Papel de la IL-6 y TNF- α en la enfermedad periodontal

CARRILLO DE ALBORNOZ SAINZ A*
GARCÍA KASS A**
BASCONES MARTÍNEZ A***

Carrillo de Albornoz Sainz A, García Kass A, Bascones Martínez A.
Papel de la IL-6 y TNF- α en la enfermedad periodontal. Av Periodon
Implantol. 2006; 18, 2: 83-89.

RESUMEN

La periodontitis se inicia por una serie de patógenos que inducen una cascada inflamatoria que estimula la destrucción de los tejidos mediada por el huésped. Están implicados un gran número de mediadores inflamatorios, entre los que destacan IL-6 y TNF- α . La IL-6 es una citocina pleiotrópica de compleja actividad biológica, cuya función principal vinculada a la periodontitis es la inducción de la reabsorción ósea. TNF- α es una citocina proinflamatoria cuya función más destacada es el reclutamiento y estimulación de neutrófilos y monocitos. Su papel en la periodontitis es diverso, ya que promueve tanto la inflamación, como la pérdida ósea y la destrucción del tejido conectivo, a la vez que limita la capacidad de reparación del periodonto.

PALABRAS CLAVE

IL-6, TNF- α , citocinas, periodontitis.

Aceptado para publicación: Octubre 2005.

INTRODUCCIÓN

La homeostasis de los tejidos requiere un equilibrio entre actividades anabólicas y catabólicas¹. La periodontitis se inicia por una serie de patógenos que inducen una cascada inflamatoria que estimula la destrucción de los tejidos mediada por el huésped. Están implicados un gran número de mediadores inflamatorios, incluyendo una amplia variedad de citocinas producidas por distintos tipos celulares como monocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos, neutrófilos, células endoteliales y fibroblastos.

Las citocinas son polipéptidos reguladores que intervienen en la comunicación intercelular con un amplio espectro de propiedades inflamatorias, hemato-poyéticas, metabólicas e inmunomoduladoras. Junto con sus receptores asociados forman una compleja red funcional de estricto control biológico, que incluye el feedback o retroalimentación^{2,3}. Actúan regulando las células endoteliales y las moléculas de adhesión leucocitarias, hecho imprescindible para que los leucocitos abandonen los vasos sanguíneos y se infiltren en los tejidos circundantes. En tejidos clínicamente sanos, se ha observado la presencia en baja cantidad de citocinas proinflamatorias como IL-1 β , IL-6 y TNF- α , ya

---

* Doctorando en el Departamento de Medicina y Cirugía Bucofacial. Facultad de Odontología. UCM
** Doctorando en el Departamento de Medicina y Cirugía Bucofacial. Facultad de Odontología. UCM
*** Catedrático de Medicina y Cirugía Bucofacial, Departamento de Estomatología III. Facultad de Odontología. UCM

---

que la concentración de citoquinas debe ser adecuada para mantener la homeostasis de los tejidos⁴ (Fig. 1).

Sin embargo, en condiciones patológicas puede producirse un desequilibrio en la actividad de las citoquinas y adoptar patrones proinflamatorios destructivos. La enfermedad periodontal debe verse en el contexto de la interrelación de factores del hospedador, ambientales y microbiológicos. La secuencia exacta de eventos aún no se ha establecido, aunque se sabe que la destrucción que ocurre en la enfermedad periodontal es inducida por una sobre-reacción del sistema inmune frente a patógenos periodontales procedentes del biofilm de los dientes adyacentes. Si la respuesta del huésped es suficientemente proinflamatoria en intensidad o duración y está lo bastante próxima a estructuras periodontales críticas, se producirán enzimas líticas, factores apoptóticos y mediadores de reabsorción ósea que darán paso a la destrucción del tejido.

La liberación de citoquinas puede ser desencadenada de forma directa mediante contacto antigénico⁵ o indirecta mediante moléculas de señalización expresadas por células inmunes antígeno-reactivas⁶. La inducción de mediadores primarios tales como IL-1 o TNF estimula la producción de mediadores secundarios, incluyendo las quimioquinas, que actúan como citoquinas quimiotácticas. Esto produce una amplificación de la respuesta inflamatoria, la inducción de enzimas que degradan el tejido conectivo y la reabsorción ósea por parte de los osteoclastos. También se ha discutido el impacto de las citoquinas sobre la muerte celular programada, o apoptosis de los fibro-

blastos, ya que la pérdida de dichos fibroblastos puede limitar la reparación del tejido conectivo dañado⁷.

