

4-30-2014

Academic Stress Influences Periodontal Health Condition and Interleukin-1 beta Level

Sandra O. Kuswandani

Periodontics Residency Program, Faculty of Dentistry, Universitas Indonesia, Jakarta 10430, Indonesia,
drg.sandra@gmail.com

Sri LC. Masulili

Department of Periodontics, Faculty of Dentistry, Universitas Indonesia, Jakarta 10430, Indonesia

Nurtami Soedarsono

Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Universitas Indonesia, Jakarta 10430, Indonesia

Yulianti Kemal

Follow this and additional works at: <https://scholarhub.ui.ac.id/jdi>

Recommended Citation

Kuswandani, S. O., Masulili, S. L., Soedarsono, N., & Kemal, Y. Academic Stress Influences Periodontal Health Condition and Interleukin-1 beta Level. *J Dent Indones.* 2014;21(1):

This Article is brought to you for free and open access by the Faculty of Dentistry at UI Scholars Hub. It has been accepted for inclusion in *Journal of Dentistry Indonesia* by an authorized editor of UI Scholars Hub.

ORIGINAL ARTICLE

Academic Stress Influences Periodontal Health Condition and Interleukin-1 beta Level

Sandra O. Kuswandani¹, Sri LC. Masulili², Nurtami Soedarsono³, Yulianti Kemal²

¹Periodontics Residency Program, Faculty of Dentistry, Universitas Indonesia, Jakarta 10430, Indonesia

²Department of Periodontics, Faculty of Dentistry, Universitas Indonesia, Jakarta 10430, Indonesia

³Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Universitas Indonesia, Jakarta 10430, Indonesia

Correspondence e-mail to: drg.sandra@gmail.com

ABSTRACT

Stress is a risk factor for periodontal disease, causing increase levels of interleukin-1 beta that involve in periodontal destruction. **Objective:** To analyze the relationship between academic stress in residency program students conditions and levels of interleukin-1 beta in gingival crevicular fluid. **Methods:** Thirty eight subjects filled the questionnaire of Graduate Dental Environmental Stress (GDES), periodontal examination and samples of gingival crevicular fluid were tested for interleukin-1 beta with the Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) test. **Results:** There were significant differences between academic stress to periodontal tissue in oral hygiene ($p=0.038$), bleeding on probing index ($p=0.02$), but no significant differences in pocket depth and loss of attachment ($p=0.972$). There were significant differences between academic stress to levels of interleukin-1 beta ($p=0.03$), but no significant differences between levels of interleukin-1 beta to periodontal tissue in oral hygiene ($p=0.465$), bleeding on probing index ($p=0.826$), pocket depth ($p=0.968$), and loss of attachment ($p=0.968$). **Conclusion:** Academic stress influences the periodontal risk factor and level of interleukin-1 beta.

ABSTRAK

Stres akademik mempengaruhi kesehatan jaringan periodontal dan kadar interleukin-1 beta. Stres merupakan faktor risiko penyakit periodontal yang dapat meningkatkan kadar interleukin-1 dan berperan pada kerusakan jaringan periodontal. **Tujuan:** menganalisis hubungan antara stres akademik pada mahasiswa program studi spesialis dengan kondisi jaringan periodontal dan kadar interleukin-1 beta dari cairan krevikular gingiva. **Metode:** Tiga puluh delapan subjek penelitian mengisi kuesioner *Graduate Dental Environmental Stress (GDES)*, pemeriksaan klinis periodontal, dan pengambilan sampel dari cairan sulkus gingiva dari delapan titik di regio anterior dan posterior serta pemeriksaan kadar interleukin-1 beta dengan *Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)*. **Hasil:** Terdapat perbedaan bermakna ($p<0,05$) antara tingkatan stres akademik dengan kondisi jaringan periodontal yaitu tingkat kebersihan mulut ($p=0,038$), indeks perdarahan gingiva ($p=0,02$), namun tidak pada kedalaman poket dan tingkat perlekatan klinis ($p=0,972$). Terdapat perbedaan bermakna ($p=0,03$) antara kadar interleukin-1 beta dengan tingkatan stres akademik. Tidak terdapat perbedaan bermakna ($p>0,05$) antara kadar interleukin-1 beta dengan kondisi jaringan periodontal yaitu tingkat kebersihan mulut ($p=0,465$), indeks perdarahan gingiva ($p=0,826$), kedalaman poket ($p=0,968$), tingkat perlekatan klinis ($p=0,968$). **Simpulan:** Stres akademik memiliki pengaruh terhadap risiko penyakit periodontal dengan peningkatan kadar interleukin-1 beta dalam cairan krevikular gingiva.

