

## Evaluating the Effect of One Stage Full Mouth Disinfection on Serum IL-17 and IL-23 Levels in Patients with Moderate to Severe Chronic Periodontitis

Parviz Torkzaban<sup>1</sup>, Reza Pourabbas<sup>2</sup>, Mehrdad Hajilooi<sup>3</sup>, Farnaz Jafari<sup>4</sup>, Ali Zarandi<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup> Research center of dentistry, School of Dentistry, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran

<sup>2</sup> Department of Periodontics, School of Dentistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

<sup>3</sup> Department of Immunology, School of Medicine, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran

<sup>4</sup> Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

<sup>5</sup> School of Dentistry, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran

Received: 3 Apr, 2011      Accepted: 20 Aug, 2011

### Abstract

**Backgrounds and Objectives:** The main purpose of one-stage full-mouth disinfection is the rapid elimination or depletion of all oro-pharyngeal pathogens using scaling and root planning, subgingival periodontal pocket irrigation and tongue disinfection. The aim of the present study was to evaluate the effect of this technique on serum levels of IL-17 and IL-23 in patients with moderate-to-advanced chronic periodontitis.

**Materials and Methods:** This randomized clinical trial study conducted on 24 eligible patients with moderate to advanced chronic generalized periodontitis. 20 (11 male- 9 female), healthy subjects and with no history of drug therapy during the last 6 months were included in the study. Blood samples were taken from the patients before the intervention. Then, full-mouth disinfection was carried out in one session. Blood samples were taken again 6 weeks after the intervention. The ELISA method was used to evaluate serum levels of IL-17 and IL-23.

**Results:** The Pre and post-treatment serum levels of IL-17 were  $103.8 \pm 38.6$  and  $14.1 \pm 8.6$  pg/mL, respectively ( $P=0.003$ ); in case of IL-23, The Pre and post-treatment serum levels were  $124.9 \pm 40.1$  and  $17 \pm 8.8$  pg/mL, respectively ( $P = 0.001$ ). The differences were statistically significant in both cases.

**Conclusion:** In patients with moderate-to-advanced chronic periodontitis, serum levels of IL-17 and IL-23 significantly decrease subsequent to one-stage full-mouth disinfection.

**Keywords:** Chronic periodontitis, Disinfection, Interleukin-17, Interleukin-23

\*Corresponding author

E-mail: ptorkzaban@gmail.com

## مقاله پژوهشی

### تاثیر ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان بر میزان سایتوکاین های IL-17 و IL-23 سرمی در بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن متوسط تا پیشرفته

پرویز ترک زبان: گروه پریودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران  
رضا پور عباس: گروه پریودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران  
مهرداد حاجیلویی: گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران  
فرناز جعفری: دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران  
علی زرنندی: دانشکده دندانپزشکی همدان، همدان، ایران، نویسنده رابط:

E-mail: ptorkzaban@gmail.com

دریافت: ۹۰/۱/۱۴ پذیرش: ۹۰/۵/۲۹

#### چکیده

**زمینه و اهداف:** هدف از روش ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان حذف یا کاهش سریع تمام پاتوژنهای اوروفارنژیال بواسطه جرم گیری و تسطیح سطح ریشه، شستشوی زیر لتهای پاکتهای پریودنتال و ضد عفونی سطح زبان است. هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر این روش بر میزان IL-17 و IL-23 سرمی در بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن متوسط تا پیشرفته است.

**مواد و روشها:** این مطالعه کلینیکی بر روی ۲۴ بیمار مبتلا به پریودنتیت مزمن جنرالیزه متوسط تا پیشرفته که به طور تصادفی برای مطالعه انتخاب شدند انجام گرفته است. ۲۰ (۱۱ مرد-۹ زن) سالم از لحاظ پزشکی و بدون تاریخچه دارو درمانی در ۶ ماه گذشته وارد مطالعه شدند. نمونه خونی بیماران بلافاصله قبل از درمان گرفته شد. ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان در یک جلسه انجام گرفت. نمونه خونی دوم ۶ هفته بعد از درمان گرفته شد. نمونه ها به روش ELISA از نظر میزان IL-17 و IL-23 سرمی بررسی شدند. آنالیز آماری به روش ناپارامتری ویلکاکسون با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۵/۰ انجام گرفت.

**یافتهها:** میانگین مقادیر قبل و بعد از درمان IL-17 سرمی به ترتیب  $38/6 \pm 10/3$  pg/ml و  $14/1 \pm 8/6$  pg/ml می باشد ( $P=0/003$ ) و میانگین مقادیر قبل و بعد از درمان IL-23 سرمی به ترتیب  $40/1 \pm 24/9$  pg/ml و  $17 \pm 8/8$  pg/ml می باشد ( $P=0/001$ )؛ که در هر دو مورد تفاوت معنی دار است.

**نتیجه گیری:** در بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن متوسط تا پیشرفته میزان IL-17 و IL-23 سرمی بعد از ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان به طور معنی داری کاهش می یابد.

**کلید واژهها:** پریودنتیت مزمن، ضد عفونی، IL-17 Interleukin-17

#### مقدمه

سطح ریشه، شستشوی دهان و پاکتهای پریودنتال و تمیز کردن سطح زبان می باشد (۱). طرح جدید (Th1/Th2/Th17) امیدهایی در زمینه مداخلات درمانی از طریق تنظیم سیستم ایمنی و سایتوکاینها ایجاد کرده است که این مداخلات می تواند با افزایش پتانسیل protective سلولهای T و کاهش تواناییهای destructive آنها انجام شود (۳). IL-23 یک سایتوکاین heterodimeric است که با یک زنجیره P40 که با IL-12 مشترک است و یک زنجیره P19 خاص، شکل گرفته است (۴). IL-23 یک سایتوکاین اصلی و ضروری درگیر در افزایش رده Th-17 تولید کننده IL-17

پریودنتیت یک بیماری التهابی مزمن می باشد و در آن یک پروسه التهابی ساختارهای حمایت کننده دندان را تخریب می نماید. مطالعات نشان می دهند که پلاک فوق لته ای به همراه باکتریهای موجود در زبان، مخاط دهان، لوزه ها و بزاق بر کلونیزاسیون دوباره باکتریها در ناحیه زیر لته ای بعد از درمان اثر دارند (۱). روش ضد عفونی کردن یک مرحله ای کل دهان توسط گروه تحقیقاتی لوون بلژیک ابداع شد (۲). هدف این روش حذف یا حداقل سرکوب نمودن سریع تمام پاتوژنهای پریودنتال از ناحیه اوروفارنژیال (دندانها، پاکتهای پریودنتال، بزاق، مخاط دهان، زبان و لوزهها) بواسطه جرم گیری و تسطیح

محدوده سنی ۲۵ تا ۷۰ سال و دارای حداقل ۱۲ دندان با تشخیص پریدونتیت مزمن متوسط تا پیشرفته با وجود حداقل چهار دندان که Probing depth بالای ۴mm دارند و با از دست رفتن چسبندگی کلینیکی ۳ میلی متر یا بیشتر و حضور علائم رادیوگرافیک تحلیل استخوان متوسط تا پیشرفته انتخاب می شوند. از بیماران رضایت نامه آگاهانه گرفته شد.

از بیست و چهار بیمار داوطلب فقط بیست نفر واجد شرایط ورود به مطالعه شدند و تعداد چهار نفر از مطالع خارج شدند.

معیارهایی که باعث حذف افراد از مطالعه می شود (exclusion criteria) عبارتند از: بیماران با کتترا اندیکاسیون بی حسی موضعی یا جرم گیری (۱۸)، مبتلا به بیماریهای سیستمیک (بیماران حامله، افراد مبتلا به دیابت، (۱۹ و ۲۰)، خانمهای شیرده (۲۰)، سابقه مصرف آنتی بیوتیک، آنتی ویروس و ضد قارچ، NSAIDs، کورتیکواستروئید و داروهای سرکوبگر سیستم ایمنی در ۶ ماه گذشته (۱۹ و ۲۱)، سابقه جرمگیری و تسطیح ریشه در یک سال گذشته، تاریخچه مصرف سیگار (۲۱) و همچنین ابتلا به هر گونه بیماری مسری. ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان (One-stage full mouth disinfection) به این صورت انجام گرفت که کلیه پلاک و جرم روی دندانهای بیمار توسط دستگاه جرمگیری اولتراسونیک پیزوالکتریک (Ultrasonic Piezoscaler, Guilin Woodpecker medical instruments Co., China) به همراه Slim tip در یک جلسه حذف شد، بدین صورت که جرم-گیری و تسطیح سطح ریشه کامل در یک جلسه انجام شد. سپس شستشوی زیر لثه ای تمام پاکت ها با ژل کلرهگزیدین ۱٪ (Perio-kin Chlorhexidine Gel) در همین جلسه انجام گرفت. همچنین روی زبان با ژل کلرهگزیدین ۱٪ (Perio-kin Chlorhexidine Gel) بمدت ۱ دقیقه مسواک زده و ضد عفونی شد. ضمناً در همین جلسه بیمار با دهانشویه کلرهگزیدین ۰.۲٪ (شرکت مهان دارو، ایران) به مدت ۲ دقیقه دهانشویه کرد (۲۲). نمونه های خونی یکبار بلافاصله قبل از شروع درمان (ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان) و برای بار دوم ۶ هفته پس از درمان (زمان re-evaluation) از بیماران گرفته شد (۲۳ و ۲۴). نمونه گیری از خون بیمار به میزان ۵ سی سی انجام می گرفت. خون گرفته شده بلافاصله به لوله آزمایش منتقل می شد و روی لوله آزمایش پوشش پارافینی کشیده می شد. پس از لخته شدن خون در لوله آزمایش، نمونه به آزمایشگاه منتقل می شد. در آزمایشگاه بعد از سانتریفوژ نمونه ها سرم آنها جدا می شد. سرم جدا شده در ویالهای ۲۰ میکرولیتری در دمای ۸۰°C فریز می شد. در آزمایشگاه برای انجام تست های سرولوژیک جهت ارزیابی میزان بیومارکرهای مورد نظر (IL-17 و IL-23) از کیت های مخصوص (eBioScience, Human IL-23 (p19/p40), Human IL-17A (homodimer) استفاده شد. IL-17 و IL-23 سرمی به روش ELISA به ترتیب با حساسیت برابر

است (۵) که با بسیاری از بیماریهای تخریب نسجی وابسته به ایمنی مرتبط است. IL-23 تکامل سلولهای Th-17 را القا می کند که باعث توسعه و افزایش سلولهای Th-17 در حضور IL-23 می شود (۶). با وجود این، مطالعات اخیر نشان داده اند که IL-23 فاکتور تمایز سلولهای Th-17 نیست؛ اما احتمالاً روی سلولهای Th-17 قبلاً متمایز شده عمل می کند تا تکثیر و ثبات فنوتیپ Th-17 را القا کند (۷-۹). احتمالاً مسیر Th-17 القا شده توسط IL-23 در پاتوژنز پریدونتال نقش دارد. IL-17 و IL-23 در ضایعات پریدونتال بطور معنی داری سطح بالاتری نسبت به محلهای کنترل دارند. مخصوصاً IL-17 در نسوج مجاور تخریب استخوان بیشتر افزایش می یابد (۱۰). Ohyama و همکاران (۱۰) با نمونه گیری از نسج لثه بیماران مبتلا به پریدونتیت مزمن متوسط تا پیشرفته نشان دادند که میزان IL-17 و IL-23 در لثه این بیماران افزایش می یابد و در ضمن IL-17 در نسوج مجاور تخریب استخوان بیشتر افزایش می یابد. Yetkin و همکاران (۱۱) نشان دادند که IL-17 در مایع شیار لثه ای (GCF) بیماران مبتلا به پریدونتیت مزمن افزایش می یابد. Bowman و Adamopoulos (۱۲) دخالت سلولهای Th-17 را در تخریب استخوان ثابت کردند. Cardoso و همکاران (۱۳) با نمونه گیری از لثه و استخوان آلئول افرادی با پریدونشیم سالم و بیماران مبتلا به پریدونتیت مزمن نشان دادند که سطح IL-17 و IL-23 در بیماران پریدونتیت مزمن افزایش می یابد. مطالعه مروری Shiao و Reynolds (۱۴) نشان داد که مردان ریسک بالاتری برای ایجاد بیماری پریدونتال تخریب کننده دارند. Marriott و Huet-Hudson (۱۵) دی مورفسم جنسیتی در پاسخ سیستم ایمنی ذاتی به عفونتها را تایید کردند. Fish نیز طی مطالعه ای مروری (۱۶) نشان داد که ژنهای موجود روی کروموزوم X مسئول تفاوت های پاسخ ایمنی مردان و زنان هستند. مطالعه Heikkinen و همکاران (۱۷) نشان داد که پسرها ریسک بالاتری از دخترها برای ابتلا به پریدونتیت دارند.

هدف مطالعه حاضر بررسی تغییرات IL-17 و IL-23 سرمی قبل و بعد از ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان است تا ضمن اطلاع از اثرات درمان ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان بر سطح سرمی سایتوکاین های التهابی، کارایی این نوع درمان را در کاهش سایتوکاین های التهابی مذکور و روند بهبود بیماری ارزیابی کنیم.

## مواد و روشها

۲۰ بیمار (۱۱ مرد- ۹ زن) مبتلا به پریدونتیت مزمن متوسط تا پیشرفته مراجعه کننده به دانشکده دندانپزشکی همدان بر حسب معیارهای Inclusion, Exclusion Criteria (ورود و خروج از مطالعه) که متعاقباً ذکر خواهد شد بطور تصادفی برای این مطالعه کارآزمایی بالینی قبل و بعد انتخاب می شوند. معیارهای ورود به مطالعه عبارتند از: بیماران با

مقایسه میانگین مقادیر قبل و بعد از درمان IL-17 سرمی به ترتیب  $103/8 \pm 3/6$  pg/ml و  $14/1 \pm 8/6$  pg/ml می باشد ( $P=0/003$ ). میزان IL-17 سرمی پس از ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان به طور معنی داری کاهش می یابد ( $P=0/003$ ). مقایسه میانگین مقادیر قبل و بعد از درمان IL-23 سرمی به ترتیب  $124/9 \pm 40/1$  pg/ml و  $17 \pm 8/8$  pg/ml می باشد ( $P=0/001$ ). میزان IL-23 سرمی پس از ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان به طور معنی داری کاهش می یابد ( $P=0/001$ ). میزان IL-17 سرمی در زنان قبل و بعد از درمان به ترتیب  $82/5 \pm 29/0$  pg/ml و  $12/5 \pm 9/2$  pg/ml می باشد ( $P=0/001$ ). (نمودار ۱). میزان IL-23 سرمی در مردان قبل و بعد از درمان به ترتیب  $121/3 \pm 37/6$  pg/ml و  $15/6 \pm 8/1$  می باشد ( $P=0/001$ ). (نمودار ۲). میزان IL-23 سرمی مردان قبل و بعد از درمان به ترتیب  $145/7 \pm 36/2$  pg/ml و  $18/5 \pm 8/1$  می باشد ( $P=0/001$ ) ( $P=0/008$  و  $Z=2/66$  نتیجه آزمون ویلکاکسون با  $Z=2/94$  و  $P=0/003$  و همچنین نتیجه آزمون ویلکاکسون با  $Z=2/94$  و  $P=0/003$  کاهش معنی دار میزان IL-17 و IL-23 سرمی مردان را قبل و بعد از درمان ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان نشان داد. به منظور مقایسه IL-17 و IL-23 مردان با زنان، قبل و بعد از درمان، نتایج آزمون آماری نشان داد که IL-17 و IL-23 قبل از درمان در زنان و مردان با هم متفاوت است ( $t=3$  و  $P<0/001$ ). همچنین نتایج آماری حاکی از این است که IL-23 زنان و مردان، پس از درمان تفاوت معنی دار آماری با هم ندارند ( $t=1$  و  $P>0/05$ ).

۴ pg/ml و ۱۵ pg/ml اندازه گیری شدند. بلافاصله پس از گرفتن نمونه خونی از بیمار، روش ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان در مورد هر بیمار، جهت کاهش باکتریهای موجود در سطح دندان، پاکتهای پرپودنتال، زبان، مخاط دهان، لوزه ها و بزاق انجام گرفت. بیمار نیز پس از درمان ملاحظات بهداشت دهان را بطور کامل (استفاده صحیح از مسواک، نخ دندان و دهانشویه) طبق آموزشی که به وی داده شده بود، انجام داد و هیچ گونه دارویی دریافت نکرد. داده های به دست آمده از مطالعه به وسیله روشهای آماری توصیفی (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) مورد بررسی و تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. در این مطالعه مقدار P کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی دار تلقی گردید. نرمال بودن توزیع داده ها به وسیله آزمون کلموگروف - اسمیرنوف و نمودار Q-Q مورد ارزیابی قرار گرفت و بدلیل عدم برقراری فرض های پارامتری، تحلیل داده ها با روش های ناپارامتری ویلکاکسون انجام شد. برای تعیین حجم نمونه از فرمول زیر استفاده شده است:

$$n = \frac{(Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta})^2 Sd^2}{d^2}$$

در این فرمول

n: تعداد نمونه

Sd: انحراف معیار تفاضل میزان IL-17 یا IL-23 قبل و بعد

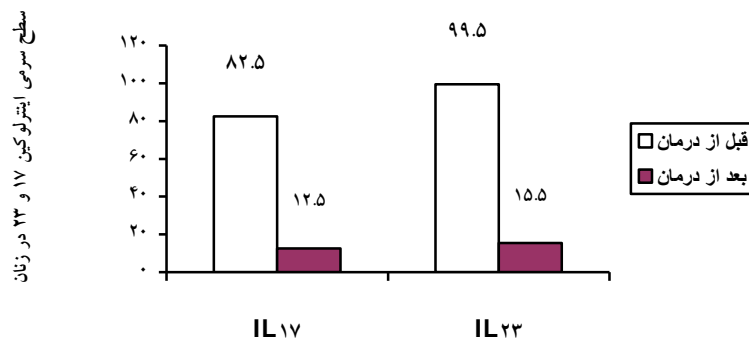
d: تفاوت میانگین قبل و بعد IL-17 یا IL-23

$\alpha = 5\%$ : خطای نوع اول

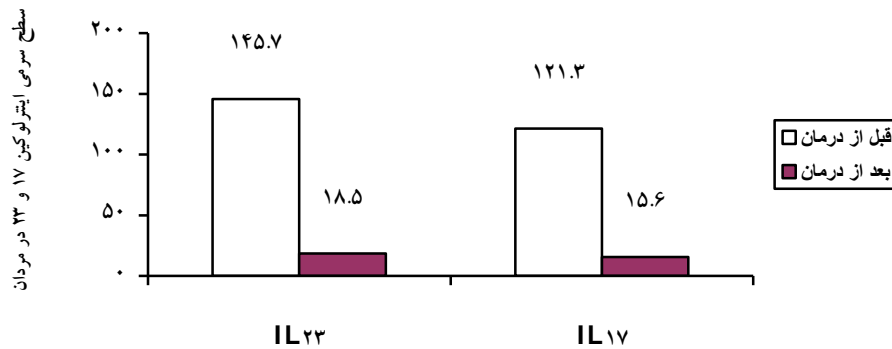
$\beta = 20\%$ : خطای نوع دوم

با در نظر گرفتن  $\alpha=0/05$  و توان ۸۰ درصد برای وجود اختلاف معنی دار، ۲۰ نمونه برآورد شد.

## یافته ها



نمودار ۱: میزان IL-17 و IL-23 سرمی در زنان قبل و بعد از ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان



نمودار ۲: میزان IL-17 و IL-23 سرمی در مردان قبل و بعد از ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان

قبل و بعد از ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان با هم متفاوت است. بطوری که این میزان بعد از ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان به مراتب کمتر از میگردد. لذا می توان پذیرفت که درمان ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان باعث کاهش معنی داری در میزان این سایتوکاینها در بیماران مبتلا به پرودنتیت مزمن متوسط تا پیشرفته می شود. این مطالعه نشان میدهد که هر دو جنس پاسخ مناسبی را به درمان ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان نشان داده اند و در هر دو جنس تفاوت سطح IL-17 و IL-23 سرمی قبل و بعد از درمان معنی دار است.

همچنین در مطالعه حاضر مشخص گردید که میزان IL-17 و IL-23 سرمی در دو جنس متفاوت است. به طوریکه این میزان در مردان میزان بالاتری دارد. این تفاوت می تواند به دلیل تفاوت ساختار ایمونولوژیک دو گروه باشد که در این صورت با مطالعه Shiao و Reynolds (۱۴)، Marriott و Huet-Hudson (۱۵)، Fish (۱۶) و Heikkinen (۱۷) که نشان داده اند، دی مورفسم ژنتیکی در پاسخ ایمنی مردان و زنان وجود دارد و مردان نسبت به پرودنتیت مستعد ترند را تأیید می نماید. در بیماران مبتلا به پرودنتیت مزمن متوسط تا پیشرفته متوسط تا پیشرفته میزان IL-17 و IL-23 سرمی بعد از ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان به طور معنی داری کاهش می یابد. مردان پاسخ ایمنی سیستمیک شدیدتری را به پرودنتیت مزمن نشان می دهند ولی پاسخ به درمان تحت تأثیر جنسیت قرار نمی گیرد.

## بحث و نتیجه گیری

تأثیر پرودنتیت بر میزان بیومارکرهای سرمی و سایتوکاینهای موجود در مایع شیار لثه ای (GCF) در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. مطالعه حاضر به بررسی تأثیر ضد عفونی یک مرحله ای کل دهان بر میزان سایتوکاینهای IL-17 و IL-23 سرمی در بیماران مبتلا به پرودنتیت مزمن متوسط تا پیشرفته میبرد، یکی از راههای تعیین پاسخ به روشهای درمانی مختلف تعیین تأثیر آنها بر سایتوکاینهای تولید شده از سلولهای ایمنی است. شناسایی IL-17، Th-17 و IL-23 محققین را برآن داشته است که مسیر پاتوژن پرودنتیت را بار دیگر با در نظر گرفتن سلولها و سایتوکاینهای فوق الذکر بازبینی کنند. افزایش IL-17 در سرم بیماران مبتلا به پرودنتیت مزمن متوسط تا پیشرفته در این مطالعه نشان داد که نتایج مطالعه Yetkin (۱۱) مورد تأیید بوده و نشان می دهد پرودنتیت می تواند از طریق افزایش بیومارکرهای سرمی تأثیر سیستمیک در بدن اعمال کند. همچنین درمان کافی کلینیکی می تواند این تأثیر سیستمیک را از بین ببرد. علت تفاوت نتایج با مطالعه Pradeep (۲۱) با مطالعه حاضر می تواند بدلیل تفاوت مواد و روشها یا تفاوت در جمعیتهای مورد مطالعه باشد. نتایج مطالعه Adamopoulos و Bowman (۱۲) با اثبات دخالت سلولهای Th-17 در تخریب استخوان مطالعه حاضر را تأیید مینماید. مطالعه حاضر سطح بالای IL-17 و IL-23 را در پرودنتیت مزمن متوسط تا پیشرفته نشان داد که با مطالعه Cardoso (۱۳) همسو می باشد. در مطالعه ما نشان داده شد میزان IL-17 و IL-23 سرمی

## References

1. Teughels W, Dekeyser CH, Van essche M, Quirynen M. (2009). One-stage, full-mouth disinfection: fiction or reality? *Periodontol* 2000; **50**: 39–51.
2. Quirynen M, Bollen CM, Vandekerckhove BN, Dekeyser C, Papaioannou W, Eyssen H. Full- vs. partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections: short-term clinical and microbiological observations. *J Dent Res* 1995; **74**: 1459–1467.
3. Gaffen SL, Hajishengallis G. A New Inflammatory Cytokine on the Block: Re-thinking Periodontal Disease and the Th1/Th2 Paradigm in the Context

- of Th17 Cells and IL-17. *J Dent Res* 2008; **87**(9): 817-828.
4. Kastelein RA, Hunter CA, Cua DJ. Discovery and Biology of IL-23 and IL-27: Related but Functionally Distinct Regulators of Inflammation. *Annu Rev Immunol* 2007; **25**: 221-242.
  5. Aggarwal S, Ghilardi N, Xie MH, de Sauvage FJ, Gurney AL. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17. *J Biol Chem* 2003; **278**: 1910-1914.
  6. Bettelli E, Korn T, Kuchroo VK. Th17: the third member of the effector T cell trilogy. *Curr Opin Immunol* 2007; **19**(6): 652-657.
  7. Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B. TGF-beta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity* 2006; **24**: 179-189.
  8. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006; **441**: 235-238.
  9. Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, et al. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H) 17 lineage. *Nature*; **441**: 231-234.
  10. Ohshima H, Kato-kogoe N, Kuhara A, Nishimuura F, Nakasho K, Yamanegi K. The involvement of IL-23 and the Th17 Pathway in Periodontitis. *J Dent Res* 2009; **88**(7): 633-638.
  11. Yetkin Ay Z, Sütçü R, Uskun E, Bozkurt FY, Berker E. The impact of the IL-11:IL-17 ratio on the chronic periodontitis pathogenesis: a preliminary report . *Oral Diseases* 2009; **15**: 93-99.
  12. Iannis E Ademopoulos and Edward P Bowman. Immune regulation of bone loss by Th17 cells. *Arthritis Res Ther* 2008; **10**: 225-233.
  13. Cardoso CR, Garlet GP, Crippa GE, Rosa AL, Júnior WM, Rossi MA, et al. Evidence of the presence of T helper type 17 cells in chronic of human periodontal disease. *Oral microbiology and immunology* 2008; **24**: 1-6.
  14. Shiau HJ, Reynolds MA. Sex differences in destructive periodontal disease: exploring the biologic basis. *J Periodontol* 2010; **81**(11): 1505-1517.
  15. Marriott I, Huet-Hudson YM. Sexual dimorphism in innate immune responses to infectious organisms. *Immunol Res* 2006; **34**(3): 177-192.
  16. Fish EN. The X-files in immunity: sex-based differences predispose immune responses. *Nat Rev Immunol* 2008; **8**(9): 737-744.
  17. Heikkinen AM, Sorsa T, Pitkaniemi J, Tervahartiala T, Kari K, Broms U, et al. Smoking affects diagnostic salivary periodontal disease biomarker levels in adolescents. *J Periodontol* 2010; **81**(9): 1299-1307.
  18. Clifford LR, Needleman IG, ChanYK. Comparison of periodontal pocket penetration by conventional and microultrasonic inserts. *J Clin Periodontol* 1999; **26**: 124-130.
  19. Ritz L, Hefti AF, Rateischak KH. An in vitro investigation on the loss of root substance in scaling with various instruments. *J Clin Periodontol* 1991; **18**: 643-647.
  20. Petersilka GJ, Steinmann D, Häberlein I, Heinecke A, Flemmig TF. Subgingival plaque removal in buccal and lingual sites using a novel low abrasive air-polishing powder. *J Clin Periodontol* 2003; **30**: 328-333.
  21. Pradeep AR, Daisy H, Hadge P, Garg G, Thorat M. Correlation of gingival crevicular fluid interleukin-18 and monocyte chemoattractant protein-1 levels in periodontal health and disease. *J Periodontol* 2009; **80**(9): 1454-1461.
  22. Quirynen M, Vogels R, Pauwels M, Haffajee AD, Socransky SS, Uzel NG, et al. Initial subgingival colonization of pristine pockets in an established environment. *J Dent Res* 2005; **84**: 340-344.
  23. Tüter G, Kurtiş B, Serdar M. Interleukin-1beta and thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels after phase I periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2001; **72**(7): 883-888.
  24. Thunell DH, Tymkiw KD, Johnson GK, Joly S, Burnell KK, Cavanaugh JE, et al. A multiplex immunoassay demonstrates reductions in gingival crevicular fluid cytokines following initial periodontal therapy. *J Periodontal Res* 2010; **45**(1):148-152.