

Porphyromonas gingivalis – osobna iskaznica parodontopatogena

Larisa Musić, dr. med. dent.¹Dr. sc. Ivan Puhar²

[1] Dom zdravlja Čakovec

[2] Zavod za parodontologiju, Sveučilište u Zagrebu Stomatološki fakultet

Porphyromonas gingivalis je Gram-negativni, asaharolitični, nepokretni kokobacil i striktni anaerob. Pripada skupini crno pigmentiranih *Bacteroidesa* koji karakteristično formiraju crno ili smeđe pigmentirane kolonije na krvnog agaru (Slika 1). *P. gingivalis* mijenjao je ime nekoliko puta kako se rasplitala filogeneza crno pigmentiranih *Bacteroidesa*. Posljednju je promjenu imena doživio kad je rod *Bacteroides* podijeljen u tri zasebna, ali povezana roda, *Bacteroides*, *Porphyromonas* i *Prevotella* (1, 2).

Od kasnih 70-ih pa do danas znanstvena su istraživanja povezala *P. gingivalis* s parodontnom bolešću. *P. gingivalis* tako pripada skupini od desetak parodontopatogenih bakterija, a koja također uključuje i *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (o kojoj se pisalo u broju 28), *Tannerella forsythii* i *Treponema denticola*.

Biofilm i mikrobn kompleks

Površinu zuba koloniziraju iznimno složene bakterijske zajednice koje formiraju biofilm kojeg neminovno povezujemo s nastankom karijesa i parodontne bolesti. Sam mehanizam nastanka, rasta te sazrijevanja biofilma veoma je kompleksan, a sastav mu se mijenja kroz vrijeme. Nastanak biofilma započinje adhezijom ranih, većinom Gram-pozitivnih kolonizatora na zubnu površinu. Slijedi naseljavanje Gram-negativnih koka te zatim Gram-pozitivnih i Gram-negativnih štapića i filamenata. Neuklanjanje supragingivnog biofilma konačno dovodi do njegovog subgingivnog širenja pri čemu se mijenjaju okolišni uvjeti, što utječe na promjenu sastava. Logično je kako su okolišni uvjeti iznad i ispod površine gingive drastično različiti; razlikuju se u vidu pH, redoks potencijala i dostupnosti nutrijenata te stoga dolazi do promjene sastava ka Gram-negativnim, anaerobnim vrstama.

Trenutno poznate parodontopatogene bakterije predstavljaju tek djelić vrsta koje se mogu naći u zreom biofilmu no pojedine grupe ovih organizama su daleko najviše zastupljene u uzorcima uzetim s oboljelih mjesta u usporedbi sa zdravima. Općenito je prihvaćeno kako je nastanak parodontne bolesti potaknut promjenama u profilu bakterijske populacije (eng. *population shift*) u biofilmu, koji nastaje kao odgovor na različite čimbeni-

ke vezane uz domaćina i/ili okoliš, a koji mogu selektivno pogodovati rastu patogenih organizama. Povećana prisutnost određenih rodova bakterija zamjećuje se kako subgingivni biofilm sazrijeva. Ti rodovi uključuju, ali nisu isključivo ograničeni na njih, bakterije roda *Treponema*, *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Capnocytophaga*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium*, *Actinobacillus/Aggregatibacter* i *Eikenella* (3).

Određene se bakterije često nalaze zajedno u uzorcima plaka, kako supra-, tako i subgingivnog. Analizom tih bakterijskih skupina željela se definirati njihova veza i ustanoviti postoji li povezanost između određenih skupina i kliničkih parametara bolesti (4). Pokazalo se kako se bakterije doista mogu razdijeliti u pet skupina kojima su dane oznake boja, a naseljavaju i tvore biofilm u različitim fazama. „Crveni“ (*Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*) i „narančasti“ kompleks (*Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum subspecies*, *Eubacterium nodatum*, *Streptococcus constellatus* i tri *Campylobacter species*) najčešće su pronađeni zajedno, a pokazalo se kako kolonizacija bakterijama narančastog kompleksa prethodi crvenom kompleksu. Oba su kompleksa povezana s kliničkim parametrima koji podupiru polimikrobnu prirodu parodontitisa.

