

UNIVERZITET U BEOGRADU

STOMATOLOŠKI FAKULTET

Nada M. Novaković

**UTICAJ RAZLIČITIH METODA
KONZERVATIVNOG LEČENJA
OBOLELIH OD HRONIČNE
PARODONTOPATIJE NA OKSIDATIVNI
STRES I ANTIOKSIDATIVNI STATUS
PLJUVAČKE**

doktorska disertacija

Beograd, 2016.

UNIVERSITY OF BELGRADE
SCHOOL OF DENTAL MEDICINE

Nada M. Novaković

**THE INFLUENCE OF DIFFERENT NON-
SURGICAL CHRONIC PERIODONTITIS
TREATMENT MODALITIES ON
SALIVARY OXIDATIVE STRESS
MARKERS AND ANTIOXIDANTS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016.

MENTOR:

Prof. dr **Saša Čakić**,
Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet,
Klinika za parodontologiju i oralnu medicinu

ČLANOVI KOMISIJE:

Prof. dr **Saša Janković**,
Univerzitet u Beogradu,
Stomatološki fakultet,
Klinika za parodontologiju i oralnu medicinu

Prof. dr **Zoran Aleksić**,
Univerzitet u Beogradu,
Stomatološki fakultet,
Klinika za parodontologiju i oralnu medicinu

Prof. dr **Ljiljana Janković**,
Univerzitet u Beogradu,
Stomatološki fakultet,
Klinika za parodontologiju i oralnu medicinu

dr sc **Emina Čolak**,
naučni saradnik,
Centar za medicinsku biohemiju,
Klinički centar Srbije

Zahvalnica

Najiskrenije se zahvaljujem svom mentoru, **prof. dr Saši Čakiću**, koji mi je bio podstrek, kritičar, savetnik i koji je svojim velikim ličnim zalaganjem omogućio da lakše prebrodim sve prepreke na koje sam nailazila u toku izrade ovog rada.

Veliku zahvalnost dugujem **dr sc Emini Čolak**, koja mi je svojim nesebičnim angažovanjem pomogla u rešavanju naučnih problema na koje sam nailazila, i bez koje ovo kompleksno istraživanje ne bi bilo moguće.

Veliku zahvalnost dugujem i **prof. dr Ljiljani Janković**, koja mi je pomogla u prevazilaženju mnogih naučnih dilema.

Naročitu zahvalnost dugujem **dr Mili Jovanović** na velikoj pomoći u realizaciji ovog istraživanja.

Na kraju bih želela da se zahvalim svojoj porodici, **Marku, Milici i Jovani** na velikoj ljubavi i neograničenoj podršci koju su mi pružili.

Doktorsku disertaciju posvećujem mojoj majci, **Hadži Verici Novaković**, mojoj najvećoj podršci u životu.

UTICAJ RAZLIČITIH METODA KONZERVATIVNOG LEČENJA OBOLELIH OD HRONIČNE PARODONTOPATIJE NA OKSIDATIVNI STRES I ANTIOKSIDATIVNI STATUS PLJUVAČKE

SAŽETAK

Uvod: Parodontopatija je hronično inflamatorno oboljenje potpornog aparata koje dovodi do njegove destrukcije a za krajnji ishod može imati i gubitak zuba. Ako u obzir uzmemo rasprostranjenost ovog oboljenja, koja po nekim istraživanjima iznosi više od 90% odrasle populacije, onda vidimo i socioekonomski značaj njegovog lečenja i saniranja posledica.

Kada dođe do klinički vidljivog inflamatornog procesa u parodontcijumu to obično predstavlja stanje koje je u većoj ili manjoj meri ireverzibilano. U parodontologiji je zato i dalje otvorena ideja o uvođenju biohemijskih analiza koje bi dijagnostikovale postojanje inflamatornog procesa u parodontcijumu pre nego što je moguće da se on uoči na kliničkom nivou. Sledstveno tome praćenje biohemijskih pokazatelja stanja parodontcijuma moglo bi imati ulogu u poređenju rezultata različitih metoda lečenja parodontopatije. Savremeno shvatanje nastanka mnogih oboljenja, uključujući i inflamatorna, bazira se pored ostalog i na štetnom dejstvu tzv. slobodnih radikala. Oksidativno oštećenje ćelijske membrane nastaje kao posledica peroksidacije polinezasićenih masnih kiselina (PNMK) i dovodi do stvaranja malondialdehida (MDA) kao krajnjeg produkta. Merenje koncentracije MDA najčešće se koristi kao pokazatelj intenziteta oksidacije PNMK tj. jačine oksidativnog stresa uopšte. Indikatorom oksidativnog oštećenja DNK smatra se 8-hidroksi2-deoksiguanozin (8-OHdG). Protiv slobodnih radikala organizam se bori posebnim mehanizmima koji su uključeni u antioksidativnu zaštitu organizma. Antioksidativna zaštita obuhvata sve organske i neorganske molekule koji mogu da neutrališu slobodne radikale. Mnogim istraživanjima je pokazano da je koncentracija antioksidanasa, odnosno aktivnost antioksidativnih enzima manja što je nivo oksidativnog stresa veći i obrnuto.

Pljuvačka je telesna tečnost koja se lako može prikupiti. Ona, pored ostalog, sadrži i lokalne i sistemske pokazatelje inflamatornih procesa u parodontcijumu. Dokazivanje povezanosti nivoa oksidanasa i antioksidanasa u pljuvački sa intenzitetom inflamacije u parodontcijumu značajno je za bolje razumevanje patogeneze parodontopatije,

uvođenje novih preventivnih i dijagnostičkih mera kojim bi se otkrilo postojanje parodontopatije u najranijoj fazi, ali i za poređenje rezultata različitih metoda lečenja ovog oboljenja. Konzervativna tj. kauzalna terapija je prvi i najvažniji korak u lečenju obolelih od parodontopatije. Kao što joj i naziv kaže ova faza lečenja pre svega ima za cilj uklanjanje uzročnika oboljenja. Poznato je međutim da parodontopatogeni pored parodontalnog džepa naseljavaju i druga staništa u orofaringealnoj regiji kao što su: pljuvačka i svi delovi sluzokožne usne duplje pa i orofarinksa. Patogeni iz pomenutih staništa imaju značajnu ulogu u rekolonizaciji parodontalnog džepa nakon njegove obrade. Jednoseansni protokol, koji uključuje pored procedura klasične kauzalne terapije i dezinfekciju jezika, sluzokože usne duplje i orofarinksa nekim od antiseptičkih sredstava npr. hlorheksidindiglukonom naziva se dezinfekcija celih usta (eng. full mouth disinfection). I pored velikih očekivanja klinička i mikrobiološka ispitivanja nisu uspela da dokažu ostvarenje značajno boljih rezultata u odnosu na uobičajeni pristup konzervativnoj terapiji obolelih od hronične parodontopatije .

Ciljevi istraživanja su bili da se ustanove razlike u sadržaju i aktivnosti pokazatelja oksidativnog stresa i antioksidanasa (malondialdehida, 8-hidroksi2-deoksiguanozina, glutation peroksidaze, superoksid dismutaze), kao i u ukupnom antioksidativnom kapacitetu pljuvačke kod: obolelih od hronične parodontopatije pre i nakon sprovedene terapije metodom dezinfekcije usne duplje kao i kod obolelih od hronične parodontopatije pre i nakon sprovedene konzervativne terapije uobičajenim višeseansnim postupkom. Takođe smo želeli da ustanovimo korelaciju gore navednih biohemijskih parametara sa kliničkim parametrima stanja parodontocijuma pre i nakon sprovedene terapije kod obe grupe pacijenata.

Materijal i metode istraživanja: Navedeno istraživanje je bilo kontrolisano kliničko-laboratorijsko ispitivanje, u kome se određivatla koncentracija malondialdehoda (MDA), 8-hidroksi2-deoksiguanozina (8-OHdG) kao pokazatelja oksidativnog stresa i aktivnost glutation peroksidaze (GPX) i superoksid dismutaze (SOD), kao značajnih antioksidanasa pljuvačke. Takođe je utvrđivan i ukupni antioksidativni status u pljuvački tih pacijenata.

U ovo ispitivanje je bilo uključeno 60 sistemski zdravih pacijenata, starosti od 25-55 godina, kod kojih postoji puna klinička slika hronične parodontopatije podeljenih u dve grupe i to: grupa od 30 pacijenata, kod kojih je sprovedena konzervativna terapija parodontopatije uobičajenim višeseansnim postupkom (KKT grupa), grupa od 30

pacijenata, kod kojih je sprovedena terapija parodontopatije metodom dezinfekcije usne dupilje (full mouth desinfection) – FMD grupa. Svim pacijentima bi bili uzeti uzorci pljuvačke u trenutku postavljanja dijagnoze, kao i dva meseca nakon završetka terapije. U prvoj grupi pacijenata je bila sprovedena kauzalna terapija parodontopatije na uobičajeni višeseansni način, dok su u drugoj grupi pacijenti bili tretirani metodom koja uključuje dezinfekciju usne duplje po protokolu koji su ustanovili Quirynen i sar.. To podrazumeva sve metode klasične kauzalne terapije uz obilnu primenu antiseptika (hlorheksidin diglukonat 0.2% i 0.5%) pre i nakon konzervativne terapije. Svi postupci se sprovode u roku od 24 sata. Na početku ispitivanja pacijentu bi bio uzet uzorak pljuvačke pomoću salivete za dalje biohemijske analize. Dva meseca po završenoj terapiji bi bio urađen kontrolni pregled gde će ponovo biti izmereni klinički parametri stanja parodontocijuma i ponovo uzeti uzorci pljuvačke pomoću salivete za laboratorijske analize.

Rezultati: Obe ispitivane grupe su bile statistički homogene u pogledu distribucije demografskih podataka (starost, pol, stručna sprema) kao i u pogledu kliničkih pokazatelja stanja parodontocijuma pre početka lečenja. Vrednosti plak indeksa (PI) se statistički značajno razlikuju pre i posle sprovedene terapije kod obe grupe ispitanika ($p < 0.01$). Smanjenje vrednosti PI posle sprovedene terapije nije statistički značajno različito između dve grupe ispitanika ($p > 0.05$). Vrednosti indeksa krvarenja na provokaciju (KNP) se statistički značajno razlikuju pre i posle sprovedene terapije kod obe grupe ispitanika ($p < 0.01$). Smanjenje vrednosti KNP posle sprovedene terapije nije statistički značajno različito između dve grupe ispitanika ($p > 0.05$). Vrednosti gingivalnog indeksa (GI) se statistički značajno razlikuju pre i posle sprovedene terapije kod obe grupe ispitanika ($p < 0.01$). Smanjenje vrednosti GI posle sprovedene terapije nije statistički značajno različito između dve grupe ispitanika ($p > 0.05$). Dubina sondiranja (DS) se statistički značajno razlikuje pre i posle sprovedene terapije kod obe grupe ispitanika ($p < 0.01$). Smanjenje izmerenih vrednosti za DS posle sprovedene terapije nije statistički značajno različito između dve grupe ispitanika ($p > 0.05$). Izmerene vrednosti nivoa pripojnog epitela (NPE) se nisu statistički značajno promenile posle sprovedene terapije ni u jednoj grupi ispitanika ($p = 0.135$). Smanjenje izmerenih vrednosti za NPE posle sprovedene terapije nije statistički značajno različito između dve grupe ispitanika ($p = 0.162$). Koncentracija MDA se statistički značajno povećala posle sprovedene terapije kod obe grupe

ispitanika ($p < 0.01$). Razlika u vrednosti koncentracija MDA posle sprovedene terapije između dve grupe ispitanika nije pokazala statističku značajnost ($p = 0.641$).

Koncentracija 8-OHdG se smanjila posle sprovedene terapije kod obe grupe ispitanika ali bez statističke značajnosti ($p > 0.05$). Aktivnost SOD se smanjila ali bez statističke značajnosti posle sprovedene terapije kod obe grupe ispitanika ($p > 0.05$).

Aktivnost GPx se povećala posle sprovedene terapije kod obe grupe ispitanika ali bez statističke značajnosti ($p < 0.01$). Posle sprovedene terapije povećanje aktivnosti GPx između dve grupe ispitanika nije pokazala statističku značajnost ($p = 0.472$).

Pre sprovedene terapije statistički značajne korelacije nađene su u obe grupe ispitanika za vrednosti GI i 8OHdG, GI i TAS, KNP i MDA, NPE i SOD, KNP i 8-OHdG, NPE i TAS; nakon sprovedene terapije statistički značajne korelacije u grupi KKT su nađene za vrednosti GI i 8OHdG, NPE i 8-OHdG, KNP i GPx, KNP i SOD a u FMD grupi: PI i SOD, KNP i 8-OHdG, DS i GPx.

Zaključak: Na osnovu rezultata sprovedenih istraživanja može se zaključiti sledeće: koncentracije 8-OHdG u pljuvački su niže posle sprovedene terapije u obe grupe ispitanika, dok se koncentracija MDA statistički značajno povećala. Aktivnosti GPx se povećala dok se aktivnost SOD u pljuvački smanjila posle sprovedene terapije u obe grupe ispitanika. Vrednost TAS se statistički značajno povećala posle sprovedene terapije u obe grupe ispitanika. Pronađene su statistički značajne korelacije ispitivanih biohemijskih parametara sa kliničkim parametrima stanja parodonticijuma u obe grupe ispitanika.

Ključne reči: parodontopatija, oksidativni stres, antioksidansi, pljuvačka, 8-hidroksideoksiguanozin, malondialdehid, superoksiddismutaza, glutathionperoksidaza, ukupni antioksidativni status

Naučna oblast: stomatologija

Uža naučna oblast: parodontologija

UDK broj: 616:314.17-085:612.313(0433)

THE INFLUENCE OF DIFFERENT NON-SURGICAL CHRONIC PERIODONTITIS TREATMENT MODALITIES ON SALIVARY OXIDATIVE STRESS MARKERS AND ANTIOXIDANTS

ABSTRACT

Background: Chronic periodontitis is the most prevalent oral inflammatory disease. It appears as a result of imbalance between bacterial colonization of the oral environment and host immune defense. As part of the body's immune response inflammatory mediators are released allowing chemotaxis of immune cells in place of inflammation. In defense of oral tissues from pathogenic microorganisms "first line" are polymorphonuclear leukocytes (PMN). Interaction of leukocytes and bacteria trigger the biochemical and physiological processes that cause the host to neutralize pathogens, but also possible damage to local tissues. Polymorphonuclear leukocytes induced by pathogens are characterized by increased consumption of oxygen (respiratory burst) i.e. increasing the production of free radicals (superoxide anion, hydrogen peroxide, hydroxyl radical, etc.). Released radicals, by oxidative mechanism distort the structure of bacterial cell membrane and thus „kill“ bacteria. However, during the defense reaction, especially under conditions of overproduction of radicals can lead to oxidative modification of various host biomolecules and damage oral tissue cells, as some kind of „collateral damage". Lipid peroxidation is the oxidative degradation of lipids. It is the process in which free radicals "steal" electrons from the lipids in cell membranes, resulting in cell damage. Lipid peroxidation is a well-established mechanism of cellular injury, and is used as an indicator of oxidative stress in cells and tissues. Lipid peroxides, derived from polyunsaturated fatty acids, are unstable and decompose to form a complex series of compounds. These include reactive aldehydes, of which the most abundant is malondialdehyde (MDA). Therefore, measurement of malondialdehyde is widely used as an indicator of lipid peroxidation. In addition, end-products of lipid peroxidation may be mutagenic and carcinogenic. For instance, the end-product malondialdehyde reacts with deoxyadenosine and deoxyguanosine in DNA. Although more than 20 base lesions have been identified, only a fraction of these have received appreciable study, most

notably 8-oxo-2'-deoxyguanosine. This substance is used as indicator of DNA damage.

Saliva contains oxidative stress markers such as MDA and 8-OHdG, as well as enzymic antioxidants: superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), peroxidase, catalase, etc.) and non-enzymic antioxidants (uric acid, albumin, glutathione, vitamins A, C, etc.) which neutralize free radicals. It has been claimed that there is significant decrease in concentration of antioxidants in saliva of periodontal patients comparing to healthy individuals. There are a lot of systemic disorders giving oral manifestations based on imbalance between free radicals and antioxidants, with consequential destruction of host tissue as a result of oxidative stress (Diabetes mellitus, atherosclerosis, multiple sclerosis, etc). Thereby, recent research is very oriented to determination of not only periodontal biomarkers but the risk markers of systemic diseases giving oral manifestations, which reflect disease onset, progression and therapy outcome, with emphasis on available and low invasive procedures. Traditional periodontal therapy constitutes of subgingival debridement along with maintenance of proper oral hygiene as *conditio sine qua non*. This approach is either definitive or the initial phase before surgical therapy in severe cases of periodontitis. Quirynen et al. (1995) re-introduced the one-stage full-mouth disinfection (FMD) instead of traditional non/surgical therapy. In addition to procedures in traditional approach to non-surgical therapy FMD includes abundant treating of oral cavity with an antiseptic (0.5 & 0.2% chlorhexidindigluconate). Clinical and microbiological studies did not prove significantly better results of FMD compared to traditional non-surgical treatment.

The objectives of the study were to determine differences in the content and activity indicators of oxidative stress and antioxidants (malondialdehyde, 8-hidroksi2-deoxyguanosine, glutathione peroxidase, superoxide dismutase), as well as in the total antioxidant capacity of saliva at: patients with chronic periodontitis before and after FMD therapy method as well as in patients with chronic periodontitis before and after the traditional non-surgical therapy. The another aim of the study was to establish a correlation between biochemical parameters and clinical parameters before and after the therapy in both groups of patients.

Material and Methods: This controlled clinical study which determines the concentration of malondialdehida (MDA), 8-hidroksi2-deoxyguanosine (8-OHdG) as an indicator of oxidative stress and the activity of glutathione peroxidase (GPX) and

superoxide dismutase (SOD), as important antioxidants saliva. It is also to determine the total antioxidant status in the saliva of these patients.

This study included 60 systemically healthy patients, aged 25-55 years, with chronic periodontitis, divided into two groups:

The first group of 30 patients, was treated with traditional non-surgical therapy (TNT group).

The second group of 30 patients, was treated with FMD procedure (FMD group). This includes all methods of traditional non-surgical therapy with generous application of an antiseptic (chlorhexidine digluconate 0.2% and 0.5%) before and after treatment. All procedures were carried out within 24 hours. Saliva sample was collected at the time of diagnosis, as well as two months after completion of therapy.

Results: Both groups were statistically homogeneous in terms of distribution of demographic data (age, gender, qualifications) as well as in terms of clinical indicators of periodontal condition before treatment. PI values are significantly different before and after the therapy in both groups ($p < 0.01$). Reducing the value of PI after the therapy was not significantly different statistic between the two groups ($p > 0.05$).

Values BPI are significantly different before and after the therapy in both groups ($p < 0.01$). Reducing the value of the PBI after the therapy was not significantly different statistic between the two groups ($p > 0.05$).

GI values are significantly different before and after the therapy in both groups ($p < 0.01$). Reducing the value of the GI after the therapy was not significantly different statistic between the two groups ($p > 0.05$).

Probing depth was significantly different before and after the therapy in both groups ($p < 0.01$). Reducing the measured values for the DS after the therapy was not significantly different statistic between the two groups ($p > 0.05$).

The measured values of gingival attachment is not significantly altered after the therapy in these groups of patients ($p = 0.135$). Reducing the measured values of NPE after the therapy was not significantly different statistic between the two groups ($p = 0.162$).

MDA significantly increased after the therapy in both groups ($p < 0.01$). The difference in the value of MDA after the treatments between the two groups did not reach statistical significance ($p = 0.641$).

The concentration of 8-OHdG was decreased after the therapy in both groups ($p > 0.01$). The difference in the value of the concentration of 8-OHdG after the treatments between the two groups did not reach statistical significance ($p = 0.321$).

SOD activity was decreased after completion of treatment in both groups ($p > 0.01$). The increase in SOD activity after the treatments between the two groups did not reach statistical significance ($p = 0.174$).

GPx activity significantly increased after completion of treatment in both groups ($p < 0.01$). After the therapy increase of GPx between the two groups did not reach statistical significance ($p = 0.472$).

TAS significantly increased after completion of treatment in both groups ($p < 0.01$).

Correlation of clinical and biochemical parameters is shown following results:

- Before the therapy statistic significant correlations were found in CCP group for the values: BPI and MDA, GI and 8OHdG, CAL and 8OHdG, TAS; in FMD group for the values: CAL and SOD, GI and TAS;

- After therapy statistic significant correlation in the group CCP were found in GI values and 8OHdG, BPI and GPx, CAL and 8-OHdG, CAL and SOD and in FMD group: PI and SOD, BPI and 8 -OHdG, PD and GPx.

Conclusion: Concentration of MDA in saliva was significantly lower after the therapy in both groups. Concentration of 8OHdG in saliva was higher after the therapy in both groups. GPx activity was higher and SOD activity lower in saliva after the therapy in both groups. The value of TAS was significantly increased after the therapy in both groups. Statistically significant correlations of studied biochemical parameters with clinical parameters were found in both groups.

Key words: periodontal disease, oxidative stress, antioxidants, saliva, 8-hydroxy deoxyguanosine, malondialdehyde, superoksiddismutaza, glutathione peroxidase, total antioxidant status

Scientific Field: Dental Medicine

Scientific Field Specialized: Periodontology

UDC:616:314.17-085:612.313(0433)

SADRŽAJ

UVOD	- 2 -
I. LITERATURNI PODACI	- 4 -
1. Parodontopatija – etiologija i patogeneza	- 4 -
2. Oksidativni stres i antioksidansi	- 13 -
3. Uloga oksidativnog stresa u patogenezi parodontopatije.....	- 26 -
4. Pljuvačka.....	- 29 -
5. Rezultati prethodnih istraživanja vezana za ispitivanje oksidativnog stresa i antioxidativnog kapaciteta pljuvačke obolelih od parodontopatije	- 32 -
II. RADNA HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA	- 37 -
III. MATERIJAL I METODE	- 38 -
IV. REZULTATI.....	- 46 -
Klinička ispitivanja	- 46 -
Biohemijska ispitivanja.....	- 52 -
V. DISKUSIJA	- 78 -
VI. ZAKLJUČAK	- 99 -
VII. LITERATURA	- 101 -
Indeks tabela	- 110 -
Indeks grafikona.....	- 112 -

UVOD

Inflamacija oralnih tkiva prouzrokovana je različitim stimulansima, kao što su mehanički, hemijski ili infektivni agensi. Kao deo imunog odgovora organizma oslobađaju se inflamatorni medijatori koji omogućavaju hemotaksu odbrambenih ćelija na mesto inflamacije. U odbrani oralnih tkiva od patogenih mikroorganizama "prvu liniju" predstavljaju polimorfonuklearni leukociti (PMN). Interakcijom leukocita i bakterija pokreću se biohemijski i fiziološki procesi domaćina koji dovode do neutralisanja patogena, ali i mogućeg oštećenja lokalnog tkiva. Polimorfonuklearni leukociti, indukovani patogenima, karakterišu se povećanom potrošnjom kiseonika i u njima se dešava prava "respiratorna eksplozija" (*respiratory burst*) tj. povećana je produkcija slobodnih radikala (superoksid anjon, vodonik peroksid, hidroksilni radikal i dr.). Oslobođeni radikali, oksidativnim mehanizmom narušavaju strukturu bakterijske ćelijske membrane i na ovaj način "ubijaju" bakterije. Međutim, tokom ove odbrambene reakcije, a posebno u uslovima hiperprodukcije radikala, može doći i do oksidativne modifikacije različitih biomolekula domaćina i oštećenja ćelija oralnih tkiva, kao neka vrsta "kolateralne štete".

Parodontopatija je najrasprostranjenije oralno inflamatorno oboljenje parodontalnih tkiva praćeno destrukcijom alveolarne kosti, periodontalnih ligamenata, gingive i cementa, čija je posledica gubitak zuba i pojava krezubosti ili bezubosti. Nastaje kao posledica disbalansa između bakterijske kolonizacije oralne sredine i imunološke odbrane domaćina. U oralnoj sredini identifikovano je više od 300 različitih bakterija, a većina egzistira u komensalnom odnosu sa domaćinom. Predominantni mikroorganizmi odgovorni za nastanak parodontalnog oboljenja su Gram-negativne anaerobne bakterije (*Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Campyloacter rectus*, *Peptostreptococcus icros*, *Eikenella corrodens*). Faktori virulentnosti ovih patogena stimulišu infiltraciju obolelog parodontalnog tkiva PMN koji neoksidativnim i oksidativnim mehanizmima neutrališu i „ubijaju“ mikroorganizme. Neoksidativni mehanizam neutralisanja parodontopatogena podrazumeva dejstvo proteolitičkih enzima koji se oslobađaju iz PMN. Oksidativni mehanizam putem kojeg PMN „ubijaju“ mikroorganizme je hiperprodukcija kiseoničkih slobodnih radikala. Ovi visoko reaktivni molekuli, kako

je napred pomenuto, vrše oksidativnu modifikaciju bakterijskih ćelijskih struktura. Međutim, u ovim uslovima može doći i do oksidativne modifikacije biomolekula domaćina.

Pljuvačka je sekret pljuvačnih žlezda značajan u održavanju oralne homeostaze, odnosno, održavanju integriteta mekih i čvrstih tkiva oralne sredine. Kako je u stalnom kontaktu sa oralnim tkivima, precizno reflektuje sva zbivanja u njima, kako fiziološka, tako i patološka, pa je autori nazivaju „ogledalom oralnog zdravlja“. Zbog toga, ovaj sekret predstavlja pogodnu dijagnostičku tečnost u kojoj se mogu analizirati brojni markeri oboljenja oralnih tkiva.

Od posebnog značaja je antioksidativna uloga pljuvačke u cilju neutralisanja slobodnih radikala i umanjenja oksidativnog oštećenja ćelija parodontalnih tkiva, što ovaj sekret realizuje prisustvom enzimskih i ne-enzimskih antioksidanasa. Među njima su dominantni: salivarna peroksidaza, superoksid dizmutaza, glutation peroksidaza, katalaza, mokraćna kiselina, albumin. Analiziranje antioksidanasa pljuvačke, kao i njenog ukupnog antioksidativnog kapaciteta značajno je za bolje razumevanje patogeneze parodontopatije i uvođenje novih preventivnih mera.

I. LITERATURNI PODACI

1. Parodontopatija – etiologija i patogeneza

Inflamatorna oboljenja potpornog aparata zuba pripadaju najučestalijim oboljenjima kod savremenog čoveka. Po nekim istraživanjima više od 90% populacije boluje od nekog oboljenja parodontijuma (Hugosén A i sar. 2008., Dye BA i sar. 2000.). Lečenje ovih oboljenja i saniranje njihovih posledica predstavlja i vazan socioekonomski problem. Kada dođe do klinički vidljivog procesa u parodontijumu to obično predstavlja stanje koje je potencijalno ireverzibilno. U parodontologiji je zato i dalje otvorena ideja o uvođenju novih dijagnostičkih postupaka kojima bi se otkrilo postojanje inflamatornog procesa u parodontijumu pre nego što je moguće da se on uoči na kliničkom nivou.

Sva oboljenja potpornog aparata zuba su na osnovu podele koju je 1999. god. donela međunarodna radionica Američke akademije za parodontologiju klasifikovana u osam kategorija:

- I Gingivalne bolesti
- II Hronične parodontopatije
 - 1. lokalizovane
 - 2. generalizovane
- III Agresivne parodontopatije
 - 1. lokalizovane
 - 2. generalizovane
- IV Parodontopatije kao manifestacija sistemskih bolesti
- V Nekrotizirajuće parodontalne bolesti
- VI Apscesi parodontijuma
- VII Parodontopatije povezane sa endodontskim lezijama
- VIII Stečene i razvojne deformacije i stanja

Naziv hronična parodontopatija, izabran je umesto ranijeg naziva parodontopatija odraslih, jer ovaj oblik parodontalnog oboljenja može nastati u bilo kom životnom dobu, i može se naći i kod primarne i kod sekundarne denticije (konzesusni izveštaj 1999). U ovom izvštaju utvrđeno je da se hronična

parodontopatija može podeliti na lokalizovan i generalizovan oblik, u zavisnosti od toga da li je manje ili više od 30% parodontalnih tkiva zahvaćeno bolešću.



Slika 1: Hronična parodontopatija

Agresivna parodontopatija je po novoj terminologiji Američke Akademije za parodontologiju zamenio naziv „*early onset periodontitis*” (rane parodontopatije), jer ovaj oblik oboljenja može nastati u bilo koje životno doba, tj. može se javiti i kod odraslih osoba. Takođe se agresivna parodontopatija može podeliti na lokalizovani i generalizovani oblik. Stari naziv „lokalizovana odnosno generalizovana juvenilna parodontopatija” je sada zamenjen u „lokalizovana tj. generalizovana agresivna parodontopatija”. Klasifikacijski naziv „predpubertetska parodontopatija” je odbačen, pa je i ovaj oblik parodontopatije opisan kao lokalizovana ili generalizovana agresivna parodontopatija koja nastaje pre puberteta.

Određena sistemska oboljenja i stanja, kao što su pušenje, dijabetes, trudnoća, mogu uticati na tok i razvoj parodontopatije (Međunarodna radionica Američke akademije za parodontologiju, 1999. god.).

Međunarodna radionica Američke akademije za parodontologiju 1999. god. je takođe prihvatila da se ulceronekrozni gingivitis (NUG) i ulceronekrozna parodontopatija (NUP) zovu istim imenom: nekrotizirajuće bolesti parodontocijuma. Dogovoreno je da su NUG i NUP samo različiti stadijumi iste infekcije i nisu odvojene kategorije bolesti. Obe ove bolesti su povezane sa smanjenom otpornošću parodontalnih tkiva na bakterijske infekcije, a razlikuju se po tome da li je bolest ograničena na gingivu ili su zahvaćena i dublja parodontalna tkiva.

Bolesti potpunog aparata zuba se uglavnom definišu kao infekcije uzrokovane mikroorganizmima koji kolonizuju površinu zuba ispod i iznad ivice desni. U ovim područjima može uspešno egzistirati oko 500 vrsta mikroorganizama. Broj mikroorganizama može varirati od 10^3 u zdravom plitkom sulkusu do 10^8 u dubokom parodontalnom džepu. Pomenute bakterije formiraju biofilm - dentalni plak.

20% volumena dentalnog plaka čine bakterije koje su raspoređene u oblikovani matriks ili glikokaliks koji čini 75-80% volumena. U sastav matriksa dentalnog plaka ulaze uglavnom ekstracelularni bakterijski polimeri, pljuvačka i/ili zapaljenski eksudat iz inflamiranih parodontalnih tkiva.

Biofilm-dentalni plak se formira na površinama zuba, mobilnim i fiksnim protetskim radovima, ispunima, zubnom kamencu i subgingivalnim konkrementima, kao i periimplantatno. Predilekciona mesta za formiranje biofilma su mesta koja nisu izložena samočišćenju. To su gingivalna trećina krunice zuba, aproksimalne površine zuba i interdentalni prostori, a posebno subgingivalna regija. Biofilm se lakše formira i akumulira na neravnim površinama kao što su hipoplazije gleđi, cement korena zuba, nedovoljno ispolirani stomatološki radovi. Postoje nevelike, ali sa gledišta etiologije i patogeneze inflamatornih oboljenja parodontcijuma značajne razlike u sastavu dentalnog plaka koji se formira na različitim površinama (Öste i sar. 1981). Do skora se smatralo da parodontopatije nastaju kao posledica kumulativnog dejstva svih mikroorganizama dentalnog plaka, tzv. nespecifična teorija (Loesche 1976.). Po navedenoj teoriji, sve bakterije su podjednako efikasne u izazivanju parodontopatija.

Nova saznanja u parodontalnoj mikrobiologiji ukazuju da parodontopatije pripadaju grupi oboljenja izazvanih specifičnim mikroorganizmima iz dentalnog plaka, tzv. specifična teorija. Socransky je 1992. god. uveo kriterijume na osnovu kojih se utvrđuje neki parodontopatogen. Ovi kriterijumi se temelje na Kochovim postulatima, koji su prošireni i poboljšani. Oni uključuju povezanost, eliminaciju, odgovor domaćina, faktore virulencije istraživanja na životinjama i procenu rizika.

Na radionici kliničkih parodontologa Američke akademije za parodontologiju 1996. god, kao glavni uzročnici parodontopatija određena su tri mikroorganizma: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*. Kriterijumi koji su odredili baš ove mikroorganizme kao glavne parodontopatogene nalaze se u teoriji koju je postavio Socransky.

Utvrđeno je da nastanak, razvoj i težina inflamatornih procesa koji se razvijaju u parodontocijumu zavisi od prisustva specifičnih mikroorganizama dentalnog plaka i njihove sposobnosti da produkuju neke veoma agresivne agense.

U momentu pronalaska glavnog prouzrokača agresivnog parodontitisa, specifična teorija je dobila pun zamah. Utvrđeno je da je tok parodontopatije cikličan i da se periodi mirovanja smenjuju sa periodima aktiviranja inflamatornog procesa i pogoršanja kliničkog nalaza. Period mirovanja ili faza remisije se smatra kliničkom

manifestacijom ravnoteže između faktora agresije mikroorganizama i faktora odbrane domaćina. U fazama aktiviranja inflamatornih procesa u parodonticijumu, dolazi do znatnog povećanja broja Gram-negativnih bakterija, dok u fazama remisije bolesti u dentalnom plaku dominiraju Gram-pozitivne bakterijske vrste.

Obimna istraživanja su pokazala da se parodontopatija ne razvija sinhrono i istovremeno u području svih zuba kod iste osobe, čak ni na površinama jednog istog zuba (Lindhe J. Clin perio. and dental implantology 2004.). Parodontopatogeni osim prostora gingivalnog sulkusa, gingivalnog i parodontalnog džepa naseljavaju i druga staništa u orofacijalnoj regiji kao sto su: pljuvačka i svi delovi sluzokože usne duplje pa i orofarinksa. Sluzokoža dorzalne strane jezika je naročito pogodna za kolonizaciju ovih mikroorganizama.(Beikler T. i sar. 2004., Querynen M. i sar. 2005.) Ova staništa su jako važna zbog mogućnosti rekolonizacije parodontopatogena u prostor parodontalnog džepa nakon njegove obrade.

Na mestima gde je zdrav parodonticijum ili gde je inflamatorni proces u remisiji postoji razlika u mikrobiolškom sastavu dentalnog plaka, kao i u ravnoteži koja je uspostavljena između tih mikroorganizama i odbrane domaćina u odnosu na mesta gde se patološki proces razvija ili je došlo do njegove egzacerbacije. Iz toga proizilazi da pored mikroorganizama dentalnog plaka postoje i drugi faktori koji mogu da utiču na promenu kvalitativnog i kvantitativnog sastava dentalnog plaka.

Osim dentalnog plaka koji je glavni etiološki faktor u nastanku parodontopatije, postoje i akcesorni etiološki faktori. To su faktori koji imaju indirektan uticaj na nastanak, a naročito na tok i brzinu odvijanja patoloških procesa u parodonticijumu. Akcesorni faktori, takođe, utiču na stvaranje dentalnog plaka ili olakšavaju delovanja štetnih agenasa dentalnog plaka. Ovi etiološki faktori u nastanku parodontopatije mogu biti lokalni i opšti.

Lokalni akcesorni etiološki faktori olakšavaju i ubrzavaju formiranje, retenciju i akumulaciju dentalnog plaka, a istovremeno otežavaju ili onemogućavaju njegovo uklanjanje u toku održavanja oralne higijene i tako deluju indirektno na nastanak parodontopatije. U ove faktore ubrajamo: sve druge naslage na zubima, jatrogene faktore, loše navike poput unilateralnog žvakanja, bruksizma, grickanja predmeta i drugih, morfološke anomalije u razvoju mekog i koštanog tkiva, ortodontske anomalije i dr.

Jedan od veoma značajnih lokalnih akcesornih faktora je traumatska okluzija. Ona utiče na razvoj i težinu patoloških promena u parodonticijumu u toku

parodontopatije. Traumatska okluzija usmerava i ubrzava širenje inflamacije u dublja parodontalna tkiva, tako da će pod njenim dejstvom doći do vertikalne resorpcije alveolrne kosti i pojave infrakoštanih defekata. Traumatska okluzija ne izaziva inflamaciju i ne dovodi do stvaranja parodontalnih džepova, ali je važan faktor u destruktivnim promenama parodontcijuma.

Opšti akcesorni etiološki faktori utiču na smanjenje otpornosti parodontcijuma prema delovanju mikroorganizama dentalnog plaka. Time potpomažu pojavu inflamacije i utiču na tok parodontopatije. Pod uticajem ovih faktora promene u parodontcijumu se brže odvijaju, a razaranja su znatno teža. U opšte akcesorne etiološke faktore ubrajamo: nutritivne faktore, endokrine bolesti, krvne bolesti, imunološke poremećaje, neki nasledni faktori, starenje i dr.

Veoma važan momenat u etiopatogenezi parodontopatije je ispoljavanje fenomena sinergizma delovanja glavnog i akcesornih etioloških faktora. Tako, na parodontcijum mogu da deluju mikroorganizmi zajedno sa lokalnim i opštim faktorima. To udruženo delovanje uslovljava brzi razvoj bolesti uz pojavu obimne i teške destrukcije parodontcijuma sa lošom prognozom bolesti.

Po većini studija broj obolelih osoba u starosnoj grupi od 35-44 godine starosti prelazi 70%, a u starosnoj grupi preko 55 godina iznosi više od 90% (Miyazaki i sar. 1976.). Ova istraživanja ukazuju na velike razlike u procentu ispitanika u odnosu na broj i dubinu parodontalnih džepova na istom geografskom području kao i između različitih geografskih područja.

U poslednjih deset godina epidemiolozi su analizirali uticaj faktora rizika na nastanak i progresiju parodontopatija. Faktori rizika se definišu kao karakteristike koje povećavaju verovatnoću za nastanak inflamatornih oboljenja parodontcijuma i mogu biti urođeni, stečeni i faktori okruženja. Urođeni faktori rizika su pol, rasa, genetski faktori, kongenitalne imunodeficijencije, Daunov sindrom, urođeni endokrini poremećaji i dr. Stečeni faktori rizika i faktori okruženja su loša oralna higijena, godine starosti, pušenje, stečene imunodeficijencije, stečene endokrine bolesti kao što je diabetes mellitus, nepravilnosti u ishrani, stres i dr.

Dosadašnje znanje medicinske nauke podržava koncept da su dentalni plak i produkti mikroorganizama koji se u njemu nalaze glavni uzročnici inflamatornih oboljenja parodontcijuma. Iako su bakterije i njihovi produkti jedini etiološki agensi, njihovo delovanje predstavlja samo deo procesa nastanka pomenutih oboljenja. Drugi deo, način na koji odbrambeni sistem domaćina reaguje na bakterije i njihove

produkte, izgleda ima primarnu ulogu u nastanku destruktivnih procesa koji se javljaju u toku parodontopatije.

