Abstract

Rygnings indflydelse på marginal parodontitis

I denne opgave fokuseres der på tobaksrygnings effekt på værtens forsvar ved marginal parodontitis. Først gives en kort beskrivelse af mikroorganismernes indflydelse på udvikling af marginal parodontitis.

Herefter redegøres for det immunologiske respons, der følger mikroorganismernes kolonisation i pochen. Efterfølgende ses nærmere på det generelle værtsforsvar og rygningens effekter på dette forsvar. Disse afsnit følges af en diskussion dels af de fundne resultaters værdi, dels af de fundne resultaters indvirkning på værtsforsvaret.

På baggrund af diskussionen konkluderes, hvilken effekt rygning kan siges at have på værtsforsvaret ved marginal parodontitis.

Rygnings effekt på det immunologiske respons i forbindelse med marginal parodontitis

Kristian Boel Thomsen, stud.odont.
Tandlægeskolen i København, Københavns Universitet

Martin Berg, stud.odont.
Tandlægeskolen i København, Københavns Universitet

Emneord:
Smoking; cytokines; periodontitis

Epidemiologisk ses, at tobaksrygning øger risikoen for udvikling af marginal parodontitis (1-3). Dette gør sig specielt gældende ved de mere aggressive former for marginal parodontitis (4,5).

Rygningens indvirkning på udviklingen af og sygdomsforløbet ifm. marginal parodontitis kan skyldes mange faktorer, fx rygningens indvirkning på mikroorganismerne, risikofaktorer forbundet med rygning set i et socialt perspektiv og sidst, men ikke mindst rygningens effekt på værtsforsvaret.

I denne opgave fokuseres der på sidstnævnte faktor, nemlig rygningens effekt på værtsforsvaret ved marginal parodontitis.

I forbindelse med udarbejdelsen af denne opgave har vi støttet os til en række videnskabelige artikler. Litteratursøgningen er baseret på artikler anbefalet af Afdelingen for Parodontologi og lærebogen i parodontologi på Tandlægeskolen i København (6).

Mikroorganismers skadelige effekt og aktivering af værtsforsvaret

Marginal parodontitis er en plakrelateret sygdom, og plakkens sammensætning er forskellig i den supra- og den subgingivale plak. Plakken ved margo gingivae indeholder mikroorganismer, der via membranbundne komponenter og ifm. deres metabolisme

udskiller enzymer og affaldsprodukter, der påvirker sulcusepitelet og kontaktepitelet. Metabolitterne kan bl.a. være ammoniak, indol, svovlbrinte og smørsyre, der alle har en vævsskadelig effekt (6-9). Enzymerne udgøres hovedsageligt af proteaser, der er i stand til at nedbryde proteiner fra bindevævet og fra pocheeksudatet. Dette medfører en stigning i pH, da den producerede ammoniak binder H+ og herved danner ammonium. pH-stigningen medfører et øget ionprodukt og hermed øget calculusdannelse.

Desuden besidder de Gram-negative bakterier, der er dominerende i den periopatogene subgingivale plak, lipopolysakkarid (LPS). LPS er et endotoksin, som virker stærkt inflammationsfremmende, og ligesom lipoteichonsyre (LTA) fra Gram-positive mikroorganismer kan stimulere til kemotaksi (6). Af andre bakterielt producerede kemotaktiske faktorer kan nævnes formyl methionyl leucyl phenylalanin (10,11).

Nogle af mikroorganismerne virker yderligere toksisk. En af disse mikroorganismer er *Porphyromonas gingivalis (P.g.)*, der producerer ARG-1 proteaser, der er i stand til at hæmme værtens proteasehæmmere, hvilket medfører supplerende nedbrydning af parodontiet (12). Der er også visse mikroorganismer, fx A. actinomycetemcomitans, der danner leukotoksin. Leukotoksin kan direkte dræbe leukocytter (13).

På grund af virkningen af de mikroorganismer, der beskrives ovenfor, stimuleres værtens immunforsvar, som er et forsvar dels mod nedbrydning af kroppens væv, dels mod invadering i væv og celler af bakterier, der kan føre til bakteriæmi.

Inflammationens kompleksitet ved marginal parodontitis

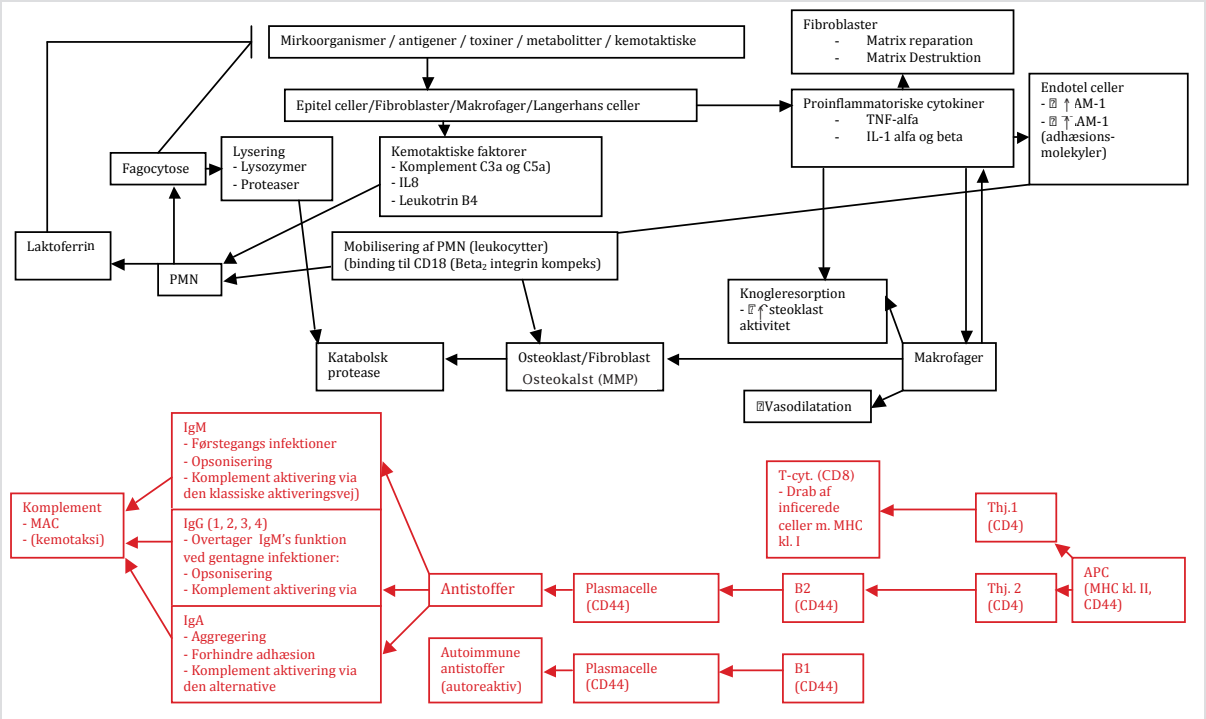

Fig. 1. Det inflammatoriske respons ved marginal parodontitis. Øverste del af figuren (sort) viser det akutte inflammatoriske respons. Det bør her bemærkes, at med aktiveringen af det inflammatoriske respons følger en destruktion af det omkringliggende væv. Den nederste del af figuren (rød) viser, hvorledes det humorale immunrespons iværksættes. Dette resulterer i aktivering, dels af T-cytotoksiske lymfocytter, der fremkalder cellemedieret drab af inficerede celler, dels af B-lymfocytter og herigennem plasmaceller, der secernerer antistoffer. Det ses endvidere, at antistofferne kan aktivere komplementsystemet, som herved yderligere vil forstærke det inflammatoriske respons.
(Figur af: Kasper Boel Thomsen, Martin Berg og Kristian Boel Thomsen)

Fig. 1. *The inflammatory reaction in connection with periodontal disease. The upper part of the figure (black) shows the acute inflammatory reaction. It should be noted that the activation of the inflammatory reaction is followed by a destruction of the surrounding tissue. The lower part of the figure (red) shows how humoral immune response is activated. This results in activation both of T-cytotoxic lymphocytes, which induce cell-mediated kill of the infected cells, and of B-lymphocytes and thereby plasma cells, which produce antibodies. The figure moreover illustrates that the antibodies are capable of activating the complement system, which will hereby strengthen the inflammatory reaction further.*
(Figure by: Kasper Boel Thomsen, Martin Berg and Kristian Boel Thomsen)

Det generelle immunrespons ved marginal parodontitis

Mikroorganismernes påvirkning af værtsorganismen sker igennem celler i det omkringliggende parodontium dvs. epitelceller, fibroblaster, makrofager, Langerhansceller m.fl. Dette medfører, at cellerne secernerer pro-inflammatoriske cytokiner IL-1 α og β og TNF-α, samt andre inflammationsmediatorer (6). Desuden har nogle af disse mediatorer, bl.a. IL-8, leukotrin B4 og komplementsystemets C5a og C3a, en kemotaktisk funktion (10,11).