P. gingivalis može biti prisutan u malom broju i kod zdravog parodonta i gingivitisa, međutim detektira se u velikom broju kod destruktivnih oblika bolesti te u područjima u kojima bolest progredira.



Slika 1. Tamno smeđe do crno obojene kolonije tipične za crno pigmentirane *Bacteroidesa*. Preuzeto iz (39).

Bakterija potiče sustavni i lokalni imun- osni odgovor domaćina te iskazuje brojne faktore virulencije koji su u literaturi opsežno opisani, poput vezikula vanjske membrane, adhezine, lipopolisaharid (LPS), hemolizine i proteinaze.

Fimbrije i hemaglutinini kao pro- motori adherencije i kolonizacije *P. gingivalis*

Smatra se kako se bakterija unosi u usnu šupljinu od zaraženih pojedinaca pri čemu je slina vektor prijenosa (5). *P. gin- givalis* može nastaniti različite površine u usnoj šupljini, kako tvrdu površinu zuba tako i sluznicu gingive, jezika i obraza. Ona može adherirati i na rane koloni- zatore poput streptokoka i *Actinomyces naeslundii*, ali također i kasnije koloni- zatore poput *Fusobacterium nucleatum*, *Treponemu denticolu* i *Tanerellu forsythiu* (6, 7). Adherirati može i na komponente sline i gingivne cervikalne tekućine (prolinom bogati proteini i glikoproteini, staterini, fibrinogen, fibronektin i lak- toferin) te stanice domaćina i komponente staničnog matriksa. *P. gingivalis* se, dakle, evolucijski izvanredno prilagodio za adheriranje na različite supstrate pritom iskazujući niz adhezivnih mehanizama.

Utvrđeno je kako većina sojeva *P. gin- givalis* na površini ima fimbrije. One su te koje predstavljaju jedan od najvažnijih faktora, ako ne i najvažniji, za adheriranje bakterije na najrazličitije, prije spomen- ute, supstrate u usnoj šupljini. Velike fim-

brije (eng. *major fimbriae*) tvore fimbrilin- ske monomerne podjedinice koje kodira *fimA* gen (8). Inaktivacijom *fimA* gena i gubitkom funkcije proizvodnje fimbrija bakterijski fenotipovi uzrokuju daleko manji gubitak kosti, kao što je dokazano istraživanjem na modelu štakora (9). Taj podatak, iako ne daje isključivu potvrdu, itekako govori o centralno važnoj ulozi fimbrija u nastanku parodontne boles- ti. Bakterija također ima i male fimbrije (eng. *minor fimbriae*) koje također imaju ulogu u adheziji. Hemaglutinini su pro- teini koji posreduju u vezanju bakterije na receptore, najčešće oligosaharide, stanica domaćina, a poznato je kako *P. gingiva- lis* proizvodi barem 5 hemaglutininskih molekula (8).

Gingipains

Gingipains su proteaze (enzimi koji uzrokuju hidrolizu proteina), faktori virulencije koji zbog svog širokog spek- tra djelovanja, smatra se, igraju jednu od ključnih uloga u patogenezi parodontne bolesti uzrokovane *P. gingivalisom*. *P. gin- givalis* izražava dvije vrste gingipainsa, *Arg-gingipains / gingipain R* (kodiraju ih dva gena, *rgpA* i *rgpB*) i *Lys-gingipain / gingipain K* (kodira ga gen *kgp*). Oni mogu biti u topljivoj, ekstracelularnoj formi ili vezani za membrane. Funkci- ja im se može podijeliti u tri skupine: 1) oštećenje integriteta tkiva domaći- na, 2) ometanje normalnog imunološk- og obrambenog sustava i 3) bakterijske

