УДК: 616.314.17–008.1:616.316–008.8–097

ОРАЛНИ БИОМАРКЕРИ ВО ДИЈАГНОЗАТА И ПРОГНОЗАТА НА ПАРОДОНТАЛНАТА БОЛЕСТ

Стефановска Е., Накова М., Ивановски К., Ристоска С., Радојкова-Николовска В., Миндова С.

СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - Скопје, Катедра за болести на устата и пародонтот

Пародонталната болест е заболување кое се карактеризира со губиток на сврзно ткивен атачмент и коскено ткиво околу забите како резултат на формирање на пародонтални џебови и миграција на сврзниот епителиум. Раната дијагноза и третманот на пародонтална болест е од исклучителна важност поради иреверзибилната природа на заболувањето. Затоа и далекусежната цел е да третманот и превенцијата на ова заболување приоритетно се базираат на дијагностички тестови поврзани со етиопатогенетските фактори. Клиничките проценки кои се користат во дијагнозата на пародонталната болест се повеќе од лимитирани, бидејќи ги одразуваат состојбите на веќе настанатата болест, а не на моменталната активност на заболувањето. Биохемиските медијатори во оралните флуиди, како саливата и гингивалниот флуид се високо бенефитни во детерминирање на тековниот пародонтален статус. Овие супстанции познати како биомаркери помагаат во детерминирањето на инфламаторно-медијаторните нивоа и затоа истите претставуваат добри индикатори на инфламаторната активност. Овој труд го расветлува успехот од корисноста на саливарните и гингивално- флуидните биомаркери базирани на дијагностицирањето и прогнозата на активната пародонтлана болест.

Клучни зборови: биомаркери, пароднтална болест, гингивален флуид, салива.

Пародонталната болест претставува хетерогено заболување кое вклучува мноштво инфламаторни и инфективни лезии. Се карактеризира со губиток на сврзно-ткивен атачмент и коскено ткиво околу забите, проследено со формирање на пародонтални џебови и апикална миграција на сврзно-ткивниот епителиум. Микробната природа на ова заболување била препознаена многу одамна, додека најновите истражувања говорат за фактори асоцирани со домаќинот, кои всушност би можеле да претставуваат клуч за разбирање на процесите на неговата прогресија. Пародонталната прогресија е епизодична, во зависност од природата и местоположбата на забите, но ризикот за пародонтална болест пред се зависи од пациентот, а не од местополжбата на забите (6). Бактериските вирулентни фактори предизвикуваат ослободување на биолошки медијатори од ткивните клетки на домаќинот, кои всушност доведуваат до ткивна деструкција. Тоа се: протеинази, цитокини и простагландини. Исто така и мноштвото ензими продуцирани од пародонтопатогените микроорганизми предизвикуваат ткивна деструкција. Локалното присуството на бактерии близу гингивалниот флуид и интимниот контакт на бак-

К 19 ОРАК

териските липополисахариди со клетките на домаќинот ги тригерираат моноцитите, полиморфонуклеарите, макрофагите и останатите клетки кон ослободување на инфламаторни медијатори како: IL-1, TNF-алфа и простагландин Е-2. IL-1 и TNF-алфа имаат важна улога во пародонтално-ткивната деструкција, а PGE-2 се појавува како делумно одговорен за коскениот губиток асоциран со пародонталната болест (21). Раната дијагноза и третман на прогресивната пародонтална болест е многу важна заради иреверзибилната природа на заболувањето (14). Целта на пародонталните дијагностички процедури е да се обезбедат корисни информации за клиничарот, земајќи го во предвид типот на заболувањето, локализацијата и неговата тежина. Овие откритија служат како база за планирање на третманот и обезбедување на есенцијани податоци за време на пародонталното одржување и мониторингот на фазите од третманот на заболувањето.

Традиционалните клинички показатели (длабочина на пародонтален џеб, крварење при сондирање, клинички губиток на атачмент, плак индекс и радиографија), кои се користат за пародонтална дијагноза се повеќе се лимитирани, бидејќи главно се индикатори на претходните случувања на заболувањето отколку на неговата сегашна активност. Затоа се наметнала и потребата од развој на нови дијагностички тестови кои може да детектираат присутна активна болест, да ја предвидат прогресијата на заболувањето и да го евалуираат одговорот од пародонталната терапија, а со тоа да се подобри и клиничкиот менаџмент на пациентите. Предностите во оралните и пародонталните дијагностички достигнувања се откривање на нови методи каде ризикот за заболувањето може да биде идентификуван и квантифициран преку објективни параметри како што се биомаркерите.

