

***Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ja *Porphyromonas gingivalis*
raskautta suunnittelevilla naisilla**

Henna Haapala

Hammaslääketieteen kandidaatti

Helsinki 25.11.2015

Tutkielma

henna.haapala@helsinki.fi

Ohjaajat: Dos. Pirkko

Pussinen ja Susanna Paju

HELSINGIN YLIOPISTO

Lääketieteellinen tiedekunta

HELSINGIN YLIOPISTO – HELSINGFORS UNIVERSITET

Tiedekunta/Osasto – Fakultet/Sektion – Faculty		Laitos – Institution – Department	
Lääketieteellinen tiedekunta		Suu- ja leukasairauksien osasto	
Tekijä – Författare – Author			
Henna Haapala			
Työn nimi - Arbetets titel – Title			
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ja <i>Porphyromonas gingivalis</i> raskautta suunnittelevilla naisilla			
Oppiaine – Läroämne – Subject			
Parodontologia			
Työn laji – Arbetets art – Level	Aika – Datum – Month and year	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages	
Tutkielma	25.11.2015	23	
Tiivistelmä – Referat – Abstract			
<p>Tutkielman tavoitteena oli selvittää, onko parodontiitin tunnettujen patogeenien <i>Porphyromonas gingivalis</i> ja <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> tai niiden immunoglobuliini A (IgA)- ja immunoglobuliini G (IgG)- luokan vasta-aineiden esiintymisellä raskautta suunnittelevien naisten syljessä ja seerumissa yhteyttä raskauden alkamiseen, keskenmenoihin tai ennenaikaisiin synnytyksiin.</p> <p>Tutkimusjoukko koostui 256 terveestä suomalaisnaisesta, joiden kuukautiset olivat säännölliset ja jotka eivät olleet raskaana mutta olivat lopettaneet ehkäisyn käytön ja halusivat tulla raskaaksi. Tutkimuksen alussa tutkittavien sairaushistoria selvitettiin, heille suoritettiin perusteellinen suututkimus ja heiltä kerättiin sylki- ja seeruminäytteet. Sylkinäytteistä eristettiin bakteeriat DNA, jonka jälkeen <i>A. actinomycetemcomitans</i> ja <i>P. gingivalis</i> detektoitiin näytteestä PCR-menetelmällä. Seerumin IgA- ja IgG-luokan vasta-aineet <i>A. actinomycetemcomitans</i>ille ja <i>P. gingivalis</i>elle määritettiin seerumeista entsyymivälitteisellä immunosorbenttimäärityksellä (ELISA).</p> <p>Tutkimuksessa havaittiin, että <i>P. gingivalis</i> ja sen IgA- ja IgG-luokan vasta-aineiden korkea taso raskautta suunnittelevien naisten syljessä on yhteydessä raskaaksi tulemisen epäonnistumiseen. Tutkimuksemme on näin ollen ensimmäinen, joka osoittaa sekä mikrobiologisin että serologisista menetelmin parodontiitin pääpatogeenin <i>Porphyromonas gingivalis</i> estävän nuoria naisia tulemasta raskaaksi.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords			
Aggregatibacter actinomycetemcomitans; Porphyromonas gingivalis; Periodontitis; Fertility; Pregnancy outcome			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited			
Terveystieteiden keskuskirjasto ja Helda			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			

1 Johdanto	1
1.1 Parodontiitti.....	1
1.2 <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	3
1.3 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	4
1.4 Ennenaikainen synnytys ja keskenmeno	6
1.5 Parodontiitin yhteys raskaaksi tulemiseen ja raskauskomplikaatioihin	7
2 Työn tarkoitus	10
3 Aineisto	10
4 Menetelmät.....	11
5 Tulokset.....	11
6 Pohdinta.....	18
Lähteet.....	20

1 Johdanto

1.1 Parodontiitti

Parodontiitilla tarkoitetaan tulehduksellisia ja kudostuhoa aiheuttavia suusairauksia, jotka ilmenevät hammasta leukaluuhun kiinnittävässä sidekudoksessa ja luussa. Ne johtavat ientaskujen syntymiseen, hampaiden kiinnityksen vähittäiseen löystymiseen ja lopulta hampaiden menetykseen. (1) Yli 30-vuotiaista suomalaisista jonkinasteista parodontiittia sairastaa 64 % hampaallisista (2).

Parodontiitin aiheuttajina pidetään hampaan pinnalla biofilimuodostumana moninaisina kasvavia suun bakteereja. Biofilmin bakteerit vapauttavat leukotoksiineja, kollageenaaseja, fibrinolysiinejä ja muita proteaaseja, jotka aiheuttavat parodontiumin tulehtumisen (1). Tämä aktivoi puolustustekijöitä, jolloin ne siirtyvät tulehtuneeseen parodontiumiin vapauttaen bakteerien tavoin kudoksia vaurioittavia proteolyttisiä entsyymejä. Vähitellen kollageenipitoinen ien, parodontaaliligamentti ja alveoliluu hajoavat. (1, 3)

Menetettyä kudosta ei pystytä korvaamaan ja ientaskut syvenevät vähitellen, jolloin olosuhteet bakteereiden kasvuksi ovat entistäkin otollisemmat. Bakteerien määrä lisääntyy ientaskun syventyessä ja tulehduksen edetessä jopa 100 000-kertaiseksi verrattuna mataliin ja terveisiin ientaskuihin. Parodontiitissa suurin ero bakteerimäärässä verrattuna terveeseen henkilöön onkin juuri subgingivaalifloorassa. (3)

Suun mikrobiitiheys on suuri ja viljeltäviä lajeja on yli 500. Molekulaarisin menetelmin lajeja on löydetty vieläkin enemmän. (1) Terveessä parodontiumissa bakteerien enemmistön muodostaa grampositiiviset fakultatiivibakteerit, kun taas parodontiitissa valtaosa bakteereista on gramnegatiivisia anaerobeja. Suun bakteereista parodontiitin patogeeneiksi on tunnistettu kymmenkunta. Terveessä parodontiumissa näitä bakteereja ei kuitenkaan välttämättä esiinny lainkaan tai niiden osuus floorasta on pieni. (3)

Patogeneina pidetään gramnegatiivisia anaerobeja *Aggregatibacter actinomycetemcomitansia*, *Porphyromonas gingivalista*, *Tannerella forsythiaa* ja *Treponema denticolaa*. (1)

Parodontiitin kehittymisessä huonosta suuhygieniasta johtuva biofilmin liikakasvu, erityisesti anaerobisten bakteerien määrän lisääntyminen, on merkittävä riskitekijä. Usein parodontiitin taustalla on myös muita tekijöitä eli se on monitekijäinen sairaus. Parodontiitin riskitekijöitä ovat miessukupuoli, tupakointi, alkoholi, huonossa hoitotasapainossa oleva diabetes, iän tuomat muutokset, lihavuus, metabolinen oireyhtymä, stressi, infektiotaltius, osteoporoosi, alhainen kalsiumin ja D-vitamiinin saanti, huono sosioekonominen asema sekä perinnöllinen alttius. (1, 4)

Kliinisten ominaisuuksien mukaan parodontiitti jaetaan krooniseen ja aggressiiviseen muotoon. Lisäksi parodontiitti voidaan jakaa esiintymisen mukaan. Kudostuhon rajoittuessa vain yhteen tai muutama hampaaseen on kyseessä paikallinen ja suuremmalle osalle hampaistoa ulottuessaan yleistynyt parodontiitti. (2) Yleisin parodontiitin muoto on krooninen parodontiitti, joka tulee kliinisesti merkittäväksi keski-ikäisessä väestössä. Se etenee hitaasti, kun taas usein jo puberteetissa puhkeava aggressiivinen parodontiitti voi edetä hyvinkin nopeasti. (5) Syklisyys on parodontiitille tyypillinen ominaisuus, eli aktiivisten vaiheiden välissä on myös rauhallisempia jaksoja (3, 5). Krooninen ja aggressiivinen parodontiitti eroavat toisistaan myös patogeenien suhteen (6).

