

ЗАСТАПЕНОСТ НА IL1 α И IL1 β КАЈ РАЗЛИЧНО ИЗРАЗЕНИТЕ ПАРОДОНТАЛНИ ЛЕЗИИ

Пандилова М., Ставревска-Миновска А., Трајковски Д., Спировски М.

СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - Скопје, Клиника за болести на устата и пародонтот
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ - Скопје, Институт за имунологија и хумана генетика

Цитокините се моќни хормони кои дејствуваат во многу мали концентрации во рангој на нано или пикоомолари, па дури и помалку. Еден од цитокините кој најчесто се поврзува со прогресијата на пародонтопатијата е IL 1.

Во описување на конкретни податоци за присуството на овој цитокин во тек на пародонтопатијата, преземавме испитување со основна цел да се утврди присуството на IL1 како и да се утврди нивната поврзаност со различни степенени на пародонтоална деструкција. За реализација на поставената цел беше формирана испитувана група од 30 пациенти, со дијагностицирана адулна хронична пародонтопатија, при што беа селектирани пациенти кај кои беше утврдено губење на алчменит, меѓутоа позицијата на работ на гингивата беше во ниво или над џеменино-емајловата граница. Според изразеноста на губењето на алчменит пациентите поинаку беа поделени во три групи и тоа: со губење на алчменит до 3 мм, од 3 до 6 мм, и над 6 мм. Од пациентите беше земен исечок од гингива, како од испитуваната регија така и од здравата регија. Исечоците беа замрзнати на -80°C. Во замрзнатите исечоци со ELISA методата беше барано присуството на IL1.

Добиените резултати од испитувањето на цитокините покажаа значајна

поврзаност на IL 1 α и IL1 β најчесто со зголемувањето на апикалната миграција на припојниот епител, како и со зголемувањето на инфламацијата

Клучни зборови: пародонтопатија, инфламација, IL1, цитокини.

Базичните принципи на етиопатогенезата на хроничната пародонтоална болест не потсетуваат дека нејзината експресија е комбинација на ткивни, микробни и амбиентарни фактори. Хистолошките студии на пародонтопатично афецираните ткивни структури докажуваат присуство на различни популации на инфламаторни клетки, кои синтетизираат голем број на макромолекули. Индивидуално или заедно, овие макромолекули партиципираат како во резолуцијата така и во деструкцијата на ткивата.

Цитокините се продуцираат локално во самото ткиво, дејствуваат и се разложуваат во ткивото, иако, во одредени ситуации на хронично перзистирање на дразбата, можно е рецепторите да се заситат и да настане системско разливање на цитокините.

Цитокините се моќни хормони кои дејствуваат во многу мали концентрации во рангот на нано или пикоомолари, па дури и помалку. Клетките се приспособуваат на надворешните услови во најголема мера, преку промената во експресијата на мем-

бранските рецептори за цитокините. Регулаторните молекули кои сè уште не се докрај откриени, различните класи на мембрански рецептори, инхибиторните молекули, плеотропните дејства на цитокините, овозможуваат формирање на комплексна цитокина мрежа. Поврзувањето на цитокините за одредени класи на рецептори на клеточната мембрана, условува активација на интерцелуларни настани. Тој процес е наречен мембранска трансдукција на сигнали. Бактериите, од друга страна, имаат високо развиени модулаторни механизми, па така одредени бактерии имаат можност да продуцираат молекули кои наликуваат на цитокините, предизвикувајќи на тој начин абнормални инфламаторни реакции, кои го овозможуваат нивното преживување. Покрај ваквите генерални обележја, секој поединечен цитокин има и свои специфичности и различна улога во тек на пародонтопатијата.

Еден од првите откриени и досега најисцрпно проучени цитокини е IL1.

