

## Niveles locales de marcadores de inflamación en fluido crevicular gingival en diabéticos tipo 2 de recién diagnóstico con periodontitis crónica

Local levels of inflammatory markers in gingival crevicular fluid in newly diagnosed type 2 diabetics with chronic periodontitis

Sandra Estefanía Almaguer García\*, Martha Eugenia Fajardo Araujo\*, Miriam Lucía Rocha Navarro\*\*, Mary Fafutis Morris\*\*\*, Juan Pablo Díaz Aguirre\*\*, Sandra Laura García Gallardo \*\*

### RESUMEN

El sistema inmune del sujeto diabético sufre alteraciones debido a la enfermedad, repercutiendo en los tejidos periodontales. El objetivo fue evaluar los marcadores de inflamación de interleucina (IL)-2, IL-6 e IL-8 en fluido crevicular gingival de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DMT2). Los participantes se agruparon en cuatro grupos: 1) sanos ( $n=20$ ), 2) con periodontitis (PCM,  $n=20$ ), 3) con diabetes  $\leq 1$  año y periodontitis ( $DMT2 \leq 1 + PCM$ ,  $n=20$ ) y 4) con diabetes de  $\geq 10$  años con periodontitis ( $DMT2 \geq 10 + PCM$ ,  $n=20$ ). Los marcadores se cuantificaron por citometría de flujo. Como resultado, el grupo de  $DMT2 \geq 10 + PCM$  mostró niveles mayores de IL-2 con relación a los demás grupos, al igual que niveles elevados de IL-6 con respecto del PCM. Los niveles de IL-8 resultaron mayores en el grupo de sanos frente a los demás grupos. Se concluye que los sujetos con  $DMT2 \geq 10 + PCM$  mostraron una respuesta inmune adaptativa-destructiva del tejido periodontal en comparación con  $DMT2 \leq 1 + PCM$  que muestran una alteración inmunológica.

### ABSTRACT

Immune system of diabetic subject is altered due to diabetes mellitus affecting periodontal tissue. This work evaluates inflammatory markers IL-2, IL-6 and IL-8 in gingival crevicular fluid of patients with Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM). Participants were grouped into four groups: 1) healthy ( $n=20$ ); 2) with periodontitis (PCM,  $n=20$ ); 3)  $\leq 1$  year with diabetes and periodontitis ( $DMT2 \geq 10 + PCM$ ,  $n=20$ ); and 4)  $\geq 10$  years diabetic and periodontitis ( $DMT2 \geq 10 + PCM$ ,  $n=20$ ). Cytokines were quantified by flow cytometry. The ( $DMT2 \geq 10 + PCM$ ) group showed higher levels of IL-2 respect to the other groups, as elevated levels of IL-6 respect to the PCM. The levels of IL-8 were higher in the healthy group compared to other groups. ( $DMT2 \geq 10 + PCM$ ) subjects showed a destructive periodontal tissue adaptive immune response compared to ( $DMT2 \geq 1 + PCM$ ) which show an immunological disturbance.

Recibido: 25 de marzo de 2015

Aceptado: 8 de junio de 2015

#### Palabras clave:

DMT2; periodontitis crónica moderada; citocinas; recién diagnóstico.

#### Keywords:

T2DM; moderate chronic periodontitis; cytokines; newly diagnosed.

#### Cómo citar:

Almaguer García, S. E., Fajardo Araujo, M. E., Rocha Navarro, M. L., Fafutis Morris, M., Díaz Aguirre, J. P. & García Gallardo, S. L. (2015). Niveles locales de marcadores de inflamación en fluido crevicular gingival en diabéticos tipo 2 de recién diagnóstico con periodontitis crónica. *Acta Universitaria*, 25(NE-1), 3-8. doi: 10.15174/au.2015.743

### INTRODUCCIÓN

La periodontitis es una de las enfermedades que interactúan con la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2). Los sujetos con DMT2 tienen un riesgo de dos a tres veces mayor de padecer periodontitis, siendo ésta también la sexta complicación de la DMT2 (Lõe, 1993). En México hay una prevalencia de los sujetos diabéticos a desarrollar periodontitis superior al 50% (Boletín de la Academia Nacional de Medicina de México [ANMM], 2013). Varios autores han sugerido que la hiperglucemia puede exacerbar indirectamente la respuesta inflamatoria en los tejidos, provocando su destrucción (Nishimura, Takahashi, Kurihara, Takashiba & Murayama, 1998), por ello es que la DMT2 se ha relacionado con el establecimiento de la periodontitis.

