

UNIVERZITET U BEOGRADU
STOMATOLOŠKI FAKULTET

Miljan Z. Puletić

**„ POVEZANOST POJEDINIH PRIPADNIKA
FAMILIJE HERPEŠVIRIDA I
PARODONTOPATOGENIH MIKROORGANIZAMA SA
KOMPLIKACIJAMA PARODONTOPATIJE “.**

Doktorska disertacija

Beograd, 2014

UNIVERSITY OF BELGRADE

Faculty of Dental Medicine

Miljan Z. Puletić

**"RELATIONSHIP BETWEEN CERTAIN MEMBERS OF
THE FAMILY HERPESVIRIDAE AND
PAROPATHOGENIC MICROORGANISM WITH
COMPLICATIONS
OF PERIODONTAL DISEASE".**

Doctoral Disertation

Belgrade, 2014.

APSTRAKT (sažetak)

Uvod

Parodontopatija je hronično inflamatorno oboljenje uzrokovano malom grupom uglavnom anaerobnih Gram-negativnih bakterija, u kom dolazi do destrukcije svih tkiva parodontijuma. Iako su bakterije esencijalne one nisu dovoljne da dovedu do razvoja bolesti. Noviji podaci ukazuju na značaj virusa u patogenezi parodontopatije. Infekcija dovodi do inflamatorne destrukcije svih tkiva parodontijuma.

Oralni anaerobni mikroorganizmi i njihovi produkti, kao što je lipopolisaharid (LPS) prisutni u subgingivalnom dentalnom plaku, prodorom u vezivno tkivo gingive dospevaju u sistemsku cirkulaciju kroz ulcerisan i diskontinuiran epitel parodontalnog džepa. Trenutno, veruje se da je patogeneza nekih tipova parodontopatije proces od više koraka, uključujući složenu interakciju između domaćina, bakterija, virusa i raznih faktora okoline.

Polazna hipoteza : za nastanak parodontopatije bakterije jesu esencijalne ali ne i dovoljne da dovedu do razvoja bolesti, herpes virusi, EBV i CMV mogu dati odgovore na neka otvorena pitanja vezana za mehanizam degradacije parodontalnih tkiva kao i posledičnih komplikacija.

Ciljevi istraživanja :

1. Ispitati kvantitativno-kvalitativnu zastupljenost specifičnog bakterijskog genoma (*Porphyromonas gingivalis* (P.g), *Tannerella forsythensis* (T.f), *Prevotella intermedia* (P.i) i *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.g) kod komplikacija parodontopatije (ulcero- nekrozna parodontopatija i parodontalni apsces).
2. Ispitati kvantitativno-kvalitativnu zastupljenost specifičnog virusnog genoma Epstein Barov virus (EBV), Humani Citomegalovirus (HCMV) i herpes simplex virus tip 1 (HSV-1) kod komplikacija parodontopatije (ulcero- nekrozna parodontopatija i parodontalni apsces).

3. Ispitati kvantitativno-kvalitativnu zastupljenost specifičnog virusnog genoma Epstein Barov virus (EBV), Humani Citomegalovirus (HCMV) i herpes simplex virus tip 1 (HSV-1) kod pacijenata sa hroničnom parodontopatijom (HP)
4. Komparativna analiza dobijenih rezultata virusnog genoma eksperimentalne sa kontrolnom grupom
5. Ispitati kvantitativno-kvalitativnu zastupljenost specifičnog bakterijskog i virusnog genoma kod težih i lakših formi parodontalne bolesti.

Materijal i metode:

U studiju je bilo uključeno 102 pacijenata oba pola. Eksperimentalnu grupu činili su pacijenti koji dolaze na Kliniku za parodontologiju i oralnu medicinu Stomatološkog fakulteta u Beogradu sa dijagnostikovanim komplikacijama parodontopatije (parodontalni apsces i ulcero-nekrozna parodontopatija).

Kontrolnu grupu činili su pacijenti kod kojih su dijagnostifikovani klinički znaci hronične parodontopatije.

Kriterijumi za isključenje iz studije bili su: dijagnostikovana opšta oboljenja (kardiovaskularna, respiratorna, bubrežna, maligna itd.), istorija ili trenutno prisustvo jakih sistemskih infekcija, sistemska antibiotska ili imunomodulatorna terapija u prethodna 3 meseca, dugoročna terapija lekovima koji mogu uticati na stanje parodontijuma (npr. Antiinflamatorni lekovi), trudnice, dojilje, manje od 20 zuba (ne računaju se treći molari), manje od tri zuba iz Ramfjordovog modela ispitivanja zuba.

Klinička ispitivanja vršila su dva kalibrisana doktora uz pomoć ogledalca i parodontalne sonde graduisane u milimetrima, na četiri mesta po zubu prateći šest zuba iz Ramfjordovog modela. Ispitivanja će podrazumevati merenje gingivalnog indeksa (Löe-Silness), indeksa krvarenja gingive (Mühlemann-Son), dubine parodontalnih džepova i nivoa pripojnog epitela.

Pacijenti su svrstani u eksperimentalu grupu ukoliko se kliničkim pregledom uoče najmanje tri mesta sa dubinom sondiranja parodontalnog džepa ≥ 6 mm i nivoom pripojnog epitela ≥ 4 mm u najmanje tri kvadranta.

Kontrolnu grupu činili su pacijenti kod kojih je kliničkim pregledom ustanovljena dubina sondiranja parodontalnog džepa ≥ 4 mm, i nivoom pripojnog epitela ≥ 2 mm .

Uzimanje uzoraka se vrši stavljanjem sterilnog „paper pointa“ u parodontalni džep u trajanju od 10 - 60 sekundi. „Paper point“ se stavi u mikrotubu, doda se dejonizovana voda 50 mikrolitara i vorteksira. Rastvor se koristi za izolaciju DNK, i to kuvanjem na temperaturi od 94° C. Tako izolovana DNK se čuva na - 20°C i koristi se za PCR amplifikaciju. Osnovne metode za detekciju mikroorganizama su mikrobiološka kultura i PCR (lančana reakcija polimeraze).

Rezultati:

U subgingivalnom dentalnom plaku kod ulcero-nekrozne parodontopatije (n 33) rezultati na ispitivane bakterije su sledeći :

- pozitivan nalaz na P.g je prisutan kod sedamnaest od trideset-tri pacijenata (51.5%)
- pozitivan nalaz na A.g. je prisutan kod sedam od trideset-tri pacijenta (21.2%)
- pozitivan nalaz na P.i. je prisutan kod devetnaest od trideset-tri pacijenata (57.5%)
- pozitivan nalaz na T.f. je prisutan kod osamnaest od trideset-tri pacijenata (54.5%)

U subgingivalnom dentalnom plaku kod ulcero-nekrozne parodontopatije (n 33) rezultati na ispitivane viruse su sledeći :

- pozitivan nalaz na HSV-1 je prisutan kod tri od trideset-tri pacijenata (9.0%),
- pozitivan nalaz na EBV je prisutan kod dvanaest pacijenata od trideset-tri pacijenata (36.3%)
- pozitivan nalaz na HCMV je prisutan kod dvadeset dva od trideset-tri pacijenta (66.6%)

U subgingivalnom dentalnom plaku kod parodontalnog apscesa (n 39) rezultati na ispitivane bakterije su sledeći :

- pozitivan nalaz na P.g. je prisutan kod dvadeset-jednog od trideset-devet pacijenata (53.8%)

- pozitivan nalaz na A.g. je prisutan kod dvanaest od trideset-devet pacijenata (30.7%),
- pozitivan nalaz na P.i. je prisutan kod dvadeset-jednog od trideset-devet pacijenata (53.8%)
- pozitivan nalaz na T.f. je prisutan kod dvadeset od trideset-devet pacijenata (51.2%),

U subgingivalnom dentalnom plaku kod parodontalnog apscesa (n 39) rezultati na ispitivane viruse su sledeći :

- pozitivan nalaz na HSV-1 je prisutan kod četiri od trideset-devet pacijenata (10,2%),
- pozitivan nalaz na EBV je prisutan kod jedanaest od trideset-devet pacijenata (28.2%),
- pozitivan nalaz na HCMV je prisutan kod osamnaest od trideset-devet pacijenata (46.1%)

Kod hronične parodontopatije (n 30) pozitivan nalaz kretao se između (3.3 % kod HSV-1, 10% kod EBV i 16.6 % kod HCMV), bakterije nisu ispitivane.

Zaključci:

Kod komplikacija parodontopatije učešće pojedinih vrsta paropatogena relativno je izjednačeno, bez izrazite dominacije jedne vrste.

Kod obe komplikacije predominantni su HCMV i EBV, dok je HSV-1 detektovan u značajno manjem procentu.

Ključne reči:

Parodontopatija, herpes viridae, mikroorganizmi oralne mikroflore, bakterijska DNK, proinflamatorni citokini, lančana reakcija polimeraze (PCR).

ABSTRACT (summary)

Introduction

Periodontal disease is a chronic inflammatory disease caused by a small group of mainly anaerobic gram-negative bacteria, which leads to the destruction of all tissues of periodontium. Although bacteria are essential they are not enough to lead to the development of disease. Recent data indicate the importance of viruses in the pathogenesis of periodontal disease.

The infection leads to inflammatory destruction of periodontal tissues.

Oral anaerobic microorganisms and their products, such as lipopolysaccharide (LPS) present in subgingival dental plaque, penetrating into the connective tissue of the gingiva due to systemic circulation through ulcerated and discontinuous epithelium of the periodontal pocket.

Currently, it is believed that the pathogenesis of some types of periodontal disease process of multiple steps including the complex interaction between the host, bacteria, viruses, and various environmental factors.

The starting hypothesis: for the formation of periodontal bacteria, essential, but not sufficient to lead to the development of the disease, herpes viruses, EBV and CMV may provide answers to some open questions related to the mechanism of degradation of periodontal tissues as well as the consequent complications.

Objectives:

1. Identifying presence of specific bacterial flora:

Porphyromonas gingivalis(Pg), *Tannerella forsythensis*(Tf), *Prevotella intermedia* (Pi) and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*(A.g).

2. Detection of herpesviridae family members:

Epstein Barr virus(EBV), human cytomegalovirus(HCMV) and herpes simplex virus type 1(HSV-1) with complications of periodontal disease (periodontitis and necrotizing ulcer-periodontal abscess).

3. Testing the presence of HCMV, EBV and HSV in the sample of subgingival plaque in patients with chronic periodontitis (HP) and comparative analysis of the results with results obtained from samples of dental plaque at subgingival complications of periodontal disease (ulcer- necrotizing periodontal disease and periodontal abscess).
4. Detection of specific bacterial and viral flora in severe and less serious forms of periodontal disease.
5. Indirect determination of the importance of microorganisms in emerging periodontal abscess and ulcer-necrotic periodontal disease as a complication of the disease.

Materials and methods:

The study included 102 patients of both sexes. The experimental group consisted of patients who come to the clinic for Periodontics and oral medicine of faculty of Dentistry in Belgrade diagnosed with complications of periodontal disease (periodontal abscess and ulcer-necrotic periodontal disease).

The control group consisted of patients who were diagnosed with clinical signs of chronic periodontal disease.

Criteria for exclusion from the study were: diagnosed with general disorders (cardiovascular, respiratory, renal, malignant, etc.), history or current presence of strong systemic infection, systemic antibiotics or immunomodulatory therapy in the previous 3 months, long-term drug therapy that may affect the status of the periodontium (eg. Anti-inflammatory drugs), pregnant women, nursing mothers, fewer than 20 teeth(not counting the third molars) less than three teeth from tooth Ramfjord model tests.

Clinical examination was done by two doctors calibrated with the help of mirror and periodontal probe graduated in millimeters, at four sites per tooth following six teeth from Ramfjord model. The tests will include measuring gingival index (Loe-Silness),

the index of gingival bleeding (Mühlemann-Son), periodontal pocket depth and level of attachment epithelium.

Patients were divided into experimental group if clinical examination notice at least three cities with probing depth of periodontal pockets ≥ 6 mm and attachment level ≥ 4 mm in at least three quadrants.

The control group consisted of patients in whom clinically examination revealed probing depth of periodontal pockets ≥ 4 mm, and attachment level ≥ 2 mm.

Sampling is done by placing a sterile "paper point" in the periodontal pocket in duration from 10 to 60 seconds. "Paper point" is placed in microtubes, add deionized water 50 microliters and vortex. The solution was used for the isolation of DNA, and to boil at a temperature of 94°C. Thus, an isolated DNA was stored at - 20 ° C and used for PCR amplification. Basic methods for detection of microorganisms are microbiological culture and PCR (chain reaction polymerase).

Results:

In subgingival dental plaque with ulcer-necrotic periodontal disease (n 33) results on the bacteria test are the following:

- positive finding on P.g. is present in seventeen of the thirty-three patients (51.5%)
- positive findings on A.g. is present in seven of the thirty-three patients (21.2%)
- positive findings on P.i. is present in nineteen of thirty-three patients (57.5%)
- positive finding on T.f. is present in the eighteen and thirty-three of the patients (54.5%)

In The subgingival dental plaque with ulcer-necrotic periodontal disease (n 33) results the viruses tested were as follows:

- positive test for HSV-1 is present in three of the thirty-three patients (9.0%)
- positive findings on EBV is present in twelve patients from thirty-three patients (36.3%)
- positive findings on HCMV is present in twenty-two of the thirty-three patients (66.6%)

In subgingival dental plaque with periodontal abscess (n 39) results in bacteria testing were as follows:

- positive results to P.g. is present at the twenty-one of the thirty-nine patients (53.8%)
- positive findings on A.g. is present in the twelve of the thirty-nine patients (30.7%)
- positive findings on P.i. is present at the twenty-one of the thirty-nine patients (53.8%)
- positive finding on T.f. is present in twenty of the thirty-nine patients (51.2%)

In subgingival dental plaque with periodontal abscess (n 39) results in viruses testing were as follows:

- positive test for HSV-1 is present in four out of the thirty-nine patients (10,2%)
- positive findings on EBV is present in eleven of the thirty-nine patients (28.2%)
- positive findings on HCMV is present in eighteen of thirty-nine patients (46.1%)

In chronic periodontitis positive findings are ranged between (3.3 % at HSV type 1, 10 % at EBV and 16.6% at HCMV), bacteria are not investigated.

Conclusion:

When periodontal complications of different types of phatogen is relative equal, but without significant predominance of one species. At both complications are predominant HCMV and EBV, and HSV-1 was detected in significantly lower percentage.

Keywords: Periodontal disease, herpes viridae, microorganisms oral microflora, bacterial DNA, proinflammatory cytokines, polymerase chain reaction (PCR).

S A D R Ž A J

I UVOD	1
1. Parodontopatija.....	1
1.1 Potporno tkivo zuba :.....	3
1.2 Klasifikacija parodontopatija :.....	8
1.3 Hronična parodontopatija.....	9
1.4 Ulcero – nekrozna parodontopatija.....	10
1.5 Parodontalni apsces :.....	12
1.6 Uloga dentalnog plaka u nastanku parodontopatije.....	14
2. Oralna mikroflora.....	22
2.1 Zajednički događaji u patogenezi parodontopatije.....	26
2.2 Bakterije uključene u patogenezu parodontopatije.....	31
2.3 Virusi uključeni u patogenezu parodontopatije.....	35
II POLAZNA HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA :.....	40
2.1 Polazna hipoteza :.....	40
2.2 Ciljevi istraživanja:.....	40
III MATERIJAL I METODE	41
3.1. Materijal.....	41
3.2 Klinička ispitivanja.....	42
3.2.1 Intraoralni pregled.....	42
3.3 Metode.....	47
3.4 PCR amplifikacija.....	50
3.4.1 Analiza produkata PCR-a.....	51
3.5 Statistička analiza.....	53
IV REZULTATI	54
4.1 Karakteristike eksperimentalne grupe.....	54

4.2 Karakteristike kontrolne grupe	57
4.3 Rezultati bakterijsko-virusnog genoma kod ulcero-nekrozne parodontopatije	61
4.4 Rezultati bakterijsko-virusnog genoma kod parodontalnog apscesa	62
4.5 Rezultati virusnog genoma kod hronične parodontopatije	64
4.6 Rezultati bakterijsko-virusnog genoma kod komplikacija parodontopatije	65
4.7 Rezultati kvalitativno-kvantitativnog sastava bakterijsko-virusnog genoma kod komplikacija parodontopatije.....	70
4.8 Rezultati komparativne analize virusnog genoma eksperimentalne sa kontrolnom grupom	75
V DISKUSIJA	76
5.1 Faktori virulencije glavnih bakterija kod parodontopatija :.....	78
5.2 Mehanizam imunog sistema i inflamatorni odgovor	79
5.3 Virusne infekcije i imunološka reakcija kod parodontopatije :.....	82
5.4 Inhibicija i aktivacija MMP-a :.....	84
VI ZAKLJUČCI	97
VII REFERENCE	99

I UVOD

1. PARODONTOPATIJA

Parodontopatija je jedno od najčešćih oboljenja čoveka. Prema »Beogradskoj studiji«, učestalost oboljenja parodontijuma u domaćoj populaciji među osobama starijim od 18 godina je 84,6% i kreće se do 86.6% kod osoba starijih od 65 godina. Od ovog broja, blagi stepen destrukcije parodontijuma ima 14.1% osoba, srednji 20.3%, dok su najteža oštećenja nađena kod 10.4% ispitanika. Prema tome, ukupno 44.8% pregledanih osoba ima oštećenje dubljih tkiva parodontijuma i formirane parodontalne džepove (Popović V, Lukić V, 1987). Parodontopatija srednjeg ili teškog oblika je prisutna kod oko 15% Amerikanaca starijih od 18 godina, i slična učestalost se viđa i u većini drugih zemalja (Brown LJ, Löe H.).

Oboljenje parodontijuma je zajednički termin za inflamatorna stanja potpornog aparata zuba koje nastaje kao odgovor domaćina na prisustvo bakterija na površinama zuba u predelu dento-gingivalnog kompleksa (Pihlstrom i sar., 205). Bakterije koje kolonizuju čvrste površine u usnoj duplji ulaze u sastav dentalnog biofilma ili dentalnog plaka.

Relativno blaga forma oboljenja parodontijuma, poznata kao gingivitis, je praćena inflamatornim promenama u gingivi. Gingivitsi nastali kao posledica akumulacije dentalnog plaka imaju reverzibilan karakter, odnosno svakodnevno i pravilno uklanjanje dentalnog plaka u okviru održavanja oralne higijene može da dovede do potpunog ozdravljenja gingive (Löe isar., 1965; Theilade isar., 196).

Parodontalne bolesti povezane sa plakom su hronične infekcije izazvane mešovitom florom, a prisutan zapaljenski proces dovodi do gubitka parodontalne veze, i na kraju do ispadanja zuba. Iako su bakterije dentalnog plaka poznate kao najvažniji etiološki faktor za parodontopatiju, takođe je potreban podložni domaćin. Imuno – inflamatorna reakcija koja se razvija u periodontalnim tkivima kao odgovor na hronično bakterijsko prisustvo, rezultira uništavanjem strukturnih komponenti parodontijuma.

Bakterijska etiologija nije bila u stanju da objasni brzo propadanje parodontalnih

tkiva u slučajevima sa minimalnom količinom plaka, odnosno niskim nivoom faktora rizika. Drugi aspekti parodontopatije koji ne mogu biti u potpunosti objašnjeni bakterijskom etiologijom su remisija i reaktivacija bolesti, specifičnost mesta zahvaćenog parodontopatijom, progresija parodontalnih propadanja kod nekih pacijenata, a ne kod drugih, evolucija gingivitisa u parodontopatiju, ili prelazak od stabilnog stanja do aktivne parodontopatije.

Bakterije su esencijalne, ali ne i dovoljne da dovedu do razvoja bolesti:

Podložnost (prijemчивost) domaćina je podjednako važna, pa će tako faktori domaćina bitno uticati na tok i oblik bolesti a prisustvo Herpes virusa, EBV i CMV takođe može predstavljati važan element za bolje razumevanje mehanizama uključenih u degradaciju parodontalnih tkiva.

Herpes virusi su pronađeni u parodontalnom tkivu i u gingivalno- cervikalnoj tečnosti kod hroničnog, napredovalog i agresivnog parodontitisa kao i u parodontocijumu HIV pozitivnih pacijenata i pacijenata sa sledećim sindromima: Papillon - Lefevre, Dorn i Kostmann.

Trenutno, veruje se da je patogeneza nekih tipova parodontopatije proces od više koraka, koji podrazumevaju složenu interakciju između domaćina, bakterija, virusa i raznih faktora okoline.

Parodontopatija predstavlja familiju sličnih oboljenja koja se međusobno razlikuju u etiologiji, toku, progresiji bolesti i odgovoru na terapiju, ali dele slične puteve tkivne destrukcije (Page RC Offenbacher.S.2000, Page RC Schroeder HE 1982.).

Isti osnovni patogenetski mehanizam odgovoran je za destrukciju vezivnog tkiva i kosti u svim formama parodontopatije.

Proinflamatorni citokini IL-1 β , TNF- α i INF- γ indukuju i ubrzavaju sintezu prostanglandina E2 (PGE2) i matriks metaloproteinaza (MMP), molekula koji su medijatori destrukcije ekstracelularnog matriksa gingive i periodontalnog ligamenta i resorpcije alveolarne kosti (Page RC 1998).

Modifikatori bolesti (faktori rizika), koji mogu biti nasledni ili stečeni, biće odgovorni za različite kliničke tokove i forme parodontopatije (Page RC, Beck JD) . Faktori rizika imaju uticaj na trenutak početka bolesti (starosnu dob), model tkivne i koštane destrukcije, odgovor na različite oblike terapije, težinu i učestalost recidiva. Neki od

ovih faktora su prisutni celog života, kao na primer nasledni faktori, dok će neki, kao pušenje ili stres varirati tokom života (Page RC 1998).

Epidemiološki podaci iz čitavog sveta ukazuju na izuzetnu rasprostranjenost oboljenja potpornog aparata zuba – gingivitisa i parodontopatije. Smatra se da su ovo, pored karijesa, najrasprostranjenija oboljenja ljudskog roda. Ističe se da većina odraslih i oko trećina dece ima ova oboljenja.

Prave dimenzije i značaj parodontopatije kao medicinskog problema sagledavaju se ako se zna da su oboljenja parodontijuma glavni uzrok gubitka zuba posle 45. godine života (Đajić, 2001) .

Uzrok parodontopatija je poznat. Neposredno je dokazano da dentalni plak čiji najznačajniji deo čine mikroorganizmi, predstavlja glavni etiološki faktor nastanka oboljenja. Patogena aktivnost bakterija dentalnog plaka, otpornost organizma domaćina kao i faktori rizika lokalne prirode (anomalije zuba i zubnog niza, pušenje, neadekvatna oralna higijena, jatrogeni faktori, genetska konstitucija domaćina itd.) doprinose nastanku i razvoju oboljenja potpornog aparata zuba.

Bolje poznavanje etiopatogeneze oboljenja parodontijuma omogućilo je uspešniju borbu protiv ove bolesti.

Razvoj stomatologije, medicine i molekularne biologije znatno je doprineo boljem poznavanju i uspešnijem lečenju obolelih. Metode molekularne biologije omogućile su identifikaciju patogena koji se nalaze u dentalnom plaku, neophodnu za adekvatno i uspešno lečenje.

1.1 POTPORNO TKIVO ZUBA :

Parodontijum čine nekoliko različitih tkiva koja okružuju zub, pružajući mu potporu, čime omogućavaju njegovu funkciju. U parodontijum spadaju gingiva, periodoncijum, cement i prava alveolarna kost.

Gingiva :

(desni) predstavlja deo oralne sluzokože koji je najvećim delom pripojen za alveolarnu kost i cement korena zuba.

Anatomski se deli na slobodnu , interdentalnu i pripojnu (fiksiranu) gingivu.

Slobodna ili marginalna gingiva predstavlja deo gingive koji nije pripojen za podlogu, pa se zbog toga naziva slobodna, ona u obliku kragne obuhvata vrat zuba.

Interdentalna gingiva se vrlo često naziva i interdentalna papilla. To je deo gingive koji leži između dva zuba. Pošto se interdentalna gingiva, slično kao i slobodna gingiva, sa oralne i vestibularne strane ne pripaja za kost ni zub ona bi se u širem smislu reči mogla svrstati u slobodnu gingiva.

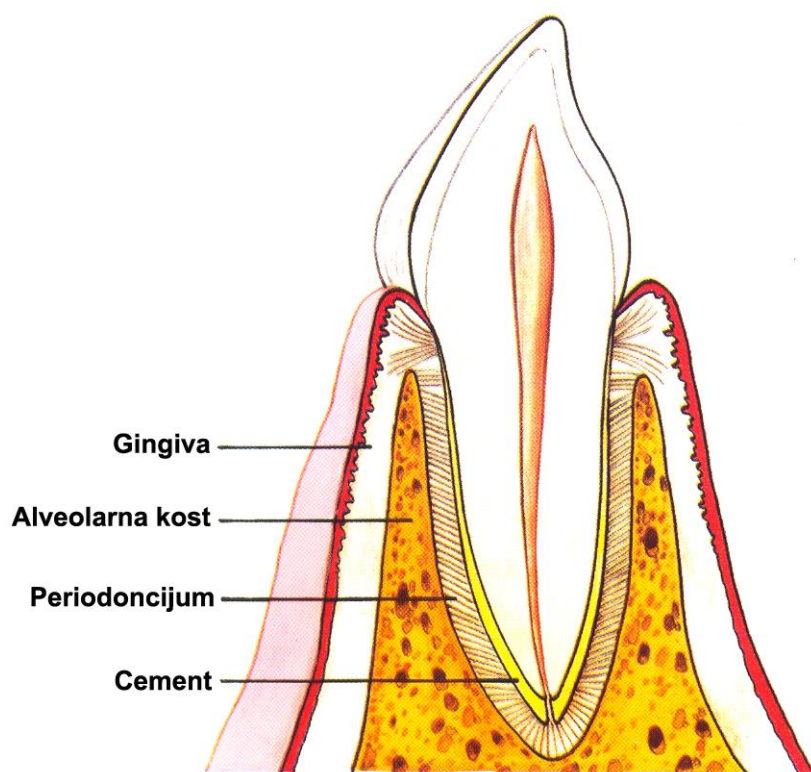
Pripojna (fiksirana) gingiva je deo koji je čvrsto pripojen za podlogu (cement korena zuba i alveolarnu kost).

Histološki se sastoji od epitela i krzna u kome kolagena vlakna čine najznačajniji deo. Oralni epitel gingive je pločasto-slojevite građe sa izraženom keratinizacijom. Epiteli ove vrste su najotporniji. Zahvaljujući keratinizaciji postoji stalno obnavljanje ćelija i eliminacija površinskih slojeva. Zajedno sa ovom eliminacijom površinskih slojeva ćelija, budu odstranjeni i mikroorganizmi kao i štetne materije koje su prodrle u epitel. Deo epitela gingive koji odgovara gingivalnom sulkusu (sulkusni epitel) ne orožava, pa izostaje ova zaštitna uloga gingive, zbog toga je ovo najosetljivije mesto gingive.

Ukoliko mikroorganizmi ipak prođu kroz epitel u gingivu, onda dolazi do izražaja zaštitna uloga krzna. U krznu se pojavljuju neke ćelije bele loze, koje dospevaju iz krvi. Ove ćelije fagocitozom uništavaju prodrle bakterije. Ovakvo nakupljanje ćelija koje imaju izrazito zaštitnu ulogu je naročito utvrđeno u onom delu krzna gingive koji se nalazi u neposrednoj blizini dna gingivalnog sulkusa. Ovako nakupljanje ćelija označava se kao “ćelijska infiltracija” i predstavlja zaštitni mehanizam koji se smatra najvažnijom ulogom gingive. Pored ove ona ima senzornu i nutritivnu ulogu. Senzorna funkcija se ostvaruje prisustvom velikog broja nervnih završetaka koji leže u krznu. Gingiva na različite nadražaje reaguje odgovarajućim senzacijama, tj. bolom. Na ovaj način se postiže zaštita dubljih tkiva parodontijuma.

Gingiva je odlično vaskularizovana. Posmatrano u celini, gingiva ima bogatiju mrežu krvnih sudova nego koža. Pri tome je od izuzetne važnosti bogatstvo u anastomozama. Zahvaljujući njima povezani su svi krvni sudovi, tako da u njoj ne ostaje ni jedna “mrtva zona”. Utvrđeno je čak da pored krvnih sudova u funkciji, postoje rezervni krvni sudovi. Patološko stanje gingive naziva se gingivitis i može da se javi u više oblika. Promene gingive se manifestuju promenom boje, veličine i oblika. U etiologiji gingivitisa presudnu ulogu imaju naslage na zubima (dentalni plak i zubni kamenac)

koji nastaju vrlo često kao posledica loše oralne higijene. Postoji i oblik gingivitisa čija je etiologija nepoznata, te se smatra da bolest ima genetsku osnovu.



Slika 1. Parodontcijum (preuzeto iz D. Đajić, D. Đukanović –Parodontologija i “Fokalna Infekcija“ 2006)

Periodoncijum :

(peridontalni ligament-peridontalna membrana-alveolarna pokosnica-dezmodont) je tkivo koje okružuje koren zuba i pričvršćuje ga za alveolarnu čašicu. Periodoncijum je vezivno tkivo, koje čine: osnovna kolagena vlakna, elastična vlakna, acidorezistentna vlakna, osteoblaste, osteoklaste, krvni i limfni sudovi i nervi.

Periodoncijum ima veoma složenu i raznovrsnu ulogu. Kao glavne funkcije periodoncijuma ističu se : potporna, senzorna, nutritivna, formativna i zaštitna.

Osnovna uloga periodoncijuma je učvršćivanje i potpora zubu, kako bi on mogao da odgovori različitim funkcionalnim zahtevima. Periodoncijum amortizuje i neutralize pritisak koji deluje na zub prilikom mastikacije. U amortizaciji pritiska najvažniju ulogu igraju kolagena vlakna periodoncijuma. U ovoj amortizaciji pritiska pored

kolagenih vlakana zapaženu ulogu imaju mehanizmi kao što su : vaskularni, hidrodinamički, mehanizam rezilijencije, kao i oblik alveole.

Cement :

Cement je mineralizovano vezivno tkivo koje prekriva anatomske korene zuba. Prostire se od vrata do vrha korena zuba. Na vrhu korena ostavlja otvor za prolaz nervnih vlakana, krvnih i limfnih sudova pulpe. Cement se u predelu vrata zuba graniči sa gleđi. Histološki se cement deli na : acelularni i celularni, zavisno od prisustva ili odsustva ćelija cementocita. Celularni cement se stvara posle acelularnog, pa se još naziva i sekundarni cement. On se stvara tokom čitavog života. Celularni cement prekriva apikalnu polovinu korena zuba i ima ga znatno više od acelularnog. Acelularni cement se naziva i primarni, pošto se on prvi stvara na površini dentina korena zuba. Cement korena zuba je mekši od gleđi i dentina. Nekada čak zubni kamenac i subgingivalni konkrementi mogu da budu tvrđi od cementa.

Cement kao i čitav parodontijum ima ulogu da fiksira zub u alveoli. Tu funkciju cement ostvaruje na taj način što obezbeđuje fiksaciju krajeva osnovnih kolagenih vlakana periodoncijuma.

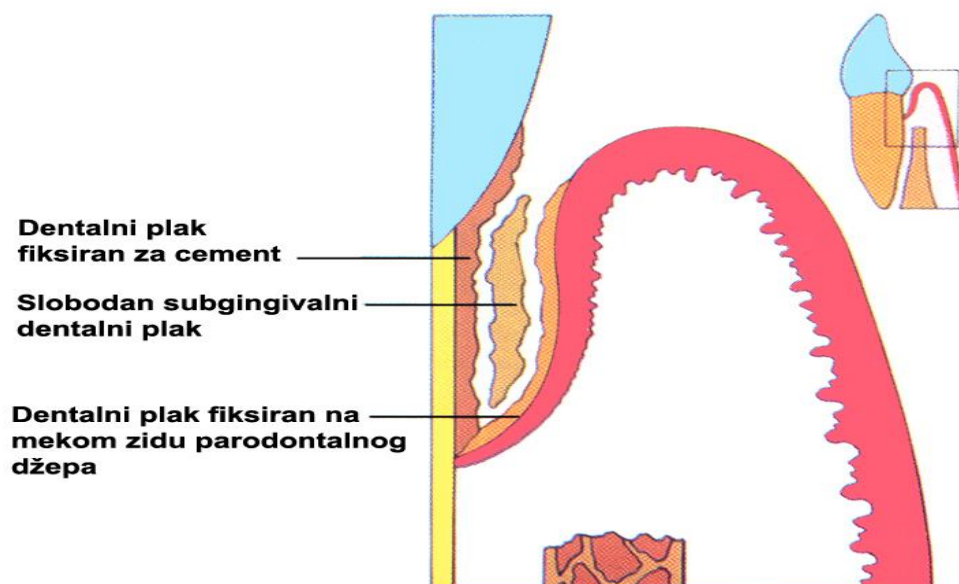
Alveolarna kost :

Predstavlja deo gornje i donje vilice koji obuhvata najveći deo izniklih zuba. U donjoj vilici taj deo se zove pars alveolaris mandibulae, a u gornjoj processus alveolaris maxillae.