De proinflammatoriske cytokiner IL-1 α og β og TNF-α kan alene ved deres tilstedeværelse medføre en ubalance mellem osteoklaster, osteoblaster og fibroblaster, hvilket kan medføre en nedbrydning af bindevævet og knoglevævet i området.

Disse cytokiner stimulerer yderligere endotelet i det invaderede område til en øget produktion af ICAM-1 (intercellulært adhæsionsmolekyle 1) og ELAM-1 (endotelialt leukocyt adhæsions molekyle 1) (14). Disse er to vigtige adhæsionsmolekyler, der binder til β-2-integrinkomplekser (CD18) på leukocytterne i blodbanen og herved hjælper til transport af disse over endotelet og videre ud i vævet og for nogle leukocytters vedkommende helt ud i pochen. Adhæsionsmolekylerne kan både findes bundet til endotelets membran (eICAM-1) eller på opløselig form (sICAM-1). Denne øgede koncentration af adhæsionsmolekyler kan måles i pochen under inflammation (11). Desuden stimulerer ICAM-1-bindingen af PMN (polymorfkernede leukocytter) til produktion af matrix metalloproteaser (MMP) og elastasedannelse (15, 16). Vigtigheden af adhæsionsmolekylerne ses bl.a. hos personer med LAD (leukocyt adhæsionsmolekyledefekt), som har en øget risiko for udvikling af marginal parodontitis, da leukocytterne har nedsat mulighed for at migrere ud i vævet (6).

De proinflammatoriske cytokiner stimulerer ligeledes makrofagerne til øget produktion af prostaglandiner, specielt PGE2. Dette prostaglandin medfører vasodilatation og stimulerer til cytokinproduktion. Desuden kan øget PGE2 sammen med cytokiner medføre ubalance i produktionen af MMP fra fibroblaster og osteoklaster, hvilket bevirker en overvejende katabolsk effekt i parodontiet (17).

Under normale omstændigheder opretholdes balancen mellem MMP's katabolske og anabolske effekt af TIMP (tissue inhibitors of metalloproteases), idet nedbrydningen og opbygningen medfører remodellering af de parodontale væv. Ud over nedbrydningen af bindevævet som resultat af ubalancen mht. MMP kan IL-1 direkte påvirke fibroblaster til reparation eller destruktion af bindevævet (6).

Den øgede produktion af adhæsionsmolekyler samt de kemotaktiske faktorer medfører, at PMN mobiliseres og hurtigt er til stede i pochen (11). PMN spiller en vigtig rolle ved bekæmpelsen af mikroorganismer i pochen. Dette skyldes først og fremmest, at PMN, på trods af iltfattige forhold, er i stand til at fungere helt ude i pochen (18), hvor den virker uspecifikt bakteriocidt og dermed er en del af »first line of defence«. PMN kan fagocytere mikroorganismer og secernere proteaser og lactoferrin (jernbinder) mfl., der kan dræbe eller hæmme bakterierne (19). Efter fagocytering af mikroorganismer vil PMN imidlertid lysere, og deres proteaser vil have en skadelig effekt på det omkringliggende parodontium, specielt hvis denne proces foregår i det parodontale bindevæv (20). PMN's positive effekt opvejer dog deres negative effekt.

Ud over PMN tiltrækkes også andre leukocytter såsom monocytter, makrofager og lymfocytter til området.

Makrofagerne er måske de eneste af disse celler ud over PMN, der har en gavnlig effekt i pochen. Ud over at fagocytere mikroorganismer er de også i stand til at fagocytere døde PMN, inden de degranulerer og frigiver enzymer, der, som tidligere nævnt, kan skade vævet og medføre yderligere inflammation (6).

Såfremt makrofager befinder sig i bindevævet under fagocytosen af mikroorganismerne, kan de fungere som antigen-præsenterende celler (APC), da de har MHC-kl. II- (Major Histocompatibility Complex klasse II) molekyler i cytoplasmamembranen. Grunden til, at de ikke kan fungere som APC, når de befinder sig i pochen, er, at de her ikke kan komme tilbage til de sekundære lymfoide væv og præsentere peptid/MHC-kl. II-komplekset for lymfocytterne (6).

De antigen-præsenterende makrofager er, ligesom lymfocytter, kendetegnet ved at have mange CD4-domæner i membranen. Disse domæner bevirker, at de lettere bindes til kollagenet i bindevævet og herved ikke føres ud i pochen (6). Af andre APC kan nævnes de langerhanske celler, der ligger i epitelet og ligesom makrofagen opfanger udefrakommende mikroorganismer og præsenterer disses antigener for T-hjælper-celler (Thj) (20).

Funktionen af APC er aktivering af Thj 1 og 2 via CD4 i disse lymfocytters membran. Thj-1 kan efterfølgende igennem dannelsen af cytokiner (TNF-α, IL-2 og IFN-γ) aktivere den T-cytotoksiske celle, der med sit CD8-domæne i membranen kan binde til celler, der præsenterer antigener på deres MHC-kl. I-molekyler. Dette kan være virusinficerede eller bakterielt invaderede celler. Dog synes denne del af immunforsvaret ikke at spille en væsentlig rolle ved marginal parodontitis (21,22).

Thj-2 kan aktivere en vigtig del af det humorale respons ved at secernere IL-4, -5, -6 samt 10 og 13, der kan aktivere B-lymfocyt-2, som herved kan omdannes til plasmaceller (22). Plasmaceller producerer antistoffer ved aktivering gennem cytokiner. Secerneringen af disse antistoffer kan ske enten i blodbanen og her via blodbanen føres til området med bakteriel invasion eller ude i det inflammerede bindevæv (23).

De relevante antistoffer ved marginal parodontitis er IgA, IgG og IgM. IgM ses primært i relation til en førstegangsinfektion og er effektiv til opsonisering af mikroorganismer (20). IgM's rolle vil ved gentagen eksponering for samme mikroorganismer ikke have en væsentlig effekt, da IgG vil overtage dennes rolle. IgG er ligeledes god til opsonisering og er, ligesom IgM, i stand til at aktivere komplementsystemet via den klassiske aktiveringsvej. Her bør det nævnes, at komplement fungerer som en vigtig kemotaktisk faktor (via C5a og C3a) for leukocytter, og at det er i stand til dels at opsonisere bakterier, dels at lysere mikroorganismerne

ved dannelse af MAC (membran angrebs kompleks), der laver hul i mikroorganismernes membran (20).

Komplement virker desuden som en del af det uspecifikke immunsystem gennem den alternative aktivering, hvor komplement aktiveres direkte af bakterier, toksiner, gærsvampe, virus og IgA-komplekser (20).

IgG kan inddeles i fire typer: IgG 1, 2, 3 og 4. IgG1 udgør langt den største fraktion sammen med IgG2. IgG1 har en stærkere bindende effekt end IgG2, og det kan derfor tænkes, at fordelingen af disse kan have betydning for værtens risiko for at udvikle marginal parodontitis (24).