Повисоки нивоа на IL1 се детектирани во пародонталното ткиво (9,8), кое се поврзува со значајната улога на IL1 во патогенезата на пародонталната болест, во смисла на стимулација на коскена ресорпција, секреција на протеинази, како и миграција на припојниот епител (15). Се смета дека IL1 во пародонталното ткиво потекнува од моноцитите, а неговата секреција е предизвикана од липополисахаридите на периопатогените бактерии како *Porphiromonas gingivalis* и *Fusobacterium nucleatum*. При стимулација на култури од моноцити со LPS од овие бактерии, регистрирани се зголемени вредности на IL1 β во првите 4 часа, додека, највисоки вредности се постигнати по 24 часа. Истото ниво на IL1 β се задржало и по 4 дена (5). IL1 е докажан и во ткиво од пародонтални болни. Hillman(11) со помош на имунохистолошки методи докажал дека нивото на IL1 расте со напредување на инфламацијата во ткивото. Stashenko(21) утврдува преминација на IL1 β во ткивата со пародонтална деструкција. Истиот автор утврдува зголемени количества на IL1 во активните пародонтални лезии, додека нивото на IL1 во стабилните лезии било приближно исто како и во здравите делови на гингивата. Побројни се студиите каде IL1 е испитуван во гингивалниот флуид. Hou(9) ги испитувал нивоата на IL1 пред и по третманот кај 11 пациенти, при што нашол зголемени нивоа на IL1 во гингивалниот флуид во инфламираните за разлика од неинфламираните регии, како и пад на нивото на IL1 по спроведениот третман, напоредно со смирување на инфламацијата. Yavuzilmaz(24) утврдил дека нивоата на IL1 β се зголемуваат напоредно со продлабочување на пародонталниот џеб. За разлика од него, Reinhardt(19) кај 14 пациенти не нашол промени на нивоата на IL1 β поврзани со длабочината на пародонталниот џеб ниту пак нашол намалување на количеството по завршениот третман и смирување на инфламацијата. До ист наод дошол и Wilton(23) кој кај 37 пациенти не нашол поврзаност помеѓу споменатите параметри. И покрај ваквите различни наоди, сепак останува ист заклучокот, со кој се сложуваат сите автори, дека IL1 е асоциран со макрофагите, дека нивоата во тек на болеста се значајно покачени како во ткивото така и во гингивалниот флуид и дека во тек на пародонтопатијата доминира IL1 β .

Во отсуство на конкретни податоци за присуството на овој цитокин во тек на пародонтопатијата, преземавме испитување со основна цел да се утврди присуството на IL1 како и да се утврди нивната поврзаност со различни степени на пародонтална деструкција.

- Во отсуство на конкретни податоци за присуството на овој цитокин во тек на пародонтопатијата, преземавме испитување со основна цел да се утврди присуството на IL1 како и да се утврди нивната поврзаност со различни степени на пародонтална деструкција.

Материјал и метод

Материјал

Испитувањето опфати вкупно 30 пациенти кои ги задоволија следните критериуми:

- возраст помеѓу дваесет и четириесет години;
- отсуство на какви било општи заболувања;

- клинички дијагностицирана адултна пародонтопатија според критериумите на Американската академија за пародонтологија (2) односно присуство на хроничен гингивит, крвавење на сондирање, присуство на пародонтален џеб поголем или еднаков на 3 мм;
- кај пациентите клинички беа регистрирани и регии со здрав пародонт;
- нивото на маргиналната гингива беше над или во нивото на цементно емајловата граница.

Според степенот на губење на атачмент, пациентите беа групирани во три групи користејќи го индексот по Ramfjord и тоа:

- **Прва група** од 10 пациенти кај кои беше нотирано губење на атачмент до 3 мм;
- **Втора група** од 10 пациенти кај кои беше нотирано губење на атачмент од 3 до 6 мм;
- **Трета група** од 10 пациенти кај кои беше нотирано губење на атачмент поголем од 6 мм.

Кај сите пациенти беше земен исечок од гингивата од соодветната регија, како и од здравиот гингивално ткивен супстрат.

Метод на работа

Кај сите пациенти степенот на губење на атачмент беше одредуван со градуирана пародонтолошка сонда, со тоа што мерењата беа вршени во пределот на интерденталната папила почнувајќи од цементно-емајловата граница.

Земените ткивни исечоци беа замрзнати на -80°C степени и по хомогенизација на ткивото беше извршено одредување на IL1 со помош на едностепен ELISA-метод со двоен сендвич за одредување на цитокини.

