



Универзитет „Св. Кирил и Методиј“
Стоматолошки факултет Скопје

**ТЕРАПИСКИ ЕФЕКТИ НА
СУБДОЗА-DOXYCYCLINE
ВО ТРЕТМАНОТ НА
ПАРОДОНТАЛНАТА БОЛЕСТ**

Магистерски труд

Кандидат: д-р Спасовски Спиро
Ментор: Проф. д-р Златанка Белазелкоска



Универзитет „Св. Кирил и Методиј“
Стоматолошки факултет Скопје

ТЕРАПИСКИ ЕФЕКТИ НА
СУБДОЗА-DOXYCYCLINE
ВО ТРЕТМАНОТ НА
ПАРОДОНТАЛНАТА БОЛЕСТ

THERAPEUTIC EFFECTS OF
SUBDOSE-DOXYCYCLINE IN THE
TREATMENT OF PERIODONTITIS

(Магистерски труд)

Кандидат: д-р Спасовски Спиро
Ментор: Проф. д-р Златанка Белазелкоска

Скопје, 2015

АПСТРАКТ

Цел: Да ја процениме и компарираме клиничката ефикасност на системската примена на doxycycline во терапевтска доза (100 mg еднаш дневно) и суб-анти-микробна доза (2 x 20 mg на ден), како и да ги одредиме разликите во клиничкиот наод помеѓу двете испитувани групи. Да ја проследиме концентрацијата на doxycycline-от кај двете испитувани групи и да ги одредиме квантитативните разлики во групите (7,15 и 39 ден од примена на 100 mg и 18,37 и 75 дена од примена на 2x20 mg дневно) и помеѓу групите. Да ја одредиме вредноста на активноста на лактат дехидрогеназата врз пародонталното ткиво во зависност од примената доза и да го прецизираме микробиолошкиот наод при примена на системска нормална и субантимикробна доза на doxycycline.

Материјал и метод: Проследени се вкупно 60 пациенти на возраст од 30-70 години со умерена форма на хронична пародонтопатија каде длабочината на пародонталните џебови на одредена репрезентативна група заби изнесуваше од 3-5 mm. Спроведен е конзервативен третман и ординирао е doxycycline во соодветна доза (зависно од групата за која е наменет). Вкупната доза која ја примија пациентите во текот на терапевтскиот третман без разлика на дозата и динамиката е 3 gr. Првата група која беше на системска примена doxycycline 100 mg еднаш дневно вкупно планираната доза ја прими во рок од 30 дена. Втората група пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg дневно (наутро и навечер) терапијата со doxycycline ја завршија после 75 дена т.е. (два и пол месеци) исто така во вкупна доза од 3 gr. Кај испитаниците од двете групи клинички се регистрирани: индекс на дентален плак според Löe-Sillness, индекс на гингивална инфламација и гингиворагија според Cowell, индекс на длабочина на пародонтален џеб според Ramford и индекс на апи-кална епителна миграција т.е. клиничко ниво на атачмент.

За одредување на микробиолошкиот наод беше земен брис од пародонталниот џеб од сите испитаници од обете групи независно под кој режим се третирали. Постапката беше спроведена со помош на хартиени апсорбенти, Absorbent paper points, Vericom, Eazi-Endo, Chuncheon-SL Korea, кои беа аплицирани до дното на најдлабокиот пародонтален џеб. Матријалот е веднаш насаден на следните подлоги: Колумбија агар, Шедлер агар, Бруцела агар и тиогликолатен бујон. Хартиените апсорбенти со примерокот е нанесуван на хранливите подлоги со тркалање по подлогата (Методот на Маки).

За квантитативно определување на концентрациите на doxycycline во гингивален флуид и плунка применет е метод на течна хроматографија со флуоресцентна детекција. Динамиката со која е спроведено одредувањето концентрацијата на доксициклин во двата медиума е следна:

Доза од 100 mg еднаш дневно: 7, 15, 30 дена од примената на антибиотикот, а доза од 20 mg два пати дневно: 18, 37,75 дена од примената на антибиотикот. Одредување активност на лактат дехидрогеназа (LDH) во гингивален флуид и плунка се

изведе со примена на ензимски метод, пред спроведениот третман и после третманот. Резултатите се статистички обработени.

Резултати: Кај пациенти подложени на системска примена на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена, се докажа дека после 2,5 месеци просечната вредност на: дентален плак ($\bar{x}=0,93$), гингивална инфламација ($\bar{x}=0,50$), гингиворагија ($\bar{x}=0,93$), длабочина на пародонталните џебови ($\bar{x}=2,98$ mm) и EAM ($\bar{x}=3,35$ mm) значајно се помали од просечната вредност на денталниот плак ($\bar{x}=1,96$), гингивална инфламација ($\bar{x}=1,57$), гингиворагија ($\bar{x}=1,53$), длабочина на пародонталните џебови ($\bar{x}=3,62$ mm.) и EAM ($\bar{x}=4,07$ mm.) при првиот преглед. Микробиолошкиот наод кај пациенти со системска примена на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена прикажа дека после 2,5 месеци нема значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди за Aa, St m, Fn, Vl и Cl, а постои значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди за P spp и Pg. Кај пациентите кои примаа системски doxycycline 2x20 mg дневно во текот на 75 дена, после 2,5 месеци евидентиравме дека просечната вредност на: дентален плак ($\bar{x}=0,83$), гингивална инфламација ($\bar{x}=0,17$), гингиворагија ($\bar{x}=0,37$), длабочина на пародонталните џебови ($\bar{x}=2,65$ mm.) и EAM ($\bar{x}=2,95$ mm.) значајно се помали од просечната вредност на денталниот плак ($\bar{x}=1,97$), гингивална инфламација ($\bar{x}=1,47$), гингиворагија ($\bar{x}=1,52$), длабочина на пародонталните џебови ($\bar{x}=3,61$ mm.) и EAM ($\bar{x}=4,06$ mm.) при првиот преглед. Микробиолошкиот наод кај пациенти со системска примена на doxycycline 2x20 mg дневно во текот на 75 дена прикажа дека после 2,5 месеци нема значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди за St m, Fn, Vl и Cl, Pg а постои значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди за Aa и P spp.

После 10 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=0,97$) на дентален плак кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=0,37$) на дентален плак кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg). После 20 дена просечната вредност ($\bar{x}=0,43$) на дентален плак кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg) незначајно е помала од просечната вредност ($\bar{x}=0,47$) на дентален плак кај пациентите од првата група (100 mg doxycycline). После 1 месец просечната вредност ($\bar{x}=0,33$) на дентален плак кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=0,27$) на дентален плак кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg). После 2,5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=0,83$) на дентален плак кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg) незначајно е помала од просечната вредност ($\bar{x}=0,93$) на дентален плак кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg). После 10 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=0,83$) на гингивална инфламација кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=0,40$) на гингивална инфламација кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg). После 20 дена и 1 месец нема значајна разлика во просечните вредности на гингивална инфламација во двете групи. После 2,5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=0,17$) на гингивална инфламација кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg) значајно е помала од

просечната вредност ($\bar{x}=0,50$) на гингивална инфламација кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg). После 10 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=0,73$) на гингиворагија кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=0,53$) на гингиворагијата кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg). После 20 дена и 1 месец од применетата терапија за $Z=0,00$ и $p>0,05$ ($p=0,99$) нема значајна разлика во просечните вредности на гингиворагијата во двете групи. После 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=0,97$) на гингиворагијата кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=0,37$) на гингиворагијата кај пациентите од втората група (doxycycline 2x 20 mg). После 10 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=3,12$ mm) за длабочина на пародонталните џебови кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=3,03$) на длабочина на пародонталните џебови кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg). После 20 дена просечната вредност ($\bar{x}=3,03$ mm.) на длабочина на пародонтален џеб кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=2,28$) длабочина на пародонтален џеб кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg). После 1 месец од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=2,57$ mm.) за длабочина на пародонталните џебови кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=2,52$) на длабочина на пародонталните џебови кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg). После 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=2,98$) на длабочина на пародонталните џебови кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=2,65$) на длабочина на пародонталните џебови кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg). После 10 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=3,53$ mm) на атачментот кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=3,38$ mm.) на атачмент кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg). После 20 дена и 1 месец од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=3,48$ mm.) на атачмент кај пациентите од првата група (doxycycline 2x20 mg) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=3,35$ mm.) на атачмент кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg). После 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=3,35$) на ЕАМ кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=2,95$) на атачмент кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg).

Од испитуваните разлики помеѓу двете испитувани групи во однос на микробиолошкиот наод во прикажаната дистрибуција постои значајна разлика во наодите на Aa, Fn, помеѓу двете групи пациенти, а за сите преостанати микроорганизми P spp, St m, VI, CI и Pg не постои статистички значајна разлика. Евидентно е континуирано и постепено намалување на вредностите на doxycycline во двата следени медиуми (гингивален цервикален флуид и плунка) во трите испитувани периоди, после 7, 15 и 30 дена кај испитуваната група која беше третирана со 100 mg doxycycline еднаш дневно во текот на еден месец. Кај групата пациенти третирани со doxycycline 2x20 mg вредностите на doxycycline нотирани во временските интервали 18,37 и 75 дена континуирано се намалуваат во гингивалниот флуид, а во плунката евидентно

е лесно зголемување во 37 дена, а после 75 дена вредностите се дефинитивно намалени во однос на мерењето во 18 ден. Вредностите на лактат дехидрогеназа во релацијата пред третман и по третман (група на пациенти подложени на системска примена на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена) покажа дека вредноста за активноста на лактат дехидрогеназа варира во GCF во интервалот $626,84 \pm 279,94$ U/L. По третманот вредноста за активност на лактат дехидрогеназа е намалена и варира во интервалот $384,75 \pm 190,12$ U/L. Активност на лактат дехидрогеназа по третманот за $t=10,85$ и $p < 0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала во однос на вредноста пред третман. Активност на лактат дехидрогеназа во релацијата пред и по третман (група пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg. дневно два и пол месеци) прикажа дека пред третман вредноста на лактат дехидрогеназа варира во интервалот $616,84 \pm 272,01$ U/L. а по третман вредноста на лактат дехидрогеназа варира во интервалот $278,55 \pm 177,64$ U/L. Вредноста на лактат дехидрогеназа по третманот за $Z=4,78$ и $p < 0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала во однос на вредноста пред третман. Просечната вредност на активноста ($\bar{x}=384,75$ U/L) на лактат дехидрогеназа (по третман) кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg / 30 дена) за $Z=-2,07$ и $p < 0,05$ ($p=0,04$) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=287,53$) на лактат дехидрогеназа (по третман) кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци). Одредените вредности на активноста на лактат дехидрогеназата во плунка се слични, скоро идентични, откаде и разликите помеѓу двете испитувани групи се незначајни.

Заклучок: Doxycycline-от како дополна на конвенционално применетата терапија резултираше со позитивни терапевски ефекти, со статистички значајна предност на групата третирана со субдоза doxycycline од клинички и микробиолошки аспект, истовремено со редуција на лактат дехидрогеназата после спроведениот третман.

Клучни зборови: пародонтопатија, doxycycline, субдоза, лактат дехидрогеназа, периопатогени.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the clinical efficacy and comparison of systemic application of doxycycline in the therapeutic dose (100 mg/ day) and sub-antimicrobial dose (2 x 20 mgr/day), and to determine differences in clinical findings between the two groups. To follow the concentration of doxycycline in both groups and to determine quantitative differences in the each group (at 7,15 and 39 day of 100 mgr application, and 18, 37 and 75 days after application of 2x20 mg/daily) and between groups. To determine the value of the activity of lactate dehydrogenase on periodontal tissue depending on applied dose and to precise microbiological findings with systemic and sub antimicrobial doses of doxycycline.

Material and Methods: A total of 60 patients were examined, aged 30-70 years with moderate chronic periodontal disease, with pocket depth from 3-5 mm on representative group of teeth. A conservative treatment was carried out and doxycycline was prescribed on the appropriate dose (depending on the group that is intended). The total dose which patients received during therapeutic treatment, regardless of the dose and the frequency was 3 gr. The first group with systematic application of 100 mg/ day doxycycline, planned total dose was received within 30 days. The second group of patients who received 20 mg doxycycline twice a day (morning and evening) with doxycycline therapy ended after 75 days, also in a total dose of 3 gr. Among patients from both groups, we make clinical evaluation of: Index of dental plaque by Löe-Sillness, index of gingival inflammation and gingival bleeding by Cowell, periodontal pocket depth according Ramfjord and index of apical epithelial migration - clinical attachment level.

To determine the microbiological finding, swab was taken from periodontal pocket of all patients from both groups, independently under which mode are treated. The procedure was carried out using a paper sinks, Absorbent paper points, Vericom, Eazi-Endo, Chuncheon-SL Korea, which were applied to the bottom of the deepest periodontal pocket. Material was socket immediately in following surfaces: Columbia agar, Shedler agar, brucella agar and thioglycolate broth. Paper sinks with sample is inflicted on the nutritional substrates by rolling on the ground (method of Maki).

For quantitative determination of concentrations of doxycycline in saliva and gingival fluid, liquid chromatography method with fluorescence detection was used. The dynamics that is conducted to determine the concentration of doxycycline in both media was as follows:

At dose of 100 mg once a day: 7, 15 and 30 days after the application of the antibiotic, and at dose of 20 mg twice daily: 18, 37 and 75 days from the application of the antibiotic. Determination of activity of lactate dehydrogenase (LDH) in gingival fluid and saliva are performed using enzyme method, before and after treatment. The results were statistically processed.

Results: In patients undergoing systemic application of doxycycline 100 mg once daily for 30 days, it showed that after 2.5 month, average values for dental plaque

($\bar{x}=0,93$), gingival inflammation ($\bar{x}=0,50$), gingival bleeding ($\bar{x}=0,93$), pocket depth ($\bar{x}=2,98$ mm.) and EAM ($\bar{x}=3,35$ mm.) were significantly smaller than the average value of dental plaque ($\bar{x}=1,96$), gingival inflammation ($\bar{x}=1,57$), gingival bleeding ($\bar{x}=1,53$), pocket depth ($\bar{x}=3,62$ mm.) and EAM ($\bar{x}=4,07$ mm.) in the first examination. Microbiological findings in patients with systemic application of doxycycline 100 mg once a day for 30 days showed that after 2.5 months, no significant difference in the distribution shown positive and negative findings of Aa, St m, Fn, Vl and Cl, a no significant difference in the distribution shown positive and negative findings for P spp and Pg. In patients receiving systemic doxycycline 2x20 mg daily for 75 days, after 2.5 months shown that the average values of dental plaque ($\bar{x}=0,83$), gingival inflammation ($\bar{x}=0,17$), gingival bleeding ($\bar{x}=0,37$), pocket depth ($\bar{x}=2,65$ mm.) and EAM ($\bar{x}=2,95$ mm.) were significantly smaller than the average values of dental plaque ($\bar{x}=1,97$), gingival inflammation ($\bar{x}=1,47$), gingival bleeding ($\bar{x}=1,52$), pocket depth ($\bar{x}=3,61$ mm.) and EAM ($\bar{x}=4,06$ mm.) in the first examination. Microbiological findings in patients with systemic application of doxycycline 2x20 mg/ day, for 75 days showed that after 2.5 months there was no significant difference in the distribution in positive and negative findings on St m, Fn, Vl, Cl, and Pg, but there was significant difference in the distribution on positive and negative findings for Aa and P spp.