Key words: academic stress, gingival crevicular fluid, interleukin-1 beta, periodontal disease

PENDAHULUAN

Etiologi dan patogenesis dari penyakit periodontal adalah multi faktorial. Stres merupakan salah satu faktor risiko terjadinya penyakit periodontal. Stres diduga meningkatkan kadar interleukin-1 beta (IL-1 β) yaitu sitokin pro-inflamasi yang dapat berpengaruh terhadap destruksi dan kerusakan jaringan periodontal.^{1,2} Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa stres mungkin terkait dengan kesehatan periodontal karena meningkatnya kadar IL-1 β secara lokal, terutama ketika kebersihan mulut buruk.³ IL-1 β adalah sitokin pro-inflamasi yang berperan penting dalam regulasi reaksi inflamasi.^{1,2} Hasil penelitian menunjukkan bahwa dalam cairan krevikular gingiva (CKG), sitokin IL-1 β , IL-6 dan IL-8 merefleksikan aktivitas dari kerusakan periodontal, sedangkan sitokin IL-4 menunjukkan hal sebaliknya.^{4,5} Beberapa penelitian tentang kadar IL-1 β menyimpulkan bahwa terdapat hubungan antara stres dengan kondisi jaringan periodontal.

Stres akademik pada mahasiswa kedokteran gigi terjadi karena adanya hal-hal yang saling berkaitan seperti tekanan waktu, ketakutan menghadapi pasien, masalah finansial, supervisi tenaga pengajar, serta beban kerja rutin dan penuh. Peserta program pendidikan dokter gigi spesialis kedokteran gigi memiliki risiko lebih besar, karena harus mampu bekerja sebagai dokter gigi, selain adanya faktor sudah berkeluarga dan tanggung jawab akademik. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa peserta program pendidikan dokter gigi spesialis secara signifikan ($p < 0,05$) mengalami tingkat stres akademik yang lebih tinggi dibandingkan dengan mahasiswa program S2 dan S3.⁶

Penelitian mengenai kadar IL-1 β serta kondisi jaringan periodontal pada berbagai tingkat stres sangat penting diketahui untuk menganalisis pengaruh stres terhadap keduanya. *Evidence-based* mengenai hubungan antara stres dengan jaringan periodontal ditinjau dari kadar IL-1 β sudah mulai banyak diteliti. Namun, masih sangat sedikit sekali penelitian yang melibatkan stres akademik, salah satunya pada mahasiswa program pendidikan dokter gigi spesialis. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan menganalisis hubungan antara stres akademik dengan kondisi jaringan periodontal dan kadar IL-1 β dalam CKG.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian potong lintang. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia (FKG UI). Subjek penelitian berjumlah 38 orang peserta program pendidikan spesialis (PPDGS) FKG UI. Subjek telah memenuhi kriteria inklusi yaitu bersedia menandatangani *informed consent* dan tidak masuk dalam kriteria eksklusi yaitu memiliki penyakit

sistemik, mengkonsumsi antibiotik, hamil, merokok, dan menggunakan alat ortodontik.

Subjek mengisi kuesioner *Graduate Dental Environment Scale Stress* (GDES) lalu dilakukan skoring dari masing-masing tingkatan stres dengan menggunakan Likert *scale*. Pemeriksaan periodontal meliputi plak, kalkulus, kebersihan mulut, perdarahan gingiva, kedalaman poket dan tingkat perlekatan klinis. Gigi dibersihkan dengan kapas untuk mengontrol saliva, dan dilakukan pengambilan sampel CKG dengan *paper point* nomor 15–20, selama 30 detik. Setelah itu *paper point* dimasukkan ke dalam 200mL *eppendorf tube*, dan disimpan pada suhu -80°C, sampai dilakukannya uji ELISA.⁷

