

# مروری بر وجود یا عدم وجود تشابهات پاسخ میزبان بین ضایعات مقاوم اندو و Refractory Periodontitis

دکتر حمید رضا عرب\*، دکتر مرضیه شاهی\*\*، دکتر مهرداد رادور\*

## *A Review of Microbiologic Similarities of Refractory Periodontitis and Refractory Periapical Periodontitis*

<sup>1</sup>Arab HR DDS. MS. <sup>2</sup>Shahi M. DDS. MS. <sup>1</sup>Radvar M. DDS. PhD.

<sup>1</sup>Assistant Prof. Dept. of Periodontics, Dental School, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad-Iran, <sup>2</sup>Endodontist.

**Key Words:** Refractory periapical periodontitis, Refractory periodontitis. Host defence

**Purpose:** Treatment resistance cases in both endodontal and periodontal diseases are sometimes encountered in spite of a good treatment. These cases may be caused by microbial agents and / or inefficient host responses. The microbial factors need further investigation and host response in discussed in this section.

**Methods & Materials:** Thirty two articles and two text were reviewed for this discussion.

**Conclusion:** The main cause of innate and specific immune system involvement in refractory periapical periodontitis are microbial factors, where as in refractory periodontitis the bacterial factor is less prominent and cigarette smoking is considered the main factor with emotional stressors micronutrient deficiency and herpesviruses being contributing factors. *Beheshti Univ. Dent. J. 2005; 22(4):644-651*

### خلاصه

سابقه و هدف: گاهی بدنبال درمان ریشه و یا جراحیهای پرپودنتال به مواردی برخورد می شود که علی رغم انجام درمان صحیح و کامل با شکست مواجه می شویم که علت آن می تواند عوامل میکروبی، تغییرات پاسخ میزبان یا ترکیبی از این دو باشد. عوامل میکروبی نیاز به بررسی جداگانه ای دارند. این مقاله با هدف بررسی تغییرات پاسخ میزبان تنظیم شده است. نتیجه گیری: عامل اصلی درگیری سیستم ایمنی ذاتی و اختصاصی در ضایعات مقاوم اندو میکروبهها می باشند. در ضایعات مقاوم پریو، میکروبهها نقش کم رنگ تری داشته و مهمترین و اصلی ترین عامل سیگار می باشد گو اینکه نقش استرس، micronutrient و هرپس ویروسها را نباید از نظر دور داشت.

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۲/۴/۸ تاریخ تأیید مقاله: ۸۲/۱۱/۴

واژه های کلیدی: پاسخ میزبان، پرپودنتیت عود کننده، پرپودنتیت پری آپیکال عود کننده

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، سال ۱۳۸۳؛ جلد(۴) ۲۲: صفحه ۶۴۴ الی ۶۵۱

### مقدمه

مطالعات نشان می دهند که پاتوژنهای پرپودنتال اغلب در عفونتهای اندودنتیک شرکت دارند. بنابراین ارتباط

\*استادیار گروه پرپودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

\*\*اندودنتیست

می دهد که تحریک ماکروفاژ و لنفوسیت توسط لیپوپولی ساکارید باکتریال به ترتیب منجر به تولید  $IL - 1\beta$  و  $TNF-\beta$  شده که این دو سایتوکاین در پاتوژنز ضایعات مزمن انسان درگیر می باشند<sup>(۵)</sup>. مطالعه Matsuo و همکاران (۱۹۹۴) کاهش میزان  $IL - 1\beta$  و افزایش  $IL - 1\alpha$  را در اگزودای پری آپیکال ریشه های عفونی بعد از درمان ریشه نشان می دهد<sup>(۶)</sup>.