After 10 days of therapy, average value of dental plaque ($\bar{x}=0,97$) in patients in the second group (doxycycline 2 x 20 mg) was significantly greater than the average value ($\bar{x}=0,37$) of dental plaque in patients in the first group (doxycycline 100 mg). After 20 days, the average value ($\bar{x}=0,43$) of dental plaque in patients of the second group (doxycycline 2 x 20 mg) was slightly less than the average value ($\bar{x}=0,47$) of dental plaque in patients of the first group (100 mg doxycycline). After one month, the average value ($\bar{x}=0,33$) of dental plaque in patients of the second group (doxycycline 2 x 20 mg) was slightly higher than the average value ($\bar{x}=0,27$) of dental plaque in patients of the first group (doxycycline 100 mg). After 2.5 months, the average value ($\bar{x}=0,83$) of dental plaque in patients of the second group (doxycycline 2 x 20 mg) was slightly less than the average value ($\bar{x}=0,93$) of dental plaque in patients of the first group (doxycycline 100 mg). After 10 days of oral treatment the average value ($\bar{x}=0,83$) of gingival inflammation in patients in the first group (doxycycline 100 mg) was considerably greater than the average value ($\bar{x}=0,40$) of gingival inflammation in patients in the second group (doxycycline 2 x 20 mg). After 20 days and 1 month, there were no significant differences in the average values of gingival inflammation in both groups. After 2.5 months average value ($\bar{x}=0,17$) of gingival inflammation in patients in the second group (doxycycline 2 x 20 mg) was significantly less than the average value ($\bar{x}=0,50$) of gingival inflammation in patients from the first group (doxycycline 100 mg). After 10 days of therapy, average value ($\bar{x}=0,73$) of gingival bleeding in patients from the first group (doxycycline 100 mg) was slightly greater than the average value ($\bar{x}=0,53$) in the patients of the second group (doxycycline 2 x 20 mg). After 20 days and 1 month of oral therapy, for $Z=0,00$ and $p > 0,05$ ($p=0,99$) there was no significant difference in the average values of gingival bleeding in both groups.

After 2.5 months, the average value ($\bar{x}=0,97$) of gingival bleeding in patients in the first group (doxycycline 1 x 100 mg) was significantly greater than the average value ($\bar{x}=0,37$) in the patients of the second group (doxycycline 2x 20 mg). After

10 days of therapy, average value ($\bar{x}=3,12$ mm.) of the pocket dept in patients in the second group (doxycycline 2x20 mg) was slightly larger than the average value ($\bar{x}=3,03$) of the pocket depth in patients from the first group (doxycycline 1 x 100 mg). After 20 days, the average value ($\bar{x}=3,03$ mm.) of the pocket depth in patients in the second group (doxycycline 2x20 mg) was significantly greater than the average value ($\bar{x}=2,28$) of the pocket depth in patients from the first group (doxycycline 1 x 100 mg). After 1 month of therapy, average value ($\bar{x}=2,57$ mm.) of the pocket depth in patients in the second group (doxycycline 2x20 mgr) was slightly larger than the average value ($\bar{x}=2,52$) of the pocket depth in patients in the first group (doxycycline 1 x 100 mg). After 2.5 months average ($\bar{x}=2,98$) depth of periodontal pockets of patients from the first group (doxycycline 1 x 100 mg) was slightly larger than the average value ($\bar{x}=2,65$) of the pocket depth in patients in the second group (doxycycline 2x20 mg). After 10 days of oral treatment the average value ($\bar{x}=3,53$ mm.) of the attachment of patients in the second group (doxycycline 2x20 mg) was slightly greater than the average value ($\bar{x}=3,38$ mm.) of the attachment in patients in the first group (doxycycline 1 x 100 mg). After 20 days and 1 month of oral treatment, the average value ($\bar{x}=3,48$ mm.) of the attachment in the first group of patients (doxycycline 2x20 mg) was slightly greater than the average value ($\bar{x}=3,35$ mm.) of the attachment patients from the first group (doxycycline 1 x 100 mg). After 2.5 months average value ($\bar{x}=3,35$) of EAM in patients from the first group (doxycycline 1 x 100 mg) was significantly greater than the average value ($\bar{x}=2,95$) of the attachment in patients in the second group (doxycycline 2x20 mg).

From differences between the two studied groups in terms of microbiological findings, distribution shown significant difference in the findings of Aa and Fn, but between the two groups of patients for all remaining microorganisms P spp, St m, Vl, Cl and Pg there was no statistical significant differences. It was notably, continuous and gradual reduction of the values of doxycycline in two subsequent media (gingival cervicular fluid and saliva) in the three examined periods, after 7, 15 and 30 days in the experimental group treated with 100 mgdoxycycline once a day for a month . In the group of patients treated with doxycycline 2x20 mg values of doxycycline noted in 18, 37 and 75 days continuous decrease in gingival fluid, but in saliva was evident easily increase in 37 days and after 75 days the values are definitely less than they measurement at day 18. The values of lactate dehydrogenase in the relation before and after treatment (group of patients undergoing systemic application doxycycline 100 mg once daily for 30 days) showed that the value of the activity of lactate dehydrogenase varies in GCF in interval $626,84 \pm 279,94$ U / L. After treatment the value of the lactate dehydrogenase activity is decreased and varies in interval $384,75 \pm 190,12$ U / L. Lactate dehydrogenase activity after treatment for $t=10,85$ and $p < 0,001$ ($p=0,000$) was significantly less compared to the value before treatment. Lactate dehydrogenase activity in relation before and after treatment (patient receiving doxycycline twice 20 mg. per day for 2.5 months) showed that pre-treatment value of lactate dehydrogenase rates range $616,84 \pm 272,01$ U / L. and after the treatment value of lactate dehydrogenase rates range $278,55 \pm 177,64$ U / L. The value of lactate dehydrogenase after the treatment for $Z=4,78$ $p < 0,001$ ($p=0,000$) was significantly less compared to the value

before treatment. The average activity ($\bar{x}=384,75$ U / L) of lactate dehydrogenase (after treatment) in patients of the first group (doxycycline 100 mg / 30 days) and $Z=-2,07$ $p < 0,05$ ($p=0.04$) was significantly greater than the average value ($\bar{x}=287,53$) of lactate dehydrogenase (after treatment) for patients in the second group (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 months). Values for the activity of lactate dehydrogenase in saliva are similar, almost identical, so the differences between the two studied groups are insignificant.

Conclusion: From clinical and microbiological point of view, Doxycycline as supplement to conventional therapy resulted in positive therapeutic effects, with statistically significant advantage in the group treated with sub dose doxycycline, at the same time with reduction of lactate dehydrogenase after the treatment.

Keywords: *Periodontitis, doxycycline, sub dose, lactate dehydrogenase, periodontal pathogenic bacteria.*

СОДРЖИНА

1. Вовед.....	1
2. Литературен преглед.....	7
3. Цел на трудот	14
4. Материјал и метод	16
5. Резултати.....	28
6. Дискусија	84
7. Заклучок	103
8. Литература	107

ВОБЕД

ВОВЕД

За етиопатогенетските случувања на пародонталната болест се вели дека се битни два главни фактори. Првиот фактор е микробиолошката компонента^(1,2,3) а, вториот е одговорот на домаќинот на периопатогените, особено кога станува збор за продукција на инфламаторните медијатори од имуните клетки. Секако дека посебно внимание им припаѓа на бројните ензими меѓу кои лактат дехидрогеназите (LDH), матриксметалопротеиназите (MMPs) и други кои може да ја иницираат и моделираат прогресијата и сериозноста на заболувањето. LDH се ензими чија суштинска улога е поврзана со разградување на екстрацелуларниот матрикс (ECM). Тие се способни за деструкција на речиси сите компоненти на ECM неповолно влијаејќи врз појавата и напредување на болеста.

Зголемено ниво на LDH е поврзано со појава и прогресија на пародонталната болест. Релевантноста на LDH во патогенеза на пародонталната болест меѓу другото е поврзана со инфламација на гингивата, деструкција на периодонциумот, па дури и губење на коскената маса. Сите овие механизми се базираат на неселективна инхибиција на животински модели при иницијација на пародонталната болест. Се верува дека системската инхибиција на сите ензими меѓу кои и LDH со субантимикробна доза кај поедини антибиотици сериозно може да влијае врз подобрување на клиничките резултати по спроведениот пародонтолошки третман кај заболениот пародонциум. Испитувањата покажуваат дека концентрацијата на LDH и нивната активност се значително повисоки во гингивата и гингивалниот цревикуларен флуид (GCF) кај пациенти со пародонтална болеста во споредба со оние кои имаат здрав пародонциум.

Со оглед на тоа дека инфламаторните медијатори и ензими се индикатори за појава, прогресија или регресија на пародонталната болест, докажана е силна поврзаност помеѓу вредностите на еден од најважните инфламаторни посредници MMP-8. Имено, концентрациите во гингивалното ткиво, GCF, длабочина на пародонталните џепови и клиничкиот губиток на атачментот се знатно повисоки кај заболениот пародонт.^(4,5) Лонгитудинално спроведените студии покажаа намалување на количеството и активноста на MMP-8 по успешно спроведениот пародонтолошки третман.⁽⁶⁾ Третманот за пародонтопатијата опфаќа отстранување на дентален плак и други иритирачки фактори (конзервативен третман) и превземање хируршки методи.^(7,8) Администрацијата на локални и системски антибиотици, антиинфламаторни лекови, или субантимикробиолошки мали дози на doxycycline се применуваат како адјуванси кои имаат можност да обезбедат дополнителни позитивни тераписки ефекти.^(9,10)

Субантимикробна доза на doxycycline е 20 mg доза на антибиотик кој се применува двапати дневно во третманот на хроничната пародонтопатија. Се верува дека со доза од 20 mg се овозможува прилично ефикасна инхибиција на ензимите, цитокините и остеокластите отколку со било кој антибиотик кој би се применил во полна или вообичаена доза. Од друга страна истражувачките студии не воочиле забележливи промени во оралната флора или бактериска флора во другите органи во телото на

индивидуите поради што го идентификувале како исклучително препорачлив начин на дозирање кое е од сериозна клиничка полезност кога се применува како дополе-ние во киретажа на пародонталните џепови.⁽⁹⁾ За клиничарите, ова е посебно поволен момент, кој овозможува широка применливост.

Општо прифатен факт е дека пародонталната болест е заболување познато како инфекција на пародонциумот. Како главни етиолошки фактори се споменуваат бактериите кои го менуваат локалниот имунолошки одговор и резултираат во соод-ветна ткивна деструкција. Поради инфективната природа на заболувањето главна цел во лекувањето би требало да биде супресија на ефикасните бактериски попула-ции одговорни за разградба на пародонтот.^(11, 12) Последните сознанија говорат дека локалната каузална терапија спроведена на афектираниот пародонт не е секогаш доволна за елиминирање на бактериите па затоа при одредени состојби во целокуп-ниот терапевтски третман може да се вклучи системска терапија со антибиотици.^(11, 13, 14)

Бактерискиот плак е основен фактор за иницијација на хроничната пародонтопатија (CP), но карактеристичните клинички знаци (длабочина на пародонталните џепови, епителна апикална миграција и алвеоларна коскена деструкција) примарно се резултат на нарушени и инсуфициентни имуни и одбрамбени механизми на домаќинот⁽¹⁵⁾. Успешноста на добиените резултати е различна кај различни инди-видуи и зависи од продукцијата и нивото на проинфламаторните медијатори, ензими и цитокини во сите развојни фази на болеста.⁽¹⁶⁾ Клучот помеѓу овие две крајности се matrix metalloproteinases (MMPs), фамилија на протеолитички ензими, ослобо-дени од макрофагите, ткивните фибробласти, епителните клетки и неутрофилните гранулоцити (PMNs). MMPs во себе вклучуваат collagenases, gelatinases, и други metalloelastases кои заеднички имаат капацитет да ги разградуваат сите компоненти на екстрацелуларниот матрикс од пародонциумот. Оштетување на колагенот, најго-лемиот структурен протеин во пародонциумот, има свое учество во деструкцијата на епителниот припој и коскената ресорпција.⁽¹⁷⁾ На овие клучни механизми во па-тогенетските случувања на пародонтопатијата се придружува и LDH која ги помага деструктивните и ресорптивните процеси во парододонталноткивниот комплекс.

Важноста на MMPs во пародонталната деструкција веќе е етаблирана. Сту-диите прикажуваат пораст на ткивните колагенази во инфламираната тингиа⁽¹⁸⁾ и во гингивалниот цервикален флуид (GCF)⁽¹⁵⁾. Порастот на нивоата од активираните неутрофили, колагеназите во GCF асоцираат со деструкција на пародонталниот ком-плекс кој крајно резултира во прогресивна пародонтопатија.⁽¹⁹⁾ Доколку постојаниот прилив на ензими во пародонциумот би напредувал, пародонциумот, брзо би се на-шол во една нерамноправна состојба, и би завршил со напредната деструкција на сите структури. Но, оваа почетна нарушена рамнотежа организмот се труди да ја ба-лансира на соодветен начин. Битен фактор во регулацијата на MMPs е инволвирање комплекс интеракции помеѓу цитокините, простагландините, growth factors, хормони и ендогени ткивни инхибитори (TIMPs).⁽²⁰⁾ Проинфламаторните цитокини како што е интерлеукинот 1- β (IL-1 β) настроени се кон надополнување на функцијата на MMPs, додека TIMPs ги подрегулираат.

Во нерамнотежата помеѓу активираните MMPs и нивните инхибитори може да се појави патолошка деструкција на екстрацелуларниот матрикс видлив како клинички наод при CP. Така на било каков начин, модулираната продукција на ензими кои учествуваат во разградба на пародонциумот може да има клинички бенефит во третманот на пародонталната болест.

