



Povezanost kliničkih parametara i prisustva *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* i *Porphyromonas gingivalis* kod pacijenata sa progresivnim parodontalnim lezijama

Association between clinical parameters and the presence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in patients with progressive periodontal lesions

Mia Rakić*, Ksenija Zelić*, Dušan Pavlica†, Miloš Hadžimihajlović*, Jelena Milašin‡, Biljana Miličić§, Nebojša Nikolić||, Novak Stamatović¶, Smiljana Matic¶, Zoran Aleksić*, Saša Janković*

Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet, *Klinika za parodontologiju i oralnu medicinu, †Katedra za mikrobiologiju, ‡Katedra za humanu genetiku, §Katedra za informatiku, Beograd, Srbija; ||Univerzitet u Beogradu, Fakultet organizacionih nauka, Katedra za upravljanje sistemima, Beograd, Srbija; ¶Vojnomedicinska akademija, Klinika za maksilofacijalnu, oralnu hirurgiju i implantologiju, Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Parodontopatija je hronično inflamatorno oboljenje parodontalnih tkiva koje za krajnji ishod ima gubitak potpornog koštanog tkiva zuba usled imunoloških reakcija izazvanih parodontopatogenim bakterijama. Cilj studije bio je korelisanje kliničkih parametara i prisustva dve najagresivnije parodontopatogene bakterije (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* – A.a. i *Porphyromonas gingivalis* – P.g.) kod bolesnika sa progresivnim parodontalnim lezijama. **Metode.** U studiju su bila uključena 34 sistemski zdrava ispitanika, starost 23–70 godina. Ispitanici su klinički i radiološki pregledani i uzorak je uziman iz reprezentativnog parodontalnog džepa sa najvećom dubinom sondiranja. Od kliničkih parametara mereni su gingivalni indeks, indeks krvarenja gingive, dubina parodontalnog džepa i indeks plaka. Prisustvo parodontopatogena dokazivano je multipleks metodom PCR (*Polymerase Chain Reaction*), a rezultati su korelisani sa klinič-

kim parametrima primenom odgovarajućih statističkih testova. **Rezultati.** Ista procentualna zastupljenost oba mikroorganizma dokazana je u uzorcima, naime i A.a. i P.g. bili su prisutni u po 35,39% uzoraka, a u 29,41% dokazana su oba mikroorganizma. Rezultati su korelisani po grupama formiranim u odnosu na prisustvo bakterija. Vrednosti merenih kliničkih parametara nisu se statistički značajno razlikovale u zavisnosti od prisustva parodontopatogena. Međusobne korelacije kliničkih parametara unutar grupe nisu pokazale statističku značajnost, osim korelacije gingivalnog i plak indeksa u grupi sa A.a. **Zaključak.** Klinički tok uznapredovale faze parodontopatije ne razlikuje se u odnosu na vrstu parodontalnih bakterija kao induktora imunološki posredovanih destruktivnih procesa.

Ključne reči:

periodontalne bolesti; periodontalni džep; periodontalni indeks; infekcija, bakterijska.

Abstract

Background/Aim. Periodontitis is a chronic inflammatory disease of periodontal tissues with consequential is bone loss as a result of host immunological reactions caused by periopathogens. The aim of the study was to investigate if there is a correlation between clinical parameters and the presence of two most aggressive periopathogens (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* – Aa and *Porphyromonas gingivalis* – Pg) in patients with progressive periodontal lesions. **Methods.** A total of 34 systemic healthy people, 23 to 70 years old, were included in the study. The patients were clinically

and radiologically examined, and after that, the representative pocket with greatest pocket depth was chosen and the sample was collected from that place. The measured clinic parameters were: gingival index, index of gingival bleeding, pocket depth and plaque indices. The multiplex Polymerase Chain Reaction (PCR) method was used for detection of periopathogens. After obtaining results, appropriate statistical tests were used to correlate the clinical and microbiological results. **Results.** Aa and Pg were detected in the same percentage of samples. Aa and Pg were detected in 35.29% samples alone, and in 29.41% both were detected. The values of measured clinical parameters did not show a

statistical significance between the groups. In analysis of correlations among clinical parameters inside the groups, a statistical significance was found only between gingival and plaque index in the group with Aa. **Conclusion.** Clinical course of periodontitis in the developed stage does not differ in relation to the presence of different periopathogens as

the major inductors of immunologically guided destructive processes.