INTERLEUQUINA 6 (IL-6)

La IL-6 es una citoquina pleiotrópica que puede ser secretada por distintas células, como monocitos/macrófagos, células T, fibroblastos, hepatocitos, células endoteliales, y neuronas⁸. Las principales fuentes en el organismo humano son las células T y B, fibroblastos, y monocitos/macrófagos. La síntesis de IL-6 por células secretoras es compleja y depende de la interrelación celular. De esta manera, las células T requieren de la estimulación previa por monocitos para su secreción, mientras que los monocitos son capaces de sintetizar IL-6 sin la necesidad de otras células⁹. Se ha demostrado que el antiinflamatorio no esteroideo indometacina, inhibidor de la producción de PGE₂, puede inhibir la producción de IL-6 por parte de los fibroblastos¹⁰, sugiriendo que la PGE₂ es un importante modulador endógeno de IL-6.

Se han encontrado elevados niveles de IL-6 en sangre en infecciones virales y bacterianas, neoplasia, trauma, y enfermedad crónica inflamatoria¹¹. Dentro de este último grupo de enfermedades cabe destacar la artritis reumatoide, enfermedad en la que el papel de la IL-6 no está definido ya que en determinados estudios se refieren niveles elevados de dicha citoquina en el líquido sinovial¹², mientras que otros¹³ encuentran que los niveles de IL-6 en la sangre periférica de pacientes con artritis reumatoide eran similares a los de los sujetos sanos. Asimismo, se ha establecido una asociación entre elevados niveles sistémicos de IL-6, proteína C reactiva y neutrófilos y aumento del riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares¹⁴.

La actividad biológica de la IL-6 es muy diversa: diferenciación de células B a células plasmáticas, activación de células T, liberación de proteínas de fase aguda por parte de los hepatocitos y activación de la cascada del complemento¹⁵. De particular importancia es la habilidad de IL-6 para inducir reabsorción ósea, tanto de forma aislada como sinérgicamente con IL-1¹⁶, hecho que se ha demostrado en estudios *in vitro*¹⁷. Esta reabsorción ósea probablemente sea debida a una estimulación y diferenciación por parte de la IL-6 a los precursores de los osteoclastos¹⁸. En un estudio realizado por Dongari-Bagtzoglou y cols.¹⁹, se observó que varias bacterias periodontopatógenas (*Actinobacillus actinomycetemcomitans* y *Campylobacter rectus*) intensificaron la secreción de IL-6 e IL-8 por

Fig. 1: Toma de muestras de fluido gingival crevicular mediante Periopaper para la detección de citoquinas.

fibroblastos gingivales tanto en lesiones periodontales como en localizaciones sanas, sugiriendo que los fibroblastos pueden estar involucrados no sólo en la amplificación sino también en el inicio de la respuesta inflamatoria (Tabla 1).

La IL-6 es útil en periodoncia como herramienta diagnóstica. Se ha medido su concentración en el fluido gingival crevicular (Fig. 1), en sangre periférica y en tejido gingival para determinar la progresión de la enfermedad²⁰. Se encontró que la IL-6 es indicador de pérdida de inserción incipiente y de actividad de la enfermedad.

La IL-6 juega un importante papel en situaciones de estrés. La liberación de la IL-6 inducida por una situación de estrés puede determinar la transición de una situación de inflamación periodontal crónica a aguda, en la que predominarían las células plasmáticas como células de defensa²¹. La producción de IL-6 en situaciones de estrés se confirmó en un estudio en el que se observaron elevadas concentraciones de IL-6 en la saliva de pacientes con periodontitis agresiva y con estrés postraumático como resultado del estrés generado en la guerra, en comparación con controles sanos sin estrés²². En dichas situaciones, se producen en el sistema inmune una serie de cambios locales y sistémicos frente a antígenos y bacterias que son inducidos por una compleja red de señales que conectan los sistemas nervioso, endocrino e inmune. En concreto, los desequilibrios entre células Th1 y Th2 y la secreción aumentada de IL-6 son fundamentales en la patogenia de la enfermedad periodontal. La IL-6 frecuentemente se ha denominado “citoquina inducible por estrés”.