funkcije (Tablica 1). Destrukciju tkiva mogu uzrokovati direktno, razgrađujući tkivne proteine domaćina ili indirektno, aktivirajući latentne metaloproteinaze i inaktivacijom domaćinovitih inhibitora metaloproteinaza. Nekontrolirana pro- teinoliza koju uzrokuju *gingipains* dovodi do edema (*gingipain R* aktivira kalikrein / kininski sustav), infiltracije neutrofila (aktivacijom komplementa *gingipainom R*) i krvarenja (degradacijom fibrino- gena uzrokovanom *gingipainom K*). Na imunološki sustav utječu tako da nakon prvotne stimulacije dolazi do smanjenja adekvatnog odgovora zbog proteolitičke degradacije komponenti komplemen- ta, antibakterijskih peptida, citokina i kemokina te posljedično ne dolazi do normalnog zaustavljanja i jenjavanja in- fekcije (10, 11). *Gingipains* također neg- ativno utječu i na cijeljenje parodontne rane inhibirajući migraciju epitelnih stan- ica (12). *Gingipains* imaju i važnu ulogu u bakterijskom pribavljanju željeza od stanica domaćina na način da uzrokuju raspad domaćinovitih hemin-sekvestrira- jućih proteina (uzrokuju raspad hemina u daljnje metabolite, a *P. gingivalis* koristi baš hemin kao izvor željeza).

Invazija stanica domaćina

P. gingivalis iskazuje invazivni potenci- jal te ulazi u epitelne stanice parodontnih džepova i gingivalnih sulkusa sličnim me- hanizmom kao i enterobakterije poput ešerihije, šigele ili salmonele. I drugi

Tablica 1. Tamno sive do crno obojene kolonije tipične za crno pigmentirane Bacteroidese. Preuzeto iz (39).

Narušavanje integriteta tkiva domaćina	Ometanje obrambenih mehanizama domaćina	Bakterijske funkcije
Degradacija ekstracelularnih matriksnih proteina (fibronektin, laminin)	Degradacija imunoglobulina	Otpuštanje hemina i željeza iz proteina domaćina
Hidroliza kolagena I, III, IV i V	Inaktivacija ili aktivacija komponenti komplementa	Otkrivanje tzv. kriptitopa*
Degradacija fibrinogena	Destrukcija citokina i kemokina	Posttranslacijska obrada proteaza, fimbrilina i proteina vanjske membrane
* kriptitopi (eng. <i>cryptitopes</i>) - receptori koji su uključeni u promociju bakterijskog vezivanja za površinu zuba ili epitelne stanice - imaju pojedine „skriveno“ molekularne segmente koje se „otkrivaju“ konformacijskom promjenom molekule. Sposobnost adhezije <i>P. gingivalis</i> tako se povećava kad se tkivne površine tretiraju određenim proteazama (npr. <i>gingipains</i>) ili lizosomskim enzimima.		

veoma važan parodontopatogen, *A. actinomycetemcomitans*, također dokazano invadira ljudske epitelne stanice. Ulazak i preživljavanje unutar stanice domaćina bakteriji daje itekakvu prednost u vidu zaštićenosti od mehanizama obrane domaćina. *P. gingivalis* također ima sposobnost intracelularnog umnožavanja (13, 14). Doista interesantan podatak jest da inficirane epitelne stanice ne podliježu apoptozi usprkos velikom broju unutarstaničnih bakterija (Slika 2). Bakterija utječe na nekoliko mitohondrijskih anti-apoptotičkih puteva te tako produljuje životni ciklus stanice domaćine (15).

Uloga LPS-a u razvoju parodontitisa

Lipopolisaharid *P. gingivalis* molekula je koja „obavještava“ domaćina o potencijalnoj bakterijskoj infekciji te uzrokuje aktivaciju domaćinovih upalnih i obrambenih mehanizama. Inducira nastanak upalnih citokina poput interleukina-1 β , interleukina-6, interleukina-8 i TNF- α iz makrofaga, monocita i fibroblasta te dovode do destrukcije parodontnog tkiva. Navedeni citokini su snažni medijatori lokalne resorpcije kosti, a također mogu inhibirati sintezu kolagena osteoblasta i potaknuti proizvodnju domaćinovih metaloproteinaza koji uništavaju vezivno

tkivo i kost. LPS također snažno aktivira komplement i kemotaktičku komponentu komplementa C5a (8).