Najveći deo alveolarne kosti čini spongioza. Prema usnoj duplji ona je prekrivena kompaktnom kosti. Na kompakti se mogu videti izbočenja prouzrokovana korenovima zuba (juga alveolaria). U spongiozu su usađene alveolarne čašice (alveole). Njihov zid je sastavljen od kompaktne kosti koja je nazvana prava alveolarna kost. U nju su ugrađeni krajevi periodontalnih vlakana koja su drugim krajem ugrađena u cement korena zuba i koja na taj način obezbeđuju fiksaciju zuba u vilici. Prava alveolarna kost se u radiologiji naziva lamina dura. Na njoj se nalazi veliki broj sitnih otvora za krvne sudove i nerve. Ostali deo alveolarne kosti, u koji spadaju spongioza i kompakta koja oblaže vilice na površinama prema usnoj duplji zove se potporna alveolarna kost. U derktnoj je zavisnosti od zuba. Razvija se sa nicanjem zuba a resorbuje se posle njihovog gubitka.

Dentalni plak je naslaga koja se taloži na zubima a naziva se još i bakterijski, odnosno

mikrobni plak. Mikroorganizmi dentalnog plaka su brojni i raznovrsni. U usnoj duplji se nalazi od 200 do 400 različitih vrsta bakterija. Veliki broj ovih bakterija pripada grupi uslovno patogenih mikroorganizama. Adaptirani su na uslove u usnoj duplji, ali u drugoj sredini mogu izazvati različite bolesti, direktno ili kao koagensi sa drugim bakterijama. Kod zdravog parodontijuma dominira gram pozitivna flora, dok u slučaju parodontopatije preovlađuju Gram negativne, anaerobne vrste. Sastav dentalnog plaka nije konstantan i postoji razlika u zastupljenosti mikroorganizmima u nezrelom i zrelom plaku. Dinamika stvaranja dentalnog plaka podrazumeva inicijalnu fazu, potom fazu akumulacije i napokon sazrevanje, remodelovanje ili maturacija. Prvu fazu karakteriše stvaranje pelikule koja predstavlja acelularni sloj (proteini, lipidi, glikoproteini) za koju se vezuju bakterije. Prvo se vezuju pojedine vrste oralnih streptokoka, koje svojom biohemijskom aktivnošću stvaraju uslove za kolonizaciju drugih vrsta. Metaboličkom aktivnošću bakterije stvaraju takve uslove u mikrosredini dentalnog plaka koji pogoduju kolonizaciji anaerobnih sojeva. Terminalna faza sazrevanja dentalnog plaka praćena je pojavom filamentoznih bakterija koje sa oralnim streptokokama daju masu zrelom dentalnom plaku (Costerton JW, Lewandowski Z 1994).



Slika 2. Subgingivalni dentalni plak (preuzeto iz D. Đajić, D. Đukanović – Parodontologija i “Fokalna Infekcija “ 2006)

1.2 KLASIFIKACIJA PARODONTOPATIJA :

Patološke promene, zapaljenske i atrofično degenerativne, koje obuhvataju sve delove parodontcijuma označavaju se kao parodontopatije. Postoje različite kliničke forme parodontopatije. Epidemiološka istraživanja su pokazala da je najzastupljenija klinička forma parodontopatije hronična parodontopatija koju karakteriše spor i postepen gubitak parodontalnih tkiva (Armitage, 204; Baelum, 198; Brown & Löe, 193). Za razliku od ove kliničke forme, agresivne parodontopatije koje mogu da se jave u lokalizovanoj ili generalizovanoj formi, karakteriše brz i obiman gubitak parodontalnih tkiva. Agresivne parodontopatije najčešće nastaju u ranom uzrastu, mada su istraživanja pokazala da destruktivni procesi u parodontcijumu mogu da poprime agresivan karakter u bilo kojoj životnoj dobi (Armitage, 194, 204). Kod mladih osoba bolest se javlja oko puberteta i zahvata prve stalne molare i centralne incizive i može da rezultira iskompromitovanom funkcijom ovih zuba već u periodu adolescencije. Prema koncezusu koji je 1999 godine donela Američka akademija za parodontologiju a koju je usvojio ceo naučni svet razlikuju se : (Armitage, 1999)

- I. Hronična parodontopatija (slika 3.)
- II. Agresivna parodontopatija (1.Lokalizovana 2. Generalizovana)
- III. Bolesti parodontcijuma kao manifestacije sistemskih oboljenja
- IV. Ulcero-nekrozna parodontopatija (slika 4.)

U ovu grupu oboljenja parodontcijuma svrstavaju se i

1. Parodontalni apsces
2. Endoparodontalne i paroendodontalne lezije
3. Mukogingivalne lezije
4. Okluzalna trauma

1.3 HRONIČNA PARODONTOPATIJA

Ovaj oblik parodontopatije je najčešći. Ona nastaje širenjem inflamacije sa gingive na dublja tkiva parodontijuma. Bolest se širi postepeno i razvija se godinama. U toku hronične parodontopatije nekada je zahvaćen parodontijum oko većine zuba ili oko svih zuba.

Karakteristično je da inflamacija nije istog intenziteta oko svih zuba. Ona je najizraženija u interdentalnim prostorima, oko malponiranih zuba, a često i oko protetskih radova, jer se na tim mestima otežano održava oralna higijena. Smatra se da ovaj oblik parodontopatije nastaje usled neadekvatne higijene, odnosno usled dentalnog plaka. Po pravilu ove osobe nemaju kompromitovan imuni sistem. Ukoliko se kod ovih bolesnika javi neko sistemsko oboljenje (dijabet i slično) koje remeti imunitet, i patološki procesi u parodontijumu počinju da se ubrzano odvijaju.

Hronična parodontopatija može da otpočne u bilo kom dobu, ali ipak najčešće započinje u adolescenciji. Dugo se odvija bez bolova i drugih simptoma. Ovaj oblik parodontopatije često se otkriva tek posle 35. godine života, pa i kasnije.

Faktori rizika za nastanak hronične parodontopatije su :

1. prisustvo dentalnog plaka, odnosno mikroorganizama i to naročito : *Tanerella forsythus*, *Porphyromonas gingivalis* i *Treponema denticola* koji se još naziva “CRVENI KOMPLEKS”!
2. prisustvo faktora koji olakšavaju stvaranje i zadržavanje dentalnog plaka : zubni kamenac, jatrogeni faktor, kariozne lezije i zbijenost zuba.
3. sistemski faktori, npr: diabetes mellitus i pušenje duvana

Klinička slika hronične parodontopatije zavisi od patohistoloških promena koje se odvijaju u parodontijumu. Najčešće se javlja inflamacija eksudativno-proliferativnog tipa uz degenerativno-atrofične procese.

Klinički znaci :

- *Inflamacija gingive,*
- *Ogolićenje vratova i korenova zuba,*
- *Parodontalni džepovi,*
- *Gnojni eksudat u parodontalnim džepovima,*

- *Subgingivalni konkrementi na površini korena zuba u parodontalnim džepovima,*
- *Labavljenje zuba,*
- *Patološka migracija zuba*



Slika 3. Hronična parodontopatija (HP) (Gary C. Armitage, Periodontology 2000)

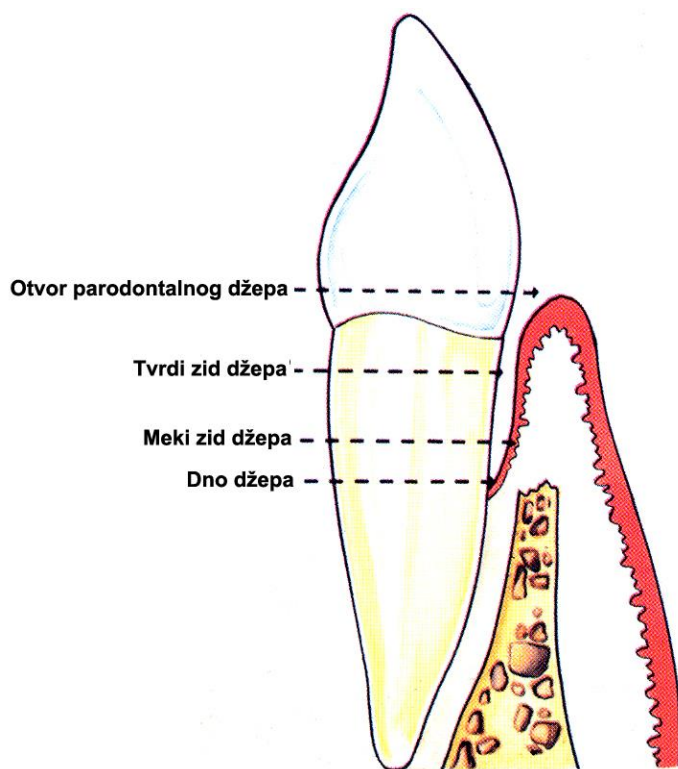
1.4 ULCERO – NEKROZNA PARODONTOPATIJA

Ove parodontopatije karakterišu ulcerozno – nekrozni procesi, koji zahvataju prvenstveno gingivu, ali ni drugi delovi parodontijuma nisu pošteđeni. Ulceracije se razvijaju na parodontijumu koji je već zahvaćen parodontopatijom, ređe nastaju na potpuno zdravom parodontijumu.



Slika 4.Ulceronekrozna parodontopatija (UNP) (Gary C. Armitage, Periodontology 2000)

Pojava ulceracija komplikuje bolest i zahteva dodatni napor da bi se postigla remisija bolesti. Ovaj oblik parodontopatije se ranije često pogrešno dijagnostifikovao kao ulcero – nekrozni gingivitis. Ovo iz razloga što su promene na gingivi lako uočljive inspekcijom. Na slobodnoj gingivi i na vrhu interdentalnih papila nastaju ulceracije. Ulkusi su prekriveni žućkasto – belim ili sivim naslagama (pseudomembranama), koje se sastoje od nekrotičnog tkiva, fibrina sa leukocitima i eritrocitima. Ove naslage sadrže brojne mikroorganizme. Pri njihovom uklanjanju nastaje krvarenje praćeno jakim bolom. Usled raspadanja tkiva postoji jak fetor ex ore. Dijagnozi pomaže bilo koji objektivni znak koji identifikuje parodontopatiju. (npr. parodontalni džep)



Slika 5. Parodontalni džep (PDŽ) (D. Đajić, D. Đukanović –Parodontologija i “Fokalna Infekcija “ 2006)

S obzirom da ulcero-nekrozna parodontopatija često prati sindrom stečene imunodeficijencije (SIDA) neophodno je napraviti razliku između ulcero-nekrozni parodontopatije kod obolelih od SIDE i onih koji ne boluju.

1.4.1 ULCERO- NEKROZNA PARODONTOPATIJA U BOLESNIKA KOJI NE BOLUJU OD SIDE.

Nastaju najčešće posle više recidiva ulcero-nekroznih gingivitisa. Ovde ulcero – nekrotične promene koje započinju na gingivi postepeno zahvataju alveolarnu kost i druge delove parodoncijuma. Ulcero – nekrozni proces sa gingive se širi različitom brzinom. Oštećenje kosti najčešće se odigrava u interdentalnim regionima, zahvatajući interdentalne septume, pri čemu se stvaraju karakteristični krateri između zuba.

Razaranje kosti može da izazove klaćenje i ispadanje zuba. U toku ulcero-nekrozne parodontopatije mogu nastati i teže komplikacije. Razaranje može da zahvati veće delove alveolarne kosti. U najtežim slučajevima bolest se razvija u nomu (stomatitis gangrenosa).

1.4.2 ULCERO- NEKROZNA PARODONTOPATIJA U BOLESNIKA KOJI BOLUJU OD SIDE

Nju karakterišu izražene ulcero – nekrotične promene gingive i drugih delova parodoncijuma.

Ovaj fenomen se pripisuje mnogobrojnim oportunističkim infekcijama. Uočeno je da se u ulcero – nekroznim lezijama nalazi manje spiroheta nego kod klasične ulcero – nekrozne parodontopatije. U obolelih od ovog oblika parodontopatije uglavnom se nalaze oni mikroorganizmi koji se sreću i u osoba sa hroničnim parodontopatijama ali su mikroorganizmi brojniji, sa prevalencijom anaeroba.

1.5 PARODONTALNI APSCES :

Najčešća komplikacija parodontopatije.

Parodontalni apsces je gnojna kolekcija lokalizovana pored zuba u parodoncijumu.

Mogu biti : akutni i hronični

1.5.1 AKUTNI PARODONTALNI APSCES:

Nastaje ako je iz bilo kog razloga sprečena ili otežana drenaža gnojnog eksudata iz parodontalnog džepa. To se dešava u slučaju ako edematozna ivica gingive na otvoru džepa nalegne na površinu zuba i spreči izlivanje gnojnog eksudata u usnu duplju. Na

sličan način sprečenu drenažu gnoja iz džepa mogu prouzrokovati i subgingivalni konkrementi koji su u blizini otvora parodontalnog džepa kao i jatrogeni faktori (prominentne plombe i kukice proteza).

U središnjem delu apscesa nalaze se:

- NEUTROFILNI LEUKOCITI
- MAKROFAZI
- ANAEROBI

Parodontalni apscesi se lako obrazuju kod serpiginoznih kao i dubokih i uskih džepova koji imaju mali prirodni drenažni otvor. Ovakvi apscesi se mogu stvoriti i ukoliko se javi lakunarna resorpcija alveolarne kosti. Gnojnu drenažu iz parodontalnog džepa i formiranje parodontalnog apscesa mogu prouzrokovati i meke kolekcije u mekom zidu suprakoštanog parodontalnog džepa. Na mestu akutnog parodontalnog apscesa se javlja OTOK. On se javlja na fiksiranoj gingivi, i po pravilu je lokalizovan lateralno od korena zuba. Po tome se parodontalni apscesi razlikuju od apscesa dentogenog porekla, koji karakteriše otok u predelu vrha korena. Otok kod „zrelog“ parodontalnog apscesa fluktuirá i veoma je bolan na pritisak. Gingiva iznad apseca je intenzivno crvena. Zbog inflamacije u periodoncijumu zub može biti razlabavljen i osetljiv na perkusiju. Gnojna kolekcija pritiska nervne završetke te je stoga parodontalni apsces veoma bolan. Često bol zrači duboko u vilicu i pulsirajućeg je tipa.

Akutni parodontalni apsces može biti praćen limfadenitisom odgovarajuće regionalne limfne žlezde. Ređe se mogu javiti znaci opšte toksiinfekcije.

Osnovni terapijski zahtev je DRENAŽA i uklanjanje kapsule apscesa. Drenaža se obavlja sondom ili kiretom kroz prirodni otvor apscesa, a ukoliko to nije moguće drenaža se obavlja incizijom.

1.5.2 HRONIČNI PARODONTALNI APSCES

Gnojna kolekcija koja se nalazi u alveolarnoj kosti i gingivi, ali koja preko fistuloznog kanala komunicira sa usnom dupljom. Kroz njega se gnoj konstantno izliva u usnu šupljinu.

Fistulozni kanal se završava otvorom u vidu kratera. Često se na tom mestu nalazi granulaciono tkivo koje maskira otvor fistule. Kroz otvor se vrhom sonde može ući u

fistulozni kanal. Hronični parodontalni apsces ne prate subjektivne tegobe.

Ponekad postoji slab, tup bol koji zrači duboko u vilicu. Lečenje hroničnih parodontalnih apscesa je hirurško. Nekada se kod istog bolesnika (dijabetičari i imunokompromitovani bolesnici) može formirati nekoliko parodontalnih apscesa istovremeno i tada govorimo o multiplim parodontalnim apscesima. Pojedinačni parodontalni apscesi nazivaju se solitarni. Dif.dg : periapikalni apsces i gingivalni apsces



Slika 6. Parodontalni apsces (Gary C. Armitage, Periodontology 2000)

1.6 ULOGA DENTALNOG PLAKA U NASTANKU PARODONTOPATIJE

Dentalni plak je glavni etiološki faktor u nastanku gingivita i parodontopatije.

Dentalni plak je dinamičan i ekstremno kompleksan oralni biofilm. Predstavlja ekosistem gde zajednice različitih mikrobnih vrsta formiraju mikroniše koje se razlikuju u sastavu i metaboličkim aktivnostima. Dentalni plak se opisuje kao organska, bakterijska, bezbojna i opalescentna meka naslaga koja se akumulira na zubima, ali i na drugim mestima u usnoj duplji.

Najznačajniji sastavni deo dentalnog plaka čine mikroorganizmi. Više od 70 različitih bakterijskih vrsta je detektovano u usnoj duplji kultivacijom i primenom molekularnih metoda koje se baziraju na analizi bakterijske DNK (Aas i sar., 205; Kroes i sar., 199; More i sar., 1985; Paster i sar., 201).

Mnoge od ovih vrsta su nađene u dentalnom plaku, ali je tačan broj i identitet onih vrsta koje su direktno uključene u etiologiju parodontopatija još uvek kontraverzan. Parodontopatogena svojstva su bila pripisana širokom (Marsh, 194; Theilade, 1986) ili uskom (Slots & Listgarten, 198; Socransky, 197) spektru bakterija, uglavnom Gram-negativnim, asaharolitčkim i proteolitčkim vrstama koja se razmnožavaju i povećavaju svoj patogeni potencijal u ekološkim uslovima koji vladaju u akumuliranom dentalnom plaku.

Prema nekim istraživačima, svega nekoliko vrsta (manje od 10) se može smatrati značajnim parodontalnim patogenom (Hafaje & Socransky, 194; Slots & Listgarten, 198; Socransky i sar., 198; Socransky & Hafaje, 192, 205). Pretpostavka da parodontopatije mogu bit izazvane nekolicinom ili čak samo jednom od mnogih bakterijskih vrsta u dentalnom plaku, navodi neke istraživače da ove bakterije smatraju specifičnim parodontalnim patogenima.

Preporuka je da se u cilju prevencije i terapije oboljenja izvrši eradikacija ovih bakterija primenom antibiotika ukoliko je potrebno (Hafaje i sar., 1984; Christerson & Zambon, 193; Pavičić i sar., 194; Saxsen & Asikainen, 193; Slots & Rosling, 1983).

Protivnici ovog stava se pozivaju na činjenicu da je svaka od bakterijskih vrsta koja se smatra parodontopatogenom bila detektovana i kod osoba sa klinički zdravim parodontcijumom, te bi se na njih trebalo gledati kao na komensalne organizme koji imaju potencijalnu ulogu oportunističkog patogena (Marsh, 194; Theilade, 1986).

1.6.1 SPECIFIČNA I NESPECIFIČNA TEORIJA DELOVANJA DENTALNOG PLAKA

Do sredine prošlog veka bila je prihvaćena tzv. nespecifična teorija delovanja dentalnog plaka prema kojoj se smatralo da oboljenja parodontcijuma nastaju kao posledica kumulativnog dejstva svih mikroorganizama dentalnog plaka tokom određenog vremenskog perioda i usled smanjenog imunološkog odgovora domaćina na prisutne mikroorganizme (Theilade, 1986).

Tu činjenicu su potvrdile mnogobrojne epidemiološke studije. Tako su neka epidemiološka istraživanja pokazala da se broj obolelih od parodontopatija povećava sa godinama starosti da su u onih osoba u kojih ima više plaka na zubima više zastupljene parodontopatije. Međutim, neka druga zapažanja su opovrgla takva mišljenja.

Ustanovljeno je da u nekih osoba i pored obilne akumulacije dentalnog plaka nisu konstatovana obimnija oštećenja parodonticijuma, kao i da u nekih osoba koje boluju od gingivita nije došlo do progresije inflamacije u dublja parodontalna tkiva. Istovremeno je konstatovano da se u nekih mlađih osoba u kojih su prisutne male količine dentalnog plaka na zubima, javljaju izrazito teške forme parodontopatije. Takođe je uočeno da se u iste osobe oštećenja parodonticijuma mogu javiti samo u predelu pojedinih zuba (Listgarten 1976; Westergard isar., 1978).

Iz ovog proizilazi da svaki plak ne ispoljava podjednako svoje patogeno dejstvo na parodonticijum. To ukazuje na specifičnost delovanja dentalnog plaka. Po nespecifičnoj teoriji delovanja plaka, oboljenja parodonticijuma nastaju pod uticajem štetnih noksi iz dentalnog plaka. Mnoge bakterijske vrste iz subgingivalnog dentalnog plaka oslobađaju lipopolisaharid-LPS (Ofenbacher & Salvi 199), proteolitčke enzime, niz eteričnih masnih kiselina (butiratnu, propionatnu, izobutiratnu) (Grenier, 192; Niedermani sar., 196; Shah & Gharbia, 195), kao i sulfide – vodonik sulfid imetil-merkaptan idr. (Person isar., 1989; Person isar., 190).

Ukoliko se radi o malim količinama dentalnog plaka tada imunskim odgovorom domaćina one mogu biti savladane. Ukoliko se pak radi o velikim količinama dentalnog plaka tada ogromne količine štetnih agenasa ne mogu biti savladane imunskim reakcijama. Po ovoj teoriji bitan je kvantitet dentalnog plaka.

Povoljni terapijski rezultati koji se dobijaju nakon uspostavljanja dobre oralne higijene i uklanjanja drugih naslaga sa zuba u obolelih od parodontopatije govore u prilog ove teorije.

Uopšte, većina terapijskih procedura koje se preduzimaju u obolelih od parodontopatije govori u prilog nespecifičnoj teoriji.

Specifična teorija plaka polazi od pretpostavke da nastanak, razvoj i težina patoloških procesa koji se razvijaju u parodonticijumu zavisi od prisustva različitih i specifičnih mikroorganizama dentalnog plaka i njihove sposobnosti da produkuju neke veoma agresivne agense (Loesche, 1979). Era bakteriološke specifičnosti dobila je zamah u momentu otkrića glavnog prouzrokača juvenilne parodontopatije, odnosno izolovanjem bakterije *A. actinomycetemcomitans* (Genco i sar., 1986; Newman & Socransky, 197; Zambon i sar., 198). Istovremeno je utvrđeno da je tok parodontopatije cikličan i da se periodi pogoršanja i aktiviranja inflamatornih procesa smenjuju sa

periodima mirovanja (remisije). U fazama aktiviranja (egzacerbacije) inflamatornih procesa u parodontijumu dolazi do znatnog povećanja broja Gram negativnih bakterija, dok u fazama remisije bolesti u dentalnom plaku dominiraju Gram pozitivne bakterije.

Obimna istraživanja su takođe pokazala da se parodontopatije ne razvijaju sinhrono i istovremeno u parodontijumu svih zuba, niti na svim površinama jednog zuba.

Dokazano je da na mestima gde je zdrav parodontijum ili gde je inflamatorni proces u remisiji postoji razlika u mikrobiološkom sastavu plaka, kao i u ravnoteži koja je uspostavljena između tih mikroorganizama i gingive domaćina u odnosu na mesta gde se patološki proces razvija ili je došlo do njegove egzacerbacije.

Iz toga proizilazi da pored mikroorganizama dentalnog plaka postoje i drugi faktori koji mogu da utiču na promenu kvalitativnog i kvantitativnog sastava dentalnog plaka i koji utiču na smanjenje imunskog odgovora domaćina. Ovde dolazi do uticaja specifične uloga samih virusa, ta uloga je nedovoljno ispitana u patogenetskim procesima u toku nastanka same parodontopatije. Smatra se da virusi mogu predstavljati ključni faktor koji je odgovoran za nastanak teških formi parodontopatija sa sledstvenim komplikacijama, samim tim što virusna infekcija gingive smanjuje odbrambene sposobnosti parodontalnih tkiva i tako omogućava slobodnu penetraciju paropatoгена iz subgingivalnog dentalnog plaka u dublja parodontalna tkiva.

Virusi takođe mogu delovati sinergistički na glavne paropatoгене, favorizujući izrazito virulentne sojeve i na taj način mogu uticati na samu promenu kvalitativnog i kvantitativnog sastava dentalnog plaka.

1.6.2 FORMIRANJE I MIKROBIOLOŠKI SASTAV DENTALNOG PLAKA

Proces formiranja dentalnog plaka je predstavljen tačno utvrđenim i strogo definisanim redosledom kolonizacije mikroorganizama u kojem se tačno određene mikrobne vrste vezuju za površinu zuba u funkciji vremena, i ovaj proces je identičan za svakog pojedinca (Marsh, 206).

Međutim, sazrevanje dentalnog plaka je individualno specifično, tako da se i sastav dentalnogplaka razlikuje od osobe do osobe (Kolenbrander i sar., 206). Prema

lokalizaciji u odnosu na ivicu gingive, razlikujemo supragingivalni i subgingivalni dentalni plak koji se značajno razlikuju po svom mikrobnom sastavu.



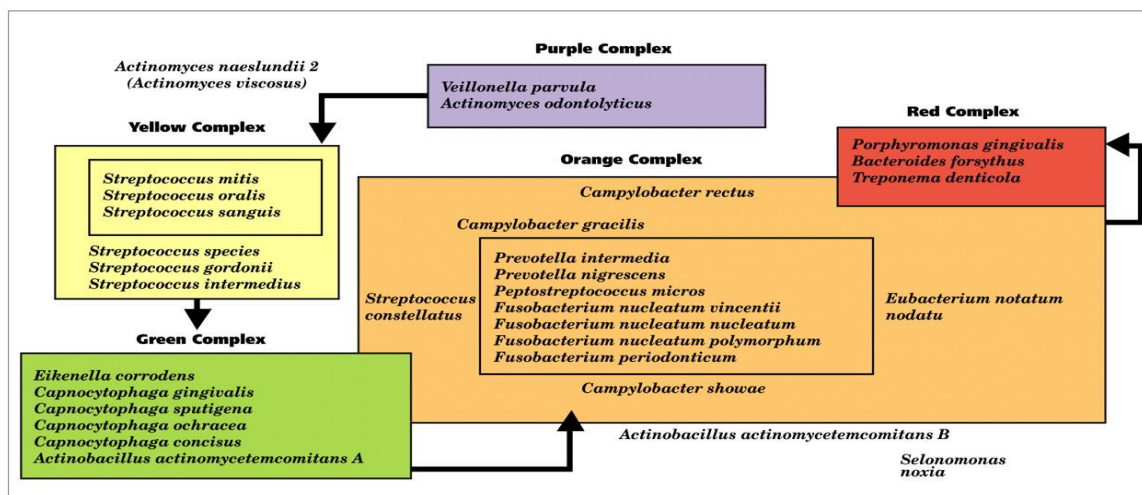
Slika 7. Mikroorganizmi dentalnog plaka (preuzeto sa Perio Wiki)

Supragingivalni dentalni plak kolonizuju uglavnom mikroorganizmi usne duplje i pljuvačke. U njemu dominiraju Gram pozitivni mikroorganizmi.

Subgingivalni dentalni plak kolonizuju uglavnom Gram negativni mikroorganizmi.

Subgingivalna regija (gingivalni sulkus, gingivalni i parodontalni džep) predstavlja zonu sa relativno stagnirajućim tokom fluida u koji se naseljavaju mikroorganizmi koji se ne mogu odmah adherirati za površinu zuba. Zbog toga se u ovoj regiji nalazi veliki broj neadheriranih anaerobnih i pokretnih mikroorganizama. U odnosu na osobine i faktore virulencije koje poseduju, Socransky i sar. (1998) su svrstali bakterije subgingivalnog dentalnog plaka u bakterijske komplekse (slika 8).

Veliki broj istraživanja je pokazao da bakterije crvenog i narandžastog kompleksa dominiraju u subgingivalnom dentalnom plaku obolelih od parodontopatija.



Slika 8. Asocijacije subgingivalnih mikrobnih vrsta svrstanih u bakterijske komplekse na osnovu njihovih osobina, dinamike kolonizacije i faktora virulencije koje poseduju (Socransky i sar., 1998).

Obzirom da je oksidoredukциони potencijal subgingivalne regije nizak (posebno parodontalnog džepa) u ovoj regiji opstaju i razmnožavaju se oni mikroorganizmi kojima odgovaraju ovakvi uslovi (niska koncentracija kiseonika). To su fakultativni i striktni anaerobni mikroorganizmi. Gingivalni eksudat sadrži veliki broj materija koje služe mikroorganizmima subgingivalnog plaka za ishranu. Zbog toga gingivalni eksudat, koji se oslobađa iz inflamirane gingive, može bitno da utiče na floru subgingivalnog plaka. Dentalni plak se postepeno uvećava i sazreva razmnožavanjem mikroorganizama u njemu, kolonizacijom novih bakterija i nagomilavanjem njihovih produkata. Etiologija parodontopatije je polimikrobna po svojoj prirodi. Opisano je više od 70 različitih bakterijskih vrsta koje naseljavaju usnu duplju, od kojih više od polovine nije moguće kultivisati (Paster i sar., 206). Bilo kakva promena parodontalnog statusa u smislu poboljšanja ili pogoršanja u tesnoj je vezi sa promenom bakterijskog sastava subgingivalnog dentalnog plaka. Istraživanja su pokazala da disbioza u usnoj duplji (predominacija agresivnih parodontopatogena) može da vodi pojavi parodontopatije. Disbiozu karakteriše smena primarno dominantnih Gram-pozitivnih aeroba Gram-negativnim anaerobima (tzv. ekološka plak hipoteza; Marsh, 191). Iz tog razloga je sasvim opravdano reći da se mikrobiološka testiranja mogu koristiti u cilju postavljanja dijagnoze kao i da bi se optimizovala terapija, naročito u slučajevima kada je indikovana antibiotska terapija (agresivne parodontopatije, parodontopatije rezistentne na terapiju). Primena antibiotika je opravdana kao pomoćni vid terapije u slučajevima kada pacijent nakon sprovedene kauzalne faze terapije ne pokazuje klinički manifestno poboljšanje parodontalnog statusa. Antibiotici se u cilju lečenja obolelog parodonticijuma mogu ordinirati lokalno ili sistemski. Samo nekoliko slojeva ćelija pripojnog epitela deli subgingivalno lokalizovane bakterije od parenteralnog prostora domaćina, i omogućava njihovu intimnu komunikaciju. Da je oralna kolonizacija parodontopatogena kod naših predaka rezultirala brzim gubitkom zuba, ovi mikroorganizmi bi izgubili svoju ekološku nišu. Takođe, gubitak zuba koji imaju krucijalnu ulogu u žvakanju hrane bi ugrozilo preživljavanje domaćina. Činjenica da su parodontalne bakterije normalni stanovnici usne duplje kod osoba koje imaju zube govori u prilog tome da su i bakterije i domaćin razvili toleranciju jedni prema drugima (Asikainen & Chen, 1999).

Nekoliko termina se koristi za klasifikaciju bakterija u odnosu na njihovu sposobnost da prouzrokuju oboljenje kao i za opisivanje njihove veze sa domaćinom.

Komensalni mikroorganizmi ili pripadnici normalne flore su one bakterije koje su skoro uvek prisutne u velikom broju, u ili na određenom mestu i kompatibilne su sa domaćinom. Ove bakterije imaju korist od domaćina, ali mu ne nanose štetu. Rosebury je predložio da se komensalizam zameni terminom "amfibioza", koji bi označavao čitav spektar odnosa između simbioze i patogenosti (Rosebury, 1962). Amfibioza označava stabilno stanje, ali naglašava da se odnos između domaćina i bakterija može promeniti. Patogeni ili paraziti su egzogenog porekla i definišu se kao bakterije koje su sposobne da prouzrokuju oboljenje i nanesu štetu domaćinu.

U medicinskoj literaturi konstantno prisustvo komensalnih mikroorganizama u ili na domaćinu se naziva kolonizacijom, dok se uspešna perzistencija i razmnožavanje patogena na ili u domaćinu naziva infekcijom. Infekcija ne mora uvek da vodi ka oboljenju (nosilac i latencija), a i kolonizacija bi mogla da rezultira pojavom bolesti (oportunističke infektivne bolesti ili endogene infekcije). Dakle, prisustvo određenih patogenih parodontalnih mikroorganizama ne znači i infekciju, odnosno parodontopatogen je potreban ali ne i dovoljan za nastanak i progresiju parodontalnih oboljenja.

Iako je opšte prihvaćen stav da parodontopatije nastaju kao rezultat polimikrobne infekcije, 1996. je postignut konsenzus da su *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* i *Bacteroides forsythus* (sada *Tannerella forsythia*) sigurni parodontopatogeni. Inter-individualna varijacija polimikrobnih oboljenja predstavlja veliki izazov za kliničare u smislu njihovog lečenja. Da bi efikasno tretirali ova oboljenja neophodno je razumevanje i poznavanje normalne mikroflore čije bi uspostavljanje bilo glavni cilj antimikrobne terapije (As i sar., 205). Izazov leži u određivanju šta je normalno za svakog pojedinca. Istraživanja su pokazala da različite bakterije mogu biti odgovorne za pojavu oboljenja kod različitih ljudi, što ukazuje na činjenicu da je progresija oboljenja individualno specifična.

1.6.3 AKCESORNI ETIOLOŠKI FAKTORI PARODONTOPATIJE

Osim dentalnog plaka koji je glavni etiološki faktor u nastanku parodontopatije postoje i akcesorni etiološki faktori. Akcesorni etiološki faktori u nastanku parodontopatije mogu biti lokalni i opšti.