Plasmacellen danner også IgA, der er i stand til at forhindre mikroorganismerne i at adhærere til værten. Dette sker ved at binde mikroorganismerne i aggregater, der forhindrer dem i at være funktionsdygtige (20).

B-lymfocyt-1 er en mindre vigtig lymfocyt i forbindelse med marginal parodontitis. Denne type lymfocyt virker autoreaktiv, da den danner antistoffer mod værtens egne celler med nedbrydning af disse til følge. Det har dog vist sig, at der ved aggressiv parodontitis ses en forhøjet koncentration af denne type lymfocytter i blodbanen (25-27). Mængden af B- og T-celler opreguleres over tid i vævet, dels ved proliferation i bindevævet, dels ved proliferation og aktivering i lymfesystemet, hvorfra de kan transporteres til parodontiet (6).

Immunforsvarets celler har brug for plads i det bakterieinvaderede væv for at kunne fungere. Derfor kan nedbrydning af bindevævets strukturelle komponenter opfattes som en proces, der har til formål at give plads (28).

Som led i parodontitisudviklingen bevæger bakterierne sig ned langs tanden, og kontaktepitel og parodontale fibre nedbrydes. Der bliver herved bedre mulighed for kolonisering med anaerobe og fakultative bakterier (13).

Alt dette skaber en ond cirkel, der medfører, at flere leukocytter skal have plads i vævet, hvilket fører til yderligere nedbrydning af parodontalt væv. Der dannes herved et yderst vaskulariseret granulationsvæv indeholdende mange plasmaceller, der secernerer antistoffer. Granulationsvævet optager med tiden mere og mere plads, og mere og mere af det omkringliggende normale parodontale væv bliver nedbrudt. Herved kan tænderne til sidst miste deres fæste (6).

En yderligere vigtig del af værtens forsvar er evnen til at producere proteasehæmmere, der virker dels mod vore egne proteaser (i forbindelse med immunforsvarets aktivering), dels mod mikroorganismernes proteaser. Såfremt disse ikke er til stede, eller såfremt de er sat ud af funktion, kan der tænkes at være en øget progressionshastighed i destruktionen af det parodontale væv. To vigtige hæmmere er α-2-makroglobulin, (α-2-M) og α-1 antitrypsin (α-1-AT). Som tidligere nævnt kan nogle af mikroorganismerne i pochen hæmme disse; dette gælder fx ARG-1 produceret af *P.gingivalis,* hvilket kan resultere i øget nedbrydning (6).

For at immunresponset kan fungere optimalt, kræves en god vaskularisering i området, da transporten af stoffer sker via blodet for til sidst at diffundere ud i vævene (20). Yderligere har vaskulariseringen indflydelse på pocheekssudatets clearance af pochen. Pocheekssudatets flow kan fjerne mikroorganismer fra pochen, hvorved det er en del af »first line of defence« (6).

Rygningens effekt på immunresponset

Proinflammatoriske cytokiner

I flere undersøgelser er det vist, at produktion af cytokiner er nedsat hos rygere (29). Dette kan forklares ved, at nikotin har en negativ immunregulerende effekt, der forårsager ændringer i produktionen af proinflammatoriske cytokiner (30). Det er således vist, at koncentrationen af cytokinet IL-1 α i pocheekssudatet var halvt så stor hos rygere som hos ikkerygere (31).

Det modsatte er imidlertid også blevet vist i en svensk undersøgelse, nemlig at produktionen af proinflammatoriske cytokiner er betydeligt højere hos rygere end hos ikkerygere, når koncentrationen af disse stoffer måles efter stimulering med LPS. (32).

***P. gingivalis* og proteasehæmning**

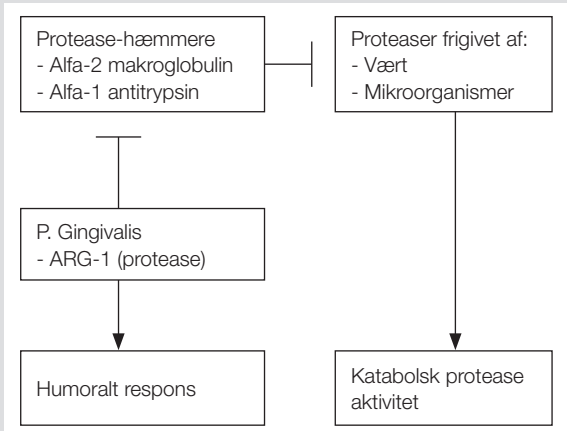

Fig. 2. Figuren illustrerer vigtigheden af proteasehæmmere ved inflammation og Porphyromonas gingivalis' indvirkning på disse. Ved inflammation aktiveres og frigøres en del proteaser, der vil have en stor skadelig effekt på det omkringliggende væv, hvis ikke de hæmmes af protease-hæmmere. Som det ses på figuren, er ARG-1 fra Porphyromonas gingivalis i stand til at hæmme værtens proteasehæmmere og er derfor en vigtig virulensfaktor ved marginal parodontitis.
(Figur af: Martin Berg og Kristian Boel Thomsen)

Fig. 2. *The figure illustrates the importance of protease inhibitors in relation to inflammation and the function of Porphyromonas gingivalis on these inhibitors. In case of inflammation, a large number of proteases are activated and released. These proteases may have a harmful effect on the surrounding tissue if they are not inhibited by protease inhibitors. As seen in the figure, ARG-1 from Porphyromonas gingivalis is capable of inhibiting the host protease inhibitors and is therefore an important virulence factor in connection with periodontal disease. (Figure by: Martin Berg and Kristian Boel Thomsen)*

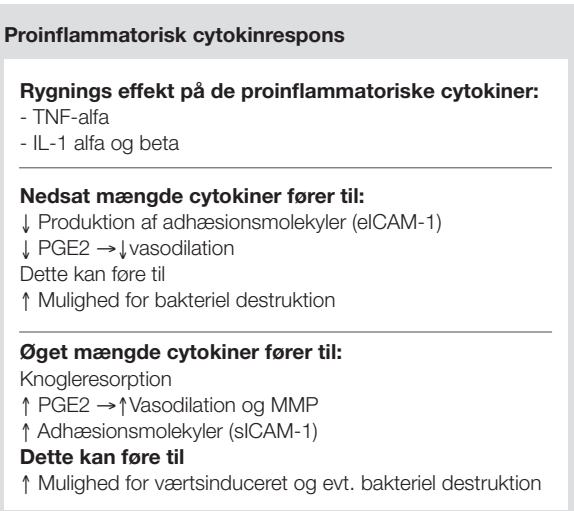

Fig. 3. Denne figur illustrerer rygningens effekt på de proinflammatoriske cytokiner ved marginal parodontitis. Det viser sig i nogle forsøg, at mængden af proinflammatoriske cytokiner er nedsat (øverst), og i andre forsøg, at mængden af proinflammatoriske cytokiner er øget (nederst). Begge situationer kan dog skabe en ubalance i det inflammatoriske respons og kan derfor være en af grundene til den skadelige effekt af rygning ved marginal parodontitis.
(Figur af: Martin Berg og Kristian Boel Thomsen)

Fig. 3. *This figure illustrates the effect of tobacco smoking on the proinflammatory cytokines in connection with periodontal disease. In some investigations the number of proinflammatory cytokines is reduced (upper part of the figure); in other investigations the number of proinflammatory cytokines is increased (lower part of the figure). Both situations may create an imbalance in the inflammatory reaction and may therefore be one of the reasons for the harmful effect of tobacco smoking in connection with periodontal disease.*
(Figure by: Martin Berg and Kristian Boel Thomsen)

Koncentrationen af TNF-α i pocheekssudatet fra dybe områder i pocher hos behandlede patienter viser sig desuden i en anden svensk undersøgelse at være betydeligt højere hos rygere end hos tidligere rygere, og yderligere lavere hos ikkerygere (33).