مطالعه Okiji و همکاران در سال ۱۹۹۴ نشان می دهد که ماکروفاژها و سلولهای دندریتیک دو نوع سلول اصلی هستند که نقش پردازش و ارائه آنتی ژنهای خارجی را به سلولهای TH در طی شروع پاسخ ایمنی نسبت به عفونت برعهده دارند. این سلولها آزاد کننده های احتمالی  $IL - 1\beta$  هستند که باعث پرولیفراسیون و فعال شدن T cell می شوند. در تمام فازهای پیشرفت ضایعه پری آپیکال در موش، این سلولها مشاهده شده اند. بنابراین  $IL - 1\beta$  می تواند نقش کلیدی در شروع، گسترش و پایداری ضایعات داشته باشد<sup>(۷)</sup>. مطالعه Kanekoe و همکاران در سال ۲۰۰۱ این مطالعه را مورد تأیید قرار داده است<sup>(۸)</sup>.

مطالعه Kawashima و همکاران در سال ۱۹۹۶ افزایش تأخیری و مداوم پلاسماسل ها را که نشانگر شرکت داشتن راکسیون های ایمنی تعدیل شده با آنتی بادی در دائمی شدن ضایعه پری آپیکال است نشان می دهد<sup>(۹)</sup>. در بافت پریدونتال سالم و ژنژیویت حالت تعادل بین تهاجم باکتریال پلاک و پاسخ ایمنی وجود دارد که در نتیجه این تعادل ساپورت پریدونتال از دست نمی رود.

پریودنتیک - اندودنتیک مسیری بحرانی است که می تواند در مقاوم شدن بیماریهای پریودنتیک یا اندودنتیک به درمان نقش داشته باشد. در طی پاتوژنز ضایعه پری آپیکال، پاسخهای ایمنولوژیکال جهت حذف تهاجم آنتی ژنهای خارجی فعال می شوند ولی در عفونتهای طولانی مدت دفاع میزبان ظاهراً کمتر موثر است. در refractory periodontitis نیز اختلال در پاسخ ایمنی گزارش شده است. تشابهات میکروبیولوژیک بین ضایعات مقاوم اندو و پریو نیاز به بحث جداگانه ای دارد.

عامل اصلی پریودنتیت آپیکال، باکتریهای داخل کانال ریشه می باند و تخریب استخوان پری آپیکال شکل مشخص این بیماری است<sup>(۱)</sup>. به اعتقاد ترابی نژاد (۱۹۸۵) و Stashenko (۱۹۹۰) تحلیل استخوان در ارتباط نزدیک با انفیلتراسیون سلولهای التهابی در ضایعه پری آپیکال می باشد<sup>(۲)</sup>. مطالعه برخوردار و همکاران (۱۹۹۲) نشان می دهد که از میان سلولهای التهابی،  $IL-1\beta$  تواناترین مدیاتور جهت تحلیل استخوان است<sup>(۳)</sup>.

Stashenko و همکاران در سال ۱۹۹۲ نشان دادند که T Helper (TH) در گسترش ضایعه پری آپیکال درگیر است و این عمل را از طریق ترشح  $INF\gamma$  و  $TNF\beta$  انجام می دهد.  $INF\gamma$  خود باعث فعال شدن ماکروفاژ می گردد. ماکروفاژها تولید  $IL - 1\beta$  را تحریک می نمایند. این سایتوکاین ها تشکیل استخوان بوسیله استئوبلاستها را مهار کرده، مانع از ترمیم استخوان در محل التهاب می شوند<sup>(۴)</sup>.

مطالعه Wang و Stashenko در سال ۱۹۹۳ نشان

این بیماران ممکن است تغییراتی در سیستم  $\text{mononuclear cell} - \text{cytokine}$  داشته باشند. مطالعه آنها نشان می دهد که مونوسیتها سطوح بالاتری از IL-1 و PGE 2 را ترشح می نمایند<sup>(۱۱)</sup>.