\* Departamento de Ciencias Médicas, División de Ciencias de la Salud, Campus León, Universidad de Guanajuato. Calle 20 de Enero núm. 929, Colonia Obregón, León, Gto., México, C.P. 37320. Tel. y fax: (477) 716 8354. Correo electrónico: fajardomartha09@yahoo.com

\*\* Facultad de Odontología, Universidad de La Salle Bajío.

\*\*\* Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Guadalajara, Jalisco.

La periodontitis crónica moderada (PCM) es una enfermedad de larga duración que inicia y progresa sobre las superficies dentales y el periodonto, debido a la presencia de un biofilm compuesto principalmente por bacterias (Taba & Scombatti de Souza, 2012). La presencia de bacterias en el fluido crevicular gingival (FCG) desencadena una respuesta inmune en el hospedero (Pihlstrom, Michalowicz & Johnson, 2005), y se traduce en liberación de citocinas y quimiocinas en el periodonto. Las células del epitelio de unión producen interleucina (IL)-8, una citocina con actividad quimiotáctica para las células polimorfonucleares (PMN) (Botero, 2010). A su vez, la IL-2 es secretada por una subpoblación de linfocitos T que al activarse refuerzan las respuestas de mediación celular, por lo que constituye un mecanismo preciso para el control de la respuesta inmunitaria (proliferación de linfocitos T y B) (Valderrama, Vijande, Escribano, Garrido-Pertierra & Bascones, 2005). A la IL-2 se le ha dado un papel pro-inflamatorio principalmente (Scarel-Caminaga, Trevilatto, Souza, Brito & Line, 2002). La citocina IL-6 es liberada particularmente en la fase aguda, juega un papel esencial en la diferenciación final de las células B y es necesaria para la generación de las células linfocito T colaborador 17 (Th17), las cuales están relacionadas con la resorción ósea (Tanaka & Kishimoto, 2014).

Se ha sugerido que el tiempo de años desde el diagnóstico de la DMT2 determina la acumulación de distintos tipos de células del sistema inmune en el periodonto, lo que también provocaría daño a estos tejidos (Camen *et al.*, 2012; Olteanu *et al.*, 2011). Por otro lado, los incrementos en ciertas quimiocinas asociadas al sistema inmune innato contribuyen a un incremento en la inflamación en los tejidos promoviendo una mayor destrucción. No hay estudios sobre las citocinas producidas por subpoblaciones celulares y quimiocinas en el paciente diabético con periodontitis que tomen en cuenta el tiempo desde el diagnóstico de DMT2 para determinar que efecto tiene la diabetes sobre el sistema inmune en el periodonto.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio transversal en población adulta de 35 a 60 años, de ambos sexos, sin tabaquismo, en la ciudad de León, Guanajuato, México, con diagnóstico de DMT2 de recién diagnóstico ( $\leq 1$  año) y con 10 o más años desde su diagnóstico, además con PCM (Highfield, 2009): sarro subgingival, de progresión lenta a moderada, con bolsas periodontales de  $\geq 4$  mm

y  $\leq 6$  mm, sangrado al sondeo, pérdida de inserción clínica (CAL, por sus siglas en inglés) mayor a 3 mm. Los sujetos participantes se agruparon en cuatro grupos: 1) sujetos sistémicamente sanos con historia de salud clínica sin patologías crónicas referidas y con medición al sondeo  $\leq 3$  mm (sanos  $n = 20$ ); 2) sujetos con PCM, sin DMT2 (PCM,  $n = 220$ ); 3) sujetos con  $\leq 1$  año de diagnóstico de DMT2 (DMT2  $\leq 1 +$  PCM,  $n = 220$ ); 4) sujetos con  $\geq 10$  años de diagnóstico de DMT2 (DMT2  $\geq 10 +$  PCM,  $n = 220$ ). El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética Institucional y los participantes firmaron la carta de consentimiento informado. Se colectaron datos antropométricos y se realizaron estudios de laboratorio para cuantificar en suero los niveles de glucosa, hemoglobina glicosilada (HbA1c) y perfil de lípidos. Se realizó un periodontograma para evaluar los parámetros periodontales como profundidad de la bolsa, sangrado al sondeo, índice gingival, recesión gingival, pérdida de inserción, movilidad dental y número de dientes (Laster, Laundenbach & Stoller, 1975; Loe & Silness, 1963). Además, se obtuvieron muestras de FCG de los participantes de las zonas en donde se observó pérdida ósea o mediciones de profundidad sondeable mayores a 4 mm para cuantificar las citocinas IL-2, IL-6 y la quimiocina IL-8 por citometría de flujo (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA).

