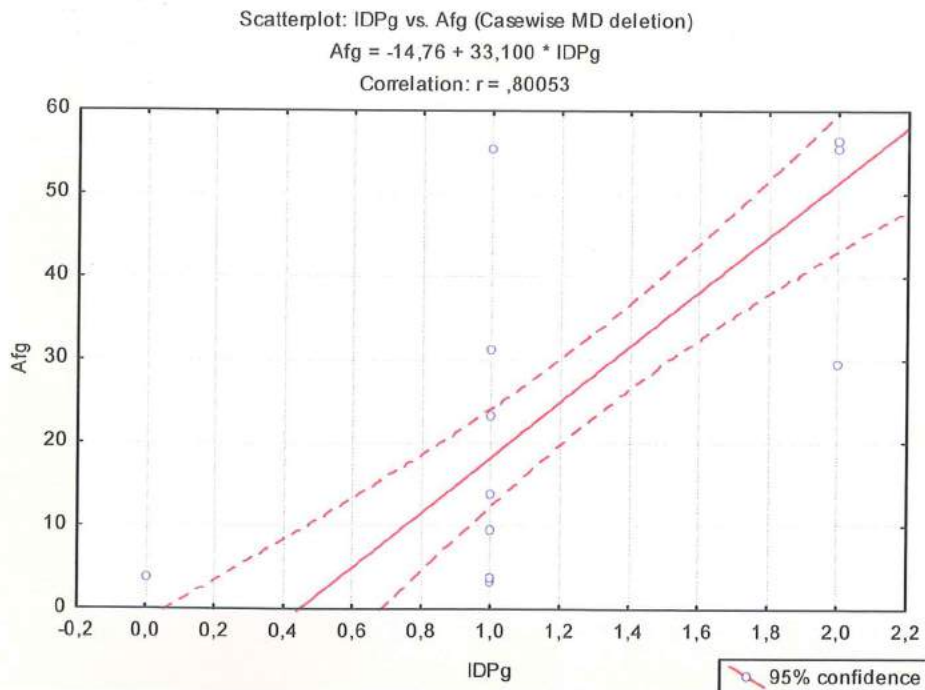
Pearson-овиот коефициент ($r = - 0,13$) покажува слаба негативна корелација на ИДП со TNF- α

Графикон 12. Корелација на ИДП со серумското ниво на TNF- α кај здрави испитаници



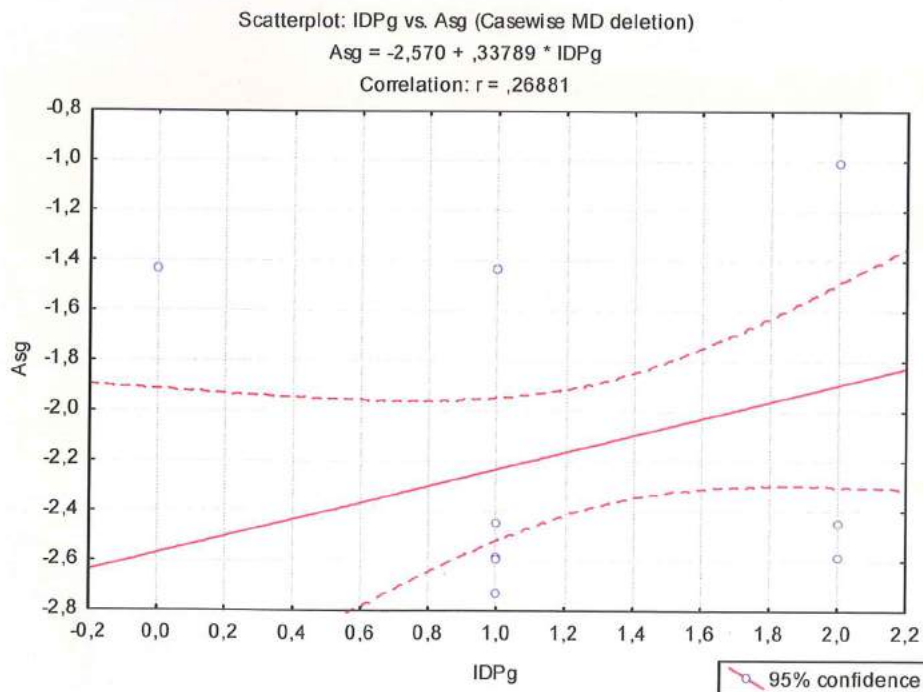
Pearson-овиот коефициент ($r = - 0,16$) покажува слаба негативна корелација на ИДП со TNF- α

Графикон 13. Корелација на ИДП со гингивално-флуидното ниво на IL1- α кај испитаници со гингивална болест



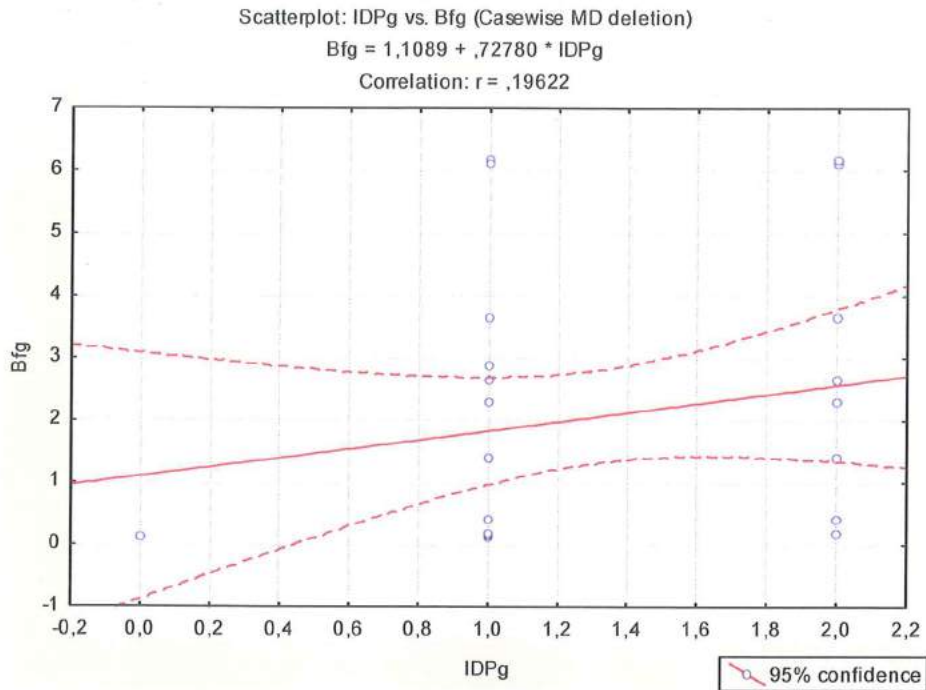
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,8$) покажува јако позитивна корелација на ИДП со IL1- α .

Графикон 14. Корелација на ИДП со серумското ниво на IL1- α кај испитаници со гингивална болест



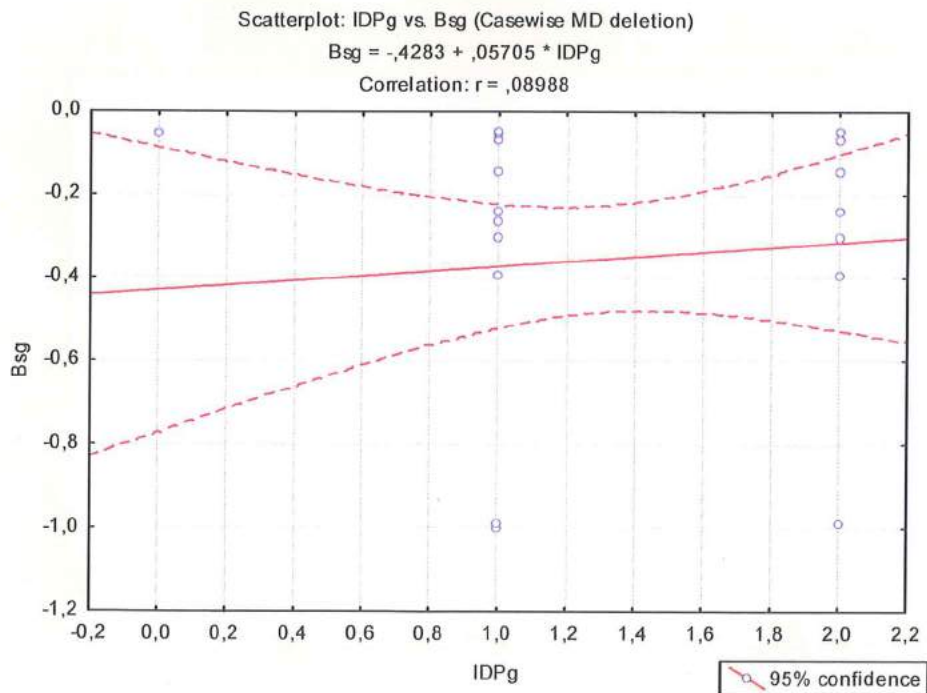
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,27$) покажува умерено позитивна корелација на ИДП со IL1- α .

Графикон 15. Корелација на ИДП со гингивално-флуидното ниво на IL1- β кај испитаници со гингивална болест



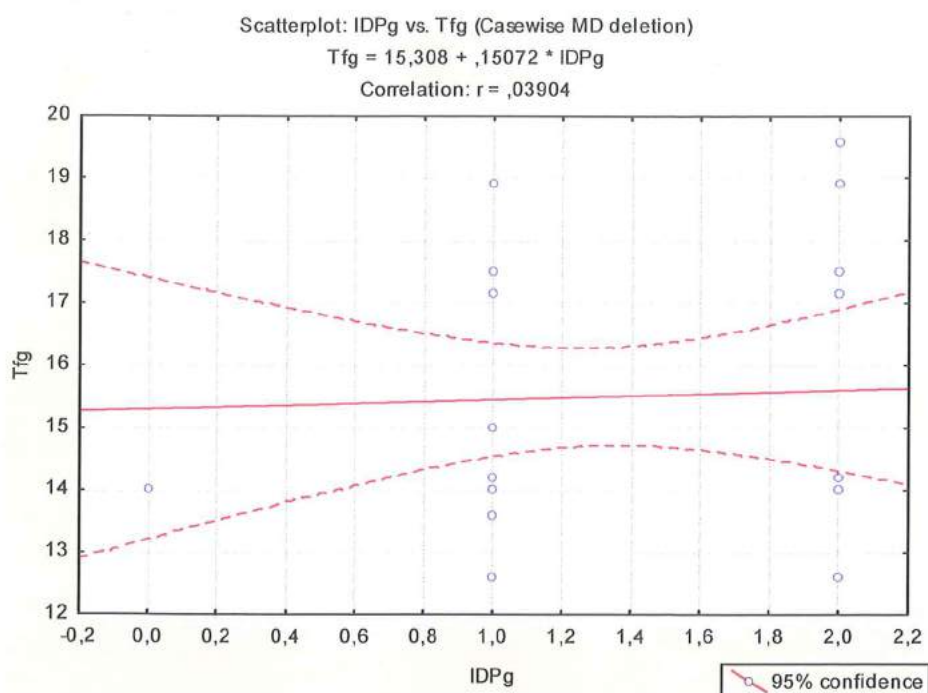
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,19$) покажува слабо позитивна корелација на ИДП со IL1- β

Графикон 16. Корелација на ИДП со серумското ниво на IL1- β , кај испитаници со гингивална болест



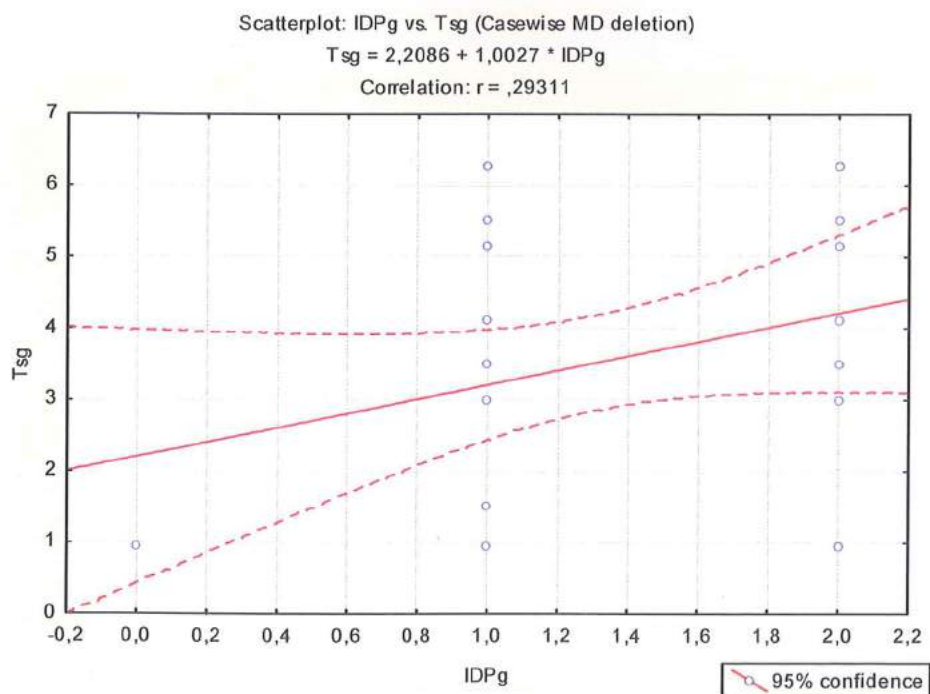
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,08$) не покажува корелација на ИДП со IL1- β

Графикон 17. Корелација на ИДП со гингивално-флуидното ниво на TNF- α кај испитаници со гингивална болест



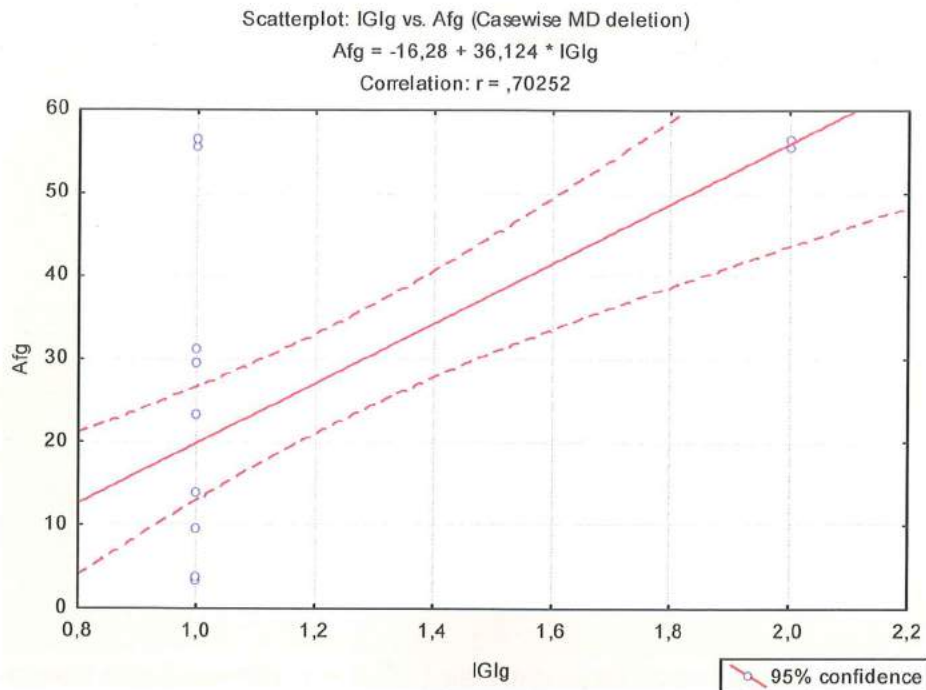
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,03$) не покажува корелација на ИДП со TNF- α

Графикон 18. Корелација на ИДП со серумското ниво на TNF- α кај испитаници со гингивална болест



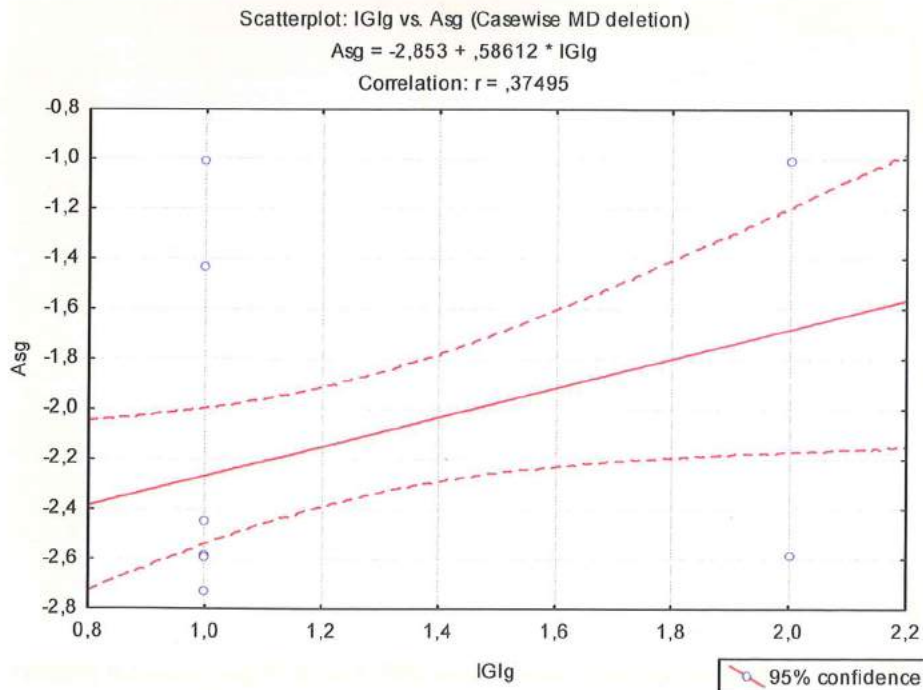
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,3$) покажува умерено позитивна корелација на ИДП со TNF- α .

Графикон 19. Корелација на ИГИ со гингивално-флуидното нивоа на IL1- α кај испитаници со гингивална болест



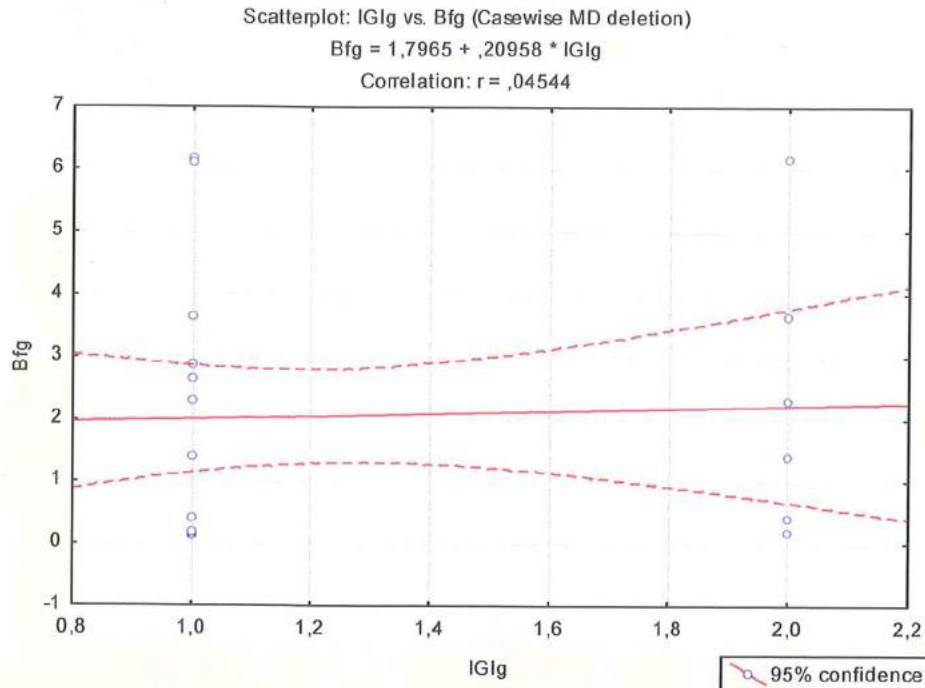
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,70$) покажува силна позитивна корелација на ИГИ со IL1- α

Графикон 20. Корелација на ИГИ со серумското нивоа на IL1- α , кај испитаници со гингивална болест



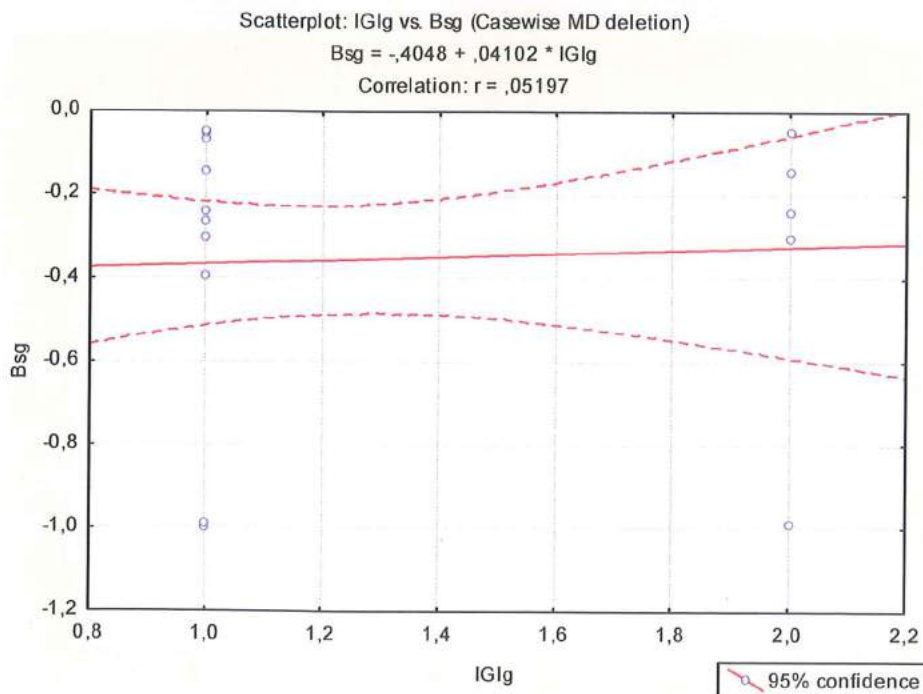
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,37$) покажува умерено позитивна корелација на ИГИ со IL1- α