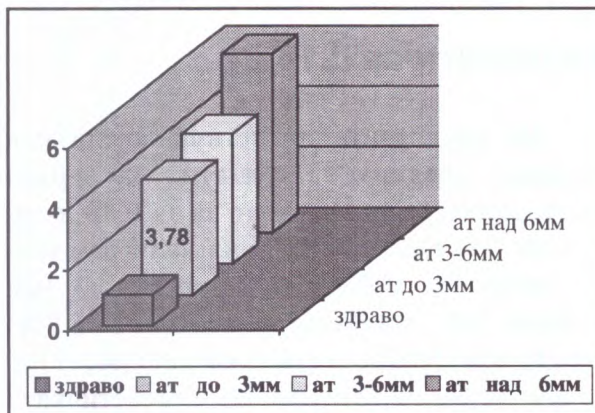
За оваа цел беше применуван високо сензибилниот хуман ELISA систем Biotrak™ од Amersham Pharmacia Biotech по сите препораки на производителот.

За статистичката обработка на податоците беше користена компјутерската програма Statistika 6,0. Анализата на добиените статистички серии е направена со користење на:

- Студентовата „t“ дистрибуција со цел да се видат разликите помеѓу здравите исечоци и испитуваните;
- Анализа на варијанси со цел да се видат варијациите во самите групи;
- Pearson i Spearman коефициент на корелација за да се видат односите помеѓу испитуваните параметри.

Резултати за IL1 α

По извршената статистичка анализа ги добивме следните резултати. За здраво ткиво просечната вредност за IL1 α изнесуваше $1,092 \pm 0,79446$ пикограм на милиграм ткиво, додека за губење на атачмент до 3мм $3,7880 \pm 2,4598$, за губење на атачмент од 3 до 6мм $4,261 \pm 3,62$ за губење на атачмент поголем од 6мм $5,884 \pm 3,332$. Статистичката сигнификантност покажа разлика на вредности помеѓу здраво ткиво и вредностите за губење на атачмент до 3мм ($p=0,004$) како и здраво и губење на атачмент од 3 до 6мм ($p=0,0019$) и здраво ткиво и ткивата со губиток на атачмент поголем од 6мм ($p=0,0003$). Добиените резултати графички се прикажани на графикон 1.



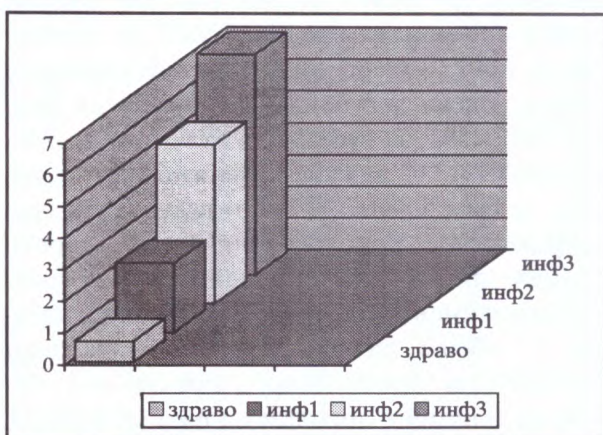
Графикон 1. - Просечни вредности за IL1 α кај пациентите со различно изразено губење на атачмент

Во однос на вредноста на IL1 α кај различно изразена инфламација на гингивата нашите резултати покажаа статистичка сигнификантност за сите испитувани стадиуми на инфламацијата во однос на здраво ткиво како и меѓу самите групи. Добиените

резултати се прикажани на табела 1 и графикон 2.