En un estudio realizado por Giannopoulou y cols²³ se observó una asociación significativa entre IL-6, tabaco

y estrés. En pacientes fumadores, se produce un desequilibrio en la producción de citoquinas. Boström y cols²⁴ no observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de IL-6 en FGC entre fumadores, exfumadores y no fumadores, en pacientes con periodontitis moderada a severa. Por el contrario, Tappia y cols²⁵ encontraron elevadas concentraciones de IL-6 en el plasma de fumadores, al igual que en las células alveolares de donantes sanos estimuladas con glicoproteína del tabaco, una glicoproteína rica en fenol, presente en las hojas y el humo del tabaco²⁶.

La influencia de la IL-6 en la enfermedad periodontal ha sido ampliamente documentada. Reinhardt y cols²⁷ encontraron niveles significativamente mayores en FGC de IL-6 en localizaciones de pacientes con periodontitis refractaria que en sujetos estables. Lee y cols²⁸ encontraron niveles significativamente mayores de IL-6 en FGC en localizaciones activas que inactivas, tanto en baseline como a los 3 meses. Geivelis y cols²⁹ observaron una correlación positiva entre sangrado gingival e IL-6, y entre profundidad de sondaje e IL-6 en pacientes con periodontitis. Por el contrario, Bozkurt y cols³⁰ no encontraron una correlación significativa entre parámetros periodontales y los niveles de IL-6 en FGC en pacientes con periodontitis del adulto. Estos hallazgos pueden significar que la producción local de mediadores inflamatorios varía de una región a otra y de paciente a paciente, y que los niveles de los mediadores inflamatorios en pacientes periodontales pueden verse influenciados por diversos factores como la composición bacteriana local²⁷.

FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (TNF- α)

La superfamilia de TNF está formada por 20 proteínas o ligandos, entre los que se incluye TNF- α , cuya acción principal se desarrolla en el sistema inmune, modulando tanto la inmunidad innata como adquirida, aunque se han descrito funciones no inmunológicas³¹.

El factor de necrosis tumoral α (TNF- α) fue originalmente descrito como una proteína capaz de eliminar células tumorales *in vitro*. Su principal función es el reclutamiento y estimulación de neutrófilos y monocitos, junto con la inducción y regulación de mediadores de la inflamación, ya que desempeña un importante papel en la protección frente a la infección bacteriana³². A nivel sistémico se relaciona con estados febriles, shock, necrosis tumoral y apoptosis celu-

TABLA I.- PAPEL POTENCIAL DE LA IL-6 EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

- Diferenciación de células B a células plasmáticas
- Activación de células T
- Liberación de proteínas de fase aguda (hepatocitos)
- Activación complemento
- Reabsorción ósea

lar. Su sobreproducción ha sido descrita como un factor nocivo relacionado con la patogénesis de procesos crónicos, tales como la autoinmunidad, el rechazo de órganos trasplantados, artritis reumatoide y fallo cardíaco congestivo³³.

TNF- α es una citoquina proinflamatoria e inmunomoduladora producida por un amplio espectro de células como monocitos, macrófagos, linfocitos B y T, células NK, así como células no pertenecientes al sistema inmune como fibroblastos y queratinocitos. Su incremento ha sido detectado en localizaciones de pacientes con periodontitis, y está asociado a la destrucción y reabsorción ósea³⁴⁻³⁵.

Ejerce su acción a través de dos receptores, receptores 1 y 2 de TNF- α (TNFR1 y TNFR2), expresados en la mayoría de las células. El principal receptor responsable de la señalización intercelular parece ser TNFR1, mientras que TNFR2 potencia esta actividad. De esta manera, TNFR2 podría incrementar la sensibilidad de una célula a la estimulación de TNF- α , aunque en condiciones experimentales también se ha observado que TNFR2 puede reducir la respuesta inflamatoria³⁶. Ambos receptores pueden presentarse de forma soluble debido a la sección del dominio extracelular del receptor por metaloproteinasas (MMP) en respuesta a señales inflamatorias. Las formas solubles actúan como inhibidores naturales de la actividad de TNF- α , ya que

compiten por esta citoquina con los receptores transcelulares, bloqueando su actividad³⁷. De esta manera, el papel de TNFR1 y TNFR2 no se limita a la transducción de señales, sino que también ejercen funciones autorreguladoras extracelulares que afectan a la biodisponibilidad de TNF- α .