Графикон 21. Корелација на ИГИ со гингивално-флуидното ниво на IL1- β кај испитаници со гингивална болест



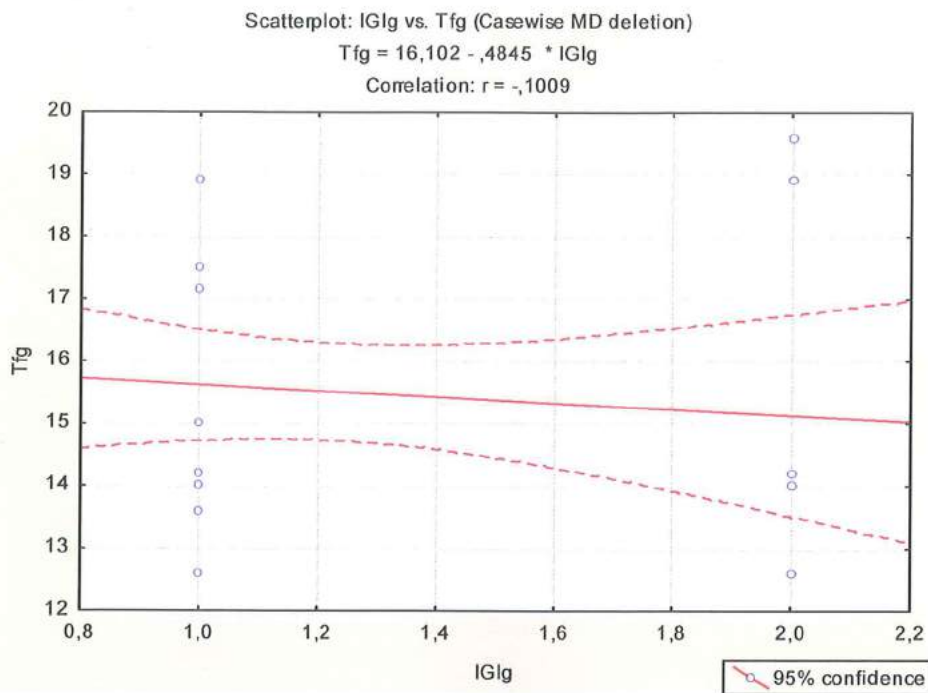
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,04$) не покажува корелација на ИГИ со IL1- β

Графикон 22. Корелација на ИГИ со серумското ниво на IL1- β , кај испитаници со гингивална болест



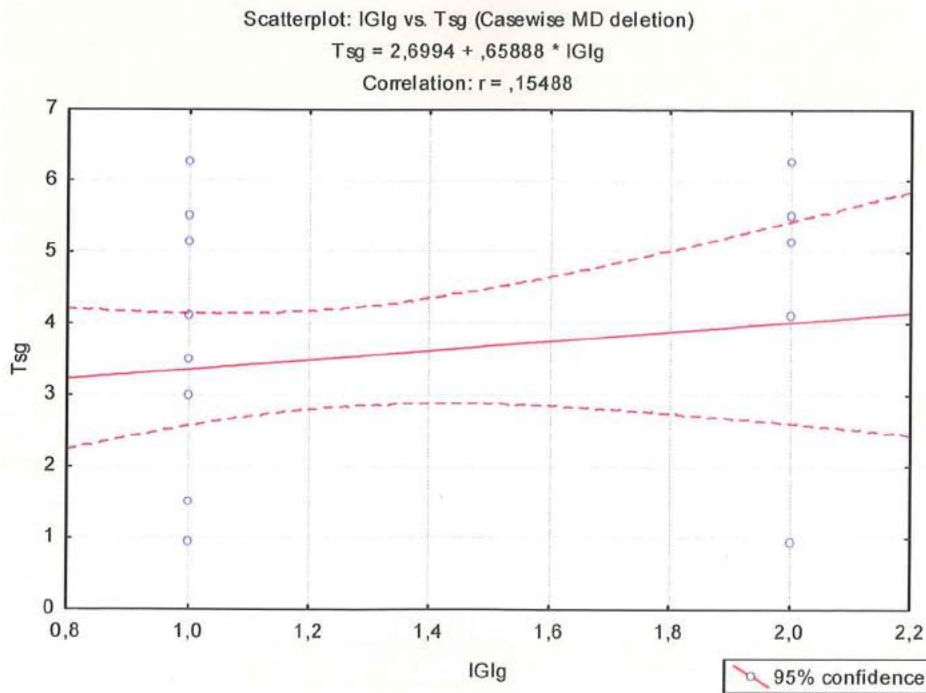
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,05$) не покажува корелација на ИГИ со IL1- β

Графикон 23. Корелација на ИГИ со гингивално-флуидното ниво на TNF- α кај испитаници со гингивална болест



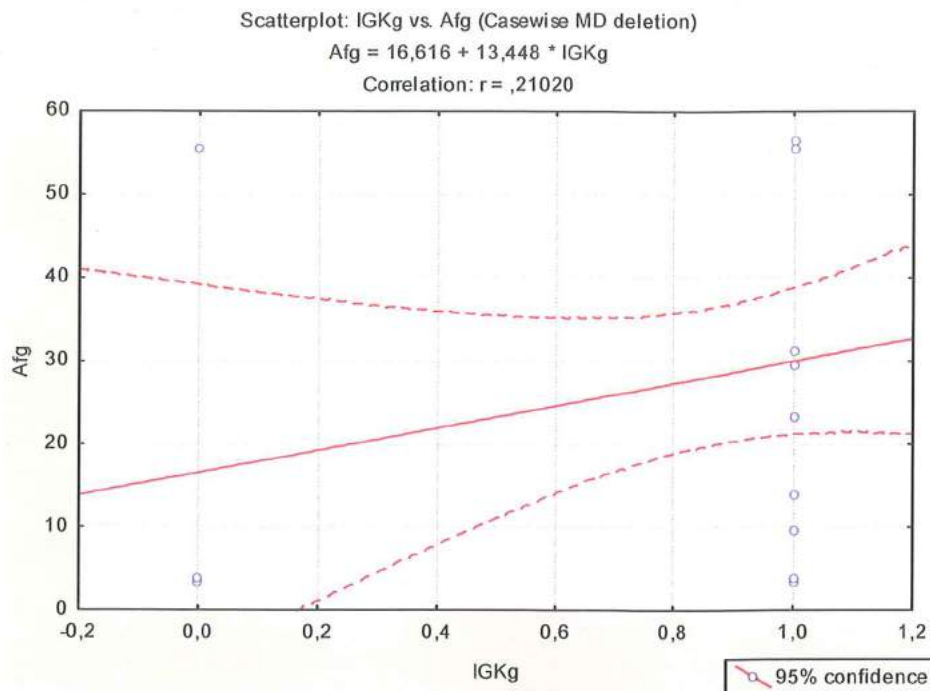
Pearson-овиот коефициент ($r = - 0,10$) покажува слаба негативна корелација на ИГИ со TNF- α

Графикон 24. Корелација на ИГИ со серумското ниво на TNF- α , кај испитаници со гингивална болест



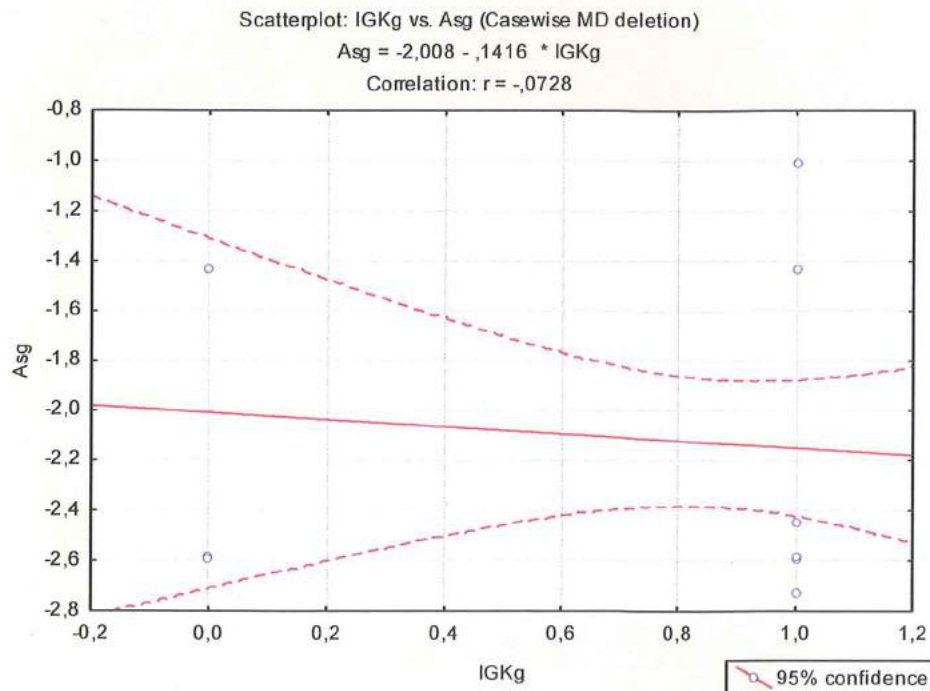
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,15$) покажува слаба негативна корелација на ИГИ со TNF- α

Графикон 25. Корелација на ИГК со гингивално-флуидното ниво на IL1- α кај испитаници со гингивална болест



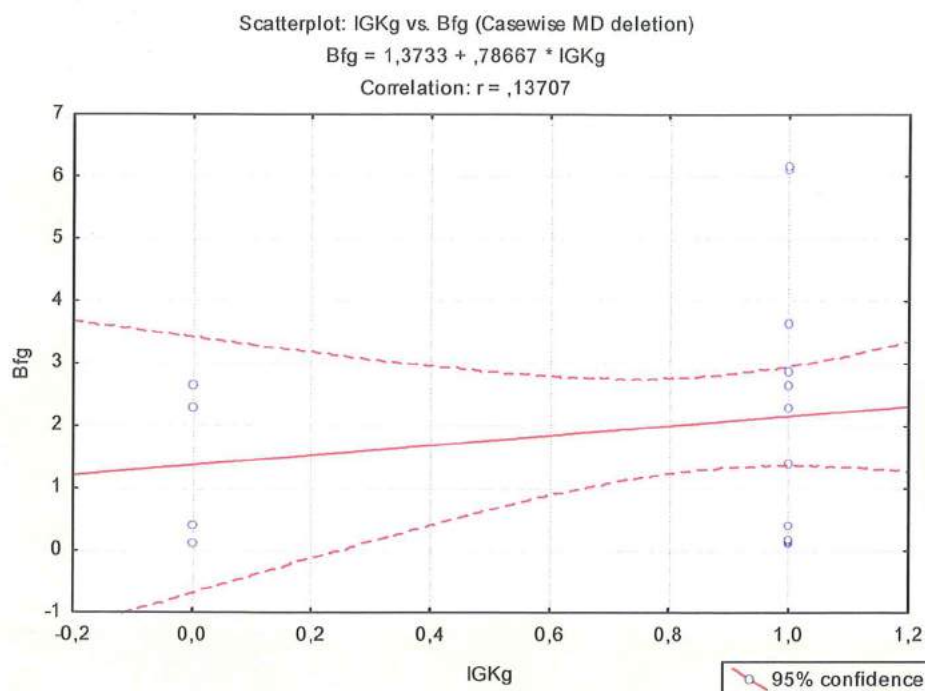
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,21$) покажува слаба позитивна корелација на ИГК со IL1- α .

Графикон 26. Корелација на ИГК со серумското ниво на IL1- α , кај испитаници со гингивална болест



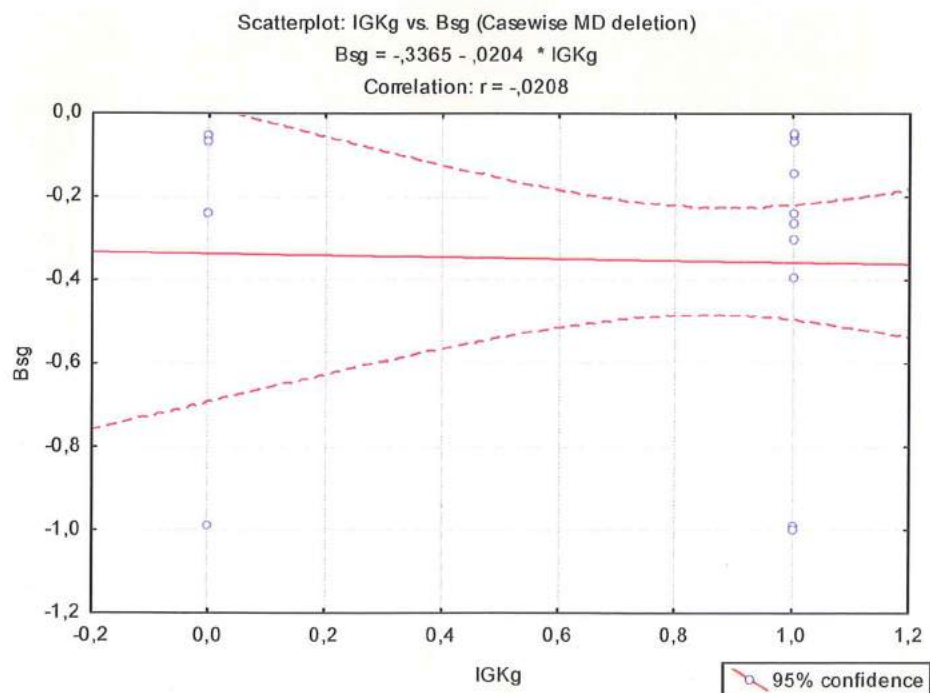
Pearson-овиот коефициент ($r = -0,07$) не покажува корелација на ИГК со IL1- α .

Графикон 27. Корелација на ИГК со гингивално-флуидното ниво на IL1- β кај испитаници со гингивална болест



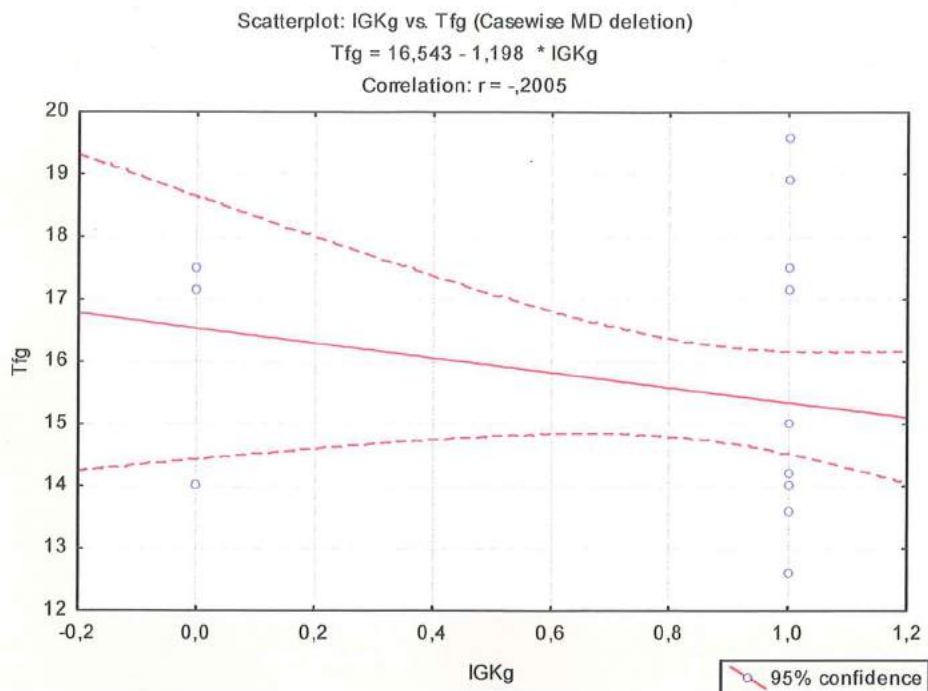
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,13$) покажува слаба позитивна корелација на ИГК со IL1- β

Графикон 28. Корелација на ИГК со серумското ниво на IL1- β , кај испитаници со гингивална болест



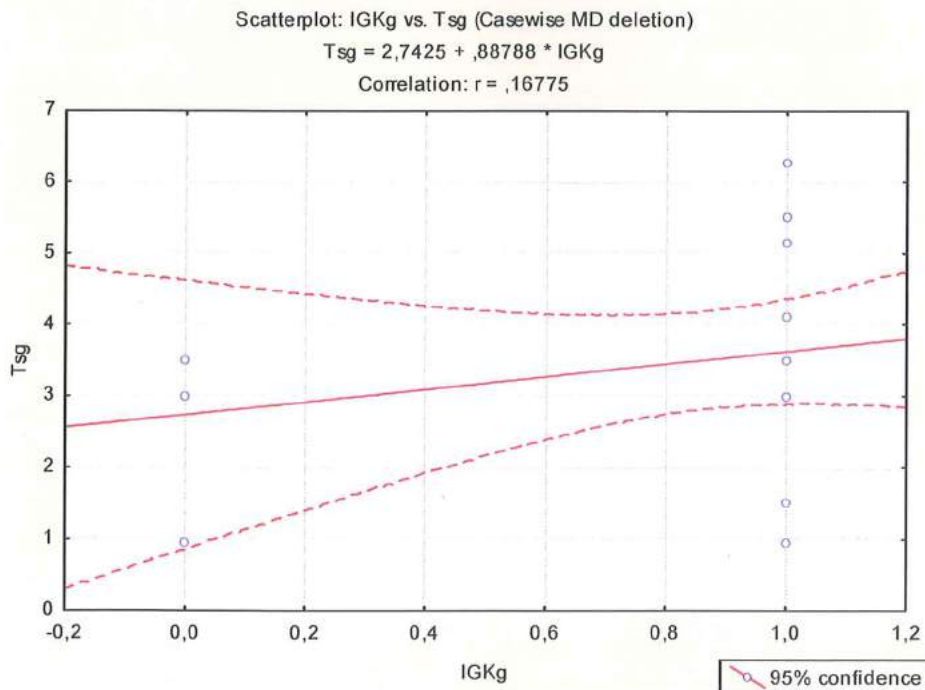
Pearson-овиот коефициент ($r = - 0,02$) не покажува корелација на ИГК со IL1- β

Графикон 29. Корелација на ИГК со гингивално-флуидното ниво на TNF- α кај испитаници со гингивална болест



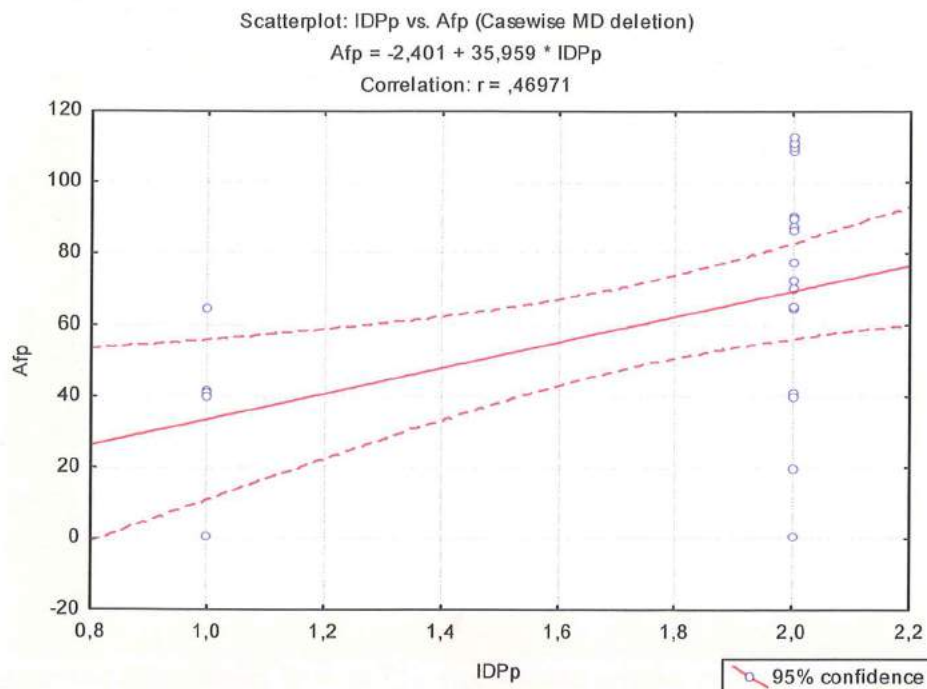
Pearson-овиот коефициент ($r = - 0,20$) покажува слаба негативна корелација на ИГК со TNF- α .