Биомаркерите може да се дефинираат како супстанции кои се објективно мерливи и вреднувани како индикатори на нормалните биолошки процеси, патолошки процеси и фармаколошки одговори на терапевтските интервенции. Биомаркерите, независно дали се продуцираат кај здрави индивидуи или индивидуи афектирани од специфични системски заболувања, се предзнак-молекули кои може да се искористат за мониторинг на здравствениот статус, статусот на болеста, одговорот од третманот и резултатите. Тие земаат важно место во делот од научните истражувања и се претпоставува дека нивната улога е поголема во дијагнозата, мониторингот и тераписките резултати и откритијата на лековите. Предизвикот за биомаркерите е да овозможат рана детекција на еволуцијата на заболувањето и посилна проценка на тераписката ефикасност (8).

Потенцијални биомаркери за пародонтална болест во гингивален флуид

Гингивалниот флуид е ексудат на гингивалната микроциркулација кој поминува низ здраво и инфламирано пародонтално ткиво. На тој пат флуидот ги колекционира молекулите на локално инфламаторната реакција од потенцијален интерес. Конституентите на флуидот водат потекло од различни извори. Тој содржи супстанции од домаќинот, како и од микроорганизмите од субгингивалниот и супрагингивалниот плак. Конституентите од домаќинот вклучуваат молекули од крвта и прилози од клетките и ткивата на периодонциумот, епителиумот, неминерализираното и минерализираното сврзно ткиво, како и инфламаторни и имуни клетки кои инфилтрираат во пародонталното ткиво. Целуларните компоненти на гингивалниот флуид се 70-80% гранулоцити, 10-20% моноцити/макрофаги, 5% маст клетки и 5% Т-лимфоцити. Колекцијата и анализата на гингивално-флуидните примероци обезбедува неинвазивен начин за проценка на патохистолошкиот статус на пародонциумот. Гингивалниот флуид може лесно да се ко-

лекционира со периофилтер стрипови, абсорбирачка хартија и микрокивети од гингивалниот отвор околу забите (16,17). Во согласност со Armitage (3) повеќе од 65 гингивално-флуидни конституенти се евалуирани како потенцијални дијагностички маркери во прогесијата на пародонталната болест. Овие маркери може да се поделат во три групи: ензими со потекло од домаќинот и нивни инхибитори, инфламаторни медијатори и модификатори на одговорот на домаќинот и биопродукти од ткивното опаѓање. Неутрофилните медиајтори идентификувани во гингивалниот флуид вклучуваат: леукотриен B4 (LTB4), PAF, тромбоксан Б2, еластаза и колагеназа (27). Моноцитите/макрофагите секретираат медијатори на инфламацијата како PGE2, IL-1, IL-6, IL-8 и TNF. PGE-2 инволвиран во патогенезата на пародонталната болест, оригинално е идентификуван во гингивалниот флуид во средината на 1970 и подоцна проучен во релација со пародонталната болест. Offenbacher и сор. потврдиле дека постојат разлики во гингивалнофлуидните кон центрации на PGE-2 кај пациенти со гингивитис компарирани со пародонтопатични пациенти (23).

Подоцна е откриено дека постои корелација помеѓу зголемените PGE-2 концентрации и клиничкиот губиток на атачмен кај пациенти со умерена и напредна пародонтална болест. Проинфламаторните цитокини, особено IL-1 бета може да играат важна улога во етиологијата на пародонталната болест. Liu и сор. потврдуваат дека со зголемување на индексот на гингивалната инфламација и длабочината на пародонталниот џеб постои кореспондирачко зголемување на концентрацијата на IL1-бета и во гингивалниот флуид и во гингивалното ткиво (19). Стефановска во своите истражувања укажува на сигнификантно зголемување на концентрациите на IL1-алфа и IL1-бета во гингивален флуид со згломување на степенот на гингивалната инфламација (28). Пандилова исто така потврдува за зголемени концентрации на IL1-бета во исечоци од гингивално ткиво, со зголемување на степенот на гингивалната инфламација и клиничкиот губиток на атачментот (25). Loos и Toja (20) ги испитувале потенцијалните дијагностички маркери во гингивален флуид кај пациенти со пародонтопатија. Нивните истражувања идентификувале 8 потенцијално корисни маркери, вклучувајќи ги: алкалната фосфатаза, бета глукуронидазата, катепсин Б, колагеназа-2(матрикс металопротеиназа MMP-8), желатиназа (MMP-9), дипептидил пептидаза (DDP) 2 и(DDP) 3 и еластаза.