Parodontiittiin viittaavia löydöksiä ovat kiinnityskuduskato, tulehdus, furkaatioleesiöt, ienvetäytymät ja hampaiden liikkuminen pysty- tai vaakasuunnassa. Kiinnityskuduskato voidaan määrittää mittaamalla ientaskujen syvyys. Yleensä ientaskuja pidetään syventyneinä, mikäli etäisyys ienrajasta ientaskun pohjaan mitattuna on vähintään 4 mm, mutta luku vaihtelee tutkimuskohtaisesti. Röntgenkuvissa havaittava yli 2 mm hammasta ympäröivän alveoliluun kato viittaa myös parodontiittiin. Hyvä kliininen mittari tulehdukselle on ienverenvuoto (bleeding on probing, BOP), joka rekisteröidään ientaskumittauksen yhteydessä. (2)

Hoitamaton parodontiitti lisää ja ylläpitää elimistön systeemistä tulehdustilaa, joka voidaan havaita seerumin kohonneina valkosolu-, CRP- ja tulehdusvälittäjäainepitoisuuksina. Sen roolia yleissairauksien riskitekijänä on tutkittu runsaasti ja parodontiitin on havaittu olevan yhteydessä sydän- ja verisuonisairauksiin, diabetekseen, metaboliseen oireyhtymään, allergioihin, joihinkin keuhkosairauksiin ja ennenaikaiseen synnytykseen. (7)

1.2 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Aggregatibacter actinomycetemcomitans (aiemmalta nimeltään *Actinobacillus actinomycetemcomitans*) on fakultatiivisesti anaerobinen gramnegatiivinen kokkimainen sauva. Se on liikkumaton ja kasvuolosuhteiltaan vaativa bakteeri. *A. actinomycetemcomitans* voidaan luokitella seitsemään eri serotyyppiin (8). *A. actinomycetemcomitans* löytyy lähes kaikilta aggressiivista parodontiittia sairastavilta nuorilta ja joka kolmannelta aikuispotilaalta, jolla on vaikeahoitoinen tai pitkälle edennyt parodontiitti. Matalina osuuksina se voi löytyä myös parodontiumiltaan terveiltä ihmisiltä. (3) *A. actinomycetemcomitansia* on löydetty myös suun ulkopuolisista infektiosta (9).

Virulenssilla tarkoitetaan bakteerin tautia aiheuttavaa kykyä ja sen saavat aikaan virulenssitekijät. *A. actinomycetemcomitansilla* on lukuisia virulenssitekijöitä, jotka voidaan jaotella immuunijärjestelmän toimintaan vaikuttaviin, kudostuhoa aiheuttaviin ja kudoksen paranemista estäviin. Yksittäinen virulenssitekijä vaikuttaa usein monella eri mekanismilla. (10)

Luu muokkautuu jatkuvasti ja vuorovaikutus luuta muodostavien mesenkymaalista alkuperää olevien osteoblastien ja myeloidista kantasolusta kehittyneiden monitumaisten luuta hajottavien osteoklastien välillä on oleellista tasapainon ylläpitämiseksi. Tärkeimpiä signaalimolekyylejä näiden solujen välillä ovat TNF-perheen (tumor necrosis factors) sytokiinit kuten osteoklastien erilaistumista stimuloiva TNF- α . (10) *A. actinomycetemcomitansin* virulenssitekijöistä luun resorptiota suoraan

tai epäsuorasti aiheuttavat lipopolysakkaridit, kapsulaariset polysakkaridit, kaperoniini 60 ja mahdollisesti jotkin muut solun pintaproteiinit. (11) Lipopolysakkarideja on pidetty tärkeänä virulenssitekijänä niiden isännän sytokiinituotantoa edistävien vaikutusten vuoksi. On kuitenkin havaittu, että niitä enemmän sytokiinituotantoa lisäävät bakteerin erittämät proteiinit. Eräs *A. actinomycetemcomitansin* erittämä proteiini on kaperoniini 60, joka toimii eräänlaisena osteoklastien ”kasvutekijänä”. (10)

A. actinomycetemcomitans tuottaa kahta merkittävää bakteeritoksiinia, joiden on havaittu estävän puolustusjärjestelmän toimintaa, lisäävän tulehdusreaktiota ja huonontavan kudoksen paranemista. Niistä tunnetumpi on valkosoluja apoptoottisesti ja osmoottisesti tappava RTX-perheen (repeat in toxin) leukotoksiini. Toinen *A. actinomycetemcomitansin* tuottama bakteeritoksiini on CDT-toksiini (cytolethal distending toxin). Se tunkeutuu soluun ja pysäyttää solusyklin G2-vaiheessa vahingoittamalla DNA:ta. (12) *A. actinomycetemcomitansin* uskotaan myös tuottavan superantigeneja, jotka T-solujen reseptoreihin sitoutumalla voivat aiheuttaa niiden apoptoosin ja siten toimia immunosuppressanteina. (10)

A. actinomycetemcomitansilla on rooli myös biofilmin muodostuksessa, sillä sen ulkokalvolla on fimbrioita ja proteiineja mahdollistamassa kiinnittymisen isännän soluihin tai toisiin bakteereihin. Neljäsosalla *A. actinomycetemcomitans* -kannoista on havaittu olevan myös kyky tunkeutua isäntäsoluun suojaan puolustusjärjestelmästä. (10) Lisäksi bakteeri kykenee siirtymään solusta toiseen (12).

1.3 *Porphyromonas gingivalis*

Porphyromonas gingivalis on liikkumaton asakkarolyytinen gramnegatiivinen bakteeri, joka tuottaa pigmenttiä. Sen kasvu edellyttää anaerobiset olosuhteet ja sekä heemin että K-vitamiinin läsnäolon. *P. gingivalis* on tärkeä opportunistinen patogeeni aikuisten kroonisissa ja akuuteissa parodontiiteissa. Se löytyy parodontiittipotilaiden ientaskuista, syljestä ja suun limakalvoilta varsin korkeina osuuksina, eikä sitä yleensä esiinny parodontaalisesti terveillä. (3, 13) *P. gingivalista* on havaittu *A. actinomycetemcomitansin* tavoin myös suun ulkopuolisissa infektioissa (9).