Поради инфективната природа на заболувањето главна цел во лекувањето би требало да биде супресија на ефикасните бактериски популации одговорни за разградба на пародонтот. Последните сознанија говорат дека локалната каузална терапија спроведена на афектираниот пародонт не е секогаш доволна за елиминирање на бактериите па затоа во целокупниот терапевтски третман се вклучува системска терапија со антибиотици.^(21, 22,23)

Во литературата постојат податоци кои велат дека до денес најкористени антибиотици во третманот на пародонталната болест се тетрациклините. Тие најчесто се среќаваат во гингивалниот флуид, но, се и најефикасни против *Actinobacillus actinomycetemcomitans*^(24,25), бактерија која учествува во патогенетските случувања на пародонталната болест. Се верува дека терапевтскиот потенцијал на тетрациклините се должи на антимицробните ефекти на овие медикаменти. Овие агенси можат да ги инхибираат патолошките колагенази преку нивна блокада, но и да предизвикаат блокада на други матрикс деградирачки металопротеинази кои го инхибираат сврзно-ткивното уништување.^(26,27)

Actinobacillus actinomycetemcomitans заедно со другите периопатогени меѓу кои и *Porphyromonas gingivalis* се дел од биофилмот кој претставува протеински матрикс исполнет со бактериски популации. Овој биофилм се формира на инактивна или биоактивна површина и предизвикува хронични или рефрактерни инфекции и е главна причина за орални биофилм инфекции вклучувајќи го тука кариесот и пародонтопатијата.⁽²⁸⁾

Пародонталната болест има хроничен прогресиентен карактер, која ја предизвикуваат периопатогени анаеробни микроорганизми меѓу кои би ги вброиле: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema* и др. Тргувајќи од инфективниот карактер на болеста секако дека во напреднатите хронични облици на болеста во третманот се применуваат пеницилински, тетрациклински препарати, макролиди и други медикаменти.^(29,30)

Тетрациклините најпрво се изолирани од видот *streptomyces* во 1948, а полусинтетски нови верзии се произведени во облик на миноциклин и доксициклин.⁽³¹⁾ Иако антибиотиците (посебно тетрациклините) традиционално се преферираат за рани форми на пародонтопатија, во последните години се користат и кај понапреднати форми.⁽³²⁻³⁴⁾ Во некои од овие истражувања, следејќи ги промените во пародонтот при мерење длабочина на пародонтални џебови и клиничкиот атачмен применетите тетрациклини не прават значајна промена⁽³²⁻³⁴⁾, додека кај други, постигнат е успех во терапијата со помош на комбинирана терапија на тетрациклини и моноциклини.^(35,36)

Покрај тетрациклините во третманот на пародонталната болест се употребуваат и други препарати со широк спектар на дејство, меѓу кои и макролиди од причини

што бактериите од биофилмот многу често може да бидат резистентни на одредена група антибиотици. Ова може да биде една од причините на која се должи неуспехот на применетата терапија. Во тој контекст може да се укаже на фактот дека кај азитромицинот се забележани антибиофилм ефекти.^(37,38) Докажано е дека *Pseudomonas aeruginosa* присутен во оралниот биофилм е инхибиран од sub-MIC азитромицин,⁽³⁷⁾ додека пак кај *Haemophilus influenzae* азитромицинот врши супресија на биофилм формациите.⁽³⁸⁾ Повеќе од 500 различни бактериски видови влегуваат во составот на оралниот биофилм.⁽³⁹⁾ Најголемиот број од нив се опортунистички патогени, ретко предизвикуваат моноспециесни инфекции.

Искуствата покажале дека во третманот на пародонталната болест понекогаш кога тоа го дозволуваат индикациите се применува азитромицин. Заедно со механичката обработка на пародонталните џекови доведува до намалување на повторниот раст на бактериските периопатогени бактерии како што се *Porphyromonas gingivalis* и *Tannerella forciethia*.⁽⁴⁰⁾ Истовремено се подобруваат клиничките знаци и симптоми, се корегира длабочината на пародонталните џекови и клиничкиот атачмент.

Се смета дека примената на субдозите на азитромицин ја намалуваат експресијата на фимбрии од *Porphyromonas gingivalis*.⁽⁴¹⁾ Исто така, субдозите на азитромицин го инхибираат формирањето на *Porphyromonas gingivalis*.⁽⁴²⁾

Во суштина оралните биофилмови содржат многу бактериски видови, а нивната структура и биолошки особини се разликуваат во секоја микросредина, т.е. различни се кај секоја индивидуа.⁽³⁹⁾ Тешко е да се осознае механизмот на дејство на антибиотиците и нивните ефекти врз оралниот биофилм затоа што тој е составен од многу видови бактерии. Во литературата постојат сознанија со кои се докажува дека механизмот на дејство на антибиотиците и нивните ефекти врз оралниот биофилм сеуште е непознат. Главните причини за овој став е комплексниот состав на денталниот плак-многу разнолики специеси и видови микроорганизми. Всушност, моно и мултивидните биофилмови се разликуваат во структурата, па според тоа можат да се разликуваат и во пермеабилноста кон антибиотиците и нивниот ефект, оттука и разликите помеѓу екстрацелуларните полимерни супстанции и биофилм формирачките бактерии од оние во природните орални биофилмови.⁽³⁷⁾

Иако каузалната терапија е темел на пародонталната терапија, при одредени ситуации дополнителната антимикуробна хемотерапија може да ја подобри ефикасноста на третманот.⁽⁴³⁾ Антимикуробна терапија, обично се дава системски, и на тој начин нуди одредени предности во третманот на пародонталната болест. Во полето на делување, таа, не само што може да дејствува против патогените кои се наоѓаат на меките ткива, туку, таа може да ги инхибира микроорганизмите во други региони, кои се релативно непристапни, а тоа се длабоки, тесни пародонтални џекови. Литературата опишува голем број емпириски протоколи за лекување на пародонталната болест со примена на системски антибиотици. Овие протоколи најчесто се базираат на примена на доксициклин^(44,45) или комбинација на амоксицилин и метронидазол.⁽⁴⁶⁻⁴⁸⁾

Други протоколи вклучуваат клиндамицин⁽⁴⁹⁾, амоксицилин⁽⁵⁰⁾, или метронидазол^(51,52), како единствени медикаменти. Во моментот сеуште не постојат универзално прифатен став кој би требало да се користи во третманот на пародонталната болест.

Doxycycline е член на фамилијата тетрациклински антибиотици. Во *in vitro* услови докажана е инхибиторната активност на колагеназата⁽⁵³⁾, а во *in vivo* редуцирано ниво на колагеназа во GCF, кај пациенти со CP^(54,55)

Антиколагенолитичното својство на doxycycline е евидентирано дури кога лекот е препишан и употребуван во доза од 20 mg двапати дневно.⁽⁵⁶⁾ Докажано е дека примената на субантимикробната доза doxycycline во подолг временски период (SDD; 20 mg x 2 дневно) не предизвикува антибиотска резистентност ниту пак штетни промени во нормалната пародонтална флора.^(57,58)

Употребата на SDD како дополние на конзервативно спроведениот третман е нов приод во лекување на пародонталната болест. Стандардниот третман на пародонталната болест опфаќа обработка на атакираниот сегмент кој се покажа како прилично ефикасен во забавување или запирање на понатамошниот прогрес на болеста.⁽⁵⁹⁾ Не секогаш третманот завршува со задоволителни или солидни резултати. Понекогаш киретажата на пародонталните џепови може да биде делумно компромитирана од различни причини. Тука би ги вброиле: длабоките пародонтални џепови, или пациенти со посебни потреби или ризик фактори.

Всушност долготрајната примена на SDD како дополние на стандардно применуваниот конзервативен третман, е следена кај група пациенти со умерена форма на CP.⁽⁵⁷⁾

Студијата прикажа дека групата третирана со SDD покажува подобри клинички резултати кога станува збор за длабочина на пародонтални џепови и апикална миграција на атачменот т.е. нивото на клиничкиот атачмент.

Сепак, дозирањето се спроведува по строго одредени критериуми со цел да се исползуваат корисните ефекти, а да се избегнат несаканите. Но, прекумерната употреба или злоупотреба, како и широката примена на профилатички антибиотици доведоа до појава на отпорни микроорганизми, на кој антибиотиците не делуваат. Во тој случај ефектот од нивната клиничка примена изостанува.

Неконтролираната примена на антибиотик од дозен аспект временска прераспределба или времетраење на терапијата може да ја наруши оралната микрофлора, но и флората во гастроинтестиналниот тракт и вагината⁽⁶⁰⁾ предизвикувајќи компликации. Оттука и потребата да се избегнува неадекватната употреба на антибиотици посебно оние кои се мошне активни кон *Lactobacillus*-ите. Во текот на изминатите две децении многу стоматолозите ја прифатија антибиотска терапија како моќен додаток на конвенционално применетите механички постапки во лекување на пародонталната болест.^(61,62)

На пазарот се нудат бројни антибиотици кои може да бидат применети при афекции на пародонтот, но често е нејасно со кој антибиотик ќе се обезбеди најголема корист кај заболени со пародонтопатија, а сепак ќе продуцираат минимално несакани ефекти.

ЛИТЕРАТУРЕН
ПРЕГЛЕД

ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД

Искуствата покажаа дека конзервативниот и хируршкиот третман во комбинација со соодветно применети орално хигиенски мерки може да ја спречат натамошната деструкција на пародонтот кај повеќето поединци со намалување на вкупната супрагингивална или субгингивална бактериска маса.⁽⁶³⁾ Сепак, и покрај спроведената соодветна орална хигиена и стоматолошка терапија, кај некои индивидуи може да продолжи пародонталната деструкција која завршува со прогресивна пародонтална афекција и пародонтални дефекти. Се смета дека овие клинички ноди може да се должат на дејството на периопатогените бактерии како *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium-nucleatum*, *Treponema denticola*, *bacteroids*. Тие ги напаѓаат пародонталните структури или пак се сместуваат и престојуваат во фуркациите во тешко пристапните зони каде физиолошкото и механичкото чистење е малку достапно, или пак се локализираат на површините до кои пародонталниот инструментариум тешко достига.

Понекогаш се вели дека нарушените одбрамбени снаги на домаќинот на системско или локално ниво може да даде свој сериозен допринос.⁽⁶³⁾ Констатирано е дека посебната група периопатогени микроорганизми така наречен "црвен комплекс" имаат тенденција да живеат во делот на биофилмот кој се прилепува на епителните површината од мекиот ѕид на пародонталниот џеб. Овие зони се прилично непогодни за отстранување на плакот од причина што оваа површина пациентот не може да ја исчетка за време на одржување на оралната хигиена.⁽⁶⁴⁾

Вообичаено во секојдневната клиничка пракса пародонтот е подложен на конзервативен третман, без примена на антибиотска терапија. Сепак главни кандидати за примена на системска или локална антимикуробна терапија се оние пациенти каде и после применетиот конвенционален третман продолжува загубата на пародонталното ткиво, пациенти со агресивна форма на пародонтопатија или пак оние кај кои постојат предиспонирачки медицински услови⁽⁶⁵⁾ за напредување на болеста или чести рецидиви на истата. Пациентите со акутна или тешка пародонтална афекција (пародонтални апсцеси, акутен некротизирачки гингивитис или пародонтопатија), исто така може да имаат корист од примена на антибиотската терапија.⁽⁴³⁾

Системски применетата антибиотска терапија има за цел да го зајакне заболениот пародонт и да ја стимулира одбраната на домаќинот со цел да се надмине инфекцијата со уништување на периопатогените кои остануваат присутни и после спроведената каузална терапија.⁽⁶⁴⁾ Сепак, се смета дека осетливоста на бактериите кон антибиотици може да биде клуч за ефикасност од примената на системски антибиотици во третманот на пародонталната болест. Неколку хемотерапевтски агенси, исто така, може да ја намалат колагенската лиза и деструкција на коската преку нивната способност да го инхибираат ензимот колагеназа, но и да делуваат на другите ензими од денталниот плак одговорни во случувањата на пародонталната болест. Еден одреден дел од пациентите со гингивитис или хронична пародонтопатија

обично добро реагираат на каузална терапија и оттука од применетата антибиотска терапија би имало мала или никаква дополнителна корист.

Литературата која ни беше на располагање покажа разноликост во добиените резултати од примена на медикаментите кои се користеа во третманот на пародонталната болест поединечно, или како дополнение на основната каузална терапија. Иако по овој основ наидовме на прилична хетерогеност, сепак применетите антибиотици делуваа врз повеќето бактериски соеви.

Во студијата на Oettinger-Barak⁽⁶⁶⁾, била употребена комбинација на амоксицилин, метронидазол и доксициклин во лекување на пародонталната болест. Резултатите од студијата докажале дека бактериите од сојот *A. actinomycetemcomitans* биле поосетливи *in vitro* на doxycycline отколку на амоксицилин и метронидазол. Влијанието на метронидазолот и амоксициклиноот врз *A. actinomycetemcomitans* во третманот на пародонталната болест е опишан и во други студии.^(46, 67) Спротивно на овој наод оваа комбинација се покажала како ефикасен лек во третманот на *A. actinomycetemcomitans* поврзан со пародонталните афекции.^(67,68) Синергетска интеракција која го подобрува амоксицилин метронидазолското навлегувањето во *A. actinomycetemcomitans* е објавено и објаснето од други истражувачи. Во оваа прилика го апострофираме наодот на Pavićić.⁽⁶⁹⁾ Иако е потенциран неговиот бенефит сепак, постои загриженост дека *A. actinomycetemcomitans* видовите развиваат отпорност кон двата медикамента: метронидазол и амоксицилин^(67,70) што донекаде ја ограничуваат нивната ефикасност применета како комбинација.

Во едно од истражувањата испитувани се пациенти со напредната хронична пародонтопатија кај кои е администриран doxycycline две недели пред да се спроведе флап интервенција. После интервенцијата анализирани се екстракти од гингивалниот флуид во кој е мерена активноста на колагеназата. Резултатите од истражувањето покажуваат дека doxycycline-от сигнификантно ја намалил активноста на колагеназата во гингивата и гингивалниот цервикален флуид во пародонталните џепови. Во овој контекст исто така е докажано дека позитивните терапевтски ефекти се должат на супримирана ензимска активност кај бројни ензими меѓу кои и матрикс металопропротеиназите во инфламираното гингивално ткиво и гингивалниот цервикален флуид кај адултни пародонтопатични пациенти. Се верува дека тие директно можат да бидат инхибирани од doxycycline-от.⁽²⁶⁾

Akalin⁽²⁹⁾ примеувајќи doxycycline локално и системски забележал значителни подобрувања кај сите испитувани пациенти. Нивото на клиничкиот атачмент и длабочина на пародонталните џепови значително се намалиле помеѓу првиот преглед и седмата недела од спроведениот третман. Гингивалната инфламација, сулкусното крварење и плак индексот покажале сигнификантно редуцирање на привично добиените вредности. Наодите кои се регистрираат после системската или локалната апликација на doxycycline се значителна редуција на нивоата на длабочина на пародонталните џепови и клиничкиот атачмент со кои се потенцира нивната ефикасност во третманот на пародонталната болест. Вообичаено позитивниот терапевтски ефект од применетиот антибиотик се евидентира после применетата конзервативна терапија, но кај одредени спорадични случаи е забележан и онаму каде не е применет

конзервативен третман. Овој наод ги потврдува претходните студии кои користат системски или локални тетрациклински третмани. Студиите во кои се опсервирани наодите после системска примена на doxycycline⁽⁴⁴⁾ кај пациенти со локализирана агресивна пародонтопатија^(71,72) и кај пациенти со хронична пародонтопатија⁽⁷³⁾ бележат намалена длабочина на пародонталните џебови и/или клинички гингивален атачмен и подобрени клинички параметри.