Графикон 30. Корелација на ИГК со серумското ниво на TNF- α , кај испитаници со гингивална болест



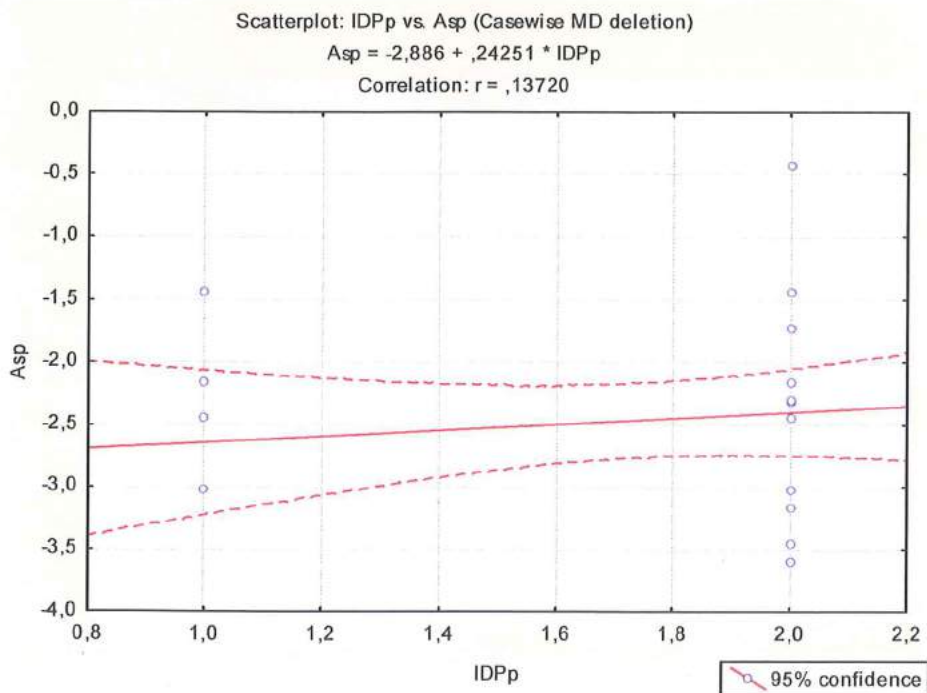
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,16$) покажува слаба позитивна корелација на ИГК со TNF- α .

Графикон 31. Корелација на ИДП со гингивално-флуидното ниво на IL1- α кај испитаници со пародонтална болест



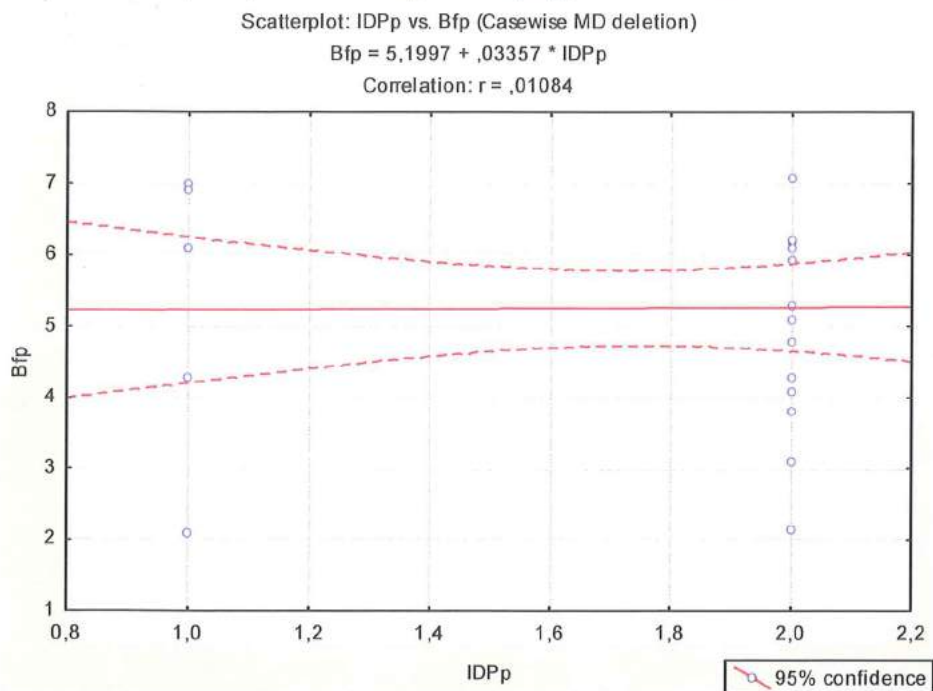
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,46$) покажува умерено позитивна корелација на ИДП со IL1- α

Графикон 32. Корелација на ИДП со серумското ниво на IL1- α кај испитаници со пародонтална болест



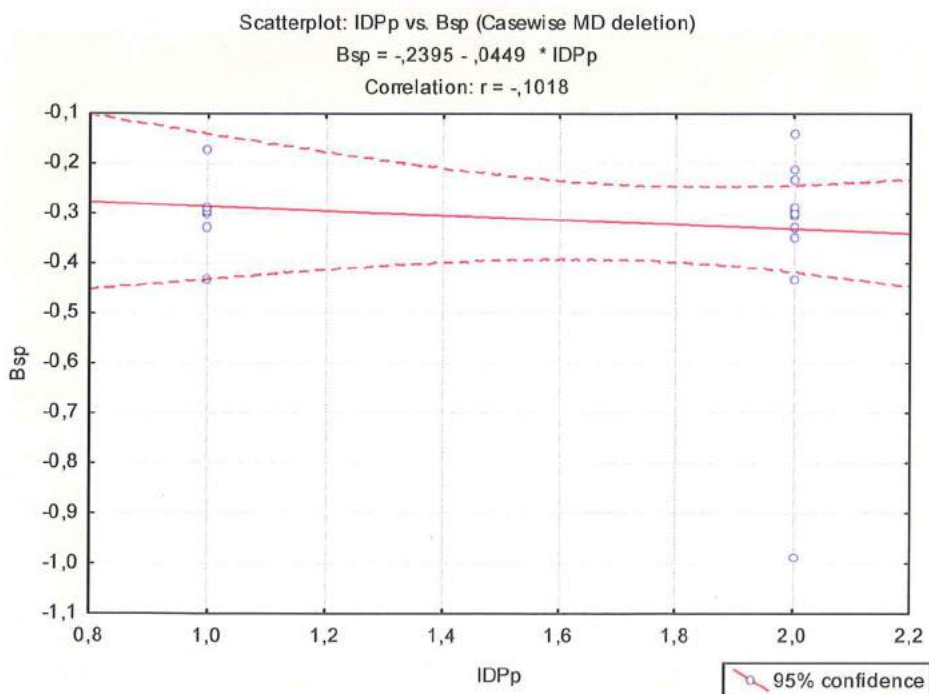
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,14$) покажува слабо позитивна корелација на ИДП со IL1- α

Графикон 33. Корелација на ИДП со гингивално-флуидното ниво на IL1- β кај испитаници со пародонтална болест



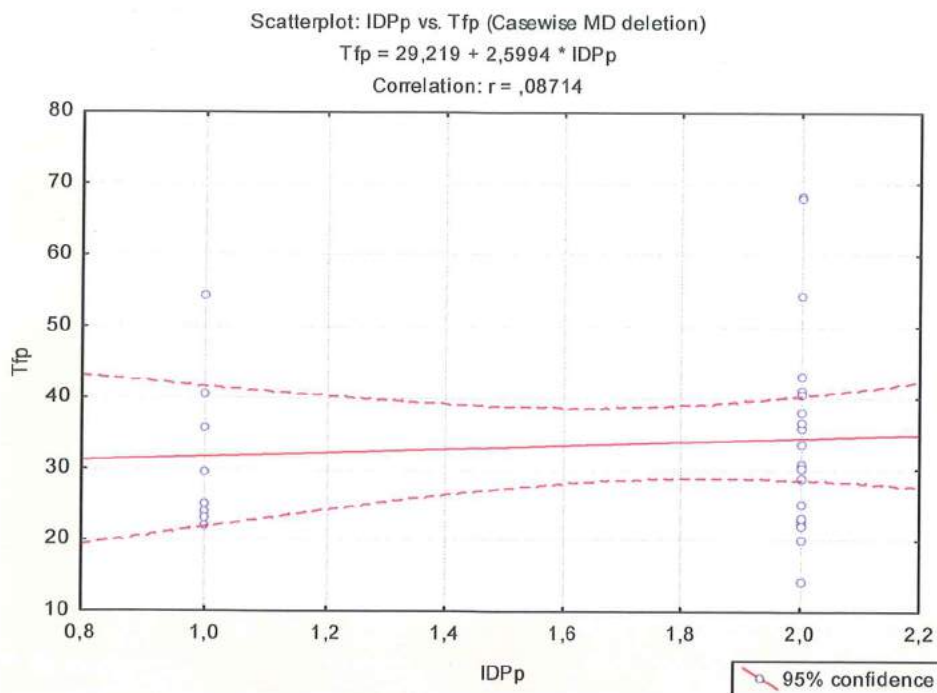
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,11$) покажува слабо позитивна корелација на ИДП со IL1- β

Графикон 34. Корелација на ИДП со серумското ниво на IL1- β , кај испитаници со пародонтална болест



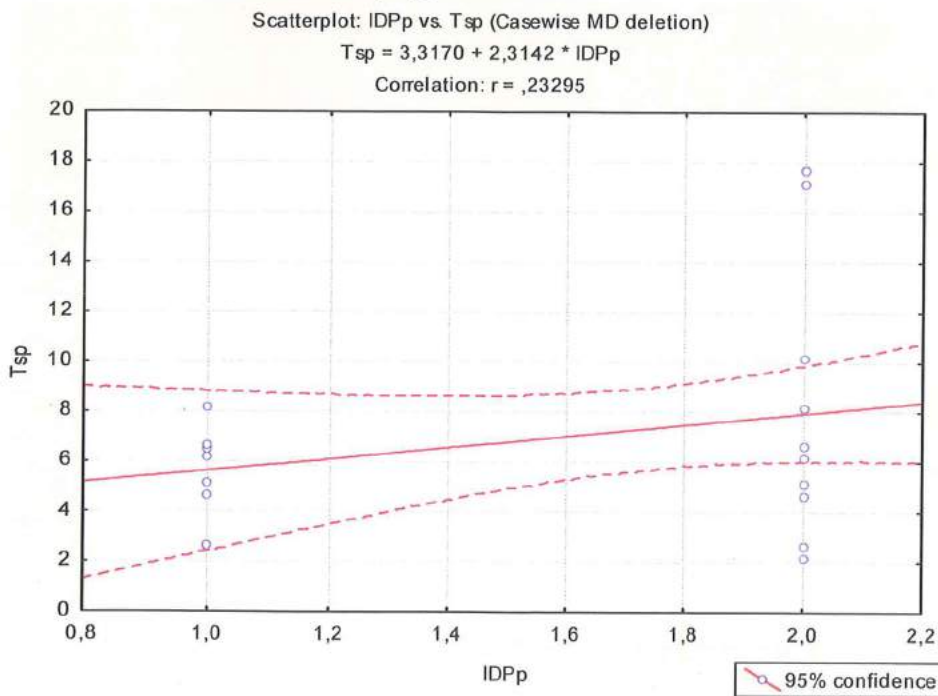
Pearson-овиот коефициент ($r = - 0,11$) покажува слабо негативна корелација на ИДП со IL1- β

Графикон 35. Корелација на ИДП со гингивално-флуидното ниво на TNF- α кај испитаници со пародонтална болест



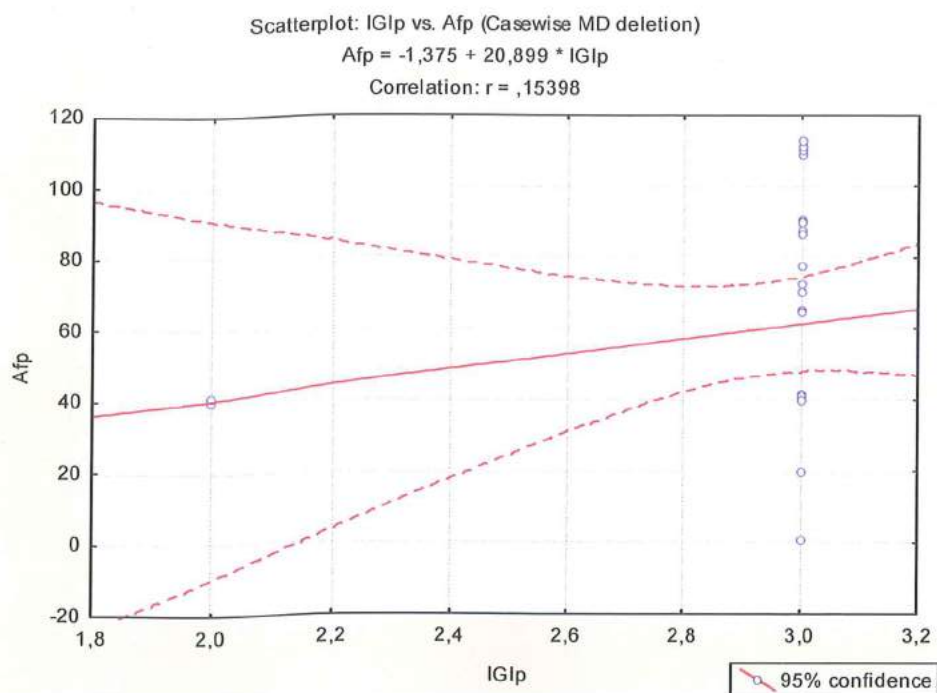
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,08$) не покажува корелација на ИДП со TNF- α .

Графикон 36. Корелација на ИДП со серумското ниво на TNF- α , кај испитаници со пародонтална болест



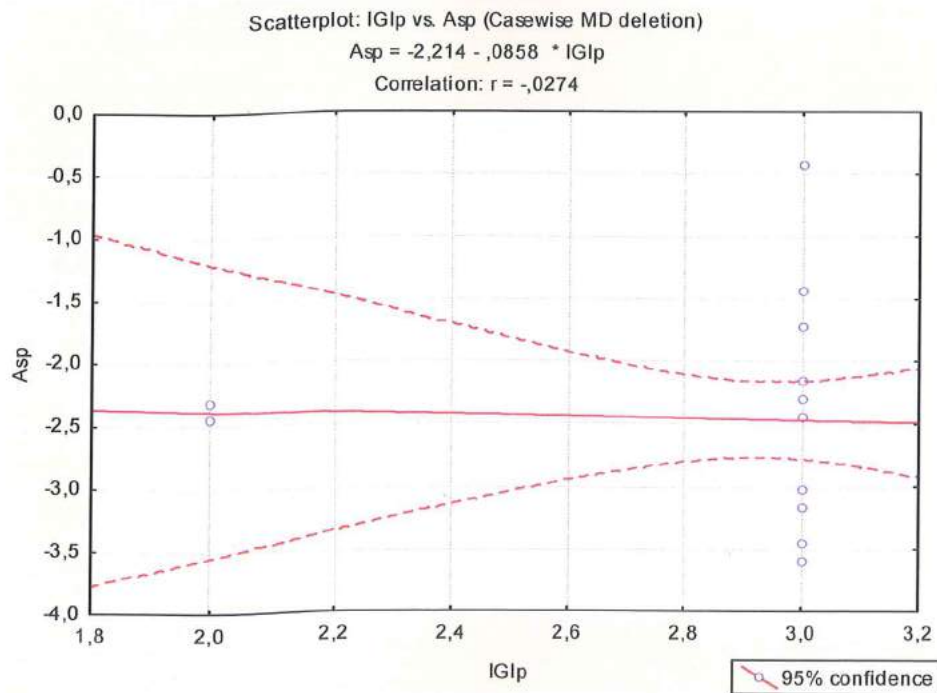
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,23$) покажува позитивна корелација на ИДП со TNF- α .

Графикон 37. Корелација на ИГИ со гингивално-флуидното ниво на IL1- α кај испитаници со пародонтална болест



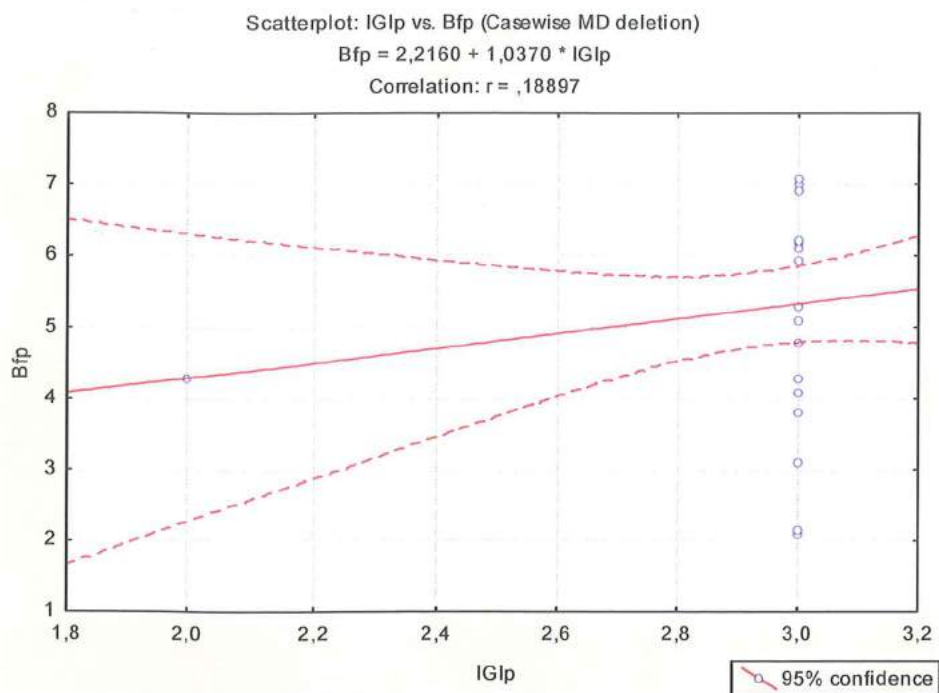
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,15$) покажува слабо позитивна корелација на ИГИ со IL1- α

Графикон 38. Корелација на ИГИ со серумското ниво на IL1- α , кај испитаници со пародонтална болест



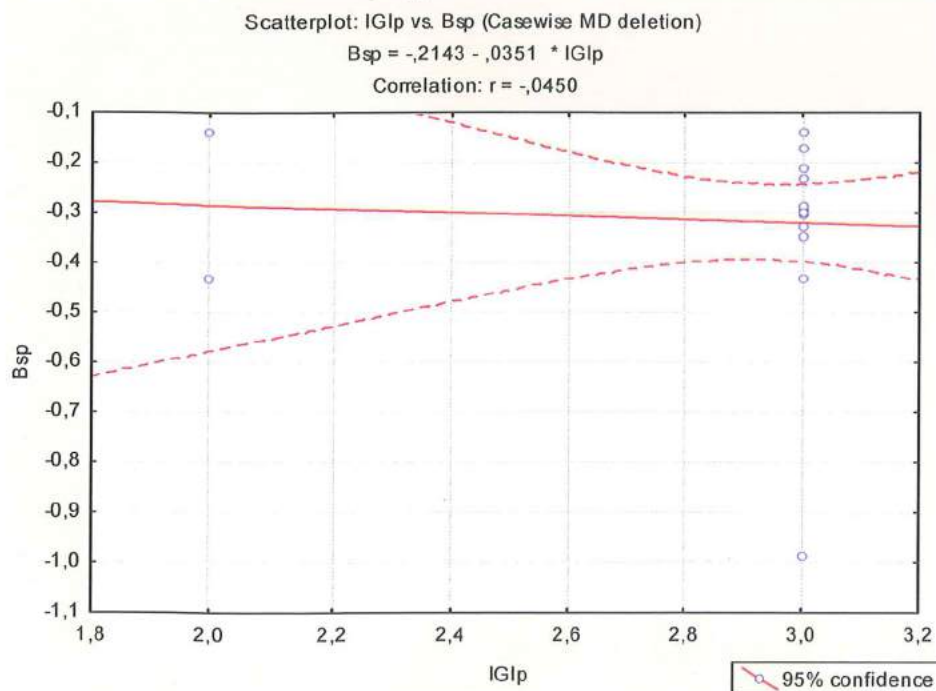
Pearson-овиот коефициент ($r = -0,03$) покажува умерено негативна корелација на ИГИ со IL1- α

Графикон 39. Корелација на ИГИ со гингивално-флуидното ниво на IL1- β кај испитаници со пародонтална болест



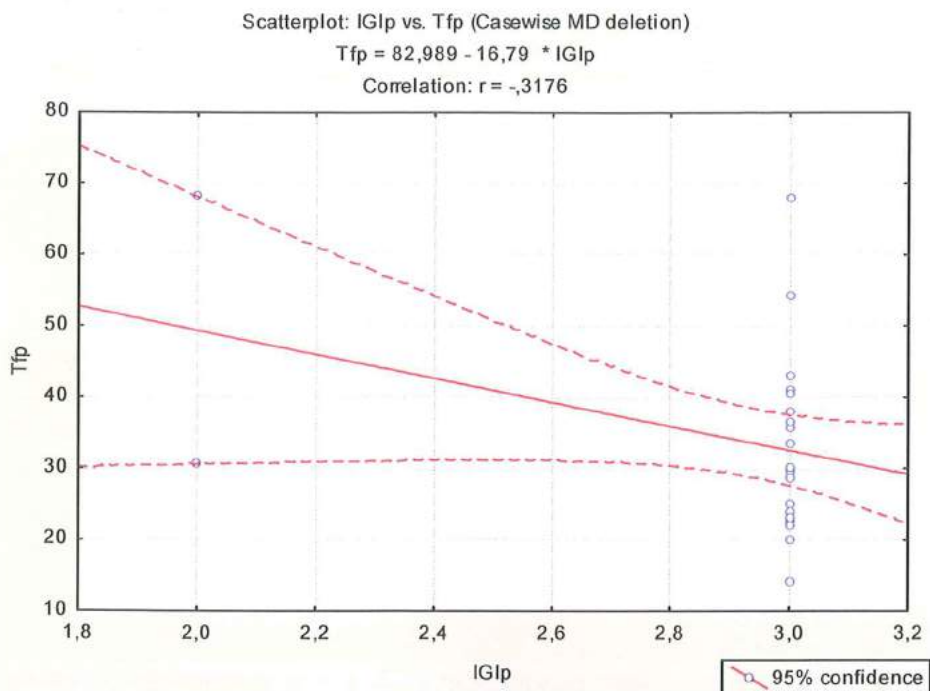
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,19$) покажува слабо позитивна корелација на ИГИ со IL1- β