Lokalni akcesorni etiološki faktori olakšavaju i ubrzavaju formiranje, retenciju i akumulaciju dentalnog plaka a istovremeno otežavaju ili onemogućavaju njegovo uklanjanje u toku održavanja oralne higijene. Na taj način ovi faktori deluju indirektno. U ove faktore ubrajaju se: druge naslage na zubima, jatrogeni faktori, impakcija hrane, loše navike, morfološka i anatomska odstupanja mekih i koštanog tkiva i ostali lokalni faktori. Pored navedenih etioloških faktora jedan od značajnih lokalnih akcesornih etioloških faktora je i traumatska okluzija koja ubrzava razvoj i povećava obim patoloških promena u parodontocijumu u toku parodontopatije.

Opšti akcesorni etiološki faktori utiču na smanjenje otpornosti parodontocijuma prema delovanju mikroorganizama dentalnog plaka. Na taj način olakšavaju delovanje produkata dentalnog plaka i pojavu inflamacije u parodontocijumu, utičući istovremeno i na tok parodontopatije. U opšte akcesorne etiološke faktore ubrajaju se: nutritivni faktori, endokrine bolesti, krvne bolesti, imunološki poremećaji i drugi opšti faktori.

U etiopatogenezi parodontopatija od značaja je ispoljavanje fenomena sinergizma delovanja glavnog i akcesornih etioloških faktora. Tako na parodontocijum mogu da deluju mikroorganizmi zajedno sa lokalnim i opštim akcesornim faktorima. To udruženo delovanje mikroorganizama i nekih lokalnih faktora (npr. jatrogeni faktori i morfološka odstupanja u razvoju alveolarne kosti) i opštih faktora (imunološki poremećaji, npr. AIDS) usloviće brži razvoj bolesti uz pojavu obimnih i teških destrukcija u parodontocijumu sa lošom prognozom.

Upravo ovaj sinergizam delovanja brojnih različitih faktora kreira jedinstveni za domaćina individualno specifični tzv. biološki fenotip oboljenja, koji se odlikuje nizom kaskadnih celularnih i molekularnih patogenetskih mehanizama i koji će tokom vremena rezultirati određenim kliničkim fenotipom, odnosno kliničkom slikom bolesti (Casanova & Abel, 204).

Faktori rizika i modifikatori parodontopatije:

- Pušenje duvana
- Sistemske bolesti
- Stres
- Starost
- Rasa, etnička pripadnost
- Socioekonomski status
- Muški pol
- Istorija parodontopatije
- Kompromitovan imunski sistem
- Loša oralna higijena
- Stomatološka nega
- Nasleđe

Danas je jasno da genetski faktori utiču i modifikuju odgovor domaćina na prisutne mikroorganizme, i na taj način povećavaju sklonost ka oboljevanju. Rane, prepubertetske forme parodontopatije javiče se u familijama sa naslednim bolestima, kao što su neutropenija, trizomija 21 i Papillon-Lefèvre Sy. Kod juvenilnih i agresivnih formi, rizik se nasleđem povećava za oko 50%. U poslednje vreme puno se pažnje poklanja polimorfizmima gena odgovornim za produkciju citokina kao modulatorima rizika od hronične parodontopatije.

2. ORALNA MIKROFLORA

U usnoj duplji je detektovano između 300 i 400 vrsta, serotipova i ribotipova bakterija, a oko 10 do 20 je na različite načine dovedeno u vezu sa nastankom parodontopatije kod ljudi. (Haffajee AD, Scoransky SS).

Pored aerobnih, fakultativno anaerobnih i striktno anaerobnih bakterija, u sastavu oralne flore se mogu naći sojevi *Mycoplasme*, gljivice, protozoe i virusi(HSV-1, CMV I EBV). Ipak, zaključak je da četiri vrste, sve Gram-negativne, anaerobne ili fakultativno anaerobne, lokalizovane u subgingivalnim zonama, uzrokuju najveći broj parodontopatija. To su *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* (nekad *Bacteroides forsythus*), *Prevotella intermedia* i *Aggregatibacter*

actinomycescomitans. Spirohete takođe imaju značajnu ulogu . (Scoransky SS, Haffajee AD, Cugini MA 1997) (Tabela 2)

Da bi kolonizovale subgingivalne zone, bakterije moraju da imaju sposobnost:

- (1) pripajanja za tkiva parodontijuma,
- (2) razmnožavanja,
- (3) kompeticije sa drugim mikroorganizmima iz svog okruženja i
- (4) odbrane od zaštitnih faktora domaćina (Kinane DF 2000)

Bakterije moraju nadjačati brojne zaštitne faktore domaćina, na prvom mestu nespecifične urođene odbrambene mehanizme kao što je mehaničko spiranje usled protoka pljuvačke i gingivalne tečnosti. Obe tečnosti u svom sastavu imaju odbrambene supstance sposobne za precipitaciju i destrukciju bakterija. Zatim, tu su i deskvamacija epitelnih ćelija, i samim tim pripojenih bakterija, antitela koja sprečavaju adherenciju i fagocitna sposobnost prisutnih neutrofila. Kada dođe do prodora bakterija u vezivno tkivo, aktiviraju se brojni imunološki mehanizmi domaćina uključujući B i T limfocite, neutrofile, monocite i makrofage (Kinane DF 2000).

Bakterije su organizovane u plak koji sam po sebi ima sve karakteristike biofilma (Tabela 3).

Biofilm je definisan kao adherentna bakterijska populacija ukalupljena u matriks . Postoje dokazi da bakterije komuniciraju međusobno i formiraju kompleksnu strukturu sa primitivnim cirkulatornim sistemom. Oralni biofilm sposoban je da adherira za površine zuba i ostale čvrste površine u usnoj duplji, uključujući i protetske nadoknade. U odnosu na lokalizaciju na površini zuba biofilm se može podeliti na supra i subgingivalni. Supragingivalni mikrobnii biofilm sadrži približno 10^{11} bakterija/g, većim delom anaerobnih sojeva. Razlikuje se od klasične definicije biofilma po tome što je mnogo labavije pripojen i slobodne bakterije se mogu naći na površini biofilma u kontaktu sa epitelom gingive.

Subgingivalni plak pokazuje osobine biofilma, tj. neobično je otporan i teško ga je eliminisati. U parodontalnom džepu prisutna je gingivalna tečnost, tj. lokalni inflamatorni eksudat koji stalno kupa biofilm.

Gingivalna tečnost sadrži komplement, antitela i sve ostale elemente odbrane prisutne u krvi koji preveniraju i kontrolišu infekciju. Na lokalnom nivou dolazi do aktivacije komplementa, i milioni aktivnih, viabilnih leukocita, posebno neutrofila se akumulira na

površini biofilma. Ipak, pod ovakim uslovima, bakterije ne samo da preživljavaju, već i bujaju. Na sličan način su delimično zaštićene od sistemski ili lokalno primenjenih antibakterijskih lekova. Gram-negativne bakterije sadrže vezikule bogate lipopolisaharidom (LPS). Zbog toga je biofilm konstantan izvor LPS-a, koji, u uslovima degradiranog epitela parodontalnog džepa, ima otvoren prolaz do vezivnog tkiva i sistemske cirkulacije.

Tabela 1. Karakteristike parodontalnih paropato gena

Vrsta	Ćelijska morfologija	Bojenje po Gramu	Pokretljivost	Potreba za O ₂
<i>Actinobacillus actinomycetem comitans</i>	Kokobacil	negativno	nepokretna	Kapnofilna anaerobna
<i>Prevotella intermedia</i>	Bacil	negativno	nepokretna	anaerobna
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Bacil	negativno	nepokretna	anaerobna
<i>Tannerella forsythensis</i>	Bacil sa zašiljenim krajevima	negativno	nepokretna	anaerobna

Tabela 2. Alternativni kriterijumi po Socranskom

Alternativni kriterijumi identifikacije po Scoranskom				
Vrsta	Morfologija kolonija	Veza sa parodontopatijom	Prisustvo kod bolesti	Faktor virulencije
<i>Actinobacillus actinomycetem comitans</i>	Interna morfologija u obliku zvezde	LPJ	LPJ lezija bogata u Aa	LPS Invazija tkiva
<i>Prevotella intermedia</i>	Braon crna	Akutni Ulcero Nekrozni gingivitis	Pozitivna kultura kod ANUG- a	Pili i fimbrije kapsule LPS
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Braon crna	Hronična parodontopatija	U dubokim p. džepovima	Kolagenaza LPS
<i>Tannerella forsythensis</i>	Crna braon	Hronična parodontopatija		

Izvori: Loeshe and Laughon (1981); Zambon (1985 i 1990); Theilade (1986); Geneco i sar. (1988); Van Winkelhoff i sar. (1988); Cheni Wilson (1992)

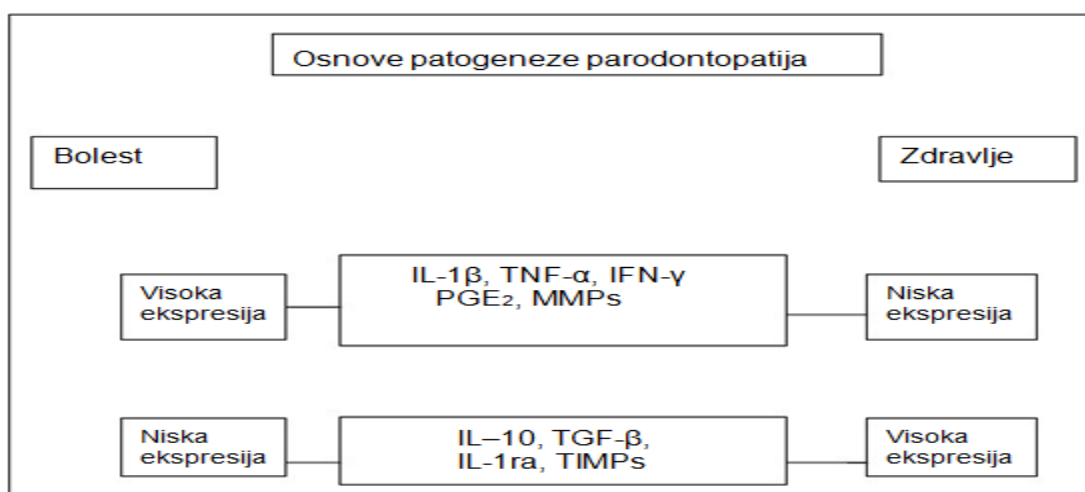
Tabela 3. Karakteristike biofilma

Karakteristike biofilma
– Ekološka zajednica koja obezbeđuje preživljavanje zajednice u celini
– Pokazuje metaboličku kooperativnost
– Ima primitivni cirkulatorni sistem
– U svom sastavu sadrži brojne mikrosredine sa radikalno različitim pH, koncentracijom kiseonika i električnim potencijalom
– Rezistencija na uobičajene odbrambene moći domaćina
– Rezistencija na sistemski ili lokalno aplikovane antibiotike i antibakterijske agense

2.1 ZAJEDNIČKI DOGAĐAJI U PATOGENEZI PARODONTOPATIJE

U zdravoj, neinflamiranoj gingivi postoji konstantna migracija leukocita, većinom neutrofila, iz pleksusa krvnih sudova lokalizovanih u blizini granice između epitela i vezivnog tkiva (bazalne membrane), kroz pripojni epitel do mikrobnog plaka. Leukociti, većinom neutrofili, prate gradient hemotaktičnih molekula sastavljenih od interleukina-8 koji proizvode epitelne ćelije i peptida formil-metionil-leucil-fenilalanin (FMLP) klase, metaboličkih produkata bakterija. Kod osoba podložnih parodontopatiji, biofilm prodire u gingivalni sulkus i raskida vezu između koronarnog kraja pripojnog epitela i zuba. Tako pripojni epitel postaje epitel parodontalnog džepa, formira se plitak gingivalni džep i omogućava veći prodor bakterijskih produkata (kao što je LPS) u vezivno tkivo i krvne sudove. Krvni sudovi mikrocirkulacije postaju inflamirani i veoma permeabilni. Endotelne ćelije koje ekspiriraju intercelularni vezni molekul – 1 (ICAM-1) postaju aktivirane od strane LPS-a ili citokina kao što su IL-1 β i TNF- α i sposobne za ekspresiju drugih receptora kao što je E-selektin.

Prvo se neutrofili, a onda i monociti i limfociti vežu za selektine, a onda za ICAM-1, i migriraju iz krvnog suda u ekstracelularni matriks, gde postaju inflamatorni ćelijski infiltrate (Page RC 1998).



Slika 9. Uloga proinflamatornih citokina i enzima u patogenezi parodontopatije

Supstance oslobođene sa površine biofilma kao što je LPS aktiviraju replikaciju i sekreciju inflamatornih medijatora (IL-8 i IL-1 α) od strane ćelija pripojnog i epitela

parodontalnog džepa, i na taj način privlače i aktiviraju neutrofile. Aktivirane ćelije sekretuju matriks metaloproteinaze (MMPs), veliku familiju enzima koji zajedničkim dejstvom degradiraju kolagen i sve komponente ekstracelularnog matriksa vezivnog tkiva. Ovi enzimi uništavaju kolagena vlakna pripojena za površinu zuba, omogućavajući epitelu da se širi lateralno i apikalno, što za posledicu ima produbljivanje gingivalnog džepa, gubitak pripojnog epitela i formiranje parodontalnog džepa (Page RC 1998).

Inflamatorni ćelijski infiltrat, sastavljen od neutrofila, B i T limfocita i monocita/makrofaga, prati formiranje parodontalnog džepa. Prisutni T i B limfociti bivaju aktivirani različitim bakterijskim antigenima i citokinima i dolazi do sekrecije brojnih citokina, uključujući IL-2, -3, -4, -5, -6, -10 i INF- γ (Gemmell E, Marshall RI 2000). Ove supstance dovode do širenja odgovarajućih populacija T ćelija i stimulišu B ćelije da se diferenciraju u plazma ćelije sposobne za sintezu antitela. Iako dolazi do sinteze imunoglobulina klasa G, M i A, glavno antitelo indukovano parodontalnim patogenima pripada IgG2 subklasi (Whitney C, Ant J 1992). LPS i INF- γ aktiviraju infiltrirane monocite koji sekretuju velike količine IL-1 β , TNF- α , PGE2 i MMP.

Kako napreduje destrukcija parodontalnog tkiva, prisutni fibroblasti, endotelne i epitelne ćelije bivaju uključene u proces. U zdravoj, neinflamiranoj gingivi, fibroblasti proizvode i održavaju kolagen i druge komponente ekstracelularnog matriksa, kao i visoke koncentracije tkivnih inhibitora matriksmetaloproteinaze (TIMPs). Prisustvo LPS-a i citokina (IL-1 β , TNF- α) inhibira gene za kolagen i komponente ekstracelularnog matriksa, dok su geni za MMP-a aktivirani, što dovodi do visokog nivoa MMP-a i niskog nivoa TIMP-a u celom inflamiranom tkivu (Reynolds JJ, Meikle MC 2000).

Posledica ovog procesa je destrukcija kolagena i drugih komponenti ekstracelularnog matriksa. Sličan proces se dešava sa epitelnim i endotelnim ćelijama.

Aktivirani makrofagi i fibroblasti sekretuju PGE2 koji indukuje formiranje velikog broja osteoklasta i resorpciju alveolarne kosti. U ovom procesu, pored dominantnog PGE2, učestvuju i IL-6, IL-1 β i TNF- α (Page RC 1998).

Parodontopatija ima cikličan tok. Iste ćelije koje proizvode destruktivne proinflamatorne citokine i MMP mogu proizvoditi mediatore koji suprimiraju imunoinflamatorni odgovor. IL-4, IL-10 i TGF- β smanjuju sintezu proinflamatornih

citokina. IL-4 produkt u najvećoj meri T ćelija, mastocita i bazofila, prisutan je u inflamiranom tkivu u malim količinama. Sinteza dovoljnih koncentracija smanjuje produkciju IL-1 β , IL-6 i TNF- α i - β , snižava broj IL-2 receptora i obezbeđuje negativan odgovor imunskog sistema (Gemmell E, Marshall RI 2000).

IL-10 je glavni supresor inflamacije i imunskog odgovora. Produkuju ga aktivirani makrofagi, T i B limfociti. Vršiti supresiju antigen prezentujuće sposobnosti, snižava koncentracije IL-1, IL-6, IL-8, stimuliše sintezu antagoniste receptora IL-1 (IL-1ra) i inhibira aktivaciju makrofaga putem IFN- γ (Offenbacher S, Barros SP 2008).

Može da poveća imunski odgovor stimulacijom rasta i diferencijacije B ćelija. IL-1ra je moćan inhibitor tkivne destrukcije do koje dovode citokini. Vezuje se za IL-1 receptor, ali ne pokreće biološki odgovor. TGF- β , koji sintetišu monociti i T ćelije i koji biva oslobođen u visokim koncentracijama u koštanom matriksu u fazi resorpcije, suprimira aktivirane makrofage, i redukuje nivoe IL-1 β , TNF- α i PGE2 (Soder PO, Neuerman JH 2008).

Subgingivalni biofilm je rezervoar Gram-negativnih bakterija i predstavlja ogromno i konstantno bakterijsko opterećenje organizma. To je stalni izvor LPS-a, drugih produkata Gram negativnih bakterija kao i samih bakterija koje potencijalno imaju pristup dubljim parodontalnim tkivima i sistemske cirkulaciji. Jedan uzorak plaka koji se dobije povlačenjem kirete kroz parodontalni džep može sadržati od 10^7 do 10^8 bakterija. Svi glavni parodontalni patogeni su Gram-negativni, i konstantno produkuju vezikule bogate LPS-om. Biofilm se teško uništava, a kada se to desi, vrlo brzo se ponovo formira.

Porphyromonas gingivalis je bakterija koja zaslužuje najviše pažnje.

LPS iz većine Gram-negativnih bakterija aktivira endotelne ćelije mikrocirkulacije na ekspresiju adherentnih molekula kao što je E-selektin, i na taj način iniciraju migraciju ćelija bele loze iz krvnih sudova i razvoja inflamatornog odgovora. Danas se zna da *P.gingivalis* i LPS koji sintetiše nemaju sposobnost da indukuju ekspresiju E-selektina. Na taj način, ovaj organizam je sposoban da blokira prvi ključni korak u inflamatornom odgovoru domaćina, da se „prikrije“ od imunskog sistema domaćina i razmnožava. Takođe blokira indukciju E-selektina drugim bakterijama. Na taj način, *P.gingivalis* može zaustaviti inicijalne korake inflamatornog odgovora koji pod normalnim uslovima ograničava i kontroliše mikroorganizme, i tako dozvoljava njihovo razmnožavanje u

parodontalnom džepu. U sastav oralne flore ulazi oko 20% aerobnih mikroorganizama. Preostalu populaciju čine fakultativno anaerobni, odnosno striktno anaerobni mikroorganizmi. Pored njih, tu su prisutne neke mikroaerofilne, kao i kapnofilne vrste. Vrednost redox potencijala opada srazmerno stepenu akumulacije dentalnog plaka. Prvog dana nastanka plaka iznosi 200mV a u kasnijoj fazi akumulacije iznosi 110-140 mV. Rani kolonizatori koriste kiseonik i oslobađaju ugljen dioksid, dok u kasnijoj fazi sazrevanja plaka mikroorganizmi proizvode vodonik i jedinjenja sumpora.

Herpes viridae su češće prisutne u parodontalnim lezijama i u lezijama kod akutnog nekrotičnog ulceroznog gingivitisa, nego kod gingivitisa ili parodontalno zdravih mesta. Uglavnom se dva herpes virusa nalaze u ovim lezijama: Epstein-Barr virus (EBV) koji pogađa parodontalne B- limfocite i citomegalovirus (CMV) koji pogađa parodontalne monocite/makrofage i T-limfocite. Takođe, CMV inficira pljuvačne žlezde, epitelne i endotelne ćelije i fibroblaste.

Seroprevalencija od CMV infekcije u svetu veoma varira u zavisnosti od geografskog područja (razvijene/zemlje u razvoju). Veoma često, infekcija počinje rano u detinjstvu, u stvari, početkom trudnoće majke, jer posteljica igra ključnu ulogu u prenosu CMV na fetus. CMV infekcija obuhvata mezenhimalne ćelije zubnih papila i izaziva defekte zuba tokom odontogeneze, uzrokujući oboljenje *amelogenesis imperfecta*.

Smatra se da je reaktivacija CMV-a u parodontalnim lezijama povezana sa progresijom parodontopatije, a posebno je ustanovljena aktivnost ovog virusa kod komplikacija parodontopatije. Broj subgingivalnih parodontopatogenih bakterija u ovim lezijama je povišen verovatno zbog aktivne virusne infekcije koja smanjuje imunu odbranu parodontalnih tkiva.

To bi moglo da objasni nekoliko obeležja parodontopatije kao što su:

- epizodna progresivna priroda parodontopatije (zbog prolazne lokalne imunosupresije u zavisnosti od aktivne ili latentne virusne infekcije),
- lokalizovani obrazac razaranja tkiva (zbog virusnog tropizma tkiva);
- neki pojedinci nose parodontopatogene bakterije a i dalje su parodontalno zdravi (zbog odsustva virusne infekcije).

U principu, herpesviridae mogu dovesti do parodontalne patologije na dva načina - prvo, direktnom virusnom infekcijom i replikacijom, kao i virusom uzrokovanim oštećenjem koje onemogućava odbranu domaćina.

Oni mogu smanjiti obnovu tkiva direktnim citopatskim uticajem na inflamatorne ćelije, kao što su polimorfonuklearni leukociti, limfociti, makrofagi, fibroblasti, endotelijalne ćelije, koštane i druge. Nadalje, to može da dovede do bakterijske superinfekcije. Infekcija gingive herpesviridama može izazvati subgingivalni gubitak i kolonizaciju parodontopatogenih bakterija. Još više, virusni proteini izraženi na eukariotskim ćelijskim membranama mogu da deluju kao bakterijski receptori i generišu nova vezivna mesta za bakterije. Kada je reč o patologiji parodontopatije, čini se da ključna uloga pripada CMV. Prikupljeni dokazi pokazuju da CMV ne samo da je razvio mnoge strategije da izbegne imunološki odgovor domaćina, već i koristi reakciju domaćina da postigne reaktivaciju latentne infekcije. CMV koristi NF κ B da posreduje u inflamatornom imunom odgovoru i da podstakne IE ekspresije gena u nameri da dovedu do virusne replikacije. CMV indukuje sintezu hemokina koji dovode osetljive monocite i neutrofile na mesto infekcije.

Shodno tome, virus može da podstakne proizvodnju IL-1 i TNF- α uz makrofage i monocite, što zauzvrat može da naruši ravnotežu između MMP-s i TIMP-s. MMP-s su ključni proteolitički enzimi odgovorni za cepanje međuprostornog kolagena, koji čine najveći deo proteina ekstracelularnog matriksa u periodoncijumu. Kod parodontopatija, oni vremenom degradiraju parodontalne ligamentne veze i koštane proteine, što na kraju dovodi do uništenja kosti. Biopsija gingive kod CMV inficiranih osoba sa parodontopatijom, pokazala je veću ekspresiju gena za MMPs-a nego biopsija kod CMV negativnih osoba. CMV može da dovede do povrede tkiva kao rezultat imunopatološkog odgovora na virusno inficiranje ćelije, kao što su:

- izazivanje ćelijski posredovane imunosupresije, smanjenjem površinske ćelijske ekspresije glavnog histokompatibilnog kompleksa (MHC) klase I i II i mešanje sa prepoznavanjem T – limfocita;
- izaziva metaboličke abnormalnosti kod monocita i limfocita;
- suzbijanjem antigen- specifičnih citotoksičnih T-limfocitnih funkcija koje rezultuju smanjenjem cirkularnih CD4+ ćelija i povećanjem CD8+ supresornih ćelija, što zauzvrat može dovesti do globalnog oštećenja ćelija.

2.2 BAKTERIJE UKLJUČENE U PATOGENEZU PARODONTOPATIJE

U etiopatogenezi oboljenja parodontcijuma bitni su gram negativni anaerobni bacili. Vrste koje pripadaju rodovima: *Actinobacillus*, *Eikenella*, *Porphyromonas* i *Prevotellae* kolonizuju mukozne površine, digestivnog trakta, gornjeg respiratornog trakta i urogenitalnog trakta žena. Odgovorni su za nastanak parodontopatija (Samaranayare, 2002), a svoju patogenost mogu da ispolje i u udaljenim organima, pa se njihovo dokazivanje smatra značajnim za dijagnostiku i adekvatno lečenje.

Paropatogenima se danas smatra približno desetak bakterija. Tu spadaju pre svega gram negativne bakterije: *Porphyromonas gingivalis* (P.g), *Tannerella forsythensis* (T.f), *Prevotella intermedia* (P.i) i *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.g).

Gram pozitivne bakterije imaju jedan debeli ćelijski zid, jednu vrstu velikog mrežastog molekula, bez početka i kraja ("sacculum"). U njoj kao antigeni deluju pre svega teikonske kiseline i proteini, koji prominiraju iz mureinskog sloja. Penicilini zaustavljaju ili degradiraju gram pozitivnu bakterijsku ćeliju tako što prekidaju sintezu ćelijskog zida. Blokiranjem poprečnih veza polisaharidnih lanaca. Gram + i Gram – bakterijama zajednička je citoplazma ograničena plazma membranom (dvostruka fosfolipdna membrana) i mureinski omotač (peptido-glikan) koji bakteriskoj ćeliji daje čvrstoću.

Kod gram – bakterija on ima nekoliko slojeva. Ovim bakterijama svojstvena je spoljna membrana, posebno njen površinski sloj, vrlo je složena. U njoj je utopljen endotoksin LPS. Kod klasične infekcije, koja je u skladu sa postulatima Henlea i Kocha domaćinove odbrambene barijere bivaju srušene specifičnom, vrlo virulentnom bakterijom. Ona se u tkivu umnožava i u domaćinovom organizmu izaziva tipične znake bolesti. Tipične infektivne bolesti su : TBC, šarlah itd.

Parodontopatija nije klasična infekcija, ona spada u oportunistički tip infekcije. Oportunistički mikroorganizmi su patogeni samo u odbrambeno oslabljenom domaćinu. Često su to normalni stanovnici saprofitne flore, te domaćinu obično ne nanose štetu.

U određenim situacijama : smanjena otpornost, imunosupresija-može doći do selektivnog umnožavanja bakterija sa slabim faktorima virulencije, što dalje dovodi do oportunističke infekcije. Ovo ne zadovoljava Kochove postulate, već postulate Socranskog-utvrđene za parodontopatiju.

- Asocijacija : uzročnik se na aktivnim mestima mora naći u većem broju nego na neaktivnim.
- Eliminacija : uzročnika trebalo bi zaustaviti napredovanje bolesti
- Odgovor domaćina : ćelijski ili humoralni imuni odgovor morao bi dokazati specifičnu ulogu uzročnika u bolesti
- Faktor virulencije : uzročnik bi trebao posedovati faktore virulencije koji su važni za početak procesa

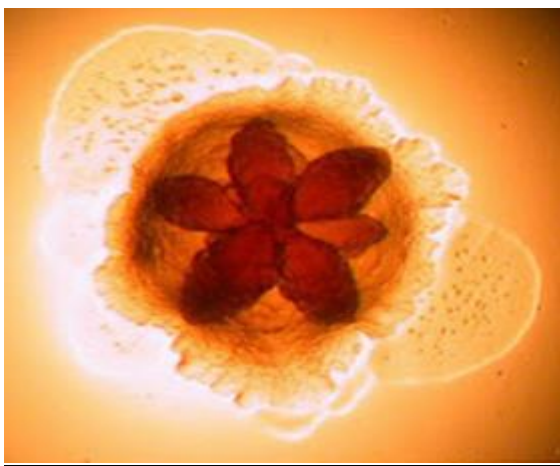
Aggregatibacter actinomycetemcomitans (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*) sferičnog je, ovalnog ili štapićastog oblika. Najčešće se javljaju bacilarni oblici, a mogu se javiti i kokoidni oblici, koji ponekad daju karakteristični izgled bacilima u vidu Morzeove azbuke. Ovaj mikroorganizam je udružen sa različitim infekcijama kod čoveka, uključujući infektivni endokardit, apsces mozga, teške forme parodontopatije. A.g. je Gram negativni fakultativni nepokretni kokobacil, koji poseduje fimbrije. Ovaj nepokretni anaerobni bacil raste na krvnom i čokoladnom agaru, gde formira kolonije tek posle inkubiranja od 48-72 časa. Od ugljenih hidrata razlaže glukozu i fruktozu do kiseline bez gasa. Metil-red i indol testiranjem dobijaju se pozitivni rezultati. Nitrate redukuje u nitrite. Većina sojeva je ureaza pozitivna. Kolonije su nehemolitične, glatke, delimično providne sa svetlim, nepravilnim ivicama. Spada u biohemijski aktivne bakterije (produkuje katalazu i fermentuje ugljene hidrate).

A.g. se normalno nalazi u dentalnom plaku, parodontalnim džepovima i gingivalnom sulkusu. Njegovo prisustvo u parodontalnim džepovima je povezano sa uznapredovalom, agresivnom parodontopatijom odraslih i lokalizovanom juvenilnom parodontopatijom.

Ovaj mikroorganizam stvara mnoge virulentne faktore : leukotoksin kao najvažniji, bakteriocin, inhibišući faktor hemotakse, citotoksični faktori, Fc vezujući protein, imunosupresivni faktori, lipopolisaharidne kolagenaze, fibroblast inhibitorni faktor, antibiotik rezistentne determinante, invazive i faktor inhibicije funkcije polimorfoneklearnih leukocita.

Leukotoksin iz A.g. može da uništi PMNL, makrofage i monocite iz periferne krvi kod ljudi i drugih vrsta, dok su ostali tipovi ćelija (endotelne, epitelne, eritrociti i trombociti) rezistentni na lizu. Leukotoksin ima destruktivni efekat na neutrofile,

monocyte i T-limfocite, i na taj način dovodi do lokalne imunosupresije u supragingivalnoj oblasti koja ima centralnu ulogu u razvoju parodontalnih lezija u juvenilnom parodontitisu. Zbog toga je ovaj leukotoksin ključni virulentni faktor, pored toga produkuje i agresivne enzime (kolagenazu i tripsin lajk proteazu), a svojom lizom oslobađa endotoksin koji takođe predstavlja vrlo moćan faktor virulencije zbog koga je ovaj mikroorganizam značajan paropatogen.



Slika 10. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (preuzeto iz Samaranayake LP. Essential microbiology for Dentistry. Philadelphia : Elsevier Ltd.; 2002.)

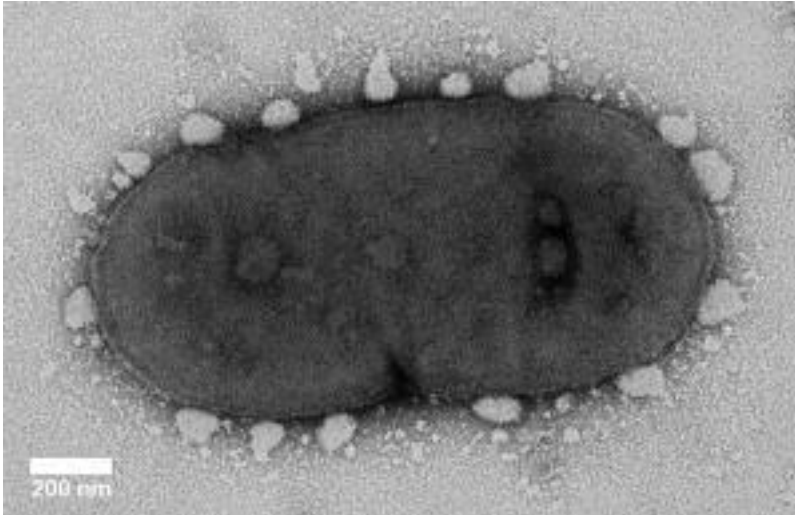
Porphyromonas

Porphyromonas gingivalis, je morfološki Gram negativan anaeroban bacil. Izoluje se iz usne duplje gde su prisutna oboljenja parodonticijuma i odgovoran je za parodontopatiju odraslih. Sve vrste poseduju pile posredstvom kojih adheriraju na tkiva parodonticijuma kao i za druge bakterije. Agresivan je parodontopatogen, koji produkuje virulentne faktore. Endotoksin aktivira sistem komplementa i omogućava nastanak hemotaktičnih faktora za mononuklearne fagocite i polimorfonukleare. Aktivacijom fagocita nastaje inflamacija uz prisustvo IL 1 i prostaglandina E koji dalje dovode do aktivacije osteoklasta koji resorbuju alveolarnu kost.

Supstance male molekulske mase - H_2S , amonijak, indol, masne kiseline su metabolički produkti ovih bakterija i ispoljavaju citotoksičnost prema leukocitima.

