

Patogénesis de la Enfermedad Periodontal

Adolfo Contreras R.*

Palabras claves:

Enfermedad Periodontal,
Periodontitis,
Placa Bacteriana.

RESUMEN:

La periodontitis es una enfermedad que afecta los tejidos de soporte y protección periodontal, los signos y síntomas que genera son inflamación, sangrado, pérdida de inserción, movilidad dental, pérdidas óseas y bolsas periodontales.

Tales cambios poseen una base microbiológica, en especial los factores de virulencia presentes en algunos géneros bacterianos explican cuando menos en gran parte los diversos mecanismos que interactúan en la patogénesis de la enfermedad periodontal.

El concepto de especificidad bacteriana en esta entidad cobra en la actualidad importancia, y las diversas formas de enfermedad periodontal se asocian con géneros periodontopatógenos específicos. Los estudios revelan que sólo un pequeño número de las 300 especies encontradas en la placa bacteriana subgingival se asocian con periodontitis, de las cuales las más frecuentemente implicadas son:

Actinomyces actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis e intermedius, Capnocytophaga spp, Eikenella corrodens, Fusobacterium nucleatum, Wolinella recta y Eubacterium spp.

El conocimiento de sus factores de virulencia, permitirá entender mejor esta enfermedad y además ofrece al clínico una serie de alternativas con futuras implicaciones terapéuticas como: a) uso de agentes específicos que eliminen la flora patógena, b) inmunización para prevenir la colonización de bacterias periodontopáticas o, c) facilitar la recolonización de las bolsas periodontales con especies bacterianas compatibles con salud.

* Profesor auxiliar Departamento de Estomatología, Universidad del Valle, Cali-Colombia.

Cuando al examinar un paciente que sufre periodontitis, observamos en los tejidos gingivales signos de enfermedad como rubor, supuración, tumor, sangrado, y al explorar con la sonda aparecen bolsas periodontales, nos encontramos frente a una intrincada red de procesos biológicos, algunos de los cuales son causados por los microorganismos que colonizan la bolsa, otros por activación y amplificación del proceso inflamatorio, que lleva en su estado crónico a autoinjuria. Tratemos entonces de entender el fundamento de estos sucesos y los estudios que apoyan la patogénesis periodontal, en una aproximación de las ciencias básicas a las ciencias clínicas.

Numerosos estudios apoyan que la enfermedad periodontal es producida por la infección bacteriana que induce y mantiene en el huésped el proceso inflamatorio. También se conoce que la flora que coloniza la cavidad bucal es una de la más complejas del organismo y comprende más de 300 especies bacterianas, parásitos, levaduras y algunos virus.¹

La microbiota oral se establece rápidamente después del nacimiento, adaptándose al ambiente edéntulo del recién nacido, esta fase temprana de la colonización bacteriana es modulada por la inmunidad pasiva transmitida de la madre, posteriormente el niño genera una respuesta inmune activa estableciéndose un equilibrio entre el huésped y las bacterias. Este equilibrio es generalmente compatible con el desarrollo de una microbiota oral nativa que es capaz de convivir en armonía con los tejidos del huésped.²

Algunos géneros bacterianos causan inflamación y destrucción de los tejidos periodontales por diversas vías: toxicidad bacteriana o activando mecanismos indirectos.³ Los periodontopatógenos principalmente involucrados son Actinomyces, Porphyromonas, Bacteroides, Fusobacterium Eikenella, Capnocytophaga, Espiroquetas, Streptococcus, entre otros.⁴

La compleja interacción entre microorganismos orales puede en algunos casos afectar la patogenicidad de otros, y una respuesta inmune adecuada del huésped ante la placa bacteriana tendrá un efecto modulador sobre su virulencia. La salud de los tejidos periodontales es mantenida en un estado relativamente estable con una destrucción mínima de los tejidos y la reparación/regeneración de las estructuras afectadas; alteraciones en estos procesos pueden explicar los períodos explosivos de actividad de la enfermedad periodontal.^{5,6,7}

EL PAPEL DE LAS BACTERIAS EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

Loesche,⁸ describe en su teoría no específica de la placa como factor etiológico de enfermedad periodontal, que una masa creciente de microorganismos puede generar el suficiente estímulo nocivo que induce una respuesta inflamatoria en el individuo, como sucede en las gingivitis.

Por otro lado, entidades como la periodontitis juvenil localizada y la rápida

progresiva están asociadas con una flora bien definida que incluye *Actinomyces actinomycetemcomitans*, (*A.a.*), *Bacteroides gingivalis*, etc.^{9,11} Una de las dificultades para establecer relación causal entre bacterias y destrucción tisular es no tener un criterio absoluto para determinar actividad de la enfermedad. La simple presencia de inflamación no indica pérdida de inserción,^{12, 13} como tampoco la presencia de bolsas periodontales lo es de enfermedad activa. Además no existe una correlación directa entre la presencia de periodontopatógenos y actividad de la enfermedad; en parte por la complejidad de la flora y por nuestra inhabilidad para entender totalmente la respuesta del huésped.