## Análisis estadístico

Los datos se expresan como media  $\pm$  desviación estándar (DE). Se realizaron medidas de tendencia central para analizar la distribución de los datos mediante la prueba de *Lillefort*. Se aplicó el análisis de la varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés) o su equivalente Kruskal-Wallis para analizar las diferencias entre los grupos. Para el análisis de las correlaciones se utilizó la prueba de Pearson o Spearman de acuerdo con la normalidad de las variables. Los datos se analizaron en el paquete estadístico STATISTICA 7 (StatSoft, Inc. USA). Un nivel de  $\alpha < 0.05$  se consideró significativo.

## RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran las características clínicas de los participantes del estudio. Con respecto a la edad e índice de masa corporal (IMC), el grupo de sujetos sanos fue diferente significativamente de los otros tres grupos ( $p < 0.005$ ). Además, se observaron mayores niveles de glucosa y HbA1c en los grupos con DMT2 con respecto a los otros dos grupos sin DMT2 ( $p < 0.03$ ). Los participantes mostraron un adecuado control de su glucosa de acuerdo con sus niveles de HbA1c.

## Características periodontales de los sujetos en los cuatro grupos

Se observaron diferencias en la profundidad de la bolsa, índice gingival (IG), sangrado y CAL en los grupos con PCM, DMT2  $\leq$  1 + PCM y DMT2  $\geq$  10 +

PCM (tabla 2) con respecto a los sanos. Referente a la movilidad dental, se observó mayor movilidad en los grupos con PCM ( $p < 0.03$ ) y DMT2  $\geq$  10 + PCM ( $p < 0.001$ ) frente al grupo de sujetos sanos. Con relación al número de dientes, el grupo de DMT2  $\geq$  10 + PCM mostró menor cantidad de éstos que el grupo de sujetos sanos ( $p < 0.002$ ).

**Tabla 1.**  
Características clínicas de los sujetos en los cuatro grupos.

Variable	Sanos n = 15 media $\pm$ DE	PCM n = 15 media $\pm$ DE	DMT2 $\leq$ 1 + PCM n = 15 media $\pm$ DE	DMT2 $\geq$ 10 + PCM n = 15 media $\pm$ DE	p
Género f/m	4/11	11/4	10/5	14/1	0.001
Edad (años)	37.0 $\pm$ 2.9	49.9 $\pm$ 5.68	47.5 $\pm$ 5.5	56.5 $\pm$ 3.6	0.000001
Índice de Masa Corporal (kg/m <sup>2</sup> )*	23.5 $\pm$ 2.2	29.4 $\pm$ 4.7	31.1 $\pm$ 4.7	32.3 $\pm$ 5.4	0.00001
Glucosa (mg/dl)*	91.7 $\pm$ 6.3	90.0 $\pm$ 13.9	151.4 $\pm$ 68.0b	156.2 $\pm$ 71.5b	0.00001
HbA1c %*	4.3 $\pm$ 0.5	4.0 $\pm$ 0.8	5.2 $\pm$ 1.3c	6.3 $\pm$ 1.6c	0.00001
Triglicéridos (mg/dl)	121.4 $\pm$ 53.9	143.05 $\pm$ 76.2	214.7 $\pm$ 185.2	158.5 $\pm$ 80.7	0.1
Colesterol (mg/dl)	179 $\pm$ 26.0	177.95 $\pm$ 38.2	206.7 $\pm$ 35.6d	194.9 $\pm$ 36.7	0.07
HDL (mg/dl)	64.7 $\pm$ 8.3	61.1 $\pm$ 8.97	68.1 $\pm$ 23.8	61.5 $\pm$ 8.2	0.5
LDL (mg/dl)	90.1 $\pm$ 22.6	81.27 $\pm$ 41.2	97.1 $\pm$ 37.4	101.7 $\pm$ 30.8	0.4
VLDL (mg/dl)	24.2 $\pm$ 10.8	28.6 $\pm$ 15.2	41.4 $\pm$ 32.5	31.7 $\pm$ 16.1	0.1

\* Datos analizados con la prueba de Kruskal-Wallis.