ТАБЕЛА 1. - ПРОСЕЧНА ВРЕДНОСТ НА IL1 α КАЈ РАЗЛИЧНО ИЗРАЗЕНА ИНФЛАМАЦИЈА НА ГИНГИВАТА

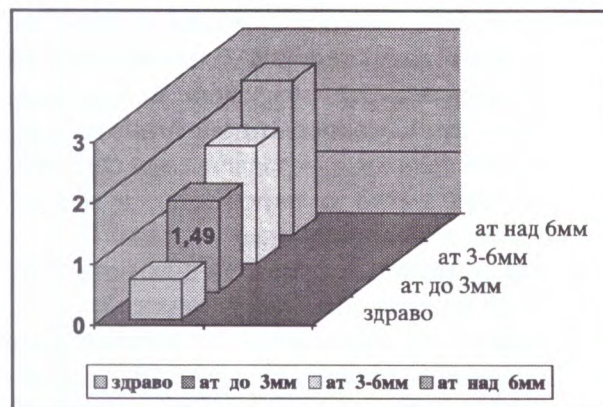
| | X | SD | df | t | p | F | p |
|--------|------|------|----|-------|--------|-------|---------|
| здрави | 0,65 | 0,32 | | | | | |
| Инф 1 | 2,20 | 1,76 | 29 | 2,75 | 0,0100 | 28,8 | 0,00015 |
| Инф 2 | 5,04 | 2,60 | 27 | 5,108 | 0,000 | 86,1 | 0,000 |
| Инф 3 | 6,95 | 3,04 | 24 | 6,48 | 0,0000 | 67,07 | 0,0000 |



Графикон 2. - Просечна вредност на IL1 α кај различно изразена инфламација на гингивата

Резултати за IL1 β

По извршената статистичка анализа ги добивме следните резултати. За здраво ткиво просечната вредност на за IL1 β изнесуваше $0,67 \pm 0,81$ пикограм на милиграм ткиво, додека за губење на атачмент до 3мм $1,496 \pm 0,7664$, за губење на атачмент од 3 до 6мм $1,962 \pm 1,68525$, за губење на атачмент поголем од 6мм $2,531 \pm 1,68378$. Статистичката сигнификантност покажа разлика на вредности помеѓу здраво ткиво и вредностите за губиток на атачмент до 3мм ($p=0,05$) како и здраво и губење на атачмент од 3 до 6мм ($p=0,0427$) и здраво ткиво и ткивата со губење на атачмент поголем од 6мм ($p=0,0025$). Добиените резултати графички се прикажани на графикон 3.

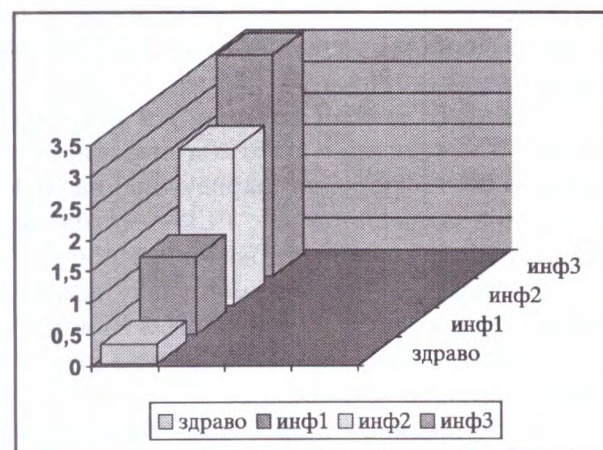


Графикон 3. - Просечни вредности за IL1 β кај пациентите со различно изразено губење на атачмент

Во однос на вредноста на IL1 β кај различно изразена инфламација на гингивата нашите резултати покажаа статистичка сигнификантност за вториот и третиот стадиум на инфламацијата, во однос на здраво ткиво, како и меѓу самите групи. Добиените резултати прикажани се на табела 2 и графикон 4.

ТАБЕЛА 2. - ПРОСЕЧНА ВРЕДНОСТ НА IL1 β КАЈ РАЗЛИЧНО ИЗРАЗЕНА ИНФЛАМАЦИЈА НА ГИНГИВАТА

| | X | SD | df | t | p | F | p |
|--------|------|-------|----|------|---------|-----|--------|
| здрави | 0,31 | 0,19 | | | | | |
| Инф 1 | 1,21 | 1,36 | 29 | 2,04 | 0,05 | 49 | 0,01 |
| Инф 2 | 2,47 | 2,27 | 27 | 2,99 | 0,006 | 67 | 0,000 |
| Инф 3 | 3,50 | 1,593 | 24 | 6,25 | 0,00002 | 131 | 0,0000 |



Графикон 4. - Просечна вредност на IL1 β кај различно изразена инфламација на гингивата