Генерално, податоците укажуваат дека тетрациклинските препарати кои се користат како монотерапија без дополнителна механичка обработка на пародонталните џебови се ограничено ефикасни во редуција на длабочината на пародонталните џебови и клиничкиот атачмент.^(74,75) Слични наоди се добиени со локална доксициклинска терапија.^(76,77) Сепак Akalin⁽²⁹⁾, постигнатата клиничка ефикасност на лекот без разлика на нејзината апликација системски или локално смета дека е резултат на антимицробните својства на тетрациклинот т.е. doxycycline. Тој вели дека позитивните ефекти на системските антибиотици кај прогресивната пародонтопатија најчесто се должат на влијанието врз специфичните периопатогени.⁽¹¹⁾ Системскиот внес на антибиотиците во организмот веднаш се транспортира длабоко во пародонталните џебови до зоните во кои тие се присутни.⁽²⁵⁾ Според авторот⁽²⁹⁾, позитивните клинички ефекти постигнати кај пациентите кои применуваа doxycycline локално може да биде резултат на силниот ефект на лековите поради нивната голема концентрација во оваа зона.

Системската примена на тетрациклини комбинирана со каузална терапија допринела до подобрени клинички ефекти т.е. корекција на длабочината пародонталните џебови и нивото на клиничкиот атачмент.⁽⁷⁹⁾ Овој наод е во сооднос со претходните соопштенија од други автори кои го препорачуваат овој модел како еден од најефикасните во третманот на заболениот пародонт.

Во литературата најдовме на податоци во кои добиени се наоди кај пациенти кои не реагирале на обработка на пародонтални џебови⁽⁷⁹⁾ или кај пациенти кои не реагирале на системската терапија.^(80,81)

Во студијата на Akalin⁽²⁹⁾ најдовме на фактот дека системската апликација на doxycycline, обезбедува најмала редуција на пародонталните џебови дури и значително помала од локалната апликација и обработката на пародонталните џебови, како и помеѓу применетата каузална терапија комбинирана со локална или системска апликација на doxycycline. Овие наоди се идентични со наодите на повеќе претходни студии во кои не постои значајна разлика помеѓу механичкиот третман комбиниран со тетрациклин или миноциклин и спроведениот механички третман самостојно.^(32,33) Сепак, постојат спротивни наоди во кои се преферира комбинираната техника. Имено, апликацијата на системскиот тетрациклин комбиниран со механичка обработка резултира во намалена длабочина на пародонталните џебови, корекција на нивото на атачментот и редуцирана патолошка микробиолошка содржина. Оваа превземена терапија е далеку поефикасна отколку самостојната обработка на пародонталните џебови.^(24,82)

Овие резултати се во согласност со оние кои покажуваат дека тетрациклините обезбедуваат подобар резултат отколку обработка на пародонталните џебови.⁽⁸³⁾

Се вели дека нивниот терапевски ефект се должи на инхибиторното својство врз постоечките ензими во ткивото. Во повеќе истражувања докажани се инхибиторните ефекти на doxycyclin-от врз матрикс деградирачките ММП протеинази.^(25,26) Резултатите индицираат дека антибиотикот како додаток на каузалната терапија исто така обезбедува поуспешно клиничко лечење отколку самостојно спроведената каузална терапија без антибиотик.⁽⁸⁴⁾ Студијата покажува редуција на длабочината на пародонталните џебови и корекција на нивото на клиничкиот атачмен при дополнително применета антибиотска терапија, наспроти дополнително користење плацебо.⁽⁸⁴⁾ Докажано е дека позитивните терапевски ефекти се должат на примената на ниските дози на doxycycline подолг период (6-9 месеци).

Alkin⁽²⁹⁾, вели дека постојат неколку истражувања кои ја споредиле ефикасноста на локалниот третман наспроти системската администрација на антибиотици^(52, 85,86).

Во еден од нив не е пронајдена значајна разлика помеѓу третманите во однос на длабочината на пародонталните џебови и клиничкиот атачмен.⁽⁵²⁾ Слично во други истражувања се смета дека нема разлика во клиничките резултати кога апликацијата на локален метронидазол се споредува со системски метронидазол.⁽⁸⁵⁾ Prucker и останатите⁽⁸⁶⁾ ги споредиле клиничките ефекти на системски аплицираниот амоксицилин/клавулонска киселина со локална тетрациклинска терапија 3 месеци по обработка на пародонталните џебови и заклучиле дека се добиваат слични клинички резултати.

Добро е познато дека локалната администрација на антибиотикот може да постигне многу поголеми терапевтски дози, отколку оние дози кои се постигнуваат при системска терапија^(11,13,14). Исто така забележано е дека тетрациклините аплицирани локално се задржуваат на површината на коренот на забот и обезбедуваат пролонгирано дејство во пародонталниот џеб⁽⁸⁷⁾.

Сепак, длабочината на пародонталните џебови измерени и прикажани во милиметри не се апсолутни индикатори на биохемиските, микробиолошките и имунолошките случувања во пародонталните џебови и околните ткива. Тие индиректно се показатели на подобрувањата или влошувањата во џебовите и нивната околина. Микробиолошкиот состав на субгингивалната флора е еден од најважните фактори за појава и прогресија на пародонталната болест. Од тие причини, за прецизирање на проценката од овој тип потребно е да се направи микробиолошка анализа (посттретман на субгингивалната микрофлора). Овој момент е многу важен при третирање на прогресивна пародонтопатија од дијагностички и прогностички аспект.⁽¹¹⁾ Докажано е дека системската тетрациклинска терапија е способна да искорени поедини бактериски соеви⁽²⁵⁾ но, локалниот третман не е во состојба да го стори тоа.⁽⁴⁴⁾ Оттука потекнува и предноста на примена на антибиотската системска терапија. Во литературата од тетрациклинските препарати се апострофира doxycyclin-от како посебно ефикасен во третманот на пародонтопатијата. Но, начинот на дозирање е прилично различен. Во прашање е полна или субдоза на doxycycline со сите предности и несакани ефекти. Долги години наназад се препорачуваат ниски дози на овој антибиотик кој се ординира долготрајно.

Doxycycline-от е антибиотик кој се користи во третманот на различни воспалителни состојби, вклучувајќи ја и пародонтопатијата. Покрај своите антимикробни

својства, овој медикамент, исто така, има противвоспалителни својства кога се применува во суб-антимикробни дози. Докажано е дека применет во субдоза тој предизвикува инхибиција на повеќе цитокини како што се (TNF)- α , интерлеукин (IL)-1 α , IL-1 β , IL-6 и IL-8. Кинетиката на антибиотикот покажува рана (во рок од 2 часа) и значајна инхибиција на про-инфламаторните цитокини. Всушност субдозите на doxycycline-от делуваат како противвоспалителен агенс во моноцитите стимулирани со *A. actinomycetemcomitans*. Овој модел дава јасни докази дека некои од клинички докажаните бенефиции на ординирани ниски дози може да бидат поврзани со неговата способност да го регулираат ослободувањето на медијатори од моноцитните клетки. Ова својство може да придонесе за клинички докажаните предности на овој антибиотик применет како дополнителна терапија во лекување на пародонталната болест.⁽⁸⁸⁾

Преку литературата дознаваме дека субантимикробните дози на doxycyclin-от поволно влијаат врз пародонтот. Имено, резултатите добиени од студијата даваат дополнителни информации за корисноста на ниско применетите дози во терапијата како дополние на нехируршкиот третман во долгорочно одржување на постигнатите резултати при лекување на пародонтопатијата.⁽⁸⁹⁾

Всушност, применетата терапија во третманот на пародонтална болест, влијае врз намалување на бактериските наслаги како важен фактор на ризик, и редукција на металопротеиназите и другите ензими кои учествуваат во деструктивните процеси на пародонтот.

Конвенционалниот пародонтолошки третман потпомогнат со doxycycline (20 mg орално) предизвикува поволни клинички резултати. намалување на крварењето, редукција на длабочината на пародонталните џебови, и корекција на епителниот припој.⁽⁹⁰⁾

Се верува дека ламининот-5 (LN-5) е вклучен во апикалната миграција на епителните клетки во текот на развојот на пародонтопатијата и продлабочувањето на пародонталните џебови.⁽⁹¹⁾ Ниска доза на doxycycline терапевтски може да го моделира одговорот на домаќинот. Истражувањата на овој план се прилично напреднати. Сегашните податоци покажуваат дека субантимикробните дози на doxycycline-от применет како тераписки модел во комбинација со конзервативниот третман може да ја намали GCF LN-5 и да влијае врз подобрување на клиничките пародонтолошки параметри кај пациенти со хронична пародонтопатија. Од матрикс металопротеиназите (MMP) - фрагментација на laminin-5 може да придонесе во продлабочување на пародонталните џебови преку стимулирање на епителната клеточна миграција. Но, намалување на LN-5 гатта 2 синџирот може да се обезбеди нов механизам со кој субдозите на doxycycline, како дополние на стандардно применетата терапија, има можност да ја инхибира разградбата на пародонталните ткива и да делува многу поефикасно отколку без doxycycline. Субантимикробните дози обезбедуваат продолжени и позитивни клинички ефекти врз заболениот пародонт.

Спротивно на овие наоди⁽⁹²⁾, испитувајќи ја ензимската активност на одредени протеини во гингивалниот цервикален флуид при режим на ниска доза на doxycycline не е пронајдена поврзаност со пародонтот. Имено, очекуваните ниски вредности на

активност на алкалната фосфатаза, аспартат аминотрансфераза, аланин аминотрансфераза и еластаза во гингивалната цервикална течност кај хронична пародонтопатија не била потврдена.

Во одредени литературни извештаи⁽⁹³⁾ се потенцира фактот дека суб-антимикробната доза на doxycycline може поволно да влијае врз пародонтот, но применет во комбинација со алендорфот може да го зголеми коскениот ремоделирање и да ги спречи ресорптивните промени на коската.

Добро е познат фактот дека пародонталната болест има мултифакториелна етиологија, во која микроорганизми играат важна улога. Суштинска компонента на секоја спроведена терапевска постапка би била да се елиминираат или да се контролираат овие патогени. Оваа цел постојано и традиционално се остварува преку примена на конзервативниот третман како што е обработка на пародонталните џепови, кои мора да признаеме дека секогаш не се доволно ефикасни особено кога станува збор за напреднати клинички форми на хронична или агресивна пародонтопатија кога се вклучени одредени групи микроорганизми кои не можат да се отстранат механички. Во овие и слични ситуации потребна е анти-инфективна терапија, која вклучува локални и системски антибиотици.⁽⁹⁴⁾

Со оглед на тоа дека за хроничната пародонтопатија се вели дека има инфективна природа, се наметна потребата од широка употреба на антибиотици, како додаток на киретажа на пародонталните џепови. Постојат многу антибиотици на располагање, кои се применуваат системски или локално.⁽⁹⁵⁾ Тетрациклините се лекови кои имаат широк спектар на дејство и за кои се вели дека се антибиотици кои го инхибираат растот и развојот на анаеробните микроорганизми, оттука и препораките за нивна примена и начинот на дозирање при лекување на пародонтопатијата.⁽⁹⁶⁾

Не секогаш антибиотите може да бидат единствена дополна на конзервативно применуваниот третман. Поедини екстракти се посочуваат како многу ефикасни во третманот на пародонтопатијата. За ликороичната киселина се вели дека е екстракт кој може да ја спречи продукцијата на MMPs и може да биде корисна скоро идентично како што делува doxycyclin-от. Докажано е дека екстрактот поволно делува врз заболениот пародонт и другите инфламаторни лезии во усната празнина. Во недостиг на доволно искуства на овој план мора да се посочи дека нејзината примена не предизвикува несакани ефекти со кои користењето на овој екстракт би бил ставен под прашање.⁽⁹⁷⁾

Спроведените анализи во услови *in vitro*, докажале дека ниските антимикробни дози, долготрајно применувани предизвикуваат позитивни клинички ефекти врз оштетениот пародонт.⁽⁹⁸⁾

ЦЕЛ НА ТРУДОТ

ЦЕЛ НА ТРУДОТ

Базирајќи се на литературните податоци кои се однесуваат на примена на антибиотици во третманот на пародонталната болест, во е кој потенциран фактот дека субантимикробна доза на doxycycline не ја менува антимикробната суспектибилност (бактериска резистентност), а резултира со антиинфламаторен ефект во третманот на хроничната пародонтопатија, ја поставивме целта на оваа магистерска работа:

- да ја компарираме клиничката ефикасност на системската примена на doxycycline во терапевтска доза (100 mg еднаш дневно) и суб-антимикробна доза (2 x 20 mg на ден);
- да ја дефинираме активноста на лактат дехидрогеназата врз пародонталното ткиво во зависност од примената доза и
- да го прецизираме микробиолошкиот наод при примена на системска нормална и субантимикробна доза на doxycycline.

МАТЕРИЈАЛ И
МЕТОД НА РАБОТА

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА

I - Студиска група

Сите пациенти кои беа планирани да бидат дел од студијата беа информирани за нивно евентуално учество. Изборот е направен случајно, а се базира врз основа на разговор и личен став на секој од нив. Од оние кои доброволно покажаа желба да бидат дел од студијата обезбедена е писмена согласност да се приклучат во истражувањето. Во селекција на пациентите земена се предвид критериумите за вклучување и исклучување според наведениот протокол одобрен од страна на Етичката комисија на Стоматолошкиот факултет при УКИМ во Скопје.

Студијата ја оформија вкупно 60 испитаници - пациенти на возраст од 30-70 години со клинички манифестна т.е. умерена форма на хронична пародонтопатија каде длабочината на пародонталните џепови на одредена репрезентативна група заби изнесуваше од 3-5 mm. Дијагнозата на секој поединец од студиската група беше поставена според земените анамнестички податоци во кои е вклучена медицинската и стоматолошка историја на пациентите, клинички преглед и по потреба анализа на рендген слика.