Графикон 40. Корелација на ИГИ со серумското ниво на IL1- β , кај испитаници со пародонтална болест



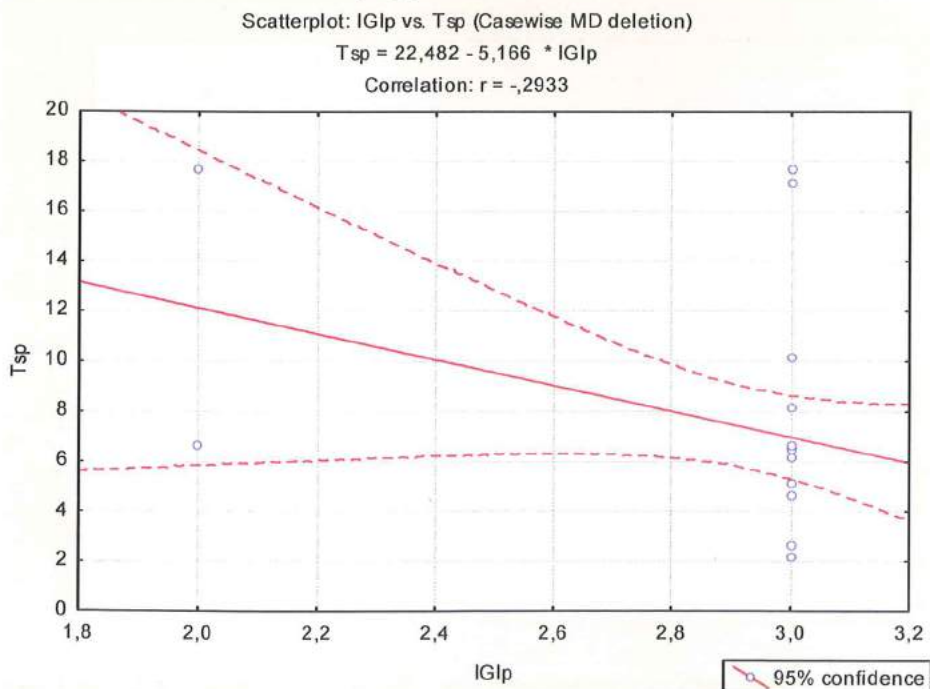
Pearson-овиот коефициент ($r = -0,05$) не покажува корелација на ИГИ со IL1- β

Графикон 41. Корелација на ИГИ со гингивално-флуидното ниво на TNF- α кај испитаници со пародонтална болест



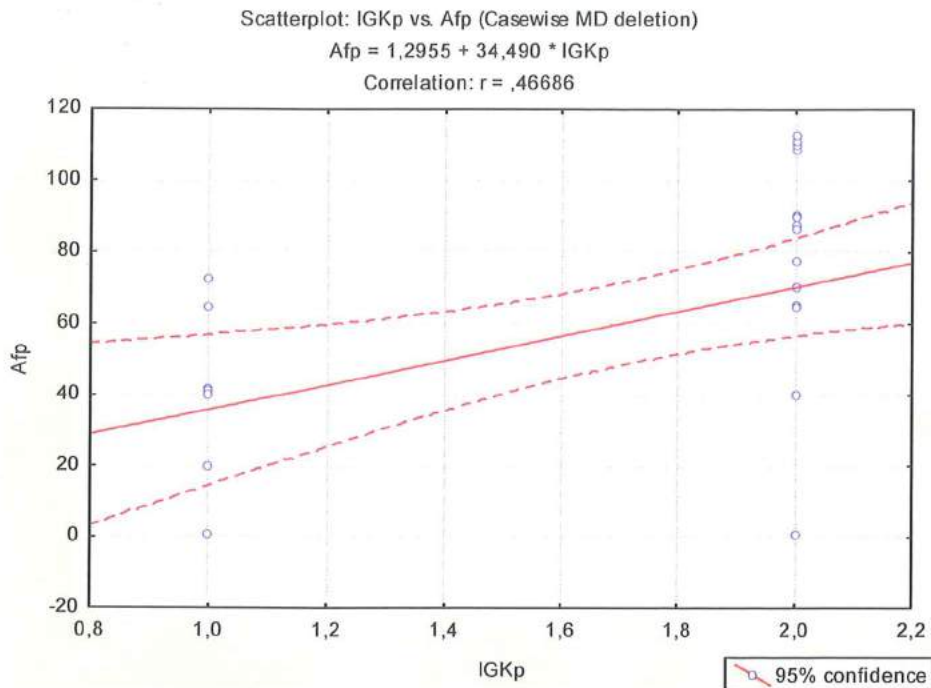
Pearson-овиот коефициент ($r = -0,32$) покажува умерено негативна корелација на ИГИ со TNF- α

Графикон 42. Корелација на ИГИ со серумското ниво на TNF- α , кај испитаници со пародонтална болест



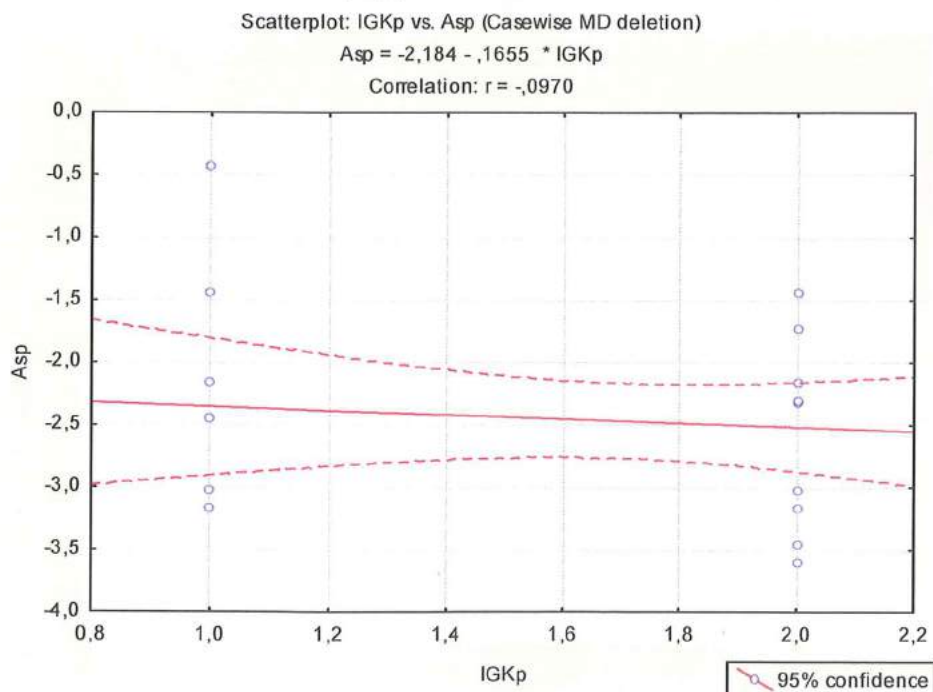
Pearson-овиот коефициент ($r = -0,3$) покажува умерено негативна корелација на ИГИ со TNF- α

Графикон 43. Корелација на ИГК со гингивално-флуидното ниво на IL1- α кај испитаници со пародонтална болест



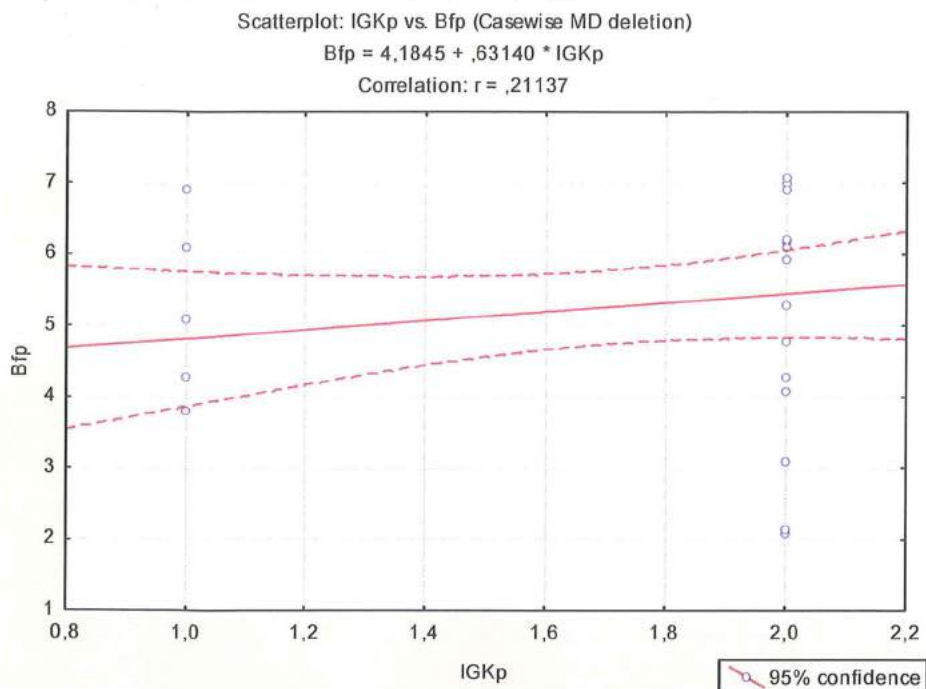
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,47$) покажува умерено позитивна корелација на ИГК со IL1- α .

Графикон 44. Корелација на ИГК со серумското ниво на IL1- α , кај испитаници со пародонтална болест



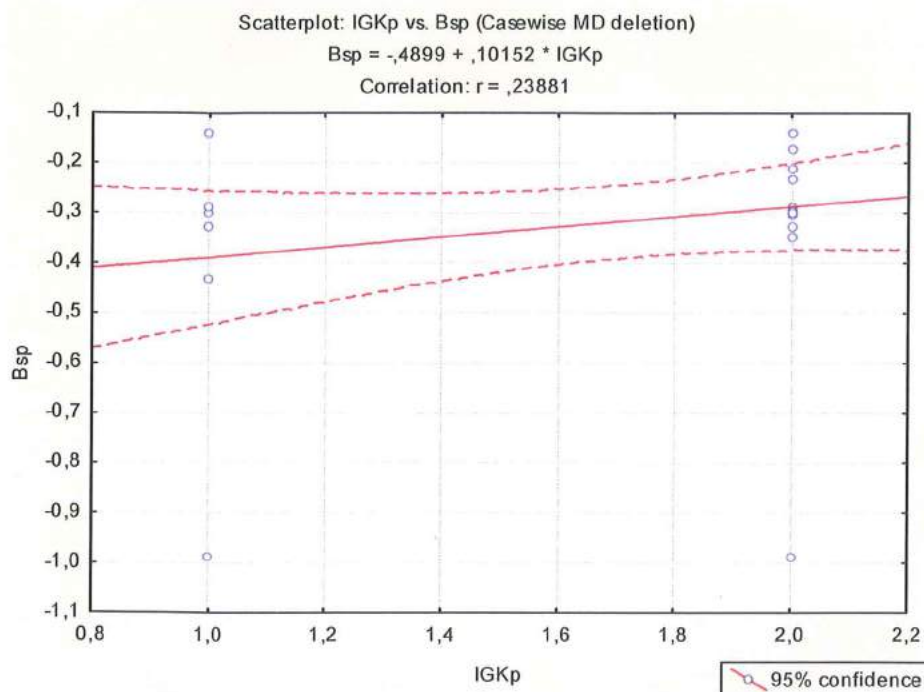
Pearson-овиот коефициент ($r = -0,09$) не покажува корелација на ИГК со IL1- α .

Графикон 45. Корелација на ИГК со гингивално-флуидното ниво на IL1- β кај испитаници со пародонтална болест



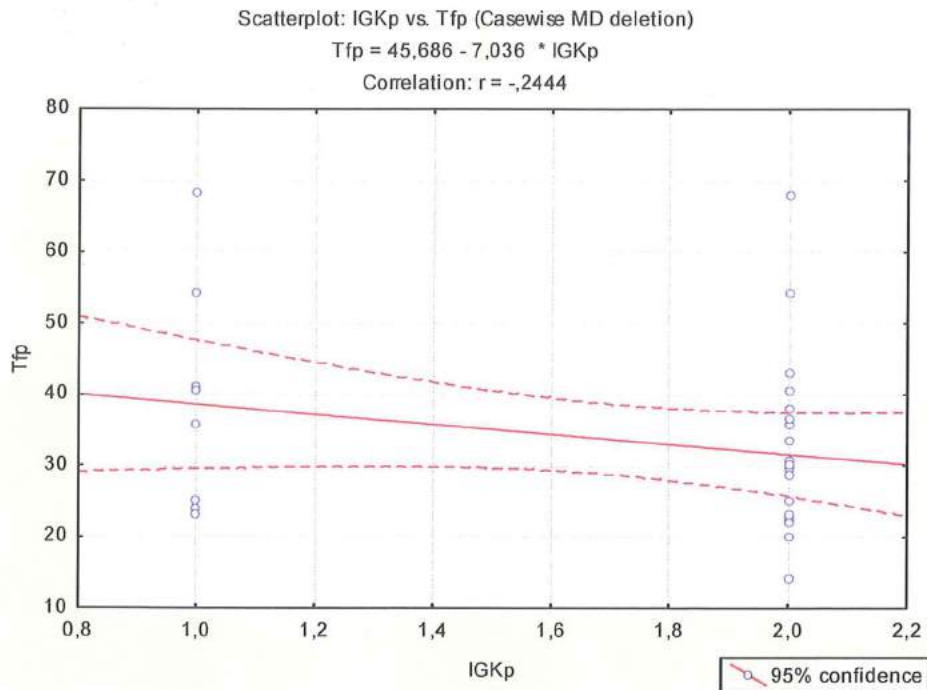
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,21$) покажува слабо позитивна корелација на ИГК со IL1- β

Графикон 46. Корелација на ИГК со серумското ниво на IL1- β , кај испитаници со пародонтална болест



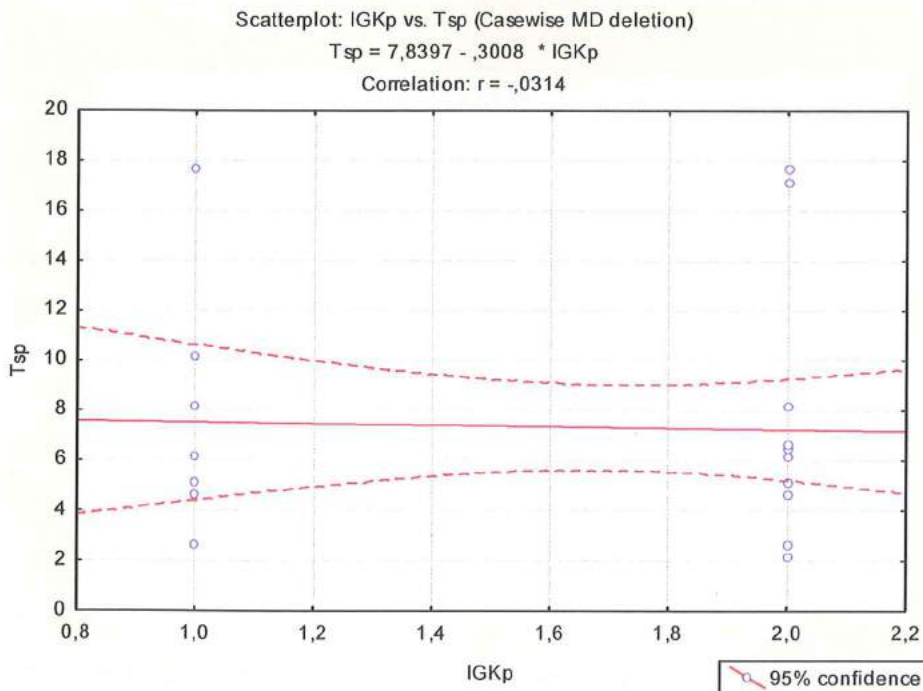
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,23$) покажува слабо позитивна корелација на ИГК со IL1- β

Графикон 47. Корелација на ИГК со гингивално-флуидното ниво на TNF- α кај испитаници со пародонтална болест



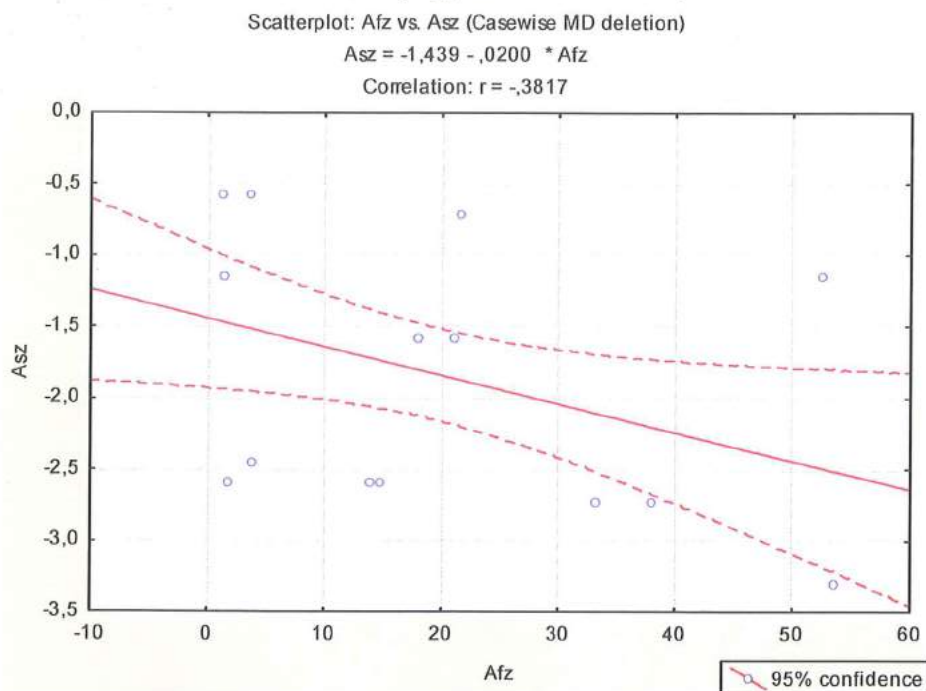
Pearson-овиот коефициент ($r = -0,24$) покажува слабо негативна корелација на ИГК со TNF- α

Графикон 48. Корелација на ИГК со серумското ниво на TNF- α , кај испитаници со пародонтална болест



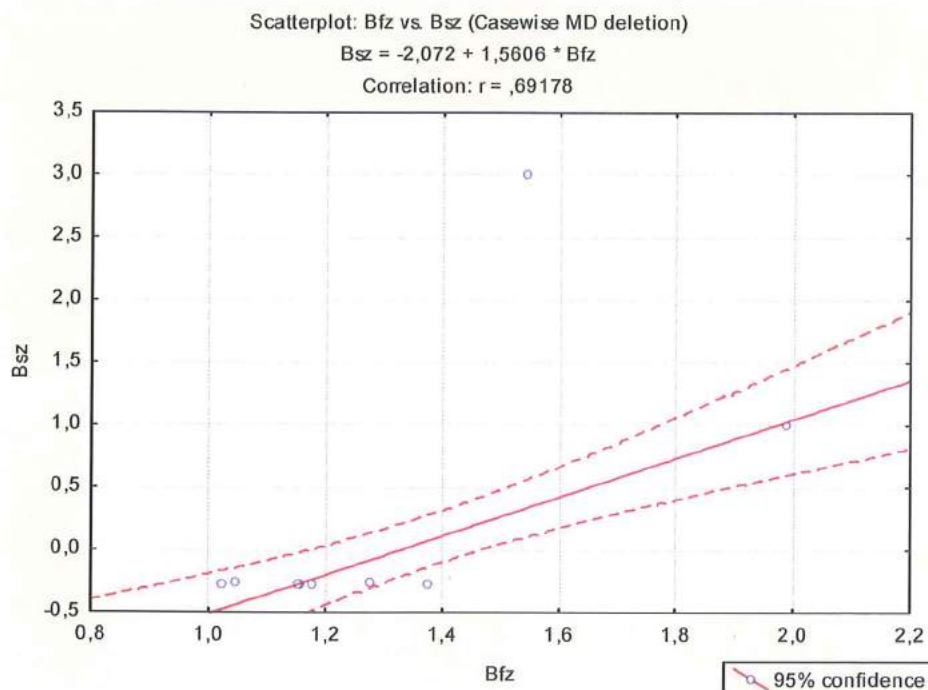
Pearson-овиот коефициент ($r = -0,03$) не покажува корелација на ИГК со TNF- α

Графикон. 49 Корелација на гингивално-флуидната со серумска концентрација на IL1- α кај здрави испитаници