Parodontopatija u stvari nastaje kao posledica disbalansa između bakterijske kolonizacije usne duplje i odbrambenog sistema domaćina. Zapaljenski i imunološki procesi u parodontocijumu deluju kao zaštita protiv lokalnog napada mikroorganizama. Oni sprečavaju širenje mikroorganizama u okolna tkiva. U nekim slučajevima zapaljenje može da ošteti susedne ćelije i strukture vezivnog tkiva, što odbrambene reakcije čini štetnim. Dalje, u toku inflamatornih procesa, zapaljenske ćelije i imunske reakcije, šireći se dublje u vezivno tkivo ispod dna parodontalnog džepa, mogu da zahvate i alveolarnu kost. Tako „odbrambeni“ procesi mogu, na paradoksalan način, da budu odgovorni za većinu oštećenja tkiva kod gingivita i parodontopatije.

Iako se čini da su inflamatorne i imunološke reakcije parodontocijuma slične reakcijama na drugim mestima u telu, ipak postoje značajne razlike. Donekle je to posledica anatomije parodontocijuma, pre svega permeabilnosti pripojnog epitela. Osim toga inflamatorni i imunološki procesi u parodontocijumu nisu odgovor samo na jednu vrstu mikroorganizama, već na veliki broj vrsta i njihove produkte tokom relativno dugog vremenskog perioda.

Tokom patogeneze parodontopatije u parodontalnim tkivima se dešavaju histološke promene u smislu povećanja zapaljenskog infiltrata, dok se volumen fibroblasta i kolagena smanjuje. Na osnovu dostupnih i kliničkih i histioloških parametara Page i Schoroeder su 1976. god. klasifikovali progresiju parodontopatije. Progredirajuća lezija je u četiri faze: inicijalnu, ranu, uspostavljenu i uznapredovalu (Page i sar. 1976.).

Klinički uočljive promene događaju se tek u ranoj fazi, dok su u inicijalnoj fazi koja je reverzibilna uglavnom klinički neuočljive.

Rana dijagnoza inflamatornih procesa u parodontocijumu, kao i otkrivanje rizika za pojavu egzacerbacije kod pacijenata već obolelih od hroničnog oblika ove bolesti, predstavlja veliki izazov, kako za istraživače u oblasti biomedicinskih istraživanja, tako i za stomatologe kliničare. Da bi se odredio individualni rizik od oboljevanja ili pogoršanja bolesti kod pacijenata već obolelih od parodontopatije korišćena su mnoga mikrobiološka, imunološka, biohemijska i, u novije vreme, genetska istraživanja.

Hronična parodontopatija je jedno od najzastupljenijih oboljenja kod čoveka.

Kliničku sliku ovog oboljenja karakteriše sedam znakova:

1. inflamacija gingive,
2. ogolićenje korena zuba,
3. parodontalni džepovi (koji su i patognomonični znak parodontopatije),
4. eksudat u parodontalnim džepovima,
5. subgingivalni konkrementi na površini korena zuba u parodontalnim džepovima,
6. labavljenje zuba i
7. patološka migracija zuba.(Dimitrijević B. i sar. Parodontologija)

Hronična parodontopatija nastaje još za vreme ili odmah posle puberteta kao gingivitis, ali se simptomi kao što su gubitak kosti i epitelnog pripoja javljaju znatno kasnije. Ovo oboljenje predstavlja sporo-napredujući oblik inflamatornog oboljenja parodontijuma koji u bilo kom trenutku može akutno egzacerbirati.

Hronična parodontopatija:

1. je oboljenje čija se klinička slika i u kvalitativnom i u kvantitativnom smislu vrlo razlikuje od pacijenta do pacijenta,
2. zahvata određene zube,
3. napreduje kontinuirano sa kratkim epizodama lokalne egzacerbacije ili povremene remisije (Caranza's clin. perio. 12th edit)).

Lokalni i sistemski faktori rizika mogu da utiču na brzinu napredovanja oboljenja i mogu da odrede hoće li pojedinac imati uznapredovalu bolest.

Kliničko povećanje nivoa pripojnog epitela od 1 ili 2 mm može da se nađe kod gotovo svih pripadnika starije populacije. Prevalencija osoba sa jednim ili više područja sa povećanjem nivoa pripojnog epitela od 3 mm ili većim, povećava se sa godinama. Takođe sa godinama raste i broj obolelih područja kod jedne iste osobe. Sa godinama raste i prevalencija, težina kliničke slike i uznapredovalost hronične parodontopatije. Ipak, vreme nastanka i brzina napredovanja variraju od osobe do osobe i verovatno su povezani sa genetskim i opštim faktorima rizika. Kod nelečenih osoba dodatno povećanje nivoa pripojnog epitela od 3mm ili više koji je nastao u razdoblju od jedne godine pronađen je u 27% ispitanika (Flemminf i sar. 1999.). U pogledu na zahvaćenja područja, sveukupna incidencija išla je od 0,03 do 4,2% . Ovo upućuje na to da je u određenim razdoblju broj područja koja prolaze kroz progresiju bolesti varijabilan. Srednje godišnje povećanje nivoa pripojnog epitela i gubitka alveolarne kosti varira između 0,04 i 1,04mm. U istim studijama je utvrđeno da se

samo kod malog dela populacije uočava brzo napredovanje bolesti. (Flemmimf i sar 1999.) Faktori koji utiču na napredovanje bolesti su takođe faktori koji su povezani sa početkom parodontopatije. Dalje, trenutni stadijum bolesti, broj područja sa povećanjem nivoa pripojnog epitela i gubitkom kosti i/ili dubokim parodontalnim džepovima mogu odrediti prognozu bolesti. Ustvari, po onome što je do sada poznato, najbolji pokazatelj napredovanja bolesti jeste iskustvo sa predhodnim tokom bolesti.

Neki autori predlažu klasifikaciju uznapredovalosti hronične parodontopatije prema broju zahvaćenih područja i težini bolesti na tim područjima. Prema zahvaćenosti, niska kategorija obuhvatala bi 1-10 područja, srednja 11-20, a visoka preko 20 zahvaćenih područja. Težina bolesti može se razlikovati i prema klinički utvrđenom nivou gubitka epitelnog pripoja, i to blaga (1-2mm), srednja (3-4mm) i teška (≥ 5 mm). Zahvaćenost i težina hronične parodontopatije korisni su kao pokazatelji daljeg napredovanja bolesti. Ako ih posmatramo zajedno sa starosnom dobi pacijenta mogu biti od pomoći u prognozi hronične parodontopatije, a prema tome i određivanju potrebe za terapijom kao i vrste terapije.

Na današnjem nivou kliničke parodontološke prakse napredovanje bolesti može biti potvrđeno samo ponovljenim kliničkim pregledima koji su potkrepljeni rendgenskom dijagnostikom. Vreme koje je potrebno za kliničko praćenje nije malo i pacijenti često nisu radi da se tome podvrgnu. Učestalost radiografisanja bi trebalo da bude ograničena s obzirom na izloženost pacijenta zračenju. Zbog svega navedenog, već dugo se traga za laboratorijskim testovima na osnovu kojih bi se moglo detektovati postojanje inflamacije u parodoncijumu pre nego što ona postane klinički vidljiva. Isto bi tako bilo korisno i odrediti tok bolesti i mogućnost pojave egzacerbacije kod pacijenata koji već boluju od parodontopatije.

Savremena medicina se ne može zamisliti bez laboratorijske dijagnostike. Analiziraju se krv (plazma, serum i uobličeni elementi krvi), urin, pljuvačka i drugi telesni sekreti i ekskreti, kao ćelije i delovi tkiva. Laboratorijska dijagnostika služi da bi se postavila dijagnoza oboljenja ili stanja i kada ona nije detektibilna na kliničkom nivou ili, pak, da se potvrdi klinički postavljena dijagnoza.

Laboratorijska dijagnostika nije puno zastupljena u stomatologiji. Ako izuzmemo oralno medicinska oboljenja, stomatolozi skoro nikada ne šalju svoje pacijente na analize krvi ili čak pljuvačke koja sadrži i sistemske i lokalne pokazatelje oboljenja usne duplje.

Inflamatorna oboljenja potpornog aparata zuba pripadaju najučestalijim oboljenjima kod čoveka danas. Postojanje standardnih dijagnostičkih laboratorijskih testova pomoglo bi otkrivanju ovih oboljenja u najranijoj fazi, takodje bi bilo značajno odrediti i nivo uznapređalosti procesa kod već obolelih osoba. To bi bilo značajno, ne samo za unapređenje zdravlja usne duplje, već i organizma u celini.

U poslednje vreme pojavio se novi pravac u okviru parodontoloških istraživanja koji se naziva parodontalna medicina. U okviru parodontalne medicine se dokazuje da oboljenja potpornog aparata zuba mogu da povećaju rizik za nastanak sistemskih bolesti. Beck i Genco dokazuju da su oboljenja potpornog aparata zuba faktor rizika za nastanak kardiovaskularnih oboljenja, šećerne bolesti i mogu dovesti do prevremenog rađanja dece smanjene težine. (Beck J i sar. 1996., Dörtbadak O i sar. 2005.) Ove činjenice još više ukazuju na važnost prevencije i rane dijagnostike inflamatornih oboljenja parodontalnih oboljenja.

Preventivna medicina se deli na:

- * Primarnu preventivu koja je usmerena na sprečavanje nastanka bolesti. U okviru primarne prevencije se koriste metode, tehnike i sredstva da prekinu neku kariku u lancu koji dovodi do pojave nekog oboljenja, odnosno da zaustavi bolest pre nego što klasičan terapijski tretman bude neophodan.
- * Sekundarnu preventivu, koja ima za cilj ranu dijagnostiku oboljenja i sprečavanje njegove dalje progresije. Sekundarna prevencija podrazumeva korišćenje metoda rane dijagnostike oboljenja, mera primarne prevencije i profilaktičkih mera kako bi se utvrdilo početno stanje bolesti zaustavilo. Takođe se u okviru sekundarne prevencije primenjuju rutinske i/ili specijalne terapijske mere u početnom stadijumu bolesti kako bi se oštećena tkiva rehabilitovala što je moguće približnije prirodnom stanju.
- * Tercijarnu preventivu koja ima za cilj funkcionalnu rehabilitaciju organa terapijskim merama i merama za održavanje post terapijskih efekata. Tercijarna prevencija koristi terapijske mere neophodne za nadoknadu oštećenih tkiva i organa i rehabilitaciju njihovih funkcija što je moguće približnije njihovoj prirodnoj funkciji. Pokušava se uspostavljanje stanja kakvo bi bilo posle primene mera sekundarne prevencije i održavanje terapijskih rezultata (primenom preventivnih i profilaktičkih mera).

Kada dođe do klinički manifestnog oboljenja parodontijuma potrebno je što pre pristupiti terapiji. Prvi i najvažniji korak svakako je konzervativna tj. kauzalna terapija. Ova faza lečenja ima za cilj uklanjanje uzročnika oboljenja. Pacijenti se prvo obučavaju i motivišu za pravilno održavanje oralne higijene. U tradicionalnom pristupu kauzalnoj terapiji uklanjanje mekih i čvrstih naslaga sa zuba kao i obrada parodontalnih džepova se vrši po kvadrantima, najčešće u više seansi.

U poslednje vreme javila se ideja o jednoseansnom protokolu lečenja obolelih od parodontopatije, koji se od tradicionalnog lečenja razlikuje ne samo po broju seansi već i po tome što uključuje i dezinfekciju sluzokože usne duplje (posebno jezika) i orofarinksa nekim od antiseptičkih sredstava - najčešće hlorheksidindiglukonom. Ovaj postupak se naziva dezinfekcija celih usta (eng. full mouth disinfection –FMD). (Quirynen i sar.1996.) Osnovna ideja je bila da se upotrebom antiseptika (hlorheksidindiglukonat) smanji broj mikroorganizama kako u prostoru samog parodontalnog džepa tako i u drugim nišama u usnoj duplji (pre svega na sluzokoži dorzalne strane jezika i orofarinksa, kao i u pljuvački). Ceo postupak obavlja se u jednoj seansi ili eventualno u dve posete između kojih ne bi trebalo da prođe više od 24h. Posle obrade parodontalnih džepova, koja se radi istovetno kao u tradicionalnom pristupu kauzalnoj terapiji parodontopatije, oni se ispiraju tri puta u roku od deset minuta gelom sa hlorheksidinom koncentracija 0.5%. Sluzokoža dorzalne strane jezika se četka 1 minut uz gel sa hlorheksidinom u koncentracija 1%. Pacijent takođe ispira usta i orofarinks rastvorom hlorheksidina koncentracija 0.2% u trajanju od 2 min. U naredna dva meseca pacijent bi trebalo da uz redovno održavanje oralne higijene ispira usta sa 10ml rastvora hlorheksidina koncentracija 0.2%. Svi navedeni postupci imaju za cilj sprečavanje rekolonizacije mikroorganizama u prostor parodontalnog džepa posle njegove obrade.

2. Oksidativni stres i antioksidansi

Slobodni radikali su atom, grupa atoma ili molekula sa jednim ili više nesparenih elektrona u spoljnoj orbitali. Produkuju se iz *neradikala* koji su po prirodi slabo reaktivni. Neradikali imaju u svojim orbitalama paran broj elektrona suprotnih spinova, te je ovo stanje energetski najpovoljnije, pa stoga i najstabilnije. Za razliku od neradikala, zbog postojanja nesparenog elektrona u spoljašnjoj orbitali, slobodni radikali jesu vrlo reaktivna jedinjenja. Jednom stvoren slobodni radikal može

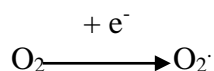
pokrenuti niz lančanih reakcija reagujući sa drugim manje reaktivnim molekulima ili jedinjenjima, pri čemu nastaju novi slobodni radikali. Slobodni radikali lako reaguju sa svim biološkim molekulima izazivajući njihovu oksidaciju i hemijsku modifikaciju i na taj način bitno im narušavaju strukturu, odnosno, dovode do njihovog oštećenja. Reagujući sa lipidima (nezasićene masne kiseline i fosfolipidi membrana), proteinima (enzimi, receptori, strukturni proteini), nukleinskim kiselinama, izazivaju strukturne i funkcionalne promene ovih biomolekula. Oštećenje biomolekula remeti funkciju ćelije, jonsku homeostazu i aktivnost ključnih enzima metabolizma. Pored toga, učestvuju u pokretanju *lipidne peroksidacije* na ćelijskim membranama (oksidacija nezasićenih masnih kiselina), koja se završava oštećenjem funkcije i strukture ćelijske membrane. Mada su slobodni radikali u organizmu obično prisutni u vrlo niskoj koncentraciji (10^{-5} – 10^{-9} mol), pokazuju toksične efekte. Zbog visoke reaktivnosti, lako stupaju u reakcije međusobno ili sa drugim molekulima, pri čemu nespareni elektroni obrazuju hemijske veze, oslobađa se energija, a sistem prelazi u niže energetske stanje. U reakciji dva slobodna radikala dolazi do kombinacije njihovih nesparenih elektrona, koji formiraju kovalentnu vezu. Pored formiranja kovalentne veze, slobodni radikali mogu reagovati sa mnogim biomolekulima na brojne načine.

Reaktivnost slobodnih radikala u ćelijama ograničena je na biomolekule iz najbliže okoline. Ovo je iz razloga što je njihov srednji radijus difuzije vrlo mali. Pored toga, slobodni radikali, kao što su hidroksilni radikal ($\text{OH}\cdot$) ili metil radikal ($\text{CCl}_3\cdot$), imaju veoma kratak poluživot u biološkim sistemima, koji iznosi svega nekoliko milisekundi. Njihova difuzija sa mesta produkcije iznosi svega manje od 100 nm. Hidroksilni radikal može reagovati praktično sa svim biomolekulima iz neposredne okoline.

Slobodni radikali se stvaraju u organizmu i pod fiziološkim okolnostima, a najčešće su kiseoničkog porekla. Naime, molekulski kiseonik, kao neophodan činilac aerobnog metabolizma u tkivima, služi kao poslednji akceptor elektrona u oksidativnim procesima i ovo se dešava na nivou respiratornog lanca mitohondrija. U svom osnovnom stanju kiseonik sadrži dva nesparena elektrona i u ovom stanju je on stabilan. Zbog toga je ovaj oblik kiseonika slabo reaktivan. U toku funkcionisanja respiratornog lanca, kiseonik se potpuno redukuje primajući četiri elektrona. Međutim, u slučaju njegove nepotpune redukcije dolazi do stvaranja slobodnih radikala - *kiseoničnih slobodnih radikala* i to su:

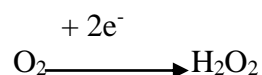
- superoksidni radikal ($O_2\cdot$);
- vodonik-peroksid (H_2O_2);
- hidroksilni radikal ($OH\cdot$);
- "singletni kiseonik" (1O_2).

Nepotpunom, jednoelektronskom redukcijom molekuskog kiseonika nastaje superoksidni radikal – superoksid anjon radikal.

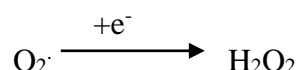


Vodonik peroksid je nestabilniji intermedijer kiseonika koji može nastati:

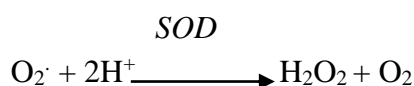
- dvoelektronskom redukcijom molekuskog kiseonika:



- jednoelektronskom redukcijom superoksidnog radikala:

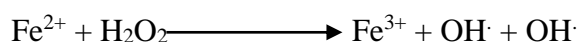


- reakcijom dizmutacije superoksidnog radikala dejstvom enzima *superoksid dizmutaze (SOD)*:

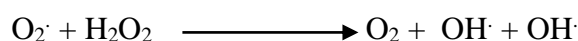


Hidroksilni radikal nastaje kao produkt nepotpune redukcije molekuskog kiseonika primanjem tri elektrona. Reakcija se odigrava na dva načina: spontanom Fenton-ovom reakcijom i, u znatno manjoj meri, Haber-Weiss-ovom reakcijom.

U Fenton-ovoj reakciji vodonik-peroksid reaguje sa jonima metala (Fe^{2+} ili Cu^{2+}) pri čemu nastaju hidrioksilni radikali:

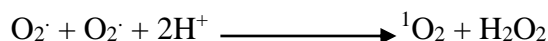


Haber-Weiss-ova reakcija:



Hidroksilni radikal je snažno oksidujuće sredstvo i predstavlja najreaktivniji kiseonički radikal.

Singletni kiseonik, po strogoj definiciji, nije radikal, zbog toga što ne poseduje nesparene elektrone, ali ima viši oksidacioni potencijal od osnovnog stanja kiseonika. Ovaj oblik kiseonika predstavlja njegovo pobuđeno (ekscitirano) stanje. Singletni kiseonik nastaje u reakciji dva superoksidna radikala.



Azot-monoksid (NO) je 1987. godine svrstan u grupu slobodnih radikala, kako je to potvrđeno u istraživanjima. Ovo jedinjenje ima značajnu ulogu u zapaljenskim i drugim fiziološkim procesima: trombozi, imunitetu, neurotransmisiji. U fiziološkim uslovima NO reguliše razne ćelijske procese. Efektorni je molekul aktiviranih imunih ćelija, reguliše tonus krvnih sudova, umanjuje mogućnost adhezije i agregacije trombocita, reguliše tonus digestivnog trakta, pospešuje apsorpciju Ca^{2+} , reguliše tonus glatkih i poprečno-prugastih mišića, inhibira sekreciju nekih hormona, reguliše glad, bol i san. Azot-monoksid se može naći u raznim redoks stanjima: NO^+ , NO^- , $\text{NO}\cdot$. Poslednji oblik može da reaguje sa $\text{O}_2\cdot$ i da gradi visoko reaktivno jedinjenje *peroksinitrit*:



Peroksinitrit se smatra efikasnim oksidansom bioloških tločnih jedinjenja, a njegova konjugovana kiselina – *peroksinitritna*, gradi oksidanse koji su po efikasnosti u rangu hidroksilnog radikala.

U organizmu se slobodni radikali stvaraju u malim količinama tokom odigravanja nekih normalnih biohemijskih i fizioloških procesa, kao što su:

- proces oksidativne fosforilacije na nivou respiratornog lanca u mitohondrijama nepotpunom redukcijom molekulskog kiseonika;
 - proces oksidativne hidroksilacije u mikrozomima;
 - proces autooksidacije malih molekula;
 - proces fagocitoze u leukocitima;
 - proces sinteze eikosanoida (nastaju u metabolizmu arahidonske kiseline);
 - produkti katalitičkih reakcija nekih enzima (uglavnom oksidaza);
 - proces lipidne peroksidacije nezasićenih masnih kiselina;
 - reakcije oksido-redukcije u prisustvu metala sa promenjivom valencom.
- (Đukić M. Oksidativni stres)

Pored toga, u organizmu se slobodni radikali produkuju i u uslovima apsorpcije zračenja, izlaganju toksičnim metalima i drugim raznim toksinima iz zagađene sredine (tzv. *ksenobioticima*).

Jedan od najvažnijih procesa u kome se stvara superoksidni radikal je oksidativna fosforilacija. U toku transporta elektrona duž respiratornog lanca mitohondrija, postepenim primanjem četiri elektrona, molekularni kiseonik se potpuno redukuje do molekula vode. Ovaj proces je praćen oslobađanjem energije u vidu ATP-a. Jedan broj delimično redukovanih intermedijera kiseonika čvrsto je vezan za enzimski kompleks citohrom oksidaze, pa sa ovih mesta stvoreni produkti nepotpune redukcije kiseonika se teže oslobađaju iz respiratornog lanca. Na mestima drugih prenosilaca elektrona, kao što je to slučaj sa I kompleksom (NADH-dehidrogenaza), ova veza nije tako čvrsta, te ovde dolazi do otpuštanja superoksidnog radikala.

Transportni lanac elektrona u endoplazmatičnom retikulumu (mikrozomalni sistem oksidaza i oksigenaza) je u fiziološkim uslovima takođe značajno mesto produkcije slobodnih radikala. U procesu aktivacije molekularnog kiseonika u mikrozomima, pri čemu se jedan njegov atom prenosi na supstrat, a drugi redukuje do molekula vode, dolazi do oslobađanja kiseoničkih slobodnih radikala, kao produkata redukcije.

Slobodni radikali nastaju i u fagocitima (leukociti), kao rezultat njihove uloge u fagocitozi materija stranih organizmu. Ingestija stranih čestica od strane fagocita praćena je respiratornim praskom ("respiratory burst"), koji se karakteriše značajnom potrošnjom kiseonika, aktivacijom $\text{NADPH} + \text{H}^+$ i $\text{NADH} + \text{H}^+$ - zavisnih oksidaza u ćelijskoj membrani fagocita, kao i aktivacijom heksozomonofosfatnog puta. Reaktivni kiseonički radikali nastaju ekstracelularno i unutar fagocitnih vakuola i oni imaju antimikrobno dejstvo, te omogućavaju razgradnju stranih čestica.

Proces sinteze eikosanoida – produkata u metabolizmu arahidonske kiseline, koji se stvaraju u tkivima i pod fiziološkim uslovima (imaju ulogu tkivnih hormona) predstavlja još jedan izvor slobodnih radikala, jer je njihov metabolizam usko povezan sa procesima lipidne peroksidacije.

Slobodni radikali, kao što je naglašeno, izrazito su reaktivni i dovode do oksidativnog oštećenja tkiva. U suštini, svaki biomolekul može biti na ovaj način oštećen. Tako oksidacija tio-grupa (SH) enzima dovodi do promene njihove aktivnosti. Proces oksidacije (peroksidacije) nezasićenih masnih kiselina u ćelijskim

membranama, praćen je stvaranjem novih radikala, koji dalje nastavljaju lančanu reakciju autooksidacije, a ona dovodi do kvantitativnih i kvalitativnih promena membranskih lipida. Normalno je da će ovakav proces uzrokovati i poremećaj strukture i funkcionisanja ćelijskih membrana

. Oksidativno oštećenje tkiva slobodnim radikalima nastaje različitim mehanizmima:

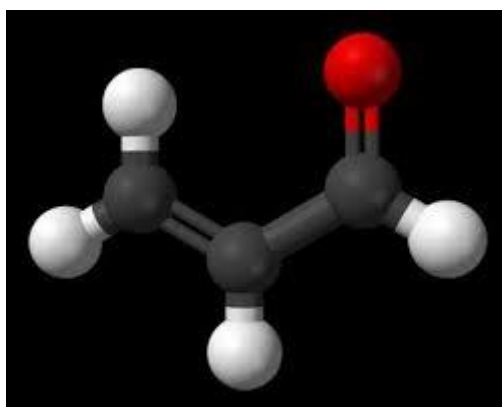
1. peroksidaciju višestruko nezasićenih masnih kiselina prati poremećaj permeabilnosti i fluidnosti plazma membrana;
2. oksidacija SH grupa enzima uzrokuje njihovu inaktivaciju;
3. obrazovanje unakrsnih veza između MDA i fosfolipida, tj. proteina narušava lipoproteinsku interakciju i menja adaptibilnu sposobnost biomembrana;
4. oksidativno cepanje molekula nukleinskih kiselina dovodi do mutacije i kancerogeneze. (Đukić M. Oksidativni stres)

Lipidna peroksidacija je najizraženiji negativni fenomen delovanja slobodnih radikala i predstavlja jedan autokatalitički progresivan ireverzibilan proces. Peroksidacija višestruko nezasićenih masnih kiselina u sastavu lipida ćelijske membrane protiče kroz tri stadijuma:

1. stadijum inicijacije;
2. stadijum propagacije;
3. stadijum terminacije. (Đukić M. Oksidativni stres)

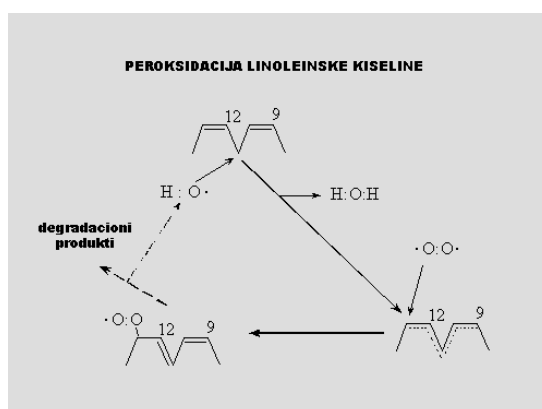
Inicijaciju lipidne peroksidacije pokreće bilo koji oksidans sposoban da oduzme atom vodonika iz metilenske grupe (CH_2) u α - položaju nezasićene masne kiseline. Od svih kiseoničkih radikala, najveći oksidacioni potencijal ima hidroksilni radikal koji je zato najviše i odgovoran za početak lipidne peroksidacije. Po oduzimanju vodonikovog atoma na C-atomu masne kiseline ostaju nespareni elektron i formira se lipidni slobodni radikal – *alkil-radikal*. Iz ovog radikala dalje se formiraju konjugovani *dieni* u procesu intramolekularnog raspređivanja dvogubih veza. U reakciji između konjugovanih diena i molekuskog kiseonika, odnosno alkil-radikala i kiseonika, stvara se *peroksi radikal (ROO·)*. Ovaj radikal poseduje dovoljan oksidativni kapacitet za oduzimanje vodonika iz susednog molekula nezasićene masne kiseline, pri čemu se stvara *lipidni hidroperoksid* i novi alkil radikal. Na ovaj način se pokreće autokatalitički proces lipidne peroksidacije. (Borgstahl GE i sar. Biochemistry 2003.)

Lipidni hidroperoksidi su prvi molekularni proizvodi lipidne peroksidacije, predstavljaju stabilne molekule, ali u prisustvu gvožđa dolazi do njihove razgradnje i nastanka *peroksi ili alkoksi radikala*, koji započinju proces dalje lipidne peroksidacije. Međusobna reakcija dva peroksi radikala proizvodi "singletni" kiseonik, koji deluje na susedne molekule nezasićenih masnih kiselina formirajući hidroperokside.



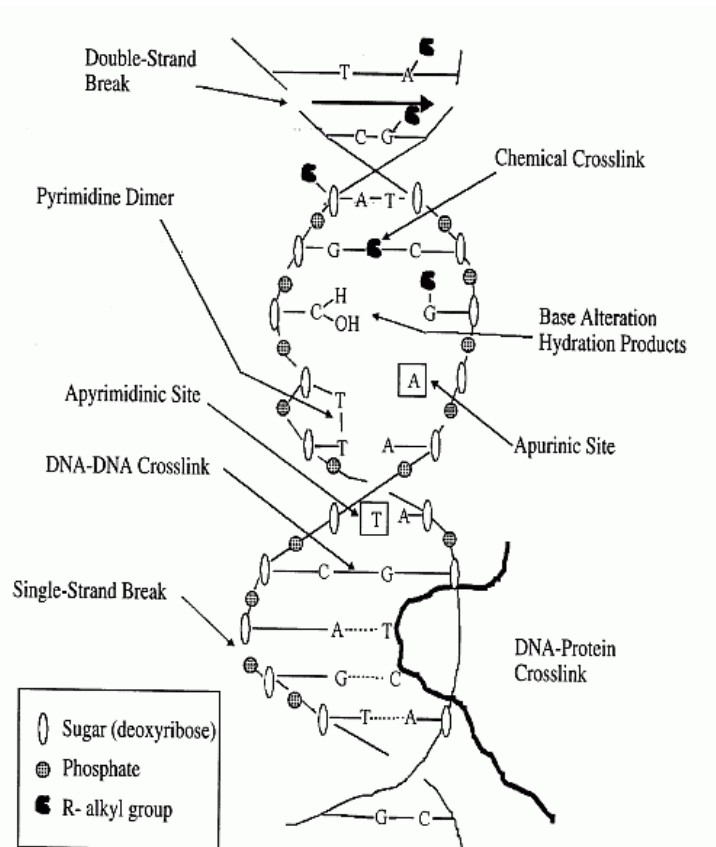
Slika 2: 3D struktura molekula MDA
(Pub-hem)

Oksidacijom alkoksi radikala nastaje *dihidroperoksid* koji se spontano razgrađuje do isparljivih kratkolančanih ugljovodnika (etan i pentan). Serijom kompleksnih reakcija daljom razgradnjom hidro- i dihidroperoksida dolazi do stvaranja produkata koji sadrže karbonilnu grupu, kao što je *4-hidroksipentenal* i *kratkolančani malondialdehid (MDA)*. Visoko reaktivni sekundarni produkti lipidne peroksidacije, a naročito MDA, reaguju sa slobodnim SH i NH₂ grupama aminokiselina, peptida, proteina, nukleotida, fosfolipida, dovodeći do kovalentne modifikacije ovih makromolekula, a što rezultira promenom njihovih funkcionalnih svojstava.



Slika 3: Lipidna peroksidacija linoleinske kiseline (Đukić M. „Oksidativni stres“)

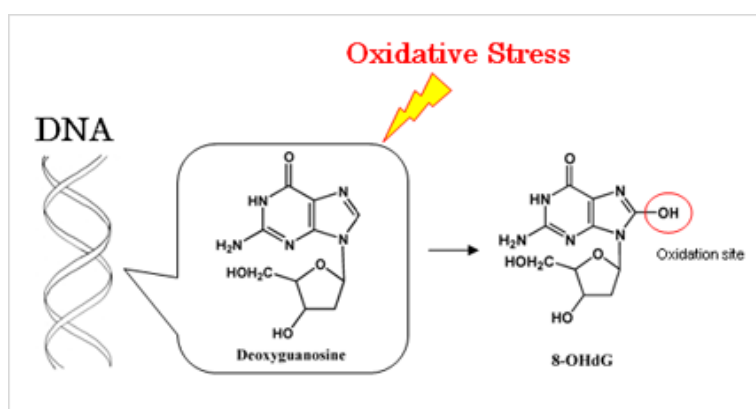
Inicijalni efekti oštećenja ćelija uzrokovanih reakcijama slobodnih radikala, do skora su se u literaturi pripisivali *Fenton* reakciji (odnosno $\text{OH}\cdot$, proizvodu ove reakcije), ali imajući u vidu da se reakcija između $\text{O}_2\cdot^-$ i $\text{NO}\cdot$ odvija tri puta brže od reakcije redukcije feri-kompleksa sa $\text{O}_2\cdot^-$, sve više se veruje, sa termodinamičkog i kinetičkog aspekta, da je ključni oksidirajući agens neki od intermedijera izomerizacije degradacionih produkata peroksinitritne kiseline do nitrita.



Slika 4: Oštećenje DNK izazvano oksidativnim stresom
(Ian R. Gould www.publ.asu.edu)

Pri alkalnom pH (aprotična kiselina) ONOO^- je stabilan danima i difunduje do ciljnih ćelija, na kojima ispoljava svoje toksično dejstvo. Između ostalog oksidiše baze u nukleozidima izolovanog DNK. U kompleksnim sistemima $\text{NO}\cdot$ svoje efekte ispoljava posredno preko ONOO^- -a (Đukić M. Oksidativni stres-kliničko dijagnostički značaj). Oksidativno oštećenje DNK obuhvata i purinske (adenin i guanin) i pirimidinske (timin i cistein) baze kao i sam kostur od dezoksiriboze. (Halliwell, 2000.) Iako su svi nukleozidi pod podjednakim rizikom od dejstva slobodnih radikala najčešće dolazi do oštećenja DNK koji sadrži guanin zbog njegovog najvećeg oksidativnog potencijala (Shibutan i sar 1991.). U gore navedenoj reakciji deo DNK koji sadrži guanin (hidroksiguanozin) biva oksidisan u 8hidroksideoksiguanozin. Mehanizmi reparacije

DNK lanca odmah uklanjaju novonastalo jedinjenje i ono biva izbačeno iz ćelije (Cook MS i sar 2003.). U biološkim materijalima kao što su: serum-plasma, ćelijski lizat, saliva ili uzorci tkiva, 8-OHdG egzistira kao slobodni nukleozid ili inkorporiran u DNK lanac. Deo 8-OHdG koji se nalazi u formi nukleozida normalno se filtrira kroz bubrege, tako da se može naći i u urinu. Dokazano je da se u urinu nalazi samo 8OHdG nastao oksidacijom deoksiguanozina iz ćelija domaćina, dok se 8OHdG unet hranom ne može registrovati u urinu. (Poulsen H.E. i sar. 2002.)



Slika 5: Dobijanje 8-OHdG
(Cook MC FASEB J 2003.)

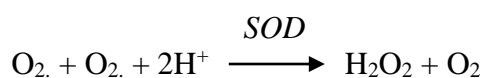
Protiv dejstva slobodnih radikala, koji se i pod fiziološkim okolnostima stvaraju u ćelijama, kao "nus-produkt" oksidativnih metaboličkih procesa, organizam se "bori" i ova odbrana se naziva antioksidativna zaštita.

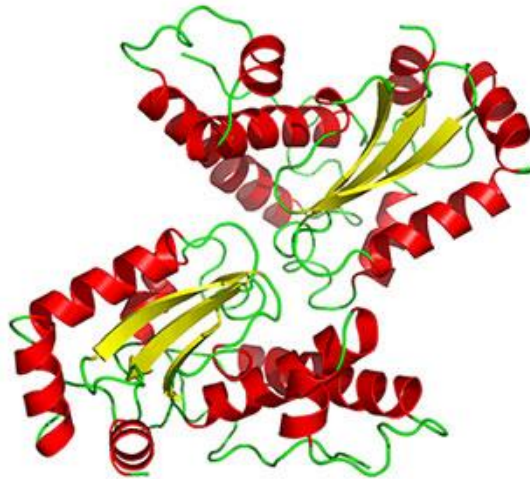
Antioksidativna zaštita organizma podrazumeva:

- enzimsku antioksidativnu zaštitu i
- ne-enzimsku antioksidativnu zaštitu.

Enzimi koji neutrališu slobodne radikale čine "prvu liniju" antioksidativne zaštite i to su: *superoksid-dizmutaza*, *glutation-peroksidaza*, *katalaza* i mnogi drugi.

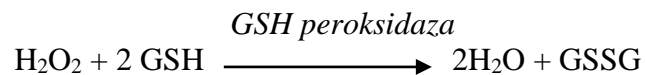
Superoksid dizmutaza (SOD) katalizuje reakciju dizmutacije O_2^- u vodonik peroksid. Kod prokariotskih organizama prisutne su SOD koje sadrže Fe^{2+} i Mn^{2+} . Eukariotski organizmi sadrže tri izoforme SOD, i to su: citozolni dimer Cu,Zn-SOD i tetramer Mn-SOD koja je lokalizovana u mitohondrijama, i ekstracelularna SOD prisutna u međucelijskom prostoru i ekstracelularnoj tečnosti.



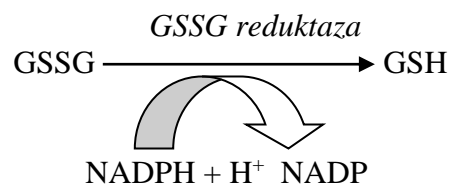


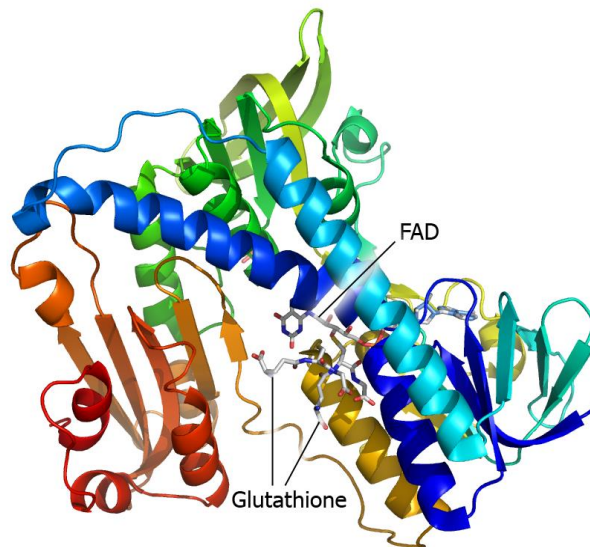
Slika 6: Struktura superoksid dizmutaze
(Borgstahl GE i sar. *Biochemistry* 1996.)

Glutation peroksidaza (GSH peroksidaza) je po strukturi tetramer, pri čemu svaka subjedinica sadrži po jedan atom Se. Ovaj enzim ima primarnu ulogu u neutralisanju vodonik peroksida i sprečavanju H_2O_2 -zavisnog stvaranja slobodnih radikala. Glutation peroksidaza koristi redukovani glutation (GSH) kao davaoca redukujućih ekvivalenata, pri čemu se formiraju oksidovani glutation (GSSG) i voda.