Селекцијата на пациентите е направена на Клиниката за болести на устата и пародонтот, при Универзитетскиот стоматолошки клинички центар во Скопје. Во оваа студија кај испитуваната група (селектирани пациенти) како дополнителни критериуми се земена предвид критериумите за вклучување и исклучување од студијата:

Критериуми за вклучување:

- пациенти со клинички манифестна пародонтопатија со длабочина на пародонталните џепови од 3-5 mm;
- пациенти кои во последните два месеци не примале лекови од било која група антибиотици;
- пациенти со најмалку три заби во еден секстант и
- пациентите, кои имаат најмалку 12 заби во забалото

Критериуми за исклучување:

- пациенти кои примаат антимикуробни системски средства;
- пациенти кои примаат нестероидни и други антиинфламаторни лекови;
- пациенти кај кои е дијагностицирано било какво срцево, бубрежно или акутно инфективно заболување;
- пациенти кај кои не е спроведена киретажа на пародонталните џепови во последните 3 месеци;
- пушачи, алкохоличари, бремени жени, пациенти со малигни заболувања на дојката;
- пациенти алергични на антибиотици;

- пациенти со лоша орална хигиена или
- пациенти кои користат било какви хербални лекови и екстракти.

II - Дизајн на студијата

Пред спроведување на постапката пациентите беа замолени да ја исплакнат устата. По сушење и соодветна изолација во регионот во кој требаше да се интервенира, се земаа мостри од гингивалниот цервикален флуид и плунка.

Собирање на примероци од гингивален флуид. Примероците од гингивален флуид се собрани користејќи метилцелулозни ленти со димензии 2 x 5 mm. (Whatmann 3 MM Chromatography paper) од најмалку 10 пародонтални џебови со длабочина од 3- до 5 mm ($PD \leq 5$ mm). За да се минимизира можната контаминација со плунка што може да пречи во изведувањето на анализите задолжително беше потребно да се обезбеди суво работно поле. За таа цел, пред собирањето на примероците, со стерилна газа се изолира површината околу пародонталните џебови и се исуши маркираната регија со млаз на воздух.

Метилцелулозната лента со помош на пинцета нежно и внимателно се внесува во пародонталниот џеб и се остава да стои 30 sek. На овој начин гингивалниот флуид навлегува во хартијата по пат на капиларни сили. По истекот на времето, лентата со примерокот се пренесува во Eppendorf епрувети за микроцентрифугирање. За процена на волуменот на гингивален флуид што е собран при земањето на примероците, Eppendorf епруветките се мерат и откако примерокот ќе се собере. Разликата во масите помеѓу празна Eppendorf епруветка и Eppendorf епруветка која содржи собран примерок е еднакава на волуменот на собран гингивален флуид⁽⁹⁹⁾. Собраните примероци може да се анализираат веднаш или да се чуваат до изведување на анализите, замрзнати на температура од -20 °C.

Еден од примероците е наменет за одредување концентрација на doxycycline, а другиот за одредување активност на лактат дехидрогеназа.

Собирање на примероци од плунка. Кај сите испитаници концентрацијата на doxycycline и лактат дехидрогеназа е одредувана во нестимулирана плунка. Примероците од нестимулирана плунка кај пациентите од двете групи е собрана наутро пред појадок. На сите индивидуи вклучени во студијата им беа дадени инструкции да се воздржат од јадење, пиење, пушење и четкање на забите еден час пред колекционирањето на плунката.

Истовремено со собирањето на гингивалниот флуид, од пациентите се собира нестимулирана плунка во стерилни чашки за урина и примероците плунка се чуваат на -20 °C, се до изведувањето на анализите.

Во текот на колекционирањето испитаниците плукаа во специјални епрувети на секои 30 секунди. Периодот на колекција траеше 5 минути.

При првиот преглед и последниот ден од обсервацијата беше земен материјал за одредување патогени микроорганизми.

По земање мостри, оние примероци кои беа наменети за одредување концентрација на doxycycline и активност на лактат дехидрогеназата, беа транспортирани на Фармацевтскиот факултет во Скопје, а оние од кои требаше да се изолираат микроорганизми на Институтот за јавно здравје при Медицинскиот факултет во Скопје.

Пациентите се поделени во две групи (вкупно n=60). Група А е третирана со антимикробна доза од 100 mg капсули doxycycline

(30 испитаници) еднаш дневно во тек на 30 дена, а во групата Б со исто толку испитаници каде се ординирани капсули 2x20 mg дневно doxycycline во тек од 75 дена.

Кај сите испитаници по спроведената дијагностика и констатација на состојбата е спроведен конзервативен третман кој опфати отстранување забен камен, меки наслаги, дентален плак и други иритирачки фактори, обработка на пародонталните џебови и ординирање doxycycline во соодветна доза (зависно од групата за која е наменет). Вкупната доза која ја примија пациентите во текот на терапевтскиот третман без разлика на дневната доза и динамиката на апликација е 3 g.

Првата група која беше на системска примена doxycycline 100 mg еднаш дневно вкупно планираната доза ја прими во рок од 30 дена. Втората група пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg дневно (наутро и навечер) терапијата со doxycycline ја завршија после 75 дена т.е. (два и пол месеци) исто така во вкупна доза од 3 g.

Кај испитаници се спроведени следните клинички и параклинички истражувања.

Клинички испитувања

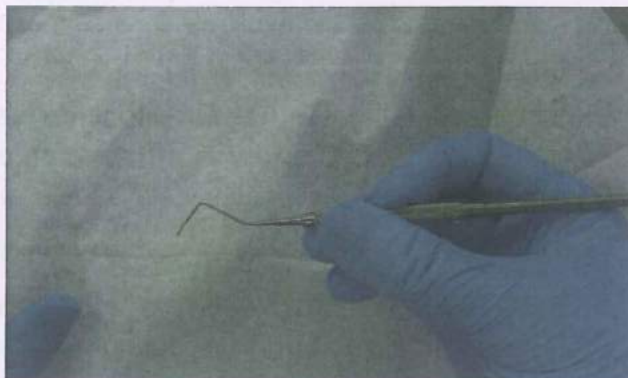
Кај испитаниците од двете групи клинички се регистрирани следните параметри:

- Индекс на дентален плак според Löe-Sillness;
- Индекс на гингивална инфламација и гингиворагија според Cowell;
- Индекс на длабочина на пародонтален џеб според Raimford и
- Индекс на апикална епителна миграција т.е. клиничко ниво на атачмент.

Индексот на дентален плак според Löe-Sillness е регистриран со визуелна метода преку боење со метиленско плаво, и одредување на обоената зафатнина, според која беше и евидентиран нумерираниот индекс кој му припаѓа.

Индексот на гингивална инфламација и гингиворагија според Cowell е одредуван одделно. Инфламацијата со инспекција, а за гингиворагијата беше применет и методот на сондирање.

Индекс на длабочина на пародонтален џеб според Raimford беше евидентиран со мерење на длабочината на џепот од маргиналната гингива до дното на џепот со примена на пародонтална сонда Jakobi Dental Instruments, Industriestraße 2 69207 Sandhausen, Federal Republic of German кај репрезентативно определената група заби (сл.1).



Сл.1. Пародонтална сонда

Индекс на апикална епителна миграција т.е. клиничко ниво на атачмент беше одредувана истотака со пародонтална сонда Jakobi Dental Instruments, Industriestraße 269207 Sandhausen, Federal Republic of German од емајлово-цементното споиште до дното на пародонталниот џеп.

Мерењата кои се однесуваат на клиничките знаци и симптоми спроведени на почетокот на третманот, после 10 дена, 20 дена, 1 месец и 2,5 месеци од применетата тераписка процедура (сл.2 А) и Б).



А)



Б)

Сл.2. Пародонтопатија: А) клиничка манифестација; Б) мерење пародонтален џеп

Параклинички испитувања

Лабораториски е одредувана активноста на лактат дехидригеназата и концентрациите на doxycycline во гингивален флуид и нестимулирана плунка. Примероците на нестимулирана плунка кај пациентите од двете групи се собирани наутро пред појадок. На сите индивидуи вклучени во студијата им беа дадени инструкции да се воздржат од јадење, пиење, пушење и четкање на забите еден час пред колекционирањето на плунката.

1. Одредување активност на лактат дехидрогеназа во гингивален флуид и плунка.

Одредување активност на лактат дехидрогеназа (LDH) во гингивален флуид и плунка се изведе со примена на ензимски метод, пред спроведенот третман и после третманот (независно дали е аплицирана доза 1x100 mg, или 2x20 mg doxycycline).

2. Одредување doxycycline во гингивален флуид и плунка

За квантитативно определување на концентрациите на doxycycline во гингивален флуид и плунка применет е метод на течна хроматографија со флуоресцентна детекција.

Динамиката со која е спроведено одредувањето концентрацијата на доксициклин во двата медиума е следна:

- Доза од 100 mg еднаш дневно: 7, 15, 30 дена од примената на антибиотикот;
- Доза од 20 mg два пати дневно: 18, 37,75 дена од примената на антибиотикот.

Капсулите кои содржат 20 mg doxycycline и кои се ординирани 2 пати дневно се изработени на Институтот за фармацевтска технологија при Фармацевтскиот факултет во Скопје, а контролата на квалитет е извршена во Центарот за испитување и контрола на лекови при Фармацевтскиот факултет во Скопје и Институтот за микробиологија и паразитологија при Медицинскиот факултет во Скопје.

Апаратура, помошен лабораториски материјал, стандардни супстанции, реagenси, подготовка на раствори.

Апаратура

- Систем за високо-ефективна течна хроматографија (HPLC) – Agilent 1200 Series опремен со бинарна пумпа, автосемплер и флуоресцентен детектор (FLD).
- Микроцентрифуга, Centurion Scientific K3
- Механички мешач (Вортекс), Heidolph, REA, Germany
- Аналитичка вага, Sartorius

Помошен лабораториски материјал

- Епрувети за микроцентрифуга, Eppendorf, Germany
- Стерилни чашки за урина
- Whatmann 3MM Chromatography paper, Whatmann Lab. Sales Ltd., Maidstone, Kent, UK)

Стандардни супстанции

1. Доксициклин хиклат, сертифициран референтен стандард, CRM Sigma Aldrich, Germany
2. Тетрациклин хидрохлорид, > 95% (Ph.Eur), Sigma Aldrich, Germany
3. Окситетрациклин хидрохлорид, > 95% (HPLC), Sigma Aldrich, Germany

3.2.4 Реагенси

1. Вода, HPLC grade, TKA-LAB, Germany
2. Метанол, HPLC grade, Carlo Erba, Italy
3. Натриум ацетат трихидрат, $\text{CH}_3\text{COONa} \times 3\text{H}_2\text{O}$, Merck, Germany
4. Калциум хлорид дихидрат, $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$, Sigma Aldrich
5. Натриумова сол на етилендиаминтетраоцетна киселина, $\text{Na}_2\text{EDTA} \times 2\text{H}_2\text{O}$ (Ph. Eur), Applichem, Germany
6. Натриум хидроксид, NaOH, p.a, Sigma Aldrich, Germany
7. Ензимски кит за одредување на каталитичката активност на лактат дехидрогеназа (LDH)– Biosystems

Подготовка на раствори

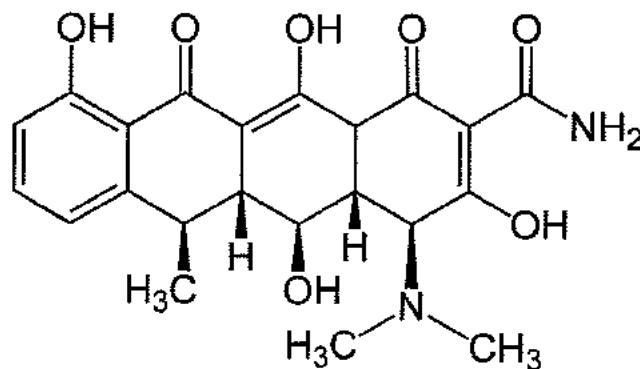
Подготовка на основни и работни стандардни раствори на доксициклин хиклат и тетрациклин хидрохлорид

1. Основни стандардни раствори на доксициклин и тетрациклин

Основниот стандарден раствор на доксициклин (DOX) со концентрација 1 mg mL^{-1} и основниот стандарден раствор на тетрациклин (TC) со концентрација 1 mg mL^{-1} се подготвени во метанол. Основните стандардни раствори се подготвуваат во волуметриски садови од темно стакло и се чуваат во фрижидер.

2. Работни стандардни раствори на доксициклин и тетрациклин

Работните стандардни раствори на DOX кои се користат за подготовка на работни раствори на GCF за конструкција на калибрационата крива се подготвуваат од основниот стандарден раствор, во следните концентрации: $1,25 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, $5,00 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, $12,50 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, $25,0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, $37,50 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, $50,00 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ и $62,50 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. За подготовка на работни раствори на плунка, се користи работен стандарден раствор на DOX со концентрација $1,0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ (сл.2).



Сл. 2. Хемиска структура на доксициклин хиклат

Работниот стандарден раствор на тетрациклин хидрохлорид се подготвува од основниот стандарден раствор во концентрација од $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ и се користи како внатрешен стандард (IS).

Како растворувач за работните стандардни раствори се мешавина од метанол и вода во однос 50:50 (V/V).

3. Подготовка на работни раствори на гингивален флуид и плунка

Работните раствори на гингивален флуид се подготвуваат на следниот начин: метилцелулозната лента ($2 \times 5 \text{ mm}$) се поставува на дното на Eppendorf епруветките и внимателно се додава $2 \mu\text{L}$ серум добиен од здрави доброволци и $2 \mu\text{L}$ од секој работен стандарден раствор на DOX и $50 \mu\text{L}$ $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ од работниот стандарден раствор на TC.

$500 \mu\text{L}$ плунка се префрла во епандорф од $1,5 \text{ mL}$, се додаваат $100 \mu\text{L}$ од работниот стандарден раствор на IS, примероците се вортексираат а потоа се центрифугираат на 4000 rpm . Супернатантот се префрла во HPLC вијала.

За изработка на работни раствори на гингивален флуид не се користи гингивален флуид бидејќи тој не се создава во големи волумени во пародонталните џебови и исто така не се произведува комерцијално. Поради големата сличност на гингивалниот флуид со серумот, работните стандардните раствори на хлорхексидин се подготвуваат во серум ⁽¹⁰⁰⁾ и се користат за изработка на стандардната калибрациона крива.