Las bacterias pueden contribuir a la enfermedad por acción directa mediante toxinas, enzimas y productos metabólicos,^{3, 9, 10} o activando la respuesta inflamatoria del huésped para producir autoinjuria^{4, 15}. Finalmente varias interacciones bacterianas en la región del surco/saco periodontal podrían afectar la composición local de la microbiota favoreciendo o inhibiendo el crecimiento de bacterias patógenas o no patógenas.

Estas complejas interacciones bacterianas no son claramente definidas en la actualidad, pero esta es una excitante área de estudio que podría resultar en el control de las especies patógenas de la cavidad oral.

TOXICIDAD BACTERIANA

Una toxina es una sustancia de origen bacteriano que es capaz de causar daño tisular, se caracteriza por su alto peso molecular y por su capacidad antigénica; algunas pueden actuar como enzimas. Clásicamente las toxinas se dividen en **endotoxinas** y **exotoxinas**. Las exotoxinas son proteínas liberadas al medio externo por organismos vivos y pueden causar daño directo, algunas exotoxinas poseen afinidad por determinado tipo celular, ejem-

plo: **NEUROTOXINA** producida por *Clostridium botulinum* la cual bloquea la liberación de acetilcolina en la placa neural; **LEUCOTOXINAS** producidas por *Staphylococcus aureus* y *Actinomyces actinomycetemcomitans* las cuales lisan polimorfonucleares neutrófilos (PMNs) y **EPI-TELIOTOXINAS** producidas por *B. gingivalis* e intermedius que actúan sobre células epiteliales.^{9, 16, 17}

Experimentos con extractos bacterianos muestran que *Aa* y *Treponema denticola* inhiben la proliferación del endotelio, el factor aislado en *Aa* es termolábil, mientras el de *T. denticola* es termoestable,¹⁸ otros factores inhibitorios para fibroblastos han sido detectados en *Aa*.¹⁹ y *Espiroquetas*.^{20, 24}

La leucotoxina producida por *Aa* parece tener correlación con la enfermedad periodontal^{21, 22} y se encuentra asociada a la pared externa del microorganismo, se excreta al medio en vesículas y algunas cepas son más leucotóxicas que otras, como la informada por Preus,²³ la cual es infectada por un *Bacteriófago* incrementando su virulencia.²⁴

Baheni y otros²⁵ fueron los primeros en observar que los PMNs son rápidamente lisados por cepas de *Aa* in vitro cuando la proporción células:bacterias es de por lo menos 1:25.

Miyasaki y otros informaron que a bajas concentraciones de bacterias 1:10, los PMNs las fagocitaron sin mostrar evidencia de lisis.^{26, 27}

Taichman y otros,²⁸ mostraron que la leucotoxina es capaz de destruir monocitos humanos, y contribuye a la destrucción local de los tejidos por la liberación de enzimas lisosomales de los mismos. Teóricamente anticuerpos contra *A.a.* protegerían los PMN contra la acción de la leucotoxina como lo demostró Tsai²⁹ in vitro, utilizando sueros de pacientes con periodontitis juvenil localizada, pero la extensa

destrucción de los tejidos en muchos de estos pacientes indica que la acción de los anticuerpos no es eficiente.

Las endotoxinas son lipopolisacáridos estructurales de las bacterias Gram negativas, y se liberan regularmente por lisis bacteriana, sin embargo algunas pueden aparecer como vesículas derivadas de la pared bacteriana^{17, 23} y su liberación no necesariamente implica lisis celular; esto origina discrepancias con respecto a la clasificación de las toxinas. Los componentes de las endotoxinas son el lípido A ubicado más internamente en la pared, hacia el centro se localiza un núcleo de polisacáridos y en la parte externa el antígeno somático O. El lípido A es el responsable de toxicidad directa y los carbohidratos le confieren propiedades hidrofílicas aumentando su patogenicidad y resistencia a la fagocitosis.⁽¹⁷⁾ El poder inmunogénico de los antígenos somáticos puede modular la toxicidad de la endotoxina. El papel de las endotoxinas en la patogénesis periodontal no es aún claro pues resulta difícil extrapolar los resultados in vitro a la realidad in vivo. Se ha encontrado correlación entre presencia de Endotoxinas en fluido gingival crevicular e inflamación gingival⁽³⁰⁾, también hay evidencias disponibles de que puede incrementar la resorción ósea in vitro^(31, 33, 35).

La capacidad lítica de los osteoclastos también se aumenta por el Ácido Lipoteicoico y los dipeptidos de aureina presentes en las bacterias,⁽³⁶⁾ Iino y Hops⁽³⁴⁾, mostraron que la potencia de las endotoxinas varía dependiendo del género bacteriano de donde provenga, y su acción puede ser contrarrestada, por ejemplo usando Indometacina contra *A.a.* Las Endotoxinas también poseen la capacidad de estimular a las células fagocíticas, para que descarguen su contenido lisosomal extracelularmente, generando daño a los tejidos y liberación de sustancias vasoactivas o quimiotácticas para PMNs o Macrófagos, amplificando la reacción inflamatoria o activando el complemento por la vía alterna⁽³⁷⁾.