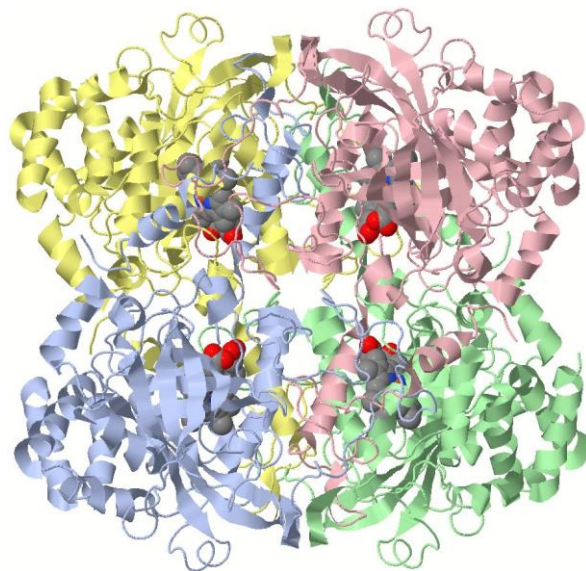
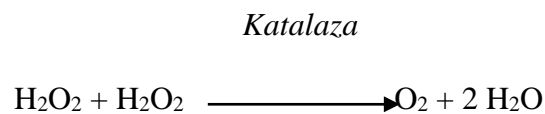
Da bi se odigravala kontinuirana redukcija vodonik peroksida, neophodno je stalno obnavljanje GSSG u GSH, a ovu reakciju katalizuje NADPH-zavisna *glutation reduktaza* (*GSSG reduktaza*).





Slika 7: Struktura glutation reduktaze
(Borgstahl GE i sar. Biochemistry 1996.)

Katalaza je po strukturi tetramer i svaka subjedinica sadrži HEM, koji ulazi u sastav aktivnog mesta enzima. Katalizuje razgradnju vodonik peroksida do molekuskog kiseonika i vode u peroksizomima.



Slika 8: Struktura katalaze
(Borgstahl GE i sar. Biochemistry 1996.)

Ne-enzimski vid zaštite od slobodnih radikala ("druga linija" odbrane) predstavljaju: vitamin E, vitamin C, karoteni, mokraćna kiselina, glutation, albumin, ceruloplazmin, transferin, laktoferin, flavonoidi, bilirubin i dr.

Za razliku od enzima koji ostvaruju antioksidativnu zaštitu neutralisanjem primarnih oksidanasa (O_2 i H_2O_2), ne-enzimski antioksidansi uklanjaju sekundarne vrste radikalskog i neradikalskog tipa prekidajući lanac reakcija u terminalnoj fazi lipidne peroksidacije.

Vitamin C (askorbinska kiselina) je najefikasniji hidrosolubilni antioksidans. Njegova antioksidativna zaštita se bazira na sposobnosti da predaje elektrone slobodnim radikalima, pri čemu se sam oksidiše u dehidroaskorbinsku kiselinu.

Vitamin E (tokoferol) štiti od lipidne peroksidacije tako što reaguje sa lipid peroksi-radikalima, pri čemu nastaju radikali vitamina E. Oni su nedovoljno reaktivni da bi preuzeli atom vodonika iz membranskih lipida, pa se tako prekida lanac lipidne peroksidacije. Takođe moduliše puteve signalne transdukcije, pa na ovaj način modifikuje ćelijski odgovor na oksidativni stres. Ovaj antioksidativni efekat vitamina E se ostvaruje inhibicijom protein kinaze odgovorne za ćelijski proliferaciju.

Karotenoidi deluju antioksidativno, imunostimulativno i antimutageno. Neutrališu singletni kiseonik, tiolove radikale.

Flavonoidi su polifenolska jedinjenja prisutna u biljkama. U reakciji sa peroksi radikalima flavonoidi se oksidišu, pri čemu nastaju stabilni semihinonski radikali čijom redukcijom se prekidaju lančane slobodno-radikalske reakcije.

Ceruloplazmin, laktoferin i transferin su proteini koji ostvaruju antioksidativnu aktivnost vezivanjem metala promenljive valence (Fe, Cu) koji mogu učestvovati u reakcijama produkcije slobodnih radikala.

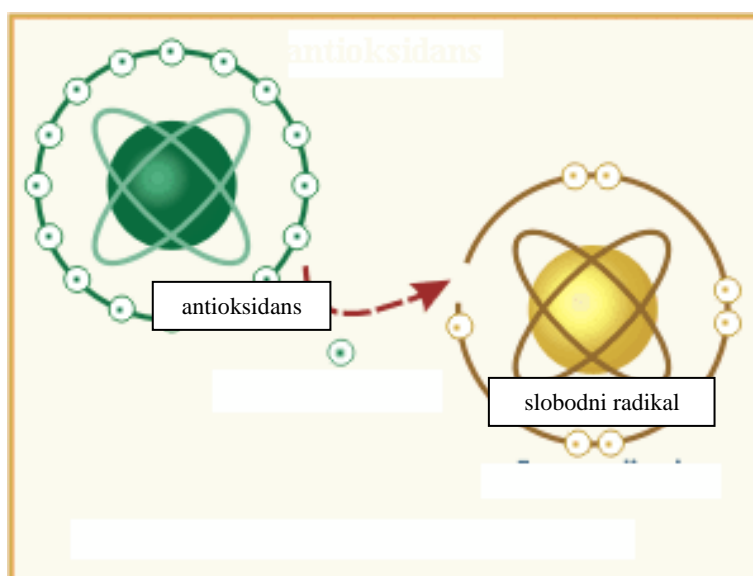
Glutation (GSH) štiti hemoglobin i druge proteine i lipide od oksidativne denaturacije. Redukovani glutation je neophodan za delovanje enzima glutation peroksidaze.

Albumin je glavni protein krvne plazme koji antioksidativno dejstvo ostvaruje vezivanjem jednog dela serumskog Cu, pa tako limitira reakcije produkcije slobodnih radikala u kojima ovaj metal učestvuje. Ovaj protein je u stanju da neutrališe peroksi radikal, vezuje slobodne masne kiseline i tako ih štiti od lipidne peroksidacije.

Bilirubin je žučni pigment, nastaje kao krajnji produkt katabolisanja hema. Antioksidativno dejstvo je bazirano na njegovim oksido-redukcionim svojstvima i sposobnosti da može da otpusti dva vodonikova atoma koji će redukovati peroksi radikal u molekul masne kiseline.

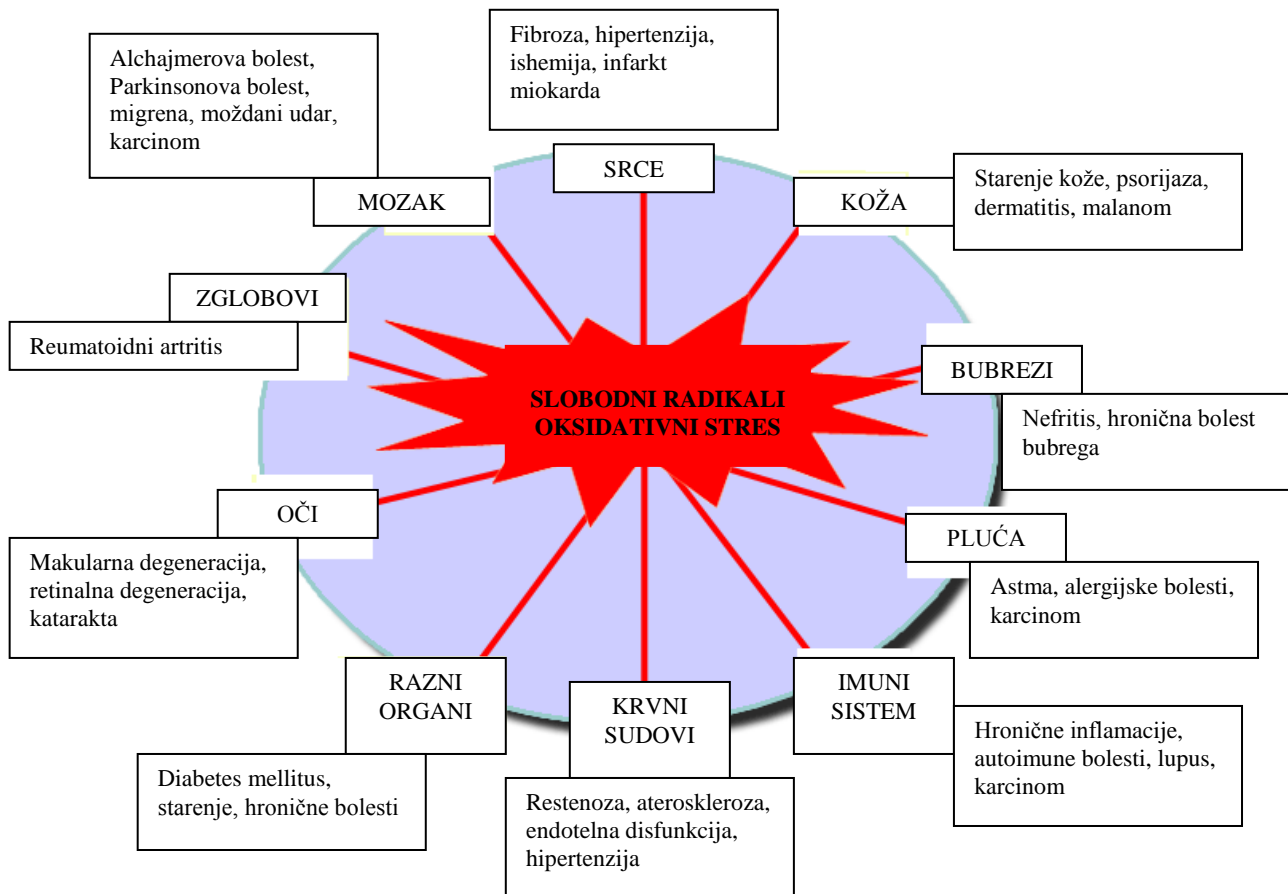
Mokraćna kiselina je krajnji produkt razgradnje purinskih baza. Neutrališe slobodne radikale tako što ih redukuje, a sama se pri toj reakciji oksidiše u alantoin.

Takođe, može da formira stabilan kompleks sa jonima metala promenljive valence, pre svih, sa Fe i tako mu značajno umanjuje oksidativni potencijal. U stanju je i da neutrališe najagresivniji slobodni radikal, hidroksilni radikal, kao i mnoge druge slobodne radikale (lipid hidroksiperoksidni radikal, singletni kiseonik).



Slika 9: Neutralisanje slobodnog radikala antioksidansom
(Đukić M. Oksidativni stres)

Pomenuti enzimski i ne-enzimski faktori učestvuju zajedno u neutralisanju slobodnih radikala i njihovog štetnog uticaja na mnoge biomolekule. Zahvaljujući ovome, pod normalnim okolnostima postoji ravnoteža između produkcije slobodnih radikala i antioksidativne zaštite ćelija koja teži da ih neutrališe. Međutim, pod određenim okolnostima slabi antioksidativna zaštita organizma i tada su u preimućtvu slobodni radikali, odnosno, dolazi do oksidativnog stresa – oksidativnog oštećenja tkiva. Mnoga oboljenja u svojoj biohemijskoj osnovi imaju oksidativni stres, kao što su: šećerna bolest, maligni tumori, kardiovaskularne bolesti, inflamatorna oboljenja, neplodnost, bubrežna oboljenja, katarakta, neurološka oboljenja, bolesti jetre i pluća, parodontopatija i dr. Slobodni radikali i oksidativni stres su odgovorni i za proces starenja.



Slika 10: Štetno delovanje slobodnih radikala na organizam
(Đukić M. Oksidativni stres)

3. Uloga oksidativnog stresa u patogenezi parodontopatije

Uloga slobodnih radikala u nastanku oboljenja oralne sredine nije još uvek u potpunosti rasvetljena, iako se u poslednje vreme sve veći značaj daje oksidativnom stresu u njihovoj patogenezi, posebno kada su u pitanju parodontopatija i oralni karcinom.

Parodontopatija je hronično oboljenje parodontcijuma koje nastaje kao posledica aktivnosti parodontopatogenih mikroorganizama, ali i prekomerne aktivacije imunološke odbrane domaćina te regije. U oralnoj sredini identifikovano je više od 300 različitih vrsta bakterija, a većina egzistira u komensalnom odnosu sa domaćinom. Tri vrste oralnih bakterija su posebno odgovorne za nastanak parodontopatije: *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*. Poznato je da su polimorfonuklearni leukociti (PMN) glavne odbrambene ćelije tkiva usne duplje koje je štite od štetnog delovanja oralnih

bakterija. Interakcijom ovih leukocita i bakterija pokreću se različiti odbrambeni biohemijski i fiziološki procesi domaćina koji dovode do uništavanja patogena, ali i mogućeg oštećenja lokalnog tkiva. Polimorfonuklearni leukociti, indukovani patogenima, karakterišu se povećanom potrošnjom kiseonika i u njima se dešava prava "respiratorna eksplozija" (*respiratory burst*) koja ima za posledicu povećanu produkciju slobodnih radikala kojim ove odbrambene ćelije "ubijaju" bakterije. Međutim, tokom ove odbrambene reakcije može doći i do oksidativne modifikacije različitih biomolekula i oštećenja lokalnog tkiva, kao neka vrsta "kolateralne štete".

U zaštiti oralnih tkiva od štetnog delovanja slobodnih radikala značajnu ulogu imaju antioksidansi pljuvačke. U pljuvački su prisutni neenzimski i enzimski antioksidansi. Enzimi pljuvačke koji ispoljavaju antioksidativnu sposobnost su: *superoksid dizmutaza, oralna peroksidaza, katalaza i glutation peroksidaza*. U neenzimske antioksidanse pljuvačke ubrajaju se: *mokraćna kiselina, albumin, glutation* i egzogeni antioksidans *vitamin C*.

Enzimski antioksidanti pljuvačke

Oralna peroksidaza (OP) sastoji se iz dva peroksidazna enzima: salivarne peroksidaze (80%) i mijeloperoksidaze (20%).

Salivarnu peroksidazu sekretuju acinusne ćelije parotidne i submandibularne pljuvačne žlezde. To je enzim koji u svom aktivnom centru sadrži selen. Uloga salivarne peroksidaze je redukcija vodonik-peroksida (H_2O_2), produkta metabolizma oralnih bakterija, u prisustvu jona tiocijanata (SCN^-). Tiocijanati salive predstavljaju donore elektrona, slično redukovanom glutationu u ostalim biološkim sistemima. Dejstvom salivarne peroksidaze katalizuje se reakcija H_2O_2 i jona tiocijanata. Proizvodi ove reakcije su hipotiocijanatna kiselina (HOSCN) i hipotiocijanati (OSCN) koji ispoljavaju antibakterijsko dejstvo, tako što reaguju sa sulfhidrilnim grupama bakterijskih enzima glikolize (heksokinaza, aldolaza i piruvat kinaza). Na ovaj način inhibira se energetskei metabolizam bakterija. Salivarna peroksidaza, H_2O_2 i tiocijanati zajedno čine salivarni antibakterijski peroksidazni sistem, koji vrlo efikasno remeti metaboličke procese u bakterijama oralne sredine.

Mijeloperoksidaza (MPO) je HEM-zavistan enzim koga sadrže leukociti (neutrofili i monociti). U prisustvu H_2O_2 formira se sa MPO kompleks enzim-supstrat,

koji ima sposobnost da oksidiše jodide i hloride pljuvačke, stvarajući toksične proizvode. Oksidacijom hlorida ovim kompleksom dobija se hipohlorna kiselina (HOCl), koja ispoljava baktericidno delovanje na mnoge oralne bakterije. Aktivnost MPO u salivi je povećana u toku različitih inflamatornih procesa u oralnoj sredini, što je posledica prisustva većeg broja polimorfonukleara. Ovaj enzim, kao i salivarna peroksidaza, učestvuje u nespecifičnoj antibakterijskoj odbrani oralne sredine.

Katalaza je enzim, po strukturi tetramer, svaka subjedinica sadrži HEM koji ulazi u sastav aktivnog mesta. U pljuvačku dospeva iz ćelija oralne sredine. U ćelijama je najviše prisutna u peroksimima, gde u fiziološkim uslovima sprečava veće stvaranje H_2O_2 . Ovaj enzim katalizuje razgradnju H_2O_2 do molekuskog kiseonika i vode. Aktivnost ovog enzima se povećava pri povećanoj produkciji H_2O_2 , jer aktivno učestvuje u uklanjanju H_2O_2 .

Superoksid dizmutaza (SOD) katalizuje reakciju dizmutacije superoksid anjon radikala ($O_2^{\cdot-}$) u vodonik peroksid (H_2O_2) i kiseonik (O_2).

Kod eukariota, uključujući i čoveka, prisutne su tri izoforme SOD: *Cu,Zn-zavisna-SOD* (citozolski enzim), *Mn-zavisna-SOD* (matriks mitohondrija) i *ekstracelularna SOD*. Prokariotske ćelije sadrže Fe i Mn-zavisnu SOD.

Glutation peroksidaza (GSH peroksidaza) je po strukturi tetramer, pri čemu svaka subjedinica sadrži po jedan atom Se. Ovaj enzim ima primarnu ulogu u neutralisanju vodonik peroksida i sprečavanju H_2O_2 -zavisnog mehanizma produkcije slobodnih radikala. Glutation peroksidaza koristi redukovani glutation (GSH) kao davaoca redukujućih ekvivalenata, pri čemu se formiraju oksidovani glutation (GSSG) i voda. Da bi se odigravala kontinuirana redukcija vodonik peroksida, neophodno je stalno obnavljanje GSH, a ovu reakciju katalizuje *NADPH-zavisna glutation reduktaza (GSSG reduktaza)*.

Neenzimski antioksidanti pljuvačke

Pljuvačka u svom sastavu sadrži i *neenzimske antioksidanse* od kojih je najznačajnija mokraćna kiselina, a zatim albumini, vitamin C i glutation, koji su prisutni u manjoj koncentraciji.

Mokraćna kiselina (acidum uricum) je krajnji proizvod metabolizma purinskih nukleotida. Nemogućnost dalje razgradnje mokraćne kiseline kod čoveka (zbog nedostatka enzima *urikaze*), kao i reapsorpcija na nivou tubula bubrega, obezbeđuju

dovoljno visoku koncentraciju mokraćne kiseline u krvnoj plazmi. Zbog toga, ovaj metabolit ima značajnu ulogu u ukupnom antioksidativnom kapacitetu krvne plazme. Međutim, njeno prisustvo u pljuvački nije u potpunosti razjašnjeno. Pretpostavlja se da se urati (soli mokraćne kiseline) pasivnom difuzijom transportuju iz cirkulacije u pljuvačku, gde joj je koncentracija niža nego u krvnoj plazmi. Postoji i mogućnost njenog prisustva u gingivalnoj tečnosti kao posledica oksidativnog oštećenja proteina lokalnog tkiva. Bez obzira na njeno poreklo, smatra se glavnim antioksidantom pljuvačke, jer učestvuje u oko 70% ukupnog salivarnog antioksidativnog kapaciteta.

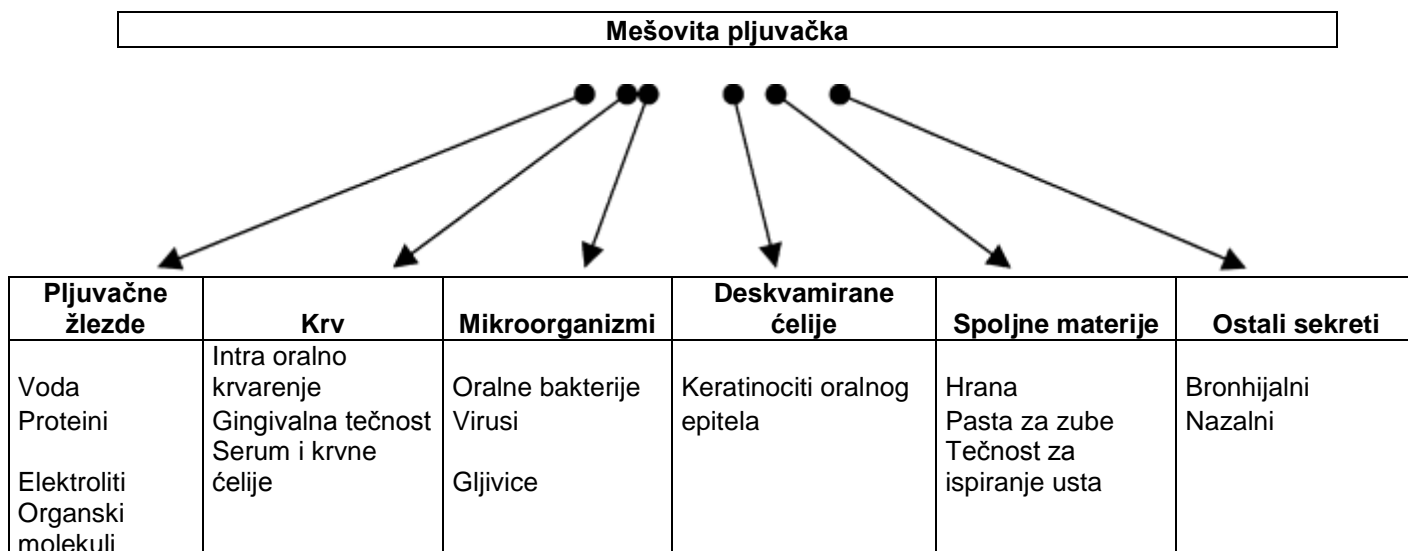
Mokraćna kiselina redukuje i neutrališe slobodne radikale i pri tome se sama oksidiše do alantoina. Prema tome, odnos koncentracije mokraćne kiseline i alantoina može predstavljati parametar procene stvaranja i delovanja slobodnih radikala u *in vivo* uslovima. Značajna je i uloga mokraćne kiseline u formiranju kompleksa sa jonima metala promenljive valence (urati-Fe⁺³), smanjujući oksidacioni potencijal Fe⁺³ bez oksidativnih promena ove kiseline.

Albumini su plazma proteini koji se sintetišu u jetri. Uloga albumina je u održavanju onkotskog pritiska, regulaciji pH krvi, transportu različitih supstanci, ali i u antioksidativnoj zaštiti. Iz krvi dospevaju u pljuvačku transudacijom preko gingivalnog sulkusa.

Glutation je tripeptid koji se sastoji iz glutaminske kiseline, cisteina i glicina. U ćelijama je prisutan u dva oblika: kao redukovani (GSH) i oksidovani (GSSG). Za normalno funkcionisanje ćelije naročito je značajno da u njoj uvek ima u dovoljnoj količini redukovane forme ovog biomolekula koji je neophodan za delovanje antioksidativnog enzima glutacione peroksidaze.

4. Pljuvačka

Pljuvačka (saliva) je složen sekret prisutan u usnoj duplji, koji neprekidno vlaži i ispira zube i oralnu sluzokožu. Predstavlja mešavinu sekreta koji luče tri para velikih pljuvačnih žlezda (zaušne, podvilične i podjezične), malih pljuvačnih žlezda oralne sluzokože i gingivalne tečnosti (prisutne u gingivalnom sulkusu). Mešanjem sekreta iz raznih izvora, u samoj usnoj duplji, formira se ukupna ili mešovita pljuvačka. (slika)



Sastav mešovite pljuvačke (Kaufman i Lamster, 2000.god).

Sekrecija pojedinih pljuvačnih žlezda nije u srazmeri sa njihovom veličinom, odnosno, njihovom zapreminom. Dokazano je da podvilične pljuvačne žlezde, iako nisu po veličini najveće, stvaraju i luče pljuvačku najvećim intenzitetom tokom većeg dela dana, kada se luči tzv. nestimulisana pljuvačka.

Osnovna uloga i značaj pljuvačke jeste u održavanju oralne homeostaze. Pod pojmom oralne homeostaze podrazumevaju se svi mehanizmi pomoću kojih se održava stalnost oralne sredine, odnosno, mehanizmi koji sprečavaju bilo kakvu nefiziološku promenu u biohemijskom sastavu svih tkiva prisutnih u usnoj duplji. Jednostavno rečeno, oralna homeostaza znači očuvanje zdravlja zuba i oralne sluzokože. Sredstvo za održavanje oralne homeostaze jeste pljuvačka, tj, njeni organski i neorganski sastojci.

Uloge pljuvačke u pomenutom kontekstu su brojne:

- I. Samočišćenje usne duple rastvaranjem i razlaganjem čestica hrane i njihovim uklanjanjem iz usne duplje.
- II. Uloga u mastikaciji, govoru i gutanju.
- III. Zaštitna uloga koja se ogleda u
 - * antibakterijskoj zaštiti – aglutinacijom, baktericidnim i bakterostatskim dejstvom,
 - * antivirusnoj zaštiti,
 - * fungicidnoj zaštiti,
 - * zaštiti zubne gleđi od atricije,

- * zaštititi od hemijskih agenasa
- * sprečavanju većih promena pH (puferska uloga),
- * zaštititi od demineralizacije zubne gleđi.

IV. Uloga u metabolizmu vode.

V. Ekskretorna uloga.

VI. Uloga u održavanju stabilnosti protetskih nadoknada u usnoj duplji.

VII. Uloga u funkciji čula ukusa.

VIII. Antioksidativna zaštita.

IX. Antikancerogeno dejstvo.

Antioksidativna zaštita pljuvačke, je u poslednjih par decenija, tema mnogih biomedicinskih istraživanja. Mnogim istraživanjima je potvrđeno da oksidativni stres ima značajnu ulogu u patogenezi hroničnih inflamatornih oboljenja. Kako je hronična parodontopatija najučestalije inflamatorno oboljenje usne duplje, to se uloga oksidativnog atresa i antioksidativne zaštite u patogenezi ovog oboljenja sve više rasvetljava.

Pljuvačka je značajna i kao biološki materijal u cilju uvođenja novih dijagnostičkih testova koji bi mogli doprineti i razjašnjenju patogeneze mnogih oboljenja. To se naročito odnosi na oboljenja usne duple sa kojima je pljuvačka u neposrednom kontaktu, te može biti „ogledalo oralnog zdravlja“. Oboljenja oralne sredine koja su od posebnog interesa zbog stalnog porasta broja obolelih, jesu: parodontopatija i karcinom usne duplje.

Analiziranje pljuvačke nije značajno samo u stomatologiji, već dobija sve veći značaj i u drugim granama medicine. Moderna medicina jeste uglavnom bazirana na analiziranju uzoraka krvi, što je ostvareno kroz sve više i više sofisticiranu tehničku podršku – proizvodnjom moderne i precizne laboratorijske opreme. Zbog toga što je sama tehnika uzimanja krvi invazivna, sužava se mogućnost analiziranja ovog biološkog materijala, posebno kod pacijenata kao što su: deca, stariji ljudi, hendikepirane osobe, kao i kod svih drugih pacijenata kojima je potreban kontinuiran kliničko-biohemijski, farmakološki ili toksikološki monitoring. U ovim slučajevima je važno pronaći neku drugu telesnu tečnost koju je lakše uzeti, a koja bi odražavala kliničko-biohemijske, farmakološke i toksikološke parametre kao i krv. Prema ovim zahtevima bi pljuvačka, u nekim slučajevima, bila alternativa krvi, odnosno , krvnom serumu ili plazmi. Istraživanja novijeg datuma se upravo bave mogućnošću upotrebe

pljuvačke kao potencijalno moguće dijagnostičke tečnosti. Literaturni podaci pokazuju da je u pljuvački moguće odraditi mnoge sastojke koji se određuju i u krvi, kao što su: hormoni, lekovi i njihovi metaboliti, droge i njihovi metaboliti, toksične materije (Todorović T i sar. 2004.).

5. Rezultati prethodnih istraživanja vezana za ispitivanje oksidativnog stresa i antioksidativnog kapaciteta pljuvačke obolelih od parodontopatije

Pojedine kliničke studije bavile su se merenjem stepena oksidativnog stresa u pljuvački pacijenata obolelih od parodontopatije na osnovu određivanja koncentracija krajnjih produkata lipidne peroksidacije, oksidativne modifikacije DNK, kao i drugih oksidativnih procesa. Kako su studije pokazale, nivo oksidativnog stresa bio je u značajnijoj meri izražen kod pacijenata obolelih od hronične parodontopatije nego kod osoba sa klinički zdravim parodontcijumom. Produkti lipidne peroksidacije (malondialdehid-MDA) bili su povećani kod osoba sa hroničnom parodontopatijom nego kod kontrolne grupe ispitanika. Takođe je utvrđena i korelacija između nivoa oksidativnog stresa i MDA sa kliničkim parametrima koji opisuju stanje parodontcijuma (Sheiki 2000., Akalm FA 2007., Chalili J 2008., Baltacioglu 2014.).

Neke studije su se bavile ispitivanjem nivoa oksidativnog stresa i u pljuvački obolelih od parodontopatije i njegovom korelacijom sa parodontopatogenima istih osoba. Utvrđena je pozitivna korelacija oksidativnog stresa i količine parodontopatogena (Sawamoto i sar. 2005., Almerich-Silla JM i sar. 2015.).

Primećena je i pozitivna korelacija između kliničkih pokazatelja stanja parodontcijuma i markera oksidativnog oštećenja DNK (8hidroksideoksiguanozin) u perifernoj krvi (Konopka T. i sar. 2007) pacijenata obolelih od hronične parodontopatije.

Nedavno urađena studija pokazuje korelacije kliničkog stanja parodontcijuma i nivoa 8OHdG u pljuvački ispitanika (Rajeev A. i sar 2015.) i stoga ga karakteriše kao jedan od dragocenih pokazatelja stanja parodontalnih tkiva.

Najnovija studija Gümüs P. i sar. iznosi zaključak da je u toku određenih promena opšteg stanja organizma za koja je od ranije poznato da mogu da utiču na stanje parodontcijuma (kao što je npr. trudnoća) primećeno istovremeno značajno povećanje pokazatelja oksidativnog oštećenja DNK kod ispitanika kod kojih je došlo i do pogoršanja kliničke slike (Gümüs P. i sar. 2015.)

Merenje aktivnosti salivarnih enzimskih antioksidanasa kod obolelih od parodontopatije takođe je predmet savremenih istraživanja. Najčešće ispitivani salivarni antioksidativni enzimi su: superoksid dismutaza i glutation peroksidaza (Guentsch A. i sar 2008). Aktivnost ispitivanih enzima posle sprovedene konzervativne terapije parodontopatije dolaze na nivo sličan kao kod kontrolne grupe ispitanika.

Ispitivanjem produkata lipidne peroksidacije, kao i aktivnosti glutation peroksidaze utvrđene su veće koncentracije produkata lipidne peroksidacije i manja aktivnost glutation peroksidaze u pljuvački obolelih od hronične parodontopatije nego kod ljudi sa klinički zdravim parodontacijom (Tsai CC i sar. 2005.)

Istraživanja Wei P i sar 2004. god. ukazala su na značajno smanjenje aktivnosti glutation peroksidaze i mijeloperoksidaze u pljuvački pacijenata obolelih od parodontopatije, kao i postojanje korelacije između aktivnosti ovih enzima i parodontalnih indeksa (gingivalni indeks, dubina parodontalnog džepa, nivo pripojnog epitela. Slične rezultate dobili su i Greabu M i sar 2008).

Aktivnost salivarne peroksidaze bila je značajno smanjena u pacijenata sa parodontopatijom u odnosu na kontrolnu grupu ispitanika, kako su pokazali rezultati nekih studija (Goven i sar 1996, Saxen i sar 1990, Smith i sar 1984).

Druge studije su pokazale da se aktivnost salivarnih peroksidaza značajno povećala posle sprovedene terapije parodontacijuma u odnosu na stanje pre terapije (Jentsh H i sar. 2004).

Pojedine studije ukazuju na smanjen sadržaj salivarnih neenzimskih antioksidanasa u pacijenata sa parodontopatijom u odnosu na grupu zdravih ispitanika (Henskens YM i sar. 1996). Od davnina je poznato da nedostatak vitamina C dovodi do oboljenja parodontacijuma. Sada je ustanovljeno da kod pacijenata obolelih od parodontopatije postoji smanjenje koncentracije vitamina C u pljuvački. (Ismail AI i sar. 2000; Nishida M. i sar. 2000.)

Koncentracija glutationa značajno je smanjena u pljuvački obolelih od hronične parodontopatije u poređenju sa kontrolnom grupom ispitanika. Smanjenje sadržaja neenzimskih antioksidanasa u pljuvački pacijenata obolelih od parodontopatije verovatno je rezultat njihove povećane „potrošnje“ u neutralisanju slobodnih radikala, čija se koncentracija povećava kod ovog oboljenja (Budinieli i sar 2006, Sculley D. i sar. 2003.).

Rezultati studije Linden GJ i sar. 2009 utvrđeno je povećanje koncentracije neenzimskih antioksidanasa u pljuvački obolelih od parodontopatije posle sprovedene kauzalne terapije ovog oboljenja.

Neka istraživanja su poredila sadržaj salivarnih neenzimskih antioksidanasa u različitim stadijumima inflamacije parodontcijuma. Pokazalo se da je koncentracija ovih biomarkera značajno niža kod pacijenata sa parodontopatijom u poređenju sa onima koji boluju od gingivitisa (Henskens YM i sar. 1993)

Nekoliko studija bavilo se ispitivanjem ukupnog antioksidativnog kapaciteta pljuvačke kod pacijenata obolelih od parodontopatije. Rezultati su ukazali na značajno smanjenje ukupnog antioksidativnog kapaciteta pljuvačke obolelih osoba u odnosu na grupu zdravih ispitanika. Kako mokraćna kiselina predstavlja 70% ukupnog antioksidativnog kapaciteta pljuvačke, najverovatnije se radi o smanjenju ovog antioksidansa, što je ustanovljeno u nekim istraživanjima (Dean V Sculley i sar 2002, Batino M. i sar 2002, Buduneli N. i sar. 2006, Baltaciogly E i sar 2006). Rezultati su pokazali da što je inflamacija parodontcijuma bila izraženija, to je i ukupni antioksidativni status pljuvačke obolelih od parodontopatije bio manji (Chapple i sar 1997, Nuttall i sar 2001).

Neka istraživanja su pokazala da, osim što postoji značajna razlika u smanjenju antioksidativnog statusa pljuvačke u odnosu na zdrave osobe, kod obolelih od parodontopatije postoji i smanjenje antioksidativnog kapaciteta u krvnoj plazmi i krvnom serumu u odnosu na kontrolnu grupu (Brock GR i sar. 2004.)

U merenju ukupnog antioksidativnog kapaciteta pljuvačke korišćene su razne biohemijske metode ali su rezultati uglavnom slični i pokazuju smanjenje antioksidativnog statusa u pljuvački obolelih od inflamatornih oboljenja parodontcijuma (Dean V. Sculley i sar. 2002.).

Slične rezultate su dobili i Moor i sar. 1994. i u stimulisanoj i u nestimulisanoj mešovitoj pljuvački. (Moor i sar. 1994.)

Jedna studija pokazuje ukupnog antioksidativnog potencijala pljuvačke kod osoba sa parodontopatijom u odnosu na osobe sa klinički zdravim potpornim aparatom zuba (Nuttall i sar. 2001.).

Sve gore navedeno ukazuje da slobodni radikali i oksidativni stres, kao i antioksidativna zaštita imaju značajnu ulogu u inflamatornim oboljenjima usne duplje.

6.Rezultati prethodnih istraživanja vezanih za rezultate postignute metodom dezinfekcije celih usta u odnosu na tradicionalni pristup kauzalnoj terapiji parodontopatije

Postoje veoma različiti stavovi o izboru metoda lečenja parodontopatije. Mnoga istraživanja su kroz duži vremenski period (najčešće pet godina) poredila rezultate postignute primenom samo konzervativne i kombinacije konzervativne i hirurške terapije parodontopatije. Autori ovih istraživanja u većini slučajeva ne nalaze značajne razlike u postignutim rezultatima. (Cobb 2002; Lindhe 1984.). Pregledni rad koji su objavili Kaldahi i sar. i koji poredi različite pristupe lečenju parodontopatije u dužem v remenskom intervalu i u više zemalja daje rezultate da se lečenje parodontopatije može uspešno završiti konzervativnom terapijom kod velikog procenta obolelih. (Kaldahi i sar. 1988.) Cobb u već pomenutoj studiji zaključuje da bi trebalo uraditi poređenje rezultata terapije parodontopatije FMD metodom sa rezultatima kauzalne terapije rađene tradicionalnim pristupom i rezultatima hirurške terapije ovog oboljenja. (Cobb CM, 2002.)

Metoda dezinfekcije celih usta (eng. full mouth disinfection - FMD), kao modalitet konzervativne terapije obolelih od parodontopatije uvedena je sredinom 90.-ih godina prošlog veka (Quirynen i sar. 1995.).

Postojala su velika očekivanja pre svega u pogledu efikasnosti ovakvog pristupa u odnosu na tradicionalni.

Kao što je prethodno rečeno ideja je bila da se jednoseansnim postupkom i primenom antiseptika kako u području parodontalnog džepa tako i u drugim nišama u usnoj duplji spreči ili bar umanja rekolonizacija mikroorganizama nakon završene terapije. Mnoge studije su pokazale da dolazi do smanjenja akumulacije kako supragingivalnog tako i subgingivalnog dentalnog plaka nakon sprovedene terapije po tipu dezinfekcije celih usta u odnosu na stanje kod pacijenata kod kojih je primenjen uobičajeni višeseansni pristup kauzalnoj terapiji parodontopatije (Rowshani i sar. 2004., Sekino i sar. 2004.).

Bollen CM i sar 1998. pokazuju da FMD daje značajno bolje rezultate u pogledu kliničkih pokazatelja stanja parodonticijuma u poređenju sa tradicionalnim višeseansnim pristupom. Iste studije su pratile i uticaj FMD metode na ponovnu kolonizaciju parodontopatogena i rezultati su pokazali značajnu prednost FMD

metode. Isti rezultati su dobijeni i u kratkoročnim i u dugoročnim istraživanjima. (Quirynen M i sar 1996.).

Drugi autori nisu našli značajno poboljšanje u pogledu kliničkih pokazatelja stanja parodontijuma kod primene FMD metode u odnosu na uobičajenu metodu kauzalne terapije, (Koshy i sar 2005.).

Istraživanje koje je poredilo efekte FMD metode u odnosu na tradicionalni pristup sa aspekta kliničkih, mikrobioloških i imunoloških parametara nije pokazalo značajne razlike između navedenih metoda. (Kinane i sar 2008.)

Zagovornici dezinfekcije celih usta u odnosu na uobičajeni pristup kauzalnoj terapiji se uglavnom pozivaju na smanjenje rekolonizacije parodontopatogena u prostor parodontalnog džepa posle njegove obrade. Takođe FMD je jednoseansna metoda što smanjuje broj poseta stomatologu za vreme terapije i zbog toga po mnogim istraživanjima nailazi na odobravanje pacijenata. Ovo je naročito važno kada su pacijenti deca. (Kinane DF i sar 2008.)