Proizvodnja protutijela na antigene *P. gingivalis*

Lokalna akumulacija limfocita, makrofaga, neutrofila i plazma stanica tipična je za kronične infekcije poput parodontitisa. Više je istraživanja pokazalo kako kod oboljelih od parodontitisa ujedno postoji i povećana razina protutijela na *P. gingivalis* u serumu i gingivnoj cervikalnoj tekućini (16, 17). Antigeni fimbrija potiču plazma stanice prisutne u lokalnom upaljenom tkivu na stvaranje određene potklase IgG i IgA protutijela (18).

Neugodan zadah

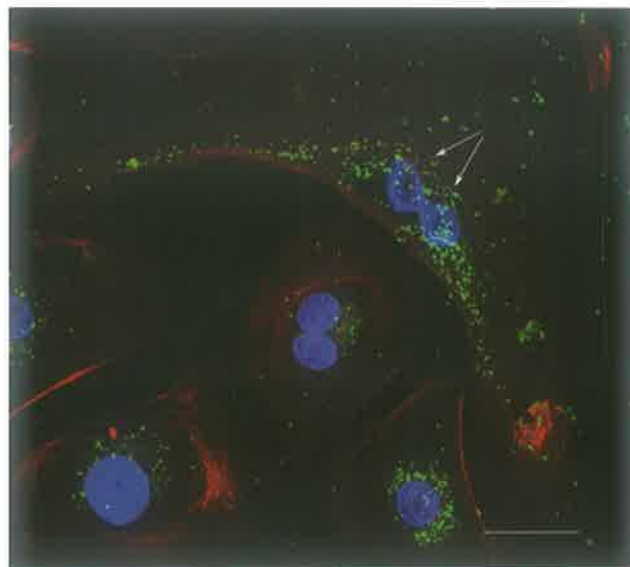
Neugodan zadah (lat. *halitosis*) jedan je od najčešćih razloga dolaska i pritužbi pacijenata u stomatološkim ordinacijama, uvelike zbog svog socijalnog utjecaja (19). Ironično, donedavno su epidemiološka istraživanja koja se bave neugodnim zadahom bila rijetka, a dostupna literatura na ovu temu relativno oskudna. Neugodan zadah najčešće je uzrokovan bakterijama u usnoj šupljini (87%), međutim također može biti posljedica bolesnih stanja uha, grla i nosa (kronični faringitis, gnojni sinusitis,

postnazalni drip, ozena – 8%) ili još rjeđe ostalih dijelova tijela (kronični bronhitis, karcinom bronha, gastrointestinalni uzroci poput Zenkerovog divertikula, želučane hernije i bubrežne, pankreasne ili jetrene insuficijencije) ili nepoznatog uzroka (5%) (20).

P. gingivalis prepoznat je kao jedan od glavnih krivaca za nastanak neugodnog zadaha iz usta. I neki

drugi Gram-negativni, anaerobni mikroorganizmi, poput bakterije *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Enterobacter cloacae*, *Prevotella loeschii* i *Porphyromonas endodontalis* povezani su s proizvodnjom plinova neugodnog zadaha (21, 22). Naime, ti anaerobi, a naročito parodontopatogeni *P. gingivalis*, *T. denticola* i *P. intermedia* proizvode tzv. hlapljive sumporne spojeve (eng. *volatile sulfur compounds* – VSC) kao nusprodukt svog metabolizma. Metilmerkaptan (CH₃SH – „miris staj“) i vodikov sulfid (H₂S – „miris pokvarenih jaja“) i dimetil sulfid (CH₃SCH₃ – „miris mora i zelja“) nastaju razgradnjom aminokiselina koje sadrže sumpor, metionina i cisteina (22). Neugodan miris također mogu uzrokovati i drugi, ne-sumporni spojevi, tzv. diamini, poput putrescina, kadaverina i skatola, a koje ljudski nos „prepoznaje“ kao miris raspadanja, pokvarenog mesa i riba, fekalija i neopranih stopala (23). Ispitivanja neugodnog mirisa vrše se organoleptičkim dijagnosticiranjem, uz pomoć osobe koja je testirana i kalibrirana za tankoćutni nosni osjet, prenosivim hlapljivim monitorom koji analizira koncentraciju izdahnutog vodikovog sulfida i metilmerkaptana te plinskom kromatografijom kojom se analiziraju zrak, inkubirana slina ili gingivalna tekućina na hlapljive komponente (24).