یکی از مسائلی که امروز ذهن اکثر محققین را در رابطه با ضایعات مقاوم پریو به خود مشغول کرده است مسأله سیگار و سیگاریهاست. بالا بودن شیوع و شدت بیماری در سیگاریها ممکن است بعلت تغییر در پاسخ میزان باشد. بدنبال اثر باکتریها و تغییرات پاسخ میزبان، اثرات سایتوتوکسیک نیکوتین بر روی عملکرد فیبروبلاست اتفاق می افتد. مکانیسمهای احتمالی تأثیر سیگار عبارتند از:

- ۱- کاهش واسکولاریتی و افزایش وازوکنستریکشن<sup>(۱۰)</sup>.
- ۲- اختلال در کموتاکسی لکوسیتهای PMN<sup>(۱۰)</sup>
- ۳- فاگوسیتوز<sup>(۱۰)</sup>
- ۴- کاهش تولید آنتی بادی بخصوص IgG و IgA<sup>(۱۰،۱۲)</sup>
- ۵- کاهش سطوح اکسیژن موضعی و بدنبال آن رشد پاتوژنهای بی هوازی<sup>(۱۰)</sup>
- ۶- اثرات سایتوتوکسیک<sup>(۱۳)</sup>
- ۷- تأثیر شدید بر عملکرد فیبروبلاست و اختلال در ترمیم و بهبود اتصالات پریودنتال<sup>(۱۴)</sup>
- ۸- اثر تخریبی روی تشکیل و حفظ بافت استخوانی (پرولیفراسیون استئوبلاستها را در محیط کشت متوقف کرده، در حالیکه فعالیت آلكالین فسفاتاز استئوبلاست را تحریک می نماید).<sup>(۱۵)</sup>
- ۹- تولید بالای PG E2 و IL - 1 و TNF $\alpha$ ، نوتروفیل

در مقابل پریودنتائیتیس با تغییر در این تعادل که علت آن ممکن است تغییر در ترکیب فلور باکتریال زیر لثه ای یا تغییر در پاسخ ایمنی و یا ترکیبی از این دو باشد، همراه است. نوتروفیل یک جزء مهم از پاسخ میزبان در مقابل عفونت باکتریال است و تغییر در تعداد و یا فانکشن نوتروفیل ها ممکن است به عفونت لوکالیزه و یا سیستمیک منجر گردد. عملکرد بحرانی نوتروفیل ها شامل کموتاکسی، فاگوسیتوز و نابود کردن با استفاده از مکانیسمهای اکسیداتیو و غیراکسیداتیو و تولید سوپراکساید و LTB4 است<sup>(۱۰)</sup>. مطالعه MacFarlane و همکاران (۱۹۹۳) اختلال در فاگوسیتوز پلی مورفونوکلئرها را در R.P. نشان می دهد<sup>(۱۱)</sup>. البته نوتروفیل به تنهایی عمل نکرده بلکه بخشی از محور نوتروفیل - آنتی بادی - کمپلمان می باشد که نقش دفاع در مقابل ارگانیسمهای G<sup>-</sup> را به عهده دارند. نکته دیگری که نشان می دهد نوتروفیل یک سلول محافظ است در واقع مشاهده باکتریهای پریودنتوپاتیکی است که عوامل ویروالانس ضدنوتروفیل را دارا هستند. آنها توکسین و عوامل دیگری را ترشح می کنند که هم عملکرد نوتروفیل را کاهش می دهد و هم آنها را از بین می برد. در ضمن پاتوژنهای باکتریال که در پاکت پریودنتال هستند توانایی اختلال در نوتروفیل را داشته و با تعدیل فعالیت کمپلمان مانع از مکانیسم دفاع سلولی میزبان می گردند<sup>(۱۲)</sup>.

Hernichel - Gorbach و همکاران (۱۹۹۴) بدنبال ارزیابی پاسخ میزان در بیماران مبتلا به R.P. دریافتند که اکثر

الاستاز، ماتریکس متالوپروتئیناز<sup>(۱۰)</sup>.

در بسیاری از سیگارها، ظاهر لته، شدت التهاب و درجه تخریب پریدنتال را نشان نمی دهد که علت آن کاهش واسکولاریتی، افزایش وازوکنستریکشن و اختلال در پاسخ ایمنی و یا ترکیبی از این عوامل می باشد. در واقع سیگار راکسیون نرمال عروقی مشاهده شده در ژنژویت و پریدنتیت را مختل می نماید.