Key words:
periodontal diseases; periodontal pocket; periodontal index; bacterial infections.

Uvod

Parodontopatija predstavlja multifaktorsko oboljenje uzrokovano parodontopatogenim mikroorganizmima, čiji su tok i ishod bolesti određeni genskim predispozicijama i imunološkim reakcijama domaćina¹⁻⁴. Savremenom definicijom mikrobiološko težište patogeneze pomeren je na etiološko mesto^{2,5}, a prethodni uspjesi terapije zasnovane na mikrobiološkoj teoriji, rezultat su smanjenja lokalne koncentracije mikroorganizama na račun povećanja imunološke efikasnosti.

Parodontopatogena mikroflora uključuje izvestan broj bakterija iz grupe gram negativnih anaeroba, među kojima se po svom agresivnom potencijalu izdvajaju *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* – A.a. i *Porphyromonas gingivalis* – P.g.^{1,5-9}. Agresivnost ovih mikroorganizama odnosi se, posebno, na njihovu sposobnost da direktnim i indirektnim mehanizmima indukuju specifičnu imunost i modifikuju imunološke mehanizme u destruktivnom smeru, što je, upravo, ključni element ovog oboljenja^{2,10}.

Bakterija A.a. je anaerobni gram negativni nepokretni kokobacil udružen, takođe, sa ekstraoralnim infekcijama, i svojstven agresivnim formama parodontopatije^{8,11,12}. Ovaj mikroorganizam, pored sposobnosti produkcije enzima koji vrše direktna lokalna oštećenja parodontalnog tkiva, raspolaže faktorima virulencije koji značajno ometaju, suprimiraju i usmeravaju u negativnom smeru imunološke faktore i mehanizme⁴. Među njima su leukotoksin, citoletalni toksin rastezanja, faktori imunosupresije koji inhibiraju blastogenezu, produkciju antitela i aktiviraju T-regulatorne ćelije, takođe, inhibitori funkcije polimorfonukleara i elementi koji ih čine otpornim na komplement.

Bakterija P.g. je gram negativni, anaerobni, nesporogeni bacil koji poseduje fimbrije i produkuje mrki pigment porfirin, a više je svojstven hroničnim parodontopatijama¹¹. Ovaj mikroorganizam produkuje metabolite i strukture male molekulske mase, što im omogućava da lako prodiru kroz tkivo. Među njima su enzimi i toksični metaboliti koji dovode do značajne lokalne destrukcije tkiva, ali i imunoaktivne komponente, koje značajno remete imunološke reakcije. Kao najagresivniji mehanizmi izdvajaju se produkcija imunoglobulinskih proteaza i gingipeina, indukcija produkcije interleukina (IL)-6 i matriksnih metaloproteinaza (MMP)¹³.

Obe bakterije imaju karakteristične patogene mehanizme, ali je krajnji efekat zajednički i zasnovan je na aktivaciji osteoklasta pod uticajem citokina i prostanoida¹⁵. Među njima su najznačajniji prostaglandin E₂ (PGE₂), faktor nekroze tumora α (TNF- α), interleukini, IL-1 β , IL-6, IL-17 i ligand receptora aktivatora nuklearnog faktora kapa b (RANKL), kao i na aktivaciji tkivnih matriksnih metaloproteinaza^{7,13-15}.

Polazna hipoteza ovog rada glasi da je kod ispitanika kod kojih su u parodontalnim džepovima istovremeno prisutni A.a. i P.g. izraženija destrukcija parodontalnog tkiva nego kod ispitanika sa pojedinačnim nalazom jedne od njih. Shodno tome, cilj rada bio je ispitivanje povezanosti parodontoloških kliničkih parametara u zavisnosti od prisustva A.a. i P.g. i njihove udruženo- sti kod ispitanika sa progresivnim parodontalnim lezijama.