Lipoproteínas de alta densidad (HDL, por sus siglas en inglés); lipoproteínas de baja densidad (LDL, por sus siglas en inglés); lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, por sus siglas en inglés).

Fuente: Datos tomados del análisis clínico del estudio.

**Tabla 2.**  
Características clínicas de los sujetos en los cuatro grupos.

Variable	Sanos	PCM	PCM + DMT $\leq$ 1	PCM + DMT2 $\geq$ 10	p
PB (mm)*	0.00 $\pm$ 0.00	3.95 $\pm$ 0.35	3.86 $\pm$ 0.41	3.99 $\pm$ 0.88	0.0001
GI*	0.20 $\pm$ 0.41	2.67 $\pm$ 0.49	2.67 $\pm$ 0.62	2.60 $\pm$ 0.51	0.00001
Sangrado (%)*	3.15 $\pm$ 4.79	54.67 $\pm$ 21.17	57.21 $\pm$ 26.38	59.55 $\pm$ 23.14	0.00001
Movilidad (mm)	0.00 $\pm$ 0.00	0.53 $\pm$ 0.71	0.40 $\pm$ 0.51	0.79 $\pm$ 1.01	0.02
CAL (mm)	0.00 $\pm$ 0.00	3.88 $\pm$ 2.08	3.99 $\pm$ 1.88	4.61 $\pm$ 2.21	0.00001
Núm. de dientes*	28.87 $\pm$ 2.07	26.87 $\pm$ 4.29	26.33 $\pm$ 3.72	20.20 $\pm$ 8.91	0.001

\* Datos analizados con la prueba de Kruskal-Wallis.

Pérdida de inserción clínica (CAL, por sus siglas en inglés).

Fuente: Datos tomados del análisis clínico del estudio.