II. RADNA HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Radna hipoteza

Radna hipoteza ove studije je da dezinfekcija celih usta ima značajniji uticaj na oksidativni stres i antioksidativni status pljuvačke nego što to ima klasični pristup konzervativnom lečenju obolelih od hronične parodontopatije.

Ciljevi istraživanja

1. Ustanoviti razlike nivoima pokazatelja oksidativnog stresa i antioksidanasa (malondialdehida, 8-hidroksi-2-deoksiguanozina, glutation peroksidaze, superoksid dismutaze), kao i u ukupnom antioksidativnom kapacitetu pljuvačke kod:

1.1 obolelih od hronične parodontopatije pre i nakon sprovedene terapije metodom dezinfekcije usne duplje

1.2 obolelih od hronične parodontopatije pre i nakon sprovedene konzervativne terapije uobičajenim višeseansnim postupkom.

2. Ustanoviti korelaciju gore navednih biohemijskih parametara sa kliničkim parametrima stanja parodoncijuma

2.1 pre sprovedene terapije kod obe grupe pacijenata

2.2 nakon sprovedene terapije kod obe grupe pacijenata

III.MATERIJAL I METODE

Kliničko ispitivanje je sprovedeno na Klinici za parodontologiju i oralnu medicinu Stomatološkog fakulteta u Beogradu. Centrifugiranje uzoraka pljuvačke, njihovo zamrzavanje i skladištenje rađeno je u Laboratoriji za biohemiju i hematologiju, OJ Institutski predmeti Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Biohemijska ispitivanja vršice se u Centru za medicinsku biohemiju Kliničkog centra Srbije.

Navedeno istraživanje je kontrolisano kliničko-laboratorijsko ispitivanje, u kome smo određivali koncentraciju malondialdehoda (MDA), 8-hidroksi2-deoksiguanozina (8-OHdG) kao pokazatelja oksidativnog stresa i aktivnost glutation peroksidaze (GPX) i superoksid dismutaze (SOD), kao značajnih antioksidanasa pljuvačke. Takođe je bio utvrđivan i ukupni antioksidativni status u pljuvački tih pacijenata.

U ovo ispitivanje je bilo uključeno 60 sistemski zdravih pacijenata, starosti od 25-55 godina, kod kojih postoji puna klinička slika hronične parodontopatije (klinički radiografski kriterijumi po konzensusnom izveštaju 1999.) podeljenih u dve grupe i to:

1. grupa od 28 pacijenata, kod kojih je bila sprovedena konzervativna terapija parodontopatije uobičajenim višeseansnim postupkom (klasična konzervativna terapija - KKT grupa).
2. grupa od 24 pacijenta, kod kojih je bila sprovedena terapija parodontopatije metodom dezinfekcije usne duplje (full mouth desinfection –FMD grupa).

Svim pacijentima su bili uzeti uzorci pljuvačke u trenutku postavljanja dijagnoze, kao i dva meseca nakon završetka terapije.

Iz istraživanja su bili izuzeti:

1. trudnice zbog specifičnog hormonskog statusa,
2. pacijenti koji su u poslednja tri meseca uzimali vitaminske preparate
3. pacijenti koji su iz bilo kog razloga držali restriktivnu dijetu ili imali neku specifičnost u ishrani.

U prvoj grupi pacijenata je bila sprovedena kauzalna terapija parodontopatije na uobičajeni višeseansni način što podrazumeva motivaciju i obuku u održavanju oralne higijene, uklanjanje mekih i čvrstih naslaga sa zuba, i obradu parodontalnih džepova.

U drugoj grupi pacijenti su bili tretirani metodom koja uključuje dezinfekciju usne duplje po protokolu koji su ustanovili Quirynen i sar. 1995. godine. To podrazumeva sve metode klasične kauzalne terapije uz obilnu primenu antiseptika (hlorheksidin diglukonat 0.2% i 0.5%) pre i nakon konzervativne terapije. Svi postupci se sprovode u roku od 24 sata.

Na početku ispitivanja svakom pacijentu je bio uzet uzorak pljuvačke pomoću salivete za dalje biohemijske analize. Dva meseca po završenoj terapiji je urađen kontrolni pregled gde su ponovo bili izmereni klinički parametri stanja parodonticijuma i ponovo uzeti uzorci pljuvačke pomoću salivete za laboratorijske analize.

Svi ispitanici su bili obavešteni o cilju ovog istraživanja i bilo im ponuđeno da potpišu pristanak za učešće u istraživanju.

Terapijski protokol

Pacijentima je uzeta anamneza, a potom određeno stanje parodonticijuma na osnovu kliničkih parametara. Klinički pregled je vršen inspekcijom i sondiranjem graduisanom parodontalnom sondom . Vrednosti izmerenih kliničkih parametara su bile upisane u istraživački karton (koji se nalazi u prilogu).

Prvo se pristupilo motivaciji i obuci u održavanju oralne higijene kod svih pacijenata. To je prvi i neizostavan deo lečenja obolelih od parodontopatije. Posle navedenog rađeno je uklanjanje naslaga sa površine zuba pomoću aparata sa ultrazvukom.

U prvoj grupi ispitanika obrada parodontalnih džepova se obavljala po kvadrantima u razmacima između seansi do sedam dana, uz stalnu remotivaciju za održavanje oralne higijene. Radno polje je anestetizirano lokalnom infiltracionom odnosno sprovodnom anestezijom (2% lidokainom sa adrenalinom, 1:100000). U obradi parodontalnih džepova su bile korištene specijalizovane kirete po Gracy-ju. Za odstranjivanje slobodnog sadržaja džepa korišten je fiziološki rastvor.

U drugoj grupi ispitanika je bila sprovedena dezinfekcija celih usta po protokolu koji su predložili Quirynen i sar. 1995 , što podrazumeva sledeće korake:

1. uklanjanje naslaga sa zuba pomoću aparata sa ultrazvukom, obradu tvrdog i mekog zida svih prisutnih parodontalnih džepova u jednoj ili eventualno dve posete (razmak između poseta ne sme biti veći od 24h). Radno polje je anestetizirano lokalno infiltracionom odnosno sprovodnom anestezijom (2% lidokainom sa adrenalinom,

1:100000). U obradi parodontalnih džepova su korišćene specijalizovane kirete po Gracy-ju

2. posle obrade parodontalnih džepova sledi njihovo dodatno ispiranje tri puta u toku deset minuta gelom koji sadrži 0.5% hlorheksidindiglukonata (Curasept ADS® 350 Parodontal gel, Curaden AG, Kriens, Switzerland) radi neutralzacije sto većeg broja preostalih bakterija

3. sledeći korak je četkanje dorzalne strane jezika istim gelom (Curasept ADS® 350 Parodontal gel, Curaden AG, Kriens, Switzerland) u trajanju od jednog minuta radi supresije bakterija u ovom staništu

4. rastvorom hlorheksidindiglukonata koncentracije 0,2% (Curasept ADS 220®, Curaden AG, Kriens, Switzerland) pacijent ispira usta i ždrelo (grgutanjem) u toku dva minuta

5. održavanje oralne higijene je u toku naredna dva meseca potpomognuto ispiranjem usta sa 10ml rastvora hlorheksidindiglukonata koncentracije 0,2% (Curasept ADS 220®, Curaden AG, Kriens, Switzerland) dva puta dnevno.

Dva meseca po smirivanju akutne inflamacije na kontrolnom pregledu su određeni isti klinički parametri na isti način kao i pre početka terapije i upisani u istraživački karton za svakog pacijenta.

Klinički pregled, određivanje kliničkih parametara kao i terapiju svih pacijenata uključenih u istraživanje je sprovodio isti stomatolog.

Klinička merenja

Od anamnestičkih podataka u ovom ispitivanju uzeti su: starost pacijenta, pol i stručna sprema, kao i to da li je pacijent pušač. Pacijentu je određen status zuba.

Stanje parodonticijuma ispitanika vrednovano je pomoću sledećih indeksa i parametara:

- plak indeks (PI) po Silnes-Lou (Løe G. 1967.) bodovanje je izvršeno na sledeći način:
 - 0 bodova je podrazumevalo odsustvo plaka u gingivalnoj trećini krunice zuba
 - 1 bod se dodeljivao ukoliko se tanak sloj dentalnog plaka, koji se nalazio u predelu ivice gingive i na okolnoj gingivalnoj trećini krunice

zuba, klinički nije uočavao, a otkrivao se povlačenjem vrha sonde preko ovog regiona

- 2 boda je podrazumevalo prisustvo umerene, vizuelno uočljive, količine plaka, lokalizovane na ivici gingive i na površini zuba u njenom susedstvu i i/ili male količine dentalnog plaka u gingivalnom sulkusu, odnosno parodontalnom džepu
- 3 boda je najveća vrednost koja se dodeljivala u slučaju postojanja velike količine dentalnog plaka koji je pokrивao ivicu gingive i okolnu površinu zuba ali je njime potpuno ispunjen bio i gingivalni sulkus, odnosno gingivalni ili parodontalni džep.
- krvarenje na provokaciju (Barnett i sar. 1980.) kod koga je bodovanje izvršeno na sledeći način:
 - 0 bodova- odsustvo krvarenja i posle 30s po sondiranju
 - 1 bod- krvarenje između 3s i 30s po sondiranju
 - 2 boda- krvarenje do 2s po sondiranju
 - 3 boda- krvarenje neposredno posle sondiranja
- gingivalni indeks (GI) po Lou-Silnesu (Löe G. 1967), prema kome je stanje gingive izraženo u bodovima na sledeći način:
 - 0 bodova (zdrava gingiva) - postojanje čvrste, bledoružičaste gingive sa sitnozrnastom površinom i papilom u unterdentalnom prostoru
 - 1 bod (blaga inflamacija) - crvenija ivica slobodne gingive nego normalno sa prisutnim minimalnim otokom, odsustvo krvarenja na blagu provokaciju parodontalnom sondom
 - 2 boda (umerena inflamacija) - crvena boja gingive, izraženi edem slobodne gingive i interdentalnih papila, pozitivno krvarenje na sondiranje parodontalnom sondom
 - 3 boda (jaka inflamacija) - najveća dodeljena vrednost u slučaju postojanja veoma crvene ili lividne bije gingive, jako uvećane slobodne gingive i papila,
- na papilama moguće postojanje ulceracija, krvarenje gingive pri najmanjoj provokaciji.

- dubina sondiranja (DS) – dubina sondiranja definisana je kao rastojanje od ivice slobodne gingive do vrha parodontalne sonde koja se postavlja u parodontalni džep umerenom silom.
- nivo pripojnog epitela (NPE) - rastojanje od gledno cementne granice do vrha parodontalne sonde postavljene u parodontalni džep.

Nivo pripojnog epitela i dubina sondiranja su određivani u šest tačaka za svaki zub i to: mezijalni i distalni brid i sredina vestibularne i oralne strane svakog postojećeg zuba. Prilikom ovih merenja bi koristili parodontalnu sondu North Carolina, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA.

Sakupljanje uzoraka pljuvačke

Kod svih pacijenata uzorci pljuvačke su uzimani tokom prve posete kao i dva meseca posle završene terapije. Svi uzorci su uzimani ujutru, pre jela. Pacijentima je bilo rečeno da ne piju ništa osim vode, ne puše, niti žvaću žvakaću gumu pre uzimanja uzoraka. Takođe je bitno da se pljuvačka sakuplja pre kliničkih merenja kako bi se izbegla njeno mešanje sa krvlju.

Mešovita nestimulisana pljuvačka se sakuplja pomoću specijalnih epruveta – SALIVETE® - SARSTEDT (Germany).

One se postave u podjezični prostor pacijenta koji bi trebalo da miruje sa zatvorenim ustima tokom jednog minuta. Zatim se saliveta uklanja iz usta pacijenta i materijal odnosi u biohemijsku laboratoriju gde se centrifigira na 10000 obrtaja tri minuta. Ovim postupkom bi trebalo sa se dobije oko 2 ml uzorka koji se zamrzava na -20°C.

Biohemijska ispitivanja

Sva biohemijska ispitivanja su obavljena u Centru za medicinsku bioheniju Kliničkog Centra Srbije.

U pljuvački su određene koncentracije: malondialdehida (MDA) i 8hidroksideoksiguanozina (8-OhdG), kao i aktivnost glutation peroksidaze (GPX), superoksid dismutaze (SOD). Određen je i ukupni antioksidativni status pljuvačke (TAS).

Koncentracije malondialdehida (MDA) je određivana spektrometrijski uz korišćenje reagensa ALDetect™ (MDA-specific) Lipid Peroxidation assay kit kat. no. BML-AK171-0001 (Enzo Life Sciences). Malon-dialdehid (MDA) je bioproizvod lipidne peroksidacije čije se određivanje danas generalno koristi kao marker lipidne peroksidacije. Lipidna peroksidacija predstavlja oksidativnu degradaciju lipida. U toj reakciji slobodni radikali preuzimaju elektrone od molekula lipida (najčešće su to lipidi ćelijskih membrana) pri čemu nastaju lipidni peroksidi. Lipidnom peroksidacijom nastaju reaktivni aldehidi kao što su MDA i 4-hidroksi-nonenal (4-HNE).

U osnovi metoda je reakcija između jednog molekula MDA i 2 molekula N-netil-2-fenilindola koji u prisustvu hlorovodonične kiseline na 45°C daju stabilan obojeni kompleks maksimalne absorpcije 585nm. Iako je ova reakcija nespecifična, u njoj reaguje kako slobodni MDA tako, posle hidrolize, i MDA vezan za proteine. Uslovi pod kojima se izvodi ova reakcija umanjuju uticaj drugih produkata lipidne peroksidacije na rezultat merenja.

Koncentracija 8-hidroksi-2deoksiguanozina (8OHdG) je određivana primenom enzimskog imunoadsorpcionog testa – ELISA (eng. Enzyme-linked immunoabsorbent assay). ELISA metod predstavlja imunološku metodu zasnovanu na specifičnoj reakciji antigen-antitelo. U ovoj studiji je korišćen komercijalni ELISA test KOG-200SE, New 8-OHdG Chec ELISA KIT (Japan Institute for the Control of Aging-JaICA). Minimalne detekcione granice po uslovima proizvođača su 0,125 ng/ml. Uzorci čije su koncentracije bile van propisanog opsega su eliminisani. Evaluacija intenziteta boje je izvršena pomoću spektrofotometrije (talasna dužina 450 nm). Intenzitet dobijene boje bio je obrnuto proporcionalan koncentraciji 8-OHdG u uzorcima.

Aktivnost glutation peroksidaze određivana je UV metodom (Paglia i Valentine) uz korišćenje reagensa Ransel firme Randox (*RANDOX Laboratories Ltd., United Kingdom*). Princip metode je bio da glutation peroksidaza (GPX) katalizuje oksidaciju glutationa (GSH) pomoću kumen-hidroperoksida. U prisustvu glutation reduktaze (GR) i NADPH oksidovani glutation (GSSG) odmah se konvertuje u redukovani, što je praćeno oksidacijom NADPH u NADP+.

Aktivnost superoksid dismutaze je merena enzimskom kolorimetrijskom metodom uz korišćenje reagensa Ransel firme Randox (*RANDOX Laboratories Ltd.,*

United Kingdom). Princip metode je bio sledeći: Uloga superoksid dismutaze (SOD) je da ubrza dizmutaciju štetnog superoksidnog radikala ($O_2^{\bullet-}$), koji se produkuje u toku oksidativnih energetske procesa, u vodonik peroksid i molekularni kiseonok. Ova metoda koristi ksantin i ksantin oksidazu (XOD) za stvaranje superoksidnih radikala. Dobijeni radikali reaguju sa 2-(4-jodofenil)-3-(4nitrofenol)-5-feniltetrazolium hloridom (INT) i daju crveno obojeni formazan. Aktivnost superoksid dizmutaze je proporcionalna stepenu inhibicije ove reakcije. Jedna jedinica SOD smanjuje redukciju INT-a za 50% u uslovima pod koji se izvodi ova reakcija.

Ukupni antioksidativni status u pljuvački meren je kolorimetrijskom metodom. Korišćen je reagens Total Antioxidant Status (TAS) firme Randox (*RANDOX Laboratories Ltd., United Kingdom*). Princip metode bio je sledeći: ABTS® (2,2'-azino-di-etilbenzothiazoline sulfonat) se inkubira sa peroksidazom i vodom da bi se dobio ketonski radikal $ABTS^{\bullet+}$. Ovako se dobija relativno stabilna plavo zelena boja koja se meri na 600 nm. Antioksidansi u dodatom uzorku prouzrokuju supresiju stvaranja ove boje. Stepenu supresije je proporcionalan koncentraciji antioksidanasa u ispitivanom uzorku.

Statistička analiza

Posle prikupljanja svih podataka dobijeni rezultati su obrađeni pomoću statističkog paketa SPSS (SPSS 16.0, Inc., Chicago, IL, USA).

Primarne ishodišne promenljive u ovoj studiji bile su koncentracije MDA i 8-OhdG, aktivnost SOD i GPx kao i TAS u pljuvački svih ispitanika pre i posle sprovedene terapije. Sekundarne ishodišne promenljive bili su klinički parametri za vrednovanje stanja parodonticijzma i to: PI, IKG, GI, DS i NPE takođe mereni pre i posle sprovedene terapije.

Demografski podaci, klinički parametri i nivoi izmerenih biohemijskih parametara prikazani su kao srednja vrednost, standardna devijacija, vrednost medijane i interval poverenja. U analizi su primenjeni ne-parametrijski testovi obzirom na to da je uzorak bio relativno mali.

Od metoda deskriptivne statistike koristile bi se srednja vrednost, standardna devijacija i standardna greška. Pirsonov χ^2 -test, Fišerov test, Studentov t-test za male uzorke, Mann-Whitney test bile bi metode izbora u okviru komparativne statistike.

Korelacije između navedenih parametara su određene pomoću Spirmanovog koeficijenta korelacije („Spearman' s rank correlation” test).

IV. REZULTATI

Klinička ispitivanja

Na osnovu prikupljenih podataka u našem istraživanju može se konstatovati da su ispitanici obe grupe imali preko 20 preostalih zuba. Podaci su prikazani u tabeli 1.

Tabela 1: Prosečan broj zuba eksperimentalne i kontrolne grupe ispitanika

Prosečan broj zuba	\bar{x}	SD
KKT grupa	23.0	1,5
FMD grupa	24.5	1,4

Legenda: \bar{x} -srednja vrednost, SD-standardna devijacija

Prema prikupljenim podacima u našen istraživanju uFMD grupi bilo je 8 pacijenata muškog (33.3%) i 12 pacijenata ženskog pola (66.7%). KKT grupa obuhvatila je 12 pacijenata muškog (42.9%) i 16 (57.1%) ženskog pola.

Starosni kriterijum za uključivanje u ovo ispitivanje je bio da svi pacijenti budu između 25 i 55 godina starosti. Posle obrade prikupljenih podataka dobili smo sa su u KKT grupi bila su dva pacijenta mlađa od 35 godina (7,14%), pet pacijenata između 36 i 45 godina (17,86%), i 21 pacijent stariji od 45 godina (75%). u ispitanike FMD grupi su takođe dva pacijenta ili 8,33 % bila mlađa od 35 godina. Između 36 i 45 godina bila su 3 pacijenta (12,5%) i 19 pacijenata preko 46 godina (79,17%) u FMD grupi (tabela 2).

Tabela 2: Starosna struktura ispitanika

Starosna struktura ispitanika	<=35 god.	od 36 do 45 god.	>=46 god.
KKT grupa	7,14%	17,86%	75,00%
FMD grupa	8,33%	12,50%	79,17%

Prosek godina starosti kod pacijenata KKT grupe bio je $44,64 \pm 11,5$, a kod FMD grupe $44,42 \pm 7$ godina. Ovi podaci prikazani su u tabeli 3.

Tabela 3: Prosek godina starosti ispitanika

	Prosek godina starosti
KKT grupa	$44,64 \pm 11,5$
FMD grupa	$44,42 \pm 9,86$

U pogledu stručne spreme u KKT grupi šestnaest pacijenata ili 66.7% srednje i osam pacijenta ili 33.3% visoko obrazovanje. U FMD grupi dvadeset pacijenata ili 71.4% je sa srednjom i osam pacijenata ili 28.6% sa visokom stručnom spremom (tabela 4).

Tabela 4: Struktura ispitanika po stepenu stručne spreme

Stručna sprema	srednja	visoka
KKT grupa	66.7%	33.3%
FMD grupa	71.4%	28.6%

Od 24 pacijenta KKT grupe njih 58.3% su pušači dok 41.7% nisu. U FMD grupi 35.7% ispitanika su pušači dok 64.3% njih nisu.

Ni jedan ispitanik nije imao ni jednu anomaliju ili oboljenje sluzokože jezika ili oralne sluzokože.

Izvršili smo klinički pregled parodonticijuma naših ispitanika pre i posle sprovedene terapije, a njegovo stanje je vrednovano pomoću odgovarajućih indeksa. Posle statističke obrade dobijenih rezultata možemo konstatovati sledeće:

1. Vrednosti plak indeksa po Silnes-Lou (Silness- Loe) izmerene u KKT grupi pacijenata su: 2.34357 ± 0.635 pre sprovedene terapije i 1.36286 ± 0.593522 posle terapije i date su u tabeli br 5.

Tabela 5: Plak indeks ispitanika KKT grupe pre i nakon sprovedene terapije

	N	\bar{x}	SD	SE	p
pre terapije	28	2.343	0.635	0.0256	
posle terapije	28	1.362	0.593	0.115	p<0.01

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} srednja vrednost, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

2. Vrednosti plak indeksa po Silnes-Lou (Silness- Loe) izmerene kod pacijenata FMD grupe su: 2.36917 ± 0.594 pre sprovedene terapije i 1.47750 ± 0.671 posle terapije i date su u tabeli br 6.

Tabela 6: Plak indeks ispitanika FMD grupe pre i nakon sprovedene terapije

	N	\bar{x}	SD	SE	p
pre terapije	24	2.369	0.594	0.256	
posle terapije	24	1.477	0.671	0.241	p<0.01

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} srednja vrednost, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

Vrednosti plak indeksa se statistički značajno smanjuju posle sprovedene terapije (p<0.01) kod obe grupe pacijenata.

3. Indeks krvarenja na provokaciju (KNP), kako je ustanovljeno na prvom pregled pacijenata KKT grupe iznosio je 1.45500 ± 0.490 Posle sprovedene kauzalne terapije parodontopatije vrednost ovog indeksa bila je 0.92143 ± 0.440 , što predstavlja statistički značajno smanjenje vrednosti p<0.01. Vrednosti indeksa krvarenja gingive u ovom istraživanju su date u tabeli 7.

Tabela 7: Indeks krvarenja na provokaciju ispitanika KKT grupe pre i nakon sprovedene terapije

	N	\bar{x}	SD	SE	p
pre terapije	28	1.455	0.490	0.218	
posle terapije	28	0.921	0.620	0.169	p<0.01

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} srednja vrednost, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

- Indeks krvarenja na provokaciju pacijenata FMD grupe, kako je ustanovljeno na prvom pregledu iznosio je 1.95667 ± 0.620 . Posle sprovedene kauzalne terapije parodontopatije vrednost ovog indeksa bila je 0.98000 ± 0.416 što predstavlja statistički značajno smanjenje vrednosti $p<0.01$. Vrednosti indeksa krvarenja gingive u ovom istraživanju su date u tabeli 8.

Tabela 8: Indeks krvarenja na provokaciju ispitanika FMD grupe pre i nakon sprovedene terapije

	N	\bar{x}	SD	SE	p
pre terapije	24	1.957	0.440	0.193	
posle terapije	24	0.980	0.416	0.168	p<0.01

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} srednja vrednost, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

- Gingivalni indeks po Lou-Silnesu (Löe-Silness), pre sprovedene terapije pacijenata KKT grupe imao je vrednosti 1.97286 ± 0.468 . Posle sprovedene terapije vrednosti ovog indeksa iznosile su 1.27429 ± 0.501 (tabela 9).

Tabela 9: Gingivalni indeks ispitanika KKT grupe pre i nakon sprovedene terapije

	N	\bar{x}	SD	SE	p
pre terapije	28	1.973	0.469	0.211	
posle terapije	28	1.274	0.501	0.199	p<0.01

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} srednja vrednost, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

Smanjenje vrednosti ovog indeksa u KKT grupi je statistički značajno, p<0.01.

- Gingivalni indeks po Lou-Silnesu (Löe-Silness) ispitanika FMD grupe, pre sprovedene terapije imao je vrednosti 2.09667 ± 0.605 . Posle sprovedene terapije vrednosti ovog indeksa iznosile su 1.38833 ± 0.515 (tabela 10).

Tabela 10: Gingivalni indeks ispitanika FMD grupe pre i nakon sprovedene terapije

	N	\bar{x}	SD	SE	p
pre terapije	24	2.097	0.605	0.215	
posle terapije	24	1.388	0.515	0.201	p<0.01

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} srednja vrednost, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

Smanjenje vrednosti ovog indeksa u FMD grupi je statistički značajno, p<0.01.

Takođe je merena i dubina sondiranja na svakom prisutnom zubu kao i nivo pripojnog epitela.

- Izmerena vrednost dubine sondiranja kod pacijenata KKT grupe pre terapije iznosila je 4.59214 ± 0.638 mm. Posle sprovedene terapije došlo je do statistički značajnog smanjenja dubine parodontalnih džepova na 3.19286 ± 0.695 mm, (p<0.01). Vrednosti dubine sondiranja pacijenata KKT grupe su date u tabeli 11.

Tabela 11: Dubina sondiranja ispitanika KKT grupe pre i nakon sprovedene terapije

	N	\bar{x}	SD	SE	p
pre terapije	28	4.592	0.638	0.292	
posle terapije	28	3.193	0.695	0.303	p<0.01

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} srednja vrednost, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

8. Izmerena vrednost dubine sondiranja kod pacijenata FMD grupe pre terapije iznosila je $4.78333 \pm 0.850\text{mm}$. Posle sprovedene terapije došlo je do statistički značajnog smanjenja dubine parodontalnih džepova na $2.95500 \pm 0.853\text{mm}$, ($p < 0.01$). Vrednosti dubine sondiranja pacijenata FMD grupe su date u tabeli 12.

Tabela 12: Dubina sondiranja ispitanika FMD grupe pre i nakon sprovedene terapije

	N	\bar{x}	SD	SE	p
pre terapije	24	4.783	0.850	0.299	
posle terapije	21	2.955	0.853	0.308	p<0.01

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} srednja vrednost, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

9. Nivo pripojnog epitela na prvom pregledu kod pacijenata KKT grupe iznosio je $2.67571 \pm 0.933\text{mm}$. Vrednosti nivoa pripojnog epitela posle sprovedene terapije nisu se značajnije promenile i iznosile su $2.61500 \pm 0.878\text{mm}$, ($p = 0.087$). Vrednosti nivoa pripojnog epitela pacijenata KKT grupe u ovom istraživanju su date u tabeli 13.

Tabela 13: Nivo pripojnog epitela ispitanika KKT grupe pre i nakon sprovedene terapije

	N	\bar{x}	SD	SE	p
pre terapije	28	2.676	0.934	0.357	
posle terapije	28	2.615	0.878	0.310	0.087

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} srednja vrednost, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

10. Nivo pripojnog epitela na prvom pregledu kod pacijenata FMD grupe iznosio je $2.52583 \pm 0.878\text{mm}$. Vrednosti nivoa pripojnog epitela posle sprovedene terapije nisu se značajnije promenile i iznosile su $2.36167 \pm 0.665\text{mm}$, ($p=0.081$). Vrednosti nivoa pripojnog epitela pacijenata FMD grupe u ovom istraživanju su date u tabeli 14.

Tabela 14: Nivo pripojnog epitela ispitanika FMD grupe pre i nakon sprovedene terapije

	N	\bar{x}	SD	SE	p
pre terapije	24	2.526	0.878	0.356	
posle terapije	24	2.362	0.665	0.303	0.081

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} srednja vrednost, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

Biohemijska ispitivanja

U uzorcima pljuvačke merene su koncentracije: malondialdehida (MDA) i 8-hidroksi2-deoksiguanozina (8-OHdG), kao i aktivnost glutation-peroksidaze (GPx) i superoksid-dismutaze (SOD). Određen je i ukupni antioksidativni status (TAS).

1. Srednja vrednost izmerene koncentracije MDA u pljuvački pacijenata KKT grupe pre terapije iznosila je $1.17686 \pm 0.277 \mu\text{mol/ml}$ posle terapije $1.84500 \pm 0.529 \mu\text{mol/ml}$ (tabela 15).

Tabela 15: Koncentracija malondialdehida (MDA) u pljuvački ispitanika KKT grupe pre i nakon terapije

	N	\bar{x} ($\mu\text{mol/ml}$)	SD	SE	p
pre terapije	28	1,177	0.277	0.150	
posle terapije	28	1,845	0.529	0,201	p<0.01

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} ($\mu\text{mol/ml}$) srednja vrednost merena u gramima po litru, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

2. Srednja vrednost izmerene koncentracije MDA u pljuvački pacijenata FMD grupe pre terapije iznosila je $1.39917 \pm 0.471 \mu\text{mol/ml}$, posle terapije $1.185167 \pm 0.488 \mu\text{mol/ml}$ (tabela 16).

Tabela 16: Koncentracija malondialdehida (MDA) u pljuvački ispitanika FMD grupe pre i nakon terapije

	N	\bar{x} (μ/l)	SD	SE	p
pre terapije	24	1.399	0.471	0.155	
posle terapije	24	1.852	0.488	0.199	p<0.01

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} ($\mu\text{mol/ml}$) srednja vrednost merena u gramima po litru, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

Postoji statistički značajno smanjenje koncentracije MDA u pljuvački ispitanika posle terapije u odnosu na period pre terapije kod obe grupe ispitanika.

3. Srednja vrednost koncentracije 8-OHdG kiseline u pljuvački pacijenata KKT grupe pre terapije iznosila je $0.53750 \pm 0.132 \text{ ng/ml}$, a po završenoj terapiji $0.43621 \pm 0.475 \text{ ng/ml}$ (tabela 17).

Tabela 17: Koncentracija 8-OHdG u pljuvački ispitanika KKT grupe pre i nakon terapije

	N	\bar{x} (ng/ml)	SD	SE	p
pre terapije	28	0.537	0.132	0.491	
posle terapije	28	0.436	0.475	0,157	p=0.451

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} (ng/ml) srednja vrednost merena u mikromolima po litru, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

U našem istraživanju nismo našli statistički značajno smanjenje koncentracije 8OHdG u pljuvački pacijenata KKT grupe posle sprovedene terapije parodontopatije (p=0.451).

4. Srednja vrednost koncentracije 8-OHdG kiseline u pljuvački pacijenata FMD grupe pre terapije iznosila je $1.78375 \pm 1.837 \text{ ng/ml}$, a po završenoj terapiji $0.69275 \pm 0.281 \text{ ng/ml}$ (tabela 18).

Tabela 18: Koncentracija 8-OHdG u pljuvački ispitanika FMD grupe pre i nakon terapije

	N	\bar{x} (ng/ml)	SD	SE	p
pre terapije	24	1.784	1.837	0.531	
posle terapije	24	0.693	0.281	0.151	p=0.05

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} (ng/ml) srednja vrednost merena u mikromolima po litru, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

Postoji značajno smanjenje koncentracije 8OHdG u pljuvački pacijenata FMD grupe posle sprovedene terapije parodontopatije ($p=0.05$).

- Srednja vrednost aktivnosti glutation- peroksidaze koju smo merili u pljuvački ispitanika KKT grupe u ovom istraživanju iznosila je 4.33364 ± 2.265 IU/ml pre terapije 4.37793 ± 2.292 U/ml posle terapije u istoj grupi. (tabela 19).

Tabela 19: Aktivnost glutation peroksidaze (GPX) u pljuvački ispitanika KKT grupe parodontopatijom pre i nakon terapije

	N	\bar{x} (IU/ml)	SD	SE	p
pre terapije	28	4.333	2.265	0.657	
posle terapije	28	4.378	2.292	0.665	$p=0.561$

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} (iu/ml) srednja vrednost merena u internacionalnim jedinicama po litru, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

Nije primećeno statistički značajno povećanje aktivnosti ovog enzima u KKT grupi posle sprovedene terapije ($p=0.561$).

- Srednja vrednost aktivnosti glutation peroksidaze koju smo merili u pljuvački ispitanika FMD grupe u ovom istraživanju iznosila je 5.40933 ± 0.172 IU/ml pre terapije, 5.47758 ± 0.158 IU/ml posle terapije u istoj grupi. (tabela 20).

Tabela 20: Aktivnost glutation peroksidaze (GPX) u pljuvački ispitanika FMD grupe parodontopatijom pre i nakon terapije

	N	\bar{x} (IU/ml)	SD	SE	p
pre terapije	24	5.409	0.172	0.607	
posle terapije	24	5.478	0.158	0.614	$p=0.24$

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} (iu/ml) srednja vrednost merena u internacionalnim jedinicama po litru, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

Ni kod pacijenata FMD grupe nije primećeno statistički značajno povećanje aktivnosti glutation -peroksidaze posle sprovedene terapije (p=0.24).

7. Srednja vrednost aktivnosti superoksid-dismutaze u pljuvački pacijenata KKT grupe pre terapije iznosio je 1.58900 ± 2.234 IU/ml, a posle završene terapije 1.47136 ± 2.155 IU/ml. (tabela 21).

Tabela 21: Aktivnost superoksid- dismutaze (SOD) u pljuvački ispitanika KKT grupe pre i nakon terapije

	N	\bar{x} (IU/ml)	SD	SE	p
pre terapije	28	1.589	2.234	0.598	
posle terapije	28	1.471	2.155	0.577	p=0.035

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} (iu/ml) srednja vrednost merena u internacionalnim jedinicama po litru, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

Zabeleženo je statistički značajno smanjenje aktivnosti ovog enzima posle završene terapije u KKT grupi (p<0.05).

Srednja vrednost aktivnosti superoksid-dismutaze u pljuvački pacijenata FMD grupe pre terapije iznosio je 0.41000 ± 0.136 IU/ml, a posle završene terapije 0.34425 ± 0.112 IU/ml. (tabela 22).

Tabela 22: Aktivnost superoksid-dismutaze (SOD) u pljuvački ispitanika FMD grupe pre i nakon terapije

	N	\bar{x} (IU/ml)	SD	SE	p
pre terapije	24	0.410	0.136	0.648	
posle terapije	24	0.344	0.112	0.625	p=0.139

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} (iu/ml) srednja vrednost merena u internacionalnim jedinicama po litru, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

Nije zabeleženo statistički značajno smanjenje aktivnosti superoksid-dismutaze posle završene terapije u FMD grupi (p=0.139).

8. Određen je i ukupni antioksidativni status u pljuvački pacijenta (TAS). Kod pacijenata KKT grupe njegova srednja vrednost iznosila je $0.20386 \pm 0.136 \text{ mmol/l}$, $0.29079 \pm 0.127 \text{ mmol/l}$ (tabela 23).

Tabela 23: Ukupni antioksidativni kapacitet pljuvačke ispitanika KKT grupe pre i nakon terapije

	N	\bar{x} (mmol/l)	SD	SE	p
pre terapije	28	0.204	0.136	0.037	
posle terapije	28	0.291	0.128	0.060	p<0.05

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} (mmol/l) srednja vrednost merena u mikromolima po litru, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

Postoji statistički značajno povećanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta pljuvačke posle sprovedene terapije u KKT grupi pacijenata, p<0.05.

9. U FMD grupi zabeležena je srednja vrednost vrednosti ukupnog antioksidativnog kapaciteta pljuvačke od $0.06417 \pm 0.031 \text{ mmol/l}$ pre terapije i $0.25417 \pm 0.172 \text{ mmol/l}$ posle terapije (tabela 24).

Tabela 24: Ukupni antioksidativni kapacitet pljuvačke ispitanika FMD grupe pre i nakon terapije

	N	\bar{x} (mmol/l)	SD	SE	p
pre terapije	24	0.064	0.031	0.040	
posle terapije	30	0.254	0.172	0.059	p<0.01

gde je N ukupan broj ispitanika, \bar{x} (mmol/l) srednja vrednost merena u mikromolima po litru, SD standardna devijacija, SE standardna greška, a p nivo značajnosti

Postoji statistički značajno povećanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta pljuvačke posle sprovedene terapije u FMD grupi pacijenata, p<0.01.

Korelacije ispitivanih biohemijskih parametara u pljuvački pacijenata KKT grupe i parodontalnih indeksa pre i nakon sprovedene terapije

Predmet ove studije bio je i analiza korelacije kliničkih i biohemijskih parametara pljuvačke za sve ispitanike.

Tabela 25: Korelacija plak indeksa (PI) i biohemijskih parametara u pljuvački ispitanika KKT grupe pre terapije

PI-pre	r	p
8-OHDG	0,192	0,510
MDA	0,045	0,878
GPX	0,101	0,731
SOD	0,094	0,748
TAS	0,472	0,089

gde je PI- plak indeks, r- koeficijent korelacije, p- nivo značajnosti, 8-OHDG - 8-hidroksi2-deoksiguanozin, MDA- malondialdehid, GPX -glutation peroksidaza, SOD- superoksid dismutaza, TAS -ukupni antioksidativni status

Kako je prikazano u tabeli 25. nisu nađene korelacije plak indeksa i biohemijskih parametara kod ispitanika KKT grupe pre terapije.