4. Примероци за контрола на квалитет (QC samples)

Примероците за контрола на квалитет претставуваат работни раствори на гингивален флуид што содржат DOX во следните концентрации: 5 ng mL^{-1} , 20 ng mL^{-1} , 100 ng mL^{-1} , 200 ng mL^{-1} , и 20 ng mL^{-1} , 50 ng mL^{-1} , 150 ng mL^{-1} и 400 ng mL^{-1} за примероци плунка. Секој содржи $1.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ внатрешен стандард (TC). Примероците за контрола на квалитет се подготвуваат непосредно пред изведувањето на анализите за валидација на методот или доколку е потребно, по подготовката се чуваат замрзнати на температура од $-20 \text{ }^\circ\text{C}$.

5. Подготовка на примероци за анализа

1. Постапка за екстракција на DOX од примероци на гингивален флуид и плунка

Замрзнатите работни раствори на GCF и плунка за изработка на калибрациона крива, растворите за контрола на квалитет, како и примероците земени од пациенти по третманот со DOX се оставаат да стојат на температура од $25 \text{ }^\circ\text{C}$ до одмрзнување.

Во примероците од GCF се додава $50 \mu\text{L}$ IS и $450 \mu\text{L}$ растворувач за екстракција ($\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}=1:1$). Примерокот се вортексира 1 min , а потоа се центрифугираат на 4000 rpm . Супернатантот се префрла во HPLC вијала. Работен раствор на GCF во кој не е додаден DOX на дното на Eppendorf епруветки се поставува метилцелуозна лента ($12 \times 5 \text{ mm}$) и внимателно се додаваат $2 \mu\text{L}$ серум добиен од здрави доброволци.

$500 \mu\text{L}$ плунка се префрла во епандорф од $1,5 \text{ mL}$, се додаваат $100 \mu\text{L}$ од работниот стандарден раствор на IS, примероците се вортексираат а потоа се центрифугираат на 4000 rpm . Супернатантот се префрла во HPLC вијала.

Методи применети во студијата

HPLC метод со флуоресцентна детекција (HPLC-FLD) за квантитативно определување на DOX во примероци од гингивален флуид и плунка

1. Хроматографски услови

- Хроматографска колона: Purospher STAR RP 18e, 250 x 4,6 mm i.d., 5 µm.

- Мобилна фаза:

Растворувач А: метанол 50% (V/V)

Растворувач Б: 25 mM AcONa, 10 mM EDTA и 15 mM CaCl₂ (pH=8.1) 50% (V/V)

- Температура на колона: 30 °C

- Волуменот на инјектирање: 100 µL

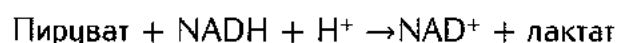
- Брановата должина на ексцитација: λ_{ex}=380

- Брановата должина на емисија: λ_{em}=532

Пред изведување на анализите, мобилната фаза се филтрира низ 0,45 µm мембрански филтер.

Метод за определување на ензимската активност на лактат дехидрогеназа

Лактат дехидрогеназата (LDH) претставува ензим кој ја катализира редуцијата на пируватот во лактат, во присуство на редуциран никотинамид аденин динуклеотид, како коензим. Мерка за активноста на овој ензим претставува намалувањето на апсорбанцата поради премин на редуцираниот облик на коензимот во оксидиран. Принципот на методата е прикажан со следната реакција:



20 µL од елуираниот примерок, се инкубира 30 s, на 37 °C, а потоа се меша со реагенсите од китот, според предложениот протокол за работа. Апсорбанцата се отчитува на почетокот на мерењето, по истекот на 60 s и 120 s, на бранова должина од 340 nm.

Каталитичката активност на лактат дехидрогеназата, изразена во интернационални единици, U/L, се пресметува според следната формула:

$$\Delta A/\text{min} \times 8095 = \text{U/L LDH}$$

Валидација на биоаналитички RP-HPLC-FLD метод за квантитативно определување на DOX во примероци од гингивален флуид и плунка

Валидацијата на RP-HPLC-FLD методот за определување на DOX во гингивален флуид и плунка е извршена во согласност со барањата на ЕМА водичот за валидација на биоаналитички методи (ЕМА, 2011), преку определување на следните параметри:

Селективност

Селективноста на биоаналитичкиот метод е определена со споредување на хроматограмите добиени со анализа на најмалку 6 примероци на работни раствори на GCF и плунка во кои не е додаден DOX во кои анализот од интерес не е присутен и примероци гингивален флуид во кои е додадена најниската концентрација на DOX од калибрационата крива (LLOQ) која одговара на 5 ng mL^{-1} DOX и $1 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ IS. Селективноста за методот за одредување на DOX во примероци од плунка е испитана преку анализа на примероци плунка без додаден DOX и примероци плунка во кои е додаден 20 ng mL^{-1} DOX (LLOQ) и $1 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ IS.

Линеарност

Линеарноста на методот е утврдена во концентрациско подрачје од $5 - 250 \text{ ng mL}^{-1}$ за примероци GCF и $20 - 500 \text{ ng mL}^{-1}$ за примероци плунка, преку регресиона анализа на односот помеѓу вкупната површина под пик на анализот и внатрешниот стандард во однос на концентрацијата на DOX во седум работни раствори на гингивален флуид. За секоја точка од калибрационата крива беа подготвени по 3 работни стандардни раствори на гингивален флуид.

Со регресионата анализа беа добиени вредностите за коефициентот на корелација односно детерминација (R^2), како и коефициентите на регресионата равенка (a- отсечката на y-оската; b- косина на калибрационата крива).

Точност и прецизност

Точноста и прецизноста на биоаналитичкиот метод се одредуваат со анализа на 5 поединечни работни раствори на гингивален флуид, на четири концентрациски нивоа: LLOQ (најниската точка од калибрационата крива), $3 \times \text{LLOQ}$, концентрација која се наоѓа на средината на калибрационата крива и 75% од највисоката концентрација на калибрационата крива или 5 ng mL^{-1} , 20 ng mL^{-1} , 100 ng mL^{-1} , 200 ng mL^{-1} за примероци GCF и 20 ng mL^{-1} , 50 ng mL^{-1} , 150 ng mL^{-1} , 400 ng mL^{-1} за примероци плунка.

Точноста и прецизноста беше определена во еден работен ден (with-in run accuracy and precision) и во неколку работни денови (between-run accuracy and precision). Точноста е пресметана со користење на следната равенка:

$$\text{Точност (\%)} = [(c_{\text{obs}} - c_{\text{nom}}) / c_{\text{nom}}] \times 100$$

c_{obs} – концентрација одредена во растворот за контрола на квалитет (ng mL^{-1})

c_{nom} – номинална концентрација (ng mL^{-1})

Аналитички принос

Аналитичкиот принос е утврден со користење на 5 поединечни раствори за контрола на квалитет во кои е додаден DOX на четири концентрациски нивоа: 5 ng mL^{-1} , 20 ng mL^{-1} , 100 ng mL^{-1} , 200 ng mL^{-1} за примероци GCF и 20 ng mL^{-1} , 50 ng mL^{-1} , 150 ng mL^{-1} , 400 ng mL^{-1} за примероци плунка.

Анализата е извршена преку споредба на раствори за контрола на квалитет по екстракција и стандардни работни раствори во истите концентрации подготвени во мобилна фаза.

Микробиолошки испитувања. За таа цел зеан е материјал т.е. брис од пародонталниот џеп од сите испитаници од обете групи независно под кој режим се третирани. Резултатите се читани при првиот преглед и после 75 дена од спроведениот третман со doxycycline т.е. (на почетокот и завршетокот н терапијата), сл.3.



Сл.3. Екстракција на гингивален флуид со апсорбенти

Постапката беше спроведена со помош на хартиени апсорбенти, Absorbent paper points, Vericom, Eazi-Endo, Chuncheon-Sl. Korea, кои беа аплицирани до дното на најдлабокиот пародонтален џеп. Вообичаено кај еден пациент беа применети од 5 до 6 хартиени влошки. Влошките беа сместени во стерилни епандорфи и транспортирани до Институтот за јавно здравје каде беа комплетно обработени. Матријалот е веднаш насаден на следните подлоги: Колумбија агар, Шедлер агар, Бруцела агар и тиогликолатен бујон. Хартиените апсорбенти со примерокот е нанесуван на хранливите подлоги со тркалање по подлогата (Методот на Маки). На овој начин може да се одредува семиквантитативно застапување на одредени бактерии.

Материјалот насаден на Колумбија агар е инкубиран на $36\pm 1^\circ\text{C}$ за 24 часа кога е контролиран растот на аеробни и факултативно анаеробни бактерии, особено Стрептококите.

Материјалот на Шедлер агар и Бруцела агар е инкубиран на $36\pm 1^\circ\text{C}$ во анаеробни услови во кесички со пакети за генерирање на анаеробни услови (Anaerocult A mini –MERCK) до 4 дена и повеќе денови со проверување на растот секој втор ден.

Еден од хартиените апсорбенти се натопуваше во Тиогликолатен бујон за да се поттикне растот на аеробните бактерии.

Идентификацијата на бактериите започнуваше со макроскопски опис на колониите, потоа следеше микроскопирање на препарат од култура. Во случаи на нејасни разграничувања правени се биохемиски тестови како каталаза, оксидаза или коагулаза и др. Крајната идентификација на бактериите е направена со автоматски систем за идентификација на бактериските видови-VITEK 2 COMPAQ.

За изолација на анаеробните бактерии по макроскопското и микроскопското избирање на колонии применуван е методот на сектор подлога во аеробни услови, сектор во анаеробни услови со цел да се елиминираат можните аеробни колонии. По обработка на колониите хранливите подлоги со нова кесичка за генерирање анаеробни услови се реинкубираа повторно.

4. Статистичка обработка на податоците

Статистичката обработка на податоци изведена е во статистички програм програм STATISTICA 7.1

Применети се следните методи:

1. Кај сериите со атрибутивни белези одредувани се проценти на структура (%);
2. Разликата во наодите на патогените бактерии во релацијата прв преглед после 2.5 месеци тестирана е со McNemar's test (p);
 - 2.1. Разликите во наодите на патогените бактерии помеѓу двете подгрупи на пациенти (пациенти кои примале doxycycline 2 x 20 mgr. дневно 2.5 месеци & пациенти кои примале доксициклин 100 mgr. дневно 30 дена) тестирана е со Pearson Chi-square и Fisher exact test (p);
3. Кај сериите со нумерички белези изработена е Descriptive statistics (Mean±Std.Dev.,±95%CI, Min., Max.);
 - 3.1. Дистрибуцијата кај сериите со нумерички белези тестирана е со: Kolmogoro-Smirnov test; Lilliefors test; Shapiro-Wilks test (p);
 - 3.2.Разликата во вредностите на дентален плак, гингивална инфламација, гингиворагија, пародонтални џебови, клиничко ниво на атачмент во релацијата преглед, 10-ти , 20-ти ден, 1 месец и после 2.5 месеци тестирана е со Friedman ANOVA test (ANOVA Chi Sqr.);
 - 3.3. Разликата во вредностите на дентален плак, гингивална инфламација, гингиворагија, пародонтални џебови, клиничко ниво на атачмент во релацијата преглед, 2.5 месеци тестирана е со Wilcoxon Matched Pairs Test (Z);
 - 3.4. Разликата во вредностите на дентален плак, гингивална инфламација, гингиворагија, пародонтални џебови, клиничко ниво на атачмент, помеѓу двете подгрупи на пациенти (пациенти кои примале doxycycline 2 x 20 mgr. дневно 2.5 месеци и пациенти кои примале doxycycline 100 mg дневно 30 дена) тестирана е со Mann-Whitney U Test (Z);
 - 3.5. Разликата во вредностите на лактат дехидрогеназа (пред третман & по третман) во подгрупите тестирана е со T-test for Dependent Samples (t) и Wilcoxon Matched Pairs Test (Z);
 - 3.6.Разликата во вредностите на лактат дехидрогеназа помеѓу подгрупите тестирана е со T-test for Independent Samples (t) и Mann-Whitney U Test (Z).

Сигнификантноста одредувана е за $p < 0,05$.

Податоците се табеларно и графички прикажани.

РЕЗУЛТАТИ

РЕЗУЛТАТИ

Добиените наоди од спроведените истражувања се систематизирани како анализи од испитуваните групи и се распределени во четири подзаглавија:

I - Анализа на добиените наоди од пациенти подложени на системска примена doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена;

II - Анализа на добиените наоди од пациенти кои примаа системски doxycycline, два пати по 20 mg дневно два и пол месеци;

III - Разлики на добиените наоди кај пациенти кои примаа doxycycline 100 mg еднаш дневно еден месец и пациенти кои примаа системски два пати по 20 mg дневно два и пол месеци и

IV - Одредување концентрации на doxycycline и лактат дехидрогеназа во гингивален флуид и плунка во одредени временски интервали.

I - Анализа на добиени наоди од пациенти подложени на системска примена doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена

Добиените наоди се однесуваат на вредностите на индексот на дентален плак, гингивална инфламација, гингиворагија, длабочина на пародонтални џепови и епителна апикална миграција.

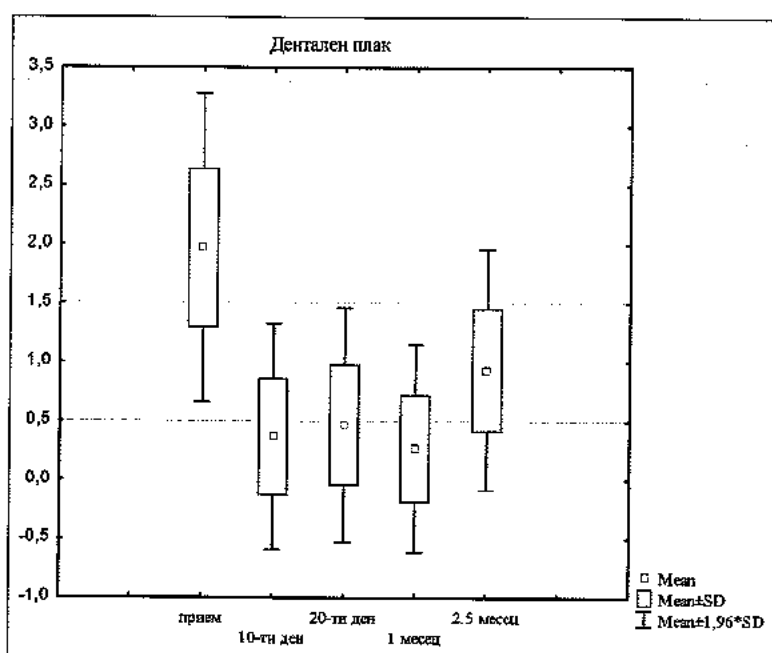
1. Индекс на дентален плак според Loe - Sillness

Вредностите на денталниот плак во релацијата прв преглед, после 10-тиот и 20-тиот ден, 1 месец и 2.5 месеци (пациенти подложени на системска примена на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена) прикажани се на табела 1 и графикон 1.