Biofilm povezan s gingivitisom i parodontitisom te dorzum jezika svojom ogromnom površinom predstavljaju idealan dom za bakterije koje su uzrok neugodnog mirisa. Logično, adekvatnom profesionalnom terapijom i strogim, redovitim provođenjem oralne higijene kod kuće smanjuje se broj mikroorganizama koji uzrokuju neugodan zadah te time i do poboljšanja stanja. Liječenje svakako mora biti etiološko, što u slučaju halitose u parodontoloških pacijenata kojoj itekako doprinosi *P. gingivalis* znači provođenje parodontološke terapije jer se kozmetičkim preparatima (npr. vodice za usta) miris prikriva tek privremeno, a tijekom bolesti se nastavlja.



Slika 1. 24h po infekciji epitelnih stanica vidljiv je velik broj intracelularnih *P. gingivalis* koji se uspješno umnažaju (zeleno obojeni). Preuzeto iz (15).

Quorum sensingom regulirane funkcije

Poznato je kako *P. gingivalis* međustaničnom komunikacijom (*quorum sensing*) regulira svoje određene funkcije. Međustanična komunikacija omogućava bakteriji spoznaju o gustoći bakterijske populacije, sukladno čemu cijela populacija prilagođava svoje „ponašanje“, odnosno gensku ekspresiju (25, 26). Bakterije proizvode signalne molekule, tzv. autoinduktore, čija se koncentracija povećava proporcionalno s rastom bakterijske populacije. Kada koncentracija signalnih molekula dosegne podražajni prag, dolazi do transkripcije gena za neki protein, čime se izražava neka od funkcija bakterijske stanice. *P. gingivalis* posjeduje autoinduktor-2 (AI-2) *quorum sensing* sustav, kao i drugi parodontopatogeni, koji mu omogućuje komunikaciju unutar svoje vrste, ali isto tako i komunikaciju s bakterijama druge vrste koje nastanjuju kompleksni biofilm (27). Za parodontopatogene to je od iznimnog značenja jer je poznato da se bolest razvija zbog promjene u profilu bakterijske populacije do čega zapravo i dolazi uslijed suradnje i komunikacije parodontopatogenih vrsta.

Željezo je bakterijama neophodno za mnoge funkcije, od metaboličkih do biosintetskih i regulatornih funkcija. Način na koji *P. gingivalis* pribavlja željezo jest iz hemina, porfirinskog spoja koji sadrži željezo. Za to koristi specifične receptore vanjske membrane, lipoproteine i proteaze (28). Unos željeza u bakterije dokazano je kontroliran prije spomenutim autoinduktor-2 *quorum sensing* sustavom. Postoje različiti mehanizmi unosa koji su neovisno regulirani. Ovisno o količini dostupnog hemina u okruženju, taj sustav međustanične komunikacije može pozitivno ili negativno regulirati ekspresiju različitih gena koji kodiraju receptore membrane u funkciji pribavljanja željeza (29).

Pod *quorum sensing* kontrolom nalazi se i brojni drugi geni *P. gingivalis*.

Pojedini AI-2 regulirani geni uključeni su u funkcije vezane uz stres, npr. *uvrB* gen koji kodira DNA reparirajući enzim UvrB (30).

Quorum sensing zasigurno ima ulogu i u sposobnosti *P. gingivalis* da formira biofilm, kao što je već dokazano i detaljnije istraženo za drugi parodontopatogen, *A. actinomycetemcomitans*. Naime primijećeno je da određeni spojevi koji imaju inhibitorno djelovanje na staničnu komunikaciju, halogenirani furanoni koji sadrže brom, negativno utječu na formaciju biofilma (31).