Adhæsionsmolekyler

Nogle forskere viser, at koncentrationen af ICAM-1 og ELAM-1 opreguleres i endotelet hos rygere, og herved ses mængden af sICAM-1 også i forøget mængde i blodbanen. Denne øgede mængde sICAM-1 kan påvirke den normale receptor-ligand-binding og herigennem leukocytternes forsvar af parodontiet. Dette kan således resultere i, at færre leukocytter bliver transporteret ud i epitelet og for makrofager og PMN's vedkommende helt ud i pochen. Teorien bag dette er, at den øgede produktion af adhæsionsmolekyler betyder, at der lokalt ikke kan migrere tilstrækkeligt mange leukocytter ud i vævet, da cellerne bliver bundet, inden de når det aktuelle område for inflammation (34-36). Dette forklarer muligvis også den øgede mængde PMN elastase og MMP i blodbanen ved rygning (37,38). Denne forøgelse skyldes antageligt, at begge typer ICAM-1-binding af CD18 på PMN medfører frigivelse af elastase og MMP, som kan have en PMN-medieret destruktiv effekt på vævet (15,16,39). Der ses desuden en mindre koncentration af elastase i pocheekssudatet, hvilket kan indikere, at elastasen frigives andre steder i kroppen, der ikke har relation til pochen (40). Dette kan dog også skyldes PMN's nedsatte funktion pga. andre hæmmende effekter af rygning (41). Stigningen af adhæsionsmolekyler bekræftes også af undersøgelser, der viser, at der ved rygestop sker et fald af ICAM-1 til et normalt niveau (42).

Andre undersøgelser viser, at eICAM-1- koncentrationen tværtimod falder hos rygere. Herved bliver det inflammatoriske respons ved marginal parodontitis mindre, da en reduktion af eICAM-1 medfører, at færre PMN migrerer ud af karrene (43).

Leukocytter

Der ses generelt et øget antal leukocytter i serum hos rygere. Det drejer sig bl.a. om et øget antal B- og T-lymfocytter (44).

Nogle af rygningens produkter er i stand til at hæmme B- og T-lymfocytternes proliferation ved at hæmme reaktionsevnen i Thj-celler (29,45).

Ligesom for de andre leukocytter er koncentrationen af PMN forøget i det systemiske kredsløb hos tobaksrygere (38,46,47). Pga. PMN's vigtige funktion ifm. værtsforsvaret mod parodontitis ses det, at defekter ved funktion, aktivering og mobilisering af PMN normalt er relateret til øget risiko for parodontitis. Rygning har i mange undersøgelser vist sig at have en stor indvirkning på PMN. Rygning hæmmer således bl.a. deformabiliteten af PMN og herigennem dennes vandring gennem karrene (48). Desuden har PMN receptorer for flere af de komponenter og metabolitter, der stammer fra tobaksrygning, fx nikotin, cotinin og aryl hydrocarbon (49). Antallet af disse receptorer på PMN stiger ved rygning og mindskes ved rygestop. Nikotin påvirker receptorerne ved tobaksrygning og hæmmer PMN's evne til fagocytose (50), herunder produktion af superoxid og hydrogenperoxid (51,52), integrinekspression (52) og proteasehæmmerproduktion (53).

PMN har også receptorer for IL-8 (54), ICAM-1 (42,55) og TNF-α (56). Disse receptorers funktion ses at være fejlreguleret ved rygning, hvilket er vist at hæmme mobilisering og kemotaksi af PMN (43,46,57-59). Der foreligger dog også undersøgelser, der viser, at der ikke forekommer tobaksinduceret kemotaktiske defekter på PMN (50).

Rygning bevirker, at der forekommer en nedsat mængde MHC kl. II-molekyler i makrofagens membran (60,61). Dette medfører, at der ses nedsat immunaktivering, da makrofagerne som nævnt er vigtige APC.

Rygere har desuden en nedsat koncentration af IgG i serum (62-68). Mere specifikt er det påvist, at der bl.a. er nedsat IgG mod *Prevotella intermedia* og *Fusobacterium nucleatum* (69). Andre har også fundet, at rygning medfører en begrænset produktion af

Rygning og inflammation

Rygnings effekt på nogle af immunforsvarets bestanddele

PMN:
↓ Fagocytose
↓ Superoxid
↓ Hydrogen peroxid
Ændret integrin
Ekspression
↓ Proteasehæmmer
Produktion
↓ Derformabilitet

Fejlreguleret receptor for:
ICAM-1
IL8
TNF-alfa
↑ Mængdereceptor for nikotin, conitin og aryl hydro carbon

Makrofager
↓ APC-funktion

B- og T-lymfocyt
↓ Reaktivitet
Dette resulterer i
↓ IgM og IgA
↓ IgG (mod: F. nuceatum, P. intermedia, A. actinomycetemcomitans

Fibroblast:
- Destruktion af bindevæv
- Dårligere adhæsion

Fig. 4. Rygningens effekt på immunforsvarets celler. (Figur af: Martin Berg og Kristian Boel Thomsen)

Fig. 4. *The effect of tobacco smoking on the defence systems cells. (Figure by: Martin Berg and Kristian Boel Thomsen)*

Rygning og blodgennemstrømning

Blodgennemstrømningen:	**Der ses generelt:**
Faktorer: PGE2 → vasodilation	↑ Blodgennemstrømning umiddelbart efter rygning
Blodtryk → øget blod-flow ↑ Nikotin → Vasokonstriktion	↓ GCF hos rygere over tid ↑ Blodgennemstrømning ifm. med rygestop (over tid)

Fig. 5. Denne figur viser rygningens indvirkning på blodgennemstrømningen af parodontiet. Til venstre på figuren ses nogle af de faktorer, der kan spille ind på blodgennemstrømningen, og til højre på figuren ses nogle generelle fund observeret ved forsøg med tobaksrygning.
(Figur af: Martin Berg og Kristian Boel Thomsen)

Fig. 5. *This figure illustrates the effect of tobacco smoking on the blood flow of the periodontal tissue. The left side of the figure shows some of the factors which affect the blood flow; the right side of the figure shows some general observations made during investigations involving tobacco smoking. (Figure by: Martin Berg and Kristian Boel Thomsen)*

IgG2 ifm. aggressiv parodontitis (68). Det gælder bl.a. for IgG2 mod *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (70).

Ikke nok med at rygningen hæmmer produktionen af IgG, er den også vist at nedsætte mængden af IgA i saliva (71) og IgM i serum (63). Andre studier finder dog ingen effekt af rygning på IgA og IgM (64,67,72), ligesom der findes undersøgelser, der ikke viser nedsat IgG hos rygere (72-74).

Vasokontraktion og nedsat vaskularisering

Rygningens effekt på blodtilførsel og gennemstrømning er temmelig omdiskuteret, og der foreligger modsatrettede resultater i forskellige undersøgelser. Nogle undersøger rygningens effekt på blodgennemstrømningen i parodontiet via kliniske tegn hos rygere, andre måler mængden af pocheekssudat, mens andre igen måler effekten af rygestop på blodgennemstrømningen. Undersøgelserne viser forskellige resultater, heriblandt:

Nedsat blodgennemstrømning som en effekt af rygning kunne ikke ses i en undersøgelse, hvor blodgennemstrømningen blev registreret med laser doppler flow (LDF).

Nikotin medfører vasokontraktion i perifere blodkar, hvilket viser sig ved mindre kliniske tegn på gingivitis og parodontitis (75).

En mindsket inflammation hos rygere i forhold til ikkerygere blev også konstateret hos personer med samme mængde akkumuleret plak (76).

En anden undersøgelse fokuserede på nikotins vasokontraherende effekt på blodkar gennem mængden af dannet pocheekssudat. Det blev vist, at den nedsatte mængde af pocheekssudat var generel og ikke kun sås i de områder, der var mest eksponerede for tobaksrøgen. Dette fører til den konklusion, at det ikke blot er tobaksrøgens lokale påvirkning, der er skyld i den nedsatte sekretion af pocheekssudat, men at den nedsatte sekretion formentlig kan tilskrives nikotinens generelle vasokontraherende effekt i de perifere væv (77).