Алкалната фосфатаза е мембранско врзувачки гликопротеин одговорен во зачувување на алвеоларната оска и обновувањето на периодонталниот лигамент. Во гингивалниот флуид се претпоставува дека примарно потекнува од полиморфонуклеарните леукоците. Слични нивоа на алкална фосфатаза во гингивален флуид биле откриени кај здрава и инфламирана гингива, но лонгитудиналната студија спроведена од страна на Nakashima потврдува дека елевираните нивоа на алкална фосфтаза претходеле на клиничкиот губиток на атачментот и дека вкупната количина на алкална фосфатаза во флуидот била сигнификантно повисока кај активните афектирани регии (22).

Бета глукуронидазата, лизозомен ензим кој ги деградира протеогликаните и потпорните супстанци и служи како маркер од примарен степен, се ослободува од полиморфонуклеарите како одговор на стимул. Тој е хомеотетрамер составен од четири идентични поединици. Покажува висока сензитивност и специфичност кога се поврзува со можноста за клиничкиот губиток на атачментот. Овој ензим исто така се докажал како добар предиктор на одговорот од третманот и проценка на ризикот од идните пародонтални оштетувања (17).

Катепсин Б е цистеин протеаза инволвиран во протеолитичните случувања. Kunimatsu K и сор. (15) забележале дека нивоата на катепсин Б биле покачени кај паци-

енти со пародонтопатија во споредба со оние со гингивална инфламација и покрај сличниот гингивален проток. Изворот на катепсин Б во флуидот е главно од макрофагите, а неговите анализи во флуидот очекувано се различни кај пациенти со пародонтопатија и кај пациенти со хронична гингивална инфламација. Освен тоа флуидндите нивоа на катепсин Б корелирале сигнификантно со клничките параметри пред и после пародонтален третман, претпоставувајќи ја корисноста од овој ензим во проценка на резултатите од третманот. Катепсин Г потпомога во пародонтално-ткивната деструкција директно или индиректно, преку протеолитичната активност на латентната неутрофилна проколагеназа (проматрикс металопротеиназа-8).

Матриксметалопротеиназите кои потекнуваат од многу важната фамилија на протеинази партиципираат во нормалниот циклус на пародонталното ткиво како и во неговите деградациски аспекти за време на пародонталната деструкција. Некои од фамилијата на матриксмеалопротеинази и ткивни инхибитори исто така се идентификувани во гингивалниот флуид. Chen и сор. (7) утврдиле покачени нивоа на активна неутрофилна колагеназа во гингивален флуид кај пациенти со пародонтопатија. Овие активните форми на неутрофилната ММР-8 и ММР-13 во гингивален флуид се потврдени како учесници во колагеназната активност. Останатите ММР, ММР-3 И TIMP-1 во гингивален флуид се евалуирани како прогностички фактори за прогресија на пародонталната болест кај 40 системски здрави индивидуи во текот на шест месечен период.

Флуидот бил колекциониран и од здравите и афектираните регии од секој пациент. Просечнтата количина на ММР-3 и TIMP-1 во афектираните страни била сигнификантно поголема во однос на здравите регии. Флуидните нивоа на ММР-3 високо корелирале со клиничките мерења извршени на почетокот, после 3 и 6 месечен период. Сето тоа наведува дека региите со високи флуидни нивоа на ММР-3 и TIMP-1 се сигнификантно под поголем ризик за прогресија на пародонтланата болест.

Неутрофилната еластаза (или еластаза) е потентен протеолитичен ензим откриен во лизозомалните гранули. Докажано е дека еластазните нивоа во гингивален флуид се зголемуваат со индукција на експериментален гингивитис, а се намалуваат по отстранувањето на денталниот плак. Eley и Cox (10) потврдуваат дека зголемени флуидни нивоа на еластаза се предвсници за губиток на пародонталниот атачмент. Долгогодишни обсервации кај адултни пациенти со пародонтална болест кои биле подложени на пародонтална терапија покажале позитивни корелации на еластазата во флуидот со клиничкиот губиток на атачментот. Дирјанска исто така потврдува за зголемени флуидни нивоа на еластазата кај пациенти со иницијална пародонтална болест (9).