Pengambilan sampel penelitian dimulai dari bulan Oktober sampai dengan Desember 2012. Pemeriksaan klinis periodontal dilakukan di Rumah Sakit Khusus Gigi dan Mulut FKG UI, sedangkan pemeriksaan laboratoris dilakukan di laboratorium Biologi Oral FKG UI. Uji realibilitas kuesioner menyatakan nilai koefisien alpha Cronbach yaitu 0,905 yang berarti bahwa pertanyaan dalam kuesioner tersebut reliabel. Uji validitas pemeriksaan klinis, dengan cara kalibrasi *inter-examiner* (antar pemeriksa) dan *intra-examiner* (berulang-ulang pada satu pemeriksa pada pemeriksaan plak, kalkulus, perdarahan gingiva, pemeriksaan poket dan tingkat perlekatan klinis. Pengambilan sampel CKG dilakukan kalibrasi dengan parameter bahwa *paper point* yang telah terkontaminasi saliva dan darah dianggap tidak valid. Kadar protein diperiksa dengan uji Bradford, dengan kadar tertinggi yaitu 914,931 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Data yang didapat dianalisis dengan program SPSS 17 untuk uji parametrik dengan uji T tidak berpasangan, sedangkan untuk uji non-parametrik dengan Kolmogorov Smirnov dengan tingkat kepercayaan 5%.⁸

HASIL

Penelitian dilakukan dari bulan September - Desember 2012 di klinik Periodonsia Rumah Sakit Gigi dan Mulut Pendidikan FKG UI. Sebanyak 38 subjek dengan rentang usia 25 – 49 tahun ($28,5 \pm 4,5$ tahun) memenuhi kriteria inklusi dan bersedia berpartisipasi dalam penelitian.

Mayoritas tingkat stres subjek penelitian seimbang yaitu masing-masing 50% pada tingkat stres ringan dan stres sedang. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa 73,7% subjek memiliki indeks akumulasi plak baik, hampir seluruhnya mempunyai indeks kalkulus yang baik dan sekitar 70% subjek mempunyai kebersihan mulut yang baik. Pengukuran kedalaman poket dan tingkat perlekatan klinis memperlihatkan hanya sekitar 8% yang mempunyai kedalaman poket dengan kehilangan perlekatan klinis sedang. Tabel 1 memperlihatkan

Tabel 1. Distribusi nilai persentase dan kumulatif persentase dari kategori indeks plak, indeks kalkulus, indeks kebersihan mulut, kedalaman poket, dan tingkat perlekatan klinis

Variabel	N	%	% Kumulatif
Tingkat stres			
tidak stres (skor 0-32)	0	0,0	0,0
stres ringan (skor 33-64)	19	50,0	50,0
stres sedang (skor 65-96)	19	50,0	100,0
stres berat (skor 97-128)	0	0,0	100,0
Indeks akumulasi plak			
sangat baik (skor 0)	0	0,0	0,0
baik (skor 0.1-1.2)	28	73,7	73,7
sedang (skor 1.3-3.0)	10	26,3	100,0
buruk (skor 3.1-6.0)	0	0,0	100,0
Indeks kalkulus			
sangat baik (skor 0)	0	0,0	0,0
baik (skor 0-0.9)	35	92,1	92,1
sedang (skor 1.0-1.9)	3	7,9	100,0
buruk (skor 2.0-3.0)	0	0,0	100,0
Tingkat kebersihan mulut			
baik (skor 0-1.2)	26	68,4	68,4
sedang (skor 1.3-3.0)	12	31,6	100,0
buruk (skor 3.1-6.0)	0	0,0	100,0
Kedalaman poket			
ringan	35	92,1	92,1
sedang	3	7,9	100,0
berat	0	0,0	100,0
Tingkat perlekatan klinis			
ringan	35	92,1	92,1
sedang	3	7,9	100,0
berat	0	0	100,0

distribusi frekuensi tingkat stres dan seluruh variabel kesehatan jaringan periodontal pada subjek penelitian.