Metode

Klinička studija sprovedena je na Klinici za parodontologiju i oralnu medicinu Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, u periodu od marta 2007. do maja 2008. godine. U studiju su bila uključena 34 ispitanika sa agresivnom i uznapređovalom hroničnom parodontopatijom: 13 žena (38%) i 21 muškarac (42%), starosti od 23 do 70 godina, prosečno 47 godina. Mikrobiološka analiza urađena je u laboratoriji za molekularnu genetiku Stomatološkog fakulteta.

Sistemski zdravi ispitanici birani su na osnovu kliničkog pregleda i radiološkog nalaza digitalnog ortopan tomografskog (OPT) snimka, pri čemu je preduslov bio da postoji minimalno četiri koštana defekta sa dubinom džepa (DDŽ) > 4 mm, da ispitanici nisu uzimali antibiotike u prethodna 3 meseca, antiinflamatorne lekove u prethodne dve nedelje od trenutka uzorkovanja i da kod njih nije sprovedena kauzalna terapija parodonticijuma poslednjih godinu dana.

Ispitanicima su mereni gingivalni indeks po Löe-Silness-u, indeks krvarenja gingive, dubina parodontog džepa i plak indeks po Silness-Löe-u. Gingivalni indeks, indeks krvarenja gingive i plak indeks mereni su prema ustaljenom metodu, a dubina parodontalnog džepa merena je na svim zubima osim na trećim molarima. Po određivanju indeksa i izvršenim pregledima, biran je reprezentativni parodontalni džep sa najvećim stepenom destrukcije i sa tog mesta je uzorkovan materijal. Na nivou ovih zuba merena je i beležena dubina parodontalnog džepa u cilju direktnog korelisanja sa prisustvom bakterija u ispitivanom džepu (slika 1).

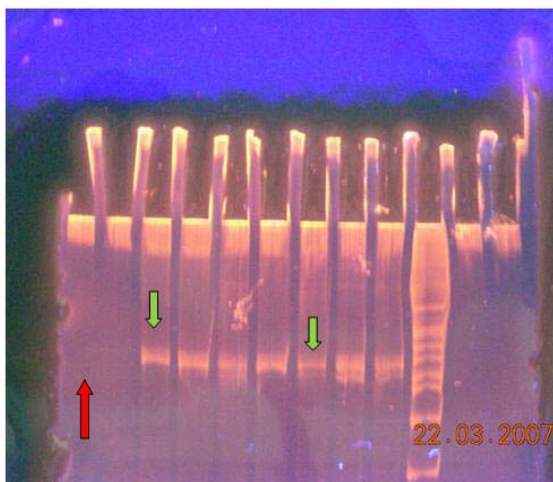
Klinička faza podrazumevala je sakupljanje sadržaja parodontalnog džepa papirnim poenom sa mesta najveće dubine sondiranja. Papirni poen plasiran je u ependorf epruvetu sa puferskim rastvorom i nakon toga zamrzavan na -18 °C do početka obrade.

Laboratorijska faza obuhvatala je analizu uzoraka primenom multiple PCR metode, što podrazumeva simultanu amplifikaciju DNK sekvenci obe bakterijske vrste, primenom prajmera visokospecifičnih za obe bakterije (A.a.: CACTTAA-AGGTCGCCTACGTGC, P.g.: CAATACTCGTATTTC) pojedinačnog, i univerzalnog 16s rDNK „forward“ prajmera E. Coli (AAGGAGGTGATCCAGCCGCA). Uzorci su pripremani pre PCR analize, a nakon toga su aplikovani u odgovarajuću količinu u reakcione smeše. Korišćena je reakciona smeša zapremine 25 μ L koju su činili PCR/Mg⁺⁺ puffer, dezoksiribonukleotidi, po 1,5 μ L svakog prajmera, 1U Taq DNK polimera-



Sl. 1 – Merenje parodontalnog džepa graduisanom sondom

ze i 3 μ L DNK supernatanta. Rađen je PCR na ThermoHybaid aparatu (Thermo, Waltham, MA.) koji je programiran prema predhodno utvrđenim parametrima. Posle amplifikacije usledila je elektroforeza na 8% poliakril-amidnom (PAA) gelu. Amplifikovani fragmenti su vizuelizovani na ultravioletnom transiluminatoru, nakon bojenja etidijum-bromidom (slika 2).