Tabela 26: Korelacija plak indeksa (PI) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika FMD grupe pre terapije

PI-pre	r	p
8-OHDG	0,121	0,701
MDA	0,203	0,527
GPX	0,191	0,546
SOD	0,473	0,121
TAS	0,357	0,255

gde je PI plak indeks, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHDG -8hidroksi-2deoksi-guanozin, MDA-malondialdehid, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

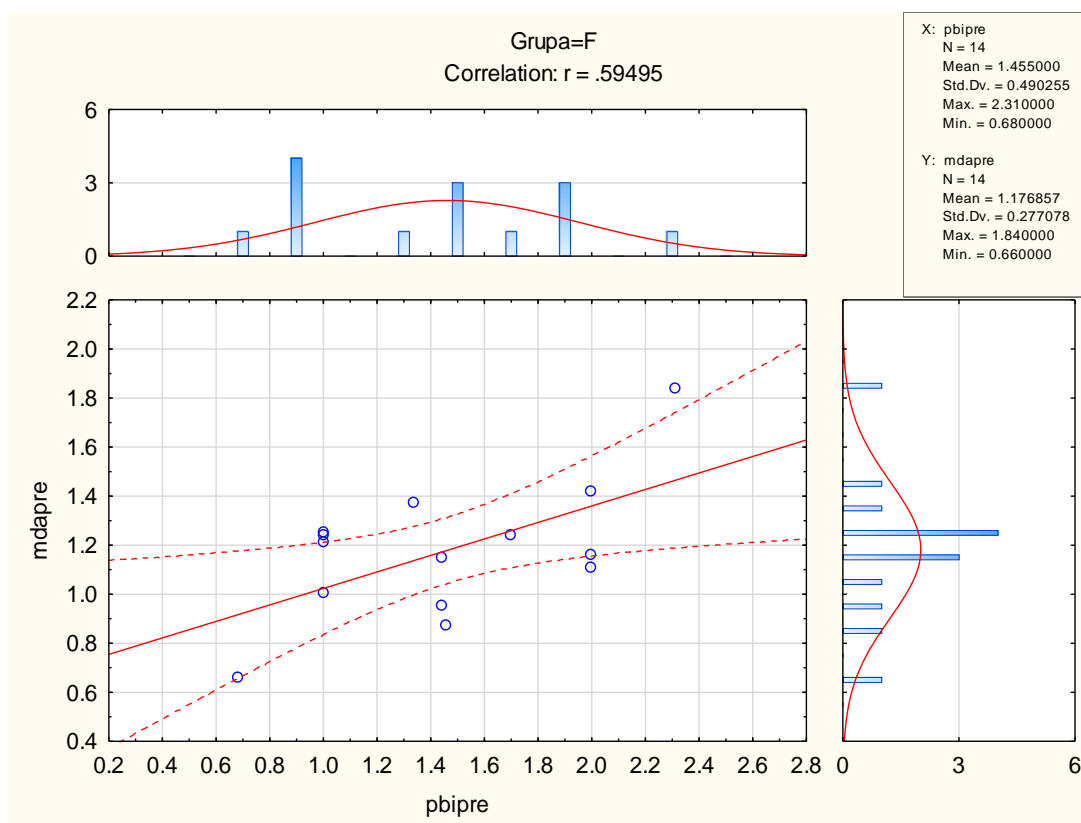
Statistička analiza nije pokazala da postoji korelacija plak indeksa i biohemijskih parametara FMD grupi ispitanika pre terapije.

Tabela 27: Korelacija krvarenja na provokaciju (KNP) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika KKT grupe pre terapije

KNP-pre	r	p
8-OHDG	0,306	0,287
MDA	0,595*	0,025
GPX	0,381	0,179
SOD	0,420	0,137
TAS	0,118	0,688

gde je KNP krvarenje na provokaciju, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHDG -8hidroksi2deoksi-guanozin, MDA-malondialdehid, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

U ovom ispitivanju uočeno je da postoji pozitivna korelacija između vrednosti krvarenja na provokaciju i koncentracije malondialdehida u pljuvački ispitanika KKT grupe pre sprovedene terapije. Ostali biohemijski parametri pljuvačke nisu bili u korelaciji sa krvarenjem na provokaciju kod pacijenata KKT grupe pre terapije.



Grafik 1: Korelacija krvarenja na provokaciju i koncentracije MDA u KKT grupi pre terapije

Tabela 28: Korelacija krvarenja na provokaciju (KNP) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika FMD pre terapije

KNP-pre	r	p
8-OHDG	0,332	0,291
MDA	0,089	0,784
GPX	0,006	0,986
SOD	0,126	0,697
TAS	0,039	0,871

gde je KNP krvarenje na provokaciju, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHDG -8hidroksi2deoksi-guanozin, MDA - malondialdehid, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

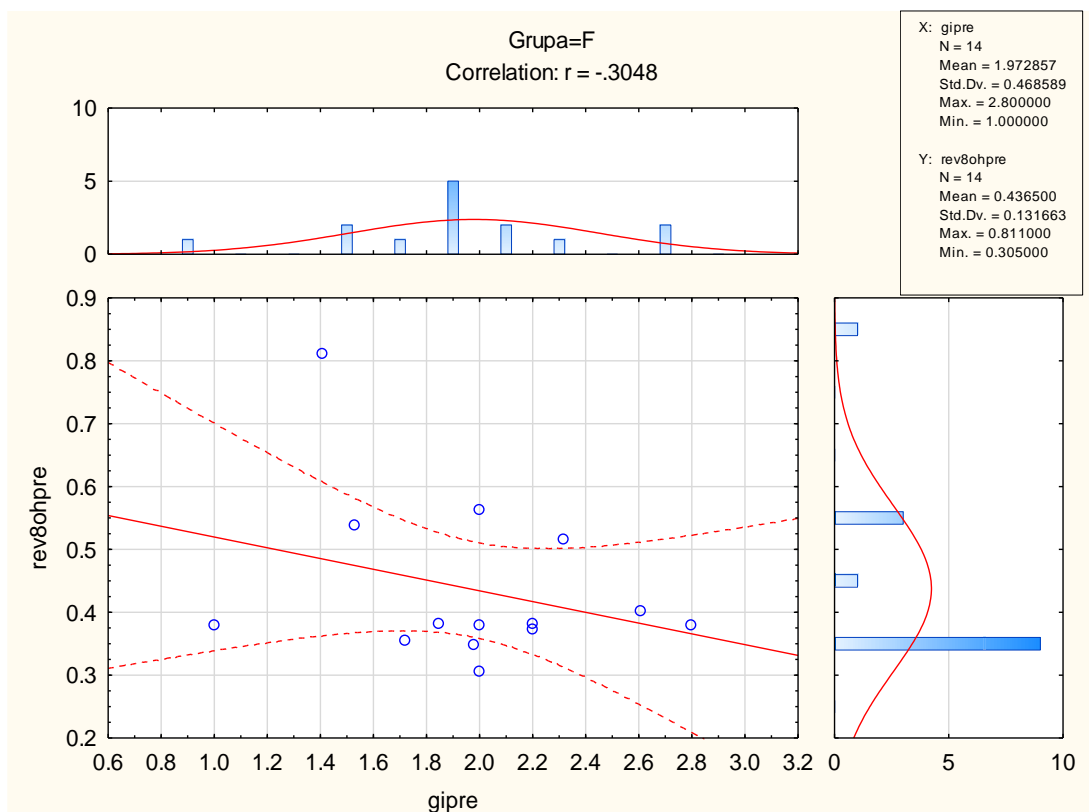
Određivanjem korelacija između krvarenja na provokaciju i biohemijskih parametara pljuvačke pacijenata FMD grupe pre terapije nisu ustanovljene značajne zavisnosti.

Tabela 29: Korelacija gingivalnog indeksa (GI) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika KKT grupe pre terapije

GI-pre	r	p
8-OHdG	-0,728**	0,099
MDA	0,129	0,661
GPX	0,078	0,791
SOD	0,125	0,670
TAS	0,037	0,097

gde je GI gingivalni indeks, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHdG -8hidroksideoksiganizin, MDA - malondialdehid, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

Ustanovljeno je da postoji pozitivna korelacija vrednosti gingivalnog indeksa i koncentracije 8OHdG u pljuvački ispitanika KKT grupe pre terapije. Ostali biohemijski parametri pljuvačke nisu bili u korelaciji sa gingivalnim indeksom u KKT grupi pre sprovedene terapije.



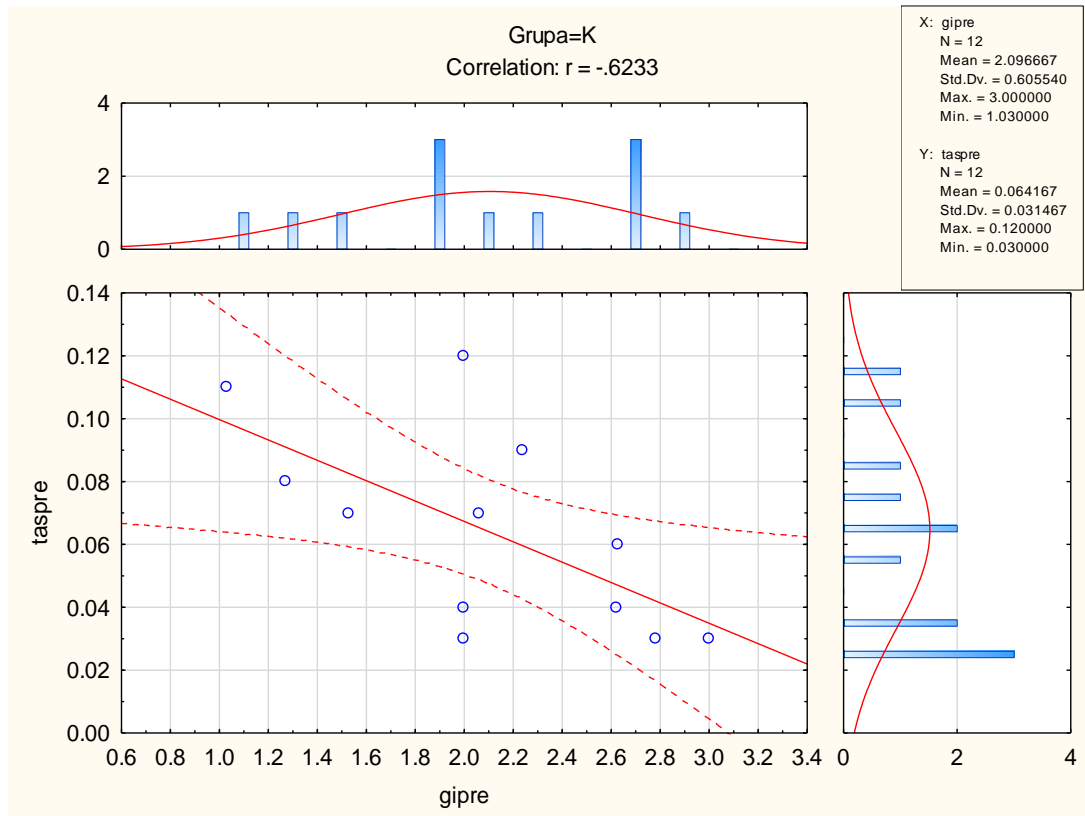
Grafik 2: Korelacija gingivalnog indeksa i koncentracije 8hidroksideoksiguanozina KKT grupe pre terapije

Tabela 30: Korelacija gingivalnog indeksa (GI) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika FMD grupe pre terapije

GI-pre	r	p
8-OHdG	0,062	0,849
MDA	0,035	0,914
GPX	0,185	0,562
SOD	0,281	0,375
TAS	-0,623*	0,030

gde je GI gingivalni indeks, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHdG -8hidroksideoksiguanozin, MDA malondialdehid, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

Ustanovljeno je da postoji pozitivna korelacija vrednosti gingivalnog indeksa i ukupnog antioksidativnog kapaciteta pljuvačke ispitanika FMD grupe pre terapije. Ostali biohemijski parametri pljuvačke nisu bili u korelaciji sa gingivalnim indeksom u FMD grupi pre sprovedene terapije.



Grafik 3: Korelacija gingivalnog indeksa i ukupnog antioksidativnog statusa pljuvačke ispitanika FMD grupe pre terapije

Tabela 31: Korelacija dubine sondiranja (DS) i biohemijjskih parametara pljuvačke ispitanika KKT pre terapije

DS-pre	r	p
8-OHdG	0,256	0,377
MDA	0,093	0,751
GPX	0,114	0,697
SOD	0,134	0,647
TAS	0,328	0,252

gde je DS dubina sondiranja, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHdG 8hidroksideoksiguanozin, MDA - malondialdehid, ALP alkalna fosfataza, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

Rezultati studije ukazuju da dubina sondiranja nije bila u korelaciji sa biohemijjskim parametrima pljuvačke u KKT grupi.

Tabela 32: Korelacija dubine sondiranja (DS) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika FMD pre terapije

DS-pre	r	p
8-OHdG	0,009	0,978
MDA	0,235	0,463
GPX	0,124	0,700
SOD	0,262	0,410
TAS	0,033	0,918

gde je DS dubina sondiranja, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHdG -8hidroksideoksiguanozin, MDA-malondialdehid, ALP alkalna fosfataza, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

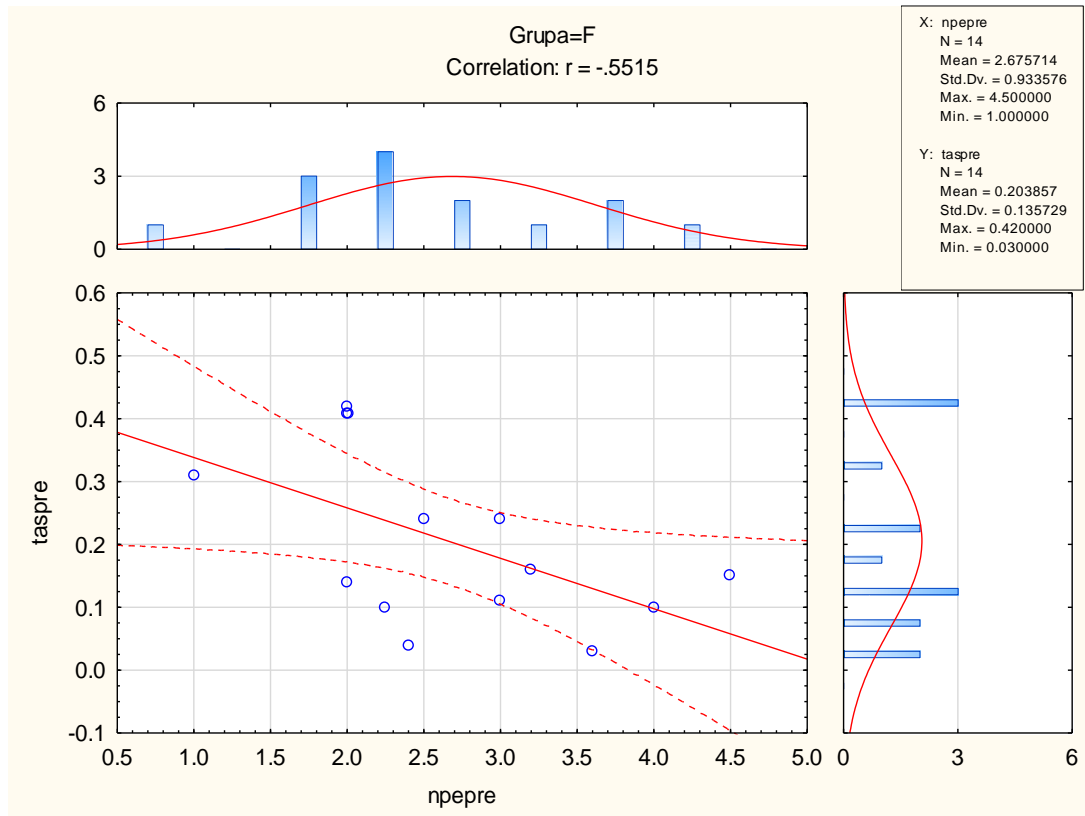
Rezultati studije ukazuju da dubina sondiranja nije bila u korelaciji sa biohemijskim parametrima pljuvačke u FMD grupi.

Tabela 33: Korelacija nivoa pripojnog epitela (NPE) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika KKT pre terapije

NPE-pre	r	p
8-OHdG	0,165	0,574
MDA	0,307	0,285
GPX	0,260	0,368
SOD	0,297	0,302
TAS	-0,551*	0,041

gde je NPE nivo pripojnog epitela, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHdG- 8hidroksideoksiguanozin, MDA-malondialdehid, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

U ovom ispitivanju uočeno je da postoji pozitivna korelacija između vrednosti nivoa pripojnog epitela i ukupnog antioksidativnog kapaciteta pljuvačke ispitanika KKT grupe pre sprovedene terapije. Ostali biohemijski parametri pljuvačke nisu bili u korelaciji sa novom pripojnog epitela kod pacijenata KKT grupe pre terapije.



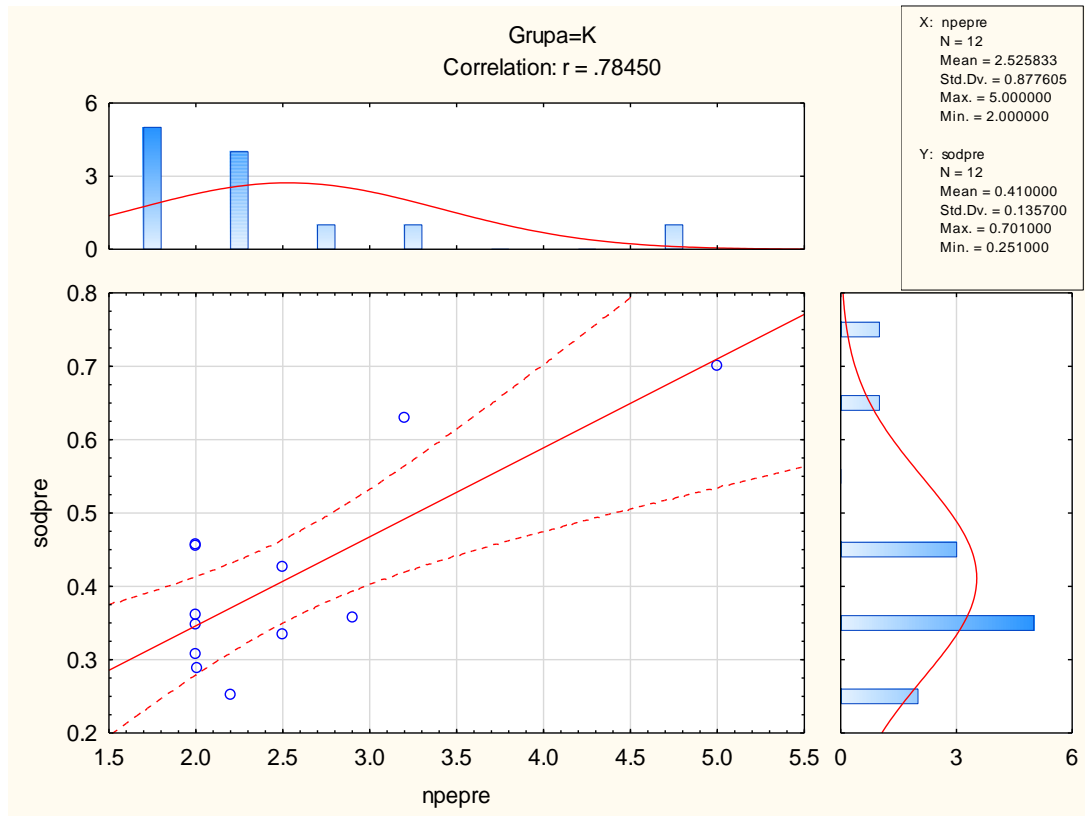
Grafik 4: Korelacija nivoa pripojnog epitela i ukupnog antioksidativnog statusa pljuvačke ispitanika KKT grupe

Tabela 34: Korelacija nivoa pripojnog epitela (NPE) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika FMD pre terapije

NPE-pre	r	p
8-OHdG	0,166	0,607
MDA	0,555	0,061
GPX	0,275	0,387
SOD	0,784**	0,003
TAS	0,450	0,142

gde je NPE nivo pripojnog epitela, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHdG -8hidroksideoksiguanozin, MDA-malondialdehid, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

Ustanovljeno je da postoji pozitivna korelacija vrednosti nivoa pripojnog epitela i aktivnosti superoksid-dismutaze u pljuvački ispitanika FMD grupe pre terapije. Ostali biohemijski parametri pljuvačke i nivo pripojnog epitela u FMD grupi pre sprovedene terapije nisu bili u međusobnoj linearnij zavisnosti.



Grafik 5: Korelacija nivoa pripojnog epitela i aktivnosti superoksidismutaza u pljuvački ispitanika FMD grupe pre terapije

Tabela 35: Korelacija plak indeksa (PI) i biohemijskih parametara pljuvačke KKT posle terapije

PI-posle	r	p
8-OHdG	0,405	0,151
MDA	0,254	0,381
GPX	0,093	0,753
SOD	0,118	0,687
TAS	0,099	0,737

gde je PI plak indeks, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHdG -8hidroksideoksiguanozin, MDA - malondialdehid, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

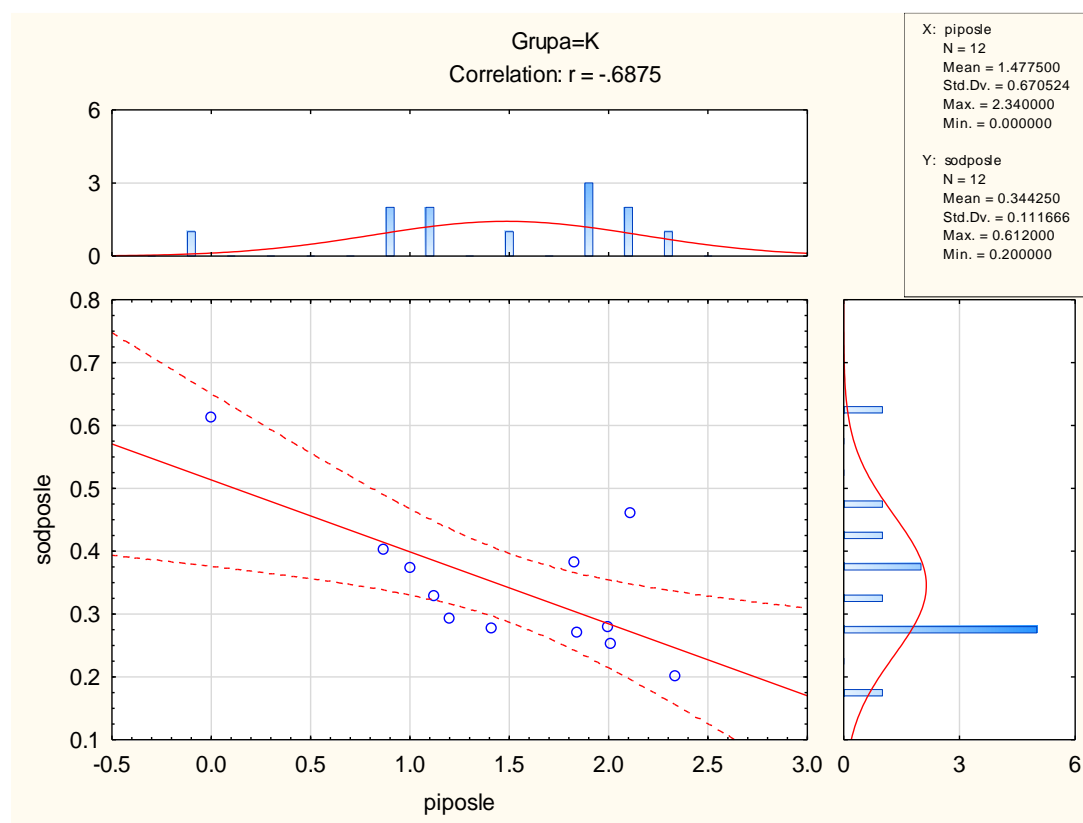
Kako prikazuje tabela 35, plak indeks nije bio u korelaciji sa biohemjskim parametrima pljuvačke ispitanika KKT grupe posle sprovedene terapije.

Tabela 36: Korelacija plak indeksa (PI) i biohemijskih parametara pljuvačke FMD posle terapije

PI-posle	r	p
8-OHdG	0,027	0,933
MDA	0,202	0,515
GPX	0,069	0,832
SOD	-0,688*	0,013
TAS	0,12	0,709

gde je PI plak indeks, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHdG -8hidroksideoksiguanozin, MDA-malondialdehid, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

Ustanovljeno je da postoji negativna korelacija plak indeksa i aktivnosti superoksid-dismutaze u pljuvački ispitanika FMD grupe posle terapije. Ostali biohemijski parametri pljuvačke i vrednost plak indeksa u FMD grupi pre sprovedene terapije nisu bili u korelaciji.



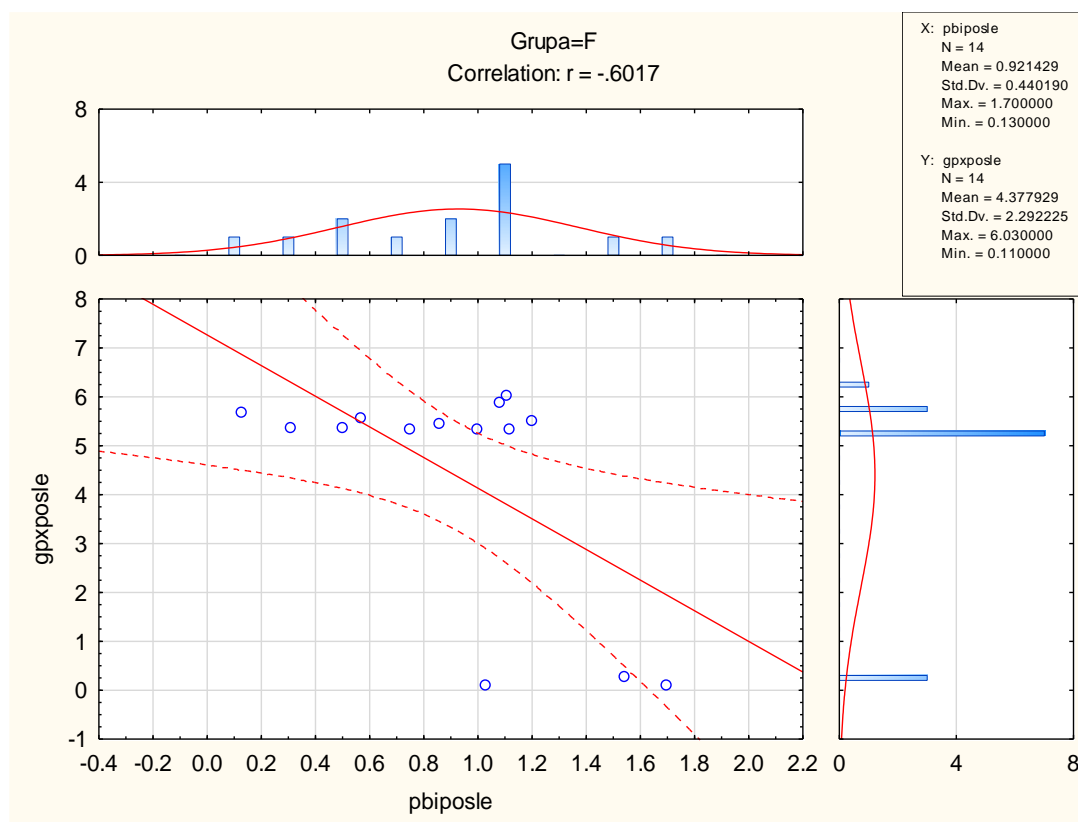
Grafik 6: Korelacija plak indeksa i aktivnosti superoksid-dismutaze u pljuvački ispitanika FMD grupe posle terapije

Tabela 37: Korelacija krvarenje na provokaciju (KNP) i biohemijskih parametara pljuvačke KKT grupe posle terapije

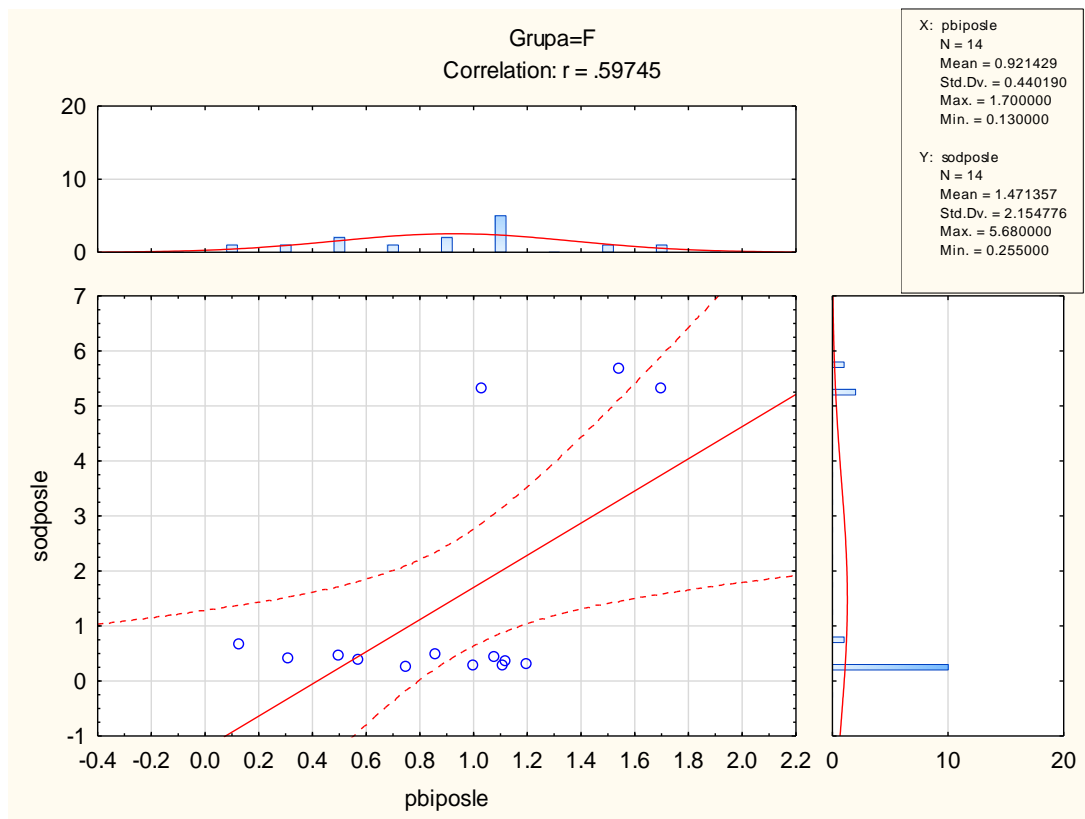
KNP-posle	r	p
8-OHdG	0,345	0,227
MDA	0,343	0,229
GPX	-0,602*	0,023
SOD	0,597*	0,021
TAS	0,068	0,818

gde je KNP indeks krvarenja gingive, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHdG -8hidroksideoksiguanozin, MDA - malondialdehid, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

Statistička analiza ukazuje da postoji pozitivna korelacija krvarenja na provokaciju i aktivnosti superoksid-dismutaze i negativna korelacija krvarenja na provokaciju i aktivnosti glutacion-peroksidaze u pljuvački ispitanika KKT grupe posle sprovedene terapije. Ostali biohemijski parametri nisu bili u korelaciji sa krvarenjem na provokaciju kod ispitanika KKT grupe po završenoj terapiji.



Grafik 7: Korelacija indeksa krvarenja na provokaciju i aktivnosti glutacionperoksidaze u pljuvački pacijenata KKT grupe posle terapije



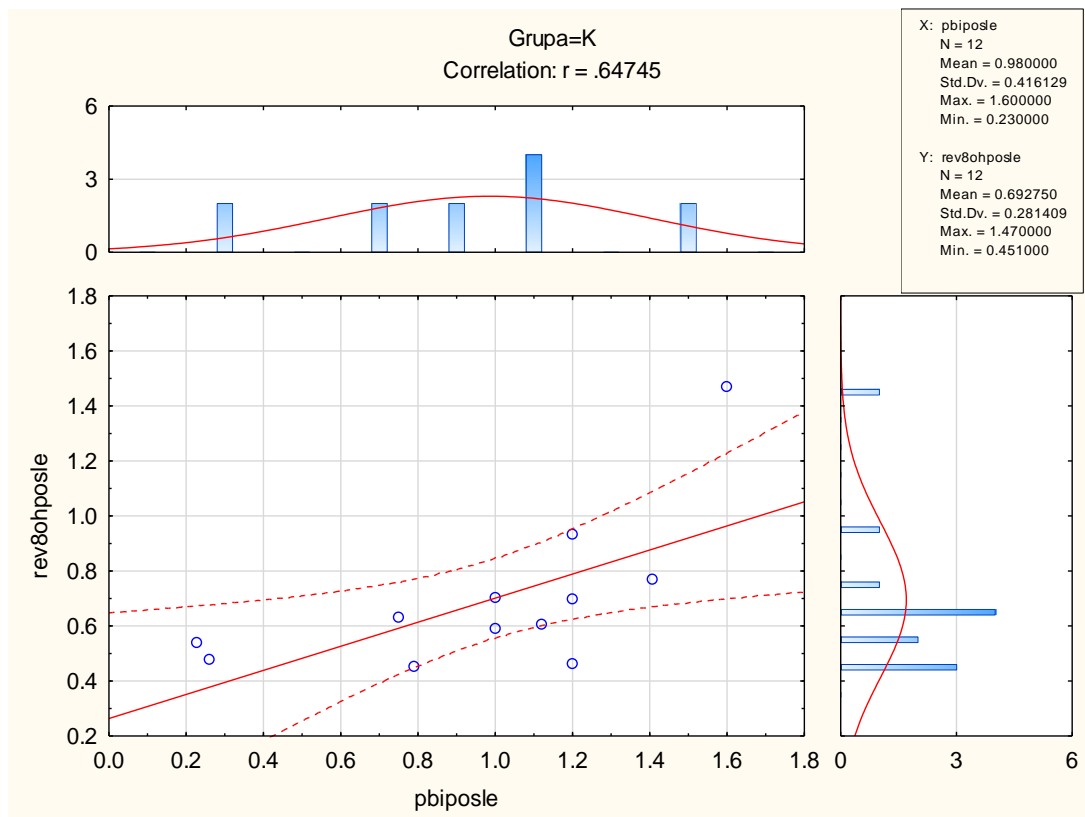
Grafik 8: Korelacija indeksa krvarenja na provokaciju i aktivnosti superoksidismutaze u pljuvački pacijenata KKT grupe posle terapije

Tabela 38: Korelacija krvarenje na provokaciju (KNP) i biohemijskih parametara pljuvačke FMD grupe posle terapije

KNP-posle	r	p
8-OHdG	0,647*	0,023
MDA	0,310	0,326
GPX	0,177	0,583
SOD	0,293	0,355
TAS	0,093	0,766

gde je KNP indeks krvarenja gingive, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHdG -8hidroksideoksiguanozin, MDA-malondialdehid, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

Ustanovljeno je da postoji pozitivna korelacija vrednosti krvarenja na provokaciju i koncentracije 8OHdG u pljuvački ispitanika FMD grupe posle terapije. Ostali biohemijski parametri pljuvačke nisu bili u korelaciji sa indeksom krvarenja na provokaciju u FMD grupi posle sprovedene terapije.



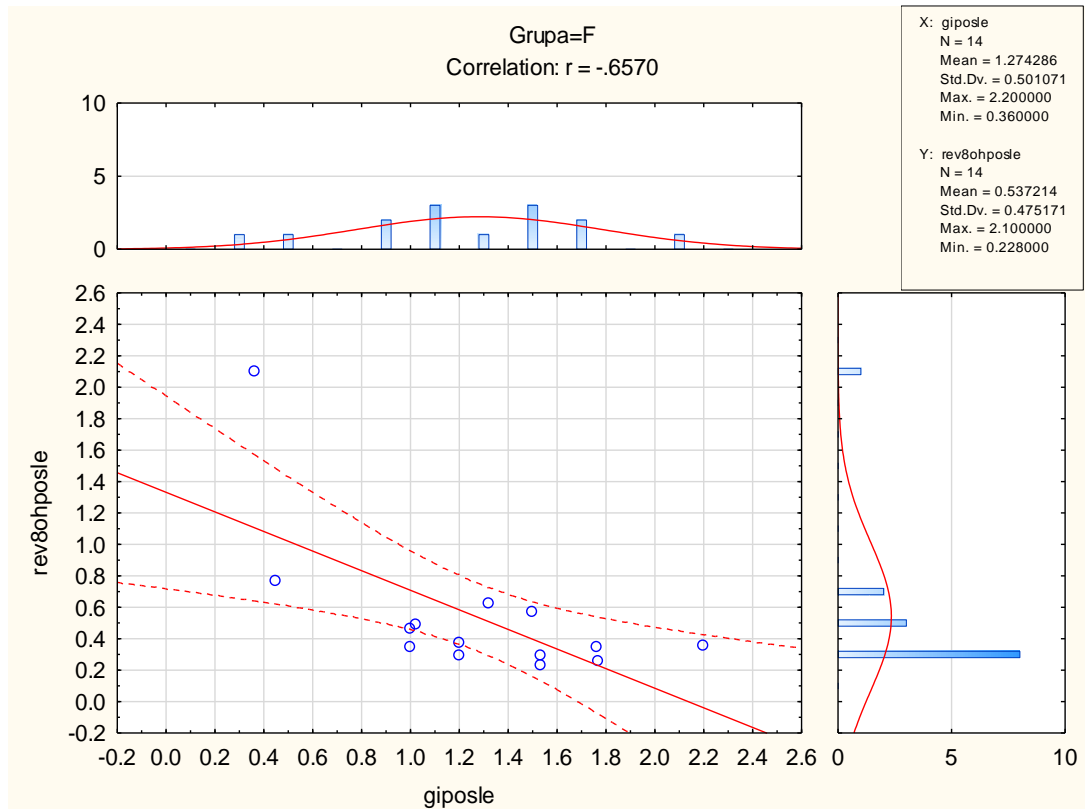
Grafik 9: Korelacija indeksa krvarenja na provokaciju i koncentracije 8hidroksideoksiguanozina u pljvački pacijenata FMD grupe posle terapije

Tabela 39: Korelacija gingivalnog indeksa (GI) i biohemijskih parametara pljuvačke KKT grupe posle terapije

GI-posle	r	p
8-OHdG	-0,697*	0,011
MDA	0,062	0,834
GPX	0,008	0,979
SOD	0,165	0,973
TAS	0,015	0,958

gde je GI gingivalni indeks, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHdG 8hidroksideoksiguanozin, MDA-malondialdehid, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

Ustanovljeno je da postoji pozitivna korelacija vrednosti gingivalnog indeksa i koncentracije 8OHdG u pljvački ispitanika KKT grupe posle sprovedene terapije. Ostali biohemijski parametri pljuvačke nisu bili u korelaciji sa gingivalnim indeksom u KKT grupi posle sprovedene terapije.



Grafik 10: Korelacija gingivalnog indeksa i koncentracije 8hidroksideoksiguanozina u pljuvački pacijenata KkT grupe posle terapije

Tabela 40: Korelacija gingivalnog indeksa (GI) i biohemijskih parametara pljuvačke FMD grupe posle terapije

GI-posle	r	p
8-OHdG	0,327	0,299
MDA	0,124	0,702
GPX	0,231	0,47
SOD	0,36	0,25
TAS	0,293	0,356

gde je GI gingivalni indeks, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHdG -8hidroksideoksiguanozin, MDA - malondialdehid, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

Gingivalni indeks nije bio u korelaciji sa biohemijskim parametrima pljuvačke ispitanika posle sprovedene terapije parodontopatije u FMD grupi.