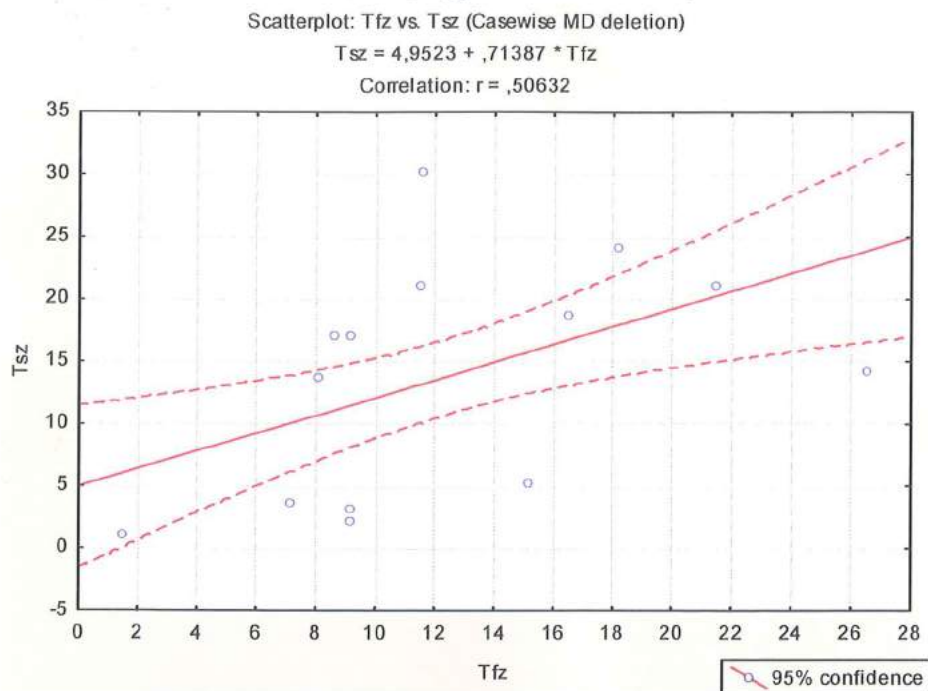
Pearson-овиот коефициент ($r = -0,38$) покажува умерено негативна корелација

Графикон 50. Корелација на гингивално-флуидната со серумска концентрација на IL1- β кај здрави испитаници



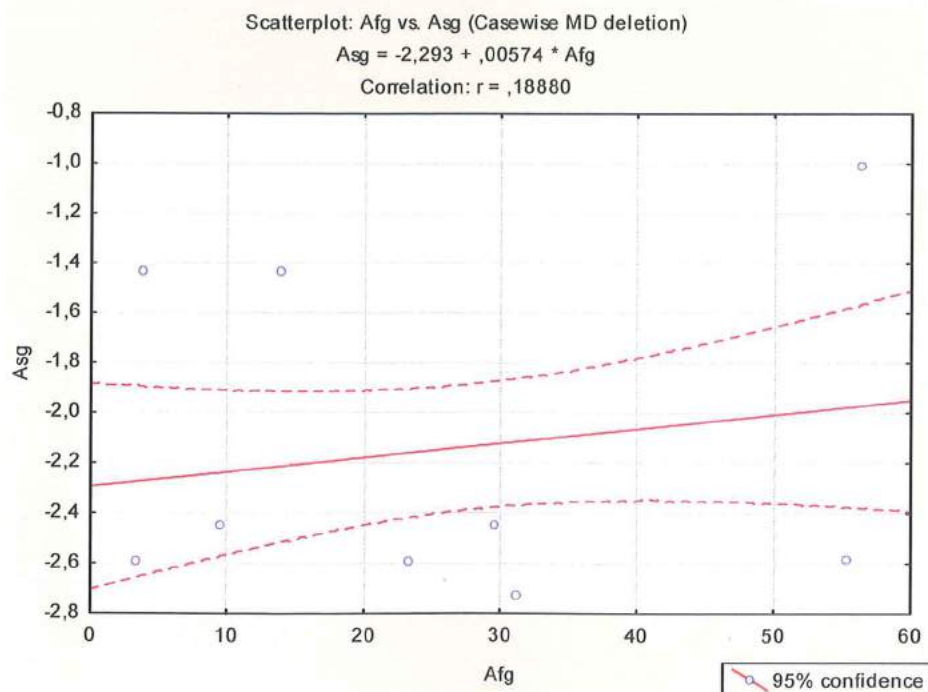
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,70$) покажува јако позитивна корелација

Графикон. 51 Корелација на гингивално-флуидната со серумска концентрација на TNF- α кај здрави испитаници



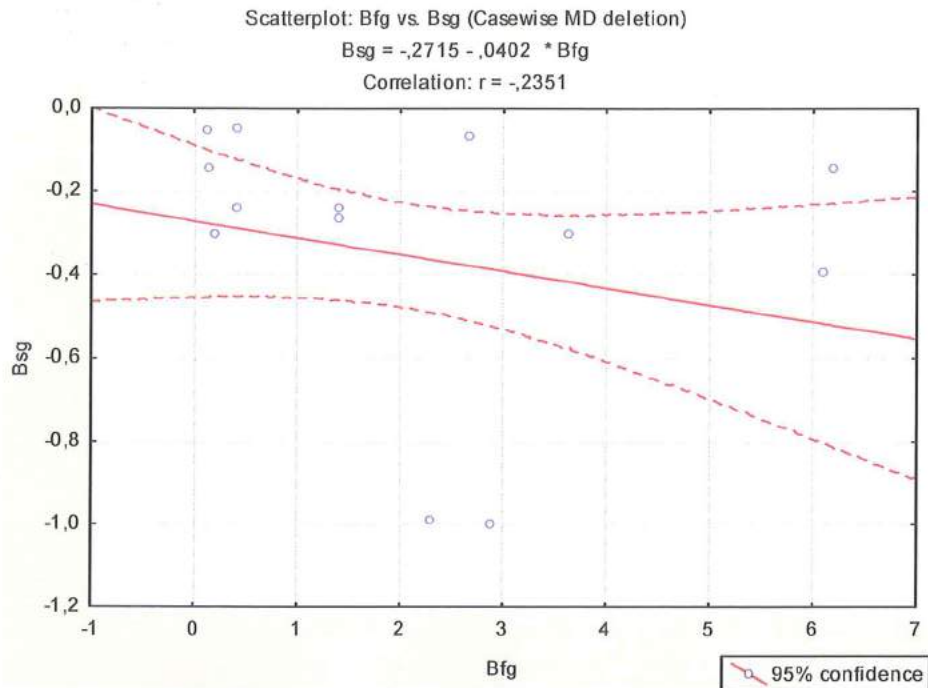
Pearson-овиот коефициент ($r=0,50$) покажува умерено позитивна корелација

Графикон 52. Корелација на гингивално-флуидната со серумска концентрација на IL1- α кај испитаници со гингивална болест



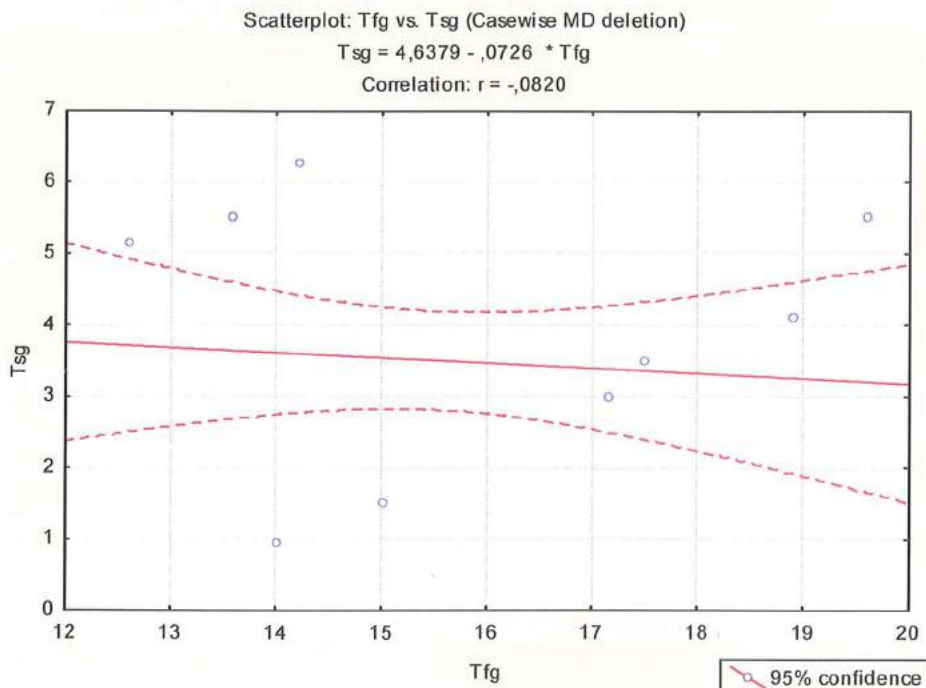
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,19$) покажува слабо позитивна корелација

Графикон 53. Корелација на гингивално-флуидната со серумска концентрација на IL1- β кај испитаници со гингивална болест



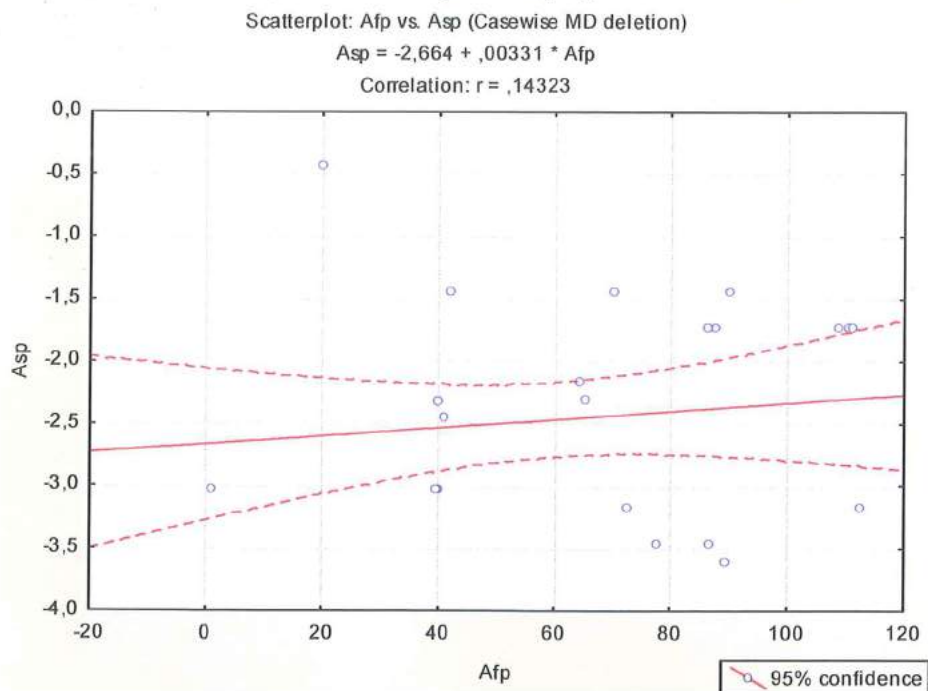
Pearson-овиот коефициент ($r = -0,23$) покажува умерено негативна корелација

Графикон. 54 Корелација на гингивално-флуидната со серумска концентрација на TNF- α кај испитаници со гингивална болест



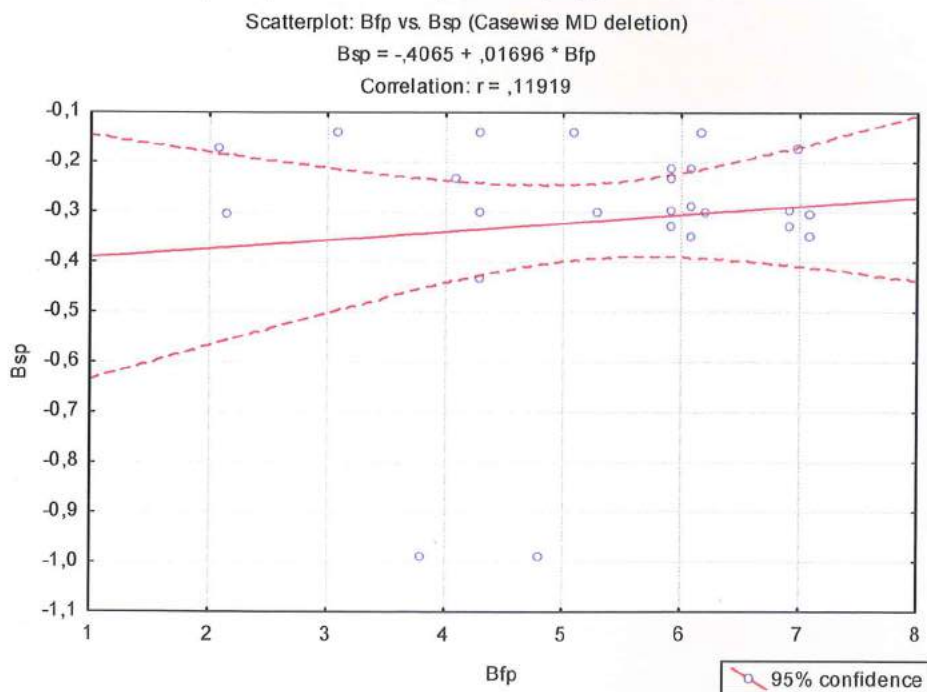
Pearson-овиот коефициент ($r = -0,08$) не покажува корелација

Графикон 55. Корелација на гингивално-флуидната со серумска концентрација на IL1- α кај испитаници со пародонтална болест



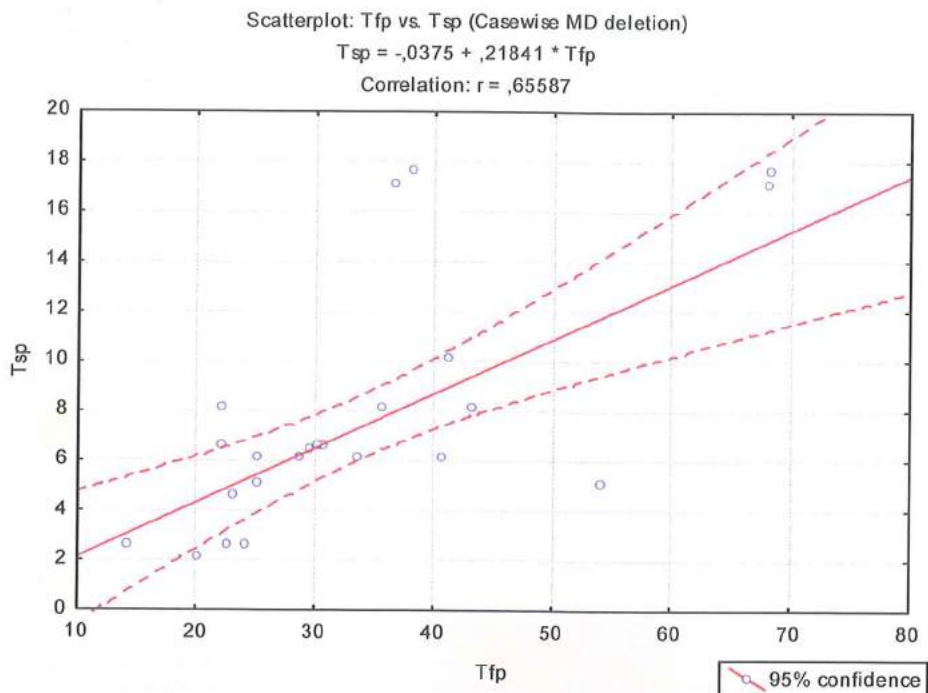
Pearson-овиот коефициент ($r = 0,14$) покажува слабо позитивна корелација

Графикон 56. Корелација на гингивално-флуидната со серумска концентрација на IL1- β кај испитаници со пародонтална болест



Pearson-овиот коефициент ($r = 0,20$) покажува слабо позитивна корелација

Графикон 57. Корелација на гингивално-флуидната со серумска концентрација на TNF- α кај испитаници со пародонтална болест



Pearson-овиот коефициент ($r = 0,65$) покажува умерено позитивна корелација

ДИСКУСИЈА

ДИСКУСИЈА

Патогенезата на пародонтопатиите е екстензивно елаборирана во мноштво ревијални научни истражувања и е цврсто документирано дека присуството на микробниот дентален плак резултира во зголемување на имуно-инфламаторниот одговор на домаќинот (1, 99, 100). Меѓу мноштвото медијатори, доминантно место отпаѓа на ексцесивната продукција на инфламаторните цитокини (интерлеукини, TNF- α).

Денес е прифатено дека инфламаторниот одговор на домаќинот има клучен аспект во патолошките случувања на пародонталните заболување, а споменатите проинфламаторни медијатори одговорни за мноштвото пародонтални пореметувања кои се појавуваат како субклинички ентитети, пред да настанат клиничките симптоми. Се претпоставува дека имуниот одговор на домаќинот кон пародонтопатогените и ослободените инфламаторни медијатори се главната причина за пародонталните оштетувања, многу повеќе отколку токсичните продукти од пиороичните пародонтални патогени микроорганизми (32, 90, 118, 130).

Исто така претпоставка е дека нивоата на одредени инфламаторни медијатори во пародонталните ткива се всушност релативен баланс помеѓу проинфламаторните и антиинфламаторните цитокини и ензими (75, 136).

Затоа и базичните, и клиничките пародонтални истражувања во последните декади се фокусирани токму на истражувањата на имуните и молекуларни одговори на домаќинот кон пародонталните патогени микроорганизми (94, 129).

Меѓу многуте инфламаторни и имуни медијатори идентификувани во гингивалниот цервикаларен флуид, цитокините привлекуваат особено внимание и се суспектни во инволвирањето на двете: и на инфламацијата поврзана со оштетувањето и на репарирањето на пародонталното ткиво (4). Затоа одредени цитокини се потенцирани како потентно корисни прогностички и дијагностички маркери на пародонталната деструкција од типот на: IL1- α , IL1- β , TNF- α (16, 51, 72, 105).

Гингивитот и пародонталните заболувања денес се разгледуваат како мултифакториелни патогени ентитети кои се иницирани и потпомогнати од бактериската колонизација, но сигнификантно модифицирани од имуниот одговор на домаќинот кон бактерискиот плак (99).

Факторите кои се контролирани, проценувани и анализирани се: полот, пушењето, возраста и степенот на хроничната гингивална инфламација (3).

Студиите за можните генетски/возрасни фактори кои ја детерминираат или модулираат суспектноста кон гингивитис се лимитирани (30, 54, 66, 107, 113).

Потврдено е дека децата со Даун синдром манифестираат поекстензивен и појак облик на гингивална инфламација на помала возраст отколку здравите лица, независно од полот, и покрај не постоењето на разлики во нивоата на плак акумулацијата.

Оваа студија го презентира единствениот, дефинитивен извештај за генетските кондиции асоцирани со суспектноста кон плак-индуцираниот гингивит (113).

Неодамнешните истражувања на некои автори (6, 9, 117) укажуваат на асоцираноста помеѓу IL1 полиморфизмот и клиничкиот одговор на гингивата кон плак акумулациите, како и можната асоцираност помеѓу IL-1 β полиморфизмот и суспектноста кон гингивит. Сосема спротивно, резултатите објавени од останите студии за IL1-генскиот полиморфизам кај различни етнички групи (54, 66) и за полиморфизмот на TNF (116) потврдуваат дека доколку било која од овие варијанти има инволвираност во гингивалниот инфламаторен процес, тие би биле строго специфични за популацијата и можат да пројават минорни ефекти на клиничката експресија на плак индуцираната гингивална инфламација. Во овие популациони студии и контролирани клинички проби, некои варијабли, како пушењето, body mass-index-от и хормонски заместителна терапија се потврдени дека имаат влијание врз концентрацијата на инфламаторните медијатори, но потсетуваат дека е нејасно зошто некои индивидуи имаат конзистентно елеверини системски инфламаторни одговори (69, 106).

Оттука, се чини разбирливо, останува отворено прашањето дали и колку детерминирањето на генетските разлики, заедно со останатите ризик фактори имаат влијание врз варијансата на инфламаторно медијаторната експресија и дали генетските ефекти имаат влијание врз индивидуалниот ризик кон хроничните заболувања (63).

Одговорот на домаќинот во текот на пародонталното заболување се состои од серија одговори на микроорганизмите на плакот во цервикуларното опкружување.

Потврдено е дека најразлични компоненти на акутната инфламација и целуларниот и хуморалниот имун одговор се случуваат при гингиво-пародонталните деструкции. Овој одговор може да биде детектиран системски, но и локално.

На пример, детектирани се лимфоцити трансформирани од периферните Т-клетки како одговор на плак антигените кај пациенти со пародонтопатија (64, 65, 83, 88, 128), како и зголемен серумски титар на антитела регистриран кај афектираните индивидуи (40).

Во првите истражувања спроведени кај нас, Накова (92) во својата докторска дисертација укажува на пропорционален сооднос помеѓу зголемената хијалуронидазна активност и намалениот "uptake" на маркираните аминокиселини во гингивалното ткиво кај пациенти со напредната пародонтална деструкција. Од клиничка важност е дека студиите за овој биохемиски одговор на домаќинот го потврдуваат учеството на хијалуронидазата во етиопатогенетските случувања на пародонталната болест, пред се на примарните измени во колагениот комплекс и истите можат да обезбедат механизам за мониторинг на прогресијата на заболувањето кај хуманата популација.

Денес само колекцијата и анализата на периферната крв како и гингивалното ткиво не нудат практичен дијагностички пристап. Спротивно, анализата на ексудатот со потекло од гингивалниот сулкус може да обезбеди неинвазивен начин на проучување на одговорот на домаќинот преку евалуација на конституентите на гингивалниот флуид.

Многу од супстанциите кои се ослободуваат од инфламаторните и имуните клетки во ткивата поминуваат во гингивалниот цервикаларен флуид. Тој е лесен за колекционирање и на тој начин овие супстанции се лесно достапни за анализа (78, 98).