P. gingivalis ilmentää lukuisia virulenssitekijöitä, joista lipopolysakkarideja, kapsulaarisia polysakkarideja, fimbrioita ja gingipaineja pidetään merkittävimpinä. Kapsulaariset polysakkaridit tekevät *P. gingivaliksesta* invasiivisen ja mahdollistavat infektion leviämisen. Ne myös estävät leukosyyttejä fagosytoimasta *P. gingivalista*. (13, 14)

Lipopolysakkaridit ovat endotoksiineja ja *P. gingivaliksen* ulkokalvon tärkeitä rakennekomponentteja. Ne sitoutuvat isännän puolustussolujen reseptoreihin kuten Toll-like reseptoreihin (TLR) ja mahdollistavat siten *P. gingivaliksen* tunnistuksen ja solunsisäisen signaloinnin käynnistymisen puolustussoluissa, edistäen isännän sytokiini tuotantoa ja luun hajotusta. Muista gramnegatiivisista lajeista poiketen *P. gingivaliksen* lipopolysakkaridi pystyy estämään TLR4:n toimintaa tulehdusreaktiossa, jolloin heemin määrä on tyypillisesti suuri. Näin se estää TLR4:n normaalin toiminnan immuunivasteen käynnistäjänä. (13, 15)

Fimbriat osallistuvat *P. gingivaliksen* vuorovaikutuksiin toisten bakteerien ja isäntäsolun kanssa, jolloin bakteeri pystyy kiinnittymään varhain kolonisoituviin bakteerilajeihin tai isäntäsolun reseptoreihin ja osallistumaan biofilmin muodostukseen. Fimbriat mahdollistavat myös *P. gingivaliksen* tunkeutumisen isäntäsoluun muokkaamalla solun aktiivista tukirankaa. Lisäksi ne indusoivat tulehdusta edistäviä sytokiineja ja isäntäsolun matriksin metalloproteinaasien (MMP) tuotantoa. (13)

Gingipainit ovat solun pinnan kysteiniiniproteinaaseja, joita voidaan erittää myös liukoisessa muodossa. Ne vastaavat suurimmasta osasta *P. gingivaliksen* proteolyttisestä aktiivisuudesta ja siten sen energiansaannista. Gingipainit säätelevät immuunivastetta vaikuttamalla sen molekulaarisiin komponentteihin esimerkiksi halkaisemalla monenlaisia T-solureseptoreita. Lisäksi ne voivat inaktivoida sekä tulehdusta edistäviä että estäviä tekijöitä proteolyttisesti. Immuunivasteeseen kohdistuvien vaikutusten lisäksi gingipainit pystyvät osallistumaan myös *P. gingivaliksen* sitoutumiseen isäntäsoluun. Niiden on myös havaittu lisäävän verisuonten

läpäisevyyttä bradykiniinivälitteisesti. Parodontiumin lisääntynyt verenvuototaipumus on myös osin gingipainien aiheuttamaa. (13, 14, 16)

1.4 Ennenaikainen synnytys ja keskenmeno

Normaali raskaus kestää keskimäärin 280 vuorokautta eli 40 viikkoa. WHO:n (World Health Organization) määritelmän mukaan synnytys on ennenaikainen, jos se tapahtuu ennen 37. raskausviikkoa tai ennen 259 päivän sikiöikää (17). Syntymäpainoltaan alle 2500 g painoinen (low birth weight) lapsi määritellään keskoseksi raskausviikoista riippumatta. Keskenmenoksi määritellään raskauden keskeytyminen ennen 22. raskausviikkoa. (18) Ennenaikaisuus lisää vastasyntyneen sairastumis- ja vammautumisriskiä. Keuhkojen epäkypsyys, infektioalttius, lämmönsäätelyn, verenkierron ja aineenvaihdunnallisten toimintojen epäkypsyys ovat ennenaikaisesti syntyneen lapsen keskeisimmät ongelmat. (19)

Keskenmeno on yleisin raskauskomplikaatio ja 10–15 % kliinisesti todetuista raskauksista päättyy keskenmenoon ja osa vielä varhaisemmassa vaiheessa. Yli puolet keskenmenoista on sattumaa, mutta tunnettuja riskitekijöitä keskenmenolle ovat äidin korkea ikä, aiemmat keskenmenot, kohtuanomaliat, hormonaaliset häiriöt, infektiot, krooniset sairaudet, säteily, tupakointi, päihteiden käyttö, lääkeaineet ja ympäristömyrkyt. Sikiöstä johtuvia keskenmenon syitä ovat kromosomipoikkeavuudet, rakenteelliset poikkeavuudet ja istukan tai napanuoran kehityshäiriöt. (19)

Suomessa vuonna 2009 elävänä syntyneistä (60 577) lapsesta 5.5 % (3 334) syntyi ennen 37. raskausviikkoa ja 0.8 % (493) jo ennen 32. raskausviikkoa. Ennenaikaisista synnytyksistä 25–40 % johtuu kohdunsisäisestä infektiosta. Mitä ennenaikaisempi synnytys on, sitä todennäköisemmin se on infektion käynnistämä. (18) Bakteri voi päästä kohtuun munanjohtimia pitkin vatsaontelosta, kontaminoituneesta neulasta lapsivesipunktiossa tai istukkabiopsiaa otettaessa, istukan läpi verivälitteisesti tai emättimestä kohdunkaulan läpi kulkeutumalla (20). Infektioiden lisäksi tunnettuja ennenaikaisuuden riskitekijöitä ovat aiempi ennenaikainen synnytys tai keskiraskauden keskenmeno, monisikiöraskaus, kohdun rakennepoikkeavuudet, aiempi kohdunkaulan

kirurginen hoito, toisen raskauskolmanneksen verenvuoto, alkion siirrosta alkanut raskaus, tupakointi ja päihteiden käyttö (18).

1.5 Parodontiitin yhteys raskaaksi tulemiseen ja raskauskomplikaatioihin

Hypoteesin parodontiitin ja raskauskomplikaatioiden välisestä yhteydestä esitti Steven Offenbacherin tutkimusryhmä vuonna 1996. Ryhmä tutki 124 raskaana olevaa naista tunnetut raskauskomplikaatioiden riskitekijät huomioiden ja havaitsi, että ennenaikaisesti tai keskosien synnyttäneillä naisilla oli merkitsevästi huonompi parodontaaliterveys kuin niillä, joiden raskaus oli normaali. Vaarasuhteeksi parodontiitin ja ennen 37. raskausviikkoa tapahtuneen synnytyksen tai lapsen keskosuuden välille saatiin 7,9. (21) Tämän jälkeen aihetta on tutkittu runsaasti mutta tulokset ovat ristiriitaisia. Osa tutkimuksista tukee parodontiitin ja raskauskomplikaatioiden välistä yhteyttä ja osa ei.

Khaderin ym. kahdesta tapaus-verrokkitutkimuksesta ja kolmesta prospektiivisesta kohorttitutkimuksesta koostuvan meta-analyysin mukaan äidin parodontiitilla oli voimakas yhteys ennenaikaisen synnytyksen riskiin. Vaarasuhteeksi parodontiitin ja ennenaikaisen synnytyksen välille saatiin 4,28 (95 %:n luottamusväli 2,62–6,99). (22) Xiongin ym. tekemässä systemaattisessa katsauksessa kahdestakymmenestäviidestä tutkimuksesta kahdeksantoista löysi yhteyden parodontiitin ja raskauskomplikaatioiden välillä. Riskisuhde vaihteli välillä 1.10 - 20.0. Yhteyttä ei voitu havaita seitsemässä tutkimuksessa riskisuhteen vaihdellessa välillä 0,78 - 2.54. (23) Corbellan ym. neljätoista tapaus-verrokkitutkimusta kattavassa meta-analyysissä ja katsauksessa parodontiitin ja ennenaikaisen synnytyksen välisen yhteyden vaarasuhteeksi saatiin 1,78 (95 %:n luottamusväli 1,58 - 2,01) (24). Iden ym. tekemässä systemaattisessa katsauksessa parodontiitin havaittiin olevan heikosti, mutta merkitsevästi ja riippumattomasti yhteydessä ennenaikaiseen synnytykseen ja keskosuuteen (25). Vaikka yhteys parodontiitin ja raskauskomplikaatioiden välillä vaikuttaa olevan olemassa, lisää ja suurempia tutkimuksia kaivataan määrittämään, onko suhde kausaalinen vai sattumanvarainen.