Sistemske manifestacije infekcije *P. gingivalis*om


P. gingivalis bakterija je koja se često, pogrešno, povezuje isključivo s lokalno specifičnom infekcijom parodonta. Istraživanja su povezala parodontitis s povećanom učestalošću niske porođajne težine i kardiovaskularnim bolestima. Razlog tomu je što lokalne infekcije itekako mogu imati sistemske manifestacije, bilo zbog prisutnosti antigena ili modulacije razine sistemskih citokina. Ti čimbenici čine i druga, udaljena mjesta time predisponiranima za infekciju. Dokazano je na životinjskom modelu kako lipopolisaharid *P. gingivalis*a koji potiče stvaranje citokina tako u trudne jedinice dovodi do značajno povećanog fetalnog pobola i smrtnosti (32).

Gingipaini *P. gingivalis*a induciraju hidrolizu adhezijske molekule PE-CAM-1 i tako povećavaju vaskularnu permeabilnost. *In vitro* inkubacija *P. gingivalis*a rezultira povećanim koncentracijama oksidiranog LDL-a zahvaljujući argingin-specifičnim gingipainima. Oksidirani LDL potiče proliferaciju vaskularnih glatkih mišićnih stanica čime je dokazana potencijalna uloga *P. gingivalis* u zadebljanju intime medije arterija (33, 34).

Danas se sve više povezuju i parodontitis i reumatoidni artritis, autoimuna kronična bolest s upalom zglobova te dru-

gim izvanzglobnim manifestacijama (35). *P. gingivalis* je jedini prokariot za kojeg se zna da posjeduje enzim peptidilarginin deiminazu (PAD) koji sudjeluje u pretvorbi arginina u citrulin, koji predstavlja potencijalni autoantigen. Protutijela na citrulinirane proteine predstavljaju važan dijagnostički marker za reumatoidni artritis. Smatra se kako *P. gingivalis* svojim PAD enzimom citrulinira domaćinove ili bakterijske proteine, mijenja im antigenost i djeluje kao okidač za razvitak autoimunosti i reumatoidnog artritisa u predisponiranih pojedinaca (36, 37). Posljednja istraživanja govore i u prilog povezanosti parodontalnih bolesti uzrokovanih, među ostalim, i *P. gingivalis*om kao jednim od najvažnijih patogena, s nastankom *late-onset* Alzheimerove bolesti. Povod takvim razmišljanjima jesu epidemiološke, kliničke i molekularne studije koje povezuju kroničnu sistemsku upalu organizma, uzrokovanu tranzitornim bakterijemijama i, posljedično, visokim sistemskim razinama citokina i kemokina te demencije, uključujući Alzheimerovu, poticanjem razvoja neurodegenerativnog procesa (38).

Zaključak

P. gingivalis je bakterija koja se povezuje s kroničnim oblicima parodontne bolesti te jakom destrukcijom parodontnih tkiva. Izražava impresivan broj faktora virulencije koji joj osiguravaju sigurno mjesto u bakterijskom ekosustavu biofilma, obranu od zaštitnih mehanizama domaćina te isto tako dovode do propadanja tkiva domaćina. Također, radi se o parodontopatogenoj bakteriji čije su sistemske reperkusije detaljno dokumentirane. S obzirom da je riječ o anaerobnoj bakteriji, što je dublji subgingivni parodontalni džep, broj je bakterija veći. Povišen broj bakterija ukazuje nam na aktivne lezije, a povišenje na napredovanje parodontalne bolesti. Uspješna terapija neminovno uključuje uklanjanje biofilma i smanjenje broja bakterija. 