Sl. 2 – Amplifikovani fragmenti

(prvi bunar: odsustvo bakterijskih gena; treći bunar: prisustvo A.a. gena; sedmi bunar: prisustvo gena obe bakterije)

Ispitanici su svrstani u tri grupe na osnovu prisustva parodontopatogenih bakterija: sa prisutnim A.a, sa prisutnim P.g. i sa prisutna oba mikroorganizma.

U okviru svake grupe dat je zbirni pregled parametara deskriptivne statistike: AS – srednja vrednost; Med - medijana; SD - standardna devijacija; Min - minimalna vrednost; Max - maksimalna vrednost i IP – interval poverenja srednje vrednosti. Poređenje prisustva parodontopatogenih bakterija i kliničkih parametara vršeno je unutar formiranih grupa tako što je utvrđen stepen korelacije i njena p -vrednost između svakog kliničkog parametra po grupama. Neparametarski Mann-Withney-ev test korišćen je za poređenje međusobnih odstupanja srednjih vrednosti kliničkih parametara unutar grupa. Korelisanje kliničkih parametara svih grupa bilo je zasnovano na neparametarskom Kruskal-Wallis-ovom testu i jednofaktorskoj analizi varijanse zasnovanoj po pretpostavci na normalnoj raspodeli. Interval poverenja (CI = 95%) služio je kao osnova za sve statističke testove.

Rezultati

Prisustvo obe bakterije dokazano je u podjednakom procentu uzoraka: A.a. prisutan kod 35,29% i P.g. prisutan kod 35,29%, a kod 29,41% dokazano je prisustvo obe bakterije. Vrednosti gingivalnog indeksa, indeksa krvarenja gingive, dubine parodontalnog džepa i plak indeksa, kao i njihove korelacije među grupama, date su tabelarno (tabela 1). Ispitivanje značajnosti razlika u vrednostima indeksa krvarenja između sve tri grupe bakterija izvršeno je primenom Kruskal-Wallis-ovog testa, a dobijene razlike nisu bile statistički značajne ($p = 0,363$). Ovaj zaključak potkrepljen je uporednim testom jednofaktorske analize varijanse

Rezultati međusobnih korelacija kliničkih parametara i prisustva bakterija unutar svake grupe dati su u tabeli 2. Takođe, analizirana je korelacija između kliničkih parametara u okviru svake grupe i utvrđeno je da postoji statistički značajna korelacija ($\rho = 0,769$) jedino između gingivalnog i indeksa plaka kod ispitanika sa prisutnim A.a. ($p = 0,0035$).

Tabela 1

Vrednosti kliničkih parametara								
Grupe bakterija	AS	Med	SD	Min	Max	IP (95%)	Mann Whitney U -test	
Vrednosti gingivalnog indeksa								
A.a.	2,01	2,00	0,37	1,33	3,00	1,78-2,25	A.a.	P.g.
P.g.	1,86	2,00	0,39	1,33	2,75	1,61-2,10	$p = 0,319$	
P.g./A.a.	1,83	2,00	0,22	1,50	2,00	1,67-1,99	$p = 0,283$	$p = 0,923$
Vrednosti indeksa krvarenja gingive								
A.a.	2,50	3,00	0,73	1,16	3,00	2,03-2,96	A.a.	P.g.
P.g.	2,38	3,00	0,89	0,20	3,00	1,81-2,95	$p = 0,977$	
P.g./A.a.	2,56	2,92	0,69	1,50	3,50	2,07-3,06	$p = 0,872$	$p = 0,923$
Vrednosti dubine parodontalnog džepa								
A.a.	6,23	6,00	1,35	4,50	8,50	5,37-7,09	A.a.	P.g.
P.g.	5,33	5,00	1,67	3,50	10,00	4,27-6,39	$p = 0,142$	
P.g./A.a.	6,00	5,75	1,29	4,50	8,50	5,08-6,92	$p = 0,716$	$p = 0,294$
Vrednosti indeksa plaka								
A.a.	1,75	1,83	0,81	0,00	3,00	1,24-2,26	A.a.	P.g.
P.g.	1,59	1,73	0,80	0,00	2,66	1,08-2,10	$p = 0,582$	
P.g./A.a.	1,49	1,72	0,85	0,16	3,00	0,88-2,10	$p = 0,931$	$p = 0,643$