Дискусија

IL1 се состои од три структурно слични полипептиди од кои првите два се IL1 α и IL1 β и IL1 рецептор. И IL1 α и IL1 β покажуваат широк спектар како на биолошки корисни така и на штетни дејства. Од познатите дејства на двете форми на IL1 се способностите да предизвикаат треска, хипотензија, анорексија, зголемена синтеза на колагенази и деструкција на рскавиците и коскено ткиво, ја стимулираат синтезата на простагландини и развојот на атеросклеротични плаки. (6)

Се синтетизираат главно од мононуклеарните клетки, претежно од моноцитните фагоцити по стимулација од продуктите на инфламацијата или по директен бактериски инсулт. И двата се синтетизираат во нивната прекурзорна молекула со голема молекуларна тежина. Дел од прекурзорната молекула на IL1 α останува во цитосолот на клетката и учествува во автокриниот пренос на сигналите, додека останатиот дел се припојува за клеточната мембрана и се верува дека е биолошки активен во паракриниот пренос на информации до соседните клетки.

За разлика од него прекурзорната молекула на IL1 β се ослободува од клетките во екстрацелуларниот простор и циркулацијата. За да ја искаже својата биолошка активност мора да настане биолошко разложување на IL1 β . Во овој процес учествува строго специфичен ензим IL1 β converting enzyme, член на cystein протеазите.

Епителните клетки и Лангерхансовите клетки во епителот на гингивата продуцираат IL1 α и IL1 β (11) додека моноцитите во инфламираното ткиво секретираат IL1 β (14).

Учествува во регулацијата на експресијата на адхезивните молекули на фибробластите, ендотелијалните клетки и имуноцитите. Овие адхезивни молекули овозможуваат хемотакса на местото на инфламација и им овозможуваат на лимфоцитите и моноцитите да се припојат на клетките на сврзното ткиво. (22)

Во согласност со тоа во можност сме да ги толкуваме и нашите наоди каде вредностите на IL1 α и IL1 β во исечоците кои одговараа на различно изразено губење на атачмент покажаа сигнификантни разлики во однос на здравото ткиво без губење на атачмент. Анализата на варијанси во самите групи не покажа статистички сигнификантна разлика за трите групи ниту за IL1 α ниту за IL1 β .

Исто така, во прилог на добиените резултати за зголемени концентрации на IL1 α и IL1 β во исечоците кои одговараа на различно изразено губење на атачмент во споредба со здравото ткиво одат и следните наоди.

И обата IL1 се потентни стимулатори на сврзно-ткивниот катаболизам стимулирајќи ја коскената ресорпција преку ослободување на големи количества на PgE2 од фибробластите и моноцитите и преку стимулација на секрецијата на матриксметалопротеиназите кои учествуваат во деградација на екстрацелуларниот матрикс. Од друга страна, PgE2 учествува во вазодилатацијата, формирањето на едем и коскена ресорпција.

IL1 дејствува регулаторно на клетките на имуниот систем преку стимулација на Т и Б клетките. Учествува во експресијата на МНС протеините и презентација на антигените. Ја потпомага активацијата, пролиферацијата и секрецијата на антителата и клоналната експанзија на В клетките(6).

Најзначајна улога на IL1 β се смета дека настанува со неговото дејствување врз клетките на периодонталниот лигамент кои се наоѓаат помеѓу цементот и алвеоларната коска. Основна функција на овие клетки е да го одржуваат интегритетот на лигаментот. (16) Фенотипските карактеристики, како експресија на алкална фосфатаза, TGF β 1, остеокалцин, синтеза на Camf и формација на Ca-Ph нодули ги карактеризира како остеобластоидни клетки (3,13). Способноста подеднакво да учествуваат во синтезата на коска и цемент, како и можноста за синтеза на екстрацелуларни матрикс протеини ги одвојува од остеобластите (16). Овие клетки

во нормални услови не ги препознаваат бактериските липополисахариди ниту предизвикуваат проинфламаторна цитокина продукција.