En senere undersøgelse har vist, at den gingivale blodgennemstrømning stiger betydeligt hos personer, der holder op med at ryge. Den mest betydelige stigning ses i de første tre dage; stigningen er mindre i de efterfølgende uger (78).

I 1987 argumenteredes for første gang mod teorien om vasokontraktion. Baggrunden var, at det i en undersøgelse påvistes, at den gingivale blodgennemstrømning hos rygere faktisk steg ca. 25 % under rygning og i de efterfølgende minutter for så at falde til normalværdien målt vha. laser doppler flow (79). Stigningen associeredes i denne undersøgelse med en øget puls og en stigning i blodtrykket. Det skal imidlertid bemærkes, at de undersøgte ved forsøget følte sig »light-headed« efter rygning, hvilket kunne tyde på, at den inhalerede dosis var større end normalt.

En helt anden effekt på blodgennemstrømningen er undersøgt af Rezevandi et al. (43). De påviste, at ikkerygere havde betydeligt flere kar i det inflammerede væv ved parodontitis end rygere, altså at rygning førte til nedsat vaskularitet i de parodontale væv. Dette blev i denne undersøgelse anset for at være grundlag for den nedsatte inflammation ved marginal parodontitis hos rygere, der klinisk kunne observeres som mindre gingival rødme, mindre blødning og færre synlige blodkar i parodontiet.

Diskussion

Som det ses af de mange forskellige undersøgelser vedrørende tobaksrygnings effekt på marginal parodontitis, kan det ikke præcist forklares, hvor og hvordan rygning har effekt i de parodontale væv. Dette kan skyldes, at tobaksrøg indeholder flere tusinde forskellige substanser, og at alle disse stoffers effekt på parodontiet langtfra er kendte. Det betyder, at der i alle undersøgelser er mange »confounding factors«, hvilket kan bidrage til de mange forskellige resultater, der kan uddrages af de videnskabelige undersøgelser.

Rygningens indvirkning på de proinflammatoriske cytokiner

Det ville være naturligt at tænke, at produktionen af proinflammatoriske cytokiner forekommer i en højere koncentration hos rygere end hos ikkerygere, da en øget mængde proinflammatoriske cytokiner medfører kraftigere inflammation og immunrespons, dels fordi IL-1 α og TNF-α fører til opregulering af adhæsionsmolekyler, dels fordi de direkte medfører bindevævsnedbrydning og knogleresorption. Herudover ses øget PGE2, der skaber ubalance i produktionen af MMP og virker vasodilaterende og yderligere stimulerer til produktion af proinflammatoriske cytokiner.

I en række undersøgelser konstateres det imidlertid, at produktionen af cytokiner er nedsat. Dette stemmer overens med, at man hos rygere ikke ser lige så kraftige kliniske tegn på inflammation som hos ikkerygere, og at rygere med parodontale sygdomme efter rygestop rapporterer om øget blødning fra gingiva. Dette kan indikere, at hæmningen af de proinflammatoriske cytokiner er ophørt, hvilket igen kan medføre en normal stimulering af makrofagerne til produktion af PGE2. Desuden vil den nedsatte syntese af proinflammatoriske cytokiner hæmme produktionen af adhæsionsmolekyler, der er vigtige for mobiliseringen af PMN, som ligger til grund for et effektivt værtsforsvar mod mikroorganismernes skadelige virkning. Begge situationer kan dog tænkes at medføre øget nedbrydning af parodontiet hos rygere.

Rygningens indvirkning på adhæsionsmolekyler

For at kunne iværksætte et succesfuldt immunrespons skal leukocytterne ankomme til det rigtige sted i det rigtige antal på det rigtige tidspunkt.

Nogle undersøgelser har vist, at rygning medfører øget produktion af adhæsionsmolekyler. Dette kan eventuelt ses som et resultat af øget produktion af proinflammatoriske cytokiner, eller at rygningens komponenter blot påvirker de adhæsionsmolekyleproducerende celler (AMPC) til øget produktion. Der er ikke entydige beviser for, at transporten af leukocytter fra blodbanen og over i vævet er hæmmet grundet den øgede produktion af adhæsionsmolekyler.

Nedsat elastasekoncentration i pochen anvendes som indikator for manglende transport og binding af PMN til adhæsionsmolekylerne. Den nedsatte mængde elastase kan dog ikke ses som bevis for en hæmmet effekt af adhæsionsmolekylerne ved øget produktion. PMN har vist sig at hæmmes af rygning, dels i form af fejlregulering af receptorer, bl.a. receptoren for ICAM-1, dels i form af nedsat deformabilitet, der hæmmer mobiliteten af PMN.

At migrationen af celler ud i vævet evt. hæmmes af rygning, kan dog også have en gavnlig effekt, da en ophobning af lymfocytter kræver plads og herved kan tænkes at være en vigtig faktor i nedbrydningen af vævet ifm. marginal parodontitis.

Ud over den mobiliseringshæmmende effekt har binding af PMN til ICAM-1 i sig selv en skadelig effekt på vævet ved dannelse af elastase og MMP. Den forøgede produktion af ICAM-1 vil herved stimulere til nedbrydning af vævet. Der kræves dog en øget binding lokalt, før dette får indflydelse på parodontiet.

Andre undersøgelser viser, at rygning medfører en nedsat produktion af adhæsionsmolekyler. Dette stemmer delvis overens med undersøgelserne, der viser nedsat produktion af proinflammatoriske cytokiner. Alternativt kan det ses som et resultat af, at rygning i sig selv har en hæmmende effekt på AMPC. Logisk nok vil en nedsat mængde adhæsionsmolekyler have en hæmmende effekt på transporten af leukocytterne ud i vævet.

Rygningens indvirkning på leukocytter

Rygnings hæmmende effekt på leukocytter må overordnet siges at være væsentlig for værtens respons mod mikroorganismer.

Makrofagernes nedsatte evne som APC og Thj's nedsatte reaktionsevne virker forstærkende på hinanden ifm. hæmning af det humorale respons. Dette kan eventuelt begrunde faldet i koncentrationen af antistofferne IgG, IgM og IgA.

IgG og IgM er vigtige dels ifm. med opsonisering, der effektiviserer fagocytosen, dels ifm. aktivering af komplement, der også har en væsentlig rolle ifm. bekæmpelsen af mikroorganismerne ved dannelse af MAC, opsonisering og kemotaksi. Herved kan rygning have en skadelig effekt ifm. bekæmpelsen af mikroorganismer i pochen. Det ses endvidere, at mængden af specifik IgG er nedsat, dvs. at enkelte mikroorganismer har bedre forhold end andre i pochen, hvormed der kan ske et skift af floraen i skadelig retning.

Ved nedsat IgA i saliva hos rygere har mikroorganismerne bedre mulighed for kolonisering. Dog ses der ikke en forøget mængde plak hos rygere med marginal parodontitis, hvilket kan tyde på, at IgA spiller en mindre rolle.

Ikke alle undersøgelser viser et fald i koncentrationen af immunglobuliner. Disse undersøgelser taler dels mod de undersøgelser, der har målt et fald i koncentrationen af immunglobuliner, dels mod rygnings hæmmende effekt på lymfocytterne.

KLINISK RELEVANS

Det er en del af tandlægens pligter at spørge til patienternes rygevaner og i givet fald diskutere rygestop. I den forbindelse er det vigtigt at kende til rygningens biologiske effekter. Elementer af disse effekter er væsentlige for udvikling af sygdom i mundhulen, såvel marginal parodontitis som cancer. De er desuden af betydning for behandling, herunder parodontalbehandling og behandling med implantater.

Det er således velkendt, at behandlingsresultaterne er ringere hos rygere. Som grundlag for forståelse af en del af de biologiske effekter præsenteres i denne artikel en oversigt over store dele af rygningens påvirkning af immunsystemet.