Para prevenir una respuesta inflamatoria excesiva que conlleve a la destrucción tisular la actividad de TNF- α debe ser regulada. Esta actividad se lleva a cabo gracias a las citoquinas antiinflamatorias, como IL-10, IL-4 y las formas solubles de sus receptores. Estas citoquinas antagonistas inhiben la unión del ligando con los receptores por concurrencia competitiva, bloqueando su acción e impidiendo su desarrollo de señalización intercelular. La importancia de estos mediadores antagónicos ha sido demostrada experimentalmente, ya que el empleo de receptores solubles in vivo ha demostrado que logra inhibir procesos patológicos tales como la artritis, el shock séptico, inflamaciones dérmicas y procesos autoinmunes³⁸. Delima y cols³⁹ realizaron un diseño experimental en primates y concluyen que los receptores solubles de IL-1 y TNF- α redujeron significativamente la pérdida de tejido conectivo y hueso alveolar tras la inducción de periodontitis experimental con ligaduras.

Es concebible que las diferencias individuales en la susceptibilidad o severidad de la enfermedad perio-

Fig.2: Mecanismos de actuación del TNF- α en la enfermedad periodontal (Graves y cols, 2003).

dontal puedan estar relacionadas con diferencias determinadas genéticamente en la producción de TNF- α , la cual ha sido una de las citoquinas más estudiadas en periodontitis, especialmente las posiciones -238 y -308. Sin embargo, la tónica general es la ausencia de asociación entre los diferentes polimorfismos de TNF y la periodontitis a excepción de la población japonesa, donde se ha descrito su asociación con varios polimorfismos^{7,40-41}.

En la enfermedad periodontal, TNF- α induce el reclutamiento de leucocitos circulantes y estimula la producción de otros mediadores, como prostaglandinas, IL-1, IL-6, MMP y factor activador de plaquetas, amplificando o manteniendo la respuesta inflamatoria. De esta manera, la capacidad reparativa del periodonto se reduce, dando como resultado un balance negativo con destrucción tisular. La figura 2 sintetiza el impacto potencial de TNF- α en la enfermedad periodontal⁴².

TNF- α e IL-1 β son producidas por monocitos y macrófagos en las etapas tempranas de la respuesta inflamatoria. Ambas citoquinas proinflamatorias estimulan directamente a los osteoclastos para inducir la reabsorción ósea y promueven la liberación de enzimas tisulares y MMP, responsables de la degradación de la matriz extracelular, ligamento periodontal y hueso alveolar^{39,43-44}.

CONCLUSIÓN

La carga bacteriana estimula tanto la respuesta inmune innata como adquirida con el objeto de proteger al huésped de la invasión tisular. Sin embargo, esta inflamación autoprotectora en ocasiones puede causar daños colaterales si la respuesta generada es excesiva en intensidad y duración, convirtiendo la respuesta fisiológica en patológica. De esta manera, la producción de enzimas líticas, factores apoptóticos y mediadores de reabsorción ósea pueden desencadenar la destrucción periodontal.

Tanto la IL-6 como TNF- α juegan un papel crítico en el desarrollo de la respuesta inmunológica del huésped ante la agresión bacteriana. De forma simultánea, además de promover y mantener el estado proinflamatorio, también pueden reducir la capacidad de reparación de los tejidos dañados.

Por estos motivos, dado que la sobreproducción de estas citoquinas está relacionada con estados patoló-

gicos, es necesario controlar la infección periodontal para poder mantener concentraciones fisiológicas de estos mediadores inflamatorios.

SUMMARY

Periodontal disease is initiated by several pathogens which induce an inflammatory cascade which stimulates the tisular destruction mediated by the host. Many inflammatory mediators are involved in this process. Amongst them we can remark IL-6 and TNF- α . IL-6 is a pleiotropic cytokine of complex biological activity, which principal function linked to periodontitis is the induction of osseous resorption. TNF- α is a proinflammatory cytokine which main function is the recruitment and stimulation of neutrophils and monocytes. Its role upon periodontitis is diverse. It gives rise to inflammation, as well as osseous resorption and connective tissue destruction, and limitates the reparative potential of periodontium.