Glavni virulentni faktor ovog paropatogena je endotoksin (LPS) lipopolisaharid koji na domaćina ima dvojakog dejstvo :

- A) Toksično (putem svoje lipidne komponente, lipida A)
- B) Antigeno (preko O antigena)-specifičnog polisaharidnog lanca



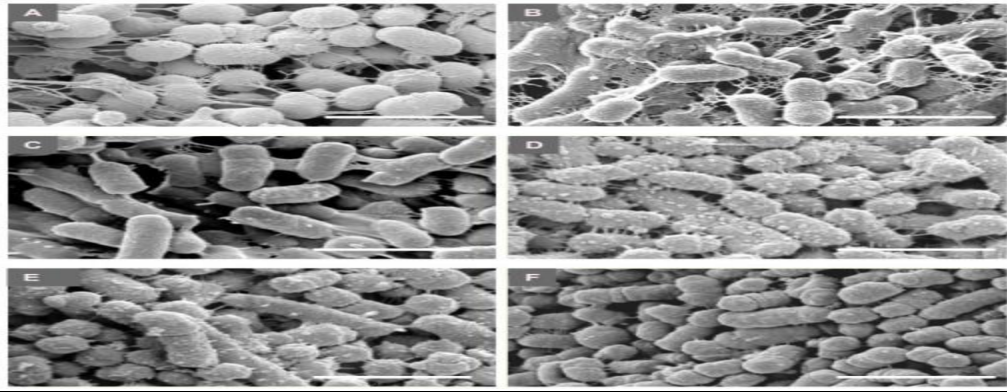
Slika 11. *Porphyromonas gingivalis* (Dennis Kuncel Microscopy 2007)

Ova bakterija ima sposobnost invazije, na taj način prodire u ćelije domaćina, te je tako sigurna od nespecifične imunološke odbrane-prve linije odbrane.

Još jedna značajna karakteristika ove bakterije je da u kontaktu sa epitelnim ćelijama domaćina stimuliše oslobađanje velikog broja ćelijskih enzima i enzima matriksa, npr. (ekstracelularne proteaze) koji redukuju domaćinov imuni odgovor. Što je dublji parodontalni džep to je veći prosečan broj ove bakterije.

Prevotella intermedia raniji naziv (*bacteroides melaninogenicus* subsp. *Intermedius*), je gram negativna bakterija koja naseljava usnu duplju, posebno mesta gde vladaju anaerobni uslovi, subgingivalni dentalni plak, nekrotični endodontski prostor.

Predominantna je kod različitih oblika gingivitisa i parodontopatija, kao i kod njihovih komplikacija.



Slika 12. *Prevotella intermedia* (Dennis Kuncel Microscopy 2007)

Tannerella forsythi, raniji naziv (*bacteroides forsythus*) gram negativni anaerobni bacil, naseljava duboke subgingivalne džepove i najčešći je uzročnik parodontalnih infekcija kod odraslih.



Slika 13. *Tannerella forsythia* (Dennis Kuncel Microscopy 2007)

2.3 VIRUSI UKLJUČENI U PATOGENEZU PARODONTOPATIJE

EPŠTAJN-BAROV virus spada u rod limfokriptovirusa, i u porodicu Herpesviridae. Genom čini dvolančana DNK sa terminalnim ponavljajućim sekvencama. Omotač je troslojan. Replikuje se u jedru, ćeliju napušta lizom ili egzocitozom. Karakterističan je po citopatogenom efektu na B limfocite. Uzročnik je infektivne mononukleoze i dovodi se u vezu sa nastankom Hodžkinove bolesti, nehodžkinovih limfoma, nazofaringealnog karcinoma i dr.

Rezervoar infekcije je čovek, prenosi se putem pljuvačke, katkad i transfuzijom ili

transplantacijom koštane srži. Kod jednom inficirane osobe virus ostaje doživotno. Blizak međusobni kontakt i ljubljenje imaju značaj u širenju infekcije.

Izoluje se iz pljuvačke, periferne krvi. Dokazuje se serološkim reakcijama: Pol-Bunelov test, ELISA test, indirektna imunoflorescencija.

Klasifikacija virusa

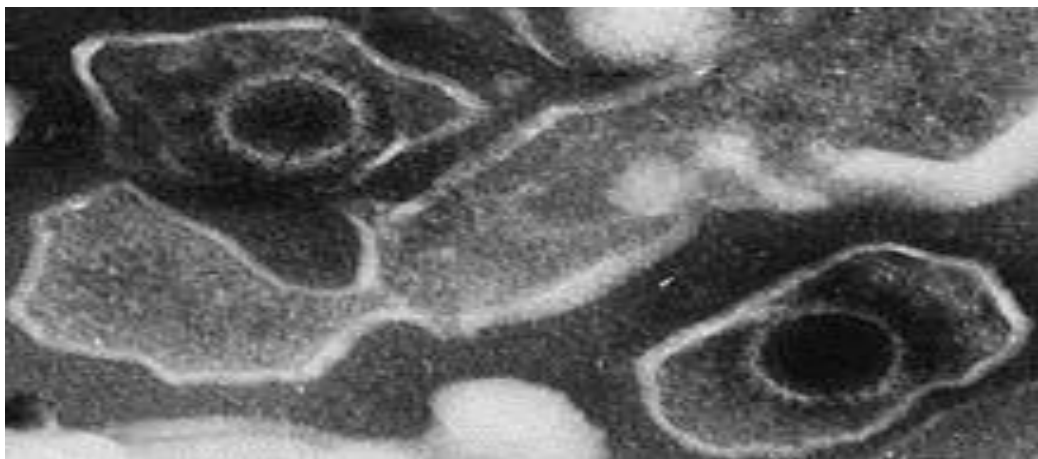
Grupa: I grupa (dsDNK)

porodica: Herpesviridae

potporodica: Gammaherpesvirinae

rod: Lymphocryptovirus

vrsta: Human herpesvirus 4 (HHV-4)



Slika 14. Epštajn Barov virus – EBV (Dennis Kuncel Microscopy 2007)

HERPES VIRUS TIP I

Virusna klasifikacija

Grupa: Group I (dsDNA)

Redr: Herpesvirales

Porodica: Herpesviridae

Potporodica: Alphaherpesvirinae

Rod: Simplexvirus

Vrste:

Herpes simplex virus 1 (HSV-1)

Herpes simplex virus 2 (HSV-2)

Herpes je infekcija izazvana Herpes simplex virusima, HSV1 i HSV2. Reč je o dva ista virusa koji se razlikuju po mestu manifestacije ali imaju sličnu kliničku sliku.. Način ulaska u organizam im je različit pa se tako HSV1 ili labijalni herpes dobija oralnim putem i manifestuje se najčešće u predelu lica (usta, nos) a HSV2 ili genitalni herpes se dobija polnim putem i stoga spada u polno prenosive bolesti a manifestuje se u području genitalnih organa.

Izvor infekcije je isključivo čovek. Infekciju takođe može preneti trudnica na dete, ređe preko posteljice a češće prilikom rođenja (tj. Pri prolasku novorođenčeta kroz porođajni kanal) što može izazvati teške posledice na novorođenče. Iz tog razloga se trudnicama koje su nosioci ovog virusa najčešće preporučuje porođaj putem carskog reza.

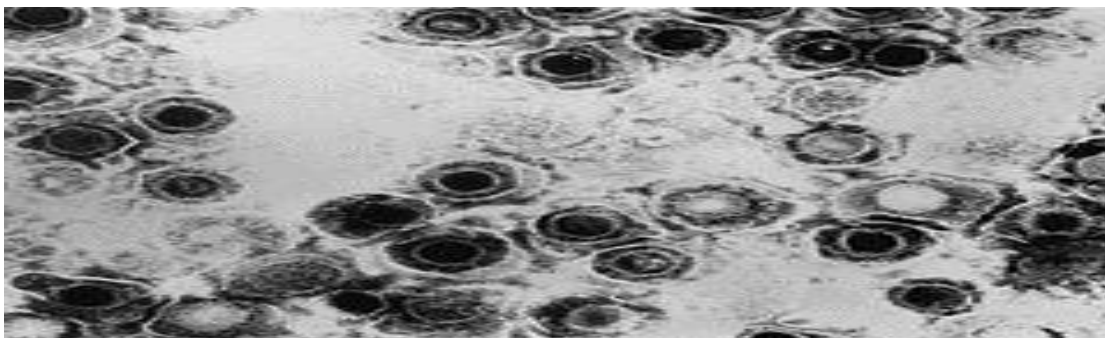
Znaci i simptomi :

HSV-1

Mali, bolni plikovi ispunjeni tečnošću oko usana ili ivice. Peckanje oko usta ili nosa, često nekoliko dana pre pojave plikova

- groznica
- gušobolja
- natečeni limfni čvorovi u vratu

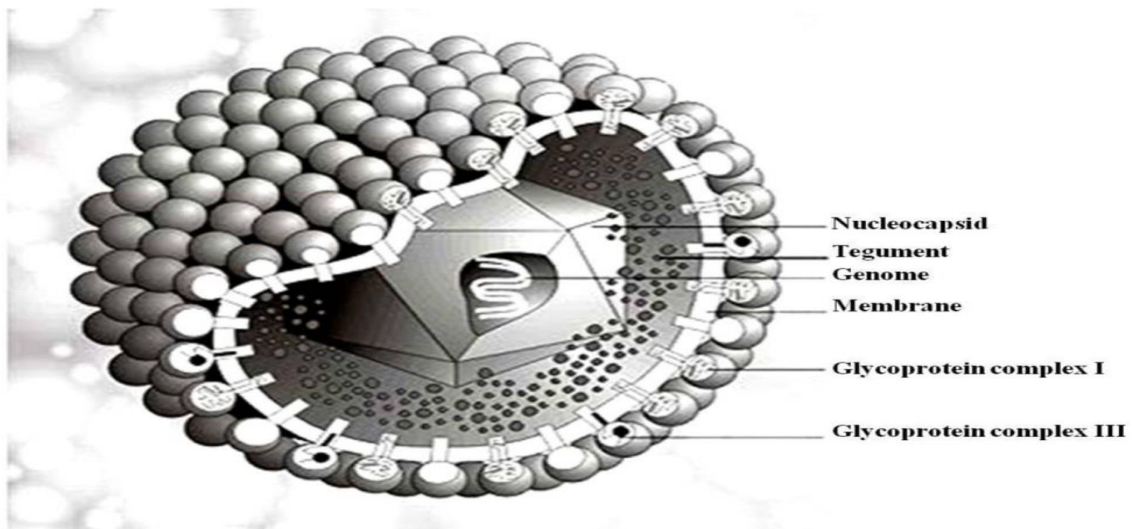
Istraživanja pokazuju da je do adolescencije 62% Srba zaraženo HSV-1. Do vremena kada su ljudi u svojim 60-im do 85% je zaraženo.



Slika 15. HERPES VIRUS (Dennis Kuncel Microscopy 2007)

HUMANI CITOMEGALOVIRUS - CMV

Humani citomegalovirus (HCMV, humani herpesvirus-5, HHV-5) spada u rod citomegalovirusa iz porodice Herpesviridae. Genom čini dvolančana DNK sa terminalnim ponavljajućim sekvencama. Omotač je troslojan. Replikuje se u jedru, ćeliju napušta lizom ili egzocitozom.



Slika 16. HCMV (preuzeto sa Perio Wiki)

Izvor zaraze mogu biti krv, semena tečnost, vaginalni iscedak, urin, pljuvačka i suze, a za prenos je neophodan bliski telesni kontakt.



Slika 17. Mikroskopski prikaz HCMV (Dennis Kuncel Microscopy 2007)

Klasifikacija virusa

Grupa: I grupa (dsDNK)
porodica: Herpesviridae
potporodica: "Betaherpesvirinae
rod: Cytomegalovirus
vrsta: Human cytomegalovirus

Izoluje se iz brisa usne duplje, urina, pljuvačke, cervikalnog brisa, uretralnog brisa, amnijske tečnosti, likvora. Dokazuje se imunoflorescijom, PCR-om, ELISA testom.

Infekcija kod odraslih

Vreme inkubacije nije sasvim poznato, a simptomi infekcije su nekarakteristični: telesna temperatura uz otok limfnih čvorova.

Virus se izlučuje pljuvačkom, i vrlo često duže vreme genitalnim iscetkom, odnosno urinom. Lečenje je simptomatsko, ne postoje specifični lekovi za ove virusne infekcije, a zbog blage kliničke slike, infekcija može da prođe i neprepoznata. Infekcija CMV-om deluje imunosupresivno (raste broj T supresorskih limfocita, oslabljene funkcije limfocita).

Simptomi kongenitalnog CMV sindroma su:

hepatosplenomegalija (uvećane jetra i slezina), trombocitopenija (smanjen broj trombocita), hiperbilirubinemija, hemolitička anemija, mikrocefalija, horioretinitis, encefalitis, atipična limfocitoza.

II POLAZNA HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA :

2.1 POLAZNA HIPOTEZA :

Za nastanak parodontopatije bakterije jesu esencijalne ali ne i dovoljne da dovedu do razvoja bolesti, herpes virusi, EBV i CMV mogu dati neke odgovore za bolje razumevanje mehanizama uključenih u degradaciju parodontalnih tkiva kao i posledičnih komplikacija.

2.2 CILJEVI ISTRAŽIVANJA :

1. Ispitati kvantitativno-kvalitativnu zastupljenost specifičnog bakterijskog genoma (*Porphyromonas gingivalis* (P.g), *Tannerella forsythensis* (T.f), *Prevotella intermedia* (P.i) i *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.g) kod komplikacija parodontopatije (ulcero- nekrozna parodontopatija i parodontalni apsces).
2. Ispitati kvantitativno-kvalitativnu zastupljenost specifičnog virusnog genoma Epštajn Barov virus (EBV), Humani Citomegalovirus (HCMV) i herpes simplex virus tip 1 (HSV-1) kod komplikacija parodontopatije (ulcero- nekrozna parodontopatija i parodontalni apsces).
3. Ispitati kvantitativno-kvalitativnu zastupljenost specifičnog virusnog genoma Epštajn Barov virus (EBV), Humani Citomegalovirus (HCMV) i herpes simplex virus tip 1 (HSV-1) kod pacijenata sa hroničnom parodontopatijom (HP)
4. Komparativna analiza dobijenih rezultata virusnog genoma eksperimentalne sa kontrolnom grupom
5. Ispitati kvantitativno-kvalitativnu zastupljenost specifičnog bakterijskog i virusnog genoma kod težih i lakših formi parodontalne bolesti.

III MATERIJAL I METODE

3.1. MATERIJAL

Materijal za analizu uzet je od ukupno 102 pacijenta. Eksperimentalnu grupu činila su 33 pacijenta sa ulcero-nekroznom parodontopatijom i 39 pacijenata sa parodontalnim apscesom. Kontrolnu grupu predstavljalo je 30 pacijenata sa hroničnom parodontopatijom klinički dijagnostikovanih na Klinici za parodontologiju i oralnu medicinu, Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Protokol istraživanja dobio je odobrenje od strane Etičkog komiteta Stomatološkog fakulteta u Beogradu.

Kriterijumi za isključenje iz studije bili su: dijagnostikovana opšta oboljenja (kardiovaskularna, respiratorna, bubrežna, maligna itd.), istorija ili trenutno prisustvo jakih sistemskih infekcija, sistemska antibiotska ili imunomodulatorna terapija u prethodna tri meseca, dugoročna terapija lekovima koji mogu uticati na stanje parodontijuma (npr. antiinflamatorni lekovi), trudnice, dojilje, manje od 20 zuba (ne računaju se treći molari), manje od tri zuba iz Ramfjordovog modela ispitivanja zuba. Svi bolesnici su potpisali pristanak o učešću u istraživanju. Pacijenti su svrstani u eksperimentalu grupu ukoliko se kliničkim pregledom uoče najmanje tri mesta sa dubinom sondiranja parodontalnog džepa ≥ 6 mm i nivom pripojnog epitela ≥ 4 mm u najmanje tri kvadranta. Kontrolnu grupu su činili pacijenti kod kojih je kliničkim pregledom ustanovljena dubina sondiranja džepa ≥ 4 mm, nivo pripojnog epitela ≥ 2 mm (Armitage 1999).

Uzorci za analizu uzeti su iz parodontalnog džepa. Uzorci su prikupljeni putem aplikacije sterilnog papirnog poena u parodontalni džep u trajanju od 10 - 60 sekundi. Nakon uzimanja biloškog materijala, papirni poeni su stavljeni u mikrotube, koje su zatim prenete na -20°C . Nakon odmrzavanja u svaku tubu dodato je 50 μl dejonizovane H_2O , a zatim je vodeni rastvor sa papirnim poenima prokuvan 10 minuta na 100°C . Tako izolovana bakterijska i virusna DNK koristi se za PCR reakciju

3.2 KLINIČKA ISPITIVANJA

3.2.1 INTRAORALNI PREGLED

Intraoralnim pregledom određivan je status zuba. U cilju postavljanja dijagnoze stepena inflamacije i destrukcije tkiva parodontijuma, kao i ocene nivoa oralne higijene, bili su korišćeni standardni epidemiološki kriterijumi:

• gingivalni indeks Löe-Silness (GI),
• Mühlemannov indeks krvarenja iz sulkusa (SBI),
• nivo pripojnog epitela (NPE),
• dubina parodontalnog džepa (DDŽ)

Pregled usne duplje bio je obavljen stomatološkim ogledalcetom i graduisanom parodontalnom sondom (XP 23/UNC-15, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA).

Gingivalni indeks (Loe–Silness) određivan je na svim prisutnim zubima na četiri tačke (oralnoj, vestibularnoj, mezijalnoj i distalnoj) prema sledećoj numeričkoj skali:

0 – odsustvo inflamacije;

1 - blaga inflamacija, minimalna promena boje gingive i neznatan otok;

2 – umerena inflamacija, gingiva crvene boje, edematozna i krvari pri blagom sondiranju;

3 – jaka inflamacija, edem i hiperemija gingive jako izraženi uz spontano krvarenje.

Mühlemann-ov indeks krvarenja iz sulkusa (SBI):

0 – nema krvarenja nakon sondiranja, gingiva je normalne boje i oblika;

1 – krvarenje nakon sondiranja, gingiva nije promenila boju i oblik;

2 – krvarenje nakon sondiranja, postoji inflamacija sa promenom boje gingive, dok oblik nije izmenjen;

3 – krvarenje nakon sondiranja, postoji promena boje i blag otok gingive;

4 – krvarenje nakon sondiranja, promena boje i izražen otok gingive;

5 - krvarenje na najmanji dodir, kao i spontano krvarenje iz sulkusa.

Gingiva je promenila boju, otok je veoma izražen, a mogu postojati i ulceracije na gingivi.

Dubina parodontalnog džepa (DPDŽ), nivo pripojnog epitela (NPE), i nivo ivice gingive (NIG) su mereni na šest tačaka na svakom prisutnom zubu, i to:

Na vestibularnoj površini:

- mezijalno,
- sredina vestibularne površine,
- distalno.

Na oralnoj površini:

- mezijalno,
- sredina oralne površine,
- distalno.

Dubina parodontalnog džepa (DPDŽ) je rastojanje između ivice gingive i dna parodontalnog džepa (izraženo u milimetrima).

Nivo pripojnog epitela (NPE) se određuje merenjem rastojanja od cementno-gleđne granice do dna parodontalnog džepa (izraženo u milimetrima).

Nivo ivice gingive (NIG) se određuje merenjem rastojanja od cementno-gleđne granice do ivice slobodne gingive (izražava se u milimetrima).

Način određivanja NPE zavisi od nivoa ivice gingive. Ako je prisutna recesija, ova vrednost se direktno očitava. U slučaju da inflamirano tkivo gingive prekriva cementno-gleđnu granicu, tada se vrednost dobija po sledećoj formuli:

$$\text{NPE} = \text{DPDŽ} - \text{NIG}$$

Prisutni parodontalni džepovi podeljeni su u tri grupe, na osnovu kojih je izvršena gradacija stepena oštećenja parodontalnih tkiva:

- (1) 1 do 3 mm dubine (normalan nalaz);
- (2) 4 do 6 mm dubine (umerena parodontopatija);
- (3) ≥ 6 mm dubine (uznapredovala parodontopatija)

Formiranje grupa pacijenata u odnosu na dubinu parodontalnog džepa: U odnosu na dubinu parodontalnih džepova pacijenti su podjeljeni na tri grupe:

- (1) 0 – 3mm – zdrav parodontcijum
- (2) 3.1 – 6mm – blaga do srednje teška parodontopatija (plitki džep)
- (3) >6.1mm – teška parodontopatija (duboki džep)

Formiranje grupa pacijenata u odnosu na stepen inflamacije gingive: prema vrednostima merenja gingivalnog indeksa po Loë–Silnessu, pacijenti su prema stepenu inflamacije gingive podjeljeni na tri grupe:

- (1) 0.1 - 1.0 – blaga
- (2) 1.1 - 2.0 – srednja
- (3) 2.1 - 3.0 – teška

Formiranje grupa pacijenata u odnosu na stepen krvarenja gingive: prema vrednostima Mühlemann-vog indeksa krvarenja iz gingivalnog sulkusa, pacijenti su takođe podjeljeni u tri grupe:

- (1) 0.1 - 1.0 – blaga
- (2) 1.1 - 3.0 - srednja
- (3) 2.1 - 5.0 – teška



EVIDENCIONI KARTON

Broj

Grupa

- Kontrolna (hronična parodontopatija)
- Eksperimentalna (komplikacije parodontopatije)

Generalije	
Ime i prezime	
Pol	m <input type="checkbox"/> ž <input type="checkbox"/>
Datum rođenja	
Zanimanje, zaposlenje	
Kontakt telefon	

Kriterijumi za isključenje iz studije

- Opšta oboljenja (kardiovaskularna, respiratona, maligna, oboljenja bubrega, jetre, infekcije, reuma i dr)
- Antibiotici u prethodna tri meseca
- Imunomodulatorni lekovi u prethodna tri meseca
- Menstruacija, trudnoća, dojenje
- Svakodnevna upotreba oralnih antiseptika
- Manje od 20 zuba
- Terapija parodontopatije u prethodnih 1,5 godine
- Manje od 3 zuba iz Ramfjordovog uzoračkog modela
- Prisustvo bilo kog oralnog oboljenja sem karijesa i parodontopatije

Lična anamneza:

Alergije	da	ne
Anemije	da	ne
Pušenje cigara	da	ne
Rekurentni herpes	da	ne

KLINIČKI PREGLED

	16		21		24					
GI										
SBI										
NPE										
DDŽ										
							44	41	36	

Prisustvo DNK

- Da
- Ne

Broj pacijenta	Pol pacijenta	Grupa	P.g.	T.f.	P.i.	A.g.	HSV-1	EBV	HCMV

Grupa : ulcero-nekrozna parodontopatija (U)

Parodontalni apsces (P.a)

Hronična parodontopatija (H)

Datum

Uzorke uzeo

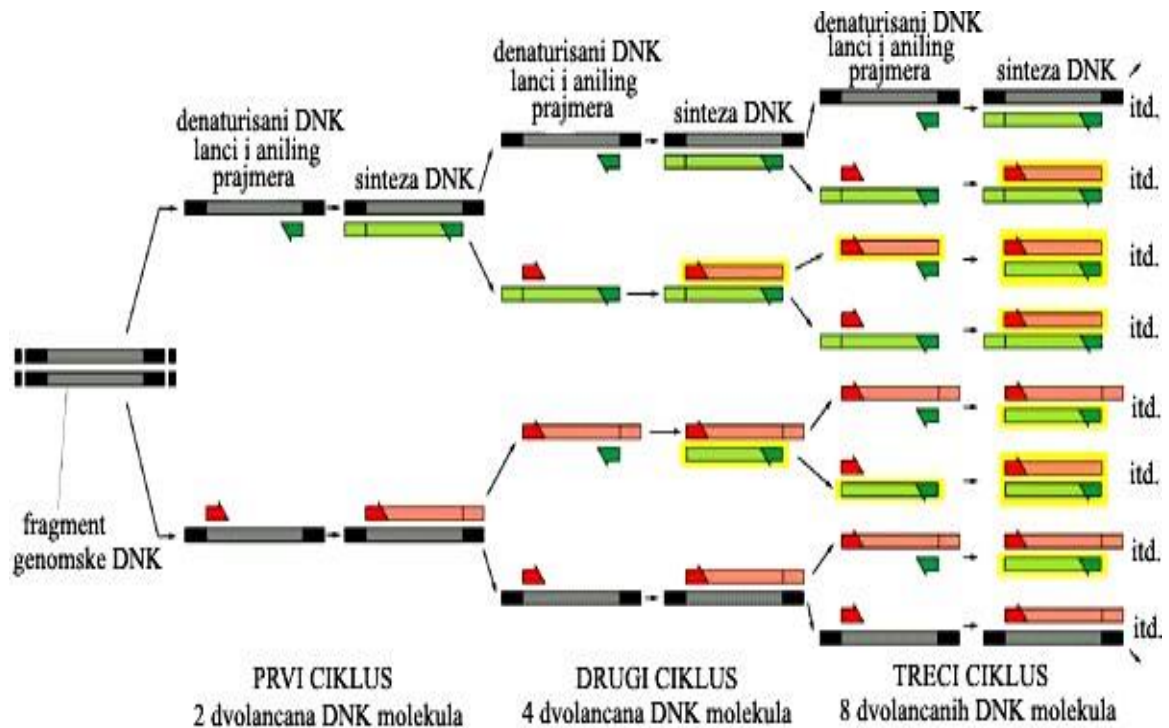
3.3 METODE

U ovom radu u cilju identifikacije mikroorganizama, korišćena je molekularno-genetička metoda, lančana reakcija polimeraze - PCR.

PCR reakcija predstavlja "in vitro" amplifikaciju unapred određenog fragmenta DNK, putem korišćenja para oligonukleotida (prajmera) koji ograničavaju ciljnu sekvencu, nukleotida, jona Mg^{2+} i termostabilnog enzima Taq polimeraza.

Umnožavanje ciljne sekvence u 10^9 kopija, omogućeno je smenom procesa denaturacije DNK na $94-95^{\circ}C$, hibridizacije prajmera za granične regione ciljne sekvence na $55-60^{\circ}C$ i elongacije novosintetisanih lanaca pod kontrolom Taq polimeraze na $72^{\circ}C$. Smena procesa denaturacije, hibridizacije i elongacije odvija se u određenim vremenskim intervalima, pod definisanim temperaturnim uslovima, kroz veći broj ciklusa koji se ponavljaju (od 35 do 40).

PCR Komponente	finalna koncentracija
10x PCR pufer	1x
25 mM Mg Cl ₂	2,5 mM
dNTP	200 μM
Forward primer	5 μM
Reverse primer	5 μM
Taq polimeraza	1U
DNA	4 μl
Finalna zapremina	25 μl



Slika 18. Šema umnožavanja fragmenta DNK u lančanoj reakciji polimerizacije

Sekvence prajmera korišćenih za amplifikaciju bakterija i virusa, dužine PCR produkata i temperaturni profil pod kojim se odvijala PCR reakcija, dati su u Tabelama 4 i 5.

Primenom dupleks PCR reakcije, simultano je analizirano prisustvo genoma *Porphyromonas gingivalis* i *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, odnosno *Prevotella intermedia* i *Tannerella forsythia*. U svakoj od dupleks PCR reakcija, umesto dva para prajmera, korišćen je univerzalni „forward“ prajmer za 16s rRNK (*E. coli*.) i dva „reverse“ prajmera, sa ciljem da se umnože delovi gena specifičnih za svaku analiziranu bakterijsku vrstu.

Preciznije, univerzalni „forward“ prajmer hibridizuje sa visoko konzerviranim regionom 16s rRNK gena, *E. coli*, dok se reversni prajmeri, *T. forsythia* i *P. intermedia*, vezuju za hipervarijabilne regiona rRNK gena analiziranih bakterija. U slučaju *P. gingivalis* reversni prajmer hibridizuje u okviru gena za fimbrije, dok se kod *A. actinomycetemcomitans* vezuje za sekvencu gena za leukotoksin.

Tabela 4. Sekvence prajmera i dužine PCR produkata

<i>Prajmeri</i>	<i>Veličina (bp)</i>
Univerzalni, 16S rDNK 5' AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG 3'	
<i>Porphyromonas gingivalis</i> 5' CAA TAC TCG TAT CGC CCG TTA TTC 3'	400
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> 5' CAC TTA AAG GTC CGC CTA CGT GC 3'	600
<i>Tannerella forsythia</i> 5' GTA GAG CTT ACA CTA TAT CGC AAA CTC CTA 3'	840
<i>Prevotella intermedia</i> 5' GTT GCG TGC ACT CAA GTC CGC C 3'	660
CMV 5' CCA AGC GGC CTC TGA TAA CCA AGC C 3' 5' CAG CAC CAT CCT CCT CTT CCT CTG G 3'	435
EBV 5' GGC TGG TGT CAC CTG TGT TA 3' 5' CCT TAG GAG GAA CAA GTC CC 3'	239
HSV-1 5' ATACCGACG ATA TGC GAC CT 3' 5' TTA TTG CCG TCA TAG CGC GG 3'	110

Tabela. 5 Temperaturni profili PCR reakcija analiziranih mikroorganizama

bakterije	CMV	EBV	HSV-1
95 °C - 3 min.	95 °C - 3 min.	94 °C - 3 min.	95 °C - 3 min.
95 °C - 1 min.	95 °C - 1 min.	94 °C - 1,5 min.	95 °C - 1 min.
55 °C - 1 min.	58 °C - 1 min.	60 °C - 45 sec.	52 °C - 1 min.
72 °C - 1,5 min.	72 °C - 1,5 min.		72 °C - 1,5 min.
x 35 ciklusa	x 35 ciklusa	x 40 ciklusa	x 35 ciklusa
72 °C - 7 min.	72 °C - 7 min.	72 °C - 7 min.	72 °C - 7 min.

3.4 PCR AMPLIFIKACIJA

PCR predstavlja in vitro amplifikaciju ciljnog fragmenta DNK.

Prednost PCR-a nad ostalim metodama je u tome što zahteva minimalnu količinu materijala i omogućava amplifikaciju ciljnog segmenta DNK do milijardu puta što je sasvim dovoljno za njegovu detekciju i kao i druge analize. PCR je izuzetno specifična i senzitivna metoda, teorijski je moguće dokazati prisustvo samo jedne bakterije u uzorku. Detekcija bakterija moguća je za nekoliko sati u odnosu na vreme potrebno za uzgoj kultura koje iznosi od nekoliko dana do nekoliko sedmica. Osnovni princip PCR amplifikacije određenog segmenta DNK molekula predstavlja imitaciju replikacije koja se normalno odigrava u svim živim organizmima.

Replikacija je proces u kome se od jednog molekula DNK dobijaju dva nova, identična molekula DNK. Svaki od lanaca DNK sadrži sekvencu nukleotida koja je apsolutno

komplementarna naspramnom lancu DNK. Pri replikaciji, svaki lanac služi kao matrica za sintezu novog komplementarnog lanca. Zahvaljujući tome genetička informacija u DNK biva precizno kopirana u novi lanac. U PCR-u imamo dirigovanu sintezu tačno željenog dela

DNK ograničenog prajmerima koje smo sami odabrali.



Slika 19. PCR aparat

3.4.1 ANALIZA PRODUKATA PCR-A

PCR produkti su analizirani vertikalnom elektroforezom na 8% poliakrilamidnom gelu (PAA). Poliakrilamidni gel je rezultat ko-polimerizacije akrilamida i bis-akrilamida (N-N'-metilen-bis-akrilamid).

Polimerizacija se aktivira dodavanjem TEMED-a (tetrametiletilendiamin) i APS (amonijum persulfata), pri čemu persulfatni slobodni radikali aktiviraju TEMED i samu polimerizacijugela. 15 µl PCR amplifikata naneto je na 8% PAA gel. Sa ciljem da se PCR produkti testiranih bakterija razdvoje na PAA gelu, primenjena je elektroforeza pri konstantnom naponu struje od 200 V, u trajanju od 60 minuta, u 1xTBE puferu za elektroforezu.

Za vizuelizaciju PCR produkata, koristi se etidijum bromid, koji interkalira između lanaca DNK molekula, i zatim fluorescira kada se osvetli UV svetlom na transiluminatoru.

8 % PAA gel

H ₂ O	4,2 ml
5 x TBE	1,4 ml
Akrilamid / Bis-akrilamid 30 %	1,4 ml
APS 10%	49 µl
TEMED	9,1 µl

3.5 STATISTIČKA ANALIZA

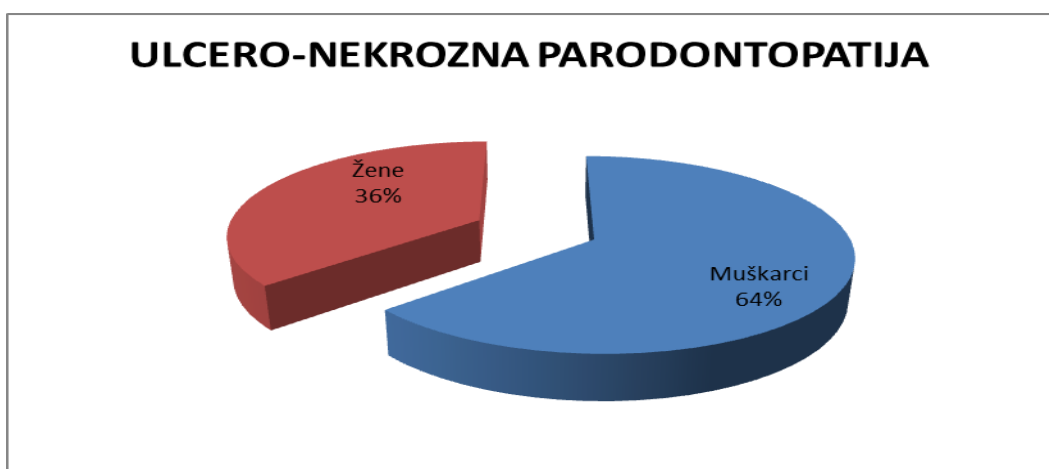
Statističkom analizom bili su obuhvaćeni svi parametri uključeni u klinička, laboratorijska i molekularno biološka ispitivanja. Baza podataka bila je formirana u programu Microsoft Excel 2000, analiza obavljena u programskom paketu (SPSS) za Windows, verzija 17. Statističke razlike između komplikacija parodontopatije i hronične parodontopatije testirane su Hi-kvadrat (χ^2) testom.