Можни саливарни маркери за пародонтална болест

Саливата е секрет на саливарните и мукозните жлезди и многу значајна во одржувањето на оралното здравје. Таа е брзо достапна преку неинвазивниот колекционирачки метод и содржи локално продуцирани микроби и медијатори од ткивниот одговор на домаќинот како што е гингивалниот флуид. Саливата исто така се смета како корисен мдиум за скрининг на пародонтопатија и мониторинг на одговорот од третманот. За разлика од гингивалниот флуид, нејзината колекција технички се изведува полесно. Саливарните конституенти кои се проучувани како потенцијални дијагностички биомаркери за пародонтална болест главно вклучуваат протеини со потекло од домаќинот (ензими и имуноглобулини), фенотипски маркери, клетки од домаќинот, хормони, бактерии и бактериски продукти, јони и испарливи компоненти.

Саливата содржи фактори кои потекнуваат и од домаќинот и од бактериите, вклучувајќи повеќе ензими кои ги деградираат протеините, протеогликаните, липидите и карбохидратите. Ензимите во саливата може да потекнуваат од клетките на саливарните гландули, микроорганизмите, епителните клетки, ПМН и од гингивалниот флуид. Дипептидилпептидаза (DDP-IV) и аланин аминопептидаза (AAP) се протеинази кои учествуваат во колагената деградација. Во студијата на Elgun и сор.(11), е потврдена зголемена активност на DDP- IV и AAP во саливата кај пародонтопатични пациенти во споредба со здрави.

Неутрофилите се важни клеточни типови во одбрамбениот одговор на домаќинот кон периопатогените бактерии. Неутрофлините гранули содржат хидролитични неутрални ензими, како што се еластаза, катепсин Г, миелопероксидаза и лизозим, како и хидролази, вклучувајќи: катепсин Б, катепсин Д и бетаглукуронидаза. Лактоферин, неутофилна колагеназа (MMP-8) и (MMP-9) се исто така складирани во неутрофилните гранули. Неутрофилните протеини, како лизозимите, миелопероксидазата и лактоферинот се нотирани како покачени во состојба на пародонтална деструкција. Потврдено е дека лактоферинот е во интеракција со Actinobacilus Actinomycetemcomitans, кој претставува каузативен микроорганизам за агресивната форма на пародонтопатија (2).

MMP во неутрофилните гранули се исто така асоцирани со ткивната деструкција на пародонталната болест и се детектирани во салива кај пародонтопатични пациенти. Ристоска во своите истражувања потврдува дека просечните вредности на MMP-8 во салива биле значително повисоки кај пациентите со пародонтопатија отколку кај контролната група (26).

Саливарните нивоа на TNF-алфа биле покачени кај пациенти со клинички знаци за пародонтопатија. MMP-8 е потврден не само како индикатор на заболувањето, туку и индикатор за активноста на заболувањето (13). Lamster и сор. истакнуваат дека бета глукуронидазата во салива е индикатор за неутрофилниот прилив во гингивалното ткиво кој може да го предвиди ризикот за пародонтална болест (18).

Бројни студии демонстрираат сигнификантна корелација помеѓу саливарниот TAF (тромбоцит-активирачки фактор), потентен фосфолипиден инфламаторен медијатор, и нивоата и екстендираноста на пародонталната болест и утврдување на потребата од третман. Ohshima M и сор. укажале на сигнификантна корелација помеѓу саливарниот хепатоцитен гроут фактор (HGF) и бројот на пародонтални џебови со длабочина од 4 до 6мм. HGF делува како митоген и антиапоптотичен фактор за различни видови на епителијални клетки (24).

Имуноглобулините имаат ефект на оралната микрофлора на тој начин што ја спречуваат адхеренцијата и бактерискиот мтаболизам, и потврдено е дека саливарните Ig-A, Ig-G Ig-M имаат повисоки концентрации кај пациенти со пародонтопатија компарирани со здрави пациенти (12).

С-реактивен протеин е системски маркер кој се ослободува за време на акутната фаза на инфламаторниот одговор и се продуцира од слезената. Циркулирачкиот CRP доаѓа во саливата преку гингивалниот флуид или саливарните гландули. Високи нивоа на CRP се асоцирани со хронична или агресивна пародонтална болест (1).

Разбирливо е од сите овие студии дека неколку медијатори од саливата се споменуваат во патогенезата на пародонталната болест. Бидејќи саливата е неинвазивна и повеќе пати испитувана, дава значајно ветување како биолошки флуид кој може да се анализира за дијагноза на пародонталната болест. Понатаму, истата може да се колекционира индивидуално без претходен тренинг и може да понуди рентабилен пристап за скрининг на поголема популација. Но, сепак се потребни добро контролирани клинички

ЗАК 21 ОРАК

студии спроведени на поширока популација за да се потврди значајноста на специфичните дијагностички маркери.