Tabela 41: Korelacija dubine sondiranja (DS) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika KKT grupe posle terapije

DS -posle	r	p
8-OHdG	0,11	0,709
MDA	0,209	0,471
GPX	0,299	0,3
SOD	0,246	0,397
TAS	0,339	0,235

gde je DS dubina sondiranja, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHdG -8hidroksideoksiguanozin, MDA - malondialdehid, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

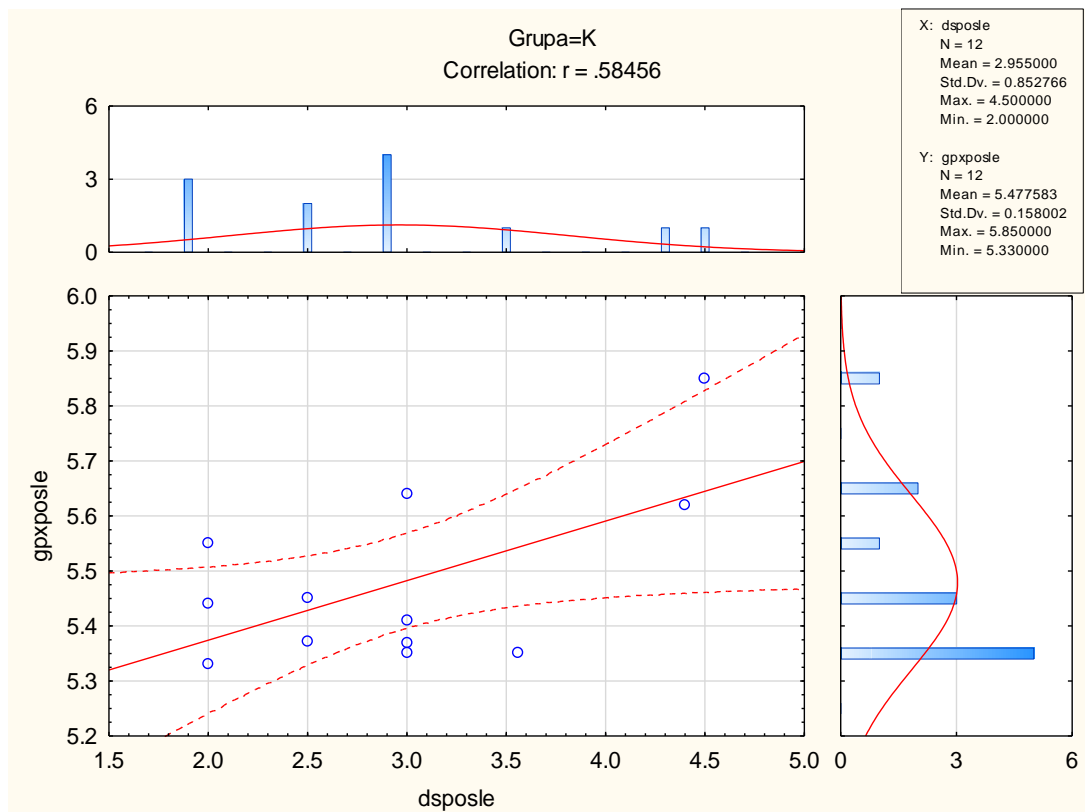
Nije ustanovljena korelacija dubine sondiranja i biohemijskih parametara pljuvačke pacijenata KKT grupe posle terapije.

Tabela 42: Korelacija dubine sondiranja (DS) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika FMD grupe posle terapije

DS -posle	r	p
8-OHdG	0,236	0,46
MDA	0,018	0,955
GPX	0,585*	0,046
SOD	0,219	0,495
TAS	0,198	0,538

gde je DS dubina sondiranja, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHdG -8hidroksideoksiguanozin, MDA - malondialdehid, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

Ustanovljeno je da postoji pozitivna korelacija dubine sondiranja i aktivnosti glutation-peroksidaze u pljuvački ispitanika FMD grupe posle terapije. Ostali biohemijski parametri pljuvačke i dubina sondiranja u FMD grupi pre sprovedene terapije nisu bili u korelaciji.



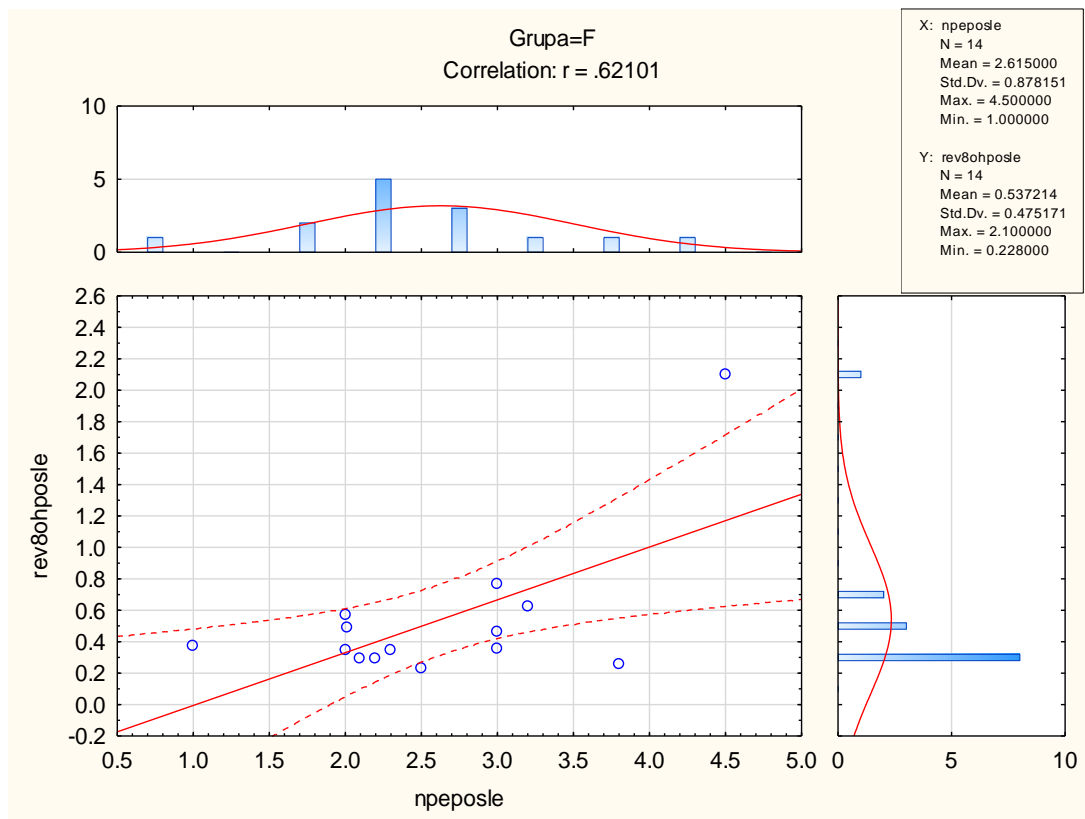
Grafik 11: Korelacija dubine sondiranja i aktivnosti glutathionperoksidaze u pljuvački pacijenata FMD grupe posle terapije

Tabela 43: Korelacija nivoa pripojnog epitela (NPE) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika KKT grupe posle terapije

NPE-posle	r	p
8-OHdG	0,621*	0,018
MDA	0,477	0,085
GPX	0,31	0,281
SOD	0,315	0,273
TAS	0,106	0,719

gde je NPE nivo pripojnog epitela, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHdG -8hidroksideoksiguanozin, MDA - malondialdehid, ALP alkalna fosfataza, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

Ustanovljeno je da postoji pozitivna korelacija vrednosti nivoa pripojnog epitela i koncentracije 8OHdG u pljuvački ispitanika KKT grupe posle sprovedene terapije. Ostali biohemijski parametri pljuvačke i nivo pripojnog epitela nisu bili korelaciji kod ispitanika KKT grupe posle sprovedene terapije.



Grafik 12: Korelacija nivoa pripojnog epitela i koncentracije 8hidroksideoksiguanozina u pljuvački pacijenata KKT grupe posle terapije

Tabela 44: Korelacija nivoa pripojnog epitela (NPE) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika FMD grupe posle terapije

NPE-posle	r	p
8-OHdG	0,216	0,499
MDA	0,121	0,708
GPX	0,338	0,282
SOD	0,067	0,837
TAS	0,031	0,921

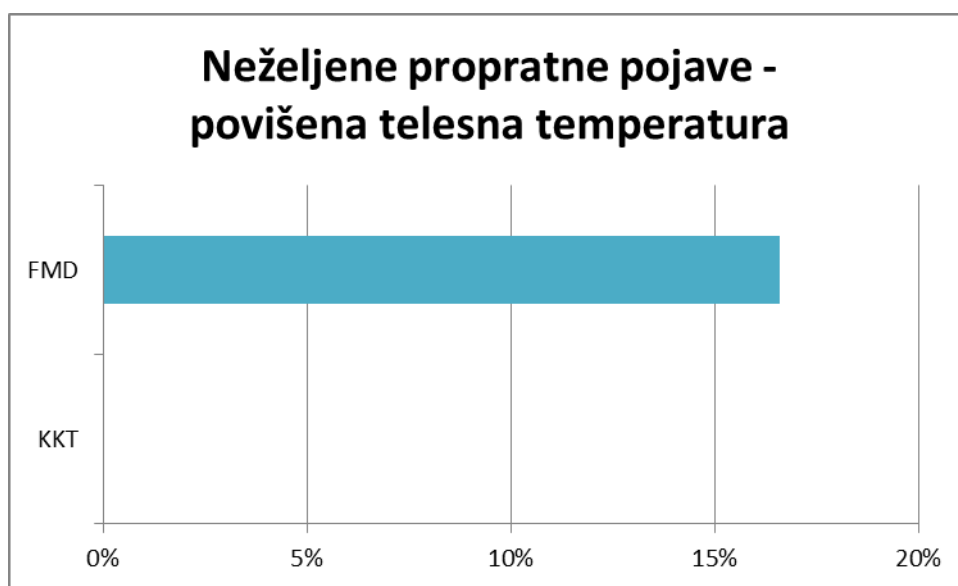
gde je NPE nivo pripojnog epitela, r koeficijent korelacije, p nivo značajnosti, 8-OHdG -8hidroksideoksiguanozin, MDA - malondialdehid, ALP alkalna fosfataza, GPX glutation peroksidaza, SOD superoksid dismutaza, a TAS ukupni antioksidativni status

Nivo pripojnog epitela nije korelirao sa biohemijskim parametrima pljuvačke pacijenata FMD grupe posle terapije.

Neželjene propratne pojave

Od mogućih neželjenih propratnih pojava terapijskih modaliteta ispitivanih u ovom istraživanju praćeni su: opšti znaci toksoinfekcije koji se najčešće manifestuju povišenom telesnom temperaturom (povišena telesna temperatura-**ptt**), poremećaj osećaja ukusa- **pou**, pojavu parestezije- **parest**, povratni herpes (herpes recurens- **hr**), uvećanje parotidne pljuvačne žlezde- **uppz**, prebojenost tuba i oralne sluzokože- **pzis**.

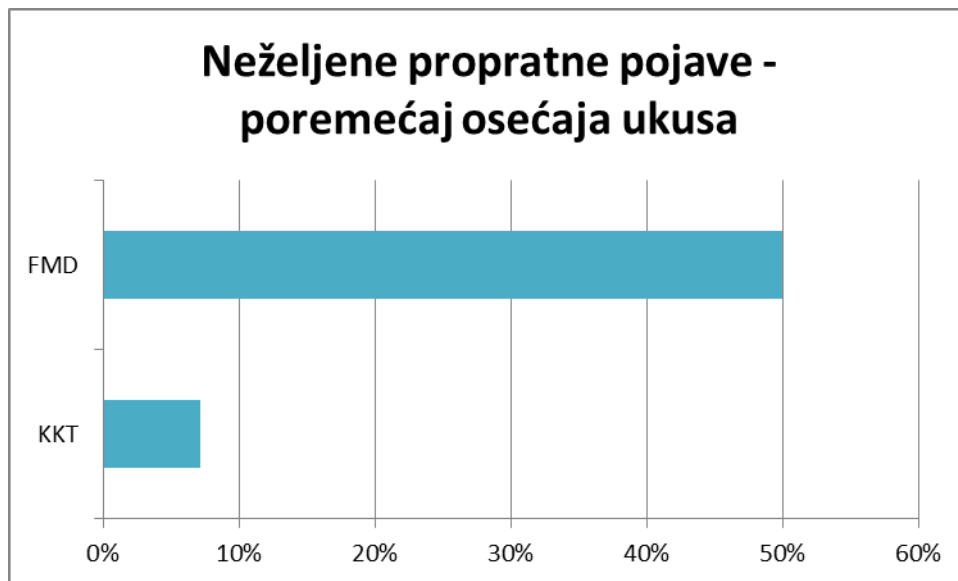
1. Povišena telesna temperatura zabeležena je kod 4 pacijenta FMD grupe (16,6%). Ispitanici iz KKT grupe nisu imali povišenu telesnu temperaturu. Uočena je statistički značajna razlika između grupa u pogledu pojave povišene telesne temperature po sprovedenoj terapiji ($p=0.001$). Rizik za pojavu ovog neželjenog efekta terapije u FMD grupi je 3,5 puta veći u poređenju sa KKT grupom.



Grafik 13: Neželjene propratne pojave terapije - povišena telesna temperatura

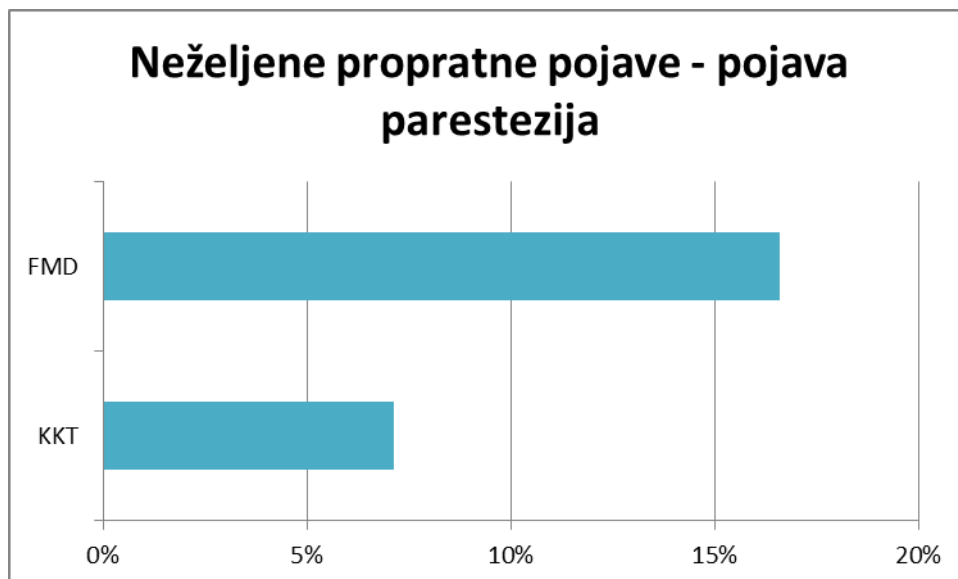
2. Poremećaj osećaja ukusa zabeležen je kod 12 ispitanika FMD grupe što predstavlja polovinu ispitanika ove grupe, i samo kod 2 ispitanika KKT grupe (7,4%). Postoji statistički značajna razlika između grupa u pogledu pojave ovog neželjenog efekta terapije ($p= 0.001$). Rizik za

pojavu poremećaja osećaja ukusa kao neželjenog efekta terapije veći je u FMD grupi 3.5 puta nego u KKT grupi.



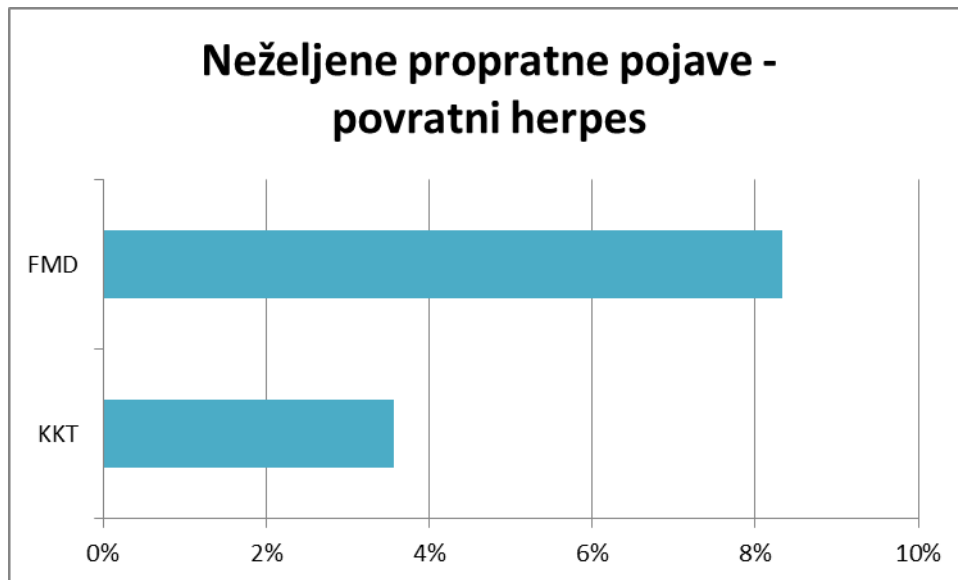
Grafik 14: Neželjene propratne pojave terapije - poremećaj osećaja ukusa

3. Pojava parestezija zabeležena je kod 4 ispitanika FMD grupe (16.6%) i kod samo jednog ispitanika KKT grupe (7,14%). Nije nađena statistički značajne razlika u pojavi parestezija između ispitanika FMD i KKT grupe ($p=0,07$). (grafik xx).



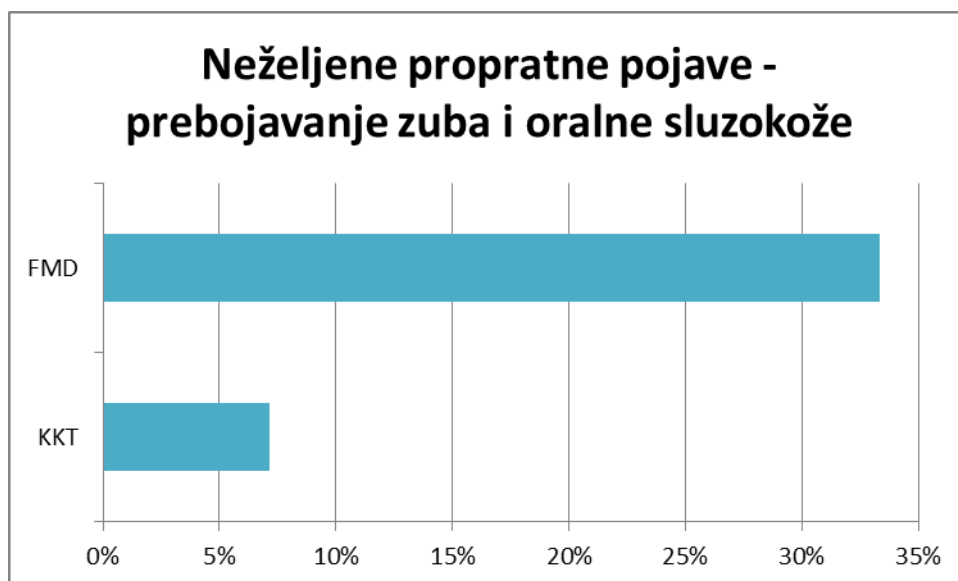
Grafik 15: Neželjene propratne pojave terapije – pojava parestezije

4. Pojava povratnog herpesa zabeležena je kod 2 ispitanika FMD grupe (8,33%) i kod jednog ispitanija KKT grupe (3,57%). Nisu nađene statistički značajne razlike za pojavu ove infekcije posle terapije između dve grupe ispitanika u našoj studiji ($p=0.207$).



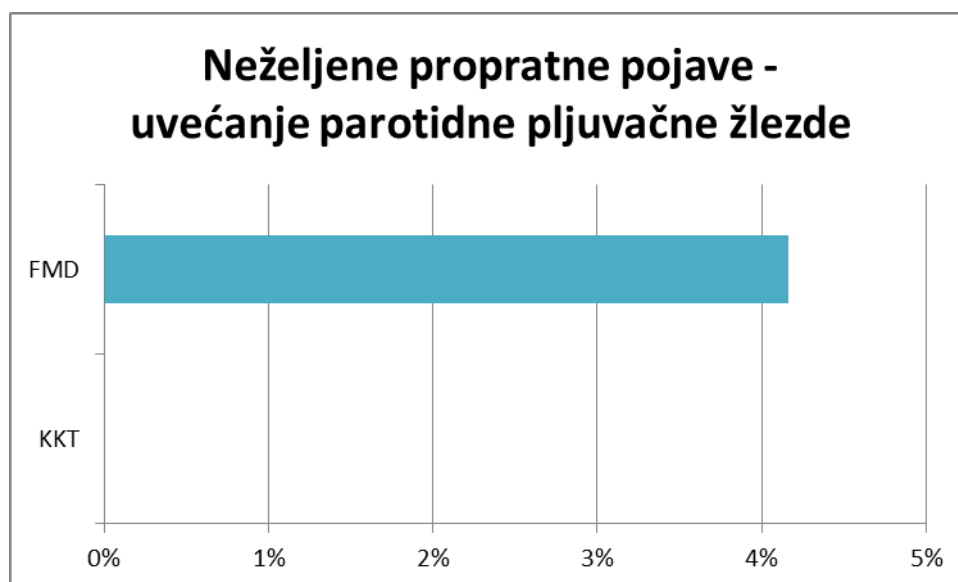
Grafik 16: Neželjene propratne pojave terapije – herpes recurens

5. Prebojavanje zuba i oralne sluzokože zabeleženo je kod 8 ispitanika FMD grupe (33,33%) i kod samo 2 ispitanika KKT grupe (7,14%). Postoji statistički značajna razlika za pojavu ove neželjene propratne pojave između ispitivanih grupa ($p=0.008$). Ispitanici FMD grupe imaju preko 2 put veći rizik za pojavu prebojenosti usta i oralne sluzokože.



Grafik 17: Neželjene propratne pojave terapije – prebojenost zuba i oralne sluzokože

6. Uvećanje parotidne pljuvačne žlezde primećeni je kod jednog ispitanika FMD grupe (4,16%) i ni kod jednog ispitanika KKT grupe. Nije nađena statistički značajna razlika za ovu neželjenu propratnu pojavu između ispitivanih grupa ($p=0.207$).



Grafik 18: Neželjene propratne pojave terapije- uvećanje parotidne pljuvačne žlezde

V. DISKUSIJA

Veliki deo celokupne svetske populacije (preko 90%) boluje od nekog oboljenja potpornog aparata zuba, najčešće inflamatornih. Za nastanak i tok parodontopatije ključni faktor je biofilm i odgovor domaćina na njegovo prisustvo. Zbog toga što ne mali broj osoba raznih starosnih dobi ima uznapredovali oblik parodontopatije sa značajnim gubitkom nivoa alveolarne kosti pa i samih zuba, lečenje ovog oboljenja i saniranje njegovih posledica predstavlja važan socioekonomski problem. (Yonema i sar. 1988.; Papapanou i sar. 1988.; Jenkins i Kinane 1989.; Loe i sar. 1986.)

Iako su bakterije i njihovi produkti osnovni etiološki agensi, njihovo delovanje predstavlja samo deo procesa nastanka pomenutih oboljenja. Drugi deo, način na koji odbrambeni sistem domaćina reaguje na bakterije i njihove produkte, izgleda ima primarnu ulogu u nastanku destruktivnih procesa koji se javljaju u toku parodontopatije.

Zapaljenski i imunološki procesi u parodontijumu deluju kao zaštita protiv lokalnog napada mikroorganizama. Oni sprečavaju širenje mikroorganizama u okolna tkiva. U nekim slučajevima zapaljenje može da ošteti susedne ćelije i strukture vezivnog tkiva, što odbrambene reakcije čini štetnim. U toku inflamatornih procesa, zapaljenske ćelije i imunske reakcije, šireći se dublje u vezivno tkivo ispod dna parodontalnog džepa, mogu da zahvate i alveolarnu kost. Tako „odbrambeni“ procesi mogu, na paradoksalan način, da budu odgovorni za većinu oštećenja tkiva kod gingivita i parodontopatije.

Savremeno shvatanje nastanka mnogih oboljenja bazira se pored ostalog i na štetnom dejstvu tzv. slobodnih radikala. Slobodni radikali reaguju sa lipidima (nezasićene masne kiseline i fosfolipidi membrana), proteinima (enzimi, receptori, strukturni proteini), nukleinskim kiselinama, izazivajući strukturne i funkcionalne promene ovih biomolekula. Oštećenje biomolekula remeti funkciju ćelije, jonsku homeostazu i aktivnost ključnih enzima metabolizma. Pored toga, slobodni radikali učestvuju u pokretanju *lipidne peroksidacije* na ćelijskim membranama (oksidacija nezasićenih masnih kiselina), koja se završava oštećenjem funkcije i strukture ćelijske membrane. Lipidna peroksidacija predstavlja oksidativnu degradaciju lipida. U toj reakciji slobodni radikali preuzimaju elektrone od molekula lipida (najčešće su to lipidi ćelijskih membrana) pri čemu nastaju lipidni peroksidi. Lipidnom

peroksidacijom nastaju reaktivni aldehidi kao što su malondialdehid (MDA) i 4-hidroksi-nonenal (4-HNE). Određivanjem ovih reaktivnih aldehida se najčešće kvantifikuje oksidativni stres koji je odgovoran za nastanak i razvoj raznih patoloških stanja. (Draper 1990, Ayala i sar. 2014.)

Oksidativno oštećenje genetskog materijala (lanca DNK) nastaje kao posledica dejstva faktora okoline, kao što je npr. jonizujuće zračenje. Oksidativno oštećenje DNK može nastati i kao odgovor organizma na fiziološke ali i patofiziološke procese. Oštećenje DNK najčešće nastaje dejstvom slobodnih kiseoničnih i azotnih radikala. U ovim reakcijama dolazi do stvaranja 8hidroksideoksiguanozina (8OHdG). (Cook i sar. 2003.)

Povišene vrednosti ovog biomarkera su asocirane sa procesima starenja organizma ali takođe i sa nekim patološkim procesima (karcinom, dijabetes melitus, degenerativna oboljenja). (Cook i sar. 2003.) Mnoge studije dokazuju promene nivoa 8OHdG kod pacijenata sa inflamatornim procesima u parodontijumu. (Tothova Lj i sar. 2015.)

Antioksidativna zaštita organizma podrazumeva enzimsku antioksidativnu zaštitu i ne-enzimsku antioksidativnu zaštitu. Enzimi koji neutrališu slobodne radikale čine "prvu liniju" antioksidativne zaštite i to su: *superoksid-dizmutaza, glutation-peroksidaza, katalaza*.

Uloga slobodnih radikala u nastanku oboljenja oralne sredine nije još uvek u potpunosti rasvetljena, iako se u poslednje vreme sve veći značaj daje oksidativnom stresu u njihovoj patogenezi, posebno kada su u pitanju parodontopatija i oralni karcinom (T. Todorović i sar. 2006. god; Mandić B. i sar. 2002. god; Doroshov JH i sar. 1990. god.). Parodontopatija je izazvana dejstvom mikroorganizama dentalnog plaka. Polimorfonuklearni leukociti, indukovani patogenima, karakterišu se povećanom potrošnjom kiseonika i u njima se dešava prava "respiratorna eksplozija" (*respiratory burst*) tj. povećana je produkcija slobodnih radikala (superoksid anjon, vodonik peroksid, hidroksilni radikal i dr.). Oslobođeni radikali, oksidativnim mehanizmom narušavaju strukturu bakterijske ćelijske membrane i na ovaj način "ubijaju" bakterije. Međutim, tokom ove odbrambene reakcije, a posebno u uslovima hiperprodukcije radikala, može doći i do oksidativne modifikacije različitih biomolekula domaćina i oštećenja ćelija oralnih tkiva, kao neka vrsta "kolateralne štete". Ispitivanjem ovih mehanizama se bave mnoga savremena istraživanja. (Tonetti MS i sar. 2005.)

Pljuvačka je sekret pljuvačnih žlezda značajan u održavanju oralne homeostaze, odnosno, održavanju integriteta mekih i čvrstih tkiva oralne sredine. Kako je u stalnom kontaktu sa oralnim tkivima, precizno reflektuje sva zbivanja u njima, kako fiziološka, tako i patološka, pa je autori nazivaju „ogledalom oralnog zdravlja“. Zbog toga, ovaj sekret predstavlja pogodnu dijagnostičku tečnost u kojoj se mogu analizirati brojni markeri oboljenja oralnih tkiva. Od posebnog značaja je antioksidativna uloga pljuvačke u cilju neutralisanja slobodnih radikala i umanjenja oksidativnog oštećenja ćelija parodontalnih tkiva, što ovaj sekret realizuje prisustvom enzimskih i ne-enzimskih antioksidanasa.

U savremenoj nauci se koristi nekoliko metoda za prikupljanje pljuvačke. Za analize može da se koristi mešovita nestimulisana, mešovita stimulisana, kao i pljuvačka iz pojedinih velikih pljuvačnih žlezda. Stimulacija lučenja pljuvačke se najčešće izvodi žvakanjem parafinskog voska, mada može i npr. limunskom kiselinom ili nekom sličnom materijom. Za analizu nivoa antioksidanasa u pljuvački većina autora koristi mešovitu nestimulisanu pljuvačku jer se ona pored produkta sekrecije pljuvačnih žlezda sastoji i od gingivalne tečnosti, tkivnih metabolita, imunih ćelija, itd. (Navazesh 1993., Kaufman & Lamster 2000.). Stimulacija, kako je potvrđeno može da smanji udeo gingivalne tečnosti u mešovitoj pljuvački što izaziva i pad koncentracije antioksidanasa. (Chapple 1997.). Neki autori su našli da postoje razlike u vrednostima koncentracija antioksidanasa u stimulisanoj i nestimulisanoj pljuvački, ali te razlike nisu bile statistički značajne (Brock GR i sar. 2004.). Za prikupljanje pljuvačke od ispitanika u ovoj studiji smo koristili salivete (SALIVETE® - SARSTEDT Germany), koje su postavljene u podjezični prostor pacijenta tokom jednog minuta. Time je dobojena mešovita nestimulisana pljuvačka.

Sprovedena su brojna istraživanja koja nam govore o povezanosti koncentracije MDA, kao neprikosnovenog pokazatelja lipidne peroksidacije, i inflamatornih oboljenja u parodontijumu (Chanacki i sar. 2009.). Veliki broj autora nalazi promene markera oštećenja DNK (8OHdG) u pljuvački pacijenata obolelih od parodontopatije u odnosu na osobe sa klinički zdravim parodontijumom.(Banasova L. i sar. 2015.)Antioksidansi, koji neutrališu štetno dejstvo slobodnih radikala štite integritet tkiva. Mnogim studijama je dokazano da poremećaj odnosa slobodnih radikala i antioksidanasa igra važnu ulogu u patogenezi inflamatornih oboljenja oralnih tkiva (Chapple 1997., Battino i sar.1999.). Većina autora poredi nivo

antioksidanasa u pljuvački obolelih od hronične paradontopatije, kao najzastupljenijeg oralnog inflamatornog oboljenja, i kod ljudi sa klinički zdravim parodontcijumom (Henskens YM i sar. 2004., Akalin FA i sar. 2007. god, Brock 2004., itd.). Sve više su zastupljena i istraživanja koja porede promenu nivoa antioksidanasa u pljuvački obolelih od hronične paradontopatije pre i posle sprovedene terapije ovog oboljenja (Jentsch H. i sar. 2004., Tsai CC i sar. 2005. Novaković i sar. 2014.)

Materijal i metode

U našu studiju su bila uključena 52 pacijenta obolelih od hronične paradontopatije, koje smo po principu slučajnih brojeva podelili u dve grupe-grupu pacijenata kod kojih je kauzalna terapija paradontopatije sprovedena klasičnom višeseansnom metodom (KKT grupa) i grupu pacijenata kod kojih kauzalna terapija paradontopatije vršena po metodi dezinfekcije celih usta (eng. full mouth disinfection- FMD grupa). Grupe su bile statistički homogene u pogledu godina starosti, pola i stručne spreme. Nismo našli statistički značajne razlike ispitivanih parametara u odnosu na godine starosti i pol ispitanika.

U našem istraživanju 35,7% ispitanika KKT grupe su pušači, naspram 58,3% pušača u FMD grupi. Takođe su nađene razlike u vrednostima većine parametara kod pušača i nepušača ali u našem istraživanju ove razlike nisu imale statističku značajnost. Studija koja se bavi uticajem pušenja na oksidativni stres i antioksidativni status nalazi razlike pogotovo u antioksidativnom kapacitetu kod pušača i nepušača ali su same promene ispitivanih parametara pre i posle terapije nezavisne od toga da li je pacijent pušač ili ne. (Akpınar A. 2013.)

Demografski podaci koji su uzimani u obzir, kao što je stručna sprema pokazuju rezultate slične kao u nekim predhodnom istraživanjima (Chapple 2006.). Osobe sa višim obrazovanjem imaju veću svest o očuvanju sopstvenog zdravlja, pa stoga i bolji nivo oralne higijene i samim tim i manje inflamacije u parodontcijumu.

Stanje parodontcijuma ispitanika uključenih u ovo istraživanje je evaluirano pomoću sledećih indeksa i parametara: plak indeks po Silnes- Lou (Silness- Löe), indeks krvarenja na provokciju, gingivalni indeks po Lou- Silnesu (Löe-Silness), dubina sondiranja parodontalnih džepova i nivo pripojnog epitela. Posle sprovedene terapije kod svih pacijenata došlo je do statistički značajnog smanjenja većine merenih kliničkih parametara stanja parodontcijuma kod obe grupe pacijenata. Ovakvo

stanje je bilo očekivano posle smanjenja intenziteta inflamacije usled uspešno sprovedene terapije.

Mnoga istraživanja koja su pratila rezultate konzervativog i hirurškog lečenja parodontopatij kroz duži vremenski period nalaze da u velikom procentu slučajeva nema značajnijih razlika između navedenih pristupa terapiji. (Lindhe J. i sar. 1984.) Grupa autora ne nalazi značajne razlike u poređenju razlike u poređenju kauzalne terapije, i režanj operacije izvedene standardnom i modifikovanom Vindmanovom metodom. (Becker W. i sar, 2001.) Cobb u zaključku svog rada iz 2002. godine preporučuje poređenje rezultata terapije parodontopatije FMD metodom sa rezultatima kauzalne terapije rađene tradicionalnim pristupom i rezultatima hirurške terapije ovog oboljenja. (Cobb CM, 2002.)

Poređenjem promena kliničkih parametara između dva ispitivana modaliteta kauzalne terapije u našem istraživanju dobili smo značajno veće smanjenje plak indeksa, gingivalnog indeksa i indeksa krvarenja na provokaciju kod pacijenata FMD grupe što je za očekivati zbog obilnog tretiranja antiseptičnim sredstvom a samim tim manje akumulacije plaka. Veoma slične rezultate dobili su Quiryneen i sar. 2000.god. U navedenoj studiji autori govore i o većem smanjenju dubine sondiranja kod grupe pacijenata koja je tretirana FMD u poređenju sa grupom kod koje je kauzalna terapija parodontopatije radna uobičajenom višeseansnom metodom. (Quiryneen i sar. 2000 god.). Naše istraživanje pokazuje smanjenje dubine sondiranja kod obe grupe ispitanika, ali ne nalazi značajnu razliku između grupa.

Za razliku od ovih kliničkih parametara nivo pripojnog epitela se više smanjio u KKT grupi samo što navedene peomene nisu bile statistički značajne.

I sami autori metode FMD u studijama koje su sprovodili '90.-tih godina prošlog veka dobijaju različite rezultate u zavisnosti od dužine kontrolnog perioda. Najveća razlika u rezultatima između FMD terapije i višeseansnog pristupa po ovim studijama uočava se mesec dana po sprovedenoj terapiji. Posle tri meseca reazlike u smanjenju dubine sondiranja se smanjuju. (Quiryneen i sar.1998, Bollen i sar 1996.). Ovi autori su pratili rezultate terapije i na mikrobiološkom nivou i pokazali da dolazi do značajnijeg smanjenja broja mikroorganizama kod FMD metode pogotovo kada se posmatrau kraćem vremenskom razdoblju posle terapije (mesec dana), dok se razlika u smanjenju broja mikroorganizama smanjuje na tromesečnoj kontroli.

Druga grupa autora ne nalazi statistički značajne razlike u pogledu promene dubine sondiranja i nivoa pripojnog epitela između ova dva modaliteta kauzalne terapije parodontopatije (Koshy i sar. 2004, Lang NP i sar 2008.).

8-hidroksideoksiguanozin (8OHdG)

Oksidativno oštećenje DNK nastaje dejstvom slobodnih kiseoničnih ili azotnih radikala na nukleozide. Od četiri nukleobaze najpodložniji oksidativnom oštećenju je guanin tj. nukleozid koji ga sadrži- hidroksiguanozin. Najčešći dolazi do hidroksilacije C8 u imidazolovom prstenu i nastaje 8hidroksideoksiguanozin . (Cadet J i sar. 2010.) Ovo jedinjenje biva eksportovano iz ćelija i može se naći u plazmi/serumu, urinu, pljuvački, itd. (Poulsen 2002.) 8OHdG je biomarker koji se najčešće koristi za dokazivanje oksidativnog oštećenja DNK. (Evans i sar. 2004.) Dokazano je da su promene ovog biomarkera povezane ne samo sa procesima starenja već i sa mnogim patološkim procesima, uključujući i inflamatorne. Brojne studije pokazuju promene koncentracije 8OHdG kod osoba sa inflamatornim procesima u parodontijumu.

Istraživanje koje su sproveli Takane i sar. i koje je obuhvatilo 78 pacijenata obolelih od hronične parodontopatije i 17 ispitanika sa klinički zdravim parodontijumom pokazuje značajno više nivoe 8OHdG u pljuvački obolelih osoba. Isto istraživanje pokazuje i da je došlo do statistički značajnog smanjenja koncentracija 8OHdG u pljuvački obolelih od hronične parodontopatije po sprovedenoj konzervativnoj terapiji.(Takane M i sar. 2002.)

Naše istraživanje pokazuje smanjenje koncentracije 8OHdG posle sprovedene terapije ali ovo smanjenje nije statistički značajno. Takođe su uočene i korelacije 8OHdG i krvarenja na provokaciju. Postojanje korelacija gingivalnog indeksa i nivoa 8OHdG u pljuvački i pre i posle terapije ukazuje da ovaj biohemijski parametar može biti pokazatelj intenziteta inflamacije u parodontijumu.

Neke studije nalaze postojanje korelacije između koncentracija 8 OHdG u pljuvački i prisustva bakterije *Porphyromonas gingivalis* tj. oštećenja mitohondrijalne DNK koje izaziva navedeni mikroorganizam. (Canacki i sar 2009.) Ovo je još jedan faktor koji bi mogao da ukaže na povezanost nivoa 8OHdG u pljuvački i stanja parodontijuma.

Rajeev i sar. upoređivanjem nivoa 8OHdG kod 30 pacijenata obolelih od hronične parodontopatije i kod 30 osoba sa klinički zdravim parodontcijumom do dobili značajno povišene vrednosti ispitivanog markera oksidativnog stresa kod obolelih. Posle sprovedene kauzalne terapije došlo je do smanjenja nivoa 8OHdG u pljuvački ispitanika. (Rajeev i sar. 2015.)