Врз основа на *in vitro* изведените експерименти Agarwal(1) заклучува дека за време на инфламаторните процеси во гингивата локалните количества на IL1 β и TNF α иако многу мали, доволни се да предизвикаат промени во фенотипот на овие клетки, со што ги изнудуваат овие клетки да учествуваат директно во имунолошките процеси за сметка на нивниот остеоиден ефект. Стимулираните клетки на пародонталниот лигамент се способни да го препознаат липополисахаридот од бактериите и да предизвикаат цитотоксични ефекти преку регрутација на имуни клетки во овој регион на периодонциумот. Иако овој процес е насочен кон отстранување на инфекцијата, го доведува во опасност зачувувањето на интегритетот на пародонталниот атачмент.

Нешто поинакви резултати се добија кога IL1 α и IL1 β беа разгледувани во однос на клинички нотираната инфламација на гингивата. И двата покажаа статистички сигнификантни разлики во однос на здравото ткиво за сите степени на инфламација. Исто така беше забележана и сигнификантна разлика внатре во самите групи. Каква било корелација помеѓу изразеноста на губењето на атачментот и вредностите на IL1 α и IL1 β отсутствуваше. Добиените наоди се во согласност со наодите од литературата.

Докажан е фактот дека IL1 β за време на активните фази на болеста се зголемува повеќекратно како во ткивото така и во гингивалниот флуид споредени со пациенти без пародонтопатија (8, 9, 10). Компарирани со обемот на патохистолошки детектирана ткивна деструкција, најдените количества на IL1 не покажале корелација(7) што главно е случај и со нашите наоди. Ваквото отсуство на корелација со напредувањето на болеста, најверојатно, се должи на колективноста на вредностите на IL1 која одговара на епизодите на прогресијата на болеста. Според Ваџи(4) најголеми вредности IL1 достигнува

многу бргу за 24 часа во *in vitro* услови, кои вредности се задржале и по 4 дена. Во испитувањата изведени на експериментални животни (20) најголеми нивоа IL1 β достигнал за два месеца, а вредностите се вратиле на базично ниво по 3 месеци од почетокот на индуцираната пародонтална инфекција. Нешто поинакви наоди се добиени кај периапикалните лезии, каде е најдена умерена корелација помеѓу величината на лезијата и IL1 β . (17) Сепак процесите во периапикалните лезии се поинакви отколку во тек на пародонтопатијата .

Анализата на испитуваните параметри и добиените резултати ни дозволуваат да заклучиме дека IL1 α и IL1 β покажаа сигнификантен пораст напоредно со зголемувањето на апикалната миграција на припојниот епител, во однос на инфламацијата сите споменати параметри покажаа сигнификантно зголемување напоредно со зголемувањето на инфламацијата, наметнувајќи еден општ заклучок дека интензивирањето на инфламаторните промени во гингивално-тквивниот супстрат доведуваат до зголемена продукција на цитокини, кои случувања несомнено даваат свој придонес во продлабочување на апикалната миграција на припојниот епител и деструкција на пародонталните ткива.

DETECTION OF TISSUE LEVELS OF IL1 α AND IL1 β IN DIFFERENT DEGREES OF ATTACHMENT LOSS

Pandilova M., Stavrevska-Minovska A., Trajkovski D., Spirovski M.

Summary

Cytokines such as IL1 have been strongly related to periodontal disease, yet there is no strong evidence about their involvement to attachment loss occurring during periodontal diseases.

Therefore our objective was to study the levels of IL1 in tissues from periodontal lesions with different degree of attachment loss.

Gingival tissue biopsies from 30 patients were obtained. Patients were selected with different degrees of attachment loss and with no gingival recession. All the examined patients were between 20 and 40 years old and they all had regions with healthy periodontal tissue. Gingival tissue biopsies were taken from the examined region and frozen at -80°C. In the frozen tissue sections using ELISA method the levels of the examined cytokines were determined.

After the statistical analysis of our results we can conclude

That IL1 α , IL1 β levels were increasing as the inflammation and attachment loss increased.