Las endotoxinas también alteran el pronóstico y el proceso de reparación post cirugía periodontal, al interferir con la cicatrización por su capacidad de permanecer absorbidas al cemento radicular.⁽⁴⁰⁾

ENZIMAS

Las bacterias muestran su patogenicidad en parte por la capacidad de invasión tisular,⁽³⁸⁾ sin embargo, debe diferenciarse la presencia pasiva de bacterias en los tejidos, de la proliferación bacteriana durante los episodios de infección aguda.⁽¹⁾

Algunos enzimas de origen bacteriano o del individuo mismo facilitan la penetración bacteriana, al alterar o remover barreras estructurales o destruir proteínas como las inmunoglobulinas^(9, 13, 41).

Las enzimas importantes de origen bacteriano son proteasas, colagenasas, hialuronidasas, condroitin sulfatasas. Las primeras se han encontrado en espiroquetas y *B. gingivalis*, que también producen gelatinasa, colagenasa y una proteasa similar a la tripsina.^(9, 39) Las hialuronidasas han sido encontradas en gram +,⁽⁴²⁾ que normalmente no se considera juegan un papel importante en los estadios avanzados de la enfermedad periodontal^(43, 44, 45).

Adicionalmente, se han informado de otras enzimas con posible implicación en patogénesis tales como fibrinolisin, aminopeptidasas, fosfolipasa A, fosfatasas ácida y alcalina.^(9, 46)

Un estudio reciente,⁽⁴⁷⁾ demostró que *A.a.* invade una línea epitelial oral humana in vitro. La bacteria se recobró de un lisado de células previamente infectadas y tratadas con gentamicina; por microscopía electrónica y de luz se observaron bacterias localizadas en vacuolas citoplasmáticas. La diferencia en invasividad dependió de la morfología de colonia, la cepa lisa fue más invasiva que la rugosa y la transición de cepa lisa a rugosa podría explicar la natu-

raleza episódica de la enfermedad periodontal.

PRODUCTOS METABOLICOS

Los productos finales del metabolismo bacteriano como el amonio, indol, sulfuro de hidrógeno, ácidos propiónico y butírico, poliaminas como putrescina, cadaverina, espermina también pueden contribuir a la patogénesis periodontal.⁽³⁰⁾

La composición de la microbiota oral podría estar influenciada por la relativa toxicidad de estos productos in vivo, algunos de los mismos podrían incluso lisar especies bacterianas o facilitar la proliferación de otras,⁽⁴⁶⁾

Alteraciones locales en el PH, el metabolismo bacteriano, y el potencial redox de los tejidos alterarían la sobrevivencia de algunos géneros bacterianos.

TOXICIDAD INDIRECTA

EFEECTO SOBRE LA CELULAS DEL HUESPED

Algunas enzimas bacterianas como peroxidasa, catalasa y superóxido dismutasa pueden jugar un importante papel al neutralizar los mecanismos antibacteriales del huésped que incluyen peróxido de hidrógeno, singletes de oxígeno, anión superóxido y radicales hidroxilos de los PMNs.⁽⁴⁶⁾ Los cambios en el potencial redox de los tejidos podrían favorecer el establecimiento de anaerobios que se asocian a periodontitis avanzada.

Las proteasas bacterianas también generan injuria indirecta al destruir la actividad funcional de los anticuerpos, la eliminación de anticuerpos opsonizantes potencia el efecto dañino de las bacterias al interferir la fagocitosis. La destrucción de la IgA que impide la adhesión bacteriana,

deja el campo libre para el establecimiento de una infección localizada.⁹

Algunas proteasas bacterianas podrían actuar sobre inhibidores de las colagenasas humanas como la alfa 2 antitripsina y la alfa 2 macroglobulina que inactivan colagenasas en los tejidos, y aumentarían entonces la tasa de destrucción del colágeno.⁽⁴⁸⁾

Las propiedades mitogénicas de ciertas bacterias pueden contribuir a la estimulación de células linfoides supresoras, alterándose la respuesta inmune.⁽⁴⁹⁾

Ciertas especies bacterianas como espiroquetas, *Fusobacterium nucleatum*, *A.a.* y *Centipeda periodontii* son capaces de interferir con la activación de los linfocitos in vitro,^(47, 49) es probable que el mismo mecanismo ocurra in vivo. Si las defensas del organismo son alteradas, se presenta invasión y diseminación bacteriana de los tejidos periodontales, esto se demostró experimentalmente en animales donde se presenta septicemia y muerte.^(50, 51, 52, 53)

EFECTOS SOBRE LAS POBLACIONES BACTERIANAS

Como se indicó con anterioridad, las bacterias poseen diversa capacidad de proliferar y utilizar sustratos que hacen que algunos microorganismos posean ventajas ecológicas sobre otros.⁽⁴⁶⁾ Unos de ellos elaboran variados productos metabólicos como ácidos grasos, peróxido de hidrógeno, catalasas o bacteriocinas que suprimen el crecimiento de otras especies, de esta manera se organiza el complejo nicho ecológico del área surco/saco periodontal. Un buen ejemplo de mutua inhibición es el de *A.a.* y *Streptococcus sanguis*. (Hammond) demostró que una bacteriocina de *A.a.* inhibe el *Streptococo*.