Hæmningen af PMN's funktion og mobilisering er påvist at kunne forekomme på flere planer. Rygning kan medføre en fejlregulering af receptorer med betydning for kemotaksi og transport af PMN over karvæggen og ud i pochen. Desuden ses hæmmet fagocytose samt en nedsat deformabilitet af PMN.

PMN udgør som nævnt en vigtig del af det uspecifikke forsvar mod mikroorganismerne. En ændring af PMN i en mindre funktionel retning hos rygere kan have stor indflydelse på bekæmpelsen af mikroorganismerne. Desuden kan PMN som nævnt have en vævsnedbrydende funktion ifm. frigivelse af elastase og MMP. Ved nedsat mobilitet og deformabilitet kan man formode, at en større mængde af disse proteaser kan frigives i vævet og ikke i pochen.

Rygningens indvirkning på vasokontraktion og vaskularisering

Klinisk ses generelt en mindre inflammeret gingiva og nedsat blødning hos rygere med marginal parodontitis.

Nogle af de faktorer, der skal tages højde for ved rygningens effekt på blodtilførslen, er nikotins vasokontraherende effekt, nikotins stimulering til frigivelse af adrenalin, der påvirker hjertets slagvolumen og frekvens, samt nikotins vasokontraherende effekt og PGE2, der medfører vasodilatation. Man bør yderligere undersøge antallet af kar og ikke blot det samlede flow, da diffusion hæmmes væsentligt over afstande, og overfladearealet af karrene mindskes ved færre kar.

Mange undersøgelser understøtter de kliniske observationer ved påvisning af mindsket gennemblødning af de parodontale væv hos rygere. Forskellige indikatorer er brugt for den mindskede blodgennemstrømning, fx mindre pocheekssudat, øget blødning efter rygestop og nedsat vaskularisering.

Mængden af pocheekssudat kan siges at være en god indikator for blodgennemstrømningen, da pocheekssudat er et ultrafiltrat fra blodet, dannet ved en passiv proces.

Den øgede blødning efter rygestop kan også betragtes som stærk indikator for, at der er nedsat blodgennemstrømning af de parodontale væv hos rygere.

I undersøgelsen, hvor det modsatte påvistes, sås der kun på rygernes blodgennemstrømning før, under og efter rygning, og det konkluderedes herudfra, at rygerne ikke har nedsat blodgennemstrømning, snarere det modsatte. I undersøgelsen blev der dog ikke taget højde for, at rygerne kan have en generelt nedsat blodgennemstrømning i forhold til ikkerygere. Der undersøges altså her kun den kortvarige effekt af rygning og tages ikke højde for, at rygning kan resultere i nedsat blodgennemstrømning som en længerevarende effekt.

Selvom der er en tendens til at give nikotin skylden for den nedsatte blodgennemstrømning, pga. den omtalte vasokontraktion, kan der igen ikke ses bort fra cytokinernes indflydelse på blodgennemstrømningen. En nedsat produktion af cytokiner hos rygere vil også give en nedsat produktion af PGE2. Da PGE2 virker vasodilaterende, kan denne vasodilatation være mindsket hos rygere. Alt efter udgangspunktet kan dette tolkes som en øget vasokontraktion.

Omvendt må man ved den evt. øgede produktion af cytokiner hos rygere, og dermed øgede vasodilatation gennem PGE2, opfatte den nedsatte blodgennemstrømning som et kraftigere respons på et stof fra tobaksrøgen, fx nikotin.

Konklusion

Generelt er det i videnskabelige undersøgelser af tobaksrygning svært at undgå »confounding factors«. Dette illustreres bl.a. ved de meget forskellige resultater, man er nået frem til i de ovenfor omtalte undersøgelser.

De kliniske facts er imidlertid, at der hos rygere ses en øget nedbrydning af de parodontale væv samtidig med mindsket klinisk tegn på inflammation.

Som nævnt kan nedbrydningen af de parodontale væv med fæstetab til følge skyldes

- mikroorganismernes proteolytiske effekt
- værtens forsvar mod mikroorganismer ved dannelse og frigivelse af proteaser
- effekten af cytokiner og andre signalstoffer på parodontiets bindevævsdannende og -nedbrydende celler.

Det vil sige, at nedbrydningen af parodontiet dels er en bakteriel proces, dels er et resultat af et destruktivt immunologisk respons. En ændring af værtsforsvaret i en mere aktiveret retning kan øge den værtsinducerede nedbrydning, og en hæmning af værtsforsvaret kan medføre en øget bakteriel nedbrydning. Med andre ord kan ubalance i værtsforsvaret mod marginal parodontitis medføre en øget destruktion af vævet.

Hvis der tages udgangspunkt i, at koncentrationen af proinflammatoriske cytokiner stiger, og at der herigennem sker opregulering af adhæsionsmolekyler, øget knoglenedbrydning samt stimulering af makrofagerne til øget PGE2-frigivelse, skaber det ubalance i MMP, hvormed disse forekommer katabolske, men dog ikke virker vasodilaterende pga. nikotins modsatrettede vasokontraherende effekt, hvilket betyder, at gingiva umiddelbart forekommer mindre inflammeret. Dette vil i sig selv kunne

medføre yderligere destruktion af parodontiet. Hvis rygningens hæmmende effekt på leukocytterne og immunoglobulinproduktionen herudover inddrages, kan dette sammen med den nedsatte vaskularisering medføre hæmmet bekæmpelse af mikroorganismerne. Der vil altså både være mulighed for en øget bakteriel og en øget værtsforsvarsmedieret destruktion hos rygere.

Hvis man tager udgangspunkt i, at koncentrationen af proinflammatoriske cytokiner falder hos rygere, og at det hermed kan formodes, at der sker et fald i produktionen af adhæsionsmolekyler, der medfører dårligere mobilisering af bl.a. PMN, samt at der ses en mindre stigning i PGE2, fører dette til en øget effekt af nikotin som vasokontraktor og hermed nedsat blodtilførsel. Dette medfører et hæmmet værtsforsvar mod mikroorganismerne og herved øget risiko for bakteriel nedbrydning af parodontiet. Såfremt rygningen har hæmmende effekt på leukocytter, vil dette yderligere fremme den bakterielle destruktion pga. det nedsatte værtsforsvar.

Der er et væld af kombinationer, og man er stadig ikke på et stadie inden for forskningen, hvor det med sikkerhed kan siges, hvilke effekter af rygning der har en egentlig effekt på marginal parodontitis.

Dog bør der ikke herske tvivl om, at rygning er en væsentlig risikofaktor for parodontitis, og at det derfor er vigtigt, at tandlægen er i stand til at informere og motivere sine patienter til rygestop.

Tak

Tak til professor, dr. odont. Palle Holmstrup fra Tandlægeskolen i København for god vejledning og hjælp i forbindelse med udarbejdelsen af bacheloropgaven.

Abstract (English)

The effect of tobacco smoking on the host defence system in connection with periodontal disease

This assignment discusses the effect of tobacco smoking on the host defence system in connection with periodontal disease on the basis of investigations concerning cytokines, adhesion molecules, leucocytes, immunglobulins and vascularisation. The assignment explores studies concerning e.g. TNF-α and IL-1 α and -β which show both an increase and a decrease in the concentration of these in smokers. It is also found that smoking can have an influence on the concentration of endothelial ICAM-1 and soluble ICAM-1 and thus restrain the transportation of leucocytes through the endothelium. In some experiments, smoking is furthermore seen to have a restraining effect on the role of macrophages as antigen presenting cells, the activation of lymphocytes and the production of immunoglobulins. The function of polymorphonuclear cells is also found to be restrained in several investigations with respect to their mobilisation, transport through the endothelium and their fagocytosis of microbes. In addition, in most investigations, smoking is seen to cause vasoconstriction which results in reduced vascularization of the gingiva. The conclusion is that smoking has an important influence on the development of periodontal disease, and it is therefore essential that the dentist is capable of both informing his patients about the detrimental effects of smoking and motivating them to quit smoking.