Statistička signifikantnost je prihvaćena ako je $p < 0.05$.

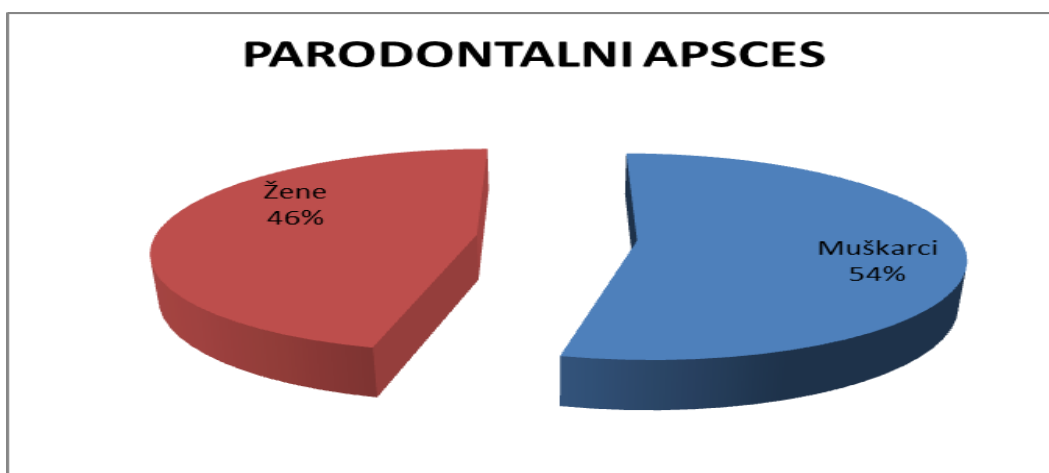
IV REZULTATI

4.1 KARAKTERISTIKE EKSPERIMENTALNE GRUPE

U eksperimentalnu grupu je bilo uključeno ukupno 72 bolesnika, četrdeset dva pacijenta muškog tj. 58% i trideset pacijenata ženskog pola tj. 42% .

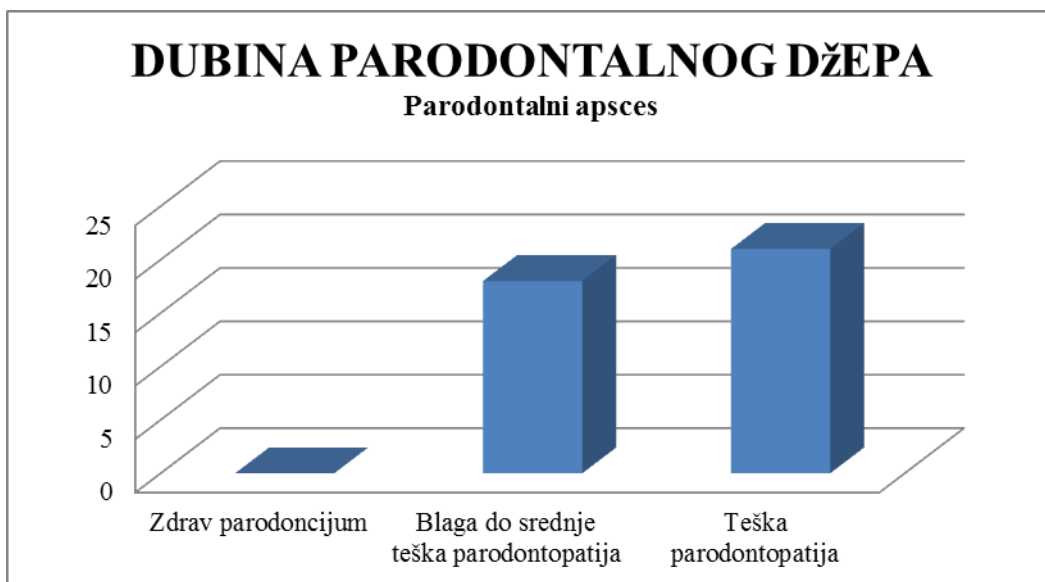


Slika 20. Distribucija po polovima (eksperimentalna grupa-ulcero nekrozna parodontopatija)

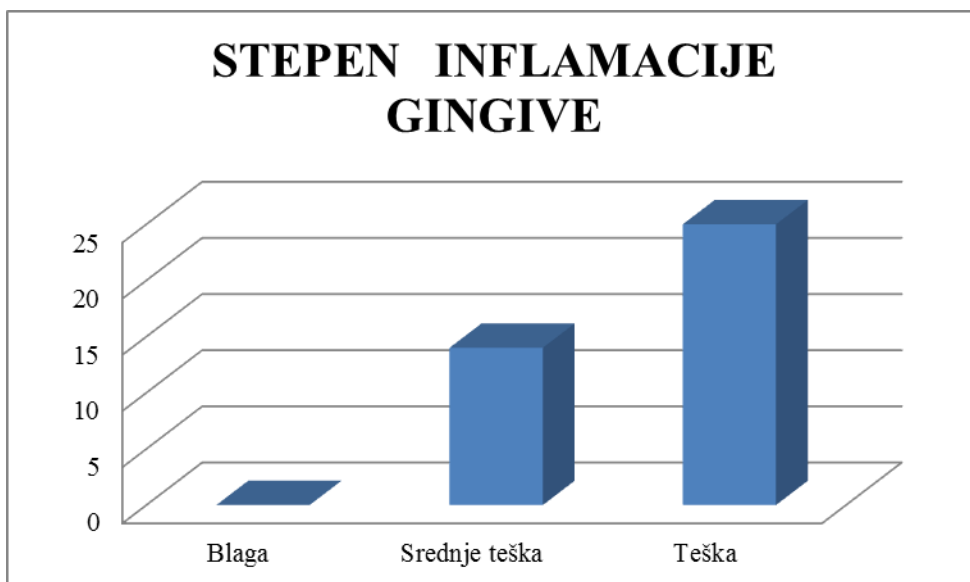


Slika 21. Distribucija po polovima (eksperimentalna grupa- parodontalni apsces)

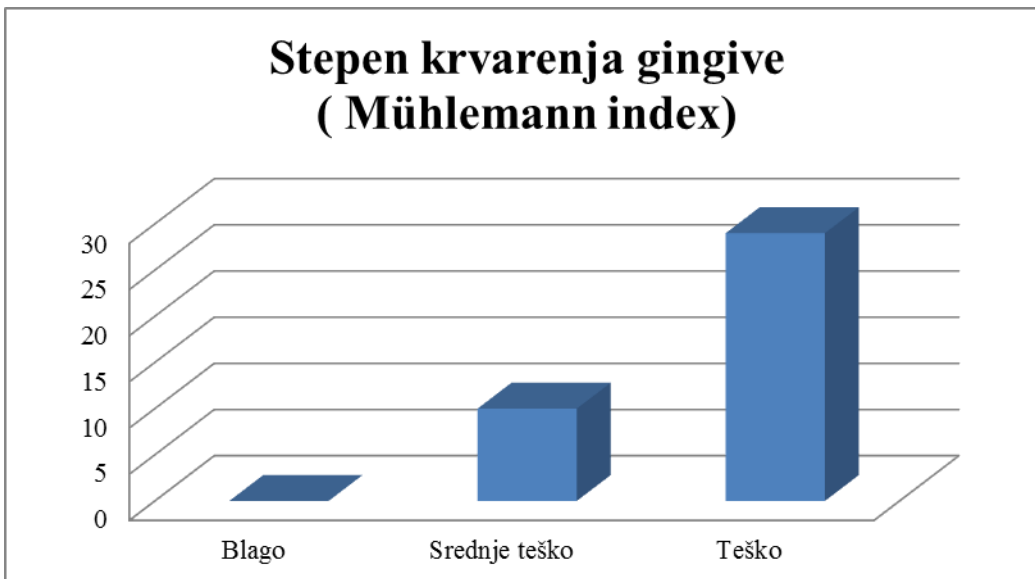
Rezultati kliničkih parodontoloških parametara kod eksperimentalne grupe (parodontalni apsces) (slika 22, 23, 24)



Slika 22. Dubina parodontalnog džepa kod parodontalnog apscesa

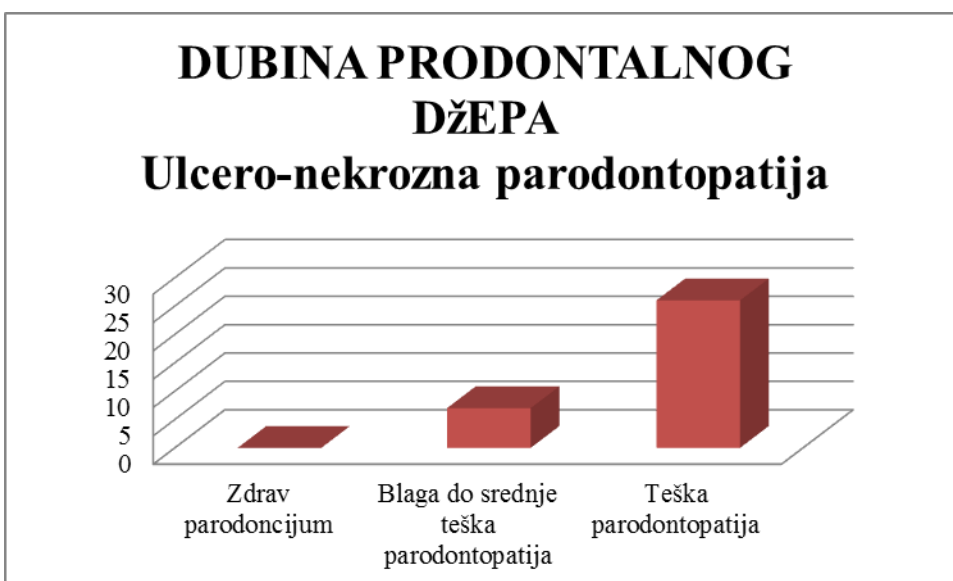


Slika 23. Stepenn inflamacije gingive kod parodontalnog apscesa

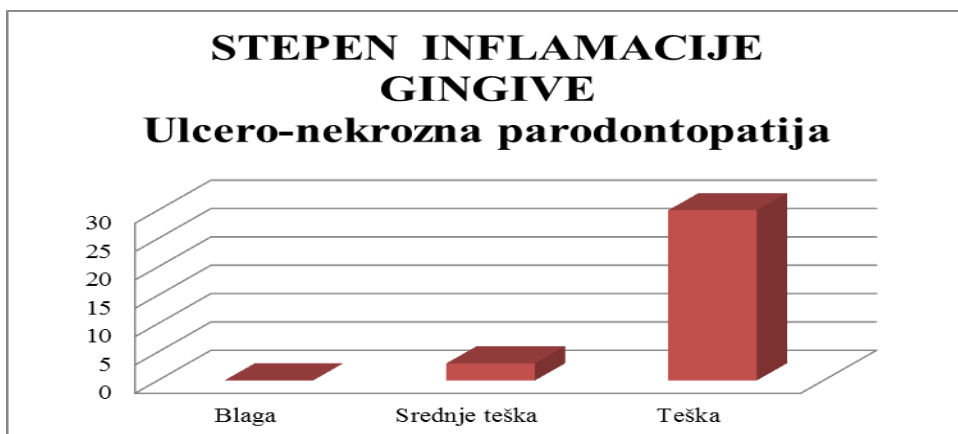


Slika 24. Stepen krvarenja gingive kod parodontalnog apscesa

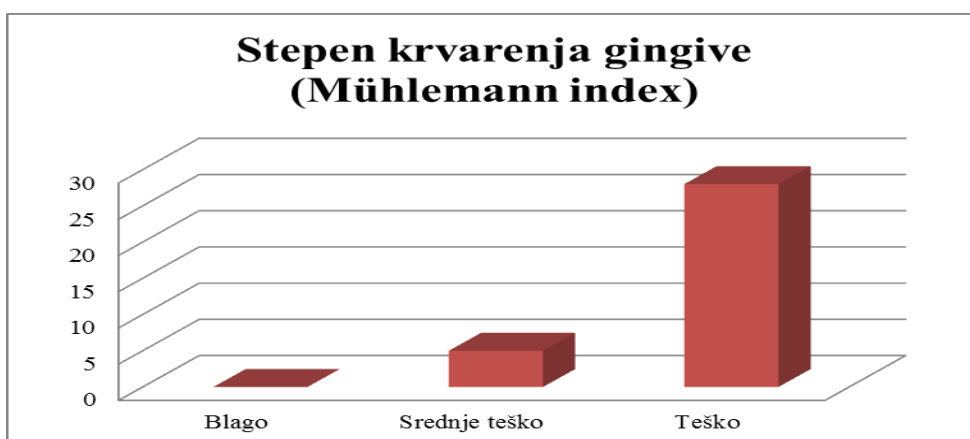
Rezultati kliničkih parodontoloških parametara kod eksperimentalne grupe (ulcero-nekrozna parodontopatija) (slika 25, 26, 27)



Slika 25. Dubina parodontalnog džepa kod ulceronekrozne parodontopatije



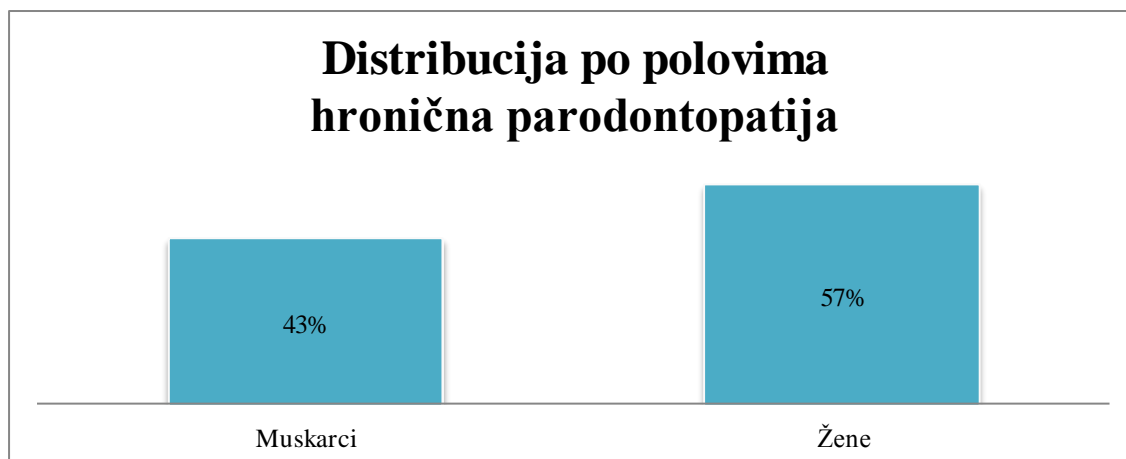
Slika 26. Stepen inflamacije gingive kod ulceronekrotne parodontopatije



Slika 27. Stepen krvarenja gingive kod ulceronekrotne parodontopatije

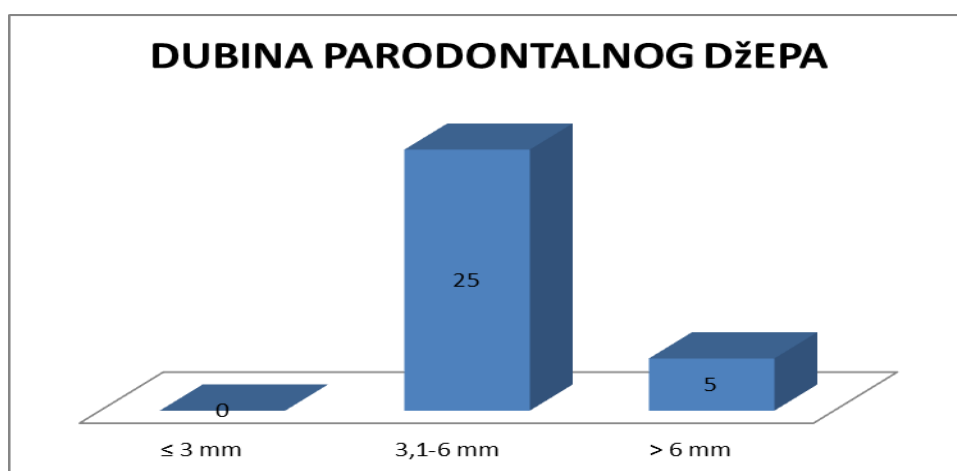
4.2 KARAKTERISTIKE KONTROLNE GRUPE

U studiju za hroničnu parodontopatiju je bilo uključeno 30 bolesnika, (17 Žena 57%, 13 Muškaraca 43%) (Slika 28)

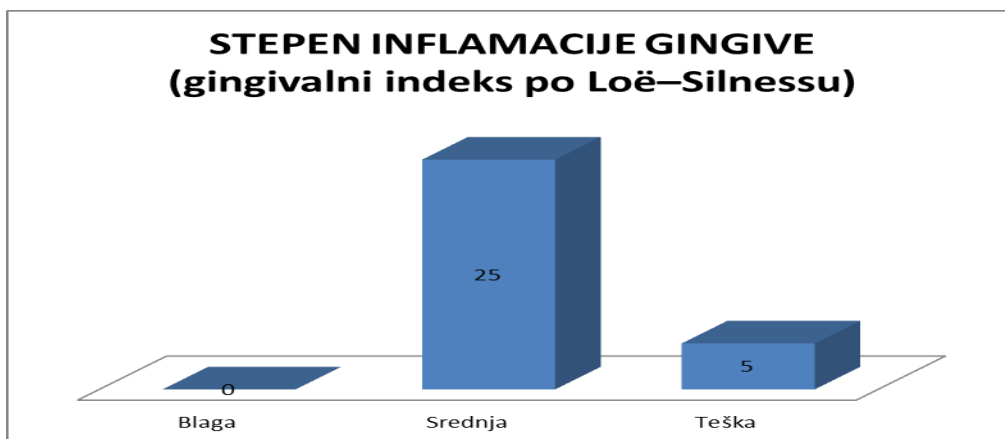


Slika 28. Karakteristike kontrolne grupe

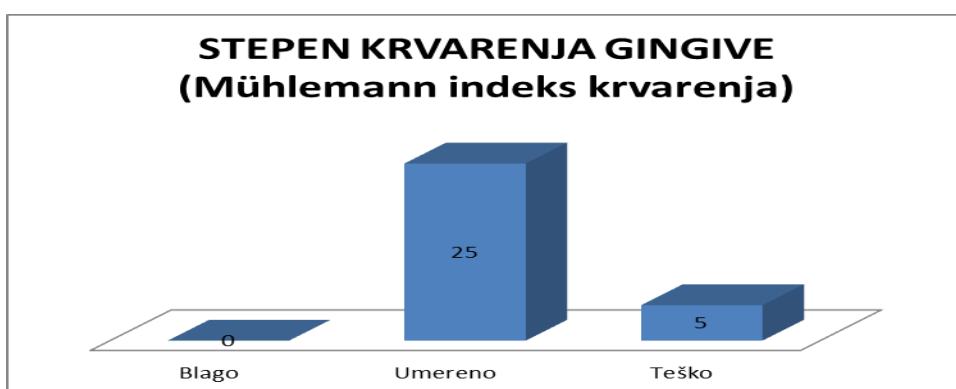
Rezultati kliničkih parodontoloških parametara kod kontrolne grupe (HP)
(slika 29, 30, 31)



Slika 29. Dubina parodontalnog džepa kod kontrolne grupe (HP)



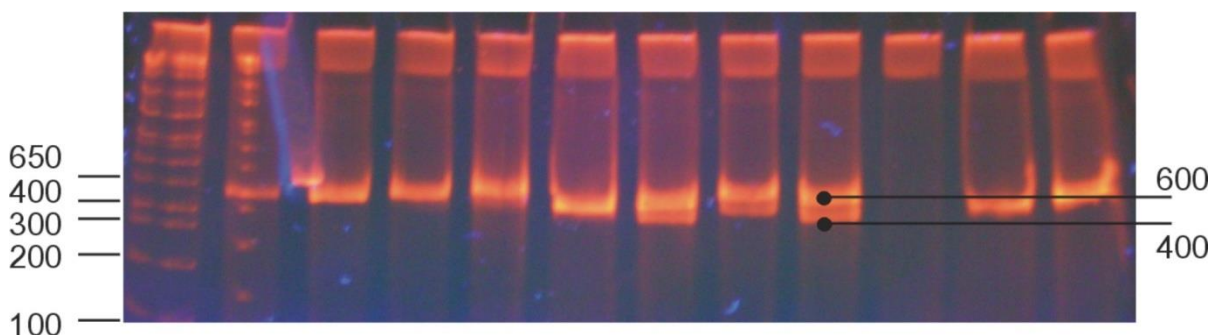
Slika 30. Stepen inflamacije gingive kod kontrolne grupe (HP)



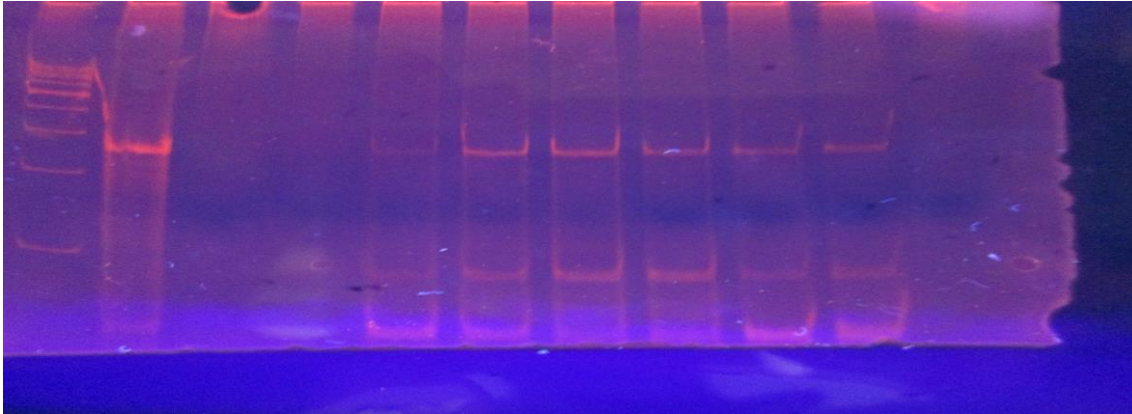
Slika 31. Stepen krvarenja gingive kod kontrolne grupe (HP)

IZOLACIJA BAKTERIJSKE I VIRUSNE DNK

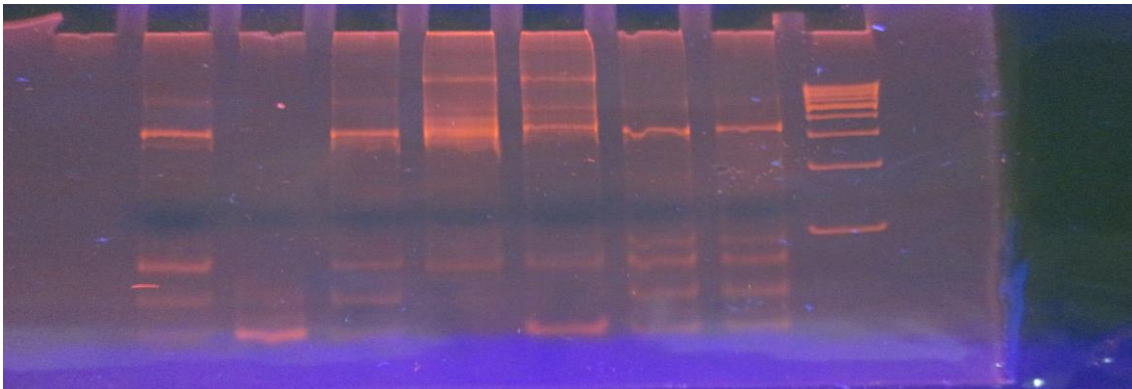
U obe grupe pacijenata, simultanom analizom PCR produkata na PAA gelu, dokazano je prisustvo/odsustvo genoma *P.gingivalis* i *A.actinomycetemcomitans*, odnosno *T. forsythia* i *P.intermedia*, putem vizuelizacije amplifikata specifične duzine (Slika 32).



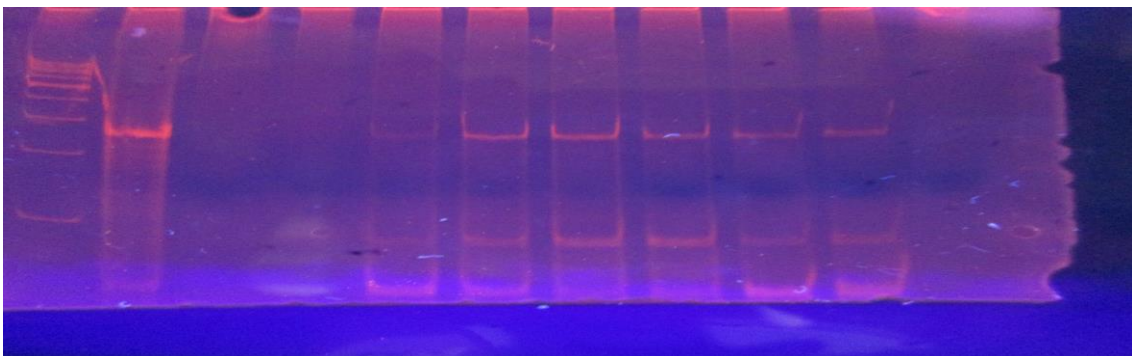
Slika 32. *P.gingivalis* - Elektroforeza PCR produkata – pozitivni uzorci na P.g (400bp)
A.actinomycetemcomitans- Elektroforeza PCR produkata – uzorci pozitivni na prisustvo Aa (600bp)



Slika 33. Elektroforeza PCR produkata. Pozitivni uzorci na P.i. (660 bp)



Slika 34. Elektroforeza PCR produkata. Pozitivni uzorci na CMV (435 bp)



Slika 35. Elektroforeza PCR produkata Pozitivni uzorci na EBV(239 bp)

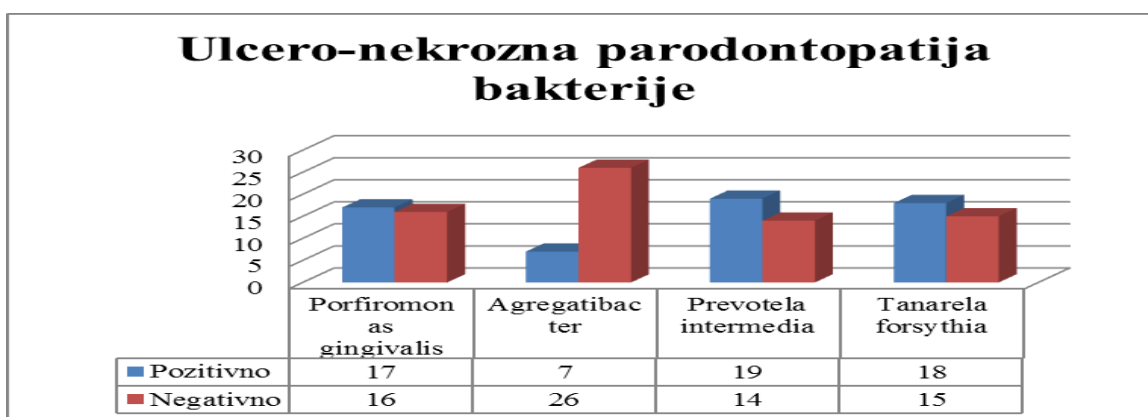
4.3 REZULTATI BAKTERIJSKO-VIRUSNOG GENOMA KOD ULCERO-NEKROZNE PARODONTOPATIJE

– U subgingivalnom dentalnom plaku kod ulcero-nekrozne parodontopatije (n 33) rezultati na ispitivane bakterije su sledeći (Slika 36) :

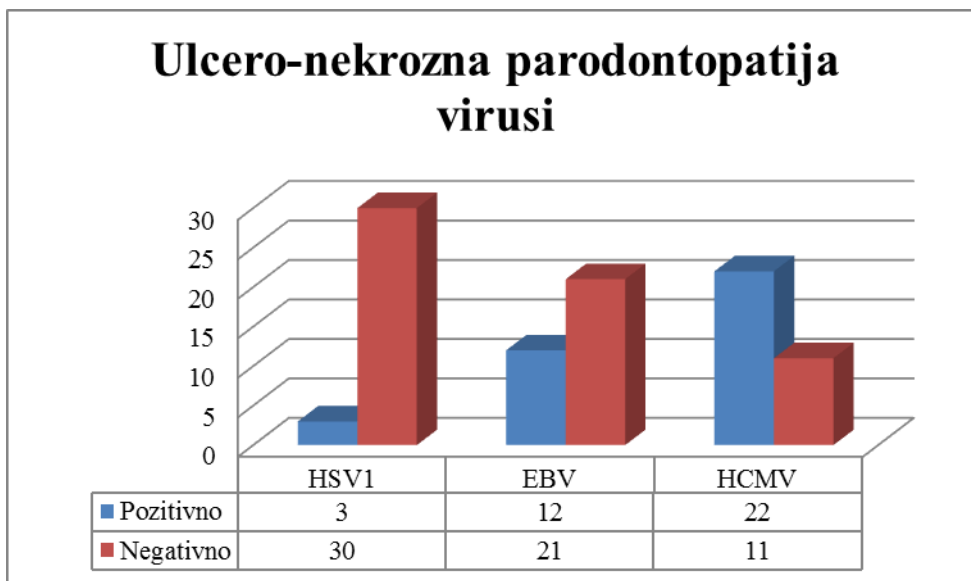
- pozitivan nalaz na P.g je prisutan kod sedamnaest od trideset-tri pacijenata (51.5%), negativan nalaz je prisutan kod šesnaest pacijenata (48.5%)
- pozitivan nalaz na A.g. je prisutan kod sedam od trideset-tri pacijenta (21.2%), negativan nalaz je prisutan kod dvadest-šest pacijenata (78.8%)
- pozitivan nalaz na P.i. je prisutan kod devetnaest od trideset-tri pacijenata (57.5%), negativan nalaz je prisutan kod četrnaest pacijenata (42.5 %)
- pozitivan nalaz na T.f. je prisutan kod osamnaest od trideset-tri pacijenata (54.5%), negativan nalaz je prisutan kod petnaest pacijenata (45.5%).