На полето на орално-патолошката дијагноза во последните две декади постои рамномерен растечки тренд во развојот на средствата за мониторинг на пародонталната болест. Од физичките проценки како што е мерење на длабочина на пародонтален џеб до софистицираните, генетски суспектни анализи и молекуларни истражувања за детекција на биомаркери, суштински напредок бил направен околу разбирањето на медијаторите имплицирани во иницијацијата и прогресијата на пародонталната болест. Во исто време овој еволутивен процес ги промовирал и откритијата на новите биомаркери во развојот на новите терапевтски достигнувања. Гингивалниот флуид бидејќи е тесно асоциран со пародонталното ткиво каде и започнува пародонталната болест, се очекува да обезбеди повеќе дополнителни сознанија во однос на маркерите во саливата, чии целуларни и биохемиски медијатори може да претставуваат одраз на заболување или метаболен статус на плунковните жлезди, наместо пародонтална болест. Со оглед на фактот дека гингивалнио-флуидните конституенти се резултат на одговорот на домаќинот кон антигените од периопатогените микроорганизми, а прогресијата на заболувањето примарно зависна од одговорот на домаќинот, евалуацијата на маркерите од гингивалниот флуид се смета дека претставува добар метод за детерминирање на поединечниот ризик за пародонтална болест. За зајакнување на новите пародонтални дијагностики потребно е истите да бидат стандардизирани со постоечките златни стандарди на заболувањето, како што се: ниво на очувана алвеоларна коска и клинички губиток на атачмент. Во интерес на што поефикасна терапија и покрај тоа што предизвиците остануваат напред, оралните дијагностички биомаркери даваат надеж за нивна апликативна примена во дијагнозата и прогнозата на пародонталната болест.

ORAL BIOMARKERS IN THE DIAGNOSIS AND PROGNOSIS OF PERIODONTAL DISEASE

Stefanovska E., Nakova M., Ivanovski K., Ristoska S., Radojkova-Nikolovska V., Mindova S.

Summary

Periodontitis is a disease characterized by loss of connective tissue attachment and bone around the teeth as a result of forming of periodontal pockets and apical migration of the junctional epithelium. Early diagnosis and treatment of progressive periodontitis is important because of the irreversible nature of this disease. So, the long-term aim is that treatment and prevention of periodontal disease will be founded on diagnostic tests based on aetiopathogenic factors. Clinical measurements used in diagnosis of periodontal diseases are often of limited usefulness in that they are indications of previous periodontal disease rather than the present disease activity. Biochemical mediators in oral fluids like saliva and gingival crevicular fluid (GCF) are highly beneficial in the determination of current periodontal status. These substances known as biomarkers help in determination of inflammatory mediator levels, as they are good indicators of inflammatory activity. This review highlights recent advances in the use of salivary and gingival crevicular fluid (GCF) biomarkers, based on the diagnosis and prognosis of active periodontal disease.

Keywords: biomarkers, periodontal disease, gingival fluid, saliva.

Литература

1. Aiuto F, Ready D, Tonetti MS, 2004. Periodontal disease and creactive protein-associated cardiovascular risk. Journal of Periodontal Research, 39: 236–241.