Hillman y Socransky⁽⁵⁴⁾ y Hillman y otros⁽⁵⁵⁾ demostraron relaciones de comensalismo o antagonismo entre periodonto-

patógenos y Streptococos. *S. sanguis* y *S. uberis* inhiben el crecimiento in vitro de *B. forsythus*, *Wolinella recta*, *B. gingivalis*, *B. intermedius*, *F. nucleatum*, *E. corrodens*, *C. sputigena* y A.a., debido a la capacidad de algunas cepas de Streptococcus de producir peróxido de hidrógeno.

Takazoe,⁵⁶ encontró que las bacteriocinas del género bacteroides no sólo actuaban contra gram +, si no que inhibían otros gram —.

Podemos concluir que estas interacciones bacterianas juegan un importante papel en la organización y localización de la placa bacteriana en área surco/saco periodontal.

El establecimiento de una flora con bacterias de género Streptococcus en un huésped con sus mecanismos defensivos normales, debería interferir con la colonización por bacterias periodontopatógenas.⁵⁷

La presencia de reservorios naturales como las tonsilas⁵⁸ o la lengua, pueden contribuir a la recolonización de la bolsa periodontal después de tratamiento con antibióticos.

DAÑO TISULAR MEDIADO POR EL HUESPED

Parte de la destrucción periodontal podría ser el resultado de mecanismos mediados por el huésped.¹⁰ Ya se conoce que el fenómeno inflamatorio puede ser generado por diversos tipos de estímulos, que incluyen trauma físico, químico o térmico.¹⁰

Las bacterias pueden disparar respuesta inflamatoria por los constituyentes antigénicos que activan el complemento o causan liberación de citoquinas en células sensibilizadas.^{14, 37} La permanencia de las bacterias o sus productos generan estímulos prolongados que culminan en el establecimiento de inflamación crónica.^{10, 59}

1. Respuesta inmune y activación del Complemento

La activación del complemento por la vía clásica ocurre cuando anticuerpos Ig M o Ig G reaccionan con antígenos bacterianos formando complejos antígeno (Ag) anticuerpo (Ac), la fracción Fc de las inmunoglobulinas tienen la capacidad de fijar el complemento.

Los pacientes con Periodontitis poseen elevados títulos de Ac séricos contra microorganismos pre-dominantes en la flora subgingival.^{14, 60, 61, 63, 65.}

Algunos de los Ac se difunden a través de los vasos sanguíneos, otros son sintetizados localmente.^{62, 66, 68.}

El control de la cantidad de Acs es provisto por regulación de subpoblaciones de linfocitos ayudadores o supresores,^{69, 70} sin embargo no es aún claro cuál sería el mecanismo que opera predominantemente la región surco/saco periodontal.

La síntesis de Ig A secretoria contra A.a. se ha detectado en pacientes con y sin periodontitis, sin embargo los niveles de Acs son significativamente más elevados en individuos con bolsas periodontales.⁷¹ La Ig A posee acción protectora al interferir con la adhesión y colonización de las bacterias a los tejidos. La activación de complejos Ag-Ac puede activar el complemento, con la liberación de mediadores de la inflamación, estimulando los PMNs para que realicen degranulación externa y dispongan toda su batería hidrolítica en el ambiente extracelular. La importancia de estos fenómenos está en discusión, pero hay evidencias que los complejos inmunes aparecen en los pacientes con gingivitis y periodontitis.^{14.}

El ácido lipoteicoico y los Lipopolisacáridos también activan el complemento por la vía alterna, esto resulta beneficioso al controlar el ataque bacteriano, pero la destrucción del tejido periodontal sería también inevitable.

En resumen el daño tisular es causado por liberación del arsenal enzimático de PMNs y Monocitos, la activación del complemento por la vía clásica y alterna, la estimulación de linfocitos y la liberación de linfoquinas que estimulan la resorción ósea o alteran el recambio del colágeno.^{35, 33, 37.}

LESION PERIODONTAL INFLAMATORIA

Page y Schoeder,⁷² proponen 4 etapas en la progresión de la enfermedad periodontal. Sin embargo, no existe evidencia directa de que el desarrollo cronológico propuesto por ellos se presente in vivo.

A continuación se integra lo que se conoce acerca de los mecanismos del proceso inflamatorio y la progresión de la enfermedad periodontal.