KEY WORDS

IL-6, TNF- α , citokines, periodontitis.

BIBLIOGRAFÍA

1. Birkedal-Hansen H. Proteolytic remodeling of extracellular matrix. *Curr Opin Cell Biol* 1995; 7: 718-35.
2. 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;30(12): 1046-52.
3. Bascones A, González Moles MA. Mecanismos inmunológicos de las enfermedades periodontales y periimplantarias. *Av Periodon Implantol*. 2003;15:121-38.
4. Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; 9: 248-66.
5. Dongari-Bagtzoglou AI, Ebersole JL. Production of inflammatory mediators and cytokines by human gingival fibroblasts following bacterial challenge. *J Periodont Res* 1996;31:90-8.

6. Elias JA, Zitnik RJ, Ray P. Fibroblast immune-effector function. En: Phipps RP, ed. Pulmonary fibroblast heterogeneity. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc; 1992:295-322.
7. Graves D, Oskoui M, Volejnikova S, et al. Tumor necrosis factor modulates fibroblast apoptosis, PMN recruitment, and osteoclast formation in response to *P. gingivalis* infection. *J Dent Res* 2001;80:1875-9.
8. Van Snick J. Interleukin-6: an overview. *Annual Review of Immunology* 1990;8:253-78.
9. Horii Y, Muraguchi A, Suematsu S, Matsuda T, Kishimoto T. Regulation of BSF-2/IL-6 production by human mononuclear cells: macrophage dependent synthesis of BSF-2/IL-6 by T cells. *Journal of Immunology* 1988;141:1529-34.
10. Czuszek CA, Sutherland DE, Billman MA, Stein SH. Prostaglandin E₂ potentiates interleukin 1 β induced interleukin-6 production by human gingival fibroblasts. *J Clin Periodontol* 1996;23:635-40.
11. Hirano T, Akira S, Taga T, Kishimoto T. Biological and clinical aspects of interleukin 6. *Immunol Today* 1990; 11: 443-9.
12. Bertazzolo N, Punzi L, Stefani MP et al. Interrelationships between IL-1, IL-6 and IL-8 in synovial fluid of various arthropathies. *Agents Actions* 1994;41:90-2.
13. Houssiau FA, Devogelaer J, Van Damme J, Nagant de Deuxchaisnes C, Van Snick J. Interleukin-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides. *Arthritis Rheum* 1988;3:784-8.
14. Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PME. Elevation of systemic markers to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol* 2000;71:1528-34.
15. Revel M. Host defense against infections and inflammations: role of the multifunctional IL-6/IFN- β 2 cytokine. *Experientia* 1989;45:549-57.
16. Ishimi Y, Miyaura C, Jin CH, Akatsu T, Abe E, Nakamura Y, Yamaguchi A, Yoshiki S, Matsuda T, Hirano T. IL-6 is produced by osteoblasts and induces bone resorption. *Journal of Immunology* 1990;145:3297-303.
17. Mundy GR. Inflammatory mediators and the destruction of bone. *J Periodont Res* 1991;26:213-7.
18. Irwin CR, Myrillas TT. The role of IL-6 in the pathogenesis of periodontal disease. *Oral Dis* 1998; 4:43-7.
19. Dongari-Bagtzoglou AI, Ebersole JL. Increased presence of IL-6 and IL-8 secreting fibroblast subpopulations in adult periodontitis. *J Periodontol* 1998;69:899-910.
20. Gemmel E, Marshall R. I., Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontology* 2000 1997; 14:112-43.
21. Garant PR, Mulvihill JE. The fine structure of gingivitis in the beagle. III. Plasma cell infiltration of the subepithelial connective tissue. *Journal of Periodontal Res* 1972;7:161-72.
22. Aurer A, Aurer-Kozelj J, Stavljenic-Rukavina A, Kalenic S, Ivic-Kardum M, Haban V. Inflammatory mediators in saliva of patients with rapidly progressive periodontitis during war stress induced incidence increase. *College of Antropology* 1999;23:117-24.
23. Giannoupoulou C, Kamma JJ, Mombelli A. Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *J Clin Periodontol* 2003; 30:145-53.
24. Boström L, Linder LE, Bergström J. Smoking and crevicular fluid levels of IL-6 and TNF-alpha in periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1999;26:352-7.
25. Tappia PS, Troughton KL, Langley-Evans SC, Grimble RF. Cigarette smoking influences cytokine production and antioxidant defences. *Clinical Sciences* 1995;88: 485-9.
26. Francus T, Romano PM, Manzo G, Fonacier L, Arango N, Szabo P. IL-1, IL-6 and PDGF mRNA expression in alveolar cells following stimulation with a tobacco-derived antigen. *Cell Immunology* 1992;145:156-74.
27. Reinhardt RA, Masada MP, Kaldahl WB et al. Gingival fluid IL-1 and IL-6 levels in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol* 1993;20:225-31.
28. Lee HJ, Kang IK, Chung CP, Choi SM. The subgingival microflora and gingival crevicular fluid cytokines in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol* 1995;22:885-90.
29. Geivelis M, Turner CW, Pederson ED, Lamberts BL. Measurements of IL-6 in gingival crevicular fluid from