مطالعه Hanes و همکاران (۱۹۹۱) نشان می دهد که نیکوتین می تواند در فیروبلاست انبار شده و بتدریج از آن آزاد گردد و باعث تخریب عملکرد فیروبلاست گردد<sup>(۱۴)</sup>. طبق مطالعه Dabbous و Tipton (۱۹۹۵) نیکوتین همچنین می تواند مانع از تولید فیبرونکتین و کلاژن شده و فعالیت کلاژناز را تحریک نماید<sup>(۱۶)</sup>.

در کل ارتباطی میان وضعیت پریدنتال و پلاک و جرم وجود ندارد. بدنال جرمگیری حداقل بهبود در پاکتها مشاهده می شود. تشکیل مجدد پاکت یکسال بعد از جراحی شایع است. قطع سیگار بهترین نتایج را بدنال دارد<sup>(۱۷)</sup>. بنابراین سیگار می تواند باعث اختلال در پاسخ میزبان به عفونت باکتریال گردد.

از عوامل دیگری که بر روی فعالیت صحیح دفاع میزبان مؤثر می باشد micronutrient ها می باشند که در واقع ترکیبات اصلی و مغذی هستند که به مقدار بسیار کم برای زندگی لازمند<sup>(۱۸)</sup>. Oxidative Burst بخشی از عملکرد فیزیولوژیک فاگوسیتها است که به تولید و رهایی مقدار زیادی رادیکالهای آزاد اکسیژن منجر می گردد. این رادیکالهای آزاد جهت تخریب

میکروارگانسیم های مهاجم مورد نیاز می باشند ولی در یک دوره طولانی در سلامت بافت اختلال ایجاد می نمایند. Antioxidant Micronutients نه فقط برای محدود کردن صدمه اکسیداتیو بافتی بلکه جهت ممانعت از افزایش تولید سایتوکاینها که منجر به فعال شدن طولانی پاسخ ایمنی می گردند، مهم هستند.

آنتی اکسیدانهای خوراکی (شامل ویتامین A، ویتامین C، ویتامین E، سلنیوم، روی و کارتنوئیدها) و دیگر آنتی اکسیدانهای آنزیماتیک نظیر پراکسیداز گلووتاتیون، دسموتاز سوپراکساید و کاتالاز، چربیهای پروتئینها و دیگر biomembran ها را قبل از اینکه اکسیدانها بتوانند به بافت حمله نمایند حفظ می کنند<sup>(۱۹)</sup>.

نقص در antioxidant micronutrient به کاهش تعداد سلول در بافت لنفوئید و ایجاد ابنورمالیتی فانکشنال در پاسخ ایمنی سلولی منجر می گردد<sup>(۲۰)</sup>.

جذب آنتی اکسیدانهای رژیم غذایی بطور مشخص در سیگارها کمتر از غیرسیگارها است. جذب و سطح سرمی ویتامین C، بتاکاروتن، آلفا کاروتن در سیگارها شدیداً پایین می باشد. سیگار به اختلال عمل حفاظتی ویتامین C، گلووتاتیون و دیگر آنتی اکسیدانها در بافت منجر می شود. گلووتاتیون یکی آنتی اکسیدان داخل سلولی است که برای نسخه برداری لنفوسیت مهم می باشد و سیگار قادر به کاهش مشخص غلظت گلووتاتیون بزاق می گردد<sup>(۲۱)</sup>.

از عوامل دیگری که می تواند دفاع میزبان مؤثر باشد استرس است. مکانیسم تأثیر استرس بر روی میزان

بنابراین استرس می تواند توانایی میزبان را در پاسخ ایمنی به حمله باکتریال تغییر دهد<sup>(۳۳)</sup>.