Selanjutnya dilakukan analisis hubungan antara stres akademik dengan kondisi jaringan periodontal menggunakan uji T tidak berpasangan. Rerata indeks kebersihan mulut pada mahasiswa dengan tingkat stres sedang lebih tinggi ($1,19 \pm 0,51$) daripada pada mahasiswa dengan tingkat stres ringan ($0,88 \pm 0,44$). Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara rerata indeks kebersihan mulut pada mahasiswa dengan tingkat stres ringan dibandingkan dengan tingkat stres sedang ($p=0,038$). Rerata indeks perdarahan gingiva pada mahasiswa dengan tingkatan stres akademik sedang lebih tinggi ($0,82 \pm 0,43$) daripada pada mahasiswa dengan tingkatan stres akademik ringan ($0,54 \pm 0,24$). Hasil analisis menunjukkan hubungan bermakna antara tingkat stres sedang dengan indeks perdarahan gingiva ($p=0,020$). Selanjutnya, penelitian ini menunjukkan bahwa kedalaman poket dan tingkat perlekatan klinis pada

Tabel 2. Nilai rerata, standar deviasi, dan uji kemaknaan indeks kebersihan mulut, indeks perdarahan gingiva, kedalaman poket dan tingkat perlekatan klinis berdasarkan kadar IL-1 β

Variabel	Kadar IL-1B (Rerata \pm SD pg/mL)	<i>p</i>
Tingkat kebersihan mulut		
baik (skor 0-1.2)	644,72 \pm 429,98	0,465
sedang (skor 1.3-3.0)	569,90 \pm 103,46	
Indeks perdarahan gingiva		
inflamasi sangat ringan (skor 0-1.00)	635,39 \pm 412,79	0,826
inflamasi ringan (skor 1-2.00)	588,49 \pm 109,32	
Kedalaman poket		
ringan	627,64 \pm 405,95	0,968
sedang	637,41 \pm 59,71	
Tingkat perlekatan klinis		
ringan	627,64 \pm 405,95	0,968
sedang	637,41 \pm 59,71	

mahasiswa dengan tingkatan stres akademik sedang lebih tinggi (7,9%) daripada pada tingkatan stres akademik ringan (92,1%). Namun, hasil analisis tes non-parametrik Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa tidak terdapat kemaknaan pada temuan ini ($p=0,972$).

Uji T tidak berpasangan digunakan untuk analisis perbedaan kadar IL-1 β dengan beberapa indeks kondisi jaringan periodontal. Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara kadar IL-1 β dengan indeks kebersihan mulut ($p=0,465$), indeks perdarahan gingiva ($p=0,826$), kedalaman poket ($p=0,968$) dan tingkat perlekatan klinis ($p=0,968$).

Data memperlihatkan bahwa kadar IL-1 β pada mahasiswa dengan tingkatan stres akademik sedang ($783,18 \pm 377,34$) cenderung lebih tinggi lebih tinggi dibandingkan dengan tingkatan stres akademik ringan ($474,19 \pm 333,19$). Analisis uji T tidak berpasangan menunjukkan terdapat hubungan bermakna antara tingkat stres akademik dengan kadar IL-1 β ($p=0,030$).

PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa tingkat stres akademik mempunyai pengaruh yang bermakna terhadap indeks kebersihan mulut yang merupakan gabungan dari indeks plak dan kalkulus ($p=0,038$). Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa stres mempengaruhi perubahan pola perilaku pemeliharaan kesehatan gigi dan mulut.⁹⁻¹¹ Stres juga berpengaruh pada akumulasi plak, dan kebersihan mulut seseorang, dimana seiring dengan meningkatnya

tingkatan stres seseorang akan menyebabkan perubahan perilaku, diantaranya pemeliharaan kesehatan gigi dan mulut yang bertambah buruk, sulit berkonsentrasi dan lupa serta pola tidur yang terganggu. Hal ini yang akan menyebabkan peningkatan kerentanan terhadap penyakit periodontal, namun penelitian terdahulu menyatakan sebaliknya, yaitu bahwa tidak terdapat perbedaan tingkat kebersihan mulut seseorang terhadap stres.¹²

Penelitian ini memperlihatkan perbedaan bermakna antara rerata indeks perdarahan gingiva subjek dengan tingkatan stres akademik sedang dengan subjek dengan tingkatan stres akademik rendah. Hal ini sesuai dengan penelitian yang terdahulu yang menyatakan bahwa terdapat peningkatan indeks perdarahan gingiva pada penderita periodontitis kronis.¹³ Hasil ini juga sesuai dengan penelitian yang menganalisis kaitan skor indeks perdarahan gingiva yang tinggi akibat adanya inflamasi gingiva dengan kondisi gejala somatisasi dan depresi.¹⁴