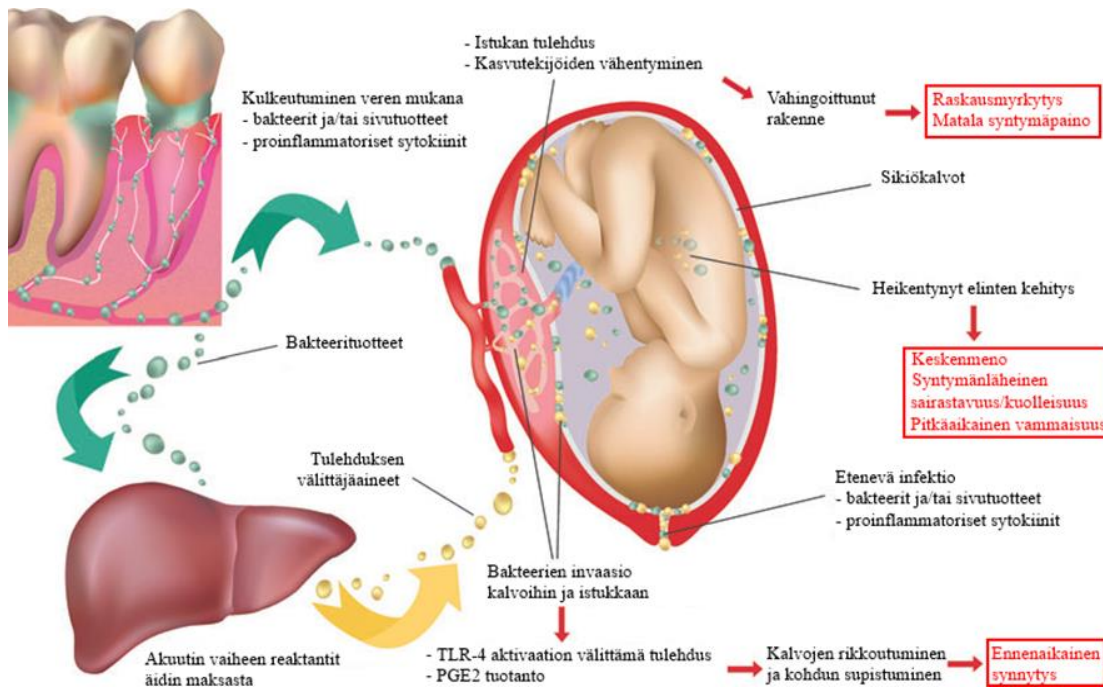
Tulosten vaihtelevuutta on pyritty selittämään muun muassa populaatioiden välisellä vaihtelulla parodontiitin etiologiassa tai parodontiitin ja raskauskomplikaatioiden yhteydessä. On myös esitetty, että parodontiitti toimii markkerina tekijöille, jotka liittyvät raskauskomplikaatioihin. (26) Tulosten vaihtelevuutta selittää osaltaan myös parodontiitin (27) ja raskauskomplikaatioiden (23) vaihteleva määrittely eri tutkimuksissa.

Ristiriitaisia tuloksia on saatu myös raskauden aikaisen parodontologisen hoidon vaikutuksista raskauden lopputulokseen. Jotkut tutkimukset ovat osoittaneet onnistuneen parodontologisen hoidon olevan yhteydessä raskauden täysiaikaisuuteen (28). Monet tutkimukset kuitenkin myös kiistävät esitetyn positiivisen vaikutuksen olemassaolon. Ei kuitenkaan ole voitu osoittaa, etteikö ennen raskaaksi tulemista tai ensimmäisen raskauskolmanneksen aikana hoidettu parodontiitti voisi vähentää raskauskomplikaatioiden riskiä. (29, 30)

Parodontiitin vaikutusta raskaaksi tulemiseen ei juurikaan ole vielä tutkittu, mutta ainakin muilla kuin kaukaasialaisilla naisilla sen on havaittu pidentävän ehkäisyn lopettamisesta raskaaksi tulemiseen kuluva aikaa (31). Heikko yhteys on löydetty myös parodontiitin ja toisen raskauskolmanneksen aikana tapahtuvan keskenmenon väliltä (32).

Patogeenisiä mekanismeja, joilla parodontiitti voisi aiheuttaa keskenmenon tai ennenaikaisen synnytyksen on esitetty useita. Äidin parodontiitin patogeenit voivat verenkiertoon päästyään kulkeutua istukkaan ja levitä siten sikiön verenkiertoon ja lapsiveteen. Fetoplasentaalisessa yksikössä patogeenit voivat stimuloida sikiön immuunivastetta, jolloin sekä IgM-vasta-aineiden tuotanto patogeeneja vastaan että tulehduksen välittäjäaineiden erityis lisääntyvät. Ne puolestaan voivat aiheuttaa keskenmenon tai ennenaikaisen synnytyksen. Tulehdus voi lisäksi aikaansaada muutoksia istukan rakenteessa. Tästä aiheutunut raskausmyrkytys ja heikentynyt ravinteiden kuljetus saattavat edelleen johtaa lapsen matalaan syntymäpainoon. Sikiön altistus patogeeneille voi aiheuttaa myös kudosaivourioita lisäten siten perinataalisen

kuoleman tai vammautumisen riskiä. Äidin systeeminen tulehdusvaste parodontiitille tuottaa paitsi suojaavia ja bakteerien kolonisaatiota estäviä vasta-aineita myös akuutin vaiheen reaktantteja. Ne voivat korostaa paikallisia tulehdusvasteita fetoplasentaalisessa yksikössä ja lisätä edelleen raskauskomplikaatioiden riskiä. (33)



Kuva 1. Mahdolliset biologiset mekanismit, joilla parodontiitti voi aiheuttaa keskenmenon tai ennenaikaisen synnytyksen. Kuva on muokattu Madianoksen artikkelissa olevasta kuvasta. (33)

P. gingivalista on eristetty lapsivedestä naisilta, joilla on diagnosoitu uhkaava ennenaikainen synnytys (34) ja istukasta ennenaikaisesti synnyttäneiltä naisilta (35). *P. gingivaliksen* lipopolysakkarideja on ehdotettu syyksi synnytyksen ennenaikaiselle käynnistymiselle, sillä ne tehostavat TLR-2-reseptorien välityksellä interleukiini-6 (IL-6) ja interleukiini-8 (IL-8) tuotantoa suonikalvosta peräisin olevissa soluissa. Interleukiinit osallistuvat puolestaan synnytyksen käynnistymiseen lisäämällä kohdun supistelua ja kypsytämällä kohdunkaulaa. (36)

2 Työn tarkoitus

Tutkielman tavoite on selvittää, onko parodontiitin tunnettujen patogeenien *Porphyromonas gingivalis* ja *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* tai niiden immunoglobuliini A (IgA)- ja immunoglobuliini G (IgG)- luokan vasta-aineiden esiintymisellä raskautta suunnittelevien naisten syljessä ja seerumissa yhteyttä raskauden alkamiseen, keskenmenoihin tai ennenaikaisiin synnytyksiin.