LITERATURA

1. The Forsyth Institute. Phylogeny of *P. gingivalis* [Internet]. 2002. [cited 2015 June 30]. Available from: <http://www.pgingivalis.org/phylogeny.htm>
2. Shah HN, Collins MD. Proposal for Reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis*, and *Bacteroides endodontalis* in a New Genus, *Porphyromonas*. *Int J Syst Bacteriol*. 1988;38(1):128-131.
3. Henderson B, Curtis MA, Seymour RM, Donos N. *Periodontal Medicine and Systems Biology*. Oxford: Wiley-Blackwell; 2009.
4. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998;25(2):134-44.
5. Greenstein G, Lamster I. Bacterial transmission in periodontal diseases: a critical review. *J Periodontol*. 1997;68:421-31.
6. Goulborne Pa, Ellen RP: Evidence that *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* fimbriae function in adhesion to *Actinomyces viscosus*. *J Bacteriol*. 1991;173:5266-74.
7. Yao ES, Lamont RJ, Leu SP, Weinberg A. Interbacterial binding among strains of pathogenic and commensal oral bacterial species. *Oral Microbiol Immunol*. 1996;11:35-41.
8. Lamont RJ, Jenkinson HF. Life below the Gum Line: Pathogenic Mechanisms of *Porphyromonas Gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1998;62(4):1244-63.
9. Malek R, Fisher J G, Caleca A, Stinson M, van Oss C J, Lee J Y, Cho M I, Genco R J, Evans R T, Dyer D W. Inactivation of *Porphyromonas gingivalis* *fimA* gene blocks periodontal damage in gnotobiotic rats. *J Bacteriol*. 1994;176:1052-9.
10. Bao K, Belibasakis GN, Thurnheer T, Aduse-Opoku J, Curtis MA, Bostanci N. Role of *Porphyromonas gingivalis* gingipains in multi-species biofilm formation. *BMC Microbiol*. 2014;14:258.
11. Jayaprakash K, Khalaf H, Bengtsson T. Gingipains from *Porphyromonas gingivalis* play a significant role in induction and regulation of CXCL8 in THP-1 cells. *BMC Microbiol*. 2014;14:193.
12. Laheij AM, van Loveren C, Deng D, de Soet JJ. The impact of virulence factors of *Porphyromonas gingivalis* on wound healing in vitro. *J Oral Microbiol*. 2015 2;7:27543.
13. Lamont RJ, Chan A, Belton CM, Izutsu KT, Vasel D, Weinberg A. *Porphyromonas gingivalis* invasion of gingival epithelial cells. *Infect Immun*. 1995 Oct;63(10):3878-85.
14. Belton CM, Izutsu KT, Goodwin PC, Park Y, Lamont RJ. Fluorescence image analysis of the association between *Porphyromonas gingivalis* and gingival epithelial cells. *Cell Microbiol*. 1999; 1(3):215-23.
15. Yilmaz Ö. The chronicles of *Porphyromonas gingivalis*: the microbium, the human oral epithelium and their interplay. *Microbiology*. 2008;154(10):2897-903.
16. Ogawa T, Tarkowski A, McGhee ML, Moldoveanu Z, Mestecky J, Hirsch HZ, et al. Analysis of human IgG and IgA subclass antibody-secreting cells from localized chronic inflammatory tissue. *J Immunol*. 1989;142(4):1150-8.
17. Ogawa T, McGhee ML, Moldoveanu Z, Hamada S, Mestecky J, McGhee JR, Kiyono H. *Bacteroides*-specific IgG and IgA subclass antibody-secreting cells isolated from chronically inflamed gingival tissues. *Clin Exp Immunol*. 1989;76(1):103-10.
18. Ogawa T, Kono Y, McGhee ML, McGhee JR, Roberts JE, Hamada S, Kiyono H. *Porphyromonas gingivalis*-specific serum IgG and IgA antibodies originate from immunoglobulin-secreting cells in inflamed gingiva. *Clin Exp Immunol*. 1991;83(2):237-44.
19. Loesche WJ, Kazor C. Microbiology and treatment of halitosis. *Periodontology* 2000. 2002;28:256-79.
20. Delanghe G, Ghyselen J, van Steenberghe D, Feenstra L. Multidisciplinary breath-odour clinic. *Lancet*. 1997;350(9072):187.
21. Persson S, Claesson R, Carlsson J. The capacity of subgingival microbiotas to produce volatile sulfur compounds in human serum. *Oral Microbiol Immunol*. 1989;4(3):169-72.