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa secara klinis kedalaman poket subjek dengan tingkatan stres akademik sedang lebih dalam jika dibandingkan dengan tingkatan stres akademik rendah, walaupun secara statistik tidak terdapat perbedaan bermakna. Hal ini sesuai dengan penelitian yang menyatakan bahwa kedalaman poket dan kehilangan perlekatan klinis meningkat seiring dengan tingkatan stres, seperti sebelumnya dikemukakan bahwa individu dengan stres pekerjaan dan finansial, memiliki tingkat perlekatan klinis lebih tinggi daripada individu sehat, dengan $p < 0,005$.² Namun, kedalaman poket dan kehilangan perlekatan klinis antara tingkatan stres akademik yang sedang dan rendah pada penelitian ini tidak berbeda bermakna. Hal ini kemungkinan disebabkan karena subjek penelitian ini didominasi oleh usia muda, sehingga belum terjadi degenerasi jaringan periodontal, selain itu paparan faktor risiko lainnya selain etiologi utama plak dan kalkulus juga belum terlalu memberikan kerusakan tulang yang besar.¹⁵

Interleukin-1 β adalah salah satu sitokin yang berperan pada sistem imun non-spesifik sebagai kunci mediator inflamasi periodontal, yaitu berperan dalam transmisi sinyal dari satu sel ke sel lainnya, dan berperan pada lesi inisial dan lesi awal pada kerusakan tulang.¹⁸ Rerata kadar IL-1 β pada peserta program pendidikan dokter gigi spesialis FKG UI dengan tingkatan stres akademik sedang lebih tinggi dibandingkan stres akademik ringan, dan berbeda bermakna secara statistik. Ukuran kadar IL-1 β diuji dengan ELISA kit dengan ukuran 250 pg/mL sampai dengan 0,016 pg/mL. Pada penelitian ini nilai kadar IL-1 β terendah yaitu 36,369 pg/mL, dan kadar tertinggi yaitu 1741,673 pg/mL. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa sitokin efektif walaupun pada konsentrasi rendah, diproduksi di jaringan dan berkembang secara lokal pada jaringan tersebut.¹⁸ Kadar IL-1 β juga berubah seiring dengan adanya faktor

stressor, baik berdampak pada penghambatan maupun peningkatan sistem imun.¹⁹

Penelitian ini tidak menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara indeks kebersihan mulut, hubungannya dengan kadar IL-1 β . Hal ini dikarenakan indeks kebersihan mulut dari subjek penelitian termasuk dalam kategori baik yaitu dibawah skor 1,2, hal ini menyebabkan peran tingkat kebersihan mulut sebagai gabungan akumulasi plak dan kalkulus subgingiva belum dapat menjadikan kadar IL-1 β yang berbeda. Begitu pula dalam hal indeks perdarahan gingiva, kedalaman poket dan tingkat perlekatan klinis. Hal ini sesuai dengan penelitian yang menyatakan tidak ada perbedaan kadar IL-1 β pada kelompok sehat dan gingivitis, tetapi terdapat perbedaan pada kelompok periodontitis, namun hasil ini masih bertentangan dengan penelitian lain.^{16,17}

Penelitian sebelumnya menjelaskan terdapat perbedaan secara signifikan kadar IL-1 β pada kondisi stres, namun hasil ini masih kontroversial karena tidak semua penelitian memberikan hasil yang sama.^{20,11}