اخیراً نقش ویروسها در تنظیم سیستم دفاعی میزبان مورد توجه قرار گرفته است و پیشنهاد شده است که هرپس ویروسها می توانند نقش مهمی در پاتوژنز پریدونتیت داشته باشد<sup>(۲۹-۲۴)</sup>. از نظر تئوری، هرپس ویروسها ممکن است سلولها را آلوده کرده و باعث تغییر در ساختمان و مکانیسمهای دفاعی آنها در بافت پریدونتال و دیگر بافتها شده و به دنبال آن قدرت این بافتها را در مقابل تهاجم باکتریایی تغییر بدهند. ژنوم سایتومگال ویروس (HCMV) و اپشتاین بار ویروس (EBV) بارها در ضایعات پیشرفته پریدونتال نشان داده شده اند<sup>(۳۰، ۲۵)</sup>. عفونت اولیه با این دو ویروس در دوران بچگی اتفاق می افتد. دوباره فعال شدن این ویروسها اغلب بدنال تغییر در وضعیت های سیستمیک یا اختلال در ایمنی موضعی بویژه ایمنی سلولی رخ می دهد<sup>(۳۱)</sup>. پیشنهاد شده است توانایی هرپس ویروسها در آلوده کردن پلی مورفونوکلترها، ماکروفاژها و لنفوسیت ها، مقاومت میزبان را کاهش داده و محیط مناسبی برای لوکالیزاسیون و رشد باکتریهای پریدونتوپاتیک فراهم می نماید<sup>(۳۱)</sup>. نودری و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که فعال شدن HCMV و EBV نقش مهمی در پاتوژنز و ایجاد ضایعات پری آپیکال سمپتوماتیک دارد<sup>(۳۲)</sup>. آلودگی با این دو ویروس ممکن است از طریق بیماریهای غیردهانی<sup>(۳۱)</sup>، زخمهای دهانی<sup>(۳۳)</sup>، پریدونتیت اتفاق بیفتد<sup>(۳۴)</sup>. فعال شدن این ویروسها در سلولهای التهابی

تخریب بیماری پریدونتال بخوبی مشخص نشده است. آنچه مشهود است عبارتست از اینکه بدنال استرس میزان کورتیکواستروئید افزایش یافته و تغییراتی در اعصاب، اندوکراین و سیستم عروقی ایجاد می شود<sup>(۲۲)</sup>. گلوکوکورتیکوئیدها بصورت اندوژن در کورتکس آدرنال از طریق راکسیون که منجر به تبدیل کلسترول به کورتیزول می گردد سنتز می شوند. افزایش در کورتیکواستروئیدها چه اگزوژن، چه اندوژن باعث کاهش پاسخ ایمنی می گردد. اثرات ایمونوساپرسیو گلوکوکورتیکوئیدها عبارتند از:

- ۱- ممانعت از تولید 2 - IL (افزایش فعالیت سایتوتوکسیک T - cell و تولید آنتی بادی بوسیله B - cell
- ۲- جلوگیری از تولید پروستاگلندین و لکوترین بوسیله تثبیت غشاء لیزوزومی و سایر منشاها
- ۳- ایجاد اثر توکسیک بر روی نرونها و ایجاد صدمه به hippocampus که شامل بالاترین غلظت رسپتورهای گلوکوکورتیکوئید در مغز می باشد.
- ۴- تولید بالای آدرنالین و دیگر هورمونهای عصبی در نتیجه افزایش فعالیت اعصاب سمپاتیک و بدنال آن کاهش پرمناوبیلیتی عروق خونی کوچک در نتیجه کاهش اگزودا و سلولهای فاگوسیتیک.
- ۵- ممانعت از تشکیل بافت گرانولاسیون
- ۶- جلوگیری از آزاد شدن مونوسیتها از مغز استخوان و کاهش ماکروفاژ در اگزودای التهابی و کاهش تولید آنتی بادی