Litteratur

1. Johnson GK, Hill M. Cigarette smoking and the periodontal patient. J Periodontol 2004; 75: 196-209.
2. Haber J, Wattles J, Crowley M, Mandell R, Joshipura K, Kent RL. Evidence for cigarette smoking as a major risk factor for periodontitis. J Clin Periodontol 1993; 64: 16-23.
3. Preber H, Berström J. Cigarette smoking in patients referred for periodontal treatment. Scand J Dent Res 1986; 94: 102-8.
4. Bergström J. Cigarette smoking is a risk factor in chronic periodontal disease. Community Dent Oral Epidemiol 1989; 17: 245-7.
5. Croucher R, Marcenes WS, Torres MC, Hughes F, Sheiham A. The relationship between life-events and peridontitis. A case-control study. J Clin Periodontol 1997; 24: 39-43.
6. Lindhe J, Karring T, Lang NP. Clinical Periodontology and Implant Dentistry, 4th ed. Blackwell Munksgaard; 2003. Kap. 3, 4, 5, 6.
7. Socransky SS. Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. J Dent Res 1970; 49: 203-22.
8. Singer RE, Buckner BA. Butyrate and propionate: important components of toxic dental plaque extracts. Infect Immun 1981; 32: 458-63.
9. van Steenbergen TJ, van der Mispel LM, de Graaff J. Effects of ammonia and volatile fatty acids produced by oral bacteria on tissue culture cells. J Dent Res 1986; 65: 909-12.
10. Attström R. Studies on neutrophil polymorphonuclear leucocytes at the dento-gingival junction in gingival health and disease. J Periodontal Res 1971; 8 (Suppl): 1-15.
11. Moughal NA, Adonogianaki E, Thornhill MH, Kinane DF. Endothelial cell leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in gingival tissue during health and experimentally induced gingivitis. J Periodontal Res 1992; 27: 623-30.
12. Aduse-Opoku J, Muir J, Slaney JM, Rangaranjan M, Curtis MA. Characterisation, genetic analysis, and expression of protease antigen (PrpRI) of Porphyromonas gingivalis W50. Infect Immun 1995; 63: 4744-54.
13. Høiby N (red.). Basal og klinisk mikrobiologi. 2. udgave. FADL's Forlag; 2003. p. 222-41.
14. Kinane DF, Adonogianaki E, Moughal N, Mooney J, Thornhill M. Immunocytochemical characterisation of cellular infiltrate, related endothelial changes and determination of GFC acute phase proteins during human experimental gingivitis. J Periodontal Res 1991; 26: 286-8.
15. Barnett CC Jr, Moore EE, Mierau GW, Patrick DA, Biffl WL, Elzi DJ, et al. ICAM-1-CD18 interaction mediates neutrophil cytotoxicity through protease release. Am J Physiol 1998; 274: 1634-44.
16. Scott DA, Palmer RM. The influence of tobacco smoking on adhesion molecule profiles. Tobacco Induced Dis 2002; 1: 8-25.
17. Offenbacher S, Heasman PA, Collins JG. Modulation of host PGE2 secretion as a determinant of periodontal disease expression, J Periodontol 1993; 64 (Suppl): 432-44.
18. Attström R, Egelberg J. Emigration of blood neutrophils and monocytes into the gingival crevices. J Periodontal Res 1970; 5: 48-55.
19. Murray MC, Mooney J, Kinane DF. The relationsship between