Тргувајќи токму од тука, посебен поттик да се зафатиме со спроведувањето на нашето истражување, беше можноста да ги одредиме нивоата на проинфламаторните цитокини (IL1- α , IL1- β и TNF- α), во медиум од извонредно, а пред се практично значење за нас стоматолозите, во гингивалниот цервикаларен флуид (127).

Гингивалниот флуид е инфламаторен ексудат кој може да се колекционира од гингивалниот сулкус или пародонталниот џеб, користејќи хартиени филтер стрип или микропипетни кивети.

Како што поминува гингивалниот флуид низ инфламираното ткиво ги насобира и ензимите и останатите молекули кои партиципираат во процесот на заболувањето. Тој исто така со себе повлекува и дел од продуктите од субгингивалните бактерии (78) и клеточните и ткивни деградациони продукти (102).

Гингивалниот флуид носи со себе голем потенцијал како резервоар на фактори кои може да бидат асоцирани со активноста на заболувањето.

Супстанциите ослободени од инфламаторните и имуните клетки за време на заболувањето вклучуваат: антитела (имуноглобулини-IG), комплемент протеини, инфламаторни медијатори, простагландини и проинфламаторни цитокини, интерлеукини и TNF (7,8).

Потенцијалните имуни и инфламаторни медијатори релевантни во пародонталната патологија се: имуниот одговор (антитела, вкупни имуноглобулини и комплемент), инфламаторниот одговор (арахидонска киселина и нејзините деривати, простагландин E-2) и цитокините (IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, TNF).

Цитокините се најдобро опишани како клеточно-клеточни гласници или локални хормони. Сите тие се мали протеинин или пептиди кои се продуцираат и ослободуваат од еден клеточен тип, и кои можат да се поврзат за неспецифичен рецептор на клеточната мембрана од друга клетка од истиот или сличниот тип.

Припојот на рецепторот се случува на посебен дел од интрацелуларниот месинџер систем во клетката кој води до одредена функција. Најдобро познат пример на цитокини се интерлеукините кои пренесуваат информации помеѓу леукоцитите и TNF.

Сакајќи да дојдеме до сопствени сознанија за влијанието на овие инфламаторни медијатори во модулирањето и експресијата на плак индуцираната гингивална инфламација, ние во нашата студија ги вклучивме токму тие чинители, прецизно одредување на нивната серумска и гингивално-флуидна концентрација и одредување на нивниот сооднос со индексите на гингиво-пародонталното здравје.

Во нашето испитување вклучивме 90 испитаници, поделени во три групи со по 30 испитаници: здрави испитаници кои ја сочинуваа првата- контролна група, со просечна возрасна старост од 18 години, испитаници со гингивална болест (втора група), на просечна возраст од 24 години, и испитаници со иницијална пародонтална болест на возраст просечно од 35 години, трета група (таб.1).

Кај сите нив ги проследивме индексите на гингиво-пародонталното здравје, (ИДП, ИГИ, ИГК, АЕМ и ИКР) како и серумските и гингивално-флуидните нивоа на проинфламаторните цитокини (IL1- α , IL1- β и TNF- α).

Резултатите кои ги добивме за ИДП кај испитуваните групи укажаа на статистички сигнификантно различни вредности за овој параметар кај сите испитувани групи ($p < 0,05$, таб.2.)

За ИГИ (таб.3) и за ИГК (таб.4) добивме статистички сигнификантно поголеми вредности кај испитаниците со гинивална и иницијална пародонтална болест, во споредба со здравите испитаници. ($p < 0,05$). Додека пак за индексот на АЕМ (таб.5) и за ИКР (таб.6) не добивме статистички сигнификантни варијации во рамките на ниту една од испитуваните групи, со оглед на фактот дека овие индексни вредности ги нотиравме само кај испитаниците со иницијална пародонтална афекција, и тоа со најниски почетни вредности.

IL-1 е протеин од групата од девет или повеќе протеини кои се состојат од IL1 α , IL-1 β , IL-1 рецептор антагонист (IL-1ra), IL-18(IL-1 γ), и од неодамна клонираните и функционално недетерминирани интерлеукини; IL1 5, IL-1 E, IL1 e, IL1C/IL-1H4, IL-1H1 (76, 120).

Тој е мултифункционален цитокин кој ги афектира повеќето клеточни типови со моќни инфламаторни и стимулативни потенцијали, кој има биолошки функции кои се преклопуваат со оние на TNF- α и IL-6. Многуге биолошки можности на IL-1 се должат на неговите ефекти врз група гени кои карактеристично се експресираат за време на инфламацијата.

Околу 90 гени се потврдени дека се афектирани од страна на IL-1 и овде се вклучуваат гените и за останатите цитокини, цитокин-рецепторите, акутно-фазните реактанти, growth факторите, ткивно-ремоделирачките ензими, екстрацелуларните матрикс компоненти и адхезивните молекули.

Тој е еден од главните цитокини кој се продуцира во инфламаторни региони и е инволвиран во иницијација и прогресија на сврзно-ткивната деструкција (10). Моноцитите се клеточни типови одговорни за неговата главна продукција, но и останатите клеточни типови може да допринесат во статусот на заболувањето. Тој се состои од две структурни компоненти, IL-1 α и IL-1 β , кои се само 27% хомоложни на ниво на аминокиселини, но имаат слични биолошки функции.

Потврдено е дека тие се врзани за ист рецептор кој е откриен на повеќе клеточни типови со различна густина.

IL-1 стимулира мноштво различни клетки да продуцираат сврзно-ткивни катаболички и коскено ресорптивни медијатори, вклучувајќи ги IL-6, TNF, простагландините, матриксметалопротеиназите (33).

Овие фактори доведуваат до дезинтеграција на сврзното ткиво, како што е колагенот, како и регрутација и активација на остеокласти.

IL-1 α и IL-1 β имаат слични проинфламаторни ефекти и може да претставуваат важни медијатори во периодонциумот. Овие ефекти вклучуваат зголемено врзување на полиморфонуклеарите и моноцитите за ендотелните клетки, зголемена продукција на PGE-2 од фибробластите, индукција на литични ензими од лизозомните клетки и стимулација на коскена ресорпција во ткивните култури (36).

Сакајќи да ја утврдиме партиципацијата на овие проинфламаторни цитокини, најпрво ја детектиравме нивната гингивално-флуидна и серумска концентрација.

Според добиените резултати за вредностите на гингивално-флуидните нивоа на IL1- α утврдивме статистички сигнификантни разлики кај сите испитувани групи ($p < 0,05$, таб. 7, граф. 1).

Кај здравите испитаници овие вредности изнесуваат 19,39 pg/ml, кај испитаниците со гингивална инфламација 28,27 pg/ml, за да истите рапидно се зголемат кај испитаниците со почетни иницијални пародонтални лезии на 59,92 pg/ml.

Серумските нивоа на IL1- α кај испитуваните групи вклучени во нашата студија иако беа нотирани во многу мали концентрации, (таб.8, граф. 2) сепак покажаа статистички сигнификантни разлики во рамките на сите испитувани групи, како и вредностите за овој параметар во флуидот.

Вредностите за гингивално-флуидната концентрација на IL1- β кај здравите испитаници, а која изнесуваше 1,39 pg/ml сигнификантно се зголеми кај испитаниците со гингивална болест 2,05 pg/ml, а кај испитаниците со иницијална пародонтална болест ја детектиравме со ниво од 5,25 pg/ml. Разликите помеѓу овие вредности покажаа висока статистичка сигнификантност кај сите испитувани групи ($p < 0,05$, граф.3, таб. 9).

Серумските концентрации на IL1- β кај испитуваните групи, исто како и серумските концентрации на IL1- α беа нотирани со многу ниски концентрациони вредности (таб.10, граф.4), а покажаа статистичка сигнификантност кај втората и третата група на испитаници ($p < 0,05$).

До слични резултати доаѓаат и Preiss и сор. како и Kinane и сор. кои исто така укажуваат на детектирани повисоки нивоа на IL1- α и IL1- β во инфламира на гингива, а екстремно ниски концентрации се регистрирани и кај здрави индивидуи (72,105).

Во согласност со тоа сме во можност да ги толкуваме и нашите наоди каде вредностите на овие проинфламаторни цитокини (IL-1 α и IL1- β) се со високо сигнификантни разлики во однос на здравите испитаници како и во рамките на испитуваните групи.

Сметаме дека истите се должат на интеракцијата помеѓу пародонтопатогените и одбранбените клетки на домаќинот.

Оваа интеракција го активира првиот чекор во инфламаторниот одговор кој доведува до клеточна активација во сврзно-ткивниот дел и регрутација на неутрофили, стадиум кој го презентира и настанувањето на раната лезија кај клинички евидентентирана гингивална инфламација.

Првите клетки кои се менуваат при оваа интеракција се епителните клетки. Тие се всушност и првите клетки кои претрпуваат измени од страна на бактериите во сулкусот или во пародонталниот џеб. Бактериската адхезија од своја страна пак активира секреција на проинфламаторни медијатори (IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6 и IL-8) од страна на епителните клетки.

Во исто време вирулентните фактори кои дифундирале во сврзното ткиво, како и инфламаторните медијатори продуцирани од епителните клетки ги стимулираат клетките на домаќинот присутни во таа ареа, како што се: моноцити/макрофаги, фибробласти и маст клетки да продуцираат и ослободуваат проинфламаторни цитокини (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-12), хемотактични молекули (MIP-1 α , MIP-2, MCP-1, MC-5, и IL-8), простагландини (Pg-E2), хистамин, матрикс-металопротеинази, кои го деградираат колагенот од сврзно-ткивниот супстрат.

Во понатамошните клинички случувања, зголемените нивоа на IL-1 α и IL-1 β ја продолжуваат верижната реакција на ослободување на бројни други инфламаторни медијатори, кои уште повеќе го засилуваат инфламаторниот процес. Потврда за ваквите случувања претставува и хистолошката верификација кај напреднатата лезија, која укажува на продлабочување на процесот на пародонтална деструкција.

Со текот на патолошките случувања и потврдувањето на воспоставената лезија се менува и патохистолошкиот супстрат кој се карактеризира со преминација на плазма клетки и инволвирање на В лимфоцити, за што укажуваат и наодите на Kawai и сор. (70) и Han и сор. (59).

Забележителен е голем број на неутрофили во припојниот епител и сврзно-ткивниот припој, а макрофагите се детектирани во регијата на lamina propria. Леукоцитите мигрираат во ткивото низ концентрираниот градиент од хемотактични материи ослободени од домаќинот или од бактериите, низ фокусот на инфекцијата, каде почнуваат со фагоцитоза на бактериите и нивните вирулентни фактори.

Проинфламаторните цитокини и хистаминот ја зголемуваат васкуларната пермеабилност која доведува до излевање на плазма протеини и флуид во сврзното ткиво и субсеквентно во околното опкружување, составен дел на гингивалниот цервикуларен флуид. Конечно, локално продуцираните цитокини, IL1- α , IL1- β , TNF- α , IL-6 може да влезат во циркулацијата и да ги активираат хепатоцитите да синтетизираат акутно-фазни протеини, како LBP, sCDM, комплемент протеини и C реактивен протеин, кои ќе му помогнат на домаќинот да ја елиминира инфекцијата, на што укажуваат и наодите на Madianos и соработниците (84).

Покрај нотирањето на гингивално-флуидната и серумската концентрација на овие цитокини, во нашето испитување ја вклучивме и нивната асоцираност со индексните клинички параметри, како и нивната меѓусебна поврзаност.

Резултатите кои ги добивме потврдија меѓусебна асоцираност на гингивално-флуидните и серумски вредности на инфламаторните цитокини IL1- α и IL1- β со индексните клинички параметри за ИДП, ИГИ и ИГК, но не и за АЕМ и ИКР.

За ИДП и гингивално-флуидните нивоа на IL1- α кај здравите испитаници не добивме корелативна вредност, (граф. 7), кај испитаниците со гингивална болест силно позитивна вредност ($r = 0,80$) (граф.13), додека кај пародонтопатичните испитаници умерено позитивна корелација ($r = 0,46$, граф. 31).

Корелацијата на ИДП со гингивално флуидните нивоа на IL1- β кај здравите испитаници ($r = - 0,18$, граф. 9) укажа на слабо негативна корелација меѓу овие параметри, кај испитаниците со гингивална болест ($r = 0,19$, граф. 15) слабо позитивна, а кај оние со пародонтална иницијална лезија не постоело на корелација ($r = 0,01$, граф. 33).

Нашите резултати се во согласност со наодите на Petrow и сор., кои исто така потврдуваат за континуираното зголемување на нивоата на IL-1 и нивната поврзаност со зголемената плак акумулација, истакнувајќи ја релевантната улога на IL1 и неговото присуство во гингивалниот флуид како сензитивен индикатор кај плак-асоцираната гингивална инфламација (104).

За ИГИ и неговата поврзаност со гингивално-флуидните нивоа на IL1- α кај гингивалната болест (граф. 19) нотиравме силно позитивна корелација, а за IL1- β (граф. 21) не нотиравме постоење на корелација. За истиот клинички параметар (ИГИ) кај испитаниците со пародонтална болест нотиравме слабо позитивна корелација и за IL1- α ($r = 0,15$, граф. 37) и за IL1- β ($r = 0,18$, граф. 39).

ИГК со гингивално флуидните нивоа на IL1- α ($r = 0,21$, граф. 25), и IL1 β ($r = 0,13$, граф. 27) кај гингивалната болест укажа на слабо позитивна корелација. Корелацијата кај испитаниците со пародонтална болест за гингивално флуидните нивоа на IL1- α покажа умерено позитивна корелација ($r = 0,46$, граф. 43), а за IL1- β слабо позитивна вредност ($r = 0,2$, граф. 45).

Споредбено со серумската концентрација на овие инфламаторни цитокини, слабо позитивна корелација нотиравме само за ИДП со IL1- α (граф. 14) и ИГК со IL1- β (граф. 22) кај испитаниците со гингивална болест и ИГК со IL1- β кај испитаниците со пародонтална болест (граф. 45).

Меѓусебната асоцираност на гингивално-флуидните и серумски нивоа на IL1- α кај здравите испитаници укажаа на умерено негативна корелација, а кај гингивитите и пародонтопатијата слабо позитивна (граф. 49, 52, 55).

За асоцираноста на IL1- β флуидните и серумски нивоа кај здравите индивидуи детектиравме силно позитивна корелација, кај гингивитите слабо негативна, а кај пародонтопатијата слабо позитивна. (граф. 50, 53, 56).

Во недостаток на посуптлни студии за поврзаноста на клиничките параметри и цитокинскиот профил анализиран од гингивален флуид и серум кај плак-индуцираната гингивална инфламација, нашите резултати би ги прокоментирале споредбено со студијата на Gorska и соработниците (55).

Во нивната студија серумските концентрации на IL1- β покажуваат високо индивидуални варијации во цитокинскиот профил и не постоење на асоцираност помеѓу цитокинските концентрации и клиничките параметри. Но, сепак високо нотираните нивоа на интерлеукини и цитокини во инфламирани ткивни биоптични примероци ја потврдуваат нивната релевантна улога во степенот и тежината на пародонталното заболување.

Нашите наоди се во согласност и со наодите на Orozco и сор. (96), кои исто така укажуваат на зголемена локална продукција на IL1- β во гингивален цервикуларен флуид со зголемувањето на степенот на гингивалната инфламација.

Во согласност сме и со истражувањата на Massada и сор. (85), кои вршеле проценка на IL1- α и IL1- β во гингивален флуид кај пациенти со рана или хронична адултна форма на пародонтална болест.

Авторите не утврдиле никаква корелација на нивоата на IL-1 со длабочината на пародонталниот џеб или волуменот на колекциониранiot флуид. Но разлики во нивоата на IL1 биле детектирани во примероци од ист пациент. Вкупната количина на IL1- α и IL1- β во гингивален флуид се намалувала после пародонтален третман. Исто така била забележана статистички сигнификантна корелација помеѓу високите нивоа на IL1- β во гингивален флуид и повеќе IL1- β mRNA во гингивалното ткиво.

Ваква корелативност не била нотирана за IL1- α . Корелацијата помеѓу нивоата на IL1- β во гингивален флуид и гингивално ткиво потврдуваат дека овие медијатори се потенцијално важни во пародонталната деструкција.

И истражувањата на Dinarello и соработниците (35) исто така ја потврдуваат улогата на IL1- α и IL1- β како потентни стимулатори на сврзоткивниот метаболизам, стимулирајќи ја коскената ресорпција преку ослободување на големи количини на простагландинE-2 од фибробластите и моноцитите.

Agarwal (2) врз основа на *in vitro* изведените експерименти заклучува дека за време на инфламаторните процеси во гингивата локалните количества на IL1- β иако многу мали се доволни да предизвикаат цитотоксични ефекти преку регрутација на имуни клетки во афектираната регија.

Золемени нивоа на IL1- α и IL1- β кај исечоци од гингивално ткиво со различен степен на гингивалан инфламација во однос на исечоци од здраво гингивално ткиво се евидентирани и во студијата на Пандилова (101).

Докажан е фактот дека IL1- β за време на активните фази на болеста повеќекратно се зголемува, како во гингивалното ткиво, така и во гингивалниот флуид во споредба со пациенти без пародонтална болест (11, 97, 48).

Исто така во студијата на Tsalikis (132) потврдено е дека стари и млади испитаници со иницијално нормална гингива презентираат слични нивоа на IL1- α и IL1- β .

За време од 3 неделен период со изоставена орална хигиена, двете групи покажале зголемени нивоа на IL1- α , додека нивоата на IL1- β се зголемиле само кај возрасните испитаници, потврдувајќи дека постојат разлики во инфламаторните одговори кај млада и стара индивидуа.

За слични сознанија говорат и наодите на Papapanisiou и сор. (77). Нивните нивоа се намалиле после конзервативен пародонтален третман, но не била евидентирана нивна корелација со длабочината на пародонталниот џеб. Впечатливо откритие од презентираната студија е дека варијациите во клиничките и гингивално-флуидните параметри се разликуваат помеѓу стари и млади испитаници, претпоставувајќи дека пародонталното ткиво помеѓу групите реагира различно на плак формацијата.

Третманот на пародонталното оштетување кој резултира со драматично локален пад на нивоата на IL1- β , го потврдува фактот дека овие молекули се круцијални во пародонтално-ткивната деструкција (85, 111).

Согледувањето на нашите резултати за позитивно нотираната корелативна вредност на овие два проинфламаторни цитокини (IL1- α и IL1- β) со ИГИ и ИГК, уште повеќе ја потврдуваат нивната улога како важни медијатори во иницијалните инфламаторно-деструктивните случувања кај пародонталната болест.

Нивните ефекти сметаме дека се резултат на способноста за зголемено врзување на полиморфонуклеарите и моноцитите за ендотелните клетки, зголемена продукција на PgE-2 од фибробластите, индукција на литични ензими од лизозмните клетки и стимулација на коскена ресорпција во ткивните култури.

Во нашето истражување си поставивме за цел, да ја утврдиме и улогата на TNF- α и неговото влијание во инфламаторните модуляции при гингиво-пародонталните оштетувања.

Вредностите за гингивално-флуидните нивоа на TNF- α покажаа статистички сигнификантни разлики во рамките на сите испитувани групи.

Така кај здравите испитаници вредностите за TNF- α од 12,29 pg/ml се зголемуваат на 15,50 pg/ml кај испитаниците со гингивална инфламација, за да истите кај испитаниците со иницијална пародонтална афекција рапидно се зголемат на 33,72 pg/ml (таб. 11, граф. 5).

Серумските нивоа на TNF- α покажаа варијации во концентрационите вредности. Така кај здравите испитаници вредностите изнесуваа 13,68 pg/ml.

Со зголемување на степенот на инфламација кај испитаниците со гингивална болест нотиравме пад на серумската концентрација на TNF- α на 3,51 pg/ml, а кај иницијалната пародонтална лезија концентрација од 7,32 pg/ml (граф.6).

Вака изнесените високо статистички зголемени вредности за гингивално-флуидните концентрации на овој цитокин, пред се кај испитаниците со иницијална пародонтална афекција ја потврдуваат неговата улога како критичен цитокин во инфламаторниот одговор кон пародонталната инфекција, и со тоа сме во согласност со истражувањата на Beutler и sor. (14).

Ниските серумски концентрации на TNF- α нотирани во нашата студија сметаме дека се должат на фактот што нашите испитаници беа на релативно млада возраст и со добра општа здравствена состојба, па неговото системско делување како инфламаторен медијатор и не очекувавме да биде детектибилно, со што сме во согласност и со наодите на Rossomondo и sor. (115).

Тие исто така укажуваат на детектирани повисоки гингивално-флуидни нивоа на TNF- α во однос на серумските нивоа, претпоставувајќи дека овие медијатори се ослободуваат локално.

Исто така евидентираното присуство на TNF во ниски концентрации во клинички здрава гингива, потврдува дека цитокините се проминентни актери во нормалната ткивна хомеостаза, за што сме во согласност со Okada и sor. (95).

Сметаме дека TNF- α има централна улога во имунопатологијата на пародонталното заболување. Се продуцира од повеќе различни клетки, но макрофагите и слични на нив се најзначајни генератори на овие медијатори во раниот стадиум на гингивалната инфламација, (50, 119) додека активноста на TNF- α синергистички со IL-1- β во процесот на стимулирање на гингивалните

фибробласти кон зголемена секреција на ИЛ-6 уште повеќе ја продлабочуваат настанат патолошка ситуација (91, 125).

Со добиените резултати за овој инфламаторен цитокин сме во согласност и со истражувањата на Graves (57), каде за време на гингивалната инфламација е

забележано статистички сигнификантно покачување на TNF флуидните нивоа, меѓутоа само кај возрасната популација, а не и кај младата популација.