– U subgingivalnom dentalnom plaku kod ulcero-nekrozne parodontopatije (n 33) rezultati na ispitivane viruse su sledeći (Slika 37) :

- pozitivan nalaz na HSV-1 je prisutan kod tri od trideset-tri pacijenata (9.0%), negativan nalaz je prisutan kod trideset pacijenata (91%)
- pozitivan nalaz na EBV je prisutan kod dvanaest pacijenata od trideset-tri pacijenata (36.3%),negativan nalaz je prisutan kod dvadeset-jednog pacijenta (63.7%)
- pozitivan nalaz na HCMV je prisutan kod dvadeset dva od trideset-tri pacijenta (66.6%), negativan nalaz je prisutan kod jedanaest pacijenata (33.4%)



Slika 36. Zastupljenost ispitivanih parapatogena kod ulcero-nekrozne parodontopatije (n 33)

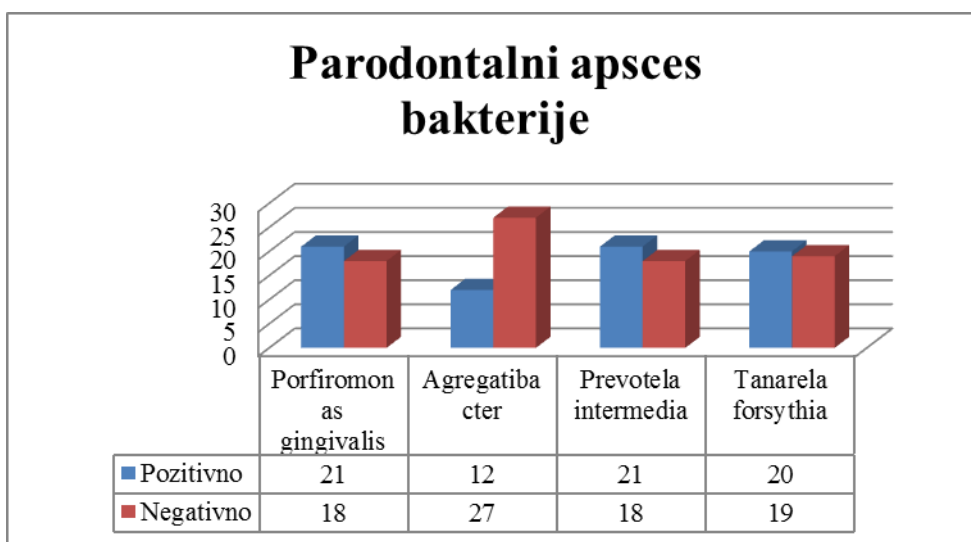


Slika 37. Zastupljenost ispitivanih virusa kod ulceronekrotne parodontopatije (n 33)

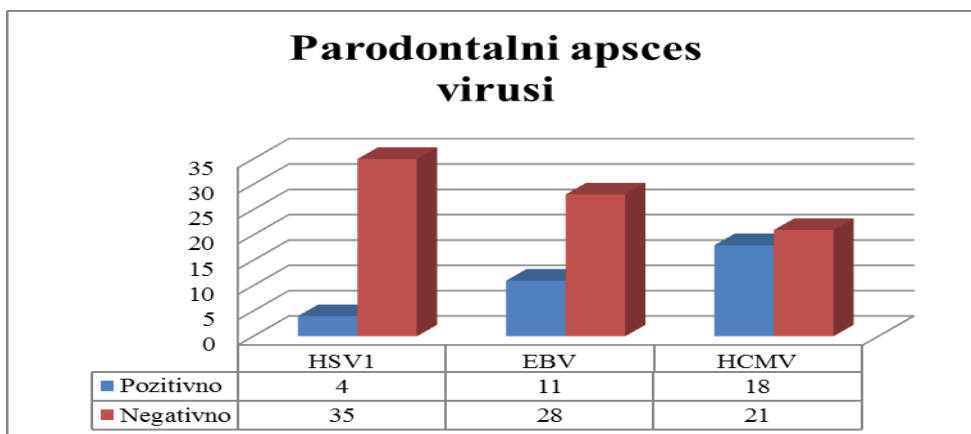
4.4 REZULTATI BAKTERIJSKO-VIRUSNOG GENOMA KOD PARODONTALNOG APSCESA

- U subgingivalnom dentalnom plaku kod parodontalnog apscesa (n 39) rezultati na ispitivane bakterije su sledeći (Slika 38) :
 - pozitivan nalaz na P.g. je prisutan kod dvadeset-jednog od trideset-devet pacijenata (53.8%), negativan nalaz je prisutan kod osamnaest pacijenata (46.2%)
 - pozitivan nalaz na A.g. je prisutan kod dvanaest od trideset-devet pacijenata (30.7%), negativan nalaz je prisutan kod dvadeset-sedam pacijenata (69.3%)
 - pozitivan nalaz na P.i. je prisutan kod dvadeset-jednog od trideset-devet pacijenata (53.8%), negativan nalaz je prisutan kod osamnaest pacijenata (46.2%)
 - pozitivan nalaz na T.f. je prisutan kod dvadeset od trideset-devet pacijenata (51.2%), negativan nalaz je prisutan kod devetnaest pacijenata (48.8%)

- U subgingivalnom dentalnom plaku kod parodontalnog apscesa (n 39) rezultati na ispitivane viruse su sledeći (Slika 39) :
 - pozitivan nalaz na HSV-1 je prisutan kod četiri od trideset-devet pacijenata (10,2%), negativan nalaz je prisutan kod trideset-pet pacijenata (89.8%)
 - pozitivan nalaz na EBV je prisutan kod jedanaest od trideset-devet pacijenata (28.2%), negativan nalaz je prisutan kod dvadeset-osam pacijenata (71.8%)
 - pozitivan nalaz na HCMV je prisutan kod osamnaest od trideset-devet pacijenata (46.1%), negativan nalaz je prisutan kod dvadeset-jednog pacijenta (53.9%)



Slika 38. Zastupljenost ispitivanih bakterija kod parodontalnog apscesa (n 39)

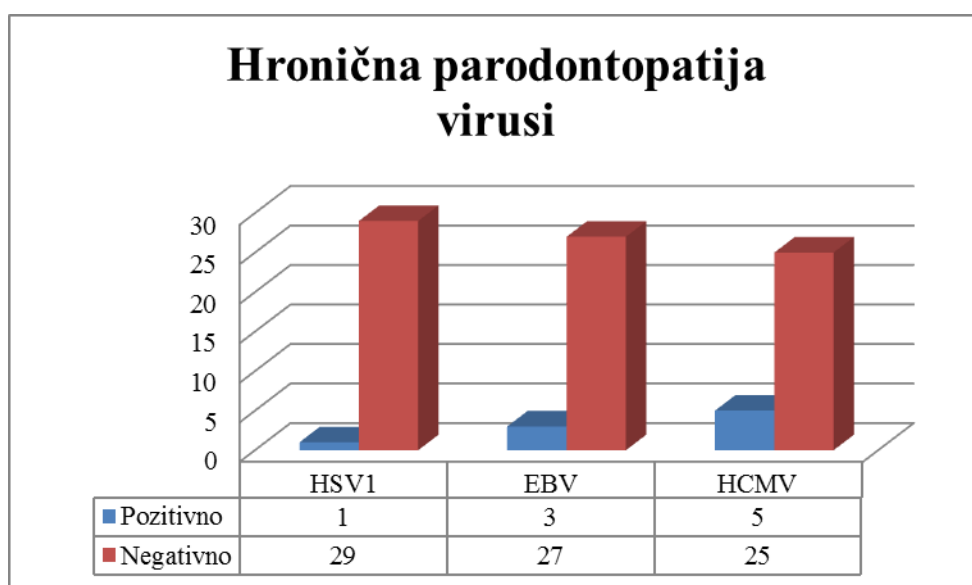


Slika 39. Zastupljenost ispitivanih virusa kod parodontalnog apscesa (n 39)

4.5 REZULTATI VIRUSNOG GENOMA KOD HRONIČNE PARODONTOPATIJE

-U subgingivalnom dentalnom plaku kod hronične parodontopatije (n 30) rezultati na ispitivane viruse su sledeći (Slika 40) :

- pozitivan nalaz na HSV-1 je prisutan kod jednog od trideset pacijenata (3.3%), negativan nalaz je prisutan kod dvadeset-devet pacijenata (96.7%)
- pozitivan nalaz na EBV je prisutan kod tri od trideset pacijenata (10%), negativan nalaz je prisutan kod dvadeset-sedam pacijenata (90%)
- pozitivan nalaz na HCMV je prisutan kod pet od trideset pacijenata (16.6%), negativan nalaz je prisutan kod dvadeset-pet pacijenata (83.4%)



Slika 40. Zastupljenost ispitivanih virusa kod hronične parodontopatije (n 30)

4.6 REZULTATI BAKTERIJSKO-VIRUSNOG GENOMA U KORELACIJI SA TEŽINOM PARODONTOPATIJE

Tabela 9. KORELACIJA IZMEĐU DUBINE PARODONTALNOG DŽEPA I
PRISUTNOG BAKTERIJSKO ODNOSNO VIRUSNOG GENOMA

PAROPATOGENI M.O.	<i>Dubina parodontalnog džepa 4-6 mm “umerena parodontopatija” (N=23)</i>	<i>Dubina parodontalnog džepa >6 mm “teška parodontopatija” (N=49)</i>	<i>P – vrednost</i>
Porfiromonas Gingivalis	8 (34, 8 %)	30 (61, 2%)	P < 0, 5+
Agregatibacter	7 (30, 4 %)	12 (24, 5 %)	P > 0, 5
Prevotella Intermedia	8 (34, 8 %)	32 (65, 3 %)	P < 0, 5
Tannerella Forsythia	6 (26, 1 %)	32 (65, 3 %)	P < 0, 5
HERPESVIRIDAE			
HSV-1	1 (2, 6 %)	7 (11, 7 %)	P > 0, 5
EBV	3 (7, 7 %)	23 (38, 3 %)	P < 0, 5
HCMV	4 (10, 3 %)	42 (70, 0 %)	P < 0, 5

Jedan od ciljeva ovog rada bio je i da se prikaže eventualna korelacija između dubine parodontalnog džepa tj. stepena parodontopatije i prisutnog bakterijsko-virusnog genoma.

Dobijeni rezultati, prikazani u tabeli broj 9. pokazuju statistički značajno prisustvo pojedinih oralnih paropatogena kao i određenih virusa iz familije herpesviridae u dubokim parodontalnim džepovima tj. u težim formama parodontopatije.

Što se samih paropatogenih mikroorganizama tiče, dobili smo sledeće rezultate :

Porfiromonas gingivalis- statistički značajno bio zastupljen u dubokim parodontalnim džepovima sa 61, 2 %, pozitivan nalaz kod trideset pacijenata u odnosu na plitke parodontalne džepove gdje je njegova zastupljenost 34, 8 % od ispitivanih uzoraka, pozitivan nalaz kod osam pacijenata, tako da je P vrednost manja od 0, 5.

Za *Agregatibacter* nismo dobili statistički značajnu razliku kod lakših i težih formi parodontopatije. Pozitivan nalaz ovog paropatogena u plitkim parodontalnim džepovima je bio kod 30, 4 % tj. nađen je kod sedam pacijenata, dok u dubokim parodontalnim džepovima pozitivan nalaz je bio kod 24, 5 % uzoraka, tj. nađen je kod dvanaest pacijenata, P- vrednost je veća od 0, 05 što pokazuje da nema razlike u zastupljenosti ovog mikroorganizma između plitkih i dubokih parodontalnih džepova.

Prevotella Intermedia- je statistički značajno češće bila zastupljena u dubokim parodontalnim džepovima sa 65, 3 % tj. pozitivan nalaz je bio kod trideset-dva pacijenta, dok je u plitkim parodontalnim džepovima bila zastupljena sa 34, 8 % od ispitivanih uzoraka, tj. osam pacijenata je imalo pozitivan nalaz .

Tannerella Forsythia – je statistički značajno češće bila zastupljena u dubokim parodontalnim džepovima sa 65, 3 %, tj. pozitivan nalaz je bio kod trideset-dva pacijenta, dok je u plitkim parodontalnim džepovima zastupljena sa 26, 1 %, tj. nađena je kod šest pacijenata, što nam ukazuje na češću zastupljenost ovog m.o. u težim formama parodontopatije.

HSV-1 – nismo dobili statistički značajnu razliku kod lakših i težih formi parodontopatije.

EBV – je statistički značajno više bio zastupljen u dubokim parodontalnim džepovima sa 38, 3 %, tj. pozitivan nalaz je bio kod devetnaest pacijenata, dok je u plitkim parodontalnim džepovima zastupljen sa 7, 7 % od ispitivanih uzoraka, tj. kod troje ispitanika nalaz je bio pozitivan.

HCMV – je statistički značajno češće bio zastupljen u dubokim parodontalnim džepovima sa visokih 70, 0 % ispitivanih uzoraka, tj. nađen je kod četrdeset-dva pacijenta dok je u plitkim parodontalnim džepovima zastupljen sa 10, 3 % od ispitivanih uzoraka, tj. pozitivan nalaz nađen je kod četiri pacijenta.

Tabela 10. KORELACIJA PAROPATOGENA I EPŠTAJN-BAROVOG VIRUSA U PLITKIM/DUBOKIM PARODONTALNIM DŽEPOVIMA

Bakterije/ EBV	Dubina p.džepa 4-6 mm (N=23)	Dubina p.džepa >6 mm (N=49)	P- vrednost
odsustvo bakterija odsustvo virusa	0 (0 %)	0 (0 %)	p > 0, 5
prisustvo bakterija odsustvo virusa	12 (52, 2 %)	29 (59, 2 %)	P > 0, 5
odsustvo bakterija prisustvo virusa	0 (0 %)	1 (2 %)	P > 0, 5
prisustvo bakterija prisustvo virusa	3 (13, 0 %)	19 (38, 8 %)	P < 0, 5

U tabeli broj 10. smo prikazali da postoji korelacija između paropatogenih m.o. i epštajn-barovog virusa kod dubokih parodontalnih džepova. Postoji statistički značajno prisustvo paropatogena i ovog virusa kod težih formi parodontopatije, tj. dubokih parodontalnih džepova. Istovremeno prisustvo paropatogena i ovog virusa je detektovano kod tri od ukupno dvadeset-tri pacijenta (13, 0 %) u plitkim, a kod devetnaest od ukupno četrdeset-devet pacijenata (38, 8 %) u dubokim parodontalnim džepovima.

Tabela 11. ZASTUPLJENOST PAROPATOGENA I HUMANOG -CITOMEGALO VIRUSA U PLITKIM/DUBOKIM PARODONTALNIM DŽEPOVIMA

Bakterije / HCMV	Dubina p.džepa 4-6 mm (N=23)	Dubina p.džepa >6 mm (N=49)	P- vrednost
odsustvo bakterija odsustvo virusa	0 (0 %)	0 (0 %)	P > 0,5
prisustvo bakterija odsustvo virusa	11 (47,8 %)	12 (24,5 %)	P > 0,5
odsustvo bakterija prisustvo virusa	0 (0 %)	1 (2 %)	P > 0,5
prisustvo bakterija prisustvo virusa	4 (17,4 %)	36 (73,5%)	P < 0,5

U tabeli broj 11. smo prikazali da postoji jaka zastupljenost kako paropatogena tako i humanog citomegalo-virusa kod dubokih parodontalnih džepova.

Postoji statistički značajno veća zastupljenost paropatogena i ovog virusa kod težih formi parodontopatije, u odnosu na blaže tj. kod dubokih parodontalnih džepova.

Istovremeno prisustvo paropatogena i ovog virusa je detektovano kod četiri od ukupno dvadeset-tri pacijenta (17,4 %) u plitkim, a u dubokim džepovima detektovano je (73,5 %) tj. trideset-šest od ukupno četrdeset-devet pacijenata.

Tabela 12. PRISUSTVO BAKTERIJA/VIRUSA U PLITKIM/DUBOKIM PARODONTALNIM DŽEPOVIMA

Bakterije/Virusi	Dubina p.džepa 4-6 mm (N=23)	Dubina p.džepa >6 mm (N=49)	P- vrednost
odsustvo bakterija odsustvo virusa	0 (0 %)	0 (0 %)	P > 0, 5
prisustvo bakterija odsustvo virusa	8 (34, 8 %)	4 (8, 2 %)	P > 0, 5
odsustvo bakterija prisustvo virusa	0 (0 %)	1 (2, 0 %)	P > 0, 5
prisustvo bakterija prisustvo virusa	7 (30, 4 %)	44 (89, 8 %)	P < 0, 5

U tabeli br.12 prikazali smo zbirno prisustvo paropatogena u sinergiji sa virusima iz familije herpesvirida kod plitkih i dubokih džepova.

Analizom rezultata smo dobili da je statistički značajno zbirno prisustvo bilo kog paropatogena i odgovarajućeg virusa u dubokim parodontalnim džepovima gde smo pozitivan nalaz imali u veoma visokom procentu 89, 8 % ispitivanih uzoraka tj.kod četrdeset-četiri od ukupno četrdeset-devet pacijenata.

Tabela 13. KORELACIJA KOMBINACIJE BAKTERIJA SA HCMV U PLITKIM I DUBOKIM DŽEPOVIMA

Kombinacije bakterija sa HCMV	Dubina p.džepa 4-6 mm (N=23)	Dubina p.džepa >6 mm (N=49)	P- vrednost
Porfiromonas gingivalis/ HCMV	2 (8, 7 %)	24 (49, 0 %)	P < 0, 5
Prevotella Intermedia/ HCMV	4 (17, 4 %)	24 (49, 0 %)	P < 0, 5
Tannerella Forsythia/HCMV	2 (8, 7 %)	21 (42, 9 %)	P < 0, 5

U tabeli br.13 smo prikazali da postoji statistički značajna korelacija između pojedinih parapatogenih m.o. i humanog citomegalo-virusa kod težih formi parodontopatije. Porfiromonas gingivalis u korelaciji sa HCMV virusom u dubokim parodontalnim džepovima prisutan pozitivan nalaz bio je kod 49, 0 % uzoraka tj. pozitivan nalaz je nađen kod dvadeset-cetiri pacijenata, u plitkim p.džepovima pozitivan nalaz je kod 8, 7 % ispitivanih uzoraka, tj.pozitivan nalaz nađen kod dva pacijenta. Prevotella intermedia u korelaciji sa HCMV virusom u dubokim parodontalnim džepovima prisutan pozitivan nalaz bio je kod 49, 0 % uzoraka, tj. pozitivan nalaz je nađen kod dvadeset-četiri pacijenta u plitkim p.džepovima pozitivan nalaz je kod 17, 4 % ispitivanih uzoraka, tj. pozitivan nalaz nađen kod pet pacijenata . Tannerella forsythia u korelaciji sa HCMV virusom u dubokim parodontalnim džepovima prisutan pozitivan nalaz bio je kod 42, 9% uzoraka, tj.pozitivan nalaz nađen kod dvadeset- dva pacijenta a u plitkim p.džepovima pozitivan nalaz je kod 8, 7 % ispitivanih uzoraka tj. kod dva pacijenta .

4.7 REZULTATI KVALITATIVNO-KVANTITATIVNOG SASTAVA BAKTERIJSKO-VIRUSNOG GENOMA KOD KOMPLIKACIJA PARODONTOPATIJE

Tabela 14. BAKTERIJSKI I VIRUSNI GENOM KOD KOMPLIKACIJA
PARODONTOPATIJE

	<i>PARODONTALNI APSCES (N=39)</i>	<i>ULCERO-NEKROZNA PARODONTOPATIJA(N=33)</i>	<i>P- VREDNOST</i>
Porfiromonas gingivalis	21 (53, 8 %)	17 (51, 5 %)	P > 0, 5
Agregatibacter	12 (30, 8 %)	7 (21, 2 %)	P > 0, 5
Prevotella Intermedia	21 (53, 8 %)	19 (57, 6 %)	P > 0, 5
Tannerella forsythia	20 (51, 3 %)	18 (54, 4 %)	P > 0, 5
HSV- 1	4 (10, 3 %)	3 (9, 1 %)	P > 0, 5
EBV	11 (28, 2 %)	12 (36, 4 %)	P > 0, 5
HCMV	18 (46, 2 %)	22 (68, 7 %)	P < 0, 5

U tabeli br.14 je prikazan kvalitativno-kvantitativan virusno-bakterijski sastav kod komplikacija parodontopatije, parodontalnog apscesa i ulcero-nekrozne parodontopatije. Statistički značajno prisustvo HCMV postoji kod ispitanika sa dijagnostifikovanom ulcero-nekroznom parodontopatijom sa 68, 7 % ispitivanih uzoraka, tj. nađen kod dvadeset-dva pacijenta od ispitivanih trideset-troje u odnosu na ispitanike kod kojih je dijagnostifikovan parodontalni apsces sa 46, 2 %, tj pozitivan nalaz je bio kod osamnaest pacijenata od ispitivanih trideset-devet.

Iz rezultata može da se uoči da postoji tendencija ka porastu zastupljenosti EBV kod ulcero-nekrozne parodontopatije u odnosu na parodontalni apsces.

Sto se tiče parapatogena , može da se uoči da jedino kod Agregatibacteria postoji tendencija ka porastu zastupljenosti i to kod pacijenata sa parodontalnim apscesom sa 30, 8 % tj. nađen kod dvanaest pacijenata u odnosu na pacijente sa ulcero-nekroznom parodontopatijom gdje jedijagnostifikovan kod sedam pacijenata, što čini 21, 2 % ispitivanih uzoraka..

Tabela 15. KOMBINACIJA BAKTERIJA/ EBV KOD KOMPLIKACIJA PARODONTOPATIJE

BAKTERIJE/EBV	PARODONTALNI APSCES (N=39)	ULCERO-NEKROZNA PARODONTOPATIJA (N=33)	P- VREDNOST
odsustvo bakterija odsustvo virusa	0 (0 %)	0 (0 %)	P > 0, 5
prisustvo bakterija odsustvo virusa	20 (51, 3 %)	21 (63, 6 %)	P > 0, 5
odsustvo bakterija prisustvo virusa	0 (0 %)	0 (0 %)	P > 0, 5
prisustvo bakterija prisustvo virusa	10 (25, 6 %)	12 (36, 4 %)	P > 0, 5

U tabeli br. 15 uočava se postojanje tendencije ka porastu zastupljenosti ovog virusa ukombinaciji sa paropatogenima kod ulcero-nekrozne parodontopatije sa 36, 4 % pozitivan nalaz je kod dvanaest od ukupno trideset-tri pacijenta u odnosu na pacijente sa dijagnostifikovanim parodontalnim apscesom sa 25, 6 % ispitivanih uzoraka, pozitivan nalaz je kod deset od ukupno trideset-devet pacijenata .

Tabela 16. KOMBINACIJA BAKT/HCMV KOD KOMPLIKACIJA

BAKTERIJE/HCMV	PARODONTALNI APSCES (N=39)	ULCERO-NEKROZNA PARODONTOPATIJA (N = 33)	P- VREDNOST
odsustvo bakterija odsustvo virusa	0 (0 %)	0 (0 %)	P > 0, 5
prisustvo bakterija odsustvo virusa	13 (33, 3 %)	10 (30, 3 %)	P > 0, 5
odsustvo bakterija prisustvo virusa	0 (0 %)	0 (0 %)	P > 0, 5
prisustvo bakterija prisustvo virusa	17 (43, 6 %)	23 (69, 7 %)	P < 0, 5

Prikazani rezultati u tabeli br.16 pokazuju da postoji statistički značajno prisustvo HCMV u kombinaciji sa ispitivanim paropatogenima kod pacijenata sa dijagnostifikovanom UNP-a 69, 7 % uzoraka, pozitivan nalaz je kod dvadeset-tri od ukupno trideset-tri pacijenta u odnosu na pacijente sa dijagnostifikovanim parodontalnim apscesom gde postoji tendencija ka porastu zastupljenosti u 43, 6 % uzoraka, pozitivan nalaz je kod sedamnaest od ukupno trideset-devet pacijenata.

Tabela 17. KOMBINACIJA BAKTERIJA/VIRUSA KOD KOMPLIKACIJA

Bakterije/Virusi	PARODONTALNI APSCES (N=39)	ULCERO- NEKROZNA PARODONTOPATIJA (N =33)	P- VREDNOST
odsustvo bakterija odsustvo virusa	0 (0 %)	0 (0 %)	P > 0, 5
prisustvo bakterija odsustvo virusa	9 (23, 1 %)	3 (9, 1 %)	P > 0, 5
odsustvo bakterija prisustvo virusa	0 (0 %)	0 (0 %)	P > 0, 5
prisustvo bakterija prisustvo virusa	21 (53, 8 %)	30 (90, 9 %)	P < 0, 5

Prikazani rezultati u tabeli br. 17 pokazuju da postoji statistički značajno zbirno prisustvo paropatogena i herpesvirida kod pacijenata sa dijagnostifikovanom UNP-a sa visokih 90, 9 % uzoraka, pozitivan nalaz je nađen kod čak trideset od ukupno trideset-tri pacijenta u odnosu na pacijente sa dijagnostifikovanim parodontalnim apscesom 53, 8 % uzoraka, pozitivan nalaz je bio kod dvadeset-jednog od ukupno trideset-devet pacijenata.

**Tabela 18. KOMBINACIJA BAKTERIJSKOG GENOMA/HCMV KOD
KOMPLIKACIJA PARODONTOPATIJE**

	PARODONTALNI APSCES (N=39)	ULCERO-NEKROZNA PARODONTOPATIJA (N=33)
Porfiromonas gingivalis/ HCMV	13 (33, 3 %)	13 (39, 4 %)
Prevotella intermedia / HCMV	16 (41, 0 %)	12 (36, 4 %)
Tannerella forsythia/ HCMV	13 (33, 3 %)	10 (30, 3 %)

Prikazani rezultati u tabeli br. 18 pokazuju kombinaciju bakterijskog genoma sa HCMV kod komplikacija parodontopatije, tj. kod parodontalnog apscesa i ulcero-nekrozne parodontopatije.

Kombinacija porfiromonas gingivalis/HCMV kod parodontalnog apscesa nađena je kod 33, 3 % ispitanika, tj. pozitivan nalaz je bio kod trinaest pacijenata od ispitivanih trideset-devet, a ova kombinacija kod ulcero-nekrozne parodontopatije nađena je kod 39, 4 % ispitanika, tj. pozitivan nalaz je bio kod trinaest pacijenata od ispitivanih trideset-tri.

Kombinacija prevotella intermedia/HCMV kod parodontalnog apscesa nađena je kod 41, 0 % ispitanika, tj. pozitivan nalaz je bio kod šesnaest pacijenata od ispitivanih trideset-devet a ova kombinacija kod ulcero-nekrozne parodontopatije nađena je kod 36, 4 % ispitanika, tj. pozitivan nalaz je bio kod dvanaest pacijenata od ispitivanih trideset-tri.

Kombinacija tannerella forsythia/HCMV kod parodontalnog apscesa nađena je kod 33, 3%ispitanika, tj. pozitivan nalaz je bio kod trinaest pacijenata od ispitivanih trideset-devet, a ova kombinacija kod ulcero-nekrozne parodontopatije nađena je kod 30, 3 % ispitanika, tj. pozitivan nalaz je bio kod jedanaest pacijenata od ispitivanih trideset-tri.

4.8 REZULTATI KOMPARATIVNE ANALIZE VIRUSNOG GENOMA EKSPERIMENTALNE SA KONTROLNOM GRUPOM

Tabela 19. KOMPARATIVNA ANALIZA VIRUSNOG GENOMA
KOMPLIKACIJA PARODONTOPATIJE SA HRONIČNIM TIPOM BOLESTI

	Komplikacije Parodontopatije (N=72)	Hronična Parodontopatija (N=30)	P- vrednost
HSV - 1	7 (9,7 %)	1 (3,3 %)	P > 0,5
EBV	23 (31,9 %)	3 (10,0 %)	P < 0,5
HCMV	41 (56,9 %)	5 (16,7 %)	P < 0,5

Iz komparativne analize virusnog genoma kod hroničnog tipa bolesti u odnosu na komplikacije iste uočava se statistički značajno prisustvo dva od tri ispitivana virusa iz familije herpesvirida i to EBV i HCMV u visokim procentima kod pacijenata sa dijagnostifikovanim komplikacijama parodontopatije (Tabela br. 19).

EBV kod komplikacija parodontopatije je nađen kod dvadeset-troje pacijenata, što čini 31,8 % ispitivanih uzoraka, dok je kod hronične parodontopatije nađen kod tri pacijenta, što čini 10,0 % ispitivanih uzoraka.

HCMV kod komplikacija parodontopatije je nađen kod četrdeset-jednog pacijenta, što čini 56,9 % ispitanika, a kod hronične parodontopatije nađen je kod pet pacijenata što čini 16,7 % ispitivanih uzoraka.

Za HSV-1 virus nismo našli statistički značajno prisustvo kod ove dve forme bolesti.

V DISKUSIJA

Parodontopatija predstavlja vid hroničnog, inflamatornog oboljenja koje zahvata parodontcijum. U toku infekcije pripojni epitel baze gingivalnog sulkusa migrira i rezultat tog procesa je formiranje parodontalnog džepa. Ovo je posledica direktnog delovanja mikroorganizama prisutnih u subgingivalnom dentalnom plaku, ali i produkata inflamacije koja nastaje u toku ovog oboljenja (De Lillo, 2004).

U nastanku parodontopatije mahom učestvuju mikroorganizmi sa izraženom proteolitičkom aktivnošću. Rezultat njihove aktivnosti je nastanak alkalne sredine i povišene temperature mikrosredine u kojoj se nalaze, što predstavlja bitan favorizujući faktor njihove aktivacije (Paster, 2001).

Parodontopatogeni mikroorganizmi mogu direktno ili indirektno prouzrokovati ili doprineti razvoju parodontopatije. Parodontopatija predstavlja potencijalni faktor rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti, što je dokazano u različitim studijama (Rudney , 2003). Ispitivana je uloga *Treponema denticola*, *Porpyiromonas gingivalis* i *Tannerella forsythi* u aktivaciji inflamatornih procesa koji dovode do akutne koronarne bolesti. Imuni sistem domaćina dvojako deluje na lokalnom nivou, pruža zaštitu ali u određenom trenutku supstance koje nastaju u toku imunog odgovora deluju štetno na parodontalno tkivo izazivajući inflamaciju.. Gram negativne, striktno anaerobne vrste bakterija uzimaju učešće u nastanku i razvoju oboljenja parodontcijuma. Veliki broj studija ispitivao je vezu mikroorganizama i prisutnih kliničkih simptoma (Gomes, 2004., Jacinto , 2003.).

Osnovna karakteristika parodontopatije je hronično zapaljenje koje dovodi do progresivnog uništavanja vezivnog tkiva i kostiju, što za posledicu ima klaćenje zuba i na kraju gubitak istih. Smatra se da je patogeneza parodontopatije zasnovana na infekciji izazvanoj bakterijama koje naseljavaju površinu zuba i gingivalnog sulkusa. Prikupljeni dokazi pokazuju da su faktori reakcije domaćina, kao što su inflamatorne reakcije i aktiviranje urođenog imunog sistema, kritični za patogenezu parodontopatije. Parodontopatija je široko priznata kao hronična bolest, ali priroda hroničnosti ostaje nejasna. Pitanje je da li je parodontopatija kontinuirani proces, ili se sastoji od epizoda pogoršanja i remisija. Možda virusna infekcija parodontcijuma, u zavisnosti od latentne ili aktivne faza infekcije, može delimično objasniti progresivnu prirodu parodontopatija.

Virusna infekcija suprimira odbranu parodontalnih tkiva i dozvoljava prekomeran rast parodontopatogenih bakterija. Zahvaljujući napretku novih tehnologija, eksperimentalni dokazi pokazuju uticaj i povezanost genomskih, epigenetskih, proteomskih i metaboličkih faktora u patogenezi parodontopatije.

Prema novim podacima, kliničke karakteristike parodontopatije su pod uticajem genetskih i epigenetskih faktora, kao što su bakterijske akumulacije, pušenje ili dijabetes. Iako se genetska osnova parodontopatije smatra suštinski značajnom za određivanje inflamatornih procesa, epigenetski faktori mogu snažno uticati na promene u tkivu. S druge strane, infekcija i zapaljenski procesi uzrokovani parodontopatijom mogu preko krvotoka doprineti sistemskim bolestima kao što su ateroskleroza, dijabetes i prouzrokovati loše ishode kod trudnoće.

Decenijama, parodontopatija je smatrana inflamatornom bolešću uzrokovanom oralnim bakterijskim biofilmom koji izaziva reakciju organizma koja za posledicu ima razaranje koštanog i mekog tkiva. Među 500 vrsta oralnih bakterija koje su proučavane do danas, samo za neke od njih se smatra da učestvuju u etiologiji parodontopatije. Lideri na polju parodontologije koji su se okupili 1996. god na World Workshop in Periodontics, i složili su se da oni uključuju *Aggregatibacter actino-mycetemcomitans* (prethodno *Actinobacillus actinomi - cetemcomitans*), *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella* (*T.*), *Forsythia* (ranije *T. forsithensis*) i *Prevotella intermedia*.

Poslednjih godina su se promenili stavovi o etiologiji parodontopatija. Presu se isključivo bakterije smatrale odlučujućim faktorom. Određeni patogeni mikroorganizmi su dovedeni u međusobnu povezanost sa različitim oblicima parodontalnih bolesti i sa težinom njihovog toka.

Postojanje i rasprostranjenost patogenih bakterija nisu, međutim, uvek bile u skladu sa razvojem i napredovanjem parodontopatija. Tako su prikupljeni dokazi da patogene bakterije u parodontalnom džepu ne moraju nužno biti razlog, nego da zapravo sama mikrosredina džepa pruža pogodne uslove za razvoj i život paropatogena.

Još uvek vredi princip “BEZ BAKTERIJA NEMA PARODONTOPATIJE” ali sa druge strane tu je i činjenica da bakterije takođe i paropatogene ne moraju nužno uzokovati parodontopatiju. Ravnoteža između napada (zapaljenja) i odbrane (odgovor domaćina) biva narušena. Logično kada jako patogene bakterije naiđu na slab (neodgovarajući) odgovor domaćina pojavljuju se najteži rano nastupajući oblici

agresivnog toka, uključujući i komplikacije bolesti. Kod slabe odbrambene sposobnosti domaćina, kao što to imamo kod agresivnog toka bolesti kao i kod komplikacija iste, bakterije sa patogenim potencijalom mogu prodreti u epitelne ćelije i u subepitelna vezivna tkiva, te tamo privremeno preživeti. Ovo se većinom događa u dubini džepa gde one mogu izbeći marginalno smešten zapaljenski infiltrat, i ćelije prve linije odbrane. Pre svega PMNL, tu sada dolazi do izražaja ključna uloga virusa koji mogu inficirati same PMNL i na taj način omogućiti dublju penetraciju paropatogena u tkiva narušavajući samu prvu liniju odbrane domaćina, pri tome paropatogeni stvaraju virulentne faktore (leukotoksin, LPS i enzime) koji u početku zaustavljaju hemotoksičnu ulogu makrofaga (MF) a nakon toga ih uništavaju. Kod umerenih invazija paropatogena mogu nastati resorptivne mikronekroze a kod masivnih invazija- akutni parodontalni apsces.