SIMPULAN

Dari hasil penelitian pada mahasiswa pendidikan dokter gigi spesialis FKG UI, maka dapat disimpulkan bahwa ada hubungan antara stres akademik dengan kondisi jaringan periodontal dan kadar IL-1 β . Hasilnya antara lain menunjukkan bahwa terdapat perbedaan indeks kebersihan mulut dan indeks perdarahan gingiva antara tingkatan stres akademik rendah dengan tingkatan stres sedang; tidak terdapat perbedaan kedalaman poket dan tingkat perlekatan klinis antara tingkatan stres akademik yang rendah dengan yang sedang; tidak terdapat perbedaan kadar IL-1 β dalam CKG pada indeks kebersihan mulut, indeks perdarahan gingiva, kedalaman poket, dan tingkat perlekatan klinis; dan terdapat perbedaan kadar IL-1 β antara tingkatan stres akademik yang rendah dengan yang sedang.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mustaqimah DN. Peran stres terhadap kesehatan jaringan periodonsium. Jakarta: EGC; 2008. Indonesian.
2. Ng SKS, Leung WK. A community study on the relationship between stress, coping, affective dispositions and periodontal attachment loss. *Comm Dent Oral Epidemiol.* 2006;34:252–66.
3. Deinzer R, Kottmann W, Forster P, Herforth A, Stiller-Winkler R, Idel H. After-effects of stress on crevicular interleukin-1 beta. *J Clin Periodontol.* 2000;27:74–7.
4. Giannopoulou C, Kamma JJ, Mombelli A. Effect of inflammation, smoking and stress on gingival

- crevicular fluid cytokine level. *J Clin Periodontol.* 2003;30:145–53.
5. Kamma JJ, Giannopoulou C, Vasdekis VGS, Mombelli A. Cytokine profile in gingival crevicular fluid of aggressive periodontitis: influence of smoking and stress. *J Clin Periodontol.* 2004;31:894–902.
 6. Divaris K, Polychronopoulou A, Taoufik K, Katsaros C, Eliades T. Stress and burnout in postgraduate dental student. *Eur J Dent Educ.* 2011:15–20.
 7. Guenstch A, Kramesberger M, Eick S. Comparison of gingival crevicular fluid sampling methods in patients with severe periodontitis. *J Periodontol.* 2011;82:1051–60.
 8. Dahlan, MS. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. Edisi 4. Jakarta: Salemba Medika; 2008. Indonesian.
 9. Boyapati L, Wang H. The Role of stress in periodontal disease and wound healing. *Periodontol* 2000. 2007;44:195–210.
 10. Deinzer, Granrath N, Spahl M, Linz S, Waschul B, Herforth A. Stress, oral health behaviour and clinical outcome. *Brit J Health Psychol.* 2005;10:269–83.
 11. Johannsen A. Anxiety, exhaustion and depression in relation to periodontal diseases. Department of Periodontology, Institute of Odontology. Karolinska Institute Publishing; 2006.
 12. Solis ACO, Lotufo RFM, Pannuti CM, Brunheiro EC, Marques AH, Lotufo-Neto F. Association of periodontal disease to anxiety and depression symptoms, and psychosocial stress factors. *J Clin Periodontol.* 2004;31:638–8.
 13. Vettore MV, Lea ATT, Monteiro da Silva AM, Quintanilha RS, Lamarca GA. The relationship of stress and anxiety with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2003;30:394–402.
 14. Klages U, Weber AG, Wehrbein H. Approximal plaque and gingival sulcus bleeding in routine dental care patients: relations to life stress, somatization and depression. *J Clin Periodontol.* 2005;32:575–82.
 15. Novak, J. Classification of diseases and conditions affecting the periodontium. In Newman G, Takei H, editors. *Carranza's Clinical Periodontology* 11th ed. Philadelphia: Saunders; 2012. P. 34-54.
 16. Fiorellini JP, Kim DM, Uzel NG. Clinical features of gingivitis. In: Newman G, Takei H, editors. *Carranza's clinical periodontology* 11th ed. Philadelphia: Saunders, 2012: 76-83.
 17. Preshaw P, Taylor JJ. Periodontal pathogenesis. In: Newman G, Takei H, editors. *Carranza's clinical periodontology* 11th ed. Philadelphia: Saunders, 2012:194–215.
 18. Perozini C, Chibebe P, Leao MVP, Queiroz C, Pallos D. Gingival crevicular fluid biochemical markers periodontal disease:a cross-sectional. *Quintessence Int.* 2010;41:877–83.
 19. Teles RP, Likhari V, Socransky SS, Haffajee AD. Salivary cytokine levels in subjects with chronic periodontitis and in periodontally healthy individuals: a cross-sectional study. *J Periodont Res.* 2009;44:417–7.
 20. Kamma JJ, Giannopoulou C, Vasdekis VGS, Mombelli A. Cytokine profile in gingival crevicular fluid of aggressive periodontitis: influence of smoking and stress. *J Clin Periodontol.* 2004;31:894–902.