3 Aineisto

Tutkimukseen osallistui 256 tervettä suomalaisnaista, jotka rekrytoitiin sanomalehtimainosten avulla toukokuun 2001 ja heinäkuun 2004 välisenä aikana. Tutkittavat eivät olleet raskaana ja heidän kuukautisensa olivat säännölliset. Naiset olivat lopettaneet ehkäisyn käytön ja halusivat tulla raskaaksi. Tutkimuksesta suljettiin pois aiemmin ennenaikaisesti synnyttäneet ja edeltävien kahden viikon aikana antibiootteja käyttäneet. Helsingin yliopiston synnytysopin ja gynekologian eettinen toimikunta hyväksyi tutkimuspöytäkirjan. Kaikki tutkittavat allekirjoittivat suostumuksensa tutkimukseen.

Tutkittavien sairaushistoria kerättiin järjestelmällisesti ja ennen raskautta suoritettiin suututkimus. Suututkimuksessa kirjattiin dentiiniin ulottuvat kariesvauriot ja parodontologisen sairauden merkit: ientaskujen syvyys, ientaskumittauksen jälkeinen verenvuoto (bleeding on probing, BOP) ja kliininen kiinnityskuduskato (probing attachment level, PAL) jokaisen hampaan kuudelta pinnalta mitattuna. Parodontaalinen sairaus todettiin, mikäli ainakin yksi approksimaalinen parodontaalinen tasku oli vähintään 4 mm syvä ja kiinnityskuduskato vähintään 1 mm. Keskenmeno määriteltiin raskauden keskeytymisenä ennen 22. raskausviikkoa ja synnytys oli ennenaikainen, mikäli se tapahtui ennen 37. raskausviikkoa. (37)

4 Menetelmät

Parafiini-stimuloitu sylkinäyte jaettiin yhtä suuriin osiin ja jäädytettiin hiilihappojäässä välittömästi syljen keräämisen jälkeen. Näytteitä säilytettiin $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ lämpötilassa bakteeridetektioon saakka. Bakteeriaalinen DNA eristettiin syljestä kationi-kelaatti resiinillä (Chelex 100; Bio-Rad Laboratories, CA, USA). Tämän jälkeen parodontiitin patogeenit *A. actinomycetemcomitans* ja *P. gingivalis* detektoitiin näytteestä PCR-menetelmällä. Detektoinnissa käytettiin lajispesifisiä alukkeita (38, 39).

Seerumin immunoglobuliini A (IgA) ja immunoglobuliini G (IgG)- luokan vastaaineet *A. actinomycetemcomitansille* ja *P. gingivalikselle* määritettiin seerumeista (säilytetty $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa) entsyymivälitteisellä immunosorbenttimäärityksellä (ELISA), jossa antigeeninä käytettiin useaa serotyyppeä edustavia bakteerikantoja. Jokaisesta seerumista mittauksiin käytettiin kahta laimennosta duplikaatteina. (40, 41)

Tilastollinen analyysi tehtiin SPSS-ohjelmistolla (Statistical Package for the Social Sciences). Aineistoa analysoitiin χ^2 -testillä ja ei-parametrisellä Mann-Whitney U Two-Independent Samples -testillä.

5 Tulokset

Tutkimukseen osallistuneiden naisten luonnehdinta suhteessa raskaaksi tulemiseen on esitetty taulukossa 1. Siitä nähdään, että tupakoivat ($p = 0.017$), yli kuuden vuoden ajan tupakoineet ($p = 0.006$) ja yli kuusi savuketta päivässä polttavat ($p = 0.019$) naiset tulivat epätodennäköisemmin raskaaksi. Raskaaksi tulivat heikommin myös vanhemmat naiset ($p = 0.043$) ja naiset, joilla CRP-taso oli korkea ($p = 0.039$) sekä naiset, joilla plakkia oli alle 20 % ($p = 0.044$).

Raskaaksi tulleiden naisten luonnehdinta suhteessa raskauden lopputulokseen on esitetty taulukossa 2. Siitä huomataan ennenaikaisen synnytyksen tai keskenmenon

olleen merkitsevästi yleisempää naisilla, joilla oli bakteerivaginoosi ($p = 0.046$), kiinnityskudoskatoa ($p = 0.010$) tai ientaskuja ($p = 0.015$) kuin niillä, joilla ei ollut.

Taulukossa 3 on esitetty bakteereiden esiintyvyys tutkittavien syljessä ja vasta-ainetasot syljestä ja seerumista mitattuina suhteessa raskaaksi tulemiseen. Tuloksista havaitaan *P. gingivaliksen* löytyvän merkitsevästi ($p = 0.032$) yleisemmin niiden naisten syljessä, jotka eivät tulleet raskaaksi (8.3 %) kuin raskaaksi tulleiden (2.1 %). Lisäksi keskimääräinen syljestä mitattu *P. gingivaliksen* IgA- ($p = 0.006$) ja IgG-luokan ($p = 0.007$) vasta-aineiden taso oli merkitsevästi korkeampi niillä naisilla, jotka eivät tulleet raskaaksi verrattuna raskaaksi tulleisiin. Merkitsevää vaikutusta raskaaksi tulemiseen ei havaittu syljessä tai seerumissa olevilla *A. actinomycetemcomitansin* vasta-aineilla eikä *P. gingivaliksen* vasta-aineilla seerumissa.

Vaikka bakteeri- ja seropositiivisten tutkittavien määrä oli pieni tutkimusjoukon koostuessa nuorista naisista, vahvistaa logistinen regressioanalyysi taulukossa 5 kohonneiden syljen vasta-aineiden *P. gingivalikselle* yhteyden raskaaksi tulemisen epäonnistumiseen. Tulos oli riippumaton iästä, tupakoinnista, sosioekonomisesta statuksesta, bakteerivaginoosista ja kliinisestä kiinnityskudoskadosta. Niiden tutkittavien, joiden *P. gingivalis* -löydös oli PCR-positiivinen ja jotka kuuluivat korkeimpaan tertiiliin joko *P. gingivaliksen* IgA- tai IgG-vasta-aineiden osalta ($n = 96$) raskaaksi tulemisen epäonnistumisen OR oli 4.67 (1.42 - 15.30, $p = 0.011$) verrattuna *P. gingivalis* -negatiivisille tutkittaville, joiden syljen vasta-ainetasot olivat matalammat.

Bakteereiden esiintyvyys tutkimukseen osallistuneiden naisten syljessä ja vasta-ainetasot syljestä ja seerumista mitattuina suhteessa raskauden kulkuun on esitetty taulukossa 4. Havaitaan, että seropositiivisuus *P. gingivaliksen* IgA-luokan vasta-aineille oli merkitsevästi ($p = 0.015$) yleisempää keskenmenon saaneilla tai ennenaikaisesti synnyttäneillä naisilla (11.5 %) kuin niillä, joiden raskauden lopputulos oli normaali (2.2 %).