elastase and lactoferrin in healthy, gingivitis and periodontitis sites. Oral Dis 1995; 1: 106-9.
20. Hansen BL, Hansen GN, Thomsen AR. Immunsystemet – vort indre forsvar. København: Gads Forlag; 1999.
21. Yamazaki K, Nakajima T, Hara K. Immunohistological analysis of T cell functional subsets in chronic inflammatory periodontal disease. Clin Exp Immunol 1995; 99: 384-91.
22. Berglundh T, Liljenberg B, Lindhe J. Some cytokine profiles of T-helper cells in lesions of advanced periodontitis. J Clin Periodontol 2002; 29: 705-9.
23. Kinane DF, Karim SN, Garioch JJ, al Badri A, Moughal N, Goudi RB. Heterogeneity and selective localisation of T cell clones in human skin and gingival mucosa. J Periodontal Res 1993; 28: 497-9.
24. Wilson ME, Bronson PM, Hamilton RG. Immunoglobulin G2 antibodies promote neutrophil killing of Actinobacillus actinomycetemcomitans. Infect Immun 1995; 63: 1070-5.
25. Afar B, Engel D, Clark EA. Activated lymphocyte subsets in adult periodontitis. J Periodontal Res 1992; 27: 126-33.
26. Berglundh T, Liljenberg B, Tarkowski A, Lindhe J. Local and systemic TCR V gene expression in advanced periodontal disease. J Clin Periodontol 1998; 25: 125-33.
27. Berglundh T, Liljenberg B, Tarkowski A, Lindhe J. The presence of local and circulating autoreactive B cells in patients with advanced periodontitis. J Clin Periodontol 2002; 29: 281-6.
28. Lindhe J, Rylander H. Experimental gingivitis in young dogs. Scand J Dent Res 1975; 83: 314-26.
29. Barbour SE, Nakashima K, Zhang JB, Tangada S, Hahn CL, Schenkein HA et al. Tobacco and smoking: environmental factors that modify the host response (immune system) and have an impact on periodontal health. Crit Rev Oral Biol Med 1997; 8: 437-60.
30. Madretsma GS, Donze GJ, van Dijk AP, Tak CJ, Wilson JH, Zijlstra FJ. Nicotine inhibits the in vitro production of interleukin 2 and tumour necrosis factor-alpha by human mononuclear cells. Immunopharmacol 1996; 35: 47-51.
31. Petropoulos G, McKay IJ, Hughes FJ. The association between neutrophil numbers and interleukin-1 alpha concentrations in gingival crevicular fluid of smokers and non-smokers with periodontal disease. J Clin Periodontol 2004; 31: 390-5.
32. Boström L, Linder LE, Bergström J. Clinical expression of TNF-alpha in smoking-associated periodontal disease. J Clin Periodontol 1998; 25: 767-73.
33. Boström L, Linder LE, Bergström J. Influence of smoking on the outcome of periodontal surgery. A 5-year follow-up. J Clin Periodontol 1998; 25: 194-201.
34. Koundouros E, Odell E, Coward PY, Wilson RF, Palmer RM. Soluble adhesion molecules in serum of smokers and non-smokers, with and without periodontitis. J Periodontal Res 1996; 31: 596-9.
35. Palmer RM, Scott DA, Meekin TN, Poston RN, Odell EW, Wilson RF. Potential mechanisms of susceptibility to periodontitis in tobacco smokers. J Periodontal Res 1999; 34: 363-9.
36. Scott DA, Stableton JA, Wilson RF, Sutherland, G, Palmer RM, Coward PY et al. The acute influence of tobacco smoking on adhesion molecule expression on monocytes and neutrophils and on circulating adhesion molecule levels in vivo. Addict Biol 2000; 5: 195-205.
37. Nakamura T, Ebihara I, Shimada N, Koide H. Effect of cigarette smoking on plasma metalloproteinase-9 concentration. Clin Chim Acta 1998; 276: 173-7.
38. van Eeden SF, Hogg JC. The response if human bone marrow to chronic cigarette smoking. Eur Respir J 2000; 15: 915-21.
39. Barnet CC, Moore EE, Moore FA, Biffl WL, Patrick DA. Soluble intercellular adhesion molecule-1 provokes polymorphonuclear leucocyte elastase release by CD18. Surgery 1996; 120: 395-401.
40. Alavi AL, Palmer RM, Odell EW, Coward PY, Wilson RF. Elastase in gingival crevicular fluid from smokers and non-smokers with chronic inflammatory periodontal disease. Oral Dis 1995; 1: 110-4.
41. Wolff L, Dahlén G, Aeppli D. Bacteria as risk makers for periodontitis. J Periodontology 1994; 65: 498-510.
42. Scott DA, Stapelton JA, Wilson RF, Sutherland G. Palmer RM, Coward PY et al. Dramatic decline in circulating intercellular adhesion molecule-1 concentration on quitting tobacco smoking. Blood Cells Mol Dis 2000; 26: 255-58.
43. Rezevandi K, Palmer R, Odell EW, Scott DD, Wilson RF. Expression of ICAM-1 and E-selectin in gingival tissues of smokers and non-smokers with periodontitis. J Oral Pathol Med 2002; 31: 59-64.
44. Sopori ML, Kozak W. Immunomodulatory effects of cigarette smoke. J Neuroimmunol 1998; 83: 148-56.
45. Quinn SM, Zhang JB, Gunsolley JC, Schenkein HA, Tew JG. The influence of smoking and race on adult periodontitis and serum IgG2 levels. J Periodontol 1998; 69: 171-77.
46. Iho S, Tanaka Y, Takauji R, Kobayashi C, Muramatsu I, Iwasaki H et al. Nicotine induces human neutrophils to produce IL-8 through the generation of peroxynitrite and subsequent activation of NF-kappaB. J Leukoc Biol 2003; 74: 942-51.
47. Sørensen LT, Nielsen HB, Kharazmi A, Gottrup F. Effect of smoking and abstention on oxidative burst and reactivity of neutrophils and monocytes. Surgery 2004; 136: 1047-53.
48. Drost EM, Selby C, Lannan S, Lowe GD, MacNee W. Changes in neutrophil deformability following in vitro smoke exposure: mechanism and protection. Am J Respir Cell Mol Biol 1992; 6: 287-95.
49. Ackermann MF, Gasiewicz TA, Lamm KR, Germolec DR, Luster MI. Selective inhibition of polymorphonuclear neutrophil activity by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Toxicol Appl Pharmacol 1989; 101: 470-80.
50. MacFarlane GD, Herzberg MC, Wolff LF, Hardie NA. Refractory periodontitis associated with abnormal polymorphonuclear leukocyt phagocytosis and cigarette smoking. J Periodontology 1992; 63: 908-13.
51. Pabst MJ, Pabst KM, Collier JA, Coleman TC, Lemons-Prince ML, Godat MS et al. Inhibition of neutrophil and monocyte defensive functions by nicotine. J Periodontol 1995; 66: 1047-55.
52. Ryder MI, Fujitaki R, Lebus S, Mahboub M, Faia B, Muhaimin D et al. Alterations of neutrophil L-selectin and CD18 expression by tobacco smoke: implications for periodontal diseases. J Periodontal Res 1998; 33: 359-68.
53. Persson L, Bergström J, Ito H, Gustafsson A. Tobacco smoking and neutrophil activity in patients with periodontal diseases. J Periodontol 2001; 72: 90-5.
54. Zeilhofer HU, Schorr W. Role of interleukin-8 in neutrophil signaling. Curr Opin Hematol 2000; 3: 178-82.
55. Selby C, Drost E, Brown D, Howie S, MacNee W. Inhibition of neutrophil adherence and movement by acute cigarette smoke exposure. Exp Lung Res 1992; 18: 813-27.
56. Akgul C, Edwards SW. Regulation of neutrophil apoptosis via death receptors. Cell Mol Life Sci 2003; 60: 2402-8.
57. Frederiksson M, Bergström J, Åsman B. IL-8 and TNF-alpha from peripheral neutrophils and acute-phase proteins in periodontitis. J Clin Periodontol 2002; 29: 123-8.
58. Fraser HS, Palmer RM, Wilson RF, Coward PY, Scott DA. Elevated systemic concentrations of soluble ICAM-1 are not reflected in the gingival crevicular fluid of smokers with periodontitis. J Dent Res 2001; 80: 1643-7.
59. Palmer RM, Stapleton JA, Sutherland G, Coward PY, Wilson RF, Scott DA. Effect of nicotine replacement and quitting smoking on circulating adhesion molecule profiles (sICAM-1, sCD44v5, sCD44v6). Eur J Clin Invest 2002; 32: 852-7.
60. Pankow W, Neumann K, Rüschoff J, Schröder R, von Wichert P. Reduction in HLA-DR antigen density on alveolar macrofages of smokers. Lung 1991; 169: 255-62.
61. Mancini NM, Béné MC, Gérard H, Chabot F, Faure G, Polu JM et al. Early effects of short-time cigarette smoking on human lung: a study of bronchoalveolar fluids. Lung 1993; 171: 277-91.
62. Ferson M, Edwards A, Lind A, Milton GW, Hersey P. Low natural killer-cell activity and immunoglobulin levels associated with smoking in human subjects. Int J Cancer 1979; 23: 603-9.
63. Gulsvik A, Fagerhoi MK. Smoking and Immunoglobulin levels [letter] Lancet 1979; 1: 449.
64. Andersen P, Pedersen OF, Bach B, Bonde GJ. Serum antibodies and immunoglobulins in smokers and nonsmokers. Clin Exp Immunol 1982; 47: 467-73.
65. Hersey P, Predergast D, Ewards A. Effects of cigarette smoking in the immunesystem. Follow-up studies in normal subjects after cessation of smoking. Med J Aust 1983; 15: 425-9.
66. Robertson MD, Boyd JE, Collins HP, Davis JM. Serum immunoglobulin levels and humoral immune competence in coalworkers. Am J Ind Med 1984; 6: 387-93.
67. McSharry C, Banham SW, Boyd G. Effect of cigarette smoking on the antibody response to inhaled antigens and the prevalence of extrinsic allergic alveolitis among pigeon breeders. Clin Allergy 1985; 15: 487-94.
68. Quinn SM, Zhang JB, Gunsolley JC, Schenkein JG, Schenkein HA, Tew JG. Influence of smoking and race on immunoglobulin G subclass concentrations in early-onset periodontitis patients. Infect Immun 1996; 64: 2500-5.
69. Haber J. Cigarette smoking: a major risk factor for periodontitis. Compendium 1994; 15: 1002-8.
70. Tangada SD, Califano JV, Nakashima K, Quinn SM, Zhang JB, Gunsolly JC et al. The effect of smoking om serum IgG2 reactive with Actinobacillus actinomycetemcomitans in early-onset periodontitis patients. J Periodontol 1997; 68: 842-50.
71. Evans P, Der G, Ford G, Hucklebridge F, Hunt K, Lambert S. Social class, sex and age differences in mucosal immunity in a large community sample. Brain Behav Immun 2000; 14: 41-8.
72. Graswinkel JE, van der Velden U, van Winkelhoff AJ, Hoek FJ, Loos BG. Plasma antibody levels in periodontitis patients and controls. J Clin Periodontol 2004; 31: 562-8.
73. Merrill WW, Naegel GP, Olchowski JJ, Reynolds HY. Immunoglobulin

G subclass proteins in serum and lavage fluid of normal subjects. Quantitation and comparison with immunoglobulins A and E. Am Rev Respir Dis 1985; 131: 584-7.
74. O'Keefe S, Gzel A, Drury R, Cullina M, Greally J, Finnegan P. Immunoglobulin G subclasses and spirometry in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Eur Respir J 1991; 4: 932-6.
75. Clarke NG, Shephard BC, Hirsch RS. The effect of intra-arterial epiniphrine and nicotine on gingival circulation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1981; 52: 577-82.
76. Danielsen B, Manji F, Nagelkerke N, Fejerskov O, Baelum V. Effect of cigarette smoking on the transition dynamics in experimental gingivitis. J Clin Periodontol 1990; 17: 159-64.
77. Holmes LG. Effects of smoking and/or vitamin C on crevicular fluid flow in clinically healthy gingiva. Quintessence Int. 1990; 21: 191-5.
78. Morozumi T, Kubota T, Sato T, Okuda K, Yoshie H. Smoking cessation increases gingival blood flow and gingival crevicular fluid. J Clin Periodontol 2004; 31: 267-72.
79. Baab DA, Öberg PA. The effect of cigarette smoking on gingival blood flow in humans. J Clin Periodontol 1987; 14: 418-24.