En las etapas tempranas de la inflamación, (lesión inicial), se incrementa la permeabilidad vascular con acumulación de local de PMNs e incremento en el tamaño de los tejidos gingivales, posteriormente se genera destrucción de fibras colágenas perivasculares. Esta etapa está mediada por la liberación de Histamina de los mastocitos; posteriormente con la activación del complemento se incrementan las kinasas que mantienen la inflamación cuando la histamina ha sido inactivada. Finalmente actúan los Leucotrienos y las prostaglandinas que provienen del Acido araquidónico.^{17, 59, 73, 74.}

El A. araquidónico es liberado por acción de la fosfolipasa A2 sobre los fosfolípidos de membrana de las células.^{75, 76} La colagenólisis podría ser resultado de la liberación de proteasas de los PMNs.^{17, 78.}

Los factores quimiotácticos para los PMNs, dependientes de la activación del complemento, llevan más células al sitio inflamado convirtiendo al PMN en el ele-

mento central de la perpetuación del fenómeno.¹⁷ El incremento en la permeabilidad vascular y la liberación de enzimas lisosomales también activa las sustancias vasoactivas de las plaquetas, además las sustancias controladoras de la cronicidad como los inhibidores alfa 1 antitripsina, alfa 2 macroglobulina y el inhibidor del C1, podrían ser destruidos por proteasas bacterianas.⁷⁸ En la denominada lesión temprana se acumulan linfocitos y macrófagos, además podrían alterarse los fibroblastos con interferencia en la regeneración de fibras colágenas. Las actividades citotóxicas ulteriores serían el resultado de estimulación antigénica de subpoblaciones de linfocitos T, previamente sensibilizados por monoquinas provenientes de macrófagos que han procesado antígenos microbianos. Algunas bacterias pueden contribuir directamente a la inhibición de los fibroblastos,^{19, 20} mientras algunas linfoquinas perpetuarían la respuesta inflamatoria,³⁴ otras favorecerían la resorción ósea a través del factor activador del osteoclasto, que es la misma interleukina 1 beta.^{33, 79, 80, 81.}

La síntesis local de anticuerpos predomina en las etapas tardías de la inflamación, (lesión establecida y tardía), esto favorece la formación de complejos inmunes. Aunque la vida media de las inmunoglobulinas es relativamente corta, la permanencia de células plasmáticas en los tejidos inflamados garantizaría por un lado la activación del complemento, y por otra parte la acción continua de los macrófagos que intentan remover los complejos inmunes. Además las células que participan localmente producen una serie de sustancias, las citoquinas que poseen una serie de acciones biológicas diversas, algunas de ellas implicadas en destrucción tisular.^{33, 59, 80, 81.}

CONCLUSIONES

Resulta evidente que los mecanismos enunciados juegan un papel preponderante

que explica al menos en gran parte la patogénesis de la enfermedad periodontal.

Aunque no se conoce todavía cuál de los mismos tenga mayor importancia para explicar la destrucción de los tejidos periodontales, es relevante el papel de las bacterias por los mecanismos de toxicidad directa, o indirecta.

La reacción de daño tisular mediado por el huésped al activar y perpetuar el fenómeno inflamatorio complementa la teoría sobre la patogénesis periodontal.

La genética no se consideró en esta revisión pero debe aclararse que los genes que regulan el sistema inmune codifican la respuesta del huésped a la infección bacteriana y hacen a los individuos susceptibles o resistentes a las periodontopatías.

Las proteínas que se expresan en la superficie de las células conocidas como el complejo mayor de histocompatibilidad, (CMH), podrían actuar como receptores para facilitar la adhesión bacteriana, además conocemos que algunas formas de periodontitis poseen características de transmisión vertical.

Resultaría importante buscar correlación entre enfermedad periodontal y virus, recientemente se conoce que el Virus de la inmunodeficiencia Humana (HIV), es un factor predisponente para la colonización bacteriana en el surco/saco periodontal. Otros virus, en especial la Familia Herpesviridae, por su tropismo por los tejidos orales podrían ser importantes en esta patología.

Muchas preguntas continúan sin respuesta, algunas nuevas surgirán en la medida que los estudiosos de este apasionante campo publiquen sus resultados; los avances en la microbiología oral, las nuevas armas para el diagnóstico periodontal, el establecimiento de poblaciones o individuos a riesgo y la aplicación de los conoci-

mientos de la biología molecular en la periodoncia, permitirán que los clínicos tengan en el futuro alternativas para el manejo y tratamiento de una de las enfermedades de mayor prevalencia mundial que afecta a los humanos sin distinciones de sexo, raza, edad o condición social.

SUMMARY

Despite of that in the Earth the bacterial species reach a million, only 300-400 species can be detected regularly in samples obtained from subgingival plaque. Probably 10-20 species can play a crucial role in pathogenesis of destructive periodontal diseases.

In this review the different factors of microbial virulence implicated in tissue damage and missed fiber attachment and alveolar bone, have been analyzed.