Taulukko 1. Tutkimukseen osallistuneiden naisten (n=256) ominaisuudet suhteessa raskaaksi tulemiseen

	tuli raskaaksi (n=205)	ei tullut raskaaksi (n=51)	
	n (%)	n (%)	p-arvo¹
BV positiivinen	41 (20.0)	14 (15.7)	0.246
diabetes	0 (0)	0 (0)	-
tupakoi	28 (13.7)	14 (27.5)	0.017
tupakoinut \geq 6 vuotta	22 (10.7)	13 (25.5)	0.006
\geq 6 savuketta / vrk	17 (8.3)	10 (19.6)	0.019
>20 % plakkia	51 (24.9)	6 (11.8)	0.044
kiinnityskudostuhoa (PAL)	24 (11.7)	8 (15.7)	0.442
ientaskuja	42 (20.5)	11 (21.6)	0.865
BOP \geq15%	66 (32.2)	16 (31.4)	0.910
	mediaani (IQR)	mediaani (IQR)	p-arvo²
ikä	28 (7.50)	31 (7.00)	0.043
savukkeiden määrä /vrk	0 (0)	0 (1)	0.015
CRP (mg/l)	0.78 (1.29)	0.95 (1.72)	0.039
syljen erityys (ml / 2 min)	2.40 (1.45)	2.00 (1.30)	0.134
hampaiden määrä	28 (1)	28 (1)	0.331
VPI	10.70 (14.70)	10.40 (12.50)	0.118
ientaskujen määrä (jos taskuja)	3 (5)	2 (5)	0.230
BOP (%)	10.71 (14.42)	8.64 (13.74)	0.544
karioituneiden hampaiden määrä	0 (1)	0 (1)	0.160

BV, bakteerivaginoosi; PAL, probing attachment level; CRP, C-reaktiivinen proteiini; BOP, bleeding on probing, ienverenvuoto hampaan kuudelta pinnalta; VPI, visible plaque index, näkyvä plakki; ¹ χ^2 -testi; ² ei-parametrinen Mann-Whitney U Two-Independent Samples-testi

Taulukko 2. Raskaaksi tulleiden naisten (n=205) ominaisuudet suhteessa raskauden kulkuun

	normaali raskaus (n=179)	ennenaikainen synnytys tai keskenmeno (n=26)	
	n (%)	n (%)	p-arvo¹
BV positiivinen	32 (17.9)	9 (34.6)	0.046
diabetes	0 (0)	0 (0)	-
tupakoi	25 (14.0)	3 (11.5)	0.739
tupakoinut \geq 6 vuotta	20 (11.2)	2 (7.7)	0.592
\geq 6 savuketta / vrk	15 (8.4)	2 (7.7)	0.905
>20 % plakkia	46 (25.7)	5 (19.2)	0.476
kiinnityskudostuhoa (PAL)	17 (9.5)	7 (26.9)	0.010
ientaskuja	32 (17.9)	10 (38.5)	0.015
BOP \geq15%	56 (31.3)	10 (38.5)	0.464
	mediaani (IQR)	mediaani (IQR)	p-arvo²
ikä	29 (8.00)	28 (7.50)	0.893
savukkeiden määrä / vrk	0 (0)	0 (0)	0.749
CRP (mg/l)	0.78 (1.29)	0.88 (1.39)	0.701
syljen erityys (ml / 2 min)	2.40 (1.40)	2.35 (1.85)	0.585
hampaiden määrä	28 (1)	28 (2)	0.409
VPI	10.70 (16.00)	10.70 (12.52)	0.944
ientaskujen määrä (jos taskuja)	3 (4.75)	4 (9.50)	0.697
BOP (%)	9.62 (14.88)	12.50 (11.95)	0.284
karioituneiden hampaiden määrä	0 (1)	0 (0.25)	0.553

BV, bakteerivaginoosi; PAL, probing attachment level; CRP, C-reaktiivinen proteiini; BOP, bleeding on probing, ienverenvuoto hampaan kuudelta pinnalta; VPI, visible plaque index, näkyvä plakki; ¹ χ^2 -testi; ² ei-parametrinen Mann-Whitney U Two-Independent Samples-testi

Taulukko 3. Bakteereiden esiintyvyyden ja vasta-ainetasojen yhteys raskaaksi tulemiseen tutkimukseen osallistuneilla naisilla (n=256)

	tuli raskaaksi (n=205)	ei tullut raskaaksi (n=51)	
	n (%)	n (%)	p-arvo ¹
Sylki-PCR			
Aa positiivinen	9 (4.7)	1 (2.1)	0.416
Pg positiivinen	4 (2.1)	4 (8.3)	0.032
Seropositiivisuus			
A.a IgA	5 (2.4)	1 (2.0)	0.840
A.a IgG	11 (5.4)	2 (3.9)	0.674
P.g IgA	7 (3.4)	2 (3.9)	0.860
P.g IgG	23 (11.2)	10 (19.6)	0.110
	mediaani (IQR)	mediaani (IQR)	p-arvo²
Vasta-ainetasot (EU)			
Seerumi			
A.a IgA	0.49 (0.46)	0.44 (0.44)	0.920
A.a IgG	1.43 (1.48)	1.67 (1.99)	0.055
P.g IgA	0.31 (0.22)	0.35 (0.30)	0.324
P.g IgG	2.86 (1.63)	3.02 (2.20)	0.494
Sylki			
A.a IgA	0.93 (0.84)	0.99 (0.77)	0.628
A.a IgG	0.25 (0.32)	0.33 (0.51)	0.114
P.g IgA	0.86 (0.55)	1.07 (0.64)	0.006
P.g IgG	0.11 (0.13)	0.17 (0.22)	0.007

Aa, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Ig, immunoglobuliini; EU, Elisa units; ¹χ²-testi; ²ei-parametrinen Mann-Whitney U Two-Independent Samples-testi

Taulukko 4. Bakteereiden esiintyvyyden ja vasta-ainetasojen yhteys raskauden kulkuun raskaaksi tulleilla naisilla (n=205)

	normaali raskaus (n=179)	ennenaikainen synnytys tai keskenmeno (n=26)	
	n (%)	n (%)	p-arvo ¹
Sylki-PCR			
A.a positiivinen	7 (4.2)	2 (8.3)	0.371
P.g positiivinen	4 (2.4)	0 (0.0)	0.444
Seropositiivisuus			
A.a IgA	5 (2.8)	0 (0)	0.388
A.a IgG	10 (5.6)	1 (3.8)	0.713
P.g IgA	4 (2.2)	3 (11.5)	0.015
P.g IgG	20 (11.2)	3 (11.5)	0.956
	mediaani (IQR)	mediaani (IQR)	p-arvo²
Vasta-ainetasot (EU)			
Seerumi			
A.a IgA	0.49 (0.45)	0.49 (0.37)	0.327
A.a IgG	1.44 (1.52)	1.38 (1.14)	0.638
P.g IgA	0.31 (0.22)	0.29 (0.32)	0.835
P.g IgG	2.91 (1.65)	2.68 (2.00)	0.994
Sylki			
A.a IgA	0.92 (0.82)	0.98 (1.23)	0.246
A.a IgG	0.24 (0.31)	0.34 (0.44)	0.382
P.g IgA	0.85 (0.58)	0.88 (0.47)	0.441
P.g IgG	0.11 (0.12)	0.12 (0.15)	0.340