A.a. – *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; P.g. – *Porphyromonas gingivalis*; AS – srednja vrednost; Med – medijana; SD – standardne devijacije; Min – minimalne vrednosti; Max – maksimalna vrednost; IP – interval poverenja

Tabela 2

Grupe bakterija		Korelacije kliničkih parametara			p (0,95%)		
		GI	IKG	DDŽ	GI	IKG	DDŽ
A.a.	GI	1,000					
	IKG	0,455	1,000		0,1376		
	DDŽ	0,207	-0,508	1,000	0,5191	0,0919	
	PI	0,769	0,533	0,068	0,0035	0,0741	0,8344
P.g.	GI	1,000					
	IK	-0,173	1,000		0,5918		
	DDŽ	0,088	0,380	1,000	0,7858	0,2231	
	PI	-0,232	0,252	0,101	0,4689	0,4303	0,7557
A.a./P.g.	GI	1,000					
	IKG	-0,215	1,000		0,5503		
	DDŽ	0,328	0,387	1,000	0,3555	0,2692	
	PI	0,151	0,194	0,027	0,6764	0,5915	0,9403

GI – gingivalni indeks; IKG – indeks krvarenja gingive; DDŽ – dubina parodontalnog džepa; PI – indeks plaka

A.a. – *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; P.g. – *Porphyromonas gingivalis*; AS – srednja vrednost; Med – medijana; SD – standardne devijacije;

Diskusija

Motiv ovog istraživanja bio je da se utvrde povezanosti kliničkih parametara bolesti i prisustva parodontopatogenih bakterija kod ispitanika sa progresivnim parodontalnim lezijama, da bi se uz poznavanje savremenih mehanizama delovanja pomenutih bakterija razjasnila i utvrdila patološka događanja tokom bolesti, i da bi se na osnovu toga potencijalno koncipirala ili modifikovala terapija bolesti.

Ispitanici sa progresivnim parodontalnim lezijama obuhvatali su one sa agresivnom parodontopatijom, zbog multifaktorske prirode bolesti, jer oni predstavljaju reprezentativne predstavnike gubitka koštanog tkiva kao parametra imunološke aktivnosti, odnosno punog obima bolesti. Kod njih se očekivalo prisustvo A.a.^{4,8,12}. Ispitanici sa uznapredovalim oblicima hronične parodontopatije uključeni su zbog očekivanog prisustva P.g. i prisutne koštane destrukcije, odnosno mogućnosti varijacije na nivou mikroflore u smeru naknadnog pojavljivanja A.a.

Ispitivane parodontalne bakterije raspolažu veoma agresivnim imunostimulativnim mehanizmima. Od samog početka bakterije prevazilaze nespecifični i imunski odgovor zahvaljujući receptorima patogenih molekularnih obrazaca (PAMP)¹ koji su neprepoznatljivi eukariotskim fagocitima. Na taj način premošćuju opsonizaciju i fagocitozu i usmeravaju reakciju odbrane ka specifičnoj odbrani aktivacijom receptora sličnih *toll*-u, čiji je ishod aktivacija osteoklastne aktivnosti posredstvom transkripcionih signala za sintezu citokina i MMP-a^{14,15}.