Several direct virulence factors, such as toxins, enzymes, metabolites, etc; plus the indirect ones bacterial interactions, infection by phages, could activate the humoral and cellular immunity and stimulate the inflammatory response secondarily affecting the Periodontum integrity.

Either the direct or indirect pathways accounts for periodontal injury.

The full knowledge of pathogenetic mechanisms of periodontitis would improve the development treatment strategies for this important disease.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. LISTGARTEN M.A. Pathogenesis of periodontitis. *J. Clin Periodontol* **13** : 418-425, 1986.
2. GENCO RJ., Slots J. Host responses in periodontal diseases. *J. Dent Res* **63** : 441-460, 1984.

3. VAN PALENSTEIN - HELDER-MENN WH. Microbial etiology of periodontal disease. *J Clin Periodontol* **8**:261-280, 1981.
4. SERIO FJ., Siegel MA. Peridontal disease a review. *Cutis*: 55-62, 1991.
5. GOODSON JM, et al. Patterns of progression and regression of advanced destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* **9**: 472-481, 1982.
6. HAFFAJEE Ad., Socransky SS.. Attachment level changes in destructive periodontal diseases. *J Clin Perio* **13**:461-472, 1986.
7. SUSUKI J.1988. Diagnosis and classification of periodontal diseases. *Dental Clin of North Am.* **2**:195-215, 1988.
8. LOESCHE WJ. Chemotherapy of dental plaque infections . *Oral Sci Rev* **9**:65-107, 1976.
9. SLOTS J, Genco RJ. BLACK-pigmented *Bacteroides* species, *Capnocytophaga* and *A.a.* in human periodontal disease: Virulence factors in colonization, survival and tissue destruction. *J Dent Res* **63**:412-421, 1984.
10. TAICHMAN NS, Tsai C, Shenker BJ. Neutrophil interactions with oral bacteria as a pathogenic mechanism in periodontal diseases. *Advances in inflammation research* Vol **8**. New York Raven Press, 113-142, 1984.
11. ZAMBON JJ. *A.a.* in human periodontal diseases. *J Clin Periodontol* **12**:1-20, 1985.
12. LISTGARTEN MA, Schifter Cc, Laster L. 3-year longitudinal study of periodontal status of an adult population with gingivitis. *J Clin Periodont* **12**:225-238, 1985.
13. AFRICA CW, Parker Jr, Reddy J. Bacteriological studies of subgingival plaque in a periodontitis resistant population. *J Perio Res* **20**:1-7, 1985.
14. GENCO RJ., Host responses in periodontal Diseases: current concepts. *J Periodontol* **63**:338-355, 1992.
15. VAN DIKE TE, Levine MJ, Genco RJ. Neutrophil function and oral disease. *J Oral Pathol* **14**:95-120, 1985.
16. STEPHEN J, Pietrowski Ra. *Bacterial Toxins*. Washington D.C. : American Society of Microbiology, 1981.
17. TAUSSIG MJ. *Processes in pathology and microbiology*, 2d Ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1984.
18. TAICHMAN NS, et el. Suspected periodontopathic organisms alter in vitro proliferation of endothelial cells. *J Perio Res* **19**:583-586, 1984.
19. SHENKER BJ, Kushner ME. Tsai CC. Inhibition of fibroblast in vitro by *A.a.* *Infect Immun* **38**:986-992, 1982.
20. BOEHRINGER H, Taichman NS, Shenker BJ, 1984 Suppression of fibroblast proliferation by oral spirochetes. *Infect Immun* **45**:155-159, 1984.
21. TSAI CC, et al Extraction and isolation of a leukotoxin from *A.a.* with Polymyxin B. *Infect Immun* **43**:700- 705, 1984.
22. TSAI CC, Taichman Ns. Dynamics of infection by leukotoxic strains of *A.a.* in juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* **13**:330-331, 1986.
23. NOWOTNY A, Behling UH, Hammond B, et al. Release of toxic microvesicles by *A.a.* in juvenile periodontitis. *J Clin Periodont* **37**:151-154, 1982.
24. PREUS HR, et al., Association between bacteriophage infected *A.a.* and rapid periodontal destruction. *J Clin Perio* **14**:245-247, 1987.
25. BAHENI P, Listgarten MA, Taichman NS, et el. Electron microscopic study of the interaction of oral microorganisms with polymorphonuclear leukocytes. *Arch oral Biol* **22**:685-692, 1977.
26. MIYASAKI KT, et al . Oxidative and non oxidative killing of *A.a.* by human neutrophils. *Infect Immun* **53**:154-160 1986.
27. BERTHOLD P, Listgarten MA, Distribution of *A.a.* in localized juvenile periodontitis plaque. *J Perio Res.* **21**:473-485, 1986.
28. TAICHMAN NS, et al. Biochemical and morphological characterization of the killing of the human monocytes a leukotoxin derived from *A.a.* *Infect and Immun* **28**:258-268, 1980.
29. TSAI CC, et al. Serum neutralizing activity against *A.a.* leukotoxin in juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* **8**:338-348, 1981.
30. FINE DH, Mandel Id.. Indicators of periodontal disease activity:an evaluation. *J. Clin Periodontol* **13**:533-546 1986.
31. HAUSMANN E. Effects of lipopolysaccharides on bone resorption in tissue culture. *Calc. Tissue Res.* **9**:272-282, 1972.
32. SVEEN K, Skaug N. Bone resorption stimulated by lipopolysaccharides from *Bacteroides*, *Fusobacterium*, and *Veillonella*, and the lipid A and the polysaccharide part of *Fusobacterium* lipopolisaccharide. *Scand J. Dent. Res* **88**:535-542, 1980.
33. McFARLANE CG, el al. The release of interleukin 1B Tumor factor necrosis alpha and interferon gamma by cultured peripheral blood mononuclear cells from patients with periodontitis. *J. Perio Res* **25**:207-214, 1990.
34. IINO Y, Hoops Rm., The bone resorbing activities in tissue culture of lipopolisaccharides from the bacteria *A.a.*, *Bacteriodes gingivalis* and *Capnocyto-*