APO, Adverse pregnancy outcome, Aa, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Ig, immunoglobuliini; EU, Elisa units; ¹χ²-testi; ²ei-parametrinen Mann-Whitney U Two-Independent Samples-testi

Taulukko 5. Parodontaalipatogeenien esiintyvyyden yhteys raskaaksi tulemisen epäonnistumiseen

	OR (95% CI), p-arvo		
Sylki			
	ei	kyllä	
A.a+	1.0	0.48 (0.06-3.96), 0.492	
P.g+	1.0	3.36 (0.78-14.6), 0.105	
Vasta-ainetasot (EU)			
	Tertiili 1	Tertiili 2	Tertiili 3
A.a IgA	1.0	1.41 (0.63-3.14), 0.407	1.22 (0.55-2.74), 0.623
A.a IgG	1.0	1.97 (0.88-4.44), 0.100	1.83 (0.80-4.22), 0.154
P.g IgA	1.0	1.31 (0.54-3.15), 0.553	2.77 (1.24-6.19), 0.013
P.g IgG	1.0	1.32 (0.57-3.07), 0.516	2.47 (1.10-5.53), 0.029
Seerumi			
Vasta-ainetasot (EU)			
	Tertiili 1	Tertiili 2	Tertiili 3
A.a IgA	1.0	1.50 (0.70-3.24), 0.301	1.07 (0.48-2.37), 0.868
A.a IgG	1.0	1.84 (0.80-4.21), 0.152	2.04 (0.89-4.67), 0.091
P.g IgA	1.0	1.04 (0.47-2.31), 0.926	1.37 (0.64-2.93), 0.414
P.g IgG	1.0	1.17 (0.55-2.49), 0.677	0.74 (0.33-1.64), 0.458

Logistiset regressiomallit on mukautettu tutkittavien ikään, tutkimuksen aikaiseen tupakointiin, sosioekonomiseen statukseen, bakteerivaginoosiin ja kliiniseen kiinnityskudosaikastoon.

6 Pohdinta

Tutkimukseemme osallistui nuoria suomalaisia naisia, joiden suunterveys oli hyvä ja vain harva heistä oli bakteeri- tai seropositiivinen tutkimillemme parodontiitin patogeeneille *Aggregatibacter actinomycetemcomitansille* ja *Porphyrromonas gingivalikselle*. Tutkimuksessamme havaittiin kuitenkin, että *P. gingivalis* ja sen IgA- ja IgG-luokan vasta-aineiden korkea taso raskautta suunnittelevien naisten syljessä on yhteydessä raskaaksi tulemisen epäonnistumiseen.

Useimmissa parodontiitin ja raskauskomplikaatioiden välisiä yhteyksiä selvittävässä tutkimuksissa tutkittaville tehdään suututkimus raskauden jo alettua tai vasta synnytyksen jälkeen. Tutkimuksemme vahvuus onkin se, että tutkittaviemme suut tarkastettiin ja sylki- ja seeruminäytteet kerättiin raskauden ollessa vasta suunnitteilla. Tutkimuksemme merkittävin heikkous on se, ettei tutkittavien ehkäisyn lopettamisen tarkkaa ajankohtaa oltu selvitetty, jonka vuoksi tutkittavien raskaaksi tulemiseen kulunutta aikaa ei voitu määrittää yksilöllisesti.

Raskauskomplikaatioita saivat muita yleisemmin naiset, joilla oli bakteerivaginoosi. Erityisesti alkuraskauden bakteerivaginoosin onkin jo aiemmin osoitettu olevan ennenaikaisen synnytyksen riskitekijä (42). Parodontiitin kliinisistä parametreista ientaskut ja kiinnityskudostuho ovat tulostemme mukaan yhteydessä raskauskomplikaatioihin. Sen sijaan plakilla, ientaskujen lukumäärällä tai ienverenvuodolla ei vastaavaa yhteyttä voitu osoittaa. Ienverenvuodon määrästä vertailimme useita eri lukuarvoja saamatta merkitsevää tulosta. Parodontiitin patogeeneillä tai niiden vasta-aineilla ei havaittu olevan yhteyttä raskauden lopputulokseen, kun sekoittavat tekijät otettiin huomioon.

Nykykäsityksen mukaan tupakointi ja ikääntyminen heikentävät hedelmällisyyttä ja tutkimustuloksemme tukevat tätä käsitystä. Tulostemme mukaan naiset, joiden hampaat olivat yli 20 % plakin peittämät vaikuttavat tulevan muita paremmin raskaaksi. Tätä tulosta voisi selittää se, ettei plakkimääriä tutkimuksessamme eritelty 20 % jälkeen.

Vertaamalla naisia, joilla plakkaa oli yli 40 % niihin, joilla plakkaa ei ollut, voitaisiin saada mahdollisesti päinvastainen tulos. Tutkimuksessamme naiset, joiden CRP-taso oli korkea, tulivat muita heikommin raskaaksi. C-reaktiivinen proteiini (CRP) on tulehduksen epäspesifinen markkeri ja sen tiedetään olevan koholla parodontiittia sairastavilla henkilöillä (43). Tuloksemme tukee näin ollen aiempaa tutkimusta, jossa osoitettiin parodontiitin pidentävän raskaaksi tulemiseen kulunutta aikaa (31).

Tutkimuksemme on ensimmäinen, joka osoittaa sekä mikrobiologisin että serologisin menetelmin parodontiitin pääpatogeenin *Porphyromas gingivaliksen* estävän nuoria naisia tulemasta raskaaksi. Yhteyden vahvistaminen vaatii kuitenkin uusia kliinisiä tutkimuksia ja taustalla olevaa mekanismia tulee tutkia tarkemmin ja suuremmissa tutkimuksissa. Saamamme tulokset rohkaisevat kuitenkin lisääntymisikäisiä naisia ylläpitämään hyvää suuhygieniaa ja käymään säännöllisesti hammaslääkärin tarkastuksissa parodontaalisten infektioiden välttämiseksi. Lapsettomuus on suuri yhteiskunnallinen ongelma ja hedelmättömyyshoitoihin kuluu alati enemmän rahaa ja voimavaroja. Tutkimuksemme kannustaakin terveydenhuollon ammattilaisia kiinnittämään huomiota tavallisten parodontaalisairauksien vaikutukseen paitsi raskauden kulkuun myös lapsettomuuteen.