A.a. proizvodi limfotoksin koji ubija i suprimira limfocite i monocite, dok citoletalni toksin rastezanja napada hromozom i pravi gracično oštećenje DNK molekula, što sve dovodi do prevremene apoptoze limfocita. Oni, takođe, proizvode faktore imunosupresije koji inhibiraju blastogenezu, produkciju antitela i aktiviraju T-regulatorne i, takođe, proizvode inhibitore funkcije polimorfonukleara i elemenata koji ih čine otpornim na komplement.

Sa druge strane P.g., pored produkcije imunoglobulinskih proteaza, indukuje oslobađanje IL-6, PGE2 i aktiviranje MMP.

Među ispitanicima sa progresivnim parodontalnim lezijama, obuhvaćenih ovom studijom, prisustvo P.g. i A.a.

dokazano je u istom procentu uzoraka (35,4%), dok je prisustvo obe bakterije dokazano u 29,41% uzoraka.

Bakterija A.a. je svojstvena agresivnim parodontopatijama i u našoj studiji je dokazana u preko polovini uzoraka (ukupno 64,81%) što je u pozitivnoj korelaciji sa tvrdnjama Međunarodne radionice o klasifikaciji parodontopatija i podacima iz literature¹⁶⁻¹⁸. Međutim, P.g. je dokazan u značajno visokom procentu, istom kao i A.a. Takeuchi i sar.⁸ utvrdili su prisustvo A.a. u niskom procentu uzoraka, dok je P.g. dominirao kod ispitanika sa agresivnom parodontopatijom. Dobijeni rezultati, takođe, potvrđuju da je P.g. udružen sa težim oblicima parodontalne destrukcije, što su potvrdili svojom drugom studijom Takeuchi i sar.¹⁰, kada je dokazano prisustvo P.g. u 84,2% uzoraka pacijenata sa agresivnom parodontopatijom.

Naši rezultati, koji nisu pokazali statistički značajnu razliku između dubine parodontalnog džepa i prisustva obe bakterije, pokazuju da u trenutku kada je aktivirana imunološka kaskada, prisustvo jedne ili obe bakterije, odnosno zbirnost njihovog efekta najverovatnije nema udela na destrukciju tkiva.

Pored ovih, direktnih imunoinduktivnih mehanizama, oba mikroorganizma destrukcijom tkiva enzimima kao što su: kolagenaze, arisulfataze, proteaze slične tripsinu, fibronektin degradirajući enzim, gingipeini, dovode do indukcije proinflamatornih citokina koji dodatno doprinose povećanju ukupne koncentracije citokina ka kritičnoj vrednosti koja aktivira osteoklastnu aktivnost^{1,15}.

Pomenuti bakterijski enzimi svojim dejstvom dovode i do lokalnih znakova zapaljenja, pa se njima objašnjavaju vrednosti indeksa krvarenja gingive i gingivalnog indeksa. Našom studijom nismo utvrdili statistički značajnu razliku među grupama u nivou pomenutih indeksa, što se razlikuje od rezultata Albandar-a i sar.¹⁶, koji su u svom radu utvrdili pozitivnu korelaciju vrednosti indeksa krvarenja gingive i prisustva P.g.

Korelisanje prisustva plaka i bakterija imalo je za cilj da utvrdi uticaj plaka, kao izvora i uslova patogenosti ispitivanih bakterija na destrukciju kosti. Kako nije utvrđena statistički značajna razlika između dubine parodontalnog džepa i indeksa plaka to, takođe, govori u prilog tome da uz prisustvo bakterija i njima indukovanu imunološku kaskadu, dodatni faktori, kao

što je količina plaka, nema značajnu ulogu, što je jedna od usvojenih karakteristika agresivnih parodontopatija^{1,18} i saglasna je sa istraživanjima Lópeza i sar.¹⁷ U grupi ispitanika sa prisutnim A.a. utvrđena je jedina pozitivna korelacija između gingivalnog indeksa i indeksa plaka, što ukazuje na agresivnost i inflamatorno induktivni potencijal ove bakterije.