در پاسخ به این سوال که در اینگونه موارد بهترین راه درمان کدام است باید پاسخ داد که پیشگیری بهترین راه حل می باشد. در درمانهای اندودنتیک شستشوی مرتب کانال با محلولهای ضد میکروبی و ضد ویروسی که قطعاً آنتی ژنیک هم نباشند بسیار مؤثر خواهد بود. ضمن اینکه با توجه به بالا بودن میزان IL-1 $\beta$  در ضایعات مقاوم اندو باید بدنبال دارویی بود که اثر IL-1 $\beta$  را خنثی نماید. در بیماریهای پریدونتال، موضوع ساده تر است چرا که یکی از مهمترین عوامل مقاوم شدن فرد به درمان، استعمال دخانیات است. در این موارد بهتر است بیمار را نسبت به پیش آگهی درمان آگاه سازیم تا اگر به ترک سیگار اقدام نمی نماید حداقل میزان آن را کاهش دهد. ضمن اینکه باید حضور هرپس ویروسها را نیز مد نظر داشته باشیم.

ناحیه پری اپیکال به ایجاد اختلال در دفاع میزبان منجر می گردد که رشد بیش از حد باکتریهای پاتوژنیک را در پی دارد<sup>(۳۱)</sup>.

### نتیجه گیری

بدنبال جمع آوری و ارزیابی مطالعات انجام شده مشخص شد که تغییر در پاسخ ایمنی میزبان می تواند خود عاملی جهت مقاوم شدن فرد نسبت به درمان چه اندودنتیکال و چه پریدونتال گردد. اگر چه نقش آن ثانویه بوده و به وجود یکسری عوامل تحریکی بستگی دارد. در ضایعات مقاوم اندو، اصلی ترین عامل وجود میکروبهها می باشد. در ضایعات مقاوم پریو معتقدند که میکروبهها نقش کمرنگ تری دارند و عامل اصلی سیگار است گو اینکه تأثیر استرس و micronutrient را نباید از نظر دور داشت. آخرین تحقیقات انجام شده نیز نشانگر نقش هرپس ویروسها بر روی دفاع میزبان می باشند.

### References:

1. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RT: The effect of surgical exposure of dental pulps in Germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg* 1965;**20**:340-349
2. Matsumoto A, Anan H, Maeda K: An immunohistochemical study of the behaviour of cells expressing Interlukin - 1 $\alpha$  and Interlukin - 1 $\beta$  within experimentally induced periapical lesions in rats. *JOE* 1998;**24**:811-817
3. Barkhordar RA, Hussain MZ, Hayashi C: Detection of Interlukin-1 $\beta$  in human periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992;**73**:334-6
4. Stashenko PH, Siu Min Yu, Cun-Yu Wang: Kinetics of immune cell and bone resorptive responses to endodontic. *JOE* 1993;**19**:107-112
5. Cun - Yu Wang, Stashenko PH: Characterization of bone - resorbing activity in human periapical lesions. *JOE* 1993;**19**:107-112
6. Matsuo T, Ebisu SH, Nakanishi T, Yonemura K, Harada Y, Okada H: Interlukin -1 $\alpha$  and interlukin -1 $\beta$  in periapical exudates of infected root canals. Correlations with the clinical findings of the involved teeth. *JOE* 1994;**20**:432-436