- phaga ochracea isolated from human mouths. *Arch oral Biol* **29**:59-63, 1984.
35. STERRETT JD. . The osteoclast and periodontitis. *J Clin Periodontol* **13**:258-269, 1986.
 36. DEWHIRST FE., N-acetyl muramyl dipeptide stimulation of bone resorption in tissue culture. *Infect immun* **35**:133-137, 1982.
 37. ROITT M, Lehner T. Immunology of oral diseases, 2d ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1983.
 38. SCHOEDER HE. Pathobiologie oraler Strukturen: Parodont. Basel Karger, 1983.
 39. VAN STEENBERGER TJM, et al. Pathogenic synergy: mixed infections in the oral cavity. *Leeuwenhoek* **50**:789-798 1984.
 40. ADRIAENS PA, et al. Bacterial invasion of root cementum and radicular dentin of periodontally diseased teeth in humans: a reservoir of periodontopathic bacteria. *J Periodontol* **59**:222-230, 1988.
 41. TODA K, Otsuka M, Ishikawa Y, et al. Thiol-dependent collagenolytic activity in culture media of *Bacteriodes gingivalis*. *J Perio Res* **19**:372-371, 1984.
 42. VAN PALESTEIN-HELDERMANN WH, Hougeveen CJ. Bacterial enzymes and viable counts in crevices of non-inflamed and inflamed gingiva. *J Perio Res* **11**:25-34, 1976.
 43. SOCRANKY SS., Microbiology of periodontal disease. Present status and future considerations. *J Periodontol* **48**:497-504, 1977.
 44. SLOTS J., The predominant cultivable microflora of advanced periodontitis. *Scand J Dent Res*. **85**:114-121, 1977.
 45. TANNER ACR, et al. A study of the bacteria associated with advancing periodontitis a man. *J Clin periodontol* **6**:278-307, 1979.
 46. CARLSSON J., Microbiology of plaque associated periodontal disease. *Textbook of clinical periodontology*. Copenhagen :Munksgaard, 125-153, 1983.
 47. MEYER D, et al. Evidence for invasion of a Human Oral Cell line by A.a. *Infect and Immun* **27**:19-2326, 1991.
 48. STASHENKO P, Jandinki J, Fuyiyoshi P, et al. Tissue level of bone resorptive Cytokines in periodontal disease. *J Periodontol* **62**:504-509, 1991.
 49. SHENKER BJ, DiRienzo JM, Suppression of the human peripheral blood lymphocytes by *Fusobacterium nucleatum*. *J Immunol* **132**:2357-2362, 1984.
 50. SALLAY K, Listgarten M, Sanavi F, et al. Bacterial invasion of oral tissues of immunosuppressed rats. *Infect Immun* **43**: 1091-1094 1984.
 51. SANAVI F, Listgarten MA, Boyd F, et al. The colonization and establishment of invading bacteria in periodontium of ligature-treated immunosuppressed rats. *J Periodontol* **56**:273-280, 1985.
 52. MILLER DR, Lamster IB, Chasens AI., Role of the polymorphonuclear leukocyte in periodontal health and disease. *J Clin Periodontol* **11**:1-15, 1984.
 53. HAMMOND BF, Stevens RH, Boneer P, et al. Toxicity of A.a. extracts for crevicular bacteria. *J Dent Res* **63**:263. Abstract No 830, 1984.
 54. HILLMAN JD, Socransky SS, Bacterial interference in the oral ecology of A.a. and its relationship to human periodontosis. *Arch oral Biol* **27**:75-77, 1982.
 55. HILLMAN JD, Socranky SS, Shivers M, The relationship between streptococcal species and periodontopathic bacteria in human dental plaque. *Arch Oral Biol* **30**:791-795, 1985.
 56. TAKAZOE I, Nakamura T, Okuda K, Colonization of the subgingival area by *Bacteriodes gingivalis*. *J Dent Res* **63**:422-426, 1984..
 57. HILLMAN JD, Socranky SS. The theory and application of bacterial interference to oral diseases. In : Myers HM ,Ed *New Biotechnology in Oral Research*. Basel: Karger 1-17, 1989.
 58. ZAMBON JJ, Reynolds HS, Slots J, Black-pigmented *Bacteriodes* spp. in the human oral cavity. *Infect Immun* **32**:198:203, 1981.
 59. De ECHEVERRY Maria Teresa, Inflamacion parte II Mediadores Quimicos. *Revista Estomatologia* **2**:29-33, 1992.
 60. SCHENCK K. Ig G, Ig A, and Ig M serum antibodies against lipopolysaccharide from *Bacteriodes gingivalis* in periodontal Health and disease. *J Perio Res* **20**: 368-377, 1985.
 61. TEW JG, Marshall DR, Moore WEC, et al, serum antibody reactive with predominant organisms in the subgingival flora of young adults with generalized severe periodontitis. *Infect Immun* **48**:303-311, 1985.
 62. TEW FJ, Marshall DR, Burmeister JA, et el Relationship between gingival crevicular fluid and serum antibody titers in young adults with generalized and localized periodontitis. *Infect Immun* **49**:487-493, 1985.
 63. TOLO K, Schenck K, Activity of serum immunoglobulin G,A, and M to six anaerobic oral bacteria in diagnosis of periodontitis. *J Perio Res* **20**:113-121, 1985.