Интересен е податокот дека TNF нивоата продолжувале да се зголемуваат после професионалното отстранување на плакот и воспоставувањето на орално хигиенските процедури. Оваа студија покажува дека постојат бројни варијации во клиничките параметри на гингивално-флуидните нивоа помеѓу младата и старата популација.

Како и да е може да се заклучи дека и покрај одредени лимитации на оваа студија, возраста не може да се идентификува како фактор кој цврсто ја афектира цитокинската експресија и флукуација, освен во добро контролирано опкружување на инфламацијата, како што е експерименталната гингивална инфламација.

Асоцираноста на ИДП со TNF- α гингивално-флуидните и серумските нивоа во нашето истражување, кај здравите индивидуи, покажа слабо негативна корелација (граф. 11, граф. 12).

Кај испитаниците со гингивална болест Pearson -овиот коефициент укажа дека не постои корелација за ИДП и гингивално-флуидните нивоа ($r = 0,03$, граф.17), а со серумските нивоа ($r = 0,29$, граф. 18) слабо позитивна корелација.

За ИГИ со TNF- α флуидните нивоа кај испитаниците со гингивална болест нотиравме слабо негативна корелација, а за серумските слабо позитивна (граф. 23, граф 24).

Идентични беа резултатите кај овие испитаници за ИГК со TNF- α флуидните нивоа, (слабо негативна корелација), а за серумските, слабо позитивна (граф.29, граф. 30).

Кај испитаниците со иницијална пародонтална афекција не нотиравме корелација на ИДП со TNF- α флуидните нивоа ($r = 0,08$, граф. 35), а за серумските слабо позитивна ($r = 0,23$, граф.36).

Корелацијата за ИГИ и TNF- α флуидните нивоа кај овие испитаници беше умерено негативна ($r = -0,31$, граф. 41), а серумската слабо негативна ($r = -0,29$, граф 42).

Pearson-овиот коефициент на корелација за ИГК со TNF- α флуидните концентрации кај пародонтопатичните иницијални лезии е слабо негативна ($r = -0,2$, граф. 47), а за серумските не нотиравме никаква корелативна вредност ($r = -0,03$, граф.48).

Во нашата студија за индексот на АЕМ и ИКР и неговата асоцираност со TNF- α флуидните и серумски нивоа не нотиравме статистички значајни разлики.

Меѓусебната корелација на гингивално-флуидните и серумските нивоа на TNF- α кај здравите испитаници изнесуваше ($r = 0,5$), умерено позитивна, (граф. 51), кај гингивалната болест не постои корелација, ($r = -0,08$, граф. 54), а кај пародонтопатијата умерено позитивна ($r = 0,65$, граф. 57).

Нашите наоди се во согласност со наодите на Rossomondo и сор. кои исто така укажуваат на присутноста на TNF- α во гингивалниот флуид, но и во нивните истражувања тој не корелирал со длабочината на пародонталниот џеб и гингивалната инфламација, а неговата вкупна количина обратно зависна од ткивната инфламација (115, 20).

Сметаме дека нашите наоди поткрепени со податоците од бројните литературни истражувања и покрај недектирање на позитивни корелативни вредности на овој инфламаторен цитокин со индексите на гингиво-пародонталното здравје, неговите сигнификантно зголемени нивоа во гингивалниот флуид со зголемување на степенот на инфламацијата, ја потврдуваат неговата улога во инфламаторно-деструктивните случувања на пародонталната патогенеза.

Сепак претпоставуваме дека корелациите се многу слаби за да докрај ја потврдат неговата биолошка сигнификантност.

Тука главно сме согласни со истражувањата на Black и сор. (17), кои исто така нотирале пониски нивоа на TNF- α кај испитаници со гингивитис отколку кај хронична или агресивна пародонтопатија, но не многу различни од нивоата кај здрави лица. Идентични се и наодите од страна на Lum и сор. (81).

Нивната студија всушност претставува и првата студија која ја потврдува инволвираноста на овој цитокин во пародонталната деструкција, докажувајќи дека вкупната количина на TNF во гингивалниот флуид е покачена кај хронична и агресивна пародонтопатија, во однос на количината на флуидот детектиран при гингивална инфламација, но и овде несигнификантно различна во однос на здравите лица.

Нашите резултати покажаа сигнификантно повисоки разлики на вредностите за овој инфламаторен медијатор во рамките на сите испитувани групи.

Сметаме дека сето ова е резултат на способноста на TNF- α за активација на мноштво останати други цитокини и хемокини, вклучувајќи ги интерлеукините 1, 11, 6, и 8, клеточно адхезивни молекули и транскрипциски фактори. Сите заедно го деградираат пародонталниот лигамент, што се должи на нивната единствена колагенолитичка активност, заедно со останатите ензими (колагеназа, кисела и алкална фосфатаза, ДНА-аза), за што потврдува и Белазелкоска во својата докторска дисертација (12).

Нашето согледување за непостоењето на асоцираност на TNF- α со индексот на АЕМ и ИКР би го поткрепило со фактот дека само кај испитаниците од третата група, вклучени во нашата студија, со иницијална пародонтална болест, всушност и нотиравме почетни индексни вредности за АЕМ и ИКР. Тоа се иницијални патогенетски промени каде воглавно главните активности на клетките и молекулите се збиднувања во маргиналниот пародонциум.

Локалната одбрана значи да во здраво ткиво атакирано со микроорганизми, од денталниот плак се регрутираат и активираат само клетките и молекулите кои се неопходни за делотворна одбрана. Мрежата од посредници (citoкени, простагландини, ензими) кои ги создаваат доселените имунолошки и резидентни клетки, ја координираат настанатата ситуација и исто така настојуваат без губиток на ткиво да ја одржат ткивната хомеостаза колку што може подолго.

Со пролонгирање на притисокот од патогените бактерии во тек на подолг временски период и доколку имунолошката одбрана не е доволно компетентна ткивната рамнотежа, (подлоноста на домаќинот) оди кон стадиум на засилена разградба, која е подржана од проинфламаторните медијатори и разградни ензими.

Одговор на прашањето, зошто во присуство на пародонтопатогени некогаш настанува гингивит а некогаш пародонтопатија, може да се најде во пресудната улога на неутрофилните гранулоцити (ПМН). Овие клетки се првите одбранбени клетки кои се сретнуваат надвор од ткивото на гингивалниот сулкус. Ако ПМН се дефектни или пак патогените бактерии ја избегнуваат оваа периферна одбрана ќе настане ограничена пародонтална болест. Доколку биде пробиена првата линија на одбрана (ПМН, комплемент и антитела) се активира втората одбранбена линија (макрофаги и Т-лимфоцити). Воспалението станува хронично, а пародонталната болест напредува. Напредувањето на болеста е индивидуално. Кај индивидуи кои се предиспонирани кон воспаление болеста брзо напредува.

Пародонтопатијата многу ретко рамномерно напредува, односно се карактеризира со цикличен тек. Губитокот на припојот наизменично настанува и многу често е "ограничен" на еден заб или на една површина од забот. Кај акутната фаза во пародонталниот џеб се присутни грам-негативни анаеробни и подвижни бактерии. За краток временски интервал може да дојде до непосредна микробна инвазија во ткивото. Ткивото реагира со акутна одбранбена реакција при што настануваат микронекрози или гнојни апсцеси, што е проследено со губење на припојот заради оштетувањето на колагенот.

Зголемената одбрана на домаќинот може да се справи со бактерискиот напад и да доведе до стагнација на губитокот на припојот, па дури и до регенеративни промени. Доколку тоа не се случи, домаќинот ќе продолжи со својот "очајнички" одговор на дејството на штетните продукти од бактериите.

Џебот ќе се продлабочува, гранулациното ткиво и понатаму ќе се распространува, коската и периодонциумот ќе исчезнуваат. Со тек на време ќе настане толкава деструкција на потпорниот апарат на забот што ќе доведе до губиток на забот.

Токму затоа и познавањето на овие од индивидуа до индивидуа различни-молекуларни и клеточни реакции на бактериските метаболити и фактори на вирулентност, би можело да ги објасни повеќето можни, клинички релевантни облици на гингивалната и пародонталната болест.

Зголемените вредности на испитуваните медијатори на инфламацијата (IL1- α , IL1- β и TNF- α) во нашата студија и истите потврдени во бројните литературни податоци, би можеле да претставуваат репрезент на предклиничката иницијација на инфламаторните процеси и потентни индикатори на гингивално-пародонталните оштетувања.

Нивната идентификација и детекција во гингивалниот цервикуларен флуид, медиум извонредно лесен и достапен за анализа, би можеле во иднина да бидат од интерес и поттик за размислување за развојот на идните дијагностички и терапевтски модалитети во третманот на пародонталната болест.

ЗАКЛУЧОЦИ

ЗАКЛУЧОЦИ

Следејќи ги поставените цели, по анализата на добиените резултати од испитувањето можеме да ги изведеме следните заклучоци:

1. Резултатите кои ги добивме за ИДП кај испитуваните групи укажаа на статистички сигнификантно различни вредности кај сите испитувани групи ($p < 0,05$), а за ИГИ и ИГК сигнификантност кај испитаниците со гингивална болест и испитаниците со иницијална пародонтална болест, но не и за здравите испитаници.
2. За индексот на АЕМ и ИКР не добивме статистички сигнификантни разлики на вредностите во рамките на ниту една од испитуваните групи, со оглед на фактот дека овие индексни вредности ги нотиравме само кај испитуваната група со иницијална пародонтална афекција, кај која овие вредности ги евидентиравме како најниски, почетни вредности.
3. Анализата на варијанса (ANOVA) за гингивално-флуидните нивоа на IL1- α , IL1- β и TNF- α ја потврдија високата статистички сигнификантна разлика во рамките на сите испитувани групи ($p < 0,05$). Серумските концентрации на овие инфламаторни цитокини исто така нотираа статистичка сигнификантност во рамките на сите испитувани групи, ($p < 0,05$), освен за концентрацијата на IL1- β кај здравите испитаници.
4. Меѓусебната асоцираност на гингивално-флуидните и серумските вредности на инфламаторните цитокини IL1- α , IL1- β и TNF- α со индексните клинички параметри добивме за ИДП, ИГИ и ИГК, но не и за индексот на АЕМ и ИКР.

5. Pearson-овиот коефициент на корелација помеѓу вредностите за ИДП и гингивално-флуидните нивоа на IL1- α кај здравите индивидуи укажа на непостоење на корелација, кај испитаниците со гингивална болест јако позитивна корелација ($r = 0,8$), а кај оние со иницијална пародонтопатија умерено позитивна корелација ($r = 0,46$). Корелацијата со серумската концентрација кај здравите испитаници ја евидентиравме како слабо негативна, ($r = -0,19$), а кај гингивитите и пародонтопатиите слабо позитивна ($r = 0,26$, $r = 0,13$).
6. За ИГИ и неговата асоцираност со гингивално-флуидните нивоа на IL1- α кај испитаниците со гингивална болест, Pearson-овиот коефициент на корелација потврди јако позитивна корелативност ($r = 0,7$), а за пародонтопатијата слабо позитивна ($r = 0,15$). Серумската концентрација кај гингивитите укажа на умерено позитивна корелација, ($r = 0,37$), а кај пародонтопатијата не постоење на корелација ($r = -0,02$).
7. Анализата на корелативните вредности за ИГК и гингивално флуидните концентрации на IL1- α кај гингивитите укажа на слабо позитивна корелативност ($r = 0,21$), а кај пародонтопатијата умерено позитивна корелативност ($r = 0,46$). За серумските нивоа, Pearson-овиот коефициент не покажа постоење на корелација.
8. Споредувајќи ги вредностите за ИДП кај здравите испитаници со IL1- β гингивално-флуидните нивоа, Pearson-овиот коефициент укажа на слабо негативна корелација ($r = -0,18$), кај гингивитите слабо позитивна корелација ($r = 0,19$), а кај пародонтопатиите не покажа постоење на корелативна вредност ($r = 0,01$). Серумските нивоа кај здравите испитаници потврдија слабо негативна корелативна вредност ($r = 0,22$), а кај гингивитите и пародонтопатиите не постоење на корелација ($r = 0,08$, $r = -0,01$).

9. ИГИ корелиран со гингивално-флуидните нивоа на IL1- β кај гингивитите укажа на непостоење на корелација ($r = 0,04$), а кај испитаниците со пародонтопатија нотиравме слабо позитивна корелација ($r = 0,18$). За серумските вредности не нотиравме постоење на корелација кај овие испитаници.
10. Pearson-овиот коефициент на корелација за вредностите на ИГК со IL1- β гингивално-флуидните концентрации и кај гингивитите и кај пародонтопатиите покажа слабо позитивна корелација ($r = 0,13$, $r = 0,2$). Серумските нивоа кај гингивитите потврдија непостоење на корелативност, а кај пародонтопатиите нотиравме слабо позитивна корелација ($r = 0,23$).
11. Споредувајќи ги гингивално-флуидните концентрации на TNF- α со вредностите за ИДП кај здравите испитаници, Pearson-овиот коефициент потврди слабо негативната корелација, ($r = -0,13$), а кај оние со гингивална болест и оние со пародонтопатија не постоење на корелација ($r = 0,03$, $r = 0,08$). Серумските концентрации кај здравите испитаници укажаа на слабо негативна корелација ($r = -0,16$), а кај испитаниците со гингивит и испитаниците со пародонтопатијата слабо позитивна корелација ($r = 0,29$, $r = 0,23$).
12. ИГИ корелиран со гингивално-флуидните нивоа на TNF- α кај испитаниците со гингивална болест укажаа на слабо негативна корелација, ($r = -0,1$), а кај пародонтопатијата умерено негативна корелација. ($r = -0,31$) За серумската концентрација тие покажаа кај гингивитите слабо позитивна ($r = 0,15$), а кај пародонтопатијата слабо негативна корелација ($r = -0,29$).

13. Корелирајќи ги вредностите за ИГК со гингивално-флуидните концентрации на TNF- α и кај гингивитите и кај пародонтопатиите со помош на Pearson-овиот коефициент детектиравме слабо негативна корелација ($r = -0,2$, $r = -0,2$), а за серумските вредности, кај гингивитите слабо позитивна ($r = 0,16$), а кај пародонтопатијата не постоење на корелација ($r = -0,03$).

14. Меѓусебната асоцираност на гингивално-флуидните и серумски нивоа на IL1- α кај здравите испитаници укажа на умерено негативна корелација ($r = -0,38$), а кај гингивитите и пародонтопатијата слабо позитивна корелација ($r = 0,18$,
 $r = 0,14$.)

15. За асоцираноста на IL1- β флуидните и серумски нивоа кај здравите испитаници детектиравме јако позитивна корелација ($r = 0,69$), кај гингивитите слабо негативна ($r = -0,23$), а кај пародонтопатијата слабо позитивна ($r = 0,11$).

16. TNF- α флуидните нивоа корелирани со серумските концентрации кај здравите испитаници како и оние со пародонтопатија укажаа на умерено позитивна корелација ($r = 0,5$, $r = 0,65$), а кај гингивитите не постоење на корелација ($r = -0,08$).

Резултатите кои ги добивме при испитувањето на инфламаторните цитокини (IL1- α , IL1- β и TNF- α) во двата испитувани медиуми, а пред се во гингивалниот флуид, кај сите испитувани групи, укажуваат на потентното имуно-модулаторно влијание кое тие го манифестираат врз експресијата на плак-индуцираната гингивална инфламација, што од своја страна ја потврдуваат нивната улога како репрезенти на предклиничката иницијација на инфламаторните процеси и потентни индикатори на гингивално-пародонталните оштетувања.

Нивната идентификација и детекција во гингивалниот флуид, медиум извонредно лесен и достапен за анализа, би можеле во иднина да бидат од интерес и поттик за размислување за развој на идни дијагностички и тераписки модалитети во третманот на пародонталната болест.

ЛИТЕРАТУРА

ЛИТЕРАТУРА

1. AAP (1996). The potential role of growth and differentiation factors in periodontal regeneration. *J Periodontol* 67:545-553.
2. Agarwal S, Chandra C, Piesco P, Langkamp H, Bowen L, Baran L. Regulation of Periodontal Ligament Cell Function by Interleukin- 1b. *Infect Immun*, March 1998;66: 932-937.
3. Alcoforado GA, Kristoffersen T, Johannessen AC, Nilsen R. The composition of gingival inflammatory cell infiltrates in children studied by enzyme histochemistry. *J Clin Periodontol*. 1990;17:335-40
4. Alexander MB, Damoulis PD (1994). The role of cytokines in the pathogenesis of periodontal disease. *Curr Opin Periodontol* 1:39-53.
5. Armitage, G. C. (1996). "Periodontal diseases: diagnosis." *Ann Periodontol* 1(1): 37-215.
6. Атанасовска-Стојановска А. Влијанието на цитокинскиот генски полиморфизам во етиопатогенезата на пародонталната болест кај македонската популација, докторска дисертација, Стоматолошки факултет, Скопје, 2007 година.
7. Attstrom R. and J. Egelberg: Emigration of Blood Neutrophils and Monocytes into the Gingival Crevice. *J Periodont Res*. 5:48-55 (1970).
8. Attstrom R. Presence of Leukocytes in Crevices of Healthy and Clinically Inflamed Gingivae. *J Periodont. Res*. 5:42-57 (1970)
9. Auron PE, Webb AC (1994). Interleukin-1: a gene expression system regulated at multiple levels. *Eur Cytokine Netw* 5:573-592.
10. B. Masada M P, Persson R, Kenney J L, Lee SW, Page RC, Allison A C. Measurement of interleukin-1 a and I Fj in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res* 1990; 25: 156- 163.
11. Baqui A, Meiller T, Chon J, Turng B, Falker A Jr. Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor Amplification of Interleukin 1 b and Tumor Necrosis Factor Alpha Production in THP-1 Human Monocytic Cells Stimulated with Lipopolysaccharide of oral Microorganisms. *Clin. and Diagnos Lab. Immunol*. 1998:341-347.
12. Белазелкоска Б. Биохемиска верификација на хидролитичната ензимска активност кај пациенти со прогресивна пародонтопатија, докторска дисертација, Стоматолошки факултет, Скопје, 1989.

13. Bertolini DR, Nedwin GE, Bringman TS, Smith DD, Mundy GR (1986). Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumor necrosis factors. *Nature* 319:516-518.
14. Beutler B, Grau GE. Tumor necrosis factor in the pathogenesis of infectious diseases. *Crit Care Med.* 1993;21:423-35.
15. Beutler B. and A. Cerami: (Tumor Necrosis Factor) and Lymphotoxin as Primary Mediators of Tissue Catabolism, Inflammation, and Shock. In: *Lymphokines and the Immune Response*. Pp. 199-212. (S. Cohen, Ed.) CRC Press, Boca Raton, FL (1990).
16. Birkedal-Hansen H (1993). Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *JPeriodontal Res* 28:500-510.
17. Black RA(2002). Tumor necrosis factor-alpha converting enzyme. *Int J. Biochem Cell Biol* 34:1-5.
18. Black RA, Rauch CT, Kozlosky CJ, Peschon JJ, Slack JL, Wolfson MF, et al.(1997). A metalloproteinase disintegrin that releases tumor-necrosis factor-alpha from cells. *Nature* 385:729-733.
19. Bodecker, C. F. : Dental erosion: Its Possible Causes and Treatment. *Dent. Cosmos.* 75: 1056-1062 (1933)
20. Bostanci N, Iigenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Toz H, et al. (2007a). Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *J. Clin Periodontol* 34:370-376.
21. Bostanci N, Iigenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Toz H, et al. (2007b). Differential expression of receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand and osteoprotegerin mRNA in periodontal disease. *J. Periodontal Res* 42:287-293.
22. Brill N. and B. Krasse: The passage of Tissue Fluid into the Clinically Healthy Gingival Pocket. *Acta Odont. Scand.* 16:233-245 (1958)
23. Brill, N. and Bjorn: Passage of tissue Fluid into Human Gingival Pockets. *Acta Odont. Scand.* 17:11-21 (1959)
24. Charon, J. A., T. A. Luger S. E. Mergenhagen and J. J. Oppenheim: Increased Thymocyte Activating Factor in Human Gingival Fluid During Gingival Inflammation, *Infect. Immun.* 38: 1190-1195 (1982)
25. Chaudhary LR, Spelsberg TC, Riggs BL (1992). Production of various cytokines by normal human osteoblast-like cells in response to interleukin-1 α and tumor necrosis factor- α : lack of regulation by 17 β -estradiol. *Endocrinology* 130:2528-2534.
26. Chung RM, Grbic JT, Lamster IB. Interleukin-8 and β -glucuronidase in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1997;24:146-52.