Nedavno je u Južnoj Koreji sprovedeno ispitivanje na preko 200 osoba sa prisutnim kliničkim pokazateljima oboljenja potpornog aparata zuba sa ciljem da se ustanovi povezanost kliničkih pokazatelja stanja parodontcijuma i nivoa 8OHdG u pljuvački ispitanika. Nađene su statistički značajne korelacije između pokazatelja stanja parodontcijuma i nivoa 8OHdG. Takođe autori nalaze i značajne korelacije između pokazatelja stanja parodontcijuma i koncentracija 8 OHdG sa lošim navikama kakve su pušenje i konzumacija alkohola. (Shin i sar. 2016.) Studija koje se bavi uticajem konzervativne terapije parodontopatije na oksidativni status u gingivalnoj tečnosti kod pušača nalazi da terapija ne utiče značajno na promenu oksidativnog statusa gingivalne tečnosti. (Toker H i sar. 2012.)

U našem istraživanju nismo našli korelacije štetne navike pušenja i nivoa 8OHdG u pljuvački. Ovo se moglo objasniti malim procentom pušača u našem istraživanju.

U studiji iz 2005. godine koja je obuhvatila pacijente u terminalnom stadijumu parodontopatije i one u stadijumu pune kliničke slike, nivo 8 OHdG u pljuvački je bio značajno veći u prvoj grupi ispitanika. Ovakav nalaz govori u prilog pretpostavci da su značajno razorena tkiva parodontcijuma glavni izvor 8OHdG u pljuvački. (Takane i sar. 2005.)

U našem istraživanju nije došlo do značajnog smanjenja nivoa 8OHdG u pljuvački što se može objasniti time što je ovo istraživanje obuhvatilo samo pacijente sa punom kliničkom slikom parodontopatije.

Studija koja je kliničko stanje parodontcijuma evaluirala pomoću CPITN indeksa i obuhvatila 58 obolelih od parodontopatije i 234 osobe sa klinički zdravim parodontcijumom ispitivala je i biomarkere oksidativnog oštećenja DNK, lipida i proteina u pljuvački. Rezultati navedene studije pokazuju značajno veći nivo 8OHdG u pljuvački osoba koje imaju neki oblik oboljenja potpornog aparata zuba. (Su i sar. 2009.)

Ispitivanjem povezanosti pokazatelja oksidativnog stresa u pljuvački (MDA i 8OHdG) i biohemijskih parametara gubitka alveolarne kosti (C terminal telopeptide

type I collagen- CTX1, matrix metalloproteinase 8- MM8, osteocalcin, 25hydroxy vitamin D3- 25-OHD) ustanovljene su pozitivne korelacije ispitivanih parametara. U istom istraživanju ustanovljeno je postojanje jasne povezanosti markera oksidativnog stresa i kliničkih pokazatelja stanja parodontijuma.(Miricescu i sar. 2014.)

Istraživanje koje poredi ukupni oksidativni status u gingivalnoj tečnosti ali i plazmi pre i posle sprovedene konzervativne terapije parodontopatije nalazi značajno smanjenje ukupnog oksidativnog statusa pljuvačke nakon terapije u obe ispitivane telesne tečnosti. U skladu sa ovim nalazom u okviru iste studije je dobijeno i značajno niže vrednosti ukupnog oksidativnog statusa pljuvačke kod osoba sa klinički zdravim parodontijumom u odnosu na obolele od parodontopatije. (Akpınar i sar. 2013.)

Malon-dialdehid - MDA

Malon-dialdehid (MDA) je bioproizvod lipidne peroksidacije čije se određivanje danas generalno koristi kao pokazatelj ovog procesa. Lipidna peroksidacija predstavlja oksidativnu degradaciju lipida. U toj reakciji slobodni radikali preuzimaju elektrone od molekula lipida (najčešće su to lipidi ćelijskih membrana) pri čemu nastaju lipidni peroksidi. Lipidnom peroksidacijom nastaju reaktivni aldehidi kao što su MDA i 4-hidroksi-nonenal (4-HNE).

Pored velikog broja komercijalnih reagenasa i standardizovanih načina za određivanje koncentracije MDA u pljuvački najčešće je korišten metod koji je ustanovio Yagi. U testu po navedenom autoru, MDA iz uzorka reaguje sa tiobarbiturnom kiselinom (TBA) pri čemu nastaje kompleks MDA-TBA koji apsorbuje svetlost talsne dužine 532 nm. Step en apsorpcije svetlosti je direktno proporcionalan koncentraciji MDA. (Yagi i sar. 1976.) Obzirom da je ovo najviše primenjivana metoda i mi smo je koristili u ovom istraživanju.

Određivanje koncentracije MDA kod pacijenata sa inflamatornim promenama u parodontijumu je predmet mnogih naučnih istraživanja.

Studija koja je poredila nivo MDA u pljuvački i serumu kod 35 pacijenata obolelih od agresivne parodontopatije, 33 pacijenta obolela od hronične parodontopatije i 30 osoba sa klinički zdravim parodontijumom nalazi: statistički značajno viši nivo MDA kod osoba obolelih od obe forme parodontopatoje u odnosu na parodontološki zdrave osobe. Takođe je nivo MDA u pljuvački viši kod osoba

obolelih od agresivne parodontopatije. Nivo MDA u serumu nije pokazao statistički značajne razlike između poređenih grupa. (Baltacıoğlu E i sar. 2014.)

Kod 48 osoba obolelih od hronične parodontopatije i 35 osoba sa klinički zdravim parodontcijumom merem je nivo MDA u serumu pljuvački i gingivalnoj tečnosti. Nivo MDA je bio statistički značajno viši u gingivalnoj tečnosti pacijenata obolelih od parodontopatije u odnosu na kontrolnu grupu parodontološki zdravih osoba. Posle sprovedene kauzalne terapije MDA je značajno opao samo u gingivalnoj tečnosti.

U pljuvački i serumu promene MDA nisu bile statistički značajne.

Ista studija nalazi zavisnost između koncentracije MDA i svih ispitivanih pokazatelja stanja parodontcijuma samo u gingivalnoj tečnosti, u pljuvački delimično a u serumu nisu nađene takve povezanosti. (Wei D i sar. 2010.)

Studija koja je takođe proučavala koncentracija MDA u serumu, pljuvački i gingivalnoj tečnosti osoba obolelih od parodontopatije i osoba sa klinički zdravim parodontcijumom nalazi statistički značajno veći nivo MDA u pljuvački i gingivalnoj tečnosti obolelih u odnosu na zdrave osobe. U serumu nisu nađene statistički značajne razlike što ukazuje na to da pokazatelji lipidne peroksidacije značajno rastu lokalno u blizini samog mesta oštećenja. (Akalin i sar. 2007.) Navrđeno istraživanje takođe navodi veoma značajne korelacije nivoa MDA i kliničkih pokazatelja stanja parodontcijuma.

U već pomenutom istraživanju Akalin ističe povezanost težine kliničke slike parodontopatije i nivoa MDA.

Naše istraživanje nalazi korelaciju krvarenja na provolaciju i koncentracije MDA u pljuvački kod obolelih od hronične parodontopatije. Ovo je u skladu sa nalazima iz drugih istraživanja i moglo bi da se objasni činjenicom da lipidna peroksidacija dovodi do oštećenja zidova malih krvnih sudova u gingivi i periodoncijumu.

Koncentracija MDA u pljuvački naših ispitanika lečenih metodom FMD je značajno porasla što bi moglo da se objasni naglim, masivnim razlaganjem zida bakterijskih ćelija i oslobađanjem njihovog sadržaja.

Khallili i sar. nivo lipidne peroksidacije povezuju sa težinom kliničke slike obolelih od hronične parodontopatije. Istraživanje koje je obuhvatilo 104 pacijenta obolelih od parodontopatije podeljenih u tri grupe po težini kliničke slike (laka, umerena i teška forma) i 30 osoba sa klinički zdravim parodontcijumom pokazuje

statistički značajno povećan nivo MDA u pljuvački kod obolelih osoba. Ovo istraživanje pokazuje i pozitivnu korelaciju težine kliničke slike i koncentracija salivarnog MDA. (Khalili i sar. 2008.)

Israživanje koje je obuhvatilo 20 pacijenata obolelih od hronične parodontopatije i 20 osoba sa klinički zdravim parodontcijumom meri nivoa markera oksidativnog stresa (8OHdG i MDA) i antioksidanasa (albumin i GPx) i totalni antioksidativni status pljuvačke i upoređuje ih sa biohemijskim pokazateljima gubitka alveolarne kosti (C terminal telopeptide type I collagen- CTX1, matrix metalloproteinase 8- MM8, osteocalcin, 25hidroxy vitamin D3- 25-OHD) . Nađene su značajno više vrednosti nivoa MDA kod osoba sa parodontopatijom nego kod zdravih. Nađena je i statistički značajna korelacija MDA i markera gubitka alveolarne kosti (C-terminal telopeptide of type I collagen) (Miricescu 2014.)

Guentsch i sar. u svom radu iz 2008. godine nalaze niže koncentracije MDA u pljuvački nepušača nego pušača, kao i osoba sa zdravim parodontcijumom u odnosu na obolele od parodontopatij. Isto istraživanje nalazi i značajno nizi nivo GPx kod pušača nego kod nepušača, kao i kod osoba sa oboljenjem parodontcijuma u odnosu na zdrave. Autori ukazuju da disbalans između oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite može imati ulogu u patogenezi parodontopatije. (Guentsch i sar. 2008.)

Rezultati predhodno navedenih istraživanja ukazuju da se MDA kao indikator lipidne peroksidacije može koristiti i kao biohemijski pokazatelj stanja parodontcijuma.

Glutation peroksidaza- GPx

Enzimski antioksidativna zaštita je prvi vid odbrane od dejstva slobodnih radikala. Najznačajniji enzimi uključeni u antioksidativnu zaštitu su: *superoksid-dismutaza, glutation-peroksidaza, katalaza*.

Glutation peroksidaza (GSH peroksidaza - GPx) je po strukturi tetramer, pri čemu svaka subjedinicu sadrži po jedan atom Se. Selen u glutacion peroksidazi ima osobine slične sumporu. (Gutterage and Halliwell, 1994.) Ovaj enzim ima primarnu ulogu u neutralisanju vodonik peroksida i sprečavanju H₂O₂-zavisnog stvaranja slobodnih radikala. Glutation peroksidaza koristi redukovani glutacion (GSH) kao davaoca redukujućih ekvivalenata, pri čemu se formiraju oksidovani glutacion (GSSG) i voda. Ova reakcija vrlo uspešno uklanja H₂O₂. (Gutterage and Halliwell,

1994. R and B Calderon 1995.) Efikasnost ove reakcije zavisi od dostupnosti intraćelijskog glutaciona i prateće sposobnosti ćelija da redukuje oksidovani glutation (GSSG) pomoću NADPH-zavisne glutation reduktaze. Štaviše, tokom detoksikacije u ćelijama sisara, uz citohrom P450, mnogi lekovi i/ili toksini bi mogli da se vežu za glutation (pomoću glutation transferaze) i da se dobiju manje štetni produkti. (Gutterage and Halliwell, 1994.) GSH i GPx su moćni antioksidansi i premda je dokazano njihovo prisustvo u pljuvački postoji malo podataka u literaturi o njihovoj aktivnosti kod obolelih od hronične parodontopatije.

Studija koja je obuhvatila 30 ispitanika obolelih od hronične parodontopatije i 30 osoba sa klinički zdravim parodontcijumom pokazuje da je aktivnost GPx u pljuvački veća kod osoba obolelih od parodontopatije. Aktivnost GPx posle sprovedene kauzalne terapije parodontopatije dolazi na vrednosti slične onima kod osoba sa zdravim parodontcijumom. (Guentsch A. i saradnici 2008.)

Do sličnih rezultata su došli Tsai i sar. u studiji koja je obuhvatila 13 pacijenata sa parodontopatijom i 9 osoba sa klinički zdravim parodontcijumom nađeno je da je aktivnost GPx u pljuvački veća kod obolelih nego kod osoba kontrolne grupe, ali ova razlika nije bila statistički značajna. Posle sprovedene kauzalne terapije, u istom istraživanju, došlo je do statistički značajnog povećanja aktivnosti GPx-a u odnosu na stanje pre terapije (Tsai cc i sar., 2005.)

I neke druge studije pokazuju povećanje aktivnosti GPx u pljuvački kod obolelih od hronične parodontopatije u odnosu na osobe sa klinički zdravim parodontcijumom (I. Borges, 2007.; D. Concaldev, 2005.; itd.) Autori navedenih studija objašnjavaju ovu pojavu kompenzatornim antioksidativnim mehanizmom koji nastaje kao odgovor na povećanje organskih peroksida pod dejstvom slobodnih radikala na tkivo parodontcijuma.

Canacki V. i sar., 2007. su sprovedeli istraživanje na trudnicama sa oboljenjem parodontcijuma. Nađena je značajno niža aktivnost GPx-a u serumu i gingivalnoj tečnosti kod pacijentkinja sa hroničnom parodontopatijom u odnosu na one sa klinički zdravim parodontcijumom. Aktivnost GPx-a u pljuvački je bila niža kod pacijentkinja sa parodontopatijom, ali bez statističke značajnosti.

Istraživanje koje je obuhvatilo 20 pacijenata obolelih od hronične parodontopatije i 20 osoba sa klinički zdravim parodontcijumom meri nivoe markera oksidativnog stresa (8OHdG i MDA) i antioksidanasa (albumin i GPx) i totalni antioksidativni status pljuvačke i upoređuje ih sa biohemijskim pokazateljima gubitka

alveolarne kosti (C terminal telopeptide type I collagen- CTX1, matrix metalloproteinase 8- MM8, osteocalcin, 25hidroxy vitamin D3- 25-OHD). Nađene su značajno niže vrednosti nivoa GPx kod osoba sa parodontopatijom nego kod zdravih. (Miricescu 2014.)

U okviru dva svoja istraživanja Y. P. Ho i sar. su ispitivali aktivnost GPx u pljuvačk osobam sa klinički zdravim parodontcijumom i osoba obolelih od hronične parodontopatije kao i osoba obolelih od hronične parodontopatije pre i posle sprovedene kauzalne terapije ovog oboljenja. Nisu nađene promene u aktivnosti GPx u pljuvački ni kod jedne od ispitvanih grupa. Iste studije nalaze smanjenu aktivnost GPx u gingivalnoj tečnosti osoba obolelih od parodontopatije u odnosu na one sa klinički zdravim parodontcijumom. Takođe je nađeno da dolazi do statistički značajnog povećanja aktivnosti GPx u gingivalnoj tečnosti posle sprovedene kauzalne terapije parodontcijuma. (Y. P. Ho i sar., 2004. i 2005.)

Do interesantnih rezultata došli su Novaković i sar. koji nalaze povećanu aktivnost GPx kod osoba obolelih od hronične parodontopatije u odnosu na one sa klinički zdravim parodontcijumom. Posle sprovedene kauzalne terapije parodontopatije došlo je do statistički značajnog povećanja aktivnosti GPx-a. (Novaković 2014.)

U toku egzacerbacije inflamatornih procesa u pardoncijumu udeo gingivalne tečnosti u mešovitoj pljuvački značajno raste. Ispitanici eksperimentalne grupe pomenutom istraživanju Novaković i sar. su imali hroničnu parodontopatiju u stanju egzacerbacije. Kauzalna terapija je dovela do značajnog smanjenja inflamacije parodontcijuma što se vidi iz promene kliničkih parametara, pa to može da objasni naglo povećanje aktivnosti GPx u kod obolelih od parodontopatije posle sprovedene terapije. U prilog ovakvim rezultatima idu i studije koje su istraživale aktivnost GPx u pljuvački osoba čije opšte zdravstveno stanje uslovljava veću mogućnost inflamacije u paodoncijumu (terapija epilepsije, trudnoća) i koje nalaze povećanje aktivnosti GPx u pljuvački posle sprovedene kauzalne terapije parodontopatije. (Canacki V. i sar., 2007.; Sobaniles H. i saradnici, 2007.)

Postoji prilična šarolikost rezultata u istraživanjima koje ispituju aktivnost GPx-a u pljuvački i njenu ulogu u nastanku parodontopatije. Istraživanja koja su ispitivala aktivnost GPx i u pljuvački i u gingivalnoj tečnosti nalaze veću promenu aktivnosti GPx u gingivalnoj tečnosti. (Canacki V. i sar., 2007.; Y. P. Ho i sar., 2004. i 2005.)

U našen istraživanju našli smo veću aktivnost GPx pre sprovedene terapije parodontopatije. Nakon sprovedene kauzalne terapije došlo je do smanjenja aktivnosti ovog enzima. To je u skladu sa predhodnim nalazima većine autora.

Takođe u našoj studiji promena aktivnosti enzimskih antioksidanasa pljuvačke je značajnija u FMD grupi ispitanika kod kojih postoji i značajnije poboljšanje kliničkog stanja parodonticijuma u smislu smirivanja inflamacije što se ogleda u vrednostima ispitivanih pokazatelja stanja parodonticijuma (plak indeks i gingivalni indeks i indeks krvarenja na provokaciju). Pronašli smo i korelacije aktivnosti GPx sa dubineom sondiranja i krvarenjem na provokaciju kao kliničkim pokazateljima stanja parodonticijuma. Ovi nalazi još više potkrepljuju povezanost aktivnosti GPx i inflamacije parodontalnih tkiva.

Sve navedeno ukazuje na važnost GPx kao enzimskog antioksidansa u pljuvački i njenu povezanost sa nivoom inflamacije u parodonticijumu.

Superoksid dismutaza- SOD

Superoksid dismutaza (SOD) katalizuje reakciju dizmutacije O_2^- u vodonik peroksid. Kod prokariotskih organizama prisutne su SOD koje sadrže Fe^{2+} i Mn^{2+} . Eukariotski organizmi sadrže tri izoforme SOD, i to su: citozolni dimer Cu, Zn-SOD i tetramer Mn-SOD koja je lokalizovana u mitohondrijama i ekstracelularna SOD koja se nalazi u međucelijskom prostoru ekstracelularnoj tečnosti (plazma, limfa, sinovijalna tečnost, likvor, ascitna). Svi tipovi SOD ubrzavaju pomenutu reakciju i do 10.000 puta. Pošto SOD ubrzava stvaranje H_2O_2 , ona mora da deluje sa enzimima poput GPx koji uklanjaju H_2O_2 . Ovo je neophodno, jer akumulacija materija sa OH grupom je potencijalno štetnija od materija sa O_2^- (Gutterage and Halliwell, 1994.) Obzirom da je SOD jedan od najznačajnijih enzimskih antioksidanasa u pljuvački, mnoga istraživanja se bave njegovom ulogom u patogenezi inflamatornih oboljenja parodonticijuma.

Ćelije i tkiva su u stabilnom stanju, ukoliko su brzina produkcije slobodnih radikala i kapacitet „čišćenja“ u stalnoj ravnoteži. Redoks signali pokazuju da je ova ravnoteža pomerena bilo povećanjem produkcije slobodnih radikala ili smanjenjem aktivnosti jednog ili više antioksidativnih sistema. Patološka stanja nastaju isključivo pri stalno visokim koncentracijama slobodnih radikala. U stanju povećane aktivnosti slobodnih radikala aktiviraju se elementi antioksidativne zaštite. Ukoliko je inicijalno

povećanje slobodnih radikala relativno malo, onda je antioksidativni odgovor dovoljan da ga neutrališe i da povрати ravnotežu. U nekim uslovima produkcija slobodnih radikala može biti mnogo jača i perzistentnija, tako da antioksidativni odgovor nije dovoljan da ih neutrališe i da vrati sistem na prvobitni nivo redoks-homeostaze.

Neenzimski antioksidansi kakvi su albumin, glutation, ceruloplazmin kao i vitamini C i E oduzimaju nesparene elektrone slobodnim radikalima i prelaze u svoje reaktivne forme. Ovako nastaju visokoreaktivna ali manje štetna jedinjenja. U ovim reakcijama albumin i ceruloplazmin vezuju jone Cu i Fe, koji su pak deo aktivnog jezgra superoksid-dismutaze. Ovo „takmičenje“ za navedene jone može objasniti nalaz iz naše studije da dolazi do povećanja aktivnosti SOD posle sprovedene terapije kod obe grupe pacijenata, tj. do povećanja aktivnosti SOD dolazi kada se smanji potrošnja neenzimskih antioksidanasa.

U literaturi nalazimo da neke loše navike i neka fiziološka stanja utiču na aktivnost SOD. R. Agnihotri i sar., 2009. su na 70 pacijenata obolelih od hronične parodontopatije uradili evaluaciju stanja parodontijuma i izmerili aktivnost SOD u pljuvački tih pacijenata. Pokazalo se da je aktivnost SOD niža kod pušača nego kod nepušača. (Agnithotri i sar. 2009.)

U već pomenutom istraživanju koje su sproveli Canacki V. i sar., 2007. na 50 trudnica sa i bez hronične parodontopatije našli su smanjenu aktivnost SOD u serumu i gingivalnoj tečnosti kod pacijentkinja obolelih od parodontopatije. (Canacki i sar. 2007.)

U studiji koja je obuhvatila 32 žene u menopauzi obolele od hronične parodontopatije, 31 osobu obolelu od hronične parodontopatije i 25 osoba sa klinički zdravim parodontijumom. Najveće smanjenje aktivnosti SOD u serumu i gingivalnoj tečnosti nađeno je kod žena u menopauzi obolelih od hronične parodontopatije. (Baltacioglu E., 2006.)

Istraživanja koja su sproveli Ellis SD i sar., 1998. nalaze značajno i progresivno smanjenje aktivnosti SOD sa povećanjem dubine parodontalnih džepova.

Vrlo slični podaci dobijeni su u studiji koja prati pacijente obolele od dijabetesa tip 2 sa hroničnom parodontopatijom. Smanjenu aktivnost SOD u pljuvački imali su pacijenti sa više izraženim znacima zapaljenja parodontijuma. (Akalin i sar., 2008.)

Studija koja se bavila merenjem aktivnosti antioksidativnih enzima u plazmi, eritrocitima i tkivu gingive obolelih od hronične parodontopatije i osoba sa klinički zdravim parodontcijumom nalazi statistički značajno smanjenu aktivnost u svim ispitivanim supstratima kod osoba sa klinički zdravim parodontcijumom. Ista studija nalazi i smanjenu aktivnost GPx u ispitivanim supstratima. GPx bi trebalo da uklanja produkte reakcija koje katalizuje SOD. (K. Panjamurthy i sar., 2005.)

U istraživanju koje je obuhvatilo 48 osoba obolele od hronične parodontopatije i 35 osoba sa klinički zdravim parodontcijumom merena je aktivnost SOD u mešovitoj pljuvački, serumu i gingivalnoj tečnosti. Nađeno je da je aktivnost SOD u sva tri ispitivana supstrata značajno viša kod obolelih od hronične parodontopatije nego kod osoba kontrolne grupe. Takođe se posle sprovedene kauzalne terapije aktivnost SOD u sva tri supstrata značajno smanjila. (Wei D. i sar., 2010.)

U studiji koju su sproveli Novaković i sar. aktivnost SOD u pljuvački pacijenata obolelih od hronične parodontopatije bila je veća nego kod pacijenata kontrolne grupe. Posle sprovedene kauzalne terapije parodontopatije, aktivnost SOD se smanjuje, ali ovo smanjenje nije statistički značajno. (Novaković 2014.)

Parodontalna tkiva pokazuju prisustvo SOD, koja može imati značajnu ulogu u antioksidativnoj zaštiti posebno tokom povećanja O_2^{\cdot} kod inflamatornih procesa. (Jacoby BH i sar., 1991.) Bakterijski lipopolisaharidi stimulišu oslobađanje O_2^{\cdot} iz tkivnih fibroblasta tokom inflamacije. (Skaleric U., 2000.) Povećana aktivnost SOD kod pacijenata obolelih od hronične parodontopatije u našoj studiji kao i u studijama sa sličnim rezultatima ide u prilog navedenim tvrdnjama. Štaviše, povećana aktivnost SOD kod osoba obolelih od hronične parodontopatije može da ukaže na povećano stvaranje O_2^{\cdot} od strane stimulisanih polimorfonukleara u inflamiranom tkivu. Povećano stvaranje O_2^{\cdot} može dovesti do povećanja aktivnosti SOD kako bi se uspostavio balans između oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite. Takođe, povećana aktivnost SOD koja za krajnji produkt svojih reakcija ima stvaranje H_2O_2 može iz istih razloga dovesti do povećanja aktivnosti GPx koja eliminiše H_2O_2 , čime se i objašnjava povećanje aktivnosti GPx posle sprovedene terapije.

U našoj studiji su nađene i negativne korelacije aktivnosti SOD sa plak indeksom i indeksom krvarenja na provokaciju. Slične nalaze su dobili i drugi autori (Wei i sar 2010.). Ovo potkrepljuje predhodne navode o vezi SOD kao bitnog enzimskog antioksidansa u pljuvački i nivoa inflamacije u parodontcijumu.

Ukupni (totalni) antioksidativni status – TAS

Sistem antioksidativne zaštite je jako složen. (Chapple i sar., 1997.; Battino, 1999.) Sastoji se od niza enzimskih i neenzimskih materija koje se suprotstavljaju dejstvu slobodnih radikala. Važno je odrediti koncentracije, odnosno aktivnosti pojedinih antioksidanasa kada se želi steći uvid u antioksidativni status nekog sistema *in vivo*. (Nagler i sar. 2002; Maxwell SRJ i sar. 2006.) Pošto antioksidativni sistem deluje kao celina, određivanje koncentracija ili aktivnosti pojedinih njegovih delova može dovesti do pogrešnih zaključaka. U savremenoj biohemiji ukupni antioksidativni status (eng. total antioxidative status - TAS) se određuje na tri načina:

1. spektrofotometrijskom metodom
2. poboljšanom metodom hemiluminiscencije
3. metodom ciklične voltmetrije

U našoj studiji odlučili smo se za spektrofotometrijsku metodu, pošto je ona zastupljena u većini istraživanja. (Battino, 2002.; Zappakosi, 1999.; itd.) Ova metoda se bazira na merenju inhibicije slobodnih radikala (OH[•]) u rastvorima gde je njihova koncentracija poznata, dejstvom više strukturno različitih neenzimskih antioksidanasa koji reaguju sa datim slobodnim radikalima. Postoji veliki broj istraživanja koja se bave određivanjem TAS pljuvačke kod obolelih od hronične parodontopatije.

S. Moore i sar., 1994. u istraživanju koje je uključivalo 28 osoba sa klinički zdravim parodoncijumom i 7 obolelih od hronične parodontopatije nalaze da 70% antioksidativnog kapaciteta pljuvačke čine albumini. Stimulacija pljuvačke izaziva povećanje produkcije antioksidanata. Antioksidativni potencijal pljuvačke po mišljenju navedenih autora nije ugrožen parodontalnom bolešću, ali ga može modifikovati gingivalna tečnost koja se u inflamaciji pojačano luči.

U istraživanju koje je sprovedeno na 20 osoba sa gingivitisom i 20 osoba sa klinički zdravim parodoncijumom (pušača i nepušača) nađene su statistički značajne niže vrednosti TAS kod osoba sa gingivitisom i kod pušača. Kod osoba koje su imale gingivitis TAS se povećava posle sprovedene terapije kod nepušača, dok kod pušača to nije bio slučaj. (Budunelli N. i sar., 2006.)

Studija koja poredi TAS plazme i pljuvačke kod obolelih od hronične parodontopatije i osoba sa zdravim parodoncijumom nalazi niže vrednosti TAS kod obolelih osoba. (Brock i sar., 2004.)

Istraživanje koje ispituje koncentracije GPx, SOD i TAS u serumu i gingivalnoj tečnosti nalazi značajno smanjenje ovog parametra kod osoba obolelih od hronične parodontopatije u poređenju sa osobama sa klinički zdravim parodontcijumom. (Skarelic U. i sar. 2000.)

Chapple IL i sar. 1997. u istraživanju na 18 pacijenata sa hroničnom parodontopatijom i 16 osoba sa klinički zdravim parodontcijumom nalaze da je TAS u pljuvački obolelih od hronične parodontopatije bio značajno niži nego kod kontrolne grupe bez obzira na stadijum parodontopatije. U istom istraživanju nije nađena razlika u TAS plazme između dve grupe ispitanika.

Kundakova I., 1999. nalazi značajno sniženje TAS u pljuvački pušača u odnosu na nepušače.

Već pomenuto istraživanje pokazuje značajno niže vrednosti TAS pljuvačke kod trudnica sa hroničnom parodontopatijom u odnosu na one sa klinički zdravim parodontcijumom. (Canacki V. i sar., 2007.)

Pacijentkinje u menopauzi sa obolelim parodontcijumom imale su značajno niži TAS nego pacijentkinje sa zdravim parodontcijumom. (Baltacioglu E. i sar. 2006.)

U studiji koja je rađena na pacijentima koji su imali periimplantitis nađene su značajno niže vrednosti TAS u pljuvački nego kod pacijenata koji su imali implantate ali bez navedenih komplikacija (Liskmann S. i sar. 2007.).

Chapple i sar. su u studiji koja je ispitivala TAS u plazmi i gingivalnoj tečnosti osoba sa klinički zdravim parodontcijumom i osoba obolelih od hronične parodontopatije nisu nađene značajne razlike TAS plazme između eksperimentalne i kontrole grupe. TAS gingivalne tečnosti bio je znatno niži kod eksperimentalne nego kod kontrolne grupe. Takođe posle sprovedene kauzalne terapije parodontopatije je došlo do statistički značajnog povećanja TAS gingivalne tečnosti. (Chapple IL i sar. 2007.).

Ispitivanje na 30 pacijenata obolelih od hronične parodontopatije i 30 osoba sa klinički zdravim parodontcijumom pokazuje statistički značajno niže vrednosti TAS pljuvačke kod obolelih osoba. Posle sprovedene kauzalne terapije dolazi do značajnog povećanja TAS u pljuvački ovih pacijenata. (Guentsch A. i sar. 2008.).

U studiji koja je ispitivala antioksidativni status pljuvačke on je bio znatno niži kod osoba obolelih od hronične parodontopatije nego kod osoba sa klinički zdravim potpornim aparatom zuba. Posle sprovedene kauzalne terapije parodontopatije kod osoba eksperimentalne grupe dolazi do statistički značajnog povećanja TAS

pljuvačke. Ovo je u skladu sa navedenim podacima iz literature, kao i sa podatkom koji je u istom istraživanju dobijen za koncentracije albumina, obzirom da oni čini 70% ukupnog TAS pljuvačke. (Novaković i sar. 2014.)

Studija koja upoređuje nivoe TAS u gingivalnoj tečnosti i serumu osoba obolelih od parodontopatije pre i posle sprovedene kauzalne terapije i poredi ih sa osobama sa klinički zdravim parodontcijumom nalazi značajno snižen TAS u gingivalnoj tečnosti kod obolelih od parodontopatije nego kod zdravih. Ovo smanjenje je naročito izraženo ako su pacijenti pušači. Posle sprovedene terapije dolazi do povećanja TAS pljuvačke i seruma. (Akpinar A. 2013.)

Naše istraživanje pokazuje i značajno povećanje antioksidativnog kapaciteta pljuvačke nakon sprovedene terapije, tj. veću koncentraciju albumina, glutationa i drugih neenzimskih antioksidanasa. Samim tim manja je potrošnja jona Fe i Cu pa je moguća i veća aktivnost enzima koji u aktivnom centru sadrže ove jone kao što je SOD.

Studija koja proučava nivo lipidne peroksidacije kao i odnos ukupnog oksidativnog i antioksidativnog kapaciteta u pljuvački obolelih od hronične i agresivne parodontopatije nalazi značajno smanjenje TAS u pljuvački obolelih. Autori ove studije ukazuju na veću značajnost disbalansa oksidativnog i antioksidativnog potencijala pljuvačke kao pokazatelja stanja parodontcijuma u odnosu na pokazatelje lipidne peroksidacije. (Baltacioglu 2014.).

Korelacije biohemijskih i kliničkih parametara

U okviru ovog istraživanja posmatrali smo i korelacije ispitivanih kliničkih parametara sa biohemijskim parametrima pre i posle sprovedene kauzalne terapije parodontopatije. Pre sprovedene terapije 8 OHdG pokazuje korelacije sa gingivalnim indeksom u KKT grupi, sa istim indeksom u istoj grupi ispitanika je u korelaciji i nakon sprovedene terapije. Uočili smo i korelaciju 8OHdG i krvarenja na provokaciju u FMD kao i nivoa pripojnog epitela. MDA je bio u korelaciji sa krvarenjem na provokaciju pre sprovedene terapije. GPx pokazuje korelaciju sa krvarenjem na provokaciju i dubinom dondiranja nakon sprovedene terapije. Aktivnost SOD je u linearnoj zavisnosti sa nivoom pripojnog epitela pre i plak indeksom i krvarenjem na provokaciju posle sprovedene terapije. TAS korelira sa gingivalnim indeksom i nivoom pripojnog epitela pre terapije. Slične korelacije za SOD i GPx dobili su i drugi

autori. (Z. Yetkin-Ay i sar. 2007.) Wei i sar. govore o korelaciji nivoa MDA i krvarenje na provokaciju, kao GPx i SOD sa istim kliničkim parametrom. Mnogi drugi autori nalaze pozitivne korelacije između parametara koji oslikavaju kliničko stanje parodontijuma i nivoa antioksidanasa u pljuvački. (Akalin 2007., Brock, 2004., Miricescu 2014, Wei i sar. 2010.).

Prilikom poređenja drugih kliničkih i biohemijskih parametara u našem istraživanju nisu nađene značajne korelacije.

Iz rezultata većine sprovedenih istraživanja uključujući i naše dolazi se do zaključka da postoji značajna povezanost kliničkih pokazatelja stanja parodontijuma i nivoa oksidativnog stresa i antioksidanasa u pljuvački. Neki autori ukazuju na to da je disbalans između oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite glavni uzročnik za oksidativno oštećenje parodontalnih tkiva. Oni predlažu uvođenje oksidativnog koeficijenta TOC/ TAS koji bi bio merilo oksidativnog oštećenja parodontijuma. (Bostanci i sar. 2014.).

Očekivani naučni doprinos

Parodontopatija predstavlja najzastupljenije oboljenje potpornog aparata zuba, a čak i jedno od najčešćih oboljenja čoveka uopšte. Ovo oboljenje može da dovede do gubitka zuba i pojave krezubosti i bezubosti, te zato predstavlja važan socioekonomski problem. Kada oštećenje potpornog aparata zuba postane klinički i radiološki uočljivo ono je najčešće ireverzibilno. Sve nevedeno ukazuje na potrebu za uvođenjem novih dijagnostičkih metoda kojima bi se otkrila inflamacija u parodontijumu u okviru dijagnostike, postavljanja prognoze kao i praćenja rezultata lečenja.

Pljuvačka predstavlja pogodan dijagnostički materijal jer se sakuplja na lak i neinvazivan način. Pored ostalog, pljuvačka sadrži i lokalne i sistemske pokazatelje inflamatornih procesa u parodontijumu. Biohemijske analize pljuvačke bi mogle biti značajne u dijagnostici, prognostici i praćenju rezultata lečenja oboljenja parodontijuma.

Pokazatelji oksidativnog stresa u pljuvački su u korelaciji sa kliničkim pokazateljima stanja parodontijuma što pokazuje ovo kao i mnoga predhodna istraživanja.

Antioksidativni kapacitet pljuvačke takođe je u korelaciji sa stanjem parodontijuma na kliničkom nivou. Ove činjenice takođe potvrđuje ne samo ovo već i druga istraživanja.

Konzervativna tj. kauzalna terapija parodontopatijed je prvi i najvažniji korak u lečenju obolelih. Po nalazima nekih dugoročnih studija u velikom procentu slučajeva nema značajne razlike u rezultatima postignutim primenom samo konzervativne terapije u poređenju sa raznim hirurškim metodama lečenja hronične parodontopatije. (Lindhe i sar. 1984, Becker i sar. 2001.) Ova faza lečenja obuhvata uklanjanje uzročnika oboljenja sa ciljem smanjenja inflamacije u parodontijumu. Poznato je međutim da mikroorganizmi pored parodontalnog džepa naseljavaju i druga staništa u orofaringealnoj regiji kao što su: pljuvačka i svi delovi sluzokožne usne duplje pa i orofarinksa. Patogeni iz pomenutih staništa imaju značajnu ulogu u rekolonizaciji parodontalnog džepa nakon njegove obrade. Jednosedansni protokol, koji uključuje pored procedura klasične kauzalne terapije i dezinfekciju jezika,

sluzokože usne duplje i orofarinksa nekim od antiseptičkih sredstava npr. hlorheksidindiglukonom naziva se dezinfekcija celih usta (eng. full mouth disinfection). I pored velikih očekivanja klinička i mikrobiološka ispitivanja nisu uspela da dokažu ostvarenje značajno boljih rezultata u odnosu na uobičajeni pristup konzervativnoj terapiji obolelih od hronične parodontopatije. Uvidom u literaturu konstatuje se da do sada nisu rađena poređenja ova dva pristupa konzervativnoj terapiji na biohemijskom nivou. Naše istraživanje pokazuje da su i na biohemijskom nivou potvrđene razlike koje su uočene poređenjem kliničkih parametara.

Većina razlika bilo da idu u korist jednog ili drugog pristupa nisu toliko značajne da bi bile faktor za opredeljivanje za neki od dva metoda. Autor ovog istraživanja se slaže do sada važećim stavom da izbor metode konzervativnog lečenja obolelih od hronične parodontopatije zahteva individualni pristup.

Dokazivanje povezanosti nivoa oksidanasa i antioksidanasa u pljuvački sa intenzitetom inflamacije u parodontijumu značajno je za bolje razumevanje patogeneze parodontopatije, uvođenje novih dijagnostičkih mera kojim bi se otkrilo postojanje parodontopatije u najranijoj fazi, ali i za poređenje rezultata različitih metoda lečenja ovog oboljenja.

VI. ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata biohemijskih ispitivanja pljuvačke pre i posle sprovedene terapije u obe grupe ispitanika možemo zaključiti da:

1.1 U KKT grupi:

1.1.a) Koncentracija MDA u pljuvački je statistički značajno povećana nakon sprovedene terapije.

1.1.b) Koncentracija 8-OHdG u pljuvački je niža nakon sprovedene terapije, ali bez statističke značajnosti.

1.1.c) Aktivnost GPx u pljuvački je statistički povećana nakon sprovedene terapije, ali ova razlika nije statistički značajna.

1.1.d) Aktivnost SOD u pljuvački je smanjena nakon sprovedene terapije, ali ova razlika nije statistički značajna.

1.1. e) TAS pljuvačke je statistički značajno niži posle sprovedene terapije.

1.2 Kod ispitanika FMD grupe:

1.2.a) Koncentracija MDA u pljuvački je statistički značajno veća nakon sprovedene terapije.