7. Okiji T, Kawashima N, Kosaka T, Kobayashi CH, Suda H: Distribution of Ia Antigen – expressing nonlymphoid cells in various stages of induced peripaical lesions in rat molars. *JOE* 1994;**20**:27-32
8. Kanekoe T, Okiji T, Kan L, Takagi M, Suda H: Ultrastructural analysis of MHC class II molecule – expressing cells in experimentally induced periapica lesions in the rat. *JOE* 2001;**27**:337-343
9. Kawashima N, Okiji T, Kosaka T, Suda H: Kinetics of macrophages and lymphoid cells during the development of experimentally induced periapical lesions in rat molars: A quantitative immunohistochemical study. *JOE* 1996;**22**:311-317
10. Novak J, Novak F: Smoking and periodontal disease in: Carranza F, Newman G: Clinical periodontology. **9<sup>th</sup> Ed.** *WB Saunders Co.* 2002;Chap14:247-248
11. Nagy R, Carranza F, Newman G: Necrotizing Ulcerative Peridontitis, Refractory Periodontitis, and Periodontitis as a Manifestation of Systemic Diseases. In: Carranza F, Newman G: Clinical Peridontology: **9<sup>th</sup> Ed** , *W.B.Saunders Co.* 2002; *Chap 27*: 404-405
12. Hart TC, Shapiro L, VanDyke T: Neutrophil defect as risk factor periodontal diseases. *J Periodontol* 1994;**65**:521
13. Raulin L, McPherson J, McQuade M: The effect of nicotine on the attachment of fibroblasts to glass and human root surfaces in vitro. *J Periodontol* 1989;**59**:318-325
14. Hanes P, Schuster G, Lubas S: Binding, uptake and release of nicotine by human gingival fibroblasts. *J Periodontol* 1991;**62**:147-152
15. Fang MA, Frost PJ, Hahn TJ: Effects of nicotine on cellular function in UMR 106-01 osteoblast – like cells. *Bone* 1991;**12**:283-286
16. Tipton DH, Dabbous MKH: Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontol* 1995;**66**:1056-1064
17. Haber J: Cigarette smoking: a major risk factor for periodontitis. *Compendium* 1994;**8**:1002
18. Schmidt K: Interaction of antioxidative micronutrients with host defense mechanism. A critical review. *Int J for Vit and Butr Res* 1997;**67**:307-311
19. Zappacosta B, Persichilli S, De Sole P, Mordente A, Giardina B: Effect of smoking one cigarette on Antioxidant metabolities in saliva of healthy smokers. *Arch Oral Biol* 1999;**44**:485-488
20. Grimble RF: Effect of antioxidative vitamins on immune function with clinical application. *Int J for Vit and Nutr Res* 1997;**67**:312-320
21. Zondervan KT, Ocke MC, Smit HA, Seidell JC: Do dietary and supplementary intakes of antioxidants differ with smoking status. *Int Epidemiol* 1996;**25**:70-79
22. Klokkevold PR: Periodontal medicine. Assessment of risk factors for disease. *J Calif Dent Assoc* 1999;**27**:135-142
23. Seltzer S: Repair following root canal therapy. Endodontology biologic considerations in endodontic procedures. **2<sup>nd</sup> Ed.** *Lea & Febiger Co.* 1988;Chap13:389
24. Contreras A, Slots J: Herpes viruses in human periodontal disease. *J Periodontal Res* 2000;**35**:3-16
25. Contreras A, Slots J: Mammalian viruses in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1996;**11**:381-386
26. Contreras A, Falker Jr WA, Enwonwu CO, et al: Human Herpesviridae in acute ulcerative gingivitis in children in Nigeria. *Oral Microbiol Immunol* 1997;**12**:259-265

27. Contreras A, Slots J: Active cytomegalovirus infection in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1998;**13**:225-230
28. Contreras A, Umeda M, Chen C, Bakker I, Morrison JL, Slots J: Relationship between herpesviruses and adult periodontitis and periodontopathic bacteria. *J Periodontol* 1999;**70**:478-484
29. Contreras A, Zadeh HH, Nowzari H, Slots J: Herpesvirus infection of inflammatory cells in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1999;**14**:206-212
30. Parra B, Slots J: Detection of human viruses in periodontal pockets using polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol* 1996;**11**:289-293
31. Slots J, Contreras A: Herpesviruses: A unifying causative factor in periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 2000;**15**:277-280
32. Sabeti M, Simon JH, Nowzari H, Slots J: Cytomegalovirus and Epstein – Barr virus active infection in peripheral lesions of teeth with intact crowns. *JOE* 2003;**29**:321-323
33. Sabiston CB Jr: A review and proposal for aetiology of acute necrotizing gingivitis. *J Clin Periodontol* 1986;**13**:727-734
34. Ronas Y, Hocham N, Ehrlich J, Zakai – Ronas Z: Sensitivity of oral tissues to herpes simplex virus in vitro. *J Periodontol* 1983;**54**:91-95