5.1 FAKTORI VIRULENCIJE GLAVNIH BAKTERIJA KOD PARODONTOPATIJA :

- Toksini : najpoznatiji je leukotoksin određenih Aa klonova i poseban LPS Pg-a.
- Sposobnost invazije : Porfiromonas gingivalis i ostali paropatogeni mogu da prodru u ćelije domaćina ,te su tako sigurne od nespecifičnog imunog odgovora
- Enzimi- proteaze. Nakon kontakta epitelnih ćelija sa paropatogenima, stimuliše se oslobađanje velikog broja ćelijskih enzima i enzima ekstracelularnog matriksa, koji redukuju domaćinov imuni odgovor

Krajnji stadijum konfrontacije između patogenosti i otpornosti nasuprot odbrani domaćina predstavlja stvaranje “CRVENIH KOMPLEKSA” (P.g, T.f) Socranski. Aa i P.g, crveni kompleks predstavljaju bakterijske faktore rizika za nastanak parodontopatije kod podobnih domaćina, zbog patogenosti njihovih faktora virulencije. Podrazumeva se da reakcija imunog sistema domaćina igra ključnu ulogu u raspadu vezivnog tkiva i kostiju. Imuni i inflamatorni odgovori su od ključnog značaja za patogenezu parodontopatije. Bakterije koje naseljavaju površinu zuba i gingivalni

sulkus pokreću lokalnu inflamatornu reakciju koje aktivira urođeni imuni sistem. Početna lokalizovana reakcija se ogleda u pojačanom oslobađanju mnogih različitih citokina i medijatora koji šire inflamaciju preko tkiva gingive. Ukoliko upala nije lokalizovana u okviru gingive, imuni odgovor će biti proširen na alveolarnu kosti. Tada inflamatorni proces pokreće uništavanje vezivnog tkiva i alveolarne kosti. Postoje dva kritična faktora koji određuju da li će se desiti gubitak koštane mase kao odgovor na zapaljenske reakcije. Prvo, koncentracija inflamatornih medijatora prisutnih u gingivi mora biti dovoljna da bi se aktivirali putevi koji vode do resorpcije kosti, i drugo-ovi medijatori moraju da prodru u gingivu i postignu kritičnu udaljenost od alveolarne kosti. Page i Schroeder su otkrili da što se inflamatorne ćelije bliže infiltriraju do kosti, formira se veći broj osteoklasta, pa je veća količina kosti resorbovana.

5.2 MEHANIZAM IMUNOG SISTEMA I INFLAMATORNI ODGOVOR

- Urođeni imuni sistem pruža trenutnu zaštitu od infekcije i upale delujući na više načina: regrutovanje imunih ćelija (Fagociti kao što su polimorfonuklearni neutrofili, monociti i aktiviranjem makrofaga),
- aktivacijom dopunskog sistema (indukuje oslobađanje hemijskih medijatora kao što su citokini, na primer faktor nekroze tumora (TNF) ili interleukini (IL),
- aktiviranje adaptivnog imunog sistema koji daje konkretniji odgovor na povrede ili inflamaciju (širenje određenih antigena T i B ćelija sa posledičnom produkcijom antitela, koje pomažu makrofagima i prouzrokuju ubijanje ćelija).

Regrutovanje imunih ćelija i oslobađanje proinflamatornih citokina dovodi do destruktivnih procesa. Osteoklasti povezani medijatorima kao što su enzimi matriksmetaloproteinaze (MMP) i katepsin su odgovorni za degradaciju alveolarne kosti i vezivnog tkiva.

Glavno kod upalnog procesa je infiltracija leukocita u cilju da se ograniči nivo bakterijske invazije. Leukociti su aktivirani zbog mnogih faktora kao što su bakterijski proizvodi, citokini, hemokini. Ove fagocitne ćelije pokreću oslobađanje hemijskih medijatora kao što su TNF i ILs, što zauzvat aktivira dopunski sistem i akutnu reakciju

kako bi se pomoglo antitelima u uništavanju patogena, ili njihovom markiranju da bi ih unistile druge ćelije.

Konačno, aktivirani adaptivni imuni odgovor će pokrenuti proliferacije specifičnog antigena T i B ćelija. T ćelije prepoznaju strani antigen i lociraju ga, a B ćelije proizvode specifična antitela. T i B ćelije zajedno asistiraju makrofagima i pomažu generisanju ćelija ubica. Uloga imunog sistema je od suštinskog značaja. Međutim, ako imuni odgovor na inflamaciju postane hroničan, tkivo se ne vraća u homeostazu.

Proizvodnja citokina, koja podstiče inflamatorni proces koji aktivira delujuće mehanizme, smatra se ključnom između bakterijske stimulacije i uništavanja tkiva. Citokini su poznati kao produkti različitih vrsta ćelija, kao što su leukociti, keratinociti, mezenhimalne ćelije (fibroblasti i osteoblasti) ili njihovih prekursorskih ćelija, dendritskih ćelija i endotelnih ćelija. Citokini su organizovani kao urođeni i stečeni imuni citokini i hemokini. Hemokini su hemotaksni citokini važni za aktivaciju leukocita i za regulisanje tkivne infiltracije sa Th1 ćelijama kod parodontopatija. Proizvode ih mnogi tipovi ćelija u parodontijumu, kao što su: endotelne ćelije, fibroblasti, makrofagi, osteoklasti, epitelne ćelije, polimorfonuklearni leukociti, monociti, limfociti i mastociti. Na osnovu strukture liganda, hemokini se dele na dve velike porodice: CC i CXC hemokine. Neki od njih mogu da stimulišu jedan ili više koraka resorpcije kosti aktiviranjem, diferenciranjem ili spajanjem ćelija prekursora da se formiraju osteoklasti ili da se poveća opstanak osteoklasta. Hemokini kao neutrofilni hemoatraktanti doprinose procesu uništenja mineralne komponente koštanog tkiva tokom resorpcije kosti jer makrofagi oslobađaju enzime MMPs. MMPs su strukturno povezane endopeptidaze obično podeljene u nekoliko podklasa prema specifičnostima podloge i fizičke strukture: intersticijalna kolagenaza, gelatinaza, membranski tip MMPs, i ostale vrste MMPs-a uključujući i stromeline i metaloelastaze. Njihova aktivnost usmerena je protiv ekstracelularnog matriksa, pericelularnih i nematričnih makromolekula. Oni su uključeni u proces degradacije različitih ekstracelularnih molekula, kao što su kolagen, elastin, proteoglikani i laminini. Studija Kubota je pokazala da ekspresija gena MMP-1, -3, -9 i -13 je uvećana u parodontopatijom zahvaćenom tkivu. Smatra se da su MMPs od velikog kliničkog značaja u patogenezi parodontalnih bolesti zbog njihove sposobnosti da aktiviraju latentne oblike efektornih proteina, npr. antimikrobnih peptida, citokina i hemokina.

Prikupljeni dokazi pokazuju da su efekti citokina koji promovišu aktivnost osteoklasta i resorpcije kosti suprotstavljeni drugim citokinima koji su anti-inflamatorni. IL - 1, -6, -11 i -17, faktor nekroze tumora - alfa (TNF - α), leukemija inhibitorni faktor, kinin, trombin i različiti hemokini su poznati kao proinflamatorni medijatori. Nasuprot njima, IL - 4, -10, -12, -13 i -18 kao i interferon beta (IFN - β) i gama (INF - γ) imaju anti-inflamatorne i inhibitorne akcije kod resorpcije kosti. T i B limfociti su dominirajuće mononuklearne ćelije kod parodontopatija. Oni mogu da proizvedu IL-1, -6 i -17, TNF- α i receptor aktivator nuklearnog faktora kappa - B ligand (RANKL). IL - 1 i -6 su uključeni u proces resorpcije kosti preko indukcije RANKL-a. RANKL se vezuje za receptor aktivatora nuklearnog faktora kappa - B (RANK), jedne od najmoćnijih induktora formiranja i aktiviranja osteoklasta. Ova interakcija može biti zaustavljena osteoprotegerinom (OPG), koji se vezuje za RANKL i inhibira stimulaciju RANK-a, a koga produkuju limfociti. U početnoj fazi svog studiranja (manje od 30 dana od početka bolesti), Garlet je pokazalo da je porast leukocita povezan sa porastom alveolarnog gubitka koštane mase. Istovremeno, nivo proinflamatornih citokina, MMPs i RANKL je povišen. Kasnije, kada je stopa gubitka koštane mase bila manja, koncentracija proinflamatornih citokina, MMPs i RANKL je smanjena i došlo je do dramatičnog porasta koncentracije anti - inflamatornih citokina, kao i tkivnih inhibitora matriksa metaloproteinaze (TIMPs) i OPG12. Prema ovim eksperimentalnim podacima, čini se da tip citokina proizvedenih u parodontalnom tkivu može odrediti napredovanje i težinu parodontopatije kontrolisanjem razgradnje kostiju i mekih tkiva kroz ravnotežu između MMPs/TIMP i RANKL/OPG u tkivu gingive.

Nadalje, IL - 1 β , prostanglandin E2, MMPs, neutrofil elastaza i β - glukoronidaza su identifikovani kao potencijalni biomarkeri za dijagnozu parodontalnih oboljenja.

Međutim, čini se da ne postoji idealan marker koji može da predvidi napredovanje od gingivitisa do parodontopatije, ili kada će se parodontopatija okrenuti ka svojoj aktivnoj fazi, sa posledičnim gubitkom koštane mase.

5.3 VIRUSNE INFEKCIJE I IMUNOLOŠKA REAKCIJA KOD PARODONTOPATIJE :

Herpes virusi su češće prisutni u parodontalnim lezijama i u lezijama kod ulcero-nekrozne parodontopatije, nego kod gingivitisa ili parodontalno zdravih mesta. Uglavnom se dva herpes virusa nalaze u ovim lezijama: Epstein-Barr virus (EBV) koji pogađa parodontalne B- limfocite i citomegalovirus (CMV) koji pogađa parodontalne monocite/makrofage i T-limfocite. Takođe, CMV inficira pljuvačne žlezde, epitelne i endotelne ćelije i fibroblaste.

Seroprevalencija od CMV infekcije u svetu varira i do 95% populacije u zavisnosti od geografskog područja (razvijene/zemalje u razvoju). Veoma često, infekcija počinje rano u detinjstvu, u stvari, početkom trudnoće, jer posteljica igra ključnu ulogu u prenosu CMV na fetus. Citomegalovirus (CMV), najveći član porodice herpes virusa – je u velikom broju odgovoran za povećanje asimptomatske virusne infekcije širom sveta. Prvi slučaj intraoralnog prisustva CMV je predstavio Williams, 1960. godine. On je opisao oralne ulceracije koje obuhvataju gornju i donju usnu i dorzalnu površinu jezika kod 25 - ogođišnjeg muškarca.

Iako je Sabiston naveo da postoji veza između HCMV i ulcero-nekrozne parodontopatije, on nije mogao da predstavi eksperimentalni dokaz kojim bi potvrdio svoju hipotezu.

Contreras je pokazao da postoji značajno veća prevalenca HCMV, EBV - 1, i herpes simpleks virusa (HSV) u gingivalnoj tečnosti u uzorcima uzetim od dece iz Nigerije sa ulcero-nekroznim gingivitisom koji su pothranjeni u poređenju sa decom iz kontrolnih grupa.

Rones je dokazao značajnu osetljivost i epitelnih ćelija i fibroblasta iz gingivalnog sulkusa kod HSV infekcije in vitro. Postojao je jak dokaz za ulogu koju ima gingivalno tkivo kao primarno mesto infekcije i mogući rezervoar virusa između recidiva bolesti. Druge studije pokušavale su da utvrde da li je Herpes-viridalna DNK prisutna u gingivi, koristeći DNK hibridizacionu tehniku.

Jaskoll je utvrdio da CMV infekcija obuhvata mezenhimalne ćelije zubnih papila (ODONTOGENEZA) i izaziva defekte zuba kao što je *amelogenesis imperfecta*.

Smatra se da je reaktivacija virusne infekcije u parodontalnim lezijama povezana sa

progresijom parodontopatije, posebno kod komplikacija parodontopatije . Broj subgingivalnih parodontopatogenih bakterija u ovim lezijama je povišen verovatno zbog aktivne virusne infekcije koja smanjuje imunu odbranu parodontalnih tkiva, na način koji smo već naveli a to je da sam CMV pokazuje izražen tropizam prema parodontalnim makrofagima I T-limfocitima dok drugi iz ove grupe virusa a to je EBV pokazuje izražen tropizam prema parodontalnim B-limfocitima.

To bi moglo da objasni nekoliko obeležja parodontopatije kao što su:

- epizodna progresivna priroda parodontopatije (zbog prolazne lokalne imunosupresije u zavisnosti od aktivne ili latentne virusne infekcije), sto u osnovi i određuje dalji tok same parodontopatije : latentna virusna infekcija-stagnacija / aktivna virusna infekcija-egzacerbacija
- lokalizovani obrazac razaranja tkiva (zbog virusnog tropizma tkiva);
- neki pojedinci nose parodontopatogene bakterije a i dalje su parodontalno zdravi (zbog odsustva virusne infekcije).

U principu, herpes virusi mogu dovesti do parodontalne patologije na dva načina - prvo, direktnom virusnom infekcijom i replikacijom, kao i virusom uzrokovanim oštećenjem koje onemogućava odbranu domaćina. Oni mogu smanjiti obnovu tkiva direktnim citopatskim uticajem na inflamatorne ćelije, kao što su polimorfonuklearnih leukociti, limfociti, makrofagi i druge ćelije, kao što su fibroblasti, endotelijalne ćelije, koštane i druge.

Nadalje, to može da dovede do bakterijske superinfekcije. Infekcija gingive herpesviridama može izazvati subgingivalni gubitak i kolonizaciju parodontopatogenih bakterija. Još više, virusni proteini izraženi na eukariotskim ćelijskim membranama mogu da deluju kao bakterijski receptori i generisu nova vezivna mesta za bakterije. Kada je reč o patologiji parodontopatije, čini se da je ključna uloga pripada CMV. Prikupljeni dokazi pokazuju da CMV ne samo da je razvio mnoge strategije da izbegne imunološki odgovor domaćina, već i koristi reakciju domaćina da postigne reaktivaciju od latentne infekcije. CMV koristi NF κ B da posreduje u inflamatornom imunom odgovoru i da podstakne IE gensku ekspresiju u nameri da dovedu do virusne replikacije. CMV kodira hemokine koji dovode osetljive monocite i neutrofile na mesto infekcije. Shodno tome, virus može da podstakne proizvodnju IL-1 i TNF- α uz

makrofage i monocite, što zauzvrat može da utice na regulaciju enzimskog sistema MMP-s i TIMP-s. MMP-s su ključni proteolitički enzimi odgovorni za cepanje intersticijskog kolagena, koji čini najveći deo proteina ekstracelularnog matriksa u periodoncijumu. MMP predstavlja kompleks od preko 14 matriksnih metalo-proteinaza.

To je porodica o cinku zavisnih enzima. Među MMP ubrajaju se : gelatinaze, kolaganeaze, stromalini, matrilizini i drugi. Istovremeno ostali faktori postaju aktivni (faktori rasta i hormoni) koji se posredno takođe uključuju u sintezu MMP-a i njihovih inhibitora TIMP-a eng (Tissue inhibitors of MMP).

5.4 INHIBICIJA I AKTIVACIJA MMP-A :

Zdrav ekstracelularni matriks vezivnog tkiva i kosti podleže stalnoj ravnoteži. Regulacijski se mehanizmi pri tome brinu za uravnotežen balans između razgradnje i izgradnje, odnosno tkivne homeostaze. U slučaju virusne infekcije gingive, naročito kod parodontopatije ova se ravnoteža menja u korist kataboličkih enzima (MMP). Prirodni inhibitori ekspresije MMP-a a tim i razgradnje lokalno su (TIMP, IL-10 I TGF-b) i sistemski regulišući glikokortikoidi (steroidni hormoni).

Nesteroidni, sintetski inhibitori MMP-a su posebno zanimljivi u parodontalnom lečenju. To su prvenstveno hemijski promenjeni tetraciklini. Jedan od njih je MMP-blokirajući-modificirani doksiciklin(DOX)-preparat -PERIOSTAT.

Kod parodontopatije, oni vremenom degradiraju veze samog periodontalnog ligamenta i koštanih proteina, što na kraju dovodi do uništenja kosti.

Biopsija gingive kod CMV zaraženih osoba sa parodontopatijom pokazala je veću ekspresiju MMPs-a nego biopsija kod CMV negativnih osoba. CMV može da dovede do povrede tkiva kao rezultat imunopatološkog odgovora na virusno inficiranje ćelije, kao što su:

- izazivanje ćelijski posredovane imunosupresije smanjenjem površinske ćelijske ekspresije glavnog histokompatibilnog kompleksa (MHC) klase I molekula i na taj način ometa prepoznavanje T - limfocita;
- izaziva metaboličke abnormalnosti kod monocita i limfocita;
- suzbijanje antigen specifičnih citotoksičnih T-limfocitnih funkcija koje rezultuju

smanjenjem cirkularnih CD4+ ćelija i povećanjem CD8+ supresornih ćelija, što zauzvrat može dovesti do globalnog oštećenja ćelija.

Ove predispozicije mogu biti povezane sa imunopatologijom samih virusnih infekcija. Herpesviride uzrokuju utrastrukturalne promene epitela koje mogu omogućiti patogenim bakterijama da se jače vežu za ćelije. Oštećenja tkiva uzrokovana citotoksičnom imunom reakcijom mogu takođe omogućiti bakterijama bolju penetraciju u tkivo. Virusi su takođe sposobni da zaraze i ugroze polimorfonuklearne leukocite (PMNs), makrofage i limfocite. Na kraju, virusi mogu konačno da napadnu imune odgovore organizma, stimulisanjem oslobađanja citokina iz ćelija, koji sprečavaju ekspresiju MHC molekula.

Virusi mogu jedan drugom sinergijski povećati replikaciju infektivnosti. Na primer neke vrste EBV virusa mogu povećati replikaciju HIV virusa unutar CD4+ ćelija in vitro. U prisustvu HSV-virusa HIV može napasti keratinocite, koji su inače otporni na invaziju jer im nedostaje CD-4 molekul. Neka oralna patoloska stanja kod HIV pozitivnih pacijenata mogu biti izazvana sinergijskim efektima virusa. Na primer, HIV i HCMV su detektovani u parodontalnim lezijama koje su rapidno napredovale kod pacijenata sa HIV infekcijom. Ova studija istražuje prisustvo HCMV, EBV i HSV kod pacijenata sa komplikacijama parodontopatije i pacijenata sa hroničnom parodontopatijom i mogućih veza između ovih virusa i kliničkih stanja. HCMV i drugi ljudski virusi mogu da igraju važnu ulogu u patogenezi nekih oblika parodontopatija . Prisustvo herpes simpleks virusa je detektovano pomoću PCR metode na mestima pogođenim parodontopatijom.

U prethodnoj studiji, Contreras i Slots identifikovali su značajnu vezu između HCMV i ulcero- nekrozne parodontopatije, koja je značajna kod dubokih parodontalnih džepova u odnosu na plitke. U našoj studiji otkrivena je statistički značajno veća prevalenca HCMV i EBV kod komplikacija parodontopatije u odnosu na hronični oblik parodontopatije. Ovaj nalaz bi se mogao potkrepiti činjenicom da u velikom broju slučajeva kod pacijenata sa dijagnostikovanim komplikacijama parodontopatija imamo neki vid imunodeficijencije.

Para i Slots su pronašli prisustvo HCMV kod 60% pacijenata sa komplikacijama parodontopatije, EBV kod 30%, HSV kod 20% , HPV kod 17% , a HIV kod 7%.

Contreras i Slots su istraživali frekventnost HCMV , EBV , HSV - 2 , i HIV- u subgingivalnim uzorcima . Oni su ustanovili da su 24 ispitanika (89 %) imali bar 1 od 5 test virusa izolovanih iz dubokih parodontalnih džepova , a kod 15 ispitanika (56 %) detektovano je prisustvo virusa u plitkim parodontalnim džepovima .

Contreras i Slots takođe smatraju da je HCMV infekcija frekventnija u dubokim parodontalnim džepovima, nego u plićim. Odnos herpesviridalne koinfekcije sa paropatojenima povećava se sa produblivanjem dubine sondiranja što nam takođe može biti od značaja, ova studija je u saglasnosti sa našim rezultatima dobijenim kod dubokih parodontalnih džepova.

Ting je pokazao da bi aktiviranje HCMV moglo da doprinese etiopatogenezi agresivnih formi parodontopatije a samim tim i komplikacija. U istom istraživanju, HCMV, EBV i HSV-1 su češće pronađeni u dubokim parodontalnim džepovima, nego u plitkim kod pacijenata sa agresivnom parodontopatijom.

U našem istraživanju smo pokazali da postoji statistički značajna zastupljenost HCMV i EBV u dubokim parodontalnim džepovima. Procentualna zastupljenost ovih virusa u plitkim parodontalnim džepovima je bila manja u odnosu na duboke parodontalne džepove što je u saglasnosti sa rezultatima dobijenih kod drugih autora. Takođe ovde treba naglasiti da je HCMV prisutan u velikom procentu, dok EBV pokazuje tendenciju ka porastu zastupljenosti u dubokim parodontalnim džepovima, kod HSV-1 nismo pronašli statističku značajnost u ispitivanim uzorcima.

Kamma je utvrdio da je frekvencija infekcije herpes simpleks virusom slična na mestima koja krvare ili ne krvare.

Studija Contrerasa , Umede i Slotsa je potvrdila njihova ranija istraživanja o pozitivnim odnosima između virusa HCMV i EBV i paropatojenih mikroorganizama sa kliničkom težinom parodontopatije. Oni su pokazali da su herpesvirusi povezani sa pojavom glavnih paropatojenih mikroorganizama, uključujući P.g. , P. i. i T.f. Međutim oni nisu pronašli statistički značajno prisustvo bilo kog virusa iz familije herpesvirida u korelaciji sa A.g. kod umerenih i teških formi parodontopatije. Ovaj mikroorganizam igra najvažniju ulogu kod juvenilne parodontopatije. Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima gde smo prikazali da postoji statistički značajna korelacija između pojedinih paropatojenih m.o. i humanog citomegalo-virusa kod težih formi parodontopatije.

Porphyromonas gingivalis u korelaciji sa HCMV virusom u dubokim parodontalnim džepovima prisutan pozitivan nalaz bio je kod 49, 0 % uzoraka tj. pozitivan nalaz je nađen kod dvadeset-cetiri pacijenata, u plitkim p.džepovima pozitivan nalaz je kod 8, 7 % ispitivanih uzoraka, tj. pozitivan nalaz nađen kod dva pacijenta.

Prevotella intermedia u korelaciji sa HCMV virusom u dubokim parodontalnim džepovima prisutan pozitivan nalaz bio je kod 49, 0 % uzoraka, tj. pozitivan nalaz je nađen kod dvadeset-četiri pacijenta u plitkim p.džepovima pozitivan nalaz je kod 17, 4 % ispitivanih uzoraka, tj. pozitivan nalaz nađen kod pet pacijenata .

Tannerella forsythia u korelaciji sa HCMV virusom u dubokim parodontalnim džepovima prisutan pozitivan nalaz bio je kod 42, 9% uzoraka, tj. pozitivan nalaz nađen kod dvadeset- dva pacijenta a u plitkim p.džepovima pozitivan nalaz je kod 8, 7 % ispitivanih uzoraka tj. kod dva pacijenta . Takođe za *A.g* nismo dobili statističku značajnost u odnosu na težinu parodontopatije.

Velasko je pronašao HCMV i EBV u subgingivalnim uzorcima kod pacijenata sa Papillon – Lefevre sindromom. On je pretpostavio da humani herpes simpleks virusi u vezi sa *Aggregatibacter*-om igraju važnu ulogu u razvoju Papillon-Lefevra sindroma. Michalovicz je takođe otkrio da je koinfekcija *Porphyromonas gingivalis*-a i HCMV posebno štetna za parodontalno zdravlje .U saglasnosti sa ovim zaključkom je i dobijeni rezultat u našoj studiji a odnosi se na to da HCMV u korelaciji sa *P.g.* pokazuje tendenciju ka porastu zastupljenosti kod pacijenata sa dijagnostifikovanim komplikacijama parodontopatije, takođe je ova korelacija uočljiva i izolovana u većem procentu kod dubokih parodontalnih džepova u odnosu na plitke parodontalne džepove. Ovaj podatak može biti dobra polazna osnova za dalje studije, gde bi se ispitao eventualni uticaj ovog virusa na *P.g.* kao i mogući mehanizam njihove međusobne interakcije, koji nastaje kod težih formi parodontalne bolesti.

Virusne infekcije gingive su u stanju da utiču na ćelije koje učestvuju u odbrani organizma, čime se predisponira superinfekcija. Prethodne studije su pokazale da HCMV i EBV mogu zaraziti i izmeniti funkciju polimorfonuklearnih leukocita, limfocita i makrofaga. Pošto su polimorfonuklearni leukociti važne odbrambene ćelije kod parodontopatije, virusim – indukovana neutrofilna disfunkcija može potencirati virulentnost parodontopatogenih mikroba i disfunkciju polimorfonuklearnih leukocita

i može stvoriti uslove za prekomeran rast parodontopatogenih bakterija i kasnijeg napredovanja destruktivne parodontopatije samim tim i komplikacija parodontopatije. Contreras je otkrio prisustvo herpes simpleks virusa kod raznih inflamatornih ćelija u parodontopatnim lezijama. HCMV je pronađen u procentu od 55% kod frakcije monociti / makrofagi i 20% kod T limfocita iz parodontopatskih lezija; 45 % parodontalnih B limfocita su zaražena EBV-1. Pošto HCMV boravi u monocitima/makrofagima i T ćelijama, a EBV u B ćelijama, dvostruka infekcija ovim virusima ima potencijal da ugrozi glavne mehanizme odbrane parodontocijuma. Takođe, aktivna HCMV infekcija može aktivirati latentnu infekciju EBV, parodontalni džepovi sa HCMV i EBV koinfekcijom mogu dovesti do višestruko jakih i agresivnih razaranja svih parodontalnih tkiva, što vodi teškoj kliničkoj slici parodontopatije. Iz ove studije vidimo koliko ova dvostruka virusna infekcija, inflamatornih ćelija, ugrožava glavne mehanizme odbrane parodontalnih tkiva. Treba istaći da smo u našem istraživanju pokazali prisustvo sekvence nukleinske kiseline CMV-a u velikom broju uzoraka dobijenih od pacijenata kod kojih je dijagnostikovana jedna od dve komplikacije parodontopatije, koje su bile predmet ovog istraživanja, što nam govori u prilog tvrdnji nekih autora da bi aktivna parodontalna virusna infekcija mogla da pokrene niz događaja koji će kod pacijenata sa razvijenom kliničkom slikom parodontopatije uzrokovati dalju progresiju oboljenja u smeru nastanka komplikacija. U njihovoj studiji, Contreras i Slots su pokazali važnosti CMV u etiologiji i/ili patogenezi parodontopatije kod ljudi. Oni su pokazali prisustvo sekvence nukleinske kiseline CMV-a kod dubokih parodontalnih lezija, udruživanje akutne virusne infekcije i ulcero-nekrozne parodontopatije; povećanu frekvenciju parodontopatogenih bakterija u CMV pozitivnim parodontalnim lezijama, otkrili su sekvence nukleinske kiseline u parodontalnim inflamatornim ćelijama, pokazali efekat virusne infekcije na parodontalne odbrambene ćelije.

Prema ovim podacima, glavno pitanje može da bude: da li aktivna parodontalna CMV infekcija može da pokrene destruktivnu parodontopatiju ili da sama bolest kao takva aktivira latentnu CMV infekciju ? Čini se da imuni sistem igra glavnu ulogu !

Akutnu CMV infekciju karakteriše značajan nivo virusne replikacije i širenje na više organa. Prema tome, patogeneza akutne infekcije pokazuje vezu između nivoa replikacije virusa, organske disfunkcije i bolesti kod pacijenata. Nasuprot tome,

patogeneza hroničnih infekcija je povezana sa dvosmernom vezom između virusa i inflamatornim odgovorom domaćina: virusna istrajnost (aktiviranje) je olakšana inflamatornim odgovorom domaćina, a inflamatorni odgovor domaćina je stimulisan prisustvom virusa. U ovom slučaju, bolest se može pripisati i samim virusnim frakcijama prisutnim u domaćinu. Štaviše, čini se da za virusne produkte koji igraju glavnu ulogu u hroničnim upalama u telu nije potrebna replikacija in vitro.

Ako imuna reakcija postane hronična zbog velikog broja različitih faktora upale, oštećena tkiva se ne vraćaju u homeostazu. Shodno tome, CMV se periodično aktivira ponovo što za posledicu ima nepostojanu imunosupresiju koja dovodi do prekomernog rasta parodontalnih patogenih bakterija.

Patogeni mikroorganizmi koji imaju najveći parodontopatogeni potencijal su:

Porphyromonas gingivalis, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia* (Rudney, 2003).

Ove bakterije su bile predmet našeg istraživanja što je u skladu i sa najnovijim istraživanjima u svetu (Beikler, 2006).

Među najčešće uzročnike parodontalnih infekcija u adultnom stanju spadaju *Porphyromonas gingivalis* i *Tannerella forsythia* (Watanabe.1996). Istraživanja pokazuju da su isti sojevi nađeni u subgingivalnoj flori kod različitih populacija, ali su zapažene velike varijacije u njihovoj zastupljenosti.

Kod trideset-devet pacijenata sa dijagnozom parodontalnog apscesa u uzorku analiziran je *Porphyromonas gingivalis*. Kod dvadeset-jednog pacijenata utvrđeno je prisustvo ove bakterije što čini 53.8 % ispitanih, dok je kod osamaest pacijenata nalaz bio negativan (46.2%).

Foschi F i sar. u italijanskoj populaciji sa dijagnozom parodontalnog apscesa nalazi ovu bakteriju kod 13% pacijenata, a Ashimoto i sar nalaze je kod 10 % pacijenata.

Nasuprot ovim rezultatima Takeuchi Y, i sar. nalaze *Porphyromonas gingivalis* u vrlo visokom procentu 84,2%, kod pacijenata sa parodontalnim apscesom, a čak 95,3% kod pacijenata sa hroničnom parodontopatijom, dok u zdravoj populaciji nalaze 10% pozitivnih.

Kod trideset-tri pacijenta sa dijagnostifikovanom ulcero-nekroznom parodontopatijom u

uzorku iz subgingivalnog dentalnog plaka analiziran je kod sedamnaest pacijenata što čini 51.5% ispitanih, dok je kod šesnaest pacijenata nalaz bio negativan (48.5%).

Aggregatibacter actinomycetemcomitans je takođe važan parodontopatogen u etiologiji različitih formi parodontalnih bolesti posebno kod agresivne i adultne parodontopatije kao i u različitim ekstra oralnim infekcijama (endokarditis, pericarditis, pneumonia, septičnim stanjima i abscesima). Prisustvo *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* u uzorku kod parodontalnog apscesa utvrđeno je kod dvanaest pacijenata što čini 30.7% i u saglasnosti je sa rezultatima različitih studija (Mullally , 2000., Taylor-Robinson, 2002).

Za razliku od uzorka iz parodontalnog apscesa uzorci iz plaka kod ulcero-nekrozne parodontopatije pokazuju slabije prisustvo *A. actinomycetemcomitans* (od trideset-tri pacijenta pozitivan kod svega sedam pacijenta 21.2 %) . Mala zastupljenost *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* je utvrđena u Evropskim i Američkim populacijam, a velika u Aziji.

Naši rezultati takođe pokazuju na manje prisustvo ovog patogena u ispitivanim uzorcima kod komplikacija parodontopatije u odnosu na druge ispitivane parodontogene.

U poslednje vreme smatra se da *Tannerella forsythi* ima značajnu ulogu u nastajanju bolesti parodontijuma, te se sve više studija radi na ovu temu (Siquera, 2004). Anaerobna bakterija pripada grupi parodontopatogenih nalazi se u dentalnom plaku i to najviše u dubokim parodontalnim džepovima (Siquera , 2003).

U parodontalnom apscesu nađena je kod 20 pacijenata (51.2%), negativan nalaz je prisutan kod devetnaest pacijenata (48.8%) slične rezultate nalazimo u radovima drugih autora (Feng , 2006. Okada, 2001).

Kod pacijenata sa ulcero-nekroznom parodontopatijom pozitivan nalaz bio je kod osamnaest od ukupno trideset-tri pacijenta (54.5%), negativan nalaz bio je prisutan kod petnaest pacijenata (45.5%).

Tannerella forsythia i *Treponema denticola*, su striktni anaerobni mikroorganizmi zajedno se nalaze u dubokim regionima parodontalnih džepova i čine fuzospirohetne komplekse (Kigure, 2000)što je naročito važno za nastajanje parodontalnog apscesa kao komplikacije.

Prevotella intermedia identifikovana kod dvadeset jednog pacijenata u parodontalnom apscesu tj. 53.8%. Okada M, i sar. u svojoj studiji nalazi 25% pozitivnih pacijenata, a drugi autori (Mullally, 2000) nalaze 40,4%. Kod pacijenata sa ulcero-nekroznom parodontopatijom pozitivan nalaz je bio kod devetnaest od ukupno trideset-tri pacijenta (57.5%), negativan nalaz bio je prisutan kod četrnaest pacijenata (42.5%).

Svi naši rezultati upućuju da je vrlo značajno dokazivanje parodontopatogenih mikroorganizama, u smislu prevencije nastajanja parodontopatija kao jedne od bolesti i njenih komplikacija. Prisustvo ovih bakterija u dentalnom plaku uticaće i na terapiju koja može biti: preliminarna – antibiotska i kauzalna koja se sastoji u ukljanjanju dentalnog plaka.

Dokazivanje prisustva ovih bakterija i njihovo lečenje ima za cilj sprečavanje tranzijentne bakterijemije tj. prodor bakterija u krvotok. Postoje podaci da su ovi patogeni odgovorni i za nastanak kardiovaskularnih oboljenja izazvanih aterosklerozom u čijem nastanku značajno učestvuju ovi mikroorganizmi.

Što se tiče optimizacije detekcije virusnog genoma značajnog u nastajanju komplikacija parodontopatije, naši rezultati su sledeći :

HSV-1 identifikovan je kod četiri pacijenata u parodontalnom apscesu tj. 10.2% , u subgingivalnom dentalnom plaku kod ulcero-nekrozne parodontopatije od trideset troje ispitanika nalaz je pozitivan kod svega tri pacijenta, što čini 9% uzoraka.