Key words: periodontal disease, inflammation, cytokines, IL $_1$

Литература

1. Agarwal S, Chandra C., Piesco P, Langkamp H, Bowen L, Baran L Regulation of Periodontal Ligament Cell Functions by Interleukin-1 Infect Immun, March 1998:66: 932-937
2. American Academy of Periodontology Proceedings of the World Workshop in Clinical Periodontics Chicago the American Academy of Periodontology 1989: 1 123-1/24
3. Arceo, N., J. J. Sauk, J. Moehring, R. A. Foster, and M. J. Somerman. Human periodontal cells initiate mineral like nodules in vitro. J. Periodontal Res. 1991 62:499-503.
4. Balto K, Sasaki H, Stashenko F Interleukin-6 Deficiency Increases Inflammatory Bone Destruction Infection and Immunity, 2001 :69:. 744-750
5. Baqui A. Meiller T, Chon J, Turng B., Falkler A Jr Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor Amplification of Interleukin-1 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
6. Dinarello A., Wolff S The Role of Interleukin-1 in Disease The New England Journal of medicine 1993: 328:106-113
7. Feldner BD, Reinhardt RA, Garbin CP Histological evaluation of III beta and collagen in gingival tissue from untreated adult periodontitis J.Periodontol.Res. 1994:29:54-61
8. Gemmell, E., and G. J. Seymour. 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.
9. Gemmell E., Marshall R. I., Seymour G. I. Cytokines and prostaglandines in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease Periodontology 2000 1997: 14 112-43
10. Greenspan, J. S. (ed.). Orodental diseases, 8th ed. Appleton and Lange 1994 8th ed. Norwalk, Conn
11. Hillmann G., Hillmann B., Gartsen W. Immunohistological determination IL1 beta in inflamed human gingival epithelium Arch. Oral Biol. 1995 40: 353-9
12. Hou L. T., Lui C. M., Rossomondo E. F. Cervical interleukin-1 beta in moderate and severe preiodontitis patients and the effect phase I periodontal treatment J. Clin. Periodontal 1995 22: 162-7
13. Iitaka, M., S. Kitahama, and J. Ishii. . Involvement of protein kinase A and C in the production of interleukin-1-induced prostaglandin E2 from mouse osteoblast-like cell line, MC3T3-E1. Biochim. Biophys. Acta 1994 1221:78-82
14. Jardinski JJ, StashenkoP, FederLS, Localization of IL1beta in human periodonatal tissue J . Periodontol 1991 62:36-43
15. McFarlane CC.,Meikle MC. IL2 and IL4 are elevated in sera in patients with periodontal disease J. Periodontol Res 1991 26:402-8
16. Ozaki, K., S. Hanazawa, A. Takeshita, Y. Chen, A. Watanabe, K. Nishida, Y. Miyata, and S. Kitano. Interleukin-1 and tumor necrosis factor- stimulate synergistically the expression of monocyte chemoattractant protein-1 in fibroblastic cells derived from human periodontal ligament. Oral Microbiol. Immunol. 1996. 11:109-114.
17. Поповска Л. Хронични периапикални лезии во релација со ендодонтскиот статус на забите Докторска дисертација, Скопје 2002
18. Ramfjord S. P., Indices for prevalence and indices for periodontal disease J. Periodontal 1959 30: 51
19. Reinhardt RA, Masada MP,Johnson GK Gingival fluid levels of IL1 and IL6 in refractory periodontitis J.Clin.Periodontal. 1993 :20:225-231
20. Smith Ma, Braswell LD, Collins JG, Changes in inflammatory mediators in experimental periodontitis in the rhesus monkey Infection and Immunity, 1993:61: 1453-1459

21. Stashenko P., Fujiyoshi P., Obernesser MS Tissue levels of IL1 beta in tissue from sites of active periodontal disease J.Clin. Periodontol.1991: 18:548-554
22. Takahashi H,Takigawa M,Takashiba S Role of cytokine in the induction of adhesion molecules on cultured human gingival fibroblasts J. Periodontol. 1994 65:230-5
23. Wilton JM., Bampton JL., Hurst TJ IL1 beta and IgG subclasses concentration in CGFfrom patients with adult periodontitis Arch.Oral. Biol. 1993:38: 55-60
24. Yavuzyilmaz E.,Yamalik N., Bulut S The gingival cervical fluid IL1beta and TNFalfa levels in patients with rapidly progressive periodontitis Aust.Dent.J 1995:40:46-9