При првиот преглед вредноста на денталниот плак варира во интервалот $1,96 \pm 0,66$; $\pm 95,00\%$ CI: 1,71-2,21; минималната вредност изнесува 1 а максималната 3. После 10 дена терапија вредноста на дентален плак варира во интервалот $0,37 \pm 0,49$; $\pm 95,00\%$ CI: 0,18-0,55; минималната вредност изнесува 0 а максималната 1. Дваесет дена од применетата терапија вредноста на дентален плак се движи во интервалот $0,47 \pm 0,51$; $\pm 95,00\%$ CI: 0,28-0,66; т.е. минималната вредност изнесува 0, а максималната 1. По 1 месец терапија вредноста на дентален плак варира во интервалот $0,27 \pm 0,45$; $\pm 95,00\%$ CI: 0,10-0,43; минималната вредност изнесува 0, а максималната 1. После 2.5 месеци вредноста на дентален плак варира во интервалот $0,93 \pm 0,52$; $\pm 95,00\%$ CI: 0,74-1,13; минималната вредност изнесува 0 а максималната 2.

Табела 1. Дескриптивна статистика на индексот на дентален плак според Löe-Sillness кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена

Дентален плак	Valid N	Mean	Confidence -95,00%	Confidence +95,00%	Minimum	Maximum	Std.Dev.
прв преглед	30	1,96	1,71	2,21	1,00	3,00	0,66
10-ти ден	30	0,37	0,18	0,55	0,00	1,00	0,49
20-ти ден	30	0,47	0,28	0,66	0,00	1,00	0,51
1 месец	30	0,27	0,10	0,43	0,00	1,00	0,45
2.5 месеци	30	0,93	0,74	1,13	0,00	2,00	0,52



Графикон 1. Приказ на вредностите на дентален плак кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена

Разликите помеѓу вредностите на денталниот плак во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци прикажани се на табела 1.1.

За ANOVA Chi Sqr.=81,00 и $p < 0,001$ ($p = 0,000$) постои значајна разлика помеѓу вредностите на дентален плак во анализираната релација.

При првиот преглед вредноста на денталниот плак варира во интервалот $1,96 \pm 0,66$.

После 10 дена терапија просечната вредност на дентален плак е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,37 \pm 0,49$, по 20 дена терапија просечната вредност на дентален плак е помала во однос на првиот преглед и ва-

рира во интервалот $0,47 \pm 0,51$, додека пак по 1 месец терапија просечната вредност на дентален плак е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,27 \pm 0,45$, а после 2.5 месеци просечната вредност на дентален плак е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,93 \pm 0,52$.

Разликите помеѓу вредностите на денталниот плак во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци прикажани се на табела 1.1.

Табела 1.1 Разлики на индексот на денталниот плак кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 100 mg во различно испитуваните временски интервали

Дентален плак	Average Rank	Sum of Ranks	Mean	Std.Dev.
прв преглед	4,82	144,50	1,96	0,66
10-ти ден	2,25	67,50	0,37	0,49
20-ти ден	2,43	73,00	0,47	0,51
1 месец	2,08	62,50	0,27	0,45
2.5 месеци	3,42	102,50	0,93	0,52

Просечната вредност на дентален плак ($\bar{x}=0,93$) после 2.5 месеци за $Z=4,20$ и $p<0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала од просечната вредност на денталниот плак ($\bar{x}=1,96$) при првиот преглед (табела 1.1.1). (пациенти подложени на системска примена на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена).

Табела 1.1.1 Разлики на индексот на денталниот плак кај пациенти со системска примена doxycycline 100 mgr. при првиот преглед и после 2,5 месеци од испитуваниот период

Дентален плак	Valid	T	Z	p-level
Прв преглед и после 2.5 месеци	30	0,00	4,20	0,000

2. Индекс на гингивална инфламација според Cowell

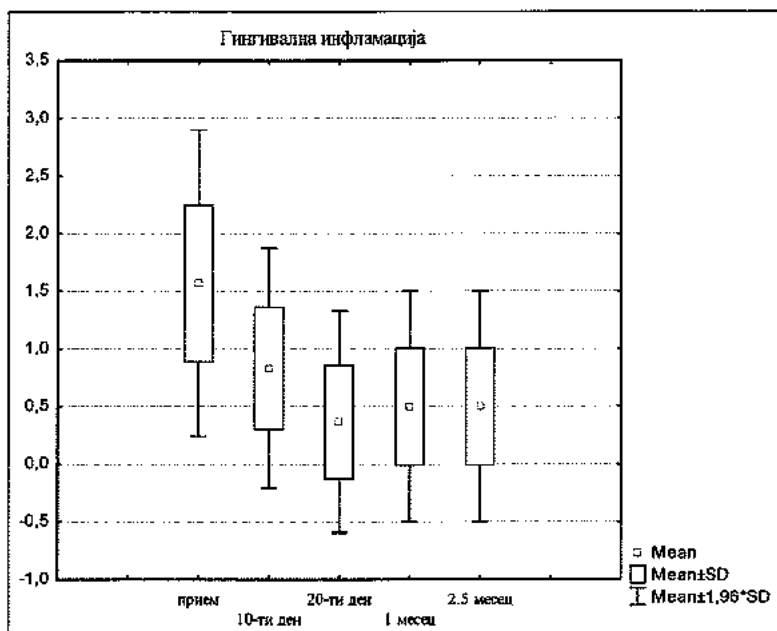
Вредностите на гингивална инфламација во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци (пациенти подложени на системска

примена на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена) прикажани се на табела 2 и графикон 2. При првиот преглед вредноста на гингивалната инфламација варира во интервалот $1,57 \pm 0,68$; $\pm 95,00\%CI: 1,31-1,82$; минималната вредност изнесува 1 а максималната 3. После 10 дена терапија вредноста на гингивална инфламација варира во интервалот $0,83 \pm 0,53$; $\pm 95,00\%CI: 0,64-1,03$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 2. По 20 дена терапија вредноста на гингивална инфламација варира во интервалот $0,37 \pm 0,49$; $\pm 95,00\%CI: 0,18-0,55$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 1. Додека пак по 1 месец терапија вредноста на гингивална инфламација варира во интервалот $0,49 \pm 0,50$; $\pm 95,00\%CI: 0,30-0,68$;

минималната вредност изнесува 0 а максималната 1, а после 2.5 месеци вредноста на гингивална инфламација варира во интервалот $0,50 \pm 0,51$; $\pm 95,00\%CI: 0,31-0,69$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 1.

Табела 2. Дескриптивна статистика на индексот на гингивална инфламација според Cowell кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена

Гингивална инфламација	Valid N	Mean	Confidence -95,00%	Confidence +95,00%	Minimum	Maximum	Std.Dev.
прв преглед	30	1,57	1,31	1,82	1,00	3,00	0,68
10-ти ден	30	0,83	0,64	1,03	0,00	2,00	0,53
20-ти ден	30	0,37	0,18	0,55	0,00	1,00	0,49
1 месец	30	0,49	0,30	0,68	0,00	1,00	0,50
2.5 месеци	30	0,50	0,31	0,69	0,00	1,00	0,51



Графикон 2. Приказ на вредностите на гингивална инфламација кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена

Разликите помеѓу вредностите на гингивална инфламација во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци прикажани се на табела 2.1.

За ANOVA Chi Sqr.=64,80 и $p < 0,001 (p = 0,000)$ постои значајна разлика помеѓу вредностите на гингивална инфламација во анализираната релација.

При првиот преглед вредноста на гингивална инфламација варира во интервалот $1,57 \pm 0,68$. После 10 дена терапија просечната вредност на гингивална инфламација е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,83 \pm 0,53$. По 20 дена терапија просечната вредност на гингивална инфламација е помала во однос

на првиот преглед и варира во интервалот $0,37 \pm 0,49$, додека пак по 1 месец терапија просечната вредност на гингивална инфламација е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,49 \pm 0,50$, а по 2,5 месеци просечната вредност на гингивална инфламација е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,50 \pm 0,51$.

Табела 2.1. Разлики на индексот на гингивална инфламација кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 100 mg во различно испитуваните временски интервали

Гингивална инфламација	Average Rank	Sum of Ranks	Mean	Std.Dev.
прв преглед	4,55	136,50	1,57	0,68
10-ти ден	3,23	97,00	0,83	0,53
20-ти ден	2,18	65,50	0,37	0,49
1 месец	2,51	75,49	0,49	0,50
2,5 месеци	2,52	75,50	0,50	0,51

Просечната вредност на гингивална инфламација ($\bar{x}=0,50$) после 2,5 месеци за $Z=4,20$ и $p<0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала од просечната вредност на гингивална инфламација ($\bar{x}=1,57$) при првиот преглед (табела 2.1.1). (пациенти подложени на системска примена doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена).

Табела 2.1.1 Разлики на индексот на гингивална инфламација кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 100 mg при првиот преглед и после 2.5 месеци од испитуваниот период

Гингивална инфламација	Valid	T	Z	p-level
прв преглед и 2.5 месеци	30	0,00	4,20	0,000

3. Индекс на гингиворагија според Cowell

Вредностите на гингиворагија во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци (група пациенти кои примаа doxycycline еднаш дневно по 100 mg во текот на 1 месец) прикажани се на табела 3 и графикон 3.

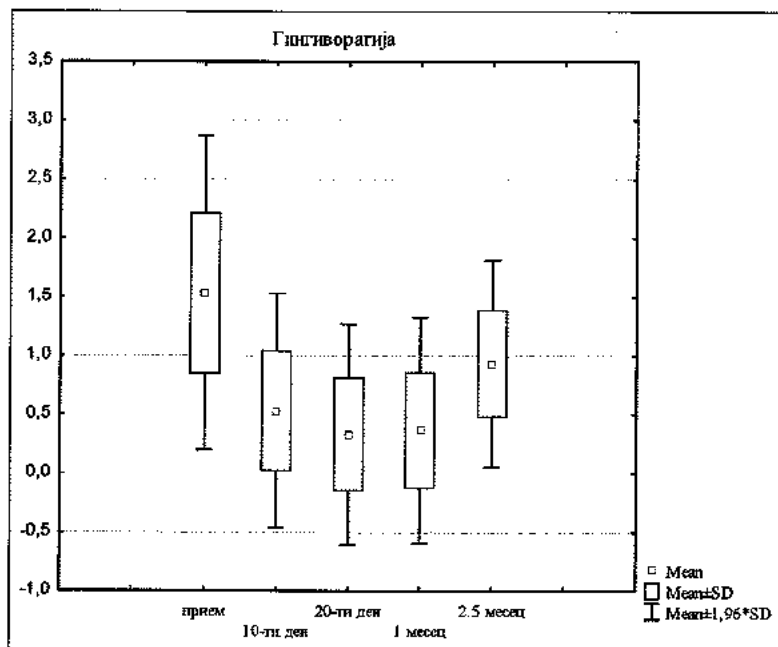
При првиот преглед вредноста на гингиворагија варира во интервалот $1,53 \pm 0,68$; $\pm 95,00\%CI: 1,28-1,79$; минималната вредност изнесува 1, а максималната 3. После 10 дена терапија вредноста на гингиворагија се движи во интервалот $0,53 \pm 0,51$; $\pm 95,00\%CI: 0,34-0,72$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 2.

После 20 дена терапија вредноста на гингиворагија варира во интервалот $0,32 \pm 0,47$; $\pm 95,00\%CI: 0,14-0,50$; минималната вредност изнесува 0, а максималната 1. После 1 месец терапија вредноста на гингиворагија варира во интервалот

0,37±0,49; ±95,00%CI:0,18-0,55; минималната вредност изнесува 0 а максималната 1, а после 2.5 месеци вредноста на гингиворагија варира во интервалот 0,93±0,45; ±95,00%CI:0,77-1,10; минималната вредност изнесува 0 а максималната 2.

Табела 3. Дескриптивна статистика на индексот на гингиворагија според Cowell кај пациенти кои примаа системски doxycycline 1x 100 mg дневно во текот на 30 дена

Гингиворагија	Valid N	Mean	Confidence -95,00%	Confidence +95,00%	Minimum	Maximum	Std.Dev.
прв преглед	30	1,53	1,28	1,79	1,00	3,00	0,68
10-ти ден	30	0,53	0,34	0,72	0,00	1,00	0,51
20-ти ден	30	0,32	0,14	0,50	0,00	1,00	0,47
1 месец	30	0,37	0,18	0,55	0,00	1,00	0,49
2.5 месеци	30	0,93	0,77	1,10	0,00	2,00	0,45



Графикон 3. Приказ на вредностите на индексот на гингиворагија кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 1x100 mg во различно испитуваните временски интервали

Разликите помеѓу вредностите на гингиворагија во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци прикажани се на табела 3.1.

За ANOVA Chi Sqg.=60,20 и $p < 0,001 (p = 0,000)$ постои значајна разлика помеѓу вредностите на гингиворагија во анализираната релација.

При првиот преглед вредноста на гингиворагија варира во интервалот 1,53±0,68. По 10 дена терапија просечната вредност на гингиворагија е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот 0,53±0,51.

По 20 дена терапија просечната вредност на гингиворагија е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,32 \pm 0,47$.

По 1 месец терапија просечната вредност на гингиворагија е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,37 \pm 0,49$.

После 2.5 месеци просечната вредност на гингиворагија е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,93 \pm 0,45$.

Табела 3.1 Разлики на индексот на гингиворагија кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 1x100 mg во различно испитуваните временски интервали

Гингиворагија	Average Rank	Sum of Ranks	Mean	Std.Dev.
прв преглед	4,45	133,50	1,53	0,68
10-ти ден	2,60	78,00	0,53	0,51
20-ти ден	2,18	65,50	0,32	0,47
1 месец	2,30	69,00	0,37	0,49
2.5 месеци	3,47	104,00	0,93	0,45

Просечната вредност на гингиворагија ($\bar{x}=0,93$) после 2.5 месеци за $Z=3,30$ и $p<0,001(p=0,000)$ значајно е помала од просечната вредност на гингиворагија ($\bar{x}=1,53$) при првиот преглед (табела 3.1.1). (пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg дневно два и пол месеци).

Табела 3.1.1 Разлики на индексот на гингиворагија кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 1x100 mg при првиот преглед и после 2,5 месеци од испитуваниот период

Гингиворагија	Valid	T	Z	p-level
прв преглед и 2.5 месеци	30	0,00	3,30	0,000

4. Индекс на длабочина на пародонтален џеб според Ramford

Вредностите на длабочина на пародонталните џебови во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден 1 месец и 2.5 месеци (пациенти кои примаа doxycycline по 100 mg еднаш дневно два и пол месеци) прикажани се на табела 4 и графикон 4.