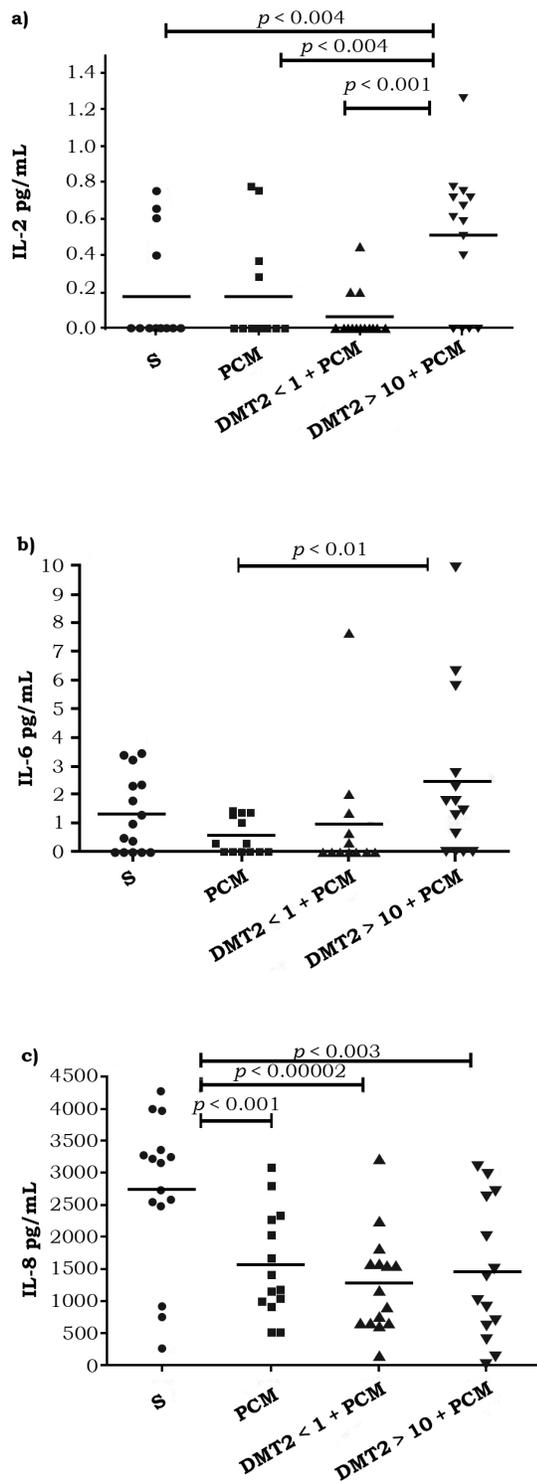


Figura 1. Niveles de citocinas en los grupos. S= Sanos. Fuente: Datos tomados del análisis clínico del estudio.

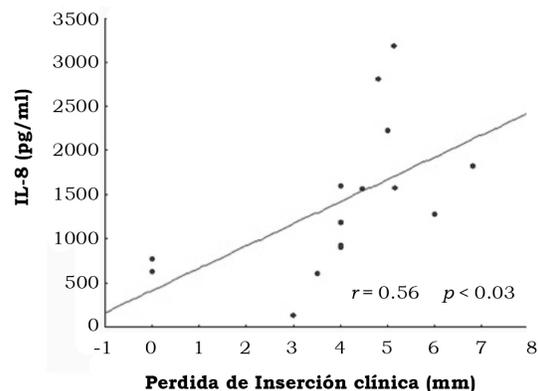


Figura 2. Correlación entre los niveles de IL-8 y la pérdida de inserción en el grupo de DMT2 con un año de recién diagnóstico. Fuente: Datos tomados del análisis clínico del estudio.

## Niveles de citocinas en los grupos

Los niveles de IL-2 ( $p < 0.006$ ) fueron significativamente mayores en el grupo de sujetos de DMT2  $\geq 10$  + PCM en comparación con los otros grupos (figura 1a). Los niveles de IL-6 en el grupo de DMT2  $\geq 10$  + PCM se encontraron significativamente más elevados que el grupo de PCM ( $p < 0.01$ ) (figura 1b). En contraste, los niveles de IL-8 (figura 1c) se observaron significativamente mayores en el grupo de participantes sanos con respecto a los demás grupos ( $p < 0.001$ ).

## Correlaciones de las citocinas y quimiocina con los parámetros periodontales

En el grupo de DMT2  $\leq 1$  + PCM los niveles de IL-8 correlacionaron positivamente con CAL (figura 2) y la movilidad dental ( $r = 0.54$ ,  $p = 0.036$ ). En el grupo de DMT2  $\geq 10$  + PCM los niveles de IL-2 correlacionaron positivamente con IG ( $\rho = 0.5$ ,  $p < 0.03$ ).

## DISCUSIÓN

Los sujetos con DMT2 presentaron una tendencia de elevación de todos los parámetros periodontales, a excepción del número de dientes, el cual mostró una disminución en su cantidad en comparación con los grupos sin DMT2. Esto señala una progresión en la enfermedad periodontal con el tiempo del diagnóstico de la DTM2. En el presente estudio se encontraron niveles significativamente elevados de IL-2 en los sujetos con DMT2  $\geq 10$  + PCM frente a los demás grupos. Muy pocos estudios han analizado los niveles de esta citocina

en FCG en sujetos con DMT2, encontrándose discrepancia en los reportes. Duarte *et al.* (2014) encontraron niveles más bajos de IL-2 en FCG de sujetos diabéticos descontrolados que de sujetos no diabéticos, ambos grupos con periodontitis crónica. Otros autores han reportado el incremento de la IL-2 durante estados de hiperglicemia (Allen, Matthews, O'Connor, O'Halloran & Chapple, 2009). Górska *et al.* (2003), en biopsias de tejido periodontal inflamado en sujetos con periodontitis crónica, reportaron niveles elevados de IL-2, los cuales correlacionaron con la severidad de la enfermedad periodontal. Se ha demostrado *in vitro*, mediante la utilización de células mononucleares periféricas de sujetos con artritis reumatoide, que esta citocina actúa estimulando, en conjunto con otras citocinas, la pérdida ósea al inducir la expresión del ligando del factor nuclear kappa B (RANKL, por sus siglas en inglés) en los osteoblastos (Harvey & Kaymakcalan, 2010).