22. Persson S, Edlund MB, Claesson R, Carlsson J. The formation of hydrogen sulfide and methyl mercaptan by oral bacteria. *Oral Microbiol Immunol*. 1990;5(4):195-201.
23. Goldberg S, Kozlovsky A, Gordon D, Gelernter I, Sintov A, Rosenberg M. Cadaverine as a putative component of oral malodor. *J Dent Res*. 1994;73:1168-72.
24. Lindhe J. *Klinička parodontologija i dentalna implantologija*. 4th ed. Zagreb: Nakladni zavod Globus; 2004.
25. Miller MB, Bassler BL. Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol*. 2001;55:165-99.
26. Waters CM, Bassler BL. Quorum sensing: Cell-to-cell communication in bacteria. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2005;21:319-46.
27. Frias J, Olle E, Alsina M. Periodontal pathogens produce quorum sensing signal molecules. *Infect Immun*. 2001;69(5):3431-4.
28. Vasil ML, Ochsner UA. The response of *Pseudomonas aeruginosa* to iron: genetics, biochemistry and virulence. *Mol Microbiol*. 1999;34(3):399-413.
29. James CE, Hasegawa Y, Park Y, Yeung V, Tribble GD, Kuboniwa M, Demuth DR, Lamont RJ. LuxS involvement in the regulation of genes coding for hemin and iron acquisition systems in *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun*. 2006;74(7):3834-44.
30. Chung WO, Park Y, Lamont RJ, McNab R, Barbieri B, Demuth DR. Signaling system in *Porphyromonas gingivalis* based on a LuxS protein. *J Bacteriol*. 2001;183(13):3903-9.
31. Zhang L, Wang S, Zhou X, Xui Y. [Quorum sensing inhibitor brominated furanone affects *Porphyromonas gingivalis* biofilm formation]. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2011;29(5):469-72.
32. Collins JG, Smith MA, Arnold RR, Offenbacher S. Effects of *Escherichia coli* and *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide on pregnancy outcome in the golden hamster. *Infect Immun*. 1994;62(10):4652-5.
33. Yun PL, Decarlo AA, Chapple CC, Hunter N. Functional implication of the hydrolysis of platelet endothelial cell adhesion molecule 1 (CD31) by gingipains of *Porphyromonas gingivalis* for the pathology of periodontal disease. *Infect Immun*. 2005;73(3):1386-98.
34. Bengtsson T, Karlsson H, Gunnarsson P, Skoglund C, Elison C, Leanderson P, et al. The periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* cleaves apoB-100 and increases the expression of apoM in LDL in whole blood leading to cell proliferation. *J Intern Med*. 2008;263(5):558-71.
35. Hitchon CA, Chandad F, Ferrucci ED, Willemze A, Ioan-Facsinay A, van der Woude D, et al. Antibodies to *porphyromonas gingivalis* are associated with anticitrullinated protein antibodies in patients with rheumatoid arthritis and their relatives. *J Rheumatol*. 2010;37(6):1105-12.
36. Santiago LM, Guimarães JM, Buseti J, Leão JC, Cimões R. Stanje parodonta i gubitak zuba kod pacijenata s reumatoidnim artritisom. *Acta Stomatol Croat*. 2012;46(1):16-22
37. Arvikar SL, Collier DS, Fisher MC, Unizony S, Cohen GL, McHugh G, Kawai T, Strle K, Steere AC. Clinical correlations with *Porphyromonas gingivalis* antibody responses in patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2013;15(5):R109.
38. Singhrao SK, Harding A, Poole S, Kesavulu L, Crean S. *Porphyromonas gingivalis* Periodontal Infection and Its Putative Links with Alzheimer's Disease. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:137357.
39. Pocketdentistry. *Bacteroides, Tannerella, Porphyromonas and Prevotella* [Internet]. 2015. [cited 2015 June 30]. Available from: <http://pocketdentistry.com/17-bacteroides-tannerella-porphyrmonas-and-prevotella/>