- patients with destructive periodontal disease. *J Periodontol* 1993;64:980-3.
30. Bozkurt FY, Berker E, Akkus S, Bulut S. Relationship between IL-6 levels in gingival crevicular fluid and periodontal status in patients with rheumatoid arthritis and adult periodontitis. *J Periodontol* 2000;71:1756-60.
  31. Locksley, R. M., Killeen, N., and Lenardo, M. J. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell*. 2001;104:487-01.
  32. Gamble, J. R., Harlan, J. M., Klebanoff, S. J., and Vadas, M. A. Stimulation of the adherence of neutrophils to umbilical vein endothelium human recombinant tumor necrosis factor. *Proc Natl Acad Sci*. 1985;82:8667-71.
  33. Láinez B. Clonaje y caracterización de una nueva forma soluble de TNFR2 producida por splicing alternativo. Estudio de su implicación en patologías asociadas a inflamación. Tesis doctoral, 2004.
  34. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology* 2000;14:216-48.
  35. Gemmell E, Marshall RI. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontology* 2000,1997;14: 112-43.
  36. Amar S, Van Dyke E, Eugster HP, Schultze N, Koebel P & Bluethmann H. Tumor necrosis factor (TNF)-induced cutaneous necrosis is mediated by TNF receptor 1. *J Inflamm*, 1995;47:180-9.
  37. Aderka D. The potential biological and clinical significance of the soluble tumor necrosis factor receptor. *Cytokine and Growth factor Review*. 1996;7: 231-40.
  38. Stewart, R. J. & Marsden, P. A. Biologic control of the tumor necrosis factor and interleukin-1 signaling cascade. *Am J Dis*. 1995;25:954-66.
  39. Delima AJ, Oates T, Assuma R, Schwartz Z, Cochran D, Amar S, Graves DT. Soluble antagonists to interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) inhibits loss of tissue attachment in experimental periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2001; 28(3):233-40. Takashiva S, Naruishi K. Gene polymorphisms in periodontal health and disease. *Periodontology* 2000. 2006;40 (1): 94-106.
  40. Soga N, Ohyama H, Maeda H, Takashiba S, Murayana Y. Tumor necrosis factor-alpha gene (TNF-alpha) -1031/-863, -857 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) are associated with severe adult periodontitis in Japanese. *J Clin Periodontol*. 2003;30(6):524-31.
  41. Shimada Y, Tai H, Endo M, Kobayashi T, Akazawa K, Yamazaki K. Association of tumor necrosis factor receptor type 2 +587 gene polymorphism with severe chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2004;31(6):463-9.
  42. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol*. 2003;74(3):391-01.
  43. Thompson BM, Mundy GR, Chambers T. TNF alpha y beta induce osteoclastic cells to stimulate osteoclastic bone resorption. *Journal of Immunology*, 1987;138:775-79.
  44. Assuma R, Oates T, Cochran D, Amar S, Graves DT. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J Immunol*. 1998;160(1):403-9.