1.2.b) Koncentracija 8-OHdG u pljuvački je niža nakon sprovedene terapije, ali bez statističke značajnosti.

1.2.c) Aktivnost GPx u pljuvački raste posle sprovedene terapije, ali bez statističke značajnosti.

1.2.d) Aktivnost SOD opada posle sprovedene terapije, ali ova razlika nije statistički značajna.

1.2.e) TAS pljuvačke statistički značajno raste posle sprovedene terapije.

2.1 Pre sprovedene terapije statistički značajne korelacije nađene su u KKZ grupi ispitanika za vrednosti GI i 8OHdG, NPE i TAS, KNP i MDA, a u FMD grupi za vrednosti NPE i SOD, GI i TAS;

2.2 nakon sprovedene terapije statistički značajne korelacije u grupi KKT su nađene za vrednosti GI i 8OHdG, NPE i 8-OHdG, KNP i GPx, KNP i SOD a u FMD grupi: PI i SOD, KNP i 8-OHdG, DS i GPx.

Ispitivanjem postojanja korelacija nivoa markera oksidativnog stresa i antioksidanasa u pljuvački sa pokazateljima kliničkog stanja parodontijuma bi mogao da se prepostavi značaj navedenih analiza pljuvačke dijagnozi inflamatornih procesa u aperiodoncijumu, prognostici i praćenju rezultata lečenja. Takođe na osnovu iznetih rezultata nije uočena razlika između dve ispitivane metode lečenja na biohemijskom nivou.

VII. LITERATURA

1. Newman MG, Takei HH, Carranza N.T. Clinical Periodontologu USA: Copyright 2002 by W.B.Sounders Co: 132-150.
2. Adelman R., Saul RL., Ames BN., Oxidative damage to DNA:relation to species metabolic rate and life span.PNAS, 1988 vol 85 no8
3. Akalin FA, Baltaciogölu E, Alver A, Karabulut E. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2007;34:558–565.
4. Akalin FA, Isiksal E, Baltacioglu E, Renda N, Karabulut E. Superoxide dismutase activity in gingiva in type-2 diabetes mellitus patients with chronic periodontitis. *Arch Oral Biol* 2008; 53:44–52.
5. Akalin FA, Toklu E, Renda N. Analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontally healthy controls. *J Clin Periodontol* 2005;32:238–243.
6. Akpinar A, Toker H, Ozdemir H, Bostanci V, Aydin H: The effect of non-surgical periodontal terapy on oxidant and anti-oxidant status in smokers with chronic periodontitis. *Arch Oral Biol* 2013. Jun;58(6):717-23
7. Ayala A, Munoz MF, Arguelles S: Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol.2014, art. id 360438
8. Baltacioglu E, Akalin FA, Alver A, Balaban F, Unsal M, Karabulut E. Total antioxidant capacity and superoxide dismutase activity levels in serum and gingival crevicular fluid in postmenopausal women with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2006;33:385–392.
9. Baltacioglu E, Yuva P, Aydin G, Alver A, Kahraman C, Karabult E, Akalin FA: Lipid peroxidation levels and total oxidant/antioxidaant status in serum and saliva from patients with chronic and agressive periodontitis. Oxidative stress markers: a new biomarker for periodontal disease? *J Oeriodontal* 2014 Oct; 85(10):1432-41
10. Banasova L, Kamodyova N, Jansakova K, Tothova L, Stanko P, Turna J, Celec P: Salivary DNA and markers of oxidative stress in patients with chronic periodontitis. *Clin Oral Invest* 2015 Mar;19(2):201-7
11. Becker W, Becker BE, Caffase R, Kerry G, Oschsenbein C, Morrison E, Prichard J: A longitudinal study comparing scaling, osseus surgery and modified Windman procedure: result after 5 years. *Jour. Period*, 2001, Dec; 72(12):1675-84
12. Barnett ML, Cianco SG, Mather ML: The modified papillary bleeding index. Comparation with gingival index during the resolution of gingivitis. *The Jour of Preventive Dent*. Vol 6,1980, p.p. 135-138, ISSN. 009-2732
13. Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, Newman HN, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol* 2002;29: 189–194.
14. Battino, M., Bullon, P., Wilson, M. & Newman, H. (1999) Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of antioxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 10, 458–476.

15. Battino, M., Ferreiro, M. S., Gallardo, I., Newman, H. N. & Bullon, P. (2002) The antioxidant capacity of saliva. *Journal of Clinical Periodontology* 29, 189–194.
16. Beck JD, Eke P, Heiss G, Madianos P, Couper D, Lin D, Moss K, Elter J, Offenbacher S. Periodontal Disease and Coronary Heart Disease: A Reappraisal of the Exposure. *Circulation*. 2005;112:19-24
17. Beikler T, Abdeen G, Schnitzer S, Ehmke B, Heinecke A, Flemming TF. Mikrobiological shifts in intra- and extraoral habitats following mechanical periodontal therapy. *J Clin Perio* 2004;31:152-159.
18. Bollen CM, Mongardini C, Papaioannou W, Van Steenberghe D, Quirynen M. The effect of one-stage full-mouth disinfection of different intra-oral niches. Clinical and microbiological observations. *J. Clin: Perio* 1998. Jan; 25(1): 56-66.
19. Bollen CM, Vanderkerckhove BN, Papaioannou W, Van Eldere J, Quirynen M. Full- vs. partial- mouth disinfection in the treatment of periodontal infections. A pilot study: long-term microbiological observations. *J Clin Perio* 1996 Oct;23(10):960-70
20. Borgstahl GE, Parge HE, Hickey MJ, Johnson MJ, Boissinot M, Hallewell RA, Lepock JR, Cabelli DE, Tainer JA. Human mitochondrial manganese superoxide dismutase polymorphic variant Ile58Thr reduces activity by destabilizing the tetrameric interface. *Biochemistry*. 1996 Apr 9;35(14):4287-97.
21. Bostanci V, Toker H, Senel S, Ozdemir H, Aydin H: Effect of chronic periodontitis on serum and gingival cervicular fluid oxidant and antioxidant status in patients with familial Mediterranean fever before and after periodontal treatment. *J Periodontol* 2014 May;85(5):706-12
22. Brock GR, Butterworth CJ, Matthews JB, Chapple IL. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol* 2004;31:515–521.
23. Cadet J., Douki T., Ravant JL., Oxidatively generated damage to cellular DNA. *Free Radical biology and Medicine* . July 2010 vol 49(1): 9-21
24. Cadet J., Douki T., Gasparutto D., Ravant JL., Oxidative damage to DNA: formation, measurement and biochemical features. *MR/FM MMM* Oct 2013. vol 531(1): 5-23
25. Canacki CF, Cicek Y, Yildirim A, Sezar U, Canacki V: Increased Levels of 8-Hydroxydeoxyguanosine and Malondialdehyde and its Relationship with Antioxidant Enzymes in Saliva of Periodontitis Patients *Eur J Dent*. 2009 April; 3(2): 100–106
26. Canakci V, Yildirim A, Canakci CF, Eltas A, Cicek Y, Canakci H. Total antioxidant capacity and antioxidant enzymes in serum, saliva, and gingival crevicular fluid of preeclamptic women with and without periodontal disease. *J Periodontol* 2007;78:1602–1611.
27. Caton J, Greenstein G, Polson AM Depth of periodontal probe penetration related to clinical and histologic signs of gingival inflammation. *J. Periodontol*. 1981 okt; 52(10):626-9
28. Chapple IL, Brock GR, Milward MR, Ling N, Matthews JB. Compromised GCF total antioxidant capacity in periodontitis: cause or effect? *J Clin Periodontol* 2007;34:103–110.

29. Chapple IL, Milward MR, Dietrich T. The prevalence of inflammatory periodontitis is negatively associated with serum antioxidant concentrations. *J Nutr* 2007;137:657–664.
30. Chapple ILC, Mason GI, Garner I, Matthews JB, Thorpe GH, Maxwell SRJ & Whitehead TP (1997) Enhanced chemiluminescent assay for measuring the total antioxidant capacity of serum, saliva and crevicular fluid. *Annals of Clinical Biochemistry* 34, 412–421.
31. Cobb CM: Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence based perspective of scaling and root planing. *Jour. of Clin. Periodo.* 2002; vol 29, iss 32, 22-32
32. Cook MS, Evens MD, Dizdaroglu B, Lunec J: Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation and disease. 2003. *Faseb J* 17(10):1195-214
33. crevicular fluid and its relation to local antioxidant capacity in periodontal health and disease. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2002.; 55:367-373
34. Del Rio D, Stewart A, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc* 2005;15:316-7
35. Diab-Ladki R, Pellat B, Chanine R, Decrease in the total antioxidant activity of saliva in patients with periodontal disease. *Clin. Oral. Invest* 2003; 7:103-7
36. Dimitrijević Božidar , Zelić Obrad, Leković Vojislav: Klinička parodontologija; ISBN 9788617172709; Godina izdanja 2011; Izdavač Zavod za udžbenike i nastavna sredstva
37. Doroshov JH, Akman D, Chu FF, Esworthy S. Role of the glutathione-glutathione peroxidase cycle in the Cytotoxicity of the anticancer quinones. *Pharmacol. Ther* 1990;47:359-370
38. Drador NN, Hadley M: Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. *Methods of Enzymology* 1990, vol. 186; 421-431
39. Đukić M. Oksidativni stres- Kliničko dijagnostički značaj. Beograd : Mono i Manjana; 2008.
40. Đukić M. Oksidativni stres. Slobodni radikali, prooksidansi, antioksidansi. Mono i Manjana. Beograd, 2008.
41. Dye BA. Global periodontal disease epidemiology. *Periodont.* 2000 2012;58:10-25
42. Ekuni D, Battino M, Tomofuju T, Putnins EE: *Studies on Periodontal Disease.* Science 2014
43. Ellis SD, Tucci MA, Serio FG, Johnson RB. Factors for progression of periodontal diseases. *J Oral Pathol Med* 1998;27:101–105.
44. Evans MD., Dizdaroglu M., Cooke MS., Oxaditive DNA damage and disease: introduction, repair and significance. *MR/Rew. in mut.res.*2004 vol567(1) 1-61
45. Frenkel EN. Lipid oxidation: mechanisms, Products and Biological Significance. *J Am Oil Chem Soc* 1984;61:1908-17
46. Guentsch A, Preshaw PM, Bremer-Streck S, Klinger G, Glockmann E, Sigusch BW :Lipid peroxidation and antioxidant activity in saliva of periodontitis patients: effect of smoking and periodontal treatment. *Clinical Oral Investigations [Clin Oral Investig]*, ISSN: 1436-3771, 2008 Dec; Vol. 12 (4), pp. 345-52.
47. Haixiang S, Gomitsky M, Velly AM, Hanling Y, Benarroch M, Schipper HM: Salivary DNA, lipid and protein oxidation in nonsmokers with periodontal disease; *Free Rad Bio and Med* 46, iss 7, April 2009, 914-921.

48. Hall DB., Hylimin RE., Barton JK., Oxidative DNA damage through long-range electron transfer, *Nature* 1996
49. Halliwell B (1988) MDAumin – An important extracellular antioxidant? *Biochemical Pharmacology* 37, 569–571.
50. Halliwell B (1991) Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *American Journal of Medicine* 91, Suppl. 3C, 14–22.
51. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol* 2004;142:231–255
52. Henskens YM, van den Keijbus PA, Veerman EC, Van der Weijden GA, Timmerman MF, Snoek CM, Van der Velden U, Nieuw Amerongen AV: Protein composition of whole and parotid saliva in healthy and periodontitis subjects. Determination of cystatins, MDAumin, amylase and IgA. *Journal Of Periodontal Research [J Periodontal Res]*, ISSN: 0022-3484, 1996 Jan; Vol. 31 (1), pp. 57-65.
53. Henskens YM, van der Velden U, Veerman EC, Nieuw Amerongen AV: Protein, MDAumin and cystatin concentrations in saliva of healthy subjects and of patients with gingivitis or periodontitis. *Journal Of Periodontal Research [J Periodontal Res]*, ISSN: 0022-3484, 1993 Jan; Vol. 28 (1), pp. 43-8.
54. Hugoson A, Sjödin B, Norderyd O. Trends over 30 years, 1973.-2003. in the prevalence and severity of periodontal disease. *J. Clin. Perio.* 2008; 35(5):405-14
55. Ismail AI, Burt BA, Eklund SA. Relationship between ascorbic acid and periodontal disease in the United States. *J Am Dent Assoc.* 1983;107:927-31
56. Ivan Borges Jr, Emilia Addison Machado Moreira, Danilo Wilhen Filho, Tialuo Bittencourt de Oliveira (2007.) Proinflammatory and Oxidative Stress Markers in Patients with Periodontal Disease; *Mediators of Inflammation*
57. Jacoby BH, Davis WL. The electron microscopic immunolocalization of a copper-zinc superoxide dismutase in association with collagen fibers of periodontal soft tissues. *J Periodontol* 1991;62:413–420.
58. Jenkins, W.M.M, MacFarlane, T.W. i Gilmour, W.H.(1988.) Longitudinal study of untreated periodontitis: Clinical findings, *Journal of Clinical Periodontology* 15, 324-330
59. Jenkins, W.M.M. i Kinane, D.F.(1989.) The ' high risk' group of periodontitis, *British Dental Journal* 167, 168-171
60. Jose Manuel Almerich-Silla, Jose María Montiel-Company, Sara Pastor, Felipe Serrano, Miriam Puig-Silla, and Francisco Dasí : Oxidative Stress Parameters in Saliva and Its Association with Periodontal Disease and Types of Bacteria. *Disease Markers Volume 2015 (2015)*, Article ID 653537, 7 pages
61. Kaldahi WB, Kalkwarf KL, Patil KD, Dyer JK, Bates RE Jr: Evaluation of four modalities of periodontal therapy: mean of probing depth, probing attachment level and recession changes. *Jour. Perio.* 1988. Dec; 59(12):783-93
62. Kaufman E , Lamster IB (2000) Analysis of saliva for periodontal diagnosis. *Journal of Clinical Periodontology* 27, 453–465.
63. Khalili J, Biloklytska HF: Salivary malondialdehyde levels in clinically healthy and periodontal diseased individuals. *Oral Dis.* 2008 Nov;14(8):754-60. doi: 10.1111/j.1601-0825.2008.01464.x. Epub 2008 Jul 24.

64. Kinane DF, Papageorgopoulos G Full mouth disinfectin versus quadrant debridment: the clinician's choice. *J Int Acad Periodontal* 2008 Jan 10(1):6-9
65. Klein I, Nagler RM, Toffler R, Vliet A, Reznic AZ. Effect of cigarette smoke on oral peroxidase activity in human saliva: Role of hydrogen cyanide. *Free Radic Biol Med* 2003;11(35):1448-52
66. Kondakova, I.; Lissi, E. A.; Pizarro, M. Total reactive antioxidant potential in human saliva of smokers and non-smokers. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 47:911–920; 1999.
67. Koshy G., Corbet EF., Ishikawa I., A full-mouth disinfection approach to nonsurgical periodontal therapy- prevention of reinfection from bacterial reservoirs. *Periodontol* 2000. 2004;36:166-78
68. Lang NP, Tan WC, Khahenmann MA, Zwanhen M: A systemic review of the effect of full mouth debridment with and without antiseptics in patients with chronic periodontitis. *J Clin. Perio.* 2008 Sept; 35(8):8-21
69. Lee SH, Kim YJ, Chang HJ, Kim OS: The clinical effects of modified full mouth disinfection in the therapy of moderate to severe chronic periodontitis patients. *J Korean Acad. Perio.* 2009, 39:239-251
70. Lindhe J, Westelt E, Nyman S, Socransky SS, Haffajee AD: Long-term effect of surgical/ non-surgical treatment of periodontal disease *J. Clin. Perio.* 1984; 11:448-58
71. Lindhe J., Karring T, Lang NP. *Clinical periodontologu and dental implantology*: Lavoisier Librairie 2003.
72. Liskmann S, Vihalemm T, Salum O, Zilmer K, Fischer K, Zilmer M. Characterization of the antioxidant profile of human saliva in peri-implant health and disease.. *Clin Oral Implants Res.* 2007 Feb;18(1):27-33.
73. Løe H The Gingival Index, thr Plaque Index and the Retention Index system *J Periodontol* 1967; 38:610-616
74. Mandić B, Todorović T: Antioxidant status in oral cancer Patients. *Oral Oncology* 2002; (8): 38-42
75. Masatoshi T, Naoyuki S, Tsunehiro E, Toshio U, Koichi I. A marker of oxidative stress in saliva: association with periodontally-involved teeth of hopeless prognosis *Jour of Oral Science*, Vol. 47, No. 1, 53-57, 2005
76. Maxwell SRJ, Dietrich T, Chapple ILC. Prediction of serum total antioxidant activity from the concentration of individ8-OHdGl serum antioxidants. *Clin Chim Acta.* 2006;372:188-94
77. Miricescu D, Totan A, Kalenić B, Mocanu B, Didilescu A, Mohora M, Spinu T, Greabu M: Salivary biomarkers: Relationship between oxidative stress and alveolar bone loss in chronic periodontitis. *Acta Odont Scand* vol72, Iss 1, 2014
78. Mirjana M. Đukić, *Oksidativni stres- kliničko dijagnostički značaj*. Mono i Manjana 2008.
79. Mirjana M. Đukić, *Oksidativni stres- oksidansi, prooksidansi, antioksidansi*. Mono i Manjana 2008.
80. Miyuki Kibayashi, Muneo Tanaka, Nobuko Nishida, Masae Kuboniwa, Kosuke Kataoka, Hideki Nagata, Kunio Nakayama, Kanehisa Morimoto, and Satoshi Shizukuishi, Longitudinal Study of the Association Between Smoking as a Periodontitis Risk and Salivary Biomarkers Related to Periodontitis *Journal of Periodontology*, May 2007, Vol. 78, No. 5, Pages 859-867, DOI 10.1902/jop.2007.060292 (doi:10.1902/jop.2007.)

81. Moore, S.; Calder, K. A. C.; Miller, N. J.; Rice-Evans, C. A. Antioxidant activity of saliva and periodontal disease. *Free Radic. Res.* 21:417–425; 1994.
82. Mühlemann HR, Son S Gingival sulcus bleeding – a leading symptom in initial gingivitis *Helvetica Odontologica Acta* 1971; 15: 107- 113
83. Nabuko Nishada i sar. Association between passive smoking and salivary markers related to periodontitis; *J. Clin. Periodontology* 2006; 33:717-723
84. Newman M. G, Takei H.H, Klokkevold P. R. and Carranza F. A. Carranza's Clinical Periodontology, 12th ed. USA, St Louis: Saunders, 2014.
85. Newman MG, Takei HH, Carranza N.T. *Clinical Periodontology USA*: Copyright 2002 by W.B.Saunders Co: 132-150.
86. Nishida M, Grossi SG, Dunford RG, Ho AW, Trevisan M, Genco RJ. Dietary vitamin-C and the risk for periodontal disease. *J Periodontol.* 2000;71:1215-23
87. Novaković N, Todorović T, Rakić M, Milinković I, Janković S, Aleksić Z i Čakić S. Salivary antioxidants as periodontal biomarkers in evaluation of tissue status and treatment outcome. *J Perio Res* 2013; doi10.1111/jre.1208826.
88. Numabe Y, Hisano A, Kamoi K, Yoshie H, Ito K, Kurihara H. Analysis of saliva for periodontal diagnosis and monitoring. *Periodontology* 2004;40:115-9.
89. Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta* 2004;343:1-16
90. Paknjad M, Rezaei A: Salivary biochemical markers of periodontitis. Dental research center, Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, Teheran University of Medical Sciences, Teheran, Iran *ROM. J. BIOCHEM.*, 50, 2, 129–146 (2013)
91. Panjamurthy K, Manoharan S, Ramachandran CR. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with periodontitis. *Cell Mol Biol Lett* 2005;10:255–264.
92. Papapanou, P.N., Wennstrom, J.L., Gröndahl, K. (1988.), Periodontal status in relation to age and tooth type. A cross sectional radiographic study. *Journal of Clinical Periodontology* 15, 469-478
93. Parth, Purwar, Jaya, Ixit, Abbas Ali, Mahdi, Sagar, Sareen: Effect of non surgical periodontal therapy on salivary and RBC lysate superoxide dismutase levels in periodontitis: A clinico biochemical study. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)* e-ISSN:2279-0853, p-ISSN: 2279-0861. Volume 13, Issue 7 Ver.IV (July 2014), PP 09-18, www.iosrjournals.org
94. Pavlica Z, Petelin M, Nemec A, Erzen D, Skaleric U. Measurement of total antioxidant capacity in gingival crevicular fluid and serum in dogs with periodontal disease. *Am J Vet Res* 2004; 65:1584–1588
95. Pi-Fen Wei, Kun-Yen Ho, Yea-Pyng Ho, Yi-Min Wu, Yi-Hsin Yang, Chi-Cheng Tsai (2010.) The investigation of glutathione peroxidase, lactoferrin, myeloperoxidase and interleukin-1 β in gingival crevicular fluid: implications for oxidative stress in human periodontal diseases
96. Pinar Gümüş i sar. Salivary Antioxidants in Patients with Type 1 or 2 Diabetes and Inflammatory Periodontal Disease: A Case Control Study: *Jour. of Periodontology* 2009. vol 80
97. Pinar Gümüş, Gülnur Emingil, Veli-Özgen Öztürk, Georgios N. Belibasakis, Nagihan Bostanci: Oxidative stress markers in saliva and periodontal disease status: modulation during pregnancy and postpartum; *BMC Infections Disease* 2015. 15:261

98. Poulsen HE: Quantification of 8OHdG and guanine as the nucleobase, nucleotide and nucleoside forms in human urine by high-performance liquid chromatography-electrography tandem mass spectrometry. 2002. *Nuc. Ac. Res.* 30, E7
99. Prandya S.D., Adinath N.S., Rajahshree B. B. Oxidative Stress in Periodontitis. *Eur J Gen Med* 2012;9(2):81-84
100. Quirynen M, Avontroodt P, Peeters M i sar. Effect of different chlorhexidine formulations in mouthrinses on de novo plaque formatio. *J Clin Per* 2001;28:1127-1136.
101. Quirynen M, Bollen CM, Vendekerckhove BN, Dekeyser C, Papaioannou W, Eyssen H. Full- vs. partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections: short-term clinical and microbiological observations. *J Dent Res* 1995;74:1459-1467.
102. Quirynen M, De Soete M, Boschmans G, Pauwels M, Coucke W, Teughels W, Van Steenberghe D. Benefit of "one stage full-mouth disinfection" is explained by disinfection and root planing within 24 hours: a randomized controlled trial. *J Clin Periodontol* 2006;33:639-647.
103. Quirynen M, Mongardini C, De Soete M, Pauwels M, Coucke W, Van Eldere J, Van Steenberghe D. The role of chlorhexidine in the one-stage full-mouth disinfection treatment of patients with advanced adult periodontitis. Long-term clinical and microbiological observations. *J Clin Periodontol* 2000;27:578-589.
104. Quirynen M, Mongardini C, Pauwels M, Bollen CML, Van Eldere J, Van Steenberghe D. One stage full- versus partial-mouth disinfection in the treatment of chronic adult or generalized early-onset periodontitis.II. Long-term impact on microbial load. *J Periodontol* 1999;70:646-656
105. Quirynen M, Pauwels M, Teughels W, Van Steenberghe D. One stage full-mouth disinfection, fiction or reality? *Periodontol* 2005;vol 2, issue 2: 85-90.
106. Quirynen M, Teughels W, De Soete M, Van Steenberghe D, Topical antiseptics and antibiotics in the initial therapy of chronic adult periodontitis: microbiological aspects. *Periodontol* 2000 2002;28:72-90
107. Rafael M. Nagler i sar. Characterization of the Differentiated Antioxidant Profile of Human Saliva; *Free Radical Biology and Medicine*, 2002. vol 32, no 3, 268-277
108. Rajeev Arunachalama, Arunima P. Reshmab, Vini Rajeevc, Sarath B. Kurrad, Mohan Raj J. Princee, Nita Syama: Salivary 8-Hydroxydeoxyguanosine – a valuable indicator for oxidative DNA damage in periodontal disease *The Saudi Journal for Dental Research* Volume 6, Issue 1, January 2015, Pages 15–20
109. Reznic AZ, Klein I, Eiserich JP, Cross CE, Nagler RM. Inhibition of an oral peroxidase activity by cigarette smoke in vivo and in vitro studies. *Free Radic Biol Med* 2003;3(34):377-84
110. Rowshani B, Timmerman MF, Van d V: Plaque development in relation to the periodontal condition and bacterial load of the saliva *J Clin Perio* 2004;31;214-218.
111. Rupali Angihotri i sar. Association of Cigarette Smoking With Superoxid Dismutase Enzyme Levels in Subject With Chronic Periodontitis, *Jour. of Per.* 2009. vol 80, no 4, 657-662

112. Sang-Chul, Kim, Ok-Su, Kim, Ok-Joon Kim, Young-Joon Kim, and Hyun-Ju Chung Antioxidant profile of whole saliva after scaling and root planing in periodontal disease *J Periodontal Implant Sci.* 2010 Aug;40(4):164-171
113. Sawamoto Y, Gganao N, Tanaka H, Ito K. Detection of periodontopathic bacteria and oxidative stress marker in saliva from periodontitis patients. *Oral Microbiol. Immunol.* 2005.; 20:216-220
114. Scully DV, Langley-Evans SC. Salivary antioxidants and periodontal disease status. *Proc Nutr Soc* 2002;61:137–143.
115. Sekino S, Ramberg P, Uzel NG, Socransky S, Lindhe J: the effect of a chlorhexidine regimen on de novo plaque formation. *J Clin Perio* 2004;31:609-614
116. Serino G¹, Rosling B, Ramberg P, Socransky SS, Lindhe J: Initial outcome and long-term effect of surgical and non-surgical treatment of advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2001 Oct;28(10):910-6.
117. Shin MS., Shin HS., Ahn YB., Kim HD., Association between periodontitis and salivary 8-hydroxydeoxyguanosine among Korean rural adults. *Community Dentistry and Oral Epidemiology.* article first published online: 26 feb 2016. DOI: 10.1111/ cdoe.12225
118. Skaleric U, Manthey CM, Mergenhagen SE, Gaspirc B, Wahl SM. Superoxide release and superoxide dismutase expression by human gingival fibroblasts. *Eur J Oral Sci* 2000; 108:130.
119. Sobainec H., Sobainec W., Sandrowski L., Pietruska M; Antioxidant Activity of Blood Serum and Saliva in Patients with Periodontal Disease Treated due to Epilepsy; *Advances in Medical Sciences*, vol 52, 2007. supl 1
120. Stevanović J, Borozan S, Jović S, Ignjatović I. Fiziologija slobodnih radikala. *Vet Glasnik* 2011;65:95-107.
121. Takane M., Sugano N., Ezawa T., Uchiyama T., Ito K. (2005) A marker of oxidative stress in saliva: association with periodontally- involved teeth of a hopeless diagnosis. *J. Oral. Sci.* 47, 53-57. 10.2334/josnusd.47.53
122. Takane M., Sugano N., Iwasaki H., Iwano Y., Shimizu N., Ito K. (2002) New biomarker evidence of oxidative DNA damage in whole saliva from clinically healthy and periodontally diseased individuals. *J. Periodontol.* 73, 551-554. 10.1902/jop.2002.73.5.551
123. Todorović T, Dožić I, Mandić B, Marjanović M: Antioksidativna uloga pljuvačke u očuvanju zdravlja usta. *Vojnosanitarni pregled* 2005; 62(7-8):575-579
124. Todorović T, Dožić I, Pavlica D, Marković D, Brajović G, Stefanović G i sar. Pljuvačka kao dijagnostička tečnost u stomatologiji. *Srp Arh Celok Lek* 2005, 133(7-8):372-8.
125. Todorović T, Oralna biohemija, Drugo izdanje. Beograd: izdavač: Čigoja; 2006.
126. Todorović T., Dožić I., Barrero MV., Ljušković B., Pejović J., Marijanović M., Knežević M. Salivary enzymes and periodontal disease. *Med. Oral. Patol. Oral. Cir. Bucal.* 2006.; 11:E115-9
127. Todorović T., Ljušković B., Jović P., Pejović J. Enzimi pljuvačke - mogući biohemijski markeri parodontopatije. *Stom. glas. S.* 1999.; 46:7-14
128. Toker H, Akpınar A, Aydın H, Poyraz O: Influence of smoking on interleukin-1beta level, oxidant status and antioxidant status in gingival

- cervicular fluid from chronic periodontitis patients before and after periodontal treatment. *J Periodontol* 2012. Oct; 47(5):572-7
129. Tomasz Konopka, corresponding author Katarzyna Król, Waław Kopeć, and Hanna Gerber: Total antioxidant status and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in gingival and peripheral blood of periodontitis patients *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2007 Dec; 55(6): 417–425.
 130. Tonetti MS, Claffey N. Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and diseases progression for use in risk factor research. *J Clin Periodontol*. 2005;32:210-3
 131. Tothova Lj NK, Cervenka T, Kamodyona N, Celec P et al: Salivary markers of oxidative stress in oral diseases. *Front, in Cell and Inf Microby* 2015;5:73
 132. Tsai CC, Chen HS, Chen SL, et al. Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. *J Periodontol Res* 2005;40:378–384.
 133. Valko M, Leibfriz D, Moncol J, Cronin MT, Maur M, Tesler J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell B* 2007;39:44-48.
 134. Villa-Correa Y.A., Isaza-Guzman D.M., Tobon-Arroyave S.I.(2015). Diagnostic value of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine and human neutrophil elastase/alpha1-proteinase inhibitor complex as salivary biomarkers of oxidative stress in chronic periodontitis. *J. Periodontol*. 1-11- (Epub ahead of print).10.1902/jop.2015.150293
 135. Y. P. Ho i sar. Lipid Peroxidation in the Disease Process of Periodontitis; *Periodontol Res*. 2005. 9-12
 136. Yoneyama, K., Okamoto, H., Lindhe, J. Socranscy, S.S. i Haffajje, A.D.(1988). Probing depth, attachment loss and gingival recession. Findings from a clinical examination, Ushiku, Japan, *Journal of Clinical Periodontology* 15, 581-591
 137. Zapacosta B, Persicichilli S, Pasquale Desole Mordente A, Giardina B. Effect of smoking one cigarette on antioxidant metabolites in the saliva of healthy smokers. *Arch Oral Biol* 1999.; 44:485-88

Indeks tabela

Tabela 1: Prosečan broj zuba eksperimentalne i kontrolne grupe ispitanika.....	- 46 -
Tabela 2: Starosna struktura ispitanika	- 46 -
Tabela 3: Prosek godina starosti ispitanika.....	- 47 -
Tabela 4: Struktura ispitanika po stepenu stručne spreme.....	- 47 -
Tabela 5: Plak indeks ispitanika KKT grupe pre i nakon sprovedene terapije	- 48 -
Tabela 6: Plak indeks ispitanika FMD grupe pre i nakon sprovedene terapije.....	- 48 -
Tabela 7: Indeks krvarenja na provokaciju ispitanika KKT grupe pre i nakon sprovedene terapije	- 49 -
Tabela 8: Indeks krvarenja na provokaciju ispitanika FMD grupe pre i nakon sprovedene terapije	- 49 -
Tabela 9: Gingivalni indeks ispitanika KKT grupe pre i nakon sprovedene terapije....	- 50 -
Tabela 10: Gingivalni indeks ispitanika FMD grupe pre i nakon sprovedene terapije..	- 50 -
Tabela 11: Dubina sondiranja ispitanika KKT grupe pre i nakon sprovedene terapije ..	- 51 -
Tabela 12: Dubina sondiranja ispitanika FMD grupe pre i nakon sprovedene terapije..	- 51 -
Tabela 13: Nivo pripojnog epitela ispitanika KKT grupe pre i nakon sprovedene terapije.....	- 52 -
Tabela 14: Nivo pripojnog epitela ispitanika FMD grupe pre i nakon sprovedene terapije.....	- 52 -
Tabela 15: Koncentracija malondialdehida (MDA) u pljuvački ispitanika KKT grupe pre i nakon terapije.....	- 53 -
Tabela 16: Koncentracija malondialdehida (MDA) u pljuvački ispitanika FMD grupe pre i nakon terapije.....	- 53 -
Tabela 17: Koncentracija 8-OHdG u pljuvački ispitanika KKT grupe pre i nakon terapije.....	- 54 -
Tabela 18: Koncentracija 8-OHdG u pljuvački ispitanika FMD grupe pre i nakon terapije.....	- 54 -
Tabela 19: Aktivnost glutation peroksidaze (GPX) u pljuvački ispitanika KKT grupe parodontopatijom pre i nakon terapije	- 55 -
Tabela 20: Aktivnost glutation peroksidaze (GPX) u pljuvački ispitanika FMD grupe parodontopatijom pre i nakon terapije	- 55 -
Tabela 21: Aktivnost superoskid- dismutaze (SOD) u pljuvački ispitanika KKT grupe pre i nakon terapije	- 56 -
Tabela 22: Aktivnost superoskid-dismutaze (SOD) u pljuvački ispitanika FMD grupe pre i nakon terapije.....	- 56 -
Tabela 23: Ukupni antioksidativni kapacitet pljuvačke ispitanika KKT grupe pre i nakon terapije.....	- 57 -
Tabela 24: Ukupni antioksidativni kapacitet pljuvačke ispitanika FMD grupe pre i nakon terapije.....	- 57 -
Tabela 25: Korelacija plak indeksa (PI) i biohemijskih parametara u pljuvački ispitanika KKT grupe pre terapije.....	- 58 -
Tabela 26: Korelacija plak indeksa (PI) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika FMD grupe pre terapije	- 58 -
Tabela 27: Korelacija krvarenja na provokaciju (KNP) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika KKT grupe pre terapije	- 59 -

Tabela 28: Korelacija krvarenja na provokaciju (KNP) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika FMD pre terapije.....	- 60 -
Tabela 29: Korelacija gingivalnog indeksa (GI) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika KKT grupe pre terapije.....	- 60 -
Tabela 30: Korelacija gingivalnog indeksa (GI) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika FMD grupe pre terapije	- 61 -
Tabela 31: Korelacija dubine sondiranja (DS) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika KKT pre terapije.....	- 62 -
Tabela 32: Korelacija dubine sondiranja (DS) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika FMD pre terapije	- 63 -
Tabela 33: Korelacija nivoa pripojnog epitela (NPE) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika KKT pre terapije	- 63 -
Tabela 34: Korelacija nivoa pripojnog epitela (NPE) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika FMD pre terapije.....	- 64 -
Tabela 35: Korelacija plak indeksa (PI) i biohemijskih parametara pljuvačke KKT posle terapije	- 65 -
Tabela 36: Korelacija plak indeksa (PI) i biohemijskih parametara pljuvačke FMD posle terapije	- 66 -
Tabela 37: Korelacija krvarenje na provokaciju (KNP) i biohemijskih parametara pljuvačke KKT grupe posle terapije	- 67 -
Tabela 38: Korelacija krvarenje na provokaciju (KNP) i biohemijskih parametara pljuvačke FMD grupe posle terapije.....	- 68 -
Tabela 39: Korelacija gingivalnog indeksa (GI) i biohemijskih parametara pljuvačke KKT grupe posle terapije.....	- 69 -
Tabela 40: Korelacija gingivalnog indeksa (GI) i biohemijskih parametara pljuvačke FMD grupe posle terapije	- 70 -
Tabela 41: Korelacija dubine sondiranja (DS) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika KKT grupe posle terapije	- 71 -
Tabela 42: Korelacija dubine sondiranja (DS) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika FMD grupe posle terapije.....	- 71 -
Tabela 43: Korelacija nivoa pripojnog epitela (NPE) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika KKT grupe posle terapije.....	- 72 -
Tabela 44: Korelacija nivoa pripojnog epitela (NPE) i biohemijskih parametara pljuvačke ispitanika FMD grupe posle terapije	- 73 -

Indeks grafikona

Grafik 1: Korelacija krvarenja na provokaciju i koncentracije MDA u KKT grupi pre terapije.....	59 -
Grafik 2: Korelacija gingivalnog indeksa i koncentracije 8hidroksideoksiguanozina KKT grupe pre terapije	61 -
Grafik 3: Korelacija gingivalnog indeksa i ukupnog antioksidativnog statusa pljuvačke ispitanika FMD grupe pre terapije.....	62 -
Grafik 4: Korelacija nivoa pripojnog epitela i ukupnog antioksidativnog statusa pljuvačke ispitanika KKT grupe	64 -
Grafik 5: Korelacija nivoa pripojnog epitela i aktivnosti superoksidismutaza u pljuvački ispitanika FMD grupe pre terapije	65 -
Grafik 6: Korelacija plak indeksa i aktivnosti superoksidismutaze u pljuvački ispitanika FMD grupe posle terapije.....	66 -
Grafik 7: Korelacija indeksa krvarenja na provokaciju i aktivnosti glutacionperoksidaze u pljuvački pacijenata KKT grupe posle terapije	67 -
Grafik 8: Korelacija indeksa krvarenja na provokaciju i aktivnosti superoksidismutaze u pljuvački pacijenata KKT grupe posle terapije.....	68 -
Grafik 9: Korelacija indeksa krvarenja na provokaciju i koncentracije 8hidroksideoksiguanozina u pljuvački pacijenata FMD grupe posle terapije	69 -
Grafik 10: Korelacija gingivalnog indeksa i koncentracije 8hidroksideoksiguanozina u pljuvački pacijenata KKT grupe posle terapije	70 -
Grafik 11: Korelacija dubine sondiranja i aktivnosti glutacionperoksidaze u pljuvački pacijenata FMD grupe posle terapije	72 -
Grafik 12: Korelacija nivoa pripojnog epitela i koncentracije 8hidroksideoksiguanozina u pljuvački pacijenata KKT grupe posle terapije.....	73 -
Grafik 13: Neželjene propratne pojave terapije - povišena telesna temperatura ...	74 -
Grafik 14: Neželjene propratne pojave terapije - poremećaj osećaja ukusa.....	75 -
Grafik 15: Neželjene propratne pojave terapije – pojava parestezije	75 -
Grafik 16: Neželjene propratne pojave terapije – herpes recurens	76 -
Grafik 17: Neželjene propratne pojave terapije – prebojenost zuba i oralne sluzokože.-	77 -
Grafik 18: Neželjene propratne pojave terapije- uvećanje parotidne pljuvačne žlezde..-	77 -

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а _____
број индекса _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

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

Потпис докторанда

У Београду, _____

Прилог 2.

**Изјава о истоветности штампане и електронске
верзије докторског рада**

Име и презиме аутора _____

Број индекса _____

Студијски програм _____

Наслов рада _____

Ментор _____

Потписани/а _____

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

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

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

Потпис докторанда

У Београду, _____

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

која је моје ауторско дело.

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

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

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

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

Потпис докторанда

У Београду, _____