Además, también se encontraron mayores niveles de IL-6 en FCG en el grupo de DMT2  $\geq 10$  + PCM con respecto al de PCM. Duarte *et al.* (2014) también reportaron mayores niveles de IL-6 en fluido crevicular en sujetos con DMT2 y periodontitis en comparación con sujetos con periodontitis solamente. Se ha reportado que la IL-6 es liberada en situaciones de estrés (como estados de hiperglucemia, trauma, etc.). La IL-6 puede determinar la transición de una situación de inflamación periodontal crónica a aguda (Garant & Mulvihill, 1972), lo cual provocaría mayor destrucción en los tejidos periodontales.

En este estudio se encontraron niveles significativamente más elevados de IL-8 en FCG de sujetos sanos en comparación con los grupos de los sujetos con periodontitis crónica y los sujetos con DMT2. En concordancia con nuestros resultados, Engebretson, Vossughi, Hey-Hadavi, Emingil & Grbic (2006) encontraron niveles bajos de IL-8 en FCG en sujetos con DMT2 en comparación con sujetos sin DMT2 con PCM. Durante la DMT2 se sobrecargan las vías metabólicas de la glucosa que llevan a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) y al estrés oxidativo (Keller, 1986). Las proteínas dañadas por el estrés oxidativo reducen su actividad biológica, lo que lleva a pérdida del metabolismo energético, la señalización celular y el transporte de sustancias (Vincent, Russell, Low & Feldman, 2004), lo que podría explicar los bajos niveles encontrados de esta citocina en este estudio en los participantes con DMT2. Encontramos una correlación significativa de IL-8 con movilidad dental y CAL en el grupo de DMT2  $\leq 1$  + PCM, y de este último parámetro con el grupo de DMT2  $\geq 10$  + PCM. La hiperglucemia provoca un aumento en la producción de

superóxido y de estrés oxidativo, lo cual también puede aumentar la inflamación crónica existente en la periodontitis (Engebretson *et al.*, 2006). Rothe *et al.* (1998) reportaron en osteoclastos *in vitro* que la liberación de IL-8 es estimulada por señales pro-inflamatorias adjuntas como IL-6, o lipopolisacáridos, encontradas en los tejidos periodontales inflamados. Engebretson *et al.* (2006), en contraste con nuestros resultados, no hallaron correlación de IL-8 con CAL en sujetos diabéticos con periodontitis; sin embargo, en dicho estudio se incluyeron sujetos fumadores en contraste con el presente estudio.

## CONCLUSIONES

Estos resultados sugieren que en el deterioro de los parámetros periodontales los pacientes con DMT2  $\geq 10$  + PCM muestran una respuesta adaptativa-destruccion del tejido periodontal en comparación con los sujetos con DMT2  $\leq 1$  + PCM.

## AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue financiado por la VII Convocatoria de Investigadores en Consolidación de la Universidad de La Salle Bajío y la Dirección de Apoyo a la Investigación y al Posgrado (DAIP) de la Universidad de Guanajuato. Sandra Estefanía Almaguer García obtuvo una beca del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) para la realización de estudios de maestría.

## REFERENCIAS

- Allen, E. M., Matthews, J. B., O'Connor, R., O'Halloran, D. & Chapple, I. L. C. (2009). Periodontitis and Type 2 Diabetes: Is Oxidative Stress the Mechanistic Link? *Scottish Medical Journal*, 54(2), 41-47.
- Boletín de la Academia Nacional de Medicina de México (ANMM) (2013). Enfermedad periodontal y diabetes mellitus, influencia bidireccional. *Revista de la Facultad de Medicina*, 56(1), 55-58. Recuperado de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0026-17422013000500008&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0026-17422013000500008&lng=en&nrm=iso)
- Botero, J. E. (2010). Determinantes del diagnóstico periodontal. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*, 3(2), 94-99.
- Camen, G. C., Caravan, O., Olteanu, M., Camen, A., Bunget, A. & Carmen F. (2012). Inflammatory reaction in chronic periodontopathies in patients with diabetes mellitus. Histological and immunohistochemical study. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 53(1), 55-60.
- Duarte, P. M., Bezerra, P. J., Miranda, T. S., Feres, M., Chambrone, L. & Shaddox, L. M. (2014). Local levels of inflammatory mediators in uncontrolled type 2 diabetic subjects with chronic Periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 41(1), 11-18.