EBV identifikovan je kod jedanaest pacijenta u parodontalnom apscesu tj. 28.2 %, a u subgingivalnom dentalnom plaku kod pacijenata sa ulcero-nekroznom parodontopatijom od trideset troje ispitanika nalaz je pozitivan kod dvanaest pacijenata, što čini 36.3% uzoraka.

CMV identifikovan je kod osamnaest pacijenata u parodontalnom apscesu od ukupno trideset-devet ispitanika tj. 46.1 %.U subgingivalnom dentalnom plaku kod pacijenata sa ulcero-nekroznom parodontopatijom od trideset troje ispitanika dvadeset-dva je bilo pozitivno, što čini 66.6% uzoraka.

U subgingivalnom dentalnom plaku hronične parodontopatije pozitivan nalaz na herpes viride je sledeći :

pozitivan nalaz *CMV* je bio kod pet pacijenata (16.6%) a negativan kod dvadeset-pet pacijenata (83.4%),

EBV je pronađen kod tri pacijenta (10%), a dvadeset-sedam je bilo negativno (90%)

i pozitivan nalaz na *HSV-1* je pronađen kod samo jednog pacijenta od trideset ispitanih (3.3%) a negativan kod dvadeset-devet (96.7%).

Komparativnom analizom u našoj studiji uočili smo statistički značajnu prevalencu HCMV i EBV kod obe komplikacije parodontopatije u odnosu na hroničnu parodontopatiju.

Dok kod HSV-1 nije bilo statistički značajne razlike između ovih grupa. Rezultati ukazuju na značaj virusne komponente u nastajanju komplikacija parodontopatije.

Jedan od ciljeva ove studije bio je i da se prikaže eventualna korelacija između dubine parodontalnog džepa tj. stepena parodontopatije i prisutnog bakterijsko-virusnog genoma.

Dobijeni rezultati pokazuju statistički značajno prisustvo pojedinih oralnih paropato gena kao i određenih virusa iz familije herpesviridae u dubokim parodontalnim džepovima tj. u težim formama parodontopatije. Što se samih paropato genih mikroorganizama tiče, dobili smo sledeće rezultate :

Porfiromonas gingivalis- statistički značajno bio zastupljen u dubokim parodontalnim džepovima sa 61, 2 %, pozitivan nalaz kod trideset pacijenata u odnosu na plitke parodontalne džepove gdje je njegova zastupljenost 34, 8 % od ispitivanih uzoraka, pozitivan nalaz kod osam pacijenata, tako da je P vrednost manja od 0, 5.

Za *Agregatibacter* nismo dobili statistički značajnu razliku kod lakših i težih formi parodontopatije. Pozitivan nalaz ovog paropato gena u plitkim parodontalnim džepovima je bio kod 30, 4 % tj. nađen je kod sedam pacijenata, dok u dubokim parodontalnim džepovima pozitivan nalaz je bio kod 24, 5 % uzoraka, tj. nađen je kod dvanaest pacijenata, P- vrednost je veća od 0, 5 što pokazuje da je distribucija ovog mikroorganizma podjednako zastupljena u plitkim i dubokim parodontalnim džepovima.

Prevotella Intermedia- statistički značajno bila zastupljena u dubokim parodontalnim

džepovima sa 65, 3 % tj. pozitivan nalaz je bio kod trideset-dva pacijenta, dok je u plitkim parodontalnim džepovima bila zastupljena sa 34, 8 % od ispitivanih uzoraka, tj. osam pacijenata je imalo pozitivan nalaz .

P-vrednost manja od 0,5 što nam ukazuje da se ovaj paropatoogen u značajno većem broju nalazi u dubokim parodontalnim džepovima.

Tannerella Forsythia - statistički značajno bila zastupljena u dubokim parodontalnim džepovima sa 65, 3 %, tj. pozitivan nalaz je bio kod trideset-dva pacijenta, dok je u plitkim parodontalnim džepovima zastupljena sa 26, 1 % tj. nađena je kod šest pacijenata, što nam ukazuje na češću zastupljenost ovog m.o. u težim formama parodontopatije.

HSV-1 – nismo dobili statistički značajnu razliku kod lakših i težih formi parodontopatije.

EBV - statistički značajno bio zastupljen u dubokim parodontalnim džepovima sa 38, 3 %, tj. pozitivan nalaz je bio kod devetnaest pacijenata, dok je u plitkim parodontalnim džepovima zastupljen sa 7, 7 % od ispitivanih uzoraka, tj. kod troje ispitanika nalaz

P-vrednost manja od 0,5 što nam ukazuje da se ovaj virus u značajno većem broju nalazi u dubokim parodontalnim džepovima.

HCMV - statistički značajno bio zastupljen u dubokim parodontalnim džepovima sa visokih 70, 0 % ispitivanih uzoraka, tj. nađen je kod četrdeset-dva pacijenta dok je u plitkim parodontalnim džepovima zastupljen sa 10, 3 % od ispitivanih uzoraka, tj. pozitivan nalaz nađen kod četiri pacijenta.

P-vrednost manja od 0,5 što nam ukazuje da se ovaj virus u značajno većem broju nalazi u dubokim parodontalnim džepovima

Takođe smo prikazali da postoji korelacija između paropatoogenih m.o. i epštajnbarovog virusa kod dubokih parodontalnih džepova.

Postoji statistički značajno prisustvo paropatogena i ovog virusa kod težih formi parodontopatije, tj. dubokih parodontalnih džepova.

Istovremeno prisustvo paropatogena i ovog virusa je detektovano kod 13, 0 % u plitkim, a 38, 8 % u dubokim parodontalnim džepovima.

Iz dobijenih rezultata uočili smo da postoji jaka distribucija kako paropatogena tako i humanog citomegalo-virusa kod dubokih parodontalnih džepova.

Postoji statistički značajno prisustvo paropatogena i ovog virusa kod težih formi

parodontopatije, tj. dubokih parodontalnih džepova.

Istovremeno prisustvo paropatogena i ovog virusa je detektovano kod 17,4 % u plitkim, a 73,5 % u dubokim parodontalnim džepovima.

Analizom rezultata smo dobili da je statistički značajno zbirno prisustvo bilo kog paropatogena i odgovarajućeg virusa u dubokim parodontalnim džepovima gde smo pozitivan nalaz imali u veoma visokom procentu 89,8 % ispitivanih uzoraka.

Takođe smo prikazali da postoji statistički značajna korelacija između pojedinih paropatogenih m.o. i humanog citomegalo-virusa kod težih formi parodontopatije.

Porfiromanas gingivalis u korelaciji sa HCMV virusom u dubokim parodontalnim džepovima prisutan pozitivan nalaz bio je kod 49,0 % uzoraka tj. pozitivan nalaz je nađen kod dvadeset-četiri pacijenata, u plitkim p.džepovima pozitivan nalaz je kod 8,7 % ispitivanih uzoraka, tj. pozitivan nalaz nađen kod dva pacijenta.

Prevotella intermedia u korelaciji sa HCMV virusom u dubokim parodontalnim džepovima prisutan pozitivan nalaz bio je kod 49,0 % uzoraka, tj. pozitivan nalaz je nađen kod dvadeset-četiri pacijenta u plitkim p.džepovima pozitivan nalaz je kod 17,4 % ispitivanih uzoraka, tj. pozitivan nalaz nađen kod pet pacijenata.

Tannerella forsythia u korelaciji sa HCMV virusom u dubokim parodontalnim džepovima prisutan pozitivan nalaz bio je kod 42,9 % uzoraka, tj. pozitivan nalaz nađen kod dvadeset- dva pacijenta a u plitkim p.džepovima pozitivan nalaz je kod 8,7 % ispitivanih uzoraka tj. kod dva pacijenta.

Statistički značajno prisustvo HCMV postoji kod ispitanika sa dijagnostifikovanom ulcero-nekroznom parodontopatijom sa 66,6% ispitivanih uzoraka, tj. nađen kod dvadeset-dva pacijenta od ispitivanih trideset-tri u odnosu na ispitanike kod kojih je dijagnostifikovan parodontalni apsces sa 46.1 %, tj. pozitivan nalaz je bio kod osamnaest pacijenata od ispitivanih trideset-devet.

Iz rezultata može da se uoči da postoji tendencija ka porastu zastupljenosti EBV kod ulcero nekrozne parodontopatije u odnosu na parodontalni apsces.

Što se tiče paropatogena, može da se uoči da jedino kod Agregatibacteria postoji tendencija ka porastu zastupljenosti i to kod pacijenata sa parodontalnim apscesom sa 30.9 % u odnosu na pacijente sa ulcero-nekroznom parodontopatijom gdje je dijagnostifikovan kod 21.2 % ispitivanih uzoraka..

Ispitivanjem korelacije paropatogena u sinergiji sa Epštajn-Barovim virusom kod komplikacija parodontopatije dobili smo postojanje tendencije ka porastu zastupljenosti ovog virusa u kombinaciji sa paropatogenima kod ulcero-nekrozne parodontopatije sa 36, 4 % u odnosu na pacijente sa dijagnostifikovanim parodontalnim apscesom sa 25, 6 % ispitivanih uzoraka.

Ispitivanjem korelacije paropatogena u sinergiji sa HCMV virusom kod komplikacija parodontopatije dobijeni rezultati nam govore da postoji statistički značajno prisustvo HCMV u kombinaciji sa ispitivanim paropatogenima kod pacijenata sa dijagnostifikovanim ulcero-nekroznom parodontopatijom-sa 69, 7 % uzoraka u odnosu na pacijente sa dijagnostifikovanim parodontalnim apscesom 43, 6 % uzoraka.

Naši rezultati pokazuju da postoji statistički značajno zbirno prisustvo paropatogena i herpesvirida kod pacijenata sa dijagnostifikovanim ulcero-nekroznom parodontopatijom sa visokih 90, 9 % uzoraka u odnosu na pacijente sa dijagnostifikovanim parodontalnim apscesom 53, 8 % uzoraka.

Što se tiče korelacije bakterijskog genoma sa HCMV kod komplikacija parodontopatije, tj. kod parodontalnog apscesa i ulcero-nekrozne parodontopatije rezultati su sledeći :

Korelacija porfiromonas gingivalis/HCMV kod parodontalnog apscesa nađena je kod 33, 3 % ispitanika, tj. pozitivan nalaz je bio kod trinaest pacijenata od ispitivanih trideset-troje a ova korelacija kod ulcero-nekrozne parodontopatije nađena je kod 39, 4 % ispitanika, tj. pozitivan nalaz je bio kod trinaest pacijenata od ispitivanih trideset-devet.

Korelacija prevotella intermedia/HCMV kod parodontalnog apscesa nađena je kod 41, 0 % ispitanika, tj. pozitivan nalaz je bio kod šesnaest pacijenata od ispitivanih trideset-devet a ova korelacija kod ulcero-nekrozne parodontopatije nađena je kod 36, 4 % ispitanika, tj. pozitivan nalaz je bio kod dvanaest pacijenata od ispitivanih trideset-troje.

Korelacija tannerella forsythia/HCMV kod parodontalnog apscesa nađena je kod 33,3% ispitanika, tj. pozitivan nalaz je bio kod trinaest pacijenata od ispitivanih trideset-devet, a ova korelacija kod ulcero-nekrozne parodontopatije nađena je kod 30, 3 % ispitanika, tj. pozitivan nalaz je bio kod jedanaest pacijenata od ispitivanih trideset-troje.

Iz komparativne analize virusnog genoma kod hroničnog tipa bolesti u odnosu na komplikacije iste uočava se statistički značajno prisustvo dva od tri ispitivana virusa iz familije herpesvirida i to EBV i HCMV u visokim procentima kod pacijenata sa

dijagnostifikovanim komplikacijama parodontopatije.

EBV kod komplikacija parodontopatije je nađen kod dvadeset-troje pacijenata, što čini 31, 8 % ispitivanih uzoraka, dok je kod hronične parodontopatije nađen kod tri pacijenta, što čini 10, 0 % ispitivanih uzoraka.

HCMV kod komplikacija parodontopatije je nađen kod četrdeset-jednog pacijenta, što čini 56, 9 % ispitanika, a kod hronične parodontopatije nađen je kod pet pacijenata što čini 16, 7 % ispitivanih uzoraka.

Za HSV-1 virus nismo našli statistički značajno prisustvo kod ove dve forme bolesti.

Na osnovu dobijenih rezultata možemo konstatovati da je kod komplikacija parodontopatije učešće pojedinih vrsta paropato gena u genomu relativno izjednačeno, bez dominacije jedne vrste što je slučaj kod ostalih formi parodontopatije.

Što se tiče dobijenih rezultata sa virusnim genomom, kod obe komplikacije predominantni su HCMV i EBV sa najvećim procentom uzoraka, dok je HSV-1 detektovan u značajno manjem procentu.

Virusna komponenta je u većem procentu izražena kod ulcero-nekrozne parodontopatije, što je u saglasnosti i sa radovima drugih autora. Sve ovo nas navodi na zaključak: Virusne infekcije parodontocijuma su u stanju da utiču na ćelije koje učestvuju u odbrani organizma, čime se predisponira superinfekcija.

Iz rezultata vidimo da kod težih formi parodontopatije postoji značajna sinergija virusa sa jedne i paropato gena sa druge strane, što govori u prilog koliko je ova sinergija štetna po zdravlje parodontalnih tkiva.

Prethodne studije su pokazale da u prvom redu HCMV i EBV mogu inficirati i izmeniti funkciju PMNL, limfocita i makrofaga. Pošto su ove ćelije ključne ćelije odbrane kod parodontopatija, virusom indukovana neutrofilna disfunkcija može potencirati virulentnost parodontopatogenih sojeva bakterija i stvoriti uslove za nekontrolisan rast istih, što uzročno-posledično dovodi do destruktivnih formi parodontopatije, samim tim i do komplikacija iste.

Buduće studije koje će istraživati ulogu herpes-viralnih infekcija u patogenezi parodontopatije treba da dokažu da iskorenjivanje virusne infekcije može da spreči napredovanje parodontalnih uništenja .

VI ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata dobijenih u ovom studiji mogu se izvući sledeći zaključci:

- Dobijeni rezultati kvantitativno-kvalitativne zastupljenosti specifičnog bakterijskog genoma kod komplikacija parodontopatije ukazuju na relativno izjednačeno učešće bez dominacije jedne vrste što je slučaj kod ostalih formi parodontopatije.
- Dobijeni rezultati kvantitativno-kvalitativne zastupljenosti specifičnog virusnog genoma kod komplikacija parodontopatije ukazuju na predominantnost HCMV i EBV sa najvećim procentom uzoraka, dok je HSV-1 detektovan u značajno manjem procentu.
- Dobijeni rezultati ukazuju na malu procentualnu zastupljenost virusnog genoma izolovanog iz uzoraka pacijenata sa hroničnom parodontopatijom.
- Komparativnom analizom u ovoj studiji uočili smo statistički značajnu prevalencu HCMV i EBV kod obe komplikacije parodontopatije u odnosu na hroničnu parodontopatiju, dok kod HSV-1 nije bilo statistički značajne razlike između ovih grupa. Rezultati ukazuju na značaj virusne komponente u nastajanju komplikacija parodontopatije.
- Dobijeni rezultati nedvosmisleno ukazuju da smo imali statistički značajno prisustvo HCMV i EBV u dubokim parodontalnim džepovima, u odnosu na plitke parodontalne džepove.
- Iz dubokih parodontalnih džepova izolovali smo tri predominantna paropatoгена; *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* i *Porphyromonas gingivalis* u odnosu na plitke parodontalne džepove.

- Uočili smo da postoji tendencija ka porastu zastupljenosti tri sledeća paropatogena : prevotella intermedia, tanarella forsythia i porfiromonas gingivalis u korelaciji sa HCMV u dubokim parodontalnim džepovima tj. kod težih formi parodontopatije.
- Kod težih formi parodontopatije postoji značajna sinergija virusa sa jedne i paropatogena sa druge strane, što govori u prilog koliko je ova sinergija štetna po zdravlje parodontalnih tkiva.
- Senzitivnost PCR-a i vreme trajanja analize pružaju prednost nad ostalim metodama za detekciju mikroorganizama.
- Dobijeni rezultati imaju praktičan značaj u dijagnostici, prevenciji i adekvatnom lečenju obolelih od parodontopatija.

VII REFERENCE

1. Popović V, Lukić V, Perović J, Đukanović D, Gvozdrenović Simović V, Beloica D, Vulović M, Dovijanić P, Leković V, Lekić P, Dimitrijević D. Bolesti usta i zuba u stanovništva Beograda. Univerzitet uBeogradu, Stomatološki fakultet , Beograd. 1987.
2. Brown LJ, Löe H. Prevalence, extent severity and progression of periodontal disease. *Periodontology* 2000 1993; 2:57-71.
3. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Korman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis. Summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology* 2000 1997;14:216-246.
4. Page RC, Schroeder HE. *Periodontitis in Man and Other Animals*. Basel, Switzerland: S. Karger Publishers; 1982.
5. Page RC. The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. *Annals of Periodontology*1998; 3(1): 108-120.
6. Page RC, Beck JD. Risk assesment for periodontal disease. *Int Dent J* 1997;47:61-67.
7. Haffajee AD, Scoransky SS. Microbial etiologic agents od destructive periodontal disease. *Periodontology* 2000 1994;5:78-111.
8. Consesus report on periodontal diseases: Pathogenesis and microbial factors. *Ann Serotypes* 1996;1:926-932.
9. Scoransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Dent Res* 1997;76(Spec.Issue):51(Abstr. 302)
10. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology* 2000 2001;25:8-20.
11. Costerton JW, Lewandowski Z, DeBeer D, et al. Biofilms, the customized microniche. *J Bacteriol* 1994;176:2137-2142.

12. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontology* 2000 1997;14:112-143.
13. Whitney C, Ant J, Moncla B, Johnson B, Page RC, Engel D. Serum immunoglobulin G antibody to *Porphyromonas gingivalis* in rapidly progressive periodontitis. Titer, avidity and subclass distribution. *Infect Immun* 1992;609:2194-2200.
14. Reynolds JJ, Meikle MC. Mechanism of connective tissue destruction. Importance of the balance of metalloproteinases and inhibitors in tissue destruction for human periodontitis and its treatment. *Periodontology* 2000 1997;14:144-157.
15. Last J. A dictionary of epidemiology, 2nd edn. New York. Oxford University Press, 1998:115-116.
16. Genco RJ, Ho AW, Kopman J, Grossi SG, Dunford RG, Tedesco LA. Models to evaluate the role of stress in periodontal disease. *Ann Periodont* 1998;3:288-302.
17. A de Lillo, Booth V, Kyriacou L, Wightman AJ, Wadfe WG. Dec.2004.Culture independent identification of periodontitis associated *Porphyromonas* and *Tannerella* populations by targeted molecular analysis.*Journal of clinical Microbiology*.5523 – 5527.
18. Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. 1996 . Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions.*Oral microbiol Immunology*, 11 (4) 266 – 273.
19. Beikler T, Schnitzer S, Abdeen G, Ehmke B, Eisenacher M, Flemmig TF. 2006 aug . Sampling strategy for intraoral detection of periodontal pathogens before and following periodontal therapy.*J periodontology*., 77 (8), 1323 – 1332.
20. Chen C. K. C. And Wilson E. M. 1992. *Eikenella corrodens* in human oral and non-oral infections. *Journal of Periodontology*, 63, 941-953.

21. Feng XH, Zhang L, Meng HX, Xu L, Chen ZB, Shi D. Jun 2006. Prevalence of putative periodontal microorganisms in Chinese patients with aggressive periodontitis. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 41 (6), 344- 7.
22. Foschi F, Cavrini F, Montebugnoli L, Stashenko P, Sambri V, Prati C. 2005 Oct . Detection of bacteria in endodontic samples by Polymerase chain reaction assays and association with defined clinical signs in Italian patients. *Oral Microbiol Immunology*. 20 (5) 289 – 295.
23. Bilichodmath S, Mangalekar SB, Sharma DCG, Prabhakar AK, Reddy SB, Kalburgi NB, et al. Herpesviruses in chronic and aggressive periodontitis patients in an Indian population. *Journal of Oral Science*. 2009; 51(1):79-86.
24. Lang N, Bartold MP, Cullinan M, Jeffcoat M, Mombelli A, Murajami S, et al. Consensus report: aggressive periodontitis. *Annals of Periodontology*. 1999; 4(1):53-.
25. Goodson JM, Tanner ACR, Haffajee AD, Sornberger GC, Socransky SS. Patterns of progression and regression of advanced destructive periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 1982; 9(6):472-81.
26. Lindhe J, Ranney R, Lamster I, Charles A, Chung C-P, Flemming T, et al. Consensus report: Chronic periodontitis. *Annals of Periodontology*. 1999; 4(1):38-.
27. Slots J, Kamma JJ, Sugar C. The herpesvirus–*Porphyromonas gingivalis*–periodontitis axis. *Journal of Periodontal Research*. 2003; 38(3):318-23.
28. Slots J. Herpesviruses in periodontal diseases. *Periodontology 2000*. 2005; 38(1):33-62.
29. Ramfjord SP. The Periodontal Disease Index (PDI). *Journal of Periodontology*. 1967 1967/11/01; 38(6):602-10.
30. Löe H. The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *Journal of Periodontology*. 1967 1967/11/01; 38(6):610-6.
31. L.P. Samaranayake, 2002. *Essential microbiology for dentists*, Elsevier limited

32. Mullally Bh, Dace B, Shelburne CE, Wolff LF, Coulter WA. 2000 Aug, Prevalence of periodontal pathogens in localized and generalized forms of early – onest periodontitis. *J Periodontal Res.* 35 (4) , 232 – 241.
33. Narayanan D, Hamlet S, Cullinan M, Davies R, Ellwood R, Bird P, Seymour GJ. 2005 Dec. The distribution of *Tannerella Forsythia* in adolescent and adult population. *J periodontal Res.*, 40 (6), 482 – 488.
34. Ohnishi M. 2006. Mar. Quantitative analysis of periodontal pathogens in aggressive periodontitis patients in Japanese population. *Kokubyo Gakkai Zasshi.* 73 (1) 70-78.
35. Okada M., Hayashi F., Nagasaka N. June 2001. PCR detection of 5 putative periodontal pathogens in dental plaque samples from children 2 to 12 years of age. *Journal of clinical Periodontology*, volume 28, 576.
36. Okuda K, Ishihara K, Nakagawa T, Hirayama A, Inayama Y, Okuda K. Mar. 2001. Detection of *Treponema denticola* in Atherosclerotic lesion *Journal of clinical Microbiology*, p. 1114-1117.
37. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanson VA, Sahasrabudhe A, Dewhirst FE. 2001. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *Journal of bacteriology* 183. 3770 – 3783.
38. Petres S, Valdez M, Rivere R, Thomas D. D. 1999. Adherence to and penetration through endothelial cells by oral treponemes. *Oral microbiology. Immunology* 14, 379-383.
39. Rudney JD, Chen R, Pan Y. 2003. Endpoint quantitative PCR assays for *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Periodontal Res.* 38, 465 – 470.
40. Seung ML, So YY, Hwa SK, Kwang WK, Young JY, et al. June, 2005. Prevalence of putative periodontopathogens in subgingival plaques from gingivitis lesions in Korean orthodontic patients. *Journal of microbiology*, 260 – 265.
41. S. Romac, S. Vukasović. O. Stojković, B. Čuljković. 1999. PCR u kliničkoj praksi, *Biološki fakultet Beograd.*

42. Takeuchi Y, Umeda M, Sakamoto M, Benno Y, Huang Y, Ishikawa I. 2001. *Treponema socranskii*, *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* are associated with severity of periodontal tissue destruction. *J Periodontol*; 72 (10): 1354 – 1363.
43. Tran D. S, Rudney D. J. , Nov.1996. Multiplex PCR using conserved and species-specific 16S rRNA gene primers for simultaneous detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of clinical Microbiology*, p. 2674-2678.
44. Veruska JM, Mario Julio AC. 2004. Detection of pathogens from periodontal lesions. *Rev.Saude Publica* . 38 (5) 723 – 728.
45. Watanabe K., and Forommel T.O. 1996. *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Treponema denticola* detection in oral plaque samples using the polymerase chain reaction. *Journal of clinical Periodontology*, volume 23. 212-219.
46. Yoshiaki T, Mitsuo H, Yasuko S, Yoshimitsu A., 2003. Production of antibody against a sythetic peptide of *Porphiromonas gingivalis* 40 – kDa outer membrane protein. *Journal of Science*, Vol.45, No.2, 111 - 116,
47. Đajić D., Đukanović D., Stanić S., Kovačević K.2001. *Bolesti usta parodontologija atlas*.
48. Santangelo R, D Ercole S, Graffeo R, et al. Bacterial und viral DNA in periodontal disease: A study using multiplex PCR. *New Microbiol* 2004;27:133-137
49. Botero JE, Parra B, Jaramillo A, Contreras A, Subgingival human cytomegalovirus correlates with increased clinical periodontal parameters and bacterial coinfection in periodontitis. *J Periodontol* 2007;78:2303-2310
51. Armitage GC. Periodontol diseases. Diagnosis. *Ann Periodontol* 1996:1:37-215
52. Armitage, GC. Clinical evaluation of periodontal diseases. *Periodontol* 2000 1995:7:39-53

53. Slots, J (Slots, Jorgen) (2010) Herpesviral–bacterial interactions in periodontal diseases. *Periodontol 2000* 52:117–140
54. Armitage GC. Manual periodontal probing in supportive periodontal treatment. *Periodontol 2000* 1996;12:33-39
55. Dawson, DR (Dawson, D. R., III); Wang, C (Wang, C.); Danaher, RJ (Danaher, R. J.); Lin, Y (Lin, Y.); Kryscio, RJ (Kryscio, R. J.); Jacob, RJ (Jacob, R. J.); Miller, CS (Miller, C. S.) Salivary levels of Epstein-Barr virus DNA correlate with subgingival levels, not severity of periodontitis *Oral Dis* 2009;15:554-559
56. Albandar JM, Brown LJ, Loe H. Putative periodontal pathogens in subgingival plaque of young adults with and without early-onset periodontitis. *J Periodontol* 1997;68:973-981
57. Gunsolley JC, Ranney RR, Zambon JJ, Burmeister JA, Schenkein HA. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in families afflicted with periodontitis. *J Periodontol* 1990;61:643-648
58. Van Dyke TE, Lester MA, Shapira L. The role of the host response in periodontal disease progression: Implications for future treatment strategies. *J Periodontol* 1993;64:792-806
59. Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol 2000* 1997;14:12-32.
60. Azuma M. Fundamental mechanisms of host immune responses to infection. *J Periodontal Res* 2006;41:361-373
61. Moore WEC, Moore LHV. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol 2000* 1994;5:66-77
62. Konstantinidis, A (Konstantinidis, A); Sakellari, D (Sakellari, D); Papa, A (Papa, A); Antoniadis, A (Antoniadis, A) Real-time polymerase chain reaction quantification of Epstein-Barr virus in chronic periodontitis patients *J Periodontal Res* 2005: 40:294–298.

- 63.Kubar, A (Kubar, A); Saygun, I (Saygun, I); Ozdemir, A (Ozdemir, A); Yapar, M (Yapar, M); Slots, J (Slots, J) Real-time polymerase chain reaction quantification of human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in periodontal pockets and the adjacent gingiva of periodontitis lesions *J Periodontal Res* 2005: 40: 97–104.
- 64.Saygun, I (Saygun, I); Kubar, A (Kubar, A); Ozdemir, A (Ozdemir, A); Slots, J (Slots, J) Periodontitis lesions are a source of salivary cytomegalovirus and Epstein-Barr virus *Periodontal Res* 2005: 40:187–191.
- 65.Saygun, I (Saygun, I); Yapar, M (Yapar, M); Ozdemir, A (Ozdemir, A); Kubar, A (Kubar, A); Slots, J (Slots, J) Human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus type 1 in periodontal abscesses *Oral Microbiol Immunol* 2004: 19: 83–87.
66. Borza CM, Hutt-Fletcher LM (2002) Alternate replication in B cells and epithelial cells switches tropism of Epstein–Barr virus. *Nat Med* 8:594–599
- 67.Cobb, CM (Cobb, CM); Ferguson, BL (Ferguson, BL); Keselyak, NT (Keselyak, NT); Holt, LA (Holt, LA); MacNeill, SR (MacNeill, SR); Repley, JW (Repley, JW) A TEM/SEM study of the microbial plaque overlying the necrotic gingival papillae of HIV-seropositive, necrotizing ulcerative periodontitis. *J Periodontal Res* 2003:38:147-155.
- 68.Saygun, I (Saygun, I); Sahin, S (Sahin, S); Ozdemir, A (Ozdemir, A); Kurtis, B (Kurtis, B); Yapar, M (Yapar, M); Kubar, A (Kubar, A); Ozcan, G (Ozcan, G) Detection of human viruses in patients with chronic periodontitis and the relationship between viruses and clinical parameters *J Periodontol* 2002: 73: 1437–1443.
- 69.Kamma, JJ (Kamma, JJ); Contreras, A (Contreras, A); Slots, J (Slots, J) Herpes viruses and periodontopathic bacteria in early-onset periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001: 28: 879–885.
- 70.Herrera, D (Herrera, D); Roldan, S (Roldan, S); Sanz, M (Sanz, M) The periodontal abscess : a review. *J Clin Oeriodontol* 2000: 27:377-386

71. Herrera, D (Herrera, D); Roldan, S (Roldan, S); O'Connor, A (O'Connor, A); Sanz, M (Sanz, M) The periodontal abscess (II). Short-term clinical and microbiological efficacy of 2 systemic antibiotic regimes. *J Clin Oeriodontol* 2000; 27:377-386
72. Velazco, CH (Velazco, CH); Coelho, C (Coelho, C); Salazar, F (Salazar, F); Contreras, A (Contreras, A); Slots, J (Slots, J); Pacheco, JJ (Pacheco, JJ) Microbiological features of Papillon-Lefevre syndrome periodontitis. *J Clin Periodontol* 1999;26: 622-627
73. Adler B, Sinzger C (2009) Endothelial cells in human cytomegalovirus infection: one host cell out of many or a crucial target for virus spread? *Thromb Haemost* 102:1057–1063
74. Contreras, A (Contreras, A); Slots, J (Slots, J) Mammalian viruses in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1996;11:381-386.
75. Soder PO, Neuerman JH, Jogstrand T, Nowak J, Soder B Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in blood as markers for early atherosclerosis in subjects with chronic periodontitis. *J Periodontal Res* 2008;44:452-8.
76. Offenbacher S, Barros SP, Beck JD Rethinking periodontal inflammation. *J Periodontol* 2008;79:1577-84.
77. Gary C. Armitage Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases *Periodontology* 2000, Vol.34, 2004,9-21
78. A. Contreras, M. Umeda, C Chen, I. Bakker, J.L. Morrison and J. Slots Relationship between Herpesviruses and Adult Periodontitis and Periodontopathic Bacteria *Periodontol* 1999; 70: 478–484
79. Slots J, Saygun I, Sabeti M, Kubar A (2006) Epstein–Barr virus in oral diseases. *J Periodontal Res* 41:235–244
80. Jankovic S, Aleksic Z, Dimitrijevic B, Lekovic V, Camargo P, Kenney B (2011) Prevalence of human cytomegalovirus and Epstein–Barr virus in subgingival plaque at

peri-implantitis, mucositis and healthy sites. A pilot study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 40:271–276

81. Jankovic S, Aleksic Z, Dimitrijevic B, Lekovic V, Milinkovic I, Kenney B (2011) Correlation between different genotypes of human cytomegalovirus and Epstein–Barr virus and peri-implant tissue status. *Aus Dent J* 56:382–388

82. Tantivanich S, Laohapand P, Thaweeboon S, Desakorn V, Wuthinuntiwong P, Chalermtaranukul S, Pansr PI, Amarapal P, Balachandra K, Chantratita W, Dhepakson P. Prevalence of cytomegalovirus, human herpesvirus-6, and Epstein-Barr virus in periodontitis patients and healthy subjects in the Thai population. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2004; 35: 635–640

83. Tonetti MS. Risk factors for osseodisintegration. *Periodontol 2000* 1998; 17: 55–62.

84. van Baarle D, Hovenkamp E, Kersten MJ, Klein MR, Miedema F, van Oers MH. Direct Epstein-Barr virus (EBV) typing on peripheral blood mononuclear cells: no association between EBV type 2 infection or superinfection and the development of acquired immunodeficiency syndrome-related non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1999; 93: 3949–3955.

85. Wu YM, Yan J, Ojcius DM, Chen LL, Gu ZY, Pan JP. Correlation between infections with different genotypes of human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in subgingival samples and periodontal status of patients. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 3665–3670.

86. Kato A, Imai K, Ochiai K, Ogata Y (2013) Higher prevalence of Epstein–Barr virus DNA in deeper periodontal pockets of chronic periodontitis in Japanese patients. *PLoS ONE* 8(8):e71990

87. Kieff E, Rickinson AB (2007) Epstein–Barr virus and its replication. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM (eds) *Fields virology*, 5th edn. Lippincott-Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, pp 2603–2654

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а _____

број индекса _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, _____

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора _____

Број индекса _____

Студијски програм _____

Наслов рада _____

Ментор _____

Потписани/а _____

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, _____

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, _____

1. Ауторство - Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.