Lähteet

1. Pihlstrom B, Michalowicz B, Johnson N. Periodontal diseases. *Lancet*. 2005;366(9499):1809-20.
2. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Hammaslääkäriseura Apollonia ry:n asettama työryhmä. Parodontiitin ehkäisy, varhaisdiagnostiikka ja hoito. *Suomen Hammaslääkärilehti*. 2010;8:19-27.
3. Meurman J, Murtomaa H, Le Bell Y, Autti H. *Therapia Odontologica – Hammaslääketieteen käsikirja*. Academica kustannus Oy; 2008.
4. Genco RJ, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2013;62(1):59-94.
5. Armitage GC, Cullinan MP. Comparison of the clinical features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*. 2010;53(1):12-27.
6. Slots J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontal disease: introduction. *Periodontol 2000*. 1999;20(1):7-13.
7. Uitto V, Nylund K, Pussinen P. Suun mikrobien yhteys yleisterveyteen. *Duodecim*. 2012;128(12):1232-7.
8. Takada K, Saito M, Tsuzukibashi O, Kawashima Y, Ishida S, Hirasawa M. Characterization of a new serotype g isolate of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Molecular Oral Microbiology*. 2010;25(3):200-6.
9. van Winkelhoff AJ, Slots J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in nonoral infections. *Periodontol 2000*. 1999;20(1):122-35.
10. Henderson B, Wilson M, Sharp L, Ward J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Med Microbiol*. 2002;51(12):1013-20.
11. Henderson B, Ward JM, Ready D. *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*: a triple A* periodontopathogen? *Periodontol 2000*. 2010;54(1):78-105.
12. Henderson B, Nair S, Ward J, Wilson M. Molecular pathogenicity of the oral opportunistic pathogen *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Annual Review of Microbiology*. 2003;57:29-55.
13. Bostanci N, Belibasakis GN. *Porphyromonas gingivalis*: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen. *FEMS Microbiol Lett*. 2012;333(1):1-9.
14. Holt SC, Kesavalu L, Walker S, Genco CA. Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000*. 1999;20(1):168-238.

15. Bainbridge B, Darveau R. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide: an unusual pattern recognition receptor ligand for the innate host defense system. *Acta Odontol Scand.* 2001;59(3):131-8.
16. Imamura T, Dr. The Role of Gingipains in the Pathogenesis of Periodontal Disease. *Journal of Periodontology.* 2003;74(1):111-8.
17. World Health Organization. International classification of diseases and related health problems. 10th revision. Geneva. 1992.
18. Ennenaikainen synnytys. Käypä hoito -suositus. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Gynekologiyhdistyksen asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim, 2014 (viitattu 17.11.2015). www.käypähoito.fi.
19. Ylikorkala A, Tapanainen J. (toim.). Naistentaudit ja synnytykset, 5. uudistettu painos. Kustannus Oy Duodecim; 2011.
20. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine Infection and Preterm Delivery. *N Engl J Med.* 2000 05/18; 2015/07;342(20):1500-7.
21. Offenbacher S, Katz V, Fertik G, Collins J, Boyd D, Maynor G, et al. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *J Periodontol.* 1996;67:1103-13.
22. Khader Y, Ta'ani Q. Periodontal Diseases and the Risk of Preterm Birth and Low Birth Weight: A Meta-Analysis. *Journal of Periodontology.* 2005;76:161-5.
23. Xiong X, Buekens P, Fraser W, Beck J, Offenbacher S. Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes: a systematic review. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology.* 2006;113(2):135-43.
24. Corbella S, Taschieri S, Francetti L, De Siena F, Del Fabbro M. Periodontal disease as a risk factor for adverse pregnancy outcomes: a systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Odontology.* 2012;100:232-40.
25. Ide M, Papapanou PN. Epidemiology of association between maternal periodontal disease and adverse pregnancy outcomes – systematic review. *J Clin Periodontol.* 2013;40:S181-94.
26. Srinivas SK, Sammel MD, Stamilio DM, Clothier B, Jeffcoat MK, Parry S, et al. Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes: is there an association? *Obstet Gynecol.* 2009 5;200(5):497.e1,497.e8.
27. Manau C, Echeverria A, Agueda A, Guerrero A, Echeverria JJ. Periodontal disease definition may determine the association between periodontitis and pregnancy outcomes. *J Clin Periodontol.* 2008;35(5):385-97.

28. Jeffcoat M, Parry S, Sammel M, Clothier B, Catlin A, Macones G. Periodontal infection and preterm birth: successful periodontal therapy reduces the risk of preterm birth. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2011;118(5):635-6.
29. Michalowicz BS, Gustafsson A, Thumbigere-Math V, Buhlin K. The effects of periodontal treatment on pregnancy outcomes. *J Clin Periodontol*. 2013;40:S195-208.
30. Polyzos N, Polyzos I, Zavos A, Valachis A, Mauri D, Papanikolaou Eea. Obstetric outcomes after treatment of periodontal disease during pregnancy: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2010;341(c7017).
31. Hart R, Doherty DA, Pennell CE, Newnham IA, Newnham JP. Periodontal disease: a potential modifiable risk factor limiting conception. *Hum. Reprod*. 2012;27(5):1332-42.
32. Moore S, Ide M, Coward P, Randhawa M, Borkowska E, Baylis R, et al. A prospective study to investigate the relationship between periodontal disease and adverse pregnancy outcome. *Br Dent J*. 2004;197:251-8.
33. Madianos PN, Bobetsis YA, Offenbacher S. Adverse pregnancy outcomes (APOs) and periodontal disease: pathogenic mechanisms. *J Clin Periodontol*. 2013;40:S170-80.
34. León R, Silva N, Ovalle A, Chaparro A, Ahumada A, Gajardo M, et al. Detection of *Porphyromonas gingivalis* in the amniotic fluid in pregnant women with a diagnosis of threatened premature labor. *J Periodontol*. 2007 Jul;78(7):1249-55.
35. Katz J, Chegini N, Shiverick KT, Lamont RJ. Localization of *P. gingivalis* in Preterm Delivery Placenta. *Journal of Dental Research*. 2009 June 01;88(6):575-8.
36. Hasegawa-Nakamura K, Tateishi F, Nakamura T, Nakajima Y, Kawamata K, Douchi T, et al. The possible mechanism of preterm birth associated with periodontopathic *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodont Res*. 2011;46(4):497-504.
37. Oittinen J, Kurki T, Kekki M, Kuusisto M, Pussinen P, Vilkuna-Rautiainen T, et al. Periodontal disease and bacterial vaginosis increase the risk for adverse pregnancy outcome. *Infectious Diseases in Obstetrics & Gynecology*. 2005 Dec;13(4):213-6.
38. Mättö J, Saarela M, Alaluusua S, Oja V, Jousimies-Somer H, Asikainen S. Detection of *Porphyromonas gingivalis* from Saliva by PCR by Using a Simple Sample-Processing Method. *J Clin Microbiol*. 1998 Jan;36(1):157-60.
39. Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol*. 1996 Aug;11(4):266-73.
40. Pussinen PJ, Könönen E, Paju S, Hyvärinen K, Gursoy UK, Huuonen S, et al. Periodontal pathogen carriage, rather than periodontitis, determines the serum antibody levels. *J Clin Periodontol*. 2011;38(5):405-11.

41. Pussinen P, Vilkuna-Rautiainen T, Alfthan G, Mattila K, Asikainen S. Multiserotype enzyme-linked immunosorbent assay as a diagnostic aid for periodontitis in large-scale studies. *J Clin Microbiol.* 2002 Feb;40(2):512-8.
42. Guaschino S, De Seta F, Piccoli M, Maso G, Alberico S. Aetiology of preterm labour: bacterial vaginosis. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology.* 2006;113:46-51.
43. Noack B, Genco R, Trevisan M, Grossi S, Zambon J, De Nardin E. Periodontal Infections Contribute to Elevated Systemic C-Reactive Protein Level. *Journal of Periodontology.* 2001;72(9):1221-7.