27. Ciamsoni, G.: Crevicular Fluid Updated. In: Monographs in Oral Science. (H. M. Myers, Ed) S. Karger, Basel (1983).
28. Ciamsoni, G. and C. Giannopoulou (1988). "Can crevicular fluid component analysis assist in diagnosis and monitoring periodontal breakdown?" *Periodontology Today*, International Congress, Zurich. Basel: Karger: 260-270.
29. Cox, D. S. and E.F. Mendoza: Interleukin-2 in Gingival Crevicular Fluid and Relationship to Periodontitis. *J. Dent. Res.* 66(Spec Issue): Abstr. 124 (1987)
30. Crotti T, Smith MD, Hirsh R, Soukoulis S, Weedon H, Capone M, et al. (2003). Receptor activator NF kappa B ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *J Periodontal Res* 38:380-387.
31. Curtis M A, Griffiths G S, Price S J, Coulthurst S K, Johnson N W The total protein concentration of gingival crevicular fluid; variation with sampling time and gingival inflammation. *J Clin Periodontol* 1988; 15:628-632.
32. Deinzer R, Weik U, Kolb-Bachofen V, Herforth A. Comparison of experimental gingivitis with persistent gingivitis: differences in clinical and cytokine concentrations. *J Periodont Res.* 2007;42:318-24.
33. Dinarello CA (1996). Biological basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 87:2095-2147.
34. Dinarello CA and Worff SM (1993). The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med* 328:106-113.
35. Dinarello CA. The IL-1 family and inflammatory diseases. *Clin Exp Rheumatol.* 2002;20:S1
36. Dinarello, C. A.: Interleukin-1 and Its Biologically Related Cytokines. In: *Lymphokines and the immune Response*. Pp. 145-179. (S. Cohen, Ed.) CRC Press, Boca Raton, FL (1990).
37. Ding Y, Uitto V-J, Haapasalo M, Lounatmaa K, Kontinen YT, Salo T, et al., 1998). Membrane components of *Treponema denticola* trigger proteinase release from human polymorphonuclear leukocytes. *J Dent Res* 75:1986-1993.
38. Дирјанска К. Клиничко-биохемиска детекција на иницијалната пародонтална лезија, магистерски труд, Стоматолошки факултет, Скопје, 2002 год.
39. Ebersole JL, Singer RE, Steffensen B, Filloon T, Kornman KS (1993). Inflammatory mediators and immunoglobulins in GCF from healthy, gingivitis, and periodontitis sites. *J Periodontal Res* 28:543-546.
40. Ebersole, J. L.: Systemic Humoral Immune Response in Periodontal Disease. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 1:283-331 (1990)

41. Elias JA, Gustilo K, Baeder W, Freundlich B (1987). Synergistic stimulation of fibroblast prostaglandin production by recombinant interleukin 1 and tumornecrosis factor. *J Immunol* 138:3812-3816.
42. Fauziddin M., Bharathi S., Rohini NV. Estimation of interleuki 1 beta levels in gingival crevicular fluid in health and in inflammatory periodontal disease. *J Periodontal Res.*2003 Apr: 38(2):111-4
43. Fine, D. H. and I. D. Mandel: Indicators of Periodontal Disease Activity: An Evaluation. *J. Clin. Periodontol.* 13:533-546 (1986)
44. Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A. Levels of interleukin-1 β , -8-and rantes in gingival crevicular fluid and cell populations in Adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. *J Periodontol* 2000;71:1535-45.
45. Garlet GP, Martins W Jr, Fonseca BA, Ferreira BR, Silva JS (2004). Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 31:671-679.
46. Geivelis M, Turner DW, Peterson ED, Lamberts BL (1993). Measurements of interleukin-6 In gingival crevicular fluid from adults with destructive periodontal disease. *I Periodontol* 64: 980-983.
47. Geivelis, M., D. W. Turner and E. D. Pederson: A sensitive ELISA-Based Assay for Interleukin-6. *J. Dent. Res.* 69:(Spec. Issue):Abstr. 1084 (1990)
48. Gemmel E, Seymour G J. Interleukin 1, interleukin 6 and transforming growth factor-beta production by human gingival mononuclear cells following stimulation with *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*. *J Periodontal Res.* 1993;28:122-129.
49. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ (1997). Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol* 2000 14:112-143
50. Gemmell E, Seymour GJ. Interleukin1, interleukin 6 and transforming growth factor-b production by human gingival mononuclear cells following stimulation with *porphyromonas gingivalis* and *fusobacterium nucleatum*. *J Periodontal Res.* 1993;28:122-9.
51. Genco RJ. Host responses in periodontal diseases: current concepts. *J Periodontol* 1992;63:338-55.
52. Godson, J. M., F. E. Dewhirst and A. Brunetti: Prostaglandin E2, Levels and Human Periodontal Disease. *Prostaglandins.* 6:81-85 (1974)
53. Goh, K., S. Furusawa Y. Kawa S. Negishi-Okitsu and M. Mizoguchi: Production of Interleukin-1-Alpha and Beta by Human Peripheral Polymorphonuclear Neutrophils. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 88:247-303(1989)

54. Goodson JM, Tanner AC, Haffajee AD, Sornberger GC, Soncransky SS. Patterns of progression and regression of advanced destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1982;9:472-81.
55. Gorska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madalinski K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2003 Dec;30(12):1046-52.
56. Gowen M, Nedwin GE, Mundy GR (1986). Preferential inhibition of cytokine-stimulated bone resorption by recombinant interferon gamma. *J Bone Miner Res* 1:469-474.
57. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2003;74:391-401.
58. Haffajee, A. D., S.S. Socransky and J. M. Goodson: Clinical Parameters as Predictor of Destructive Periodontal Disease Activity. *J. Clin. Periodontol.* 10:257-265 (1983).
59. Han X, Kawai T, Eastcott JW, Taubman MA(2006). Bacterial- responsive B lymphocytes induce periodontal bone resorption. *J Immunol* 176:625-631.
60. Hanemaaijer R, Koolwijk P, le Clercq L, de Vree WJ, van Hinsbergh VW (1993). Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vein and microvascular endothelial cells. Effects of tumour necrosis factor alpha, interleukin 1 and phorbol ester. *Biochem J* 296:803-809.
61. Havemose-Poulsen A, Holmstrup P (1997). Factors affecting IL-1-mediated collagen metabolism By fibroblasts and the pathogenesis of periodontal disease: a review of the literature. *Crit Rev Oral Biol Med*8:217-236.
62. Hefti A (1993). Aspects of cell biology of the normal periodontium. *Periodontology* 2000 3:64- 75.
63. Holmes CL, Russell JA, Walley KR. Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock: role in prognosis and potential for therapy. *Chest.* 2003;124:1103-15.
64. Horton, J. E., J. J. Oppenheim and S. E. Mergenhagen: A Role for Cell-Mediated Immunity in the Pathogenesis of Periodontal Disease. *J. Periodontol.* 45:351-360(1974).
65. Ivanyi, L. and T. Lehner: Stimulation of Lymphocyte Transformation by Bacterial Antigens in Patients with Periodontal Disease. *Arch. Oral Biol.* 15:1089-1096(1970)
66. Jepsen S, Ebenhard J, Fricke D, Hedderich J, Siebert R, Acil Y. Interleukin -1 gene polymorphisms and experimental gingivitis. *J Clin Periodontol.* 2003;30:102-6.

67. Johansson N, Westermarck J, Leppa S, Hakkinen L, Koivisto L, Lopez-Otin C, et al. (1997). Collagenase-3 (matrix metalloproteinase-13) gene expression by HaCaT keratinocytes is enhanced by tumor necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta. *Cell Growth Differ* 8:243-250.
68. Johnson RA, Boyce BF, Mundy GR, Roodman GD (1989). Tumors producing human tumor necrosis factor induce hypercalcemia and osteoclastic bone resorption in nude mice. *Endocrinology* 124:1424-1427.
69. Kamma, J. J., C. Giannopoulou, et al. (2004). "Cytokine profile in gingival crevicular fluid of aggressive periodontitis: influence of smoking and stress." *J Clin Periodontol* 31(10): 894-902.
70. Kawai T, Matsuyama T, Hosokawa Y, Makhira S, Seki M, Karimbux NY, et al. (2006) B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *Am J Pathol* 169:987-998.
71. Kinane DF, Lindhe J. Pathogenesis of periodontitis. En: Lindhe J, Karring T, Lang NP, eds. *Periodontología clínica e implantología*. Dinamarca: Munksgaard Editores; 1998. p. 189-225.
72. Kinane DF, Winstanley FP, Adonogianaki E, Moughal NA. Bioassay of interleukin 1 (IL-1) in human gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *Arch Oral Biol*. 1992;37(2):153-6.
73. Kishimoto T. The biology of interleukin- 6. *Blood*. 1989;74:1-10.
74. Knduper V, Lopez-Otin C, Smith B, Knight G, Murphy G (1996). Biochemical characterization of human collagenase-3. *J Biol Chem* 271:1544-1550.
75. Konttinen YT, Xu J-W, Patiala H, Imai S, Waris V, Li T-F, et al. (1997). Cytokines in aseptic loosening of total hip replacement. *Curr Orthop* 11:40-47.
76. Kumar S, McDonnell PC, Lehr R, Tiemey L, Tzimas MN, Griswold DE, et al. (2000). Identification and initial characterization of four novel members of the interleukin-1 family. *J Biol Chem* 275:10308-10314.
77. L, Parapanisiou E, Bata-Kyrkouy A, Polymenides Z, Konstantinidis A. Crevicular fluid levels of interleukin-1alpha and interleukin 1-beta during experimental gingivitis in young and old adults. *J Int Acad Periodontol*. 2002; 4:5-11.
78. Lamster I.B. The host response in gingival crevicular fluid: potential applications in periodontitis clinical trials. *J Periodontol* 1992; 63:1117-1123.
79. Lijian J, Soder B, Corbet EF. Interleukin-8 and granulocyte elastase in gingival crevicular fluid in relation to periodontopathogens in untreated adult periodontitis. *J Periodontol* 2000;71:929-39.

80. Liu D, Xu JK, Figliomeni L, Huang L, Pavlos NJ, Rogers M, et al. (2003). Expression of RANKL and OPG mRNA in periodontal disease: possible involvement in bone destruction. *Int J Mol Med* 11:17-21.
81. Lum L, Wong BR, Josein R, Becherer JD, Erdjument-Bromage H, Schlondorff J et al. (1999). Evidence for a role of a tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha)- converting enzyme-like protease in shedding of TRANCE, a TNF family member involved in osteoclastogenesis and dendritic cell survival. *J Biol Chem* 274:13613-13618.
82. M.Crawford J, Wilton J, Richardson P. Neutrophils die in the gingival crevice, periodontal pocket, and oral cavity by necrosis and not apoptosis. *J Periodontol* 2000;71:1121-9.
83. Mackler BF, Frostad KB, Robertson PB, Levy B (1977). Immunoglobulin bearing lymphocytes and plasma cells in human periodontal disease. *J Periodont Res* 12:37-45.
84. Madianos PN, Bobetsis YA, Kinane DF. Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingiva. *J Clin Periodontol.* 2005;32:57-71.
85. Masada MP, Persson R, Kenny IS, Lee SW, Page RC, Allison AC (1990). Measurement of interleukin-1 α and interleukin 1 β in gingival crevicular fluid: Implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res* 25:156-163.
86. Meikle MC, Atkinson SJ, Ward RV, Murphy G, Reynolds JJ (1989). Gingival fibroblasts degrade type I collagen films when stimulated with tumor necrosis factor and interleukin 1: evidence that breakdown is mediated by metalloproteinases. *J Periodont Res* 24:207-213.
87. Mergenhagen, S. E.: Thymocyte Activating Factors in Human Gingival Fluids. *J. Dent. Res.* 63:461-464 (1984)
88. Miller, D. R., I. B. Lamster and A. I. Chasens : Role of the Polymorphonuclear Leukocyte in Periodontal Health and Disease. *J. Clin. Periodontol.* 11:1-15 (1984)
89. Mizel SB (1989). The interleukins. *FASEB* 13:2379-2388.
90. Mundy GR (1989). Local factors in bone remodeling. *Rec Progr Horm Res* 45:507-531.
91. Murray J, Barbara J, Dankley S, et al. Regulation of neutrophil apoptosis by tumor necrosis factor- α . requirements for TNF-R55 and TNF-R75 for induction of apoptosis *in vivo*. *Blood.* 1997;90(7):2772-83.
92. Накова М. Процена на метаболните промени на гингивалното ткиво од пациенти со прогресивна пародонтопатија преку следење на вградувањето на маркирани аминокиселини и хијалуронидазната активност, докторска дисертација, Стоматолошки факултет, Скопје, 1979.

93. Nguyen I, Dewhirst FE, Hauschka PV, Stashenko P (1991). Interleukin- 1 α stimulates bone resorption and inhibits bone formation in vivo. *Lymphokine Cytokine Res* 10:15-21.
94. Okada H, Murakami S, Kitamura M, Nozaki T, Kusumoto Y, Hirano H, et al. (1996). Diagnostic strategies of periodontitis based on the molecular mechanisms of periodontal tissue destruction. *Oral Diseases* 2:87-95.
95. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1998;9:248-66.
96. Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour GJ. Interleukin-1beta, interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.* 2006;21:256-60
97. Ozaki K, Hanazawa S, Takeshita A, Chen Y, Watanabe A, Nishida K, Myata Y, Kitano S. Interleukin-1b and tumor necrosis factor- α stimulate synergistically the expression of monocyte chemoattractant protein-1 in fibroblastic cells derived from human periodontal ligament. *Oral Microbiol. Immunol.* 1996;11:109-114
98. Page R.C. Host response tests for diagnosing periodontal diseases. *J Periodontol* 1992; 63:356-366.
99. Page RC. Gingivitis. *J Clin Periodontol* 1986;13:345 -355
- 100 Page, R. C. and H. E. Schroeder: Pathogenesis of Inflammatory Periodontal Disease: A Summary of Current Work. *Lab. Invest.* 33:235-249 (1976)
- 101 Пандилова М. Компаративна анализа на апоптотичното одумирање на клетките во тек на пародонталната болест, докторска дисертација, Стоматолошки факултет, Скопје, 2003 година
- 102 Pattres M R, Niekrash C E, Lang N P. Assessment of complement cleavage in gingival fluid during experimental gingivitis. *J Clin Periodontol* 1989; 16:33-37
- 103 Payne JB, Reinhardt RA, Masada MP, DuBois LM, Allison AC (1993). Gingival crevicular fluid IL-8: correlation with local IL-13 levels and patient estrogen status. *Periodont Res* 28:451-453.
- 104 Petrow C, Dorfling P, Schulze HA, Sponholz H. Interleukin 1 (IL-1) in gingival fluid from patients with plaque induced gingivitis. *Dtsch Stomatol.* 1991; 41(5):176-8.
- 105 Preiss DS, Meyle J. Interleukin-1 beta concentration of gingival crevicular fluid. *J Periodontol.* 1994;65:423-8.
- 106 Preshaw P. Host response modulation in periodontics. *Periodontology* 2000. 2008;48:92-110.

- 107 Preshaw PM, Geatch DR, Lauffart B, Jeffcoat MK, Taylor JJ, Heasman PA. Longitudinal changes in TCRB variable gene expression and markers of gingival inflammation in experimental gingivitis. *J Clin Periodontol.* 1998;25:774-80.
- 108 Rawlinson, A., M. H. Dalati, et al. (2000). "Interleukin-1 and IL-1 receptor antagonist in gingival crevicular fluid." *J Clin Periodontol* 27(10): 738-43.
- 109 Reddy P, Slack JL, Davis R, Cerretti DP, Kozlosky CJ, Blanton RA, et al.(2000). Functional analysis of the domain structure of tumor necrosis factor-alpha converting enzyme. *J Biol Chem* 275:14608-14614.
- 110 Reinhardt R A, Masada M P, Kaldahl, DuBois W B, Kornman K S, Choi J, Kalkwarf K L, Allison A C. Gingival fluid IL-1 and IL-6 levels in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol* 1993;20:225-231.
- 111 Reinhardt RA, Masada MP, Johnson GK, Dubois LM, Seymour GJ, Allison AC. IL-1 in gingival crevicular fluid following closed root planing and papillary flap debridement. *J Clin Periodontol.* 1993;20:514-19.
- 112 Reinhardt RA, Masada MP, Kaldahl WB, DuBois LM, Kornman KS, Choi J-I, et al. (1993). Gingival fluid IL-1 and IL-6 levels in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol* 20:225-231.
- 113 Reuland-Bosma W, Van Dijk J, Van Der Weele L. Experimental gingivitis around deciduous teeth in children with Down's syndrome. *J Clin Periodontol.* 1986;13:294-300.
- 114 Richards D, Rutherford RB (1990). Interleukin-1 regulation of procollagenase mRNA and protein in periodontal fibroblasts in vitro. *J Periodont Res* 25:222-229.
- 115 Rossomando E F, Kennedy E, Hadjimichael J. Tumor necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in humans. *Archs Oral Bio* / 1990; 35:431-434.
- 116 Scapoli C, Mamolini E, Trombelli L. Role of IL-6, TNF-A and LT-A variants in the modulation of the clinical expression of plaque-induced gingivitis. *J Clin Periodontol.* 2007;34:10381-8.
- 117 Scapoli C, Tatakis DN, Mamolini E, Trombelli L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis: interleukin-1 gene cluster polymorphisms. *J Periodontol.* 2005;76:49-56.
- 118 Seymour GJ (1987). Possible mechanisms involved in the immunoregulation of chronic inflammatory periodontal disease. *J Dent Res* 66:2-9.
- 119 Seymour GJ, Gemmel E. Cytokines and periodontal disease: where to from here? *Acta Odontol Scand.* 2001;59:167-73
- 120 Smith DE, Renshaw BR, Ketchum RR, Kubin M, Garaka KE, Sims JE (2000). Four new members expand the interleukin-1 superfamily. *J Biol Chem* 275:1169-1175.

- 121 Socransky, S., A. D. Haffajee J. M. Goodson and J. Lindhe: New Concepts of Destructive Periodontal Disease. *J. Clin. Periodontol.* 11:21-32 (1984)
- 122 Stashenko P, Dewhirst FE, Peros WJ, Kent RL, Age IM (1987a). Synergistic interactions between interleukin-1, tumor necrosis factor and lymphotoxin in bone resorption. *J Immunol* 138:1464-1468.
- 123 Stashenko P, Dewhirst FE, Rooney ML, Desiardins LA, Heeley ID (1987b). Interleukin-1 alpha is a potent inhibitor of bone formation in vitro. *J Bone Miner Res* 2:559-565.
- 124 Stashenko P, Fujiyoshi P, Obernesser MS, Probst L, Haffajee AD, Socransky SS (1991). Levels of interleukin 13 in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol* 18:548-554.
- 125 Takigawa M, Takashiba S, Takahashi K, Arai H, Kurihara H, Murayama Y. Prostaglandin E2 inhibits interleukin-6 release but not its transcription in human gingival fibroblasts stimulated with interleukin 1-beta or tumor necrosis factor-alpha. *J Periodontol.* 1994;65:1122-7.
- 126 Tatakis DN (1993). Interleukin-1 bone metabolism: A review. *J Periodontol* 64:416-431.
- 127 Tatakis DN, Trombelli L. Modulation of clinical expression of plaque induced gingivitis. I. Background review and rationale. *J Clin Periodontol.* 2004;31:229-38.
- 128 Taubman M, Eastcott JW, Shimauchi H, Takeichi O, Smith DI (1994). Modulatory role of T lymphocytes in periodontal inflammation. In: *Molecular pathogenesis of periodontal diseases.*
- 129 Taubman MA, Kawai T, Han X (2007). The new concept of periodontal disease pathogenesis requires new and novel therapeutic strategies. *J Clin Periodontol* 34:367-369.
- 130 Taubman MA, Valverde P, Han X, Kawai T (2005). Immune response: the key to bone resorption in periodontal disease. *J Periodontol* 76(11Suppl):2033S-2041S.
- 131 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; 69:1139-47.
- 132 Tsalikis L, Parapanisiou E, Bata-Kyrkou A, Polymenides Z, Konstantinidis A. Crevicular fluid levels of interleukin-1 alpha and interleukin-1-beta during experimental gingivitis in young and old adults. *J Int Acad Periodontol.* 2002; 4:5-11.
- 133 Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C (2003). Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontol* 200 31:77-104.

- 134 Van der Pluijm G, Most W, van der Wee-Pals L, De Groot H, Papapoulos S, Lowic C (1991). Two distinct effects of recombinant human tumor necrosis factor- α on osteoclast development and subsequent resorption of mineralized matrix. *Endocrinology* 129:1596-1604
- 135 Van Dyke TE, Lester MA, Shapira L. The role of the host response in periodontal disease progression: implications for future treatment strategies. *J Periodontol* 1993;64:792-806.
- 136 Van Dyke TE, Serhan CN. Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. *J Dent Res.* 2003;82(2):82-90.
- 137 Vernal R, Chaparro A, Graumann R, Puente J, Valenzuela MA, Gamonal J (2004). Levels of cytokine receptor activator of nuclear factor kappa B ligand in gingival crevicular fluid in untreated chronic periodontitis patients. *J Periodontol* 75:1586-1591
- 138 Vilcek J, Lee TH (1991). Tumor necrosis factor. New insights into the molecular mechanisms of its multiple actions. *J Biol Chem* 266:73 13-73 16.
- 139 Williams RC (1990). Periodontal disease. *N Engl J Med* 322:373-376.
- 140 Williams RC, Beck JD, Offenacher SN. The impact of new technologies for the diagnosis and treatment of the periodontal disease. A view to the future. *J Clin Periodontol* 1996;23:299-305.
- 141 Wilton JMA, Bampton JLM, Griffiths GS, Curtis MA, Life JS, Johnson NW, *et al.* Interleukin-1 beta (IL-1 β) levels in gingival crevicular fluid from adults with previous evidence of destructive periodontitis. A cross sectional study. *J Clin Periodontol* 1992;19:53-7.
- 142 Wilton JMA, Bampton JLM, Hurst Ti, Caves I, Powell JR (1993). Interleukin-143 and IgG subclass concentrations in gingival crevicular fluid from patients with adult periodontitis. *Arch Oral Biol* 38:55-60.
- 143 Yavuzilmaz E, Yamalik N, Bulut S, Ozen S, Ersoy F, Saatci U. The gingival crevicular fluid interleukin- 1-beta and tumor necrosis factor-alpha levels in patients with rapidly progressive periodontitis. *Aust Dent J.* 1995 Feb;40(1):46-9.