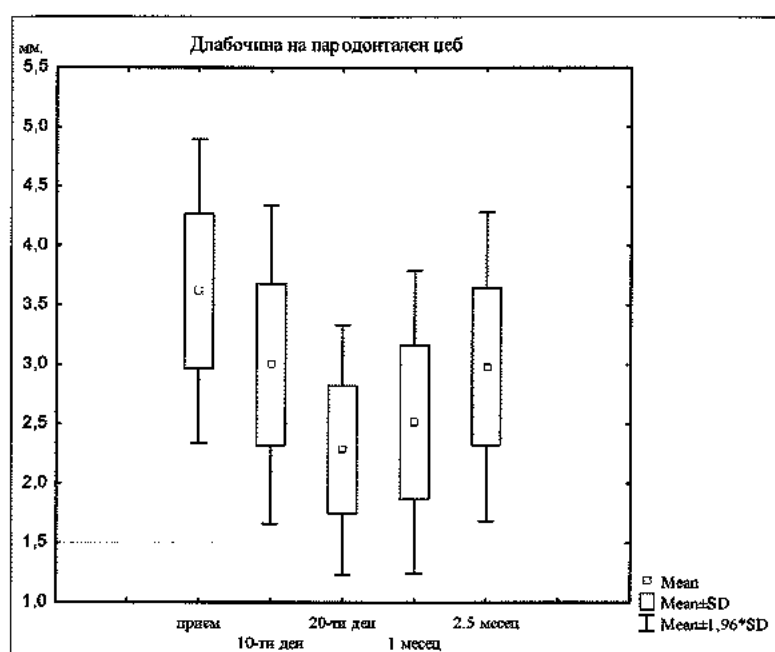
При првиот преглед длабочината на пародонталните џебови варираат во интервалот $3,62 \pm 0,65$ mm.; $\pm 95,00\%CI:3,37-3,86$; минималната вредност изнесува 3 mm. а максималната 5 mm. После 10 дена терапија вредноста на длабочината на пародонталните џебови варира во интервалот $3,00 \pm 0,68$ mm.; $\pm 95,00\%CI:2,75-3,25$; минималната вредност изнесува 2,00 mm. а максималната 4,50 mm. После 20 дена терапија вредноста на

длабочина на пародонталните џекови варира во интервалот $3,03 \pm 0,52$; $\pm 95,00\%CI: 2,84-3,23$; минималната вредност изнесува 2,50 mm., а максималната 4,50 mm.

После 1 месец терапија вредноста на длабочина на пародонталните џекови варира во интервалот $2,28 \pm 0,54$ mm; $\pm 95,00\%CI: 2,08-2,48$; минималната вредност изнесува 1,50 mm. а максималната 3,50 mm. После 2.5 месеци вредноста на длабочина на пародонталните џекови варира во интервалот $2,98 \pm 0,66$ mm.; $\pm 95,00\%CI: 2,74-3,23$; минималната вредност изнесува 2,00 mm. а максималната 4,50 mm.

Табела 4. Дескриптивна статистика на вредностите на длабочина на пародонталните џекови според Ramfjord кај пациенти кои примаа системски doxycycline 1x 100 mg дневно во текот на 75 дена

Длабочина на пародонтален џеб	Valid N	Mean	Confidence -95,00%	Confidence +95,00%	Minimum	Maximum	Std. Dev.
прв преглед	30	3,62	3,37	3,86	3,00	5,00	0,65
10-ти ден	30	3,03	2,75	3,25	2,00	4,50	0,68
20-ти ден	30	2,28	2,08	2,48	1,50	3,50	0,54
1 месец	30	2,52	2,27	2,76	1,50	4,00	0,65
2.5 месеци	30	2,98	2,74	3,23	2,00	4,50	0,66



Графикон 4. Приказ на длабочина на пародонталните џекови кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 1x100 mg во различните испитуваните временски интервали

Разликите помеѓу вредностите на длабочина на пародонталните џекови во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци прикажани се на табела 4.1. За ANOVA Chi Sqr.=97,02 и $p < 0,001$ ($p = 0,000$) постои значајна разлика помеѓу вредностите на длабочина на пародонталните џекови во анализираната релација.

При првиот преглед вредноста на длабочина на пародонталните џекови варира во интервалот $3,62 \pm 0,65$ mm. После 10 дена терапија просечната вредност на длабочина на пародонталните џекови е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $3,03 \pm 0,68$ mm. После 20 дена терапија просечната вредност на длабочина на пародонталните џекови е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $2,28 \pm 0,54$ mm.

После 1 месец терапија просечната вредност на длабочина на пародонталните џекови е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $2,52 \pm 0,65$ mm. После 2.5 месеци просечната вредност на длабочина на пародонталните џекови е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $2,98 \pm 0,66$ mm.

Табела 4.1. Разлики во длабочина на пародонталните џекови кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 1x100 mg во различно испитуваните временски интервали

Длабочина на пародонтален џеб	Average Rank	Sum of Ranks	Mean	Std.Dev.
прв преглед	4,93	148,00	3,62	0,65
10-ти ден	3,30	99,00	3,00	0,68
20-ти ден	1,60	48,00	2,28	0,54
1 месец	1,88	56,50	2,52	0,65
2.5 месеци	3,28	98,50	2,98	0,66

Просечната вредност на длабочина на пародонталните џекови ($\bar{x}=2,98$ mm.) после 2.5 месеци за $Z=4,70$ и $p<0,001(p=0,000)$ значајно е помала од просечната вредност на длабочина на пародонталните џекови ($\bar{x}=3,62$ mm.) при првиот преглед (табела 4.1.1). (група на пациенти кои примаа doxycycline по 100 mg дневно 2,5 месеци).

Табела 4.1.1 Разлики на длабочина на пародонталните џекови кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 1x100 mg при првиот преглед и после 2.5 месеци од испитуваниот период

Длабочина на пародонтален џеб	Valid	T	Z	p-level
прв преглед и 2.5 месеци	30	0,00	4,70	0,000

5. Индекс на епителна апикална миграција (клиничко ниво на атачмент) -EAM

Вредностите EAM во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци (подгрупа на пациенти кои примаа doxycycline 1x 100 mg дневно , 1 месец) прикажани се на табела 5 и графикон 5.

При првиот преглед вредноста на EAM варира во интервалот $4,07 \pm 0,64$; $\pm 95,00\%CI:3,83-4,31$; минималната вредност изнесува 3 mm.а максималната 5,50 mm.

После 10 дена терапија вредноста на ниво на атачмент варира во интервалот $3,38 \pm 0,61$ mm.; $\pm 95,00\%CI: 3,16-3,61$; минималната вредност изнесува 2,50 mm. а максималната 4,50 mm.

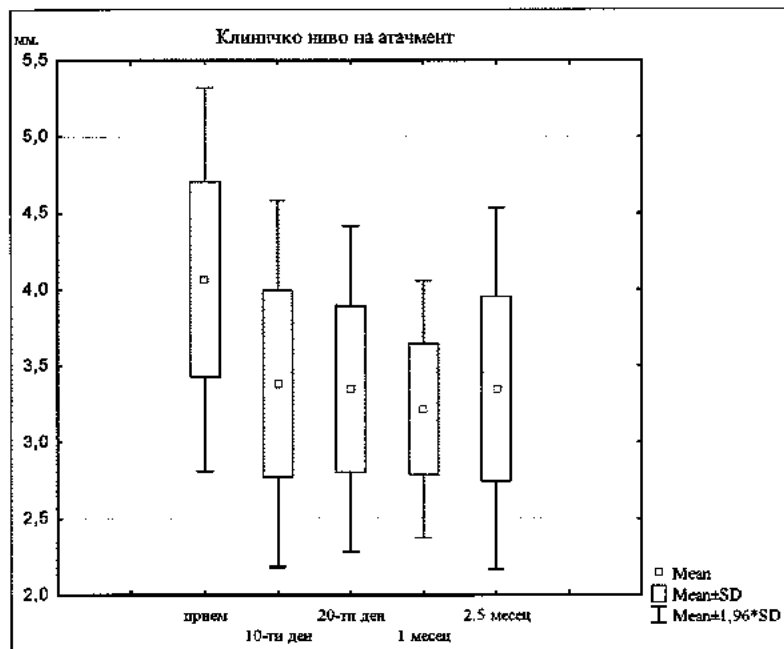
После 20 дена терапија вредноста на EAM варира во интервалот $3,35 \pm 0,54$; $\pm 95,00\%CI: 3,15-3,55$; минималната вредност изнесува 2,00 mm., а максималната 4,50 mm.

После 1 месец терапија вредноста на EAM варира во интервалот $3,22 \pm 0,43$ mm.; $\pm 95,00\%CI: 3,06-3,38$; минималната вредност изнесува 2,00 mm., а максималната 4,00 mm.

После 2.5 месеци вредноста на EAM варира во интервалот $3,35 \pm 0,60$ mm.; $\pm 95,00\%CI: 3,12-3,58$; минималната вредност изнесува 2,00 mm. а максималната 4,50 mm.

Табела 5. Дескриптивна статистика на индексот на EAM кај пациенти кои при-
маа системски doxycycline 1x 100 mg дневно во текот на 75 дена

Клиничко ниво на атачмент	Valid N	Mean	Confidence		Minimum	Maximum	Std. Dev.
			-95,00%	+95,00%			
прв преглед	30	4,07	3,83	4,31	3,00	5,50	0,64
10-ти ден	30	3,38	3,16	3,61	2,50	4,50	0,61
20-ти ден	30	3,35	3,15	3,55	2,00	4,50	0,54
1 месец	30	3,22	3,06	3,38	2,00	4,00	0,43
2.5 месеци	30	3,35	3,12	3,58	2,00	4,50	0,60



Графикон 5. Приказ на вредностите на EAM кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 1x100 mg во различно испитуваните временски интервали

Разликите помеѓу вредностите на EAM во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци прикажани се на табела 5.1. За ANOVA Chi Sqr.=64,93 и $p < 0,001 (p=0,000)$ постои значајна разлика помеѓу вредностите на нивото на атачмент во анализираната релација. При првиот преглед вредноста на EAM варира во интервалот $4,07 \pm 0,64$ mm. После 10 дена терапија просечната вредност на EAM е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $3,38 \pm 0,61$ mm. После 20 дена терапија просечната вредност на EAM е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $3,35 \pm 0,54$ mm. После 1 месец терапија просечната вредност на EAM е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $3,22 \pm 0,43$ mm. После 2.5 месеци просечната вредност на EAM е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $3,35 \pm 0,60$ mm.

Табела 5.1. Разлики на EAM кај пациенти на системска примена doxycycline 1x100 mg во различно испитуваните временски интервали

Клиничко ниво на атачмент	Average Rank	Sum of Ranks	Mean	Std.Dev.
прв преглед	4,83	145,00	4,07	0,64
10-ти ден	2,65	79,50	3,38	0,61
20-ти ден	2,72	81,50	3,35	0,54
1 месец	2,25	67,50	3,22	0,43
2.5 месеци	2,55	76,50	3,35	0,60

Просечната вредност на EAM ($\bar{x}=3,35$ mm.) после 2.5 месеци за $Z=4,62$ и $p < 0,001 (p=0,000)$ значајно е помала од просечната вредност на EAM ($\bar{x}=4,07$ mm.) при првиот преглед (табела 5.1.1). (пациенти кои примаа doxycycline по 100 mg дневно еден месец).

Табела 5.1.1 Разлики на индексот на дентален плак кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 1x100 mg при првиот преглед и после 2.5 месеци од испитуваниот период

Клиничко ниво на атачмент	Valid	T	Z	p-level
прв преглед и 2.5 месеци	30	0,00	4,62	0,000

6. Наоди од спроведената микробиолошка анализа

На табела 6. прикажан е наодот на патогени бактерии при првиот преглед кај пациентите од првата група. Материјалот е земен од гингивалниот флуид на пародонталниот џеп.

Табела 6. Микробиолошки наод кај испитуваната група- пациенти при првиот преглед кои започнаа да примаат doxycycline 100 mg еднаш дневно

Наод / прв преглед	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
1,2,3,4,5,6,7	2	2	6,67	6,67
1,2,3,4,5	2	4	6,67	13,33
1,2,3,4	4	8	13,33	26,67
1,3,4,5	1	9	3,33	30,00
1,4,5,7	1	10	3,33	33,33
1,2,3	2	12	6,67	40,00
1,3,4	1	13	3,33	43,33
2,3,4	4	17	13,33	56,67
3,4,5	1	18	3,33	60,00
4,5,7	2	20	6,67	66,67
1,2	1	21	3,33	70,00
2,3	2	23	6,67	76,67
1,2,3,4,7	1	24	3,33	80,00
1,2,3,7	1	25	3,33	83,33
1,2,4,5,7	1	26	3,33	86,67
1,2,4,7	1	27	3,33	90,00
1,4,5,6,7	1	28	3,33	93,33
1,3,4,7	1	29	3,33	96,67
1,4,5	1	30	3,33	100,00
Missing	0	30	0,00	100,00

Легенда:

1. *Aa* – *actinobacillus actinomicetemcomitans*
2. *P spp* – *peptostreptococcus species*
3. *St m* - *Streptococcus mitis/oralis*
4. *Fn* - *Fusobacterium nucleatum*
5. *Vl* – *veillonela*
6. *Cl* – *clostridium*
7. *Pg* – *porphiromonas gingivalis*

Наодот на патогени бактерии (по 2.5 месеци) во групата на пациенти подложени на системска примена на 100 mg doxycycline еднаш дневно во текот на 30 дена прикажан е на табела 6.1.

Табела 6.1 Микробиолошки наод кај испитуваната група-пациенти кои примаа doxycycline 100 mg еднаш дневно после 30 дена

Наод / по 2.5 месеци	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
4	2	2	6,67	6,67
1,2,3,4,5,6,7	2	4	6,67	13,33
3,4,5	2	6	6,67	20,00
1,4,5	1	7	3,33	23,33
1,3	1	8	3,33	26,67
2,3	3	11	10,00	36,67
3,4	5	16	16,67	53,33
4,5	1	17	3,33	56,67
1,2	1	18	3,33	60,00
3,6	1	19	3,33	63,33
1,3,4	4	23	13,33	76,67
3,4,5,6,7	1	24	3,33	80,00
1,2,3,4,5	1	25	3,33	83,33
1,2,3	2	27	6,67	90,00
2,3,4	1	28	3,33	93,33
1,4	1	29	3,33	96,67
1,6	1	30	3,33	100,00
Missing	0	30	0,00	100,00

Легенда:

1. *Aa* – *actinobacillus actinomicetemcomitans*
2. *P spp* – *peptostreptococcus species*
3. *St m* – *