2. Alugupalli K, Kalfas S, Edwardsson S, Naidu A, 1995. Lactoferrin interaction with Actinobacillus ctinomycetemcomitans. Oral Microbiology and Immunology, 10: 35–41.
3. Armitage GC, 2004. Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. Periodontology 2000, 34: 109–119.
4. Атанасовска -Стојановска А. Влијанието на цитоконскиот генски полиморфизам во етиопатогенезата на пародонталната болест кај македонската популација, докторска дисертација, Стоматолоски факултет, Скопје, 2007 година.
5. Booth V, Young S, Cruchley A, Taichman NS, Paleolog E, 1998. Vascular endothelial growth factor in human periodontal disease. Journal of PeriodontalResearch, 33: 491–9.
6. Champagne CM, Buchanan W, Reddy MS, Preisser JS, Beck JD, Offenbacher S, 2003. Potential for gingival crevice fluid markers as predictors of risk for periodontal diseases. Periodontology 2000, 31: 167–80.
7. Chen HY, Cox SW, Eley BM, Mantyla P, Ronka H, Sorsa T, 2000. Matrix metalloproteinase-8 levels and elastase activities in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients. Journal of Clinical Periodontology, 27: 366–9.
8. Colburn WA, 2003. Biomarkers in drug discovery and development: from target identification through drug marketing. Journal of Clinical Pharmacology, 43(4): 329–41.
9. Дирјанска К. Клиничко-биохемиска детекција на иницијалната пародонтлана лезија, магистерски труд, Стоматолоски факултет, Скопје, 2002 година.
10. Eley BM, Cox SW, 1996. A 2-year longitudinal study of elastase in human gingival crevicular fluid and periodontal attachment loss. Journal of Clinical Periodontology, 23: 681–692.
11. Elgun S, Ozmeric N, Demirtas S, 2000. Alanine aminopeptidase and dipeptidylpeptidase IV in saliva: the possible role in periodontal disease. Clinica Chimica Acta, 298: 187–91.
12. Hagewald S, Bernimoulin JP, Kottgen E, Kage A, 2002. Salivary IgA subclasses and bacteria-reactive IgA in patients with aggressive periodontitis. Journal of Periodontal Research, 37: 333–9.
13. Herr AE, Hatch AV, Throckmorton DJ, Tran HM, Brennan JS, Giannobile WV, Singh AK, 2007. Microfluidic immunoassays as rapid saliva-based clinical diagnostics. Proceedings of National Academy of Sciences USA, 104: 5268–5273.
14. Kinane DF, 2000. Regulators of tissue destruction and homeostasis as diagnostic aids in periodontology. Periodontology 2000, 24: 215–225
15. Kunimatsu K, Ichimaru E, Kato I. 1990. Granulocyte medullas in levels in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients and experimental gingivitis subjects. Journal of Periodontal Research, 25: 352–357.
16. Lamster IB, 1997. Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. Annals of Periodontology, 2: 123–137.
17. Lamster IB, Osliran RL, Fiorello LA, Celenti RS, Gordon JM 1988. Enzyme activity in crevicular fluid for detection and prediction of clinical attachment loss in patients with chronic adult periodontitis. Six month results. Journal of Periodontology, 59: 516–523.
18. Lamster IB, Kaufman E, Grbic JT, Winston LJ, Singer RE, 2003. Beta-glucuronidase activity in saliva: relationship to clinical periodontal parameters. Journal of Periodontology, 74: 353–9.
19. Liu CM, Hou LT, Wong MY, Rossomando EF. 1996. Relationships between clinical parameters, interleukin 1B and histopathologic findings of gingival tissue in periodontitis patients. Cytokine, 8: 161–167.
20. Loos BG, Tjoa S, 2005. Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid? Periodontology 2000, 39: 53–72.
21. Miyasaki KT, Nisengard RJ, Haake SK. 2004 Immunity and inflammation; basic concepts. 9th edition. In: MG Newman, HH Takei, FA Carranza, editors. Carranza's Clinical Periodontology, W.B.
22. Nakashima K, Roehric N, Cimasoni G,1994. Osteocalcin, prostaglandin E-2 and alkaline phosphatase in gingival cervicular fluid: their relations to periodontal status.. Journal of Clinical Periodontology, 21(5):327-33.
23. Offenbacher SB, Odle M, Van Dyke TE, 1986. The use of crevicular fluid prostaglandin E2 levels as a predictor of periodontal attachment loss. Journal of Periodontal Research, 21: 101–112.
24. Ohshima M, Fujikawa K, Akutagawa H, Kato T, Ito K, Otsuka K, 2002. Hepatocyte growth factor in saliva: a possible marker for periodontal disease status. Journal of Oral Science, 44: 35–9.
25. Пандилова М. Компаративна анализа на апоптотичното одумирање на клетките во

тек на пародонталната болест, докторска дисертација, Стоматолоски факултет, Скопје, 2003 година.
26. Ристоска С. Саливарната матриксметалопротеиназа 8 (ММР-8), биомаркер на активноста на пародонталната болест. Македонски Стоматолоски преглед 2008; 32 (3-4) : 173-180.
27. Schenck K, Poppelsdorf D, Denis C, Tollefsen T, 1993. Levels of salivary IgA antibodies reactive with bacteria from dental plaque are associated with susceptibility to experimental gingivitis. Journal of Clinical Periodontology, 20: 411–7.
28. Стефановска Е. Инфламаторните цитокини и нивната улога во модулирањето на клиничката експресија на плак-индуцираната гингивална инфламација, докторска дисертација, Стоматолоски факултет, Скопје, 2011 година.