Zaključak

Rezultati istraživanja navode na zaključak da parodontalna destrukcija nije u specifičnoj korelaciji sa prisu-

stvom jedne ili obe ispitivane bakterije. Kako indeks plaka, kao patološki uslov parodontopatogena, nije u korelaciji sa dubinom parodontalnog džepa, to dodatno govori da je bakterijska uloga u induktivnoj imunološkoj fazi različita od njihove uloge u agresivnoj destruktivnoj fazi bolesti. Zbog toga, rezultati ove studije mogu dati smernice za dalja ispitivanja imunoloških mehanizama destrukcije parodontalnih struktura, što bi uključivanjem većeg broja ispitanika, takođe, moglo rezultirati izvođenjem novih terapijskih modaliteta.

L I T E R A T U R A

1. Newman M, Takei H, Klokeevold P, Carranza F. Carranza's clinical periodontology. 10th ed. USA, St Louis: Saunders; 2006. p. 550.
2. Kornman KS. Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. J Periodontol 2008; 79: 1560–8.
3. Cochran D. Inflammation and bone loss in periodontal disease. J Periodontol 2008; 79: 1569–76.
4. Pant VA, Mathur RM. Aggressive periodontitis: need to assess the prevalence and to plan the management strategies in indian scenario. India: Indmedica; 2006. Available from: <http://cyberlectures.indmedica.com/show/42/1/>
5. Choi BK, Moon SY, Cha JH, Kim KW, Yoo YJ. Prostaglandin E(2) is a main mediator in receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand-dependent osteoclastogenesis induced by Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, and Treponema socranskii. J Periodontol 200; 76(5): 813–20.
6. Lindhe J, Karring T, Lang NP. Clinical periodontology, and implant dentistry. 5th ed. Oxford, Blackwell: Munksgaard; 2008. pp. 1297–317.
7. Ramseier CA, Kinney JS, Herr AE, Braun T, Sugai JV, Shelburne CA, et al. Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease. J Periodontol 2009; 80(3): 436–46.
8. Takeuchi Y, Umeda M, Ishizuka M, Huang Y, Ishikawa I. Prevalence of periodontopathic bacteria in aggressive periodontitis patients in a Japanese population. J Periodontol 2003; 74(10): 1460–9.
9. van Winkelhoff AJ, Loos BG, van der Reijden WA, van der Velden U. Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. J Clin Periodontol 2002; 29(11): 1023–8.
10. Takeuchi Y, Umeda M, Sakamoto M, Benno Y, Huang Y, Ishikawa I. Treponema socranskii, Treponema denticola, and Porphyromonas gingivalis are associated with severity of periodontal tissue destruction. J Periodontol 2001; 72(10): 1354–63.
11. Greenwood D, Slack R, Penhlerer J. Medical microbiology. 16th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2002.
12. Doğan B, Kıpalev AS, Okte E, Sultan N, Asikainen SE. Consistent intrafamilial transmission of Actinobacillus actinomycetemcomitans despite clonal diversity. J Periodontol 2008; 79(2): 307–15.
13. Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. J Periodontol 2008; 79(8 Suppl): 1585–91.
14. Duarte PM, de Mendonça AC, Máximo MB, Santos VR, Bastos MF, Nociti FH. Effect of anti-infective mechanical therapy on clinical parameters and cytokine levels in human peri-implant diseases. J Periodontol 2009; 80(2): 234–43.
15. Abbas A, Lichtman A. Basic immunology: functions and disorders of the immune system. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 2006.
16. Albandar JM, Olsen I, Gjermo P. Associations between six DNA probe-detected periodontal bacteria and alveolar bone loss and other clinical signs of periodontitis. Acta Odontol Scand 1990; 48(6): 415–23.
17. López R, Frydenberg M, Baelum V. Clinical features of early periodontitis. J Periodontol 2009; 80(5): 749–58.
18. Rogers AH. Molecular oral microbiology. Norfolk, UK: Caister Academic Press; 2008.

Primljen 14. IX 2009.
Revidiran 25. XII 2009.
Prihvaćen 12. IV 2010.