64. VINCENT JW, Susuki JB, Falker WA JR, et al. Reaction of human sera from juvenile periodontitis rapidly progressive periodontitis, and adult periodontitis patients with selected periodontopathogens. *J Periodontol* **56**:464-469, 1985.
65. EBERSOLE JL, Taubman MA, Smith DJ, Gingival crevice fluid antibodies to oral microorganism II. Distribution and specificity of local antibody responses. *J Perio Res* **20**:349-356, 1985.
66. SUZUKI JB, Martin SA, Vincent JW, et al. Local and systemic production of immunoglobulins to periodontopathogens in periodontal disease. *J Periodont Res* **19**:599-603, 1984.
67. EBERSOLE JL, Taubman MA, Smith DJ. Gingival crevice fluid antibody to oral microorganisms. II. Distribution and specificity of local antibody responses. *J Periodont Res* **20**:349-356, 1985.
68. SMITH DJ, Gadalla LM, Ebersole JL, et al. Gingival crevicular fluid antibody to oral microorganisms. III. Association of gingival homogenate and gingival crevicular fluid antibody levels. *J Periodont Res* **20**:357-367, 1985.
69. SEYMOUR GJ, Cole KL, Powell RN. Analysis of lymphocyte populations extracted from chronically inflamed human periodontal tissues. II. Blastogenic response. *J Periodont Res* **20**:571-579, 1985.
70. STASHENKO P, Resmini LM, Haffajee AD, et al. Helper and suppressor T cells in periodontal disease. *J Periodont Res* **20**:515-521, 1985.
71. SMITH DJ, Ebersole JL, Taubman MA, et al. Sali-vary IgA antibody to *Actinobacillus actinomycescomitans* in a young adult population. *J Periodont Res* **20**:8-11, 1985.
72. PAGE RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* **33**:235-249, 1976.
73. GOODSON JM, Dewhirst FF, Brunetti a. Prostaglandin E2 levels in human periodontal disease. *Prostaglandins* **6**:81-85, 1974.
74. OFFENBACHER S, Farr DH, Goodson JM. Measurement of prostaglandin E in crevicular fluid. *J Clin Periodontol* **8**:359-367, 1981.
75. EL ATTAR TMA, Lin HS, Killoy WJ, et al. Hydroxy fatty acids and prostaglandin formation in diseased human periodontal pocket tissue. *J Periodont Res* **21**: 169-176, 1986.
76. SAMUELSSON B. Leukotrienes: Mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. *Science* **220**: 568-575, 1983.
77. WHITE RK, Montgomery S. Leukotrienes: Inflammatory mediators - A review. *Oral Surg* **61**:514-518. 1986.
78. SANDHILM L. Proteases and their inhibitors in chronic inflammatory periodontal disease. *J Clin Periodontol* **13**:19-26, 1986.
79. TEN CATE AR. Oral histology: Development, structure, and function, 2d ed. Saint Louis: CV Mosby Co, 88-100. 1985.
80. DEWHIRST FE, Stashenko PP, Mole JE, et al. Purification and partial sequence of human osteoclast-activating factor: identity with interleukin-1-beta. *J Immunol* **135**:2562-2568, 1985.
81. MASADA M, Persson R, Kenney JS, et al. Measurement of interleukin-1 alpha and 1-beta in gingival crevicular fluid: Implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol* **25**:156-163, 1990.