- Engebretson, S. P., Vossughi, F., Hey-Hadavi, J., Emingil, G. & Grbic, J. T. (2006). The influence of diabetes on gingival crevicular fluid b-glucuronidase and interleukin-8. *Journal of Clinical Periodontology*, 33(11), 784-790.
- Garant, P. R. & Mulvihill, J. E. (1972). The fine structure of gingivitis in the Bengal. III. Plasma cell infiltration of the subepithelial connective tissue. *Journal of Periodontal Research*, 7(2), 161-172.
- Górska, R., Gregorek, H., Kowalski, J., Laskus-Perendyk, A., Syczewska, M. & Madaliński K. (2003). Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 30(12), 1046-1052.
- Harvey, B. P. & Kaymakalan, Z. (2010). RANKL Expression in Human T-Lymphocytes Requires Cooperative Signaling through the T-Cell Receptor and Adhesion Molecule CD2. *Journal of Translational Medicine*, 8(Suppl 1), O4.
- Highfield J. (2009). Diagnosis and classification of periodontal disease. *Australian Dental Journal*, 54(1Suppl), S11-S26.
- Keller, U. (1986). Diabetes Ketoacidosis: current views on pathogenesis and treatment. *Diabetologia*, 29(2), 71-77.
- Laster, L., Laundenbach, K. W. & Stoller, N. H. (1975). An evaluation of clinical tooth mobility measurements. *Journal of Periodontology*, 46(10), 603-607.
- Löe, H. (1993). The periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 16(1), 329-334.
- Löe, H. & Silness, J. (1963). Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odontologica Scandinavica*, 21(6), 533-551.
- Nishimura, F., Takahashi, K., Kurihara, M., Takashiba, S. & Murayama, Y. (1998). Periodontal disease as a complication of diabetes mellitus. *Annals of Periodontology*, 3(1), 20-29.
- Olteanu, M., Surlin, P. B., Rauten, A. M., Popescu, R. M., Nițu, M., Camen, G. C. & Caraivan, O. (2011). Gingival inflammatory infiltrate analysis in patients with chronic periodontitis and diabetes mellitus. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 52(4), 1311-1317.
- Pihlstrom, B. L., Michalowicz, B. S. & Johnson, N. W. (2005). Periodontal diseases. *Lancet*, 366(9499), 1809-1820.
- Rothe, L., Collin-Osdoby, P., Chen, Y., Sunyer, T., Chaudhary, L., Tsay, A., Goldring, S., Avioli, L. & Osdoby, P. (1998). Human osteoclasts and osteoclast-like cells synthesize and release high basal and inflammatory stimulated levels of the potent chemokine interleukin-8. *Endocrinology*, 139(10), 4353-4363.
- Scarel-Caminaga, R. M., Trevisatto, P. C., Souza, A. P., Brito, R. B. & Line, S. R. (2002). Investigation of an IL-2 polymorphism in patients with different levels of chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 29(7), 587-591.
- Taba, M. Jr. & Scombatti de Souza, S. (2012). Periodontal disease: a genetic perspective. *Brazilian Oral Research*, 26(Spec Iss 1), 32-38.
- Tanaka, T. & Kishimoto, T. (2014). The biology and medical implications of interleukin-6. *Cancer Immunology Research*, 2(4), 288-294.
- Vincent, A. M., Russell, J. W., Low, P. & Feldman, E. L. (2004). Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocrinology Reviews*, 25(4), 612-628.
- Valderrama, G., Vijande, F., Escribano, J. M., Garrido-Pertierra, A. & Bascones, A. (2005). El polimorfismo de la IL-1 y su eventual asociación con la enfermedad periodontal crónica. Una revisión de la literatura (II). *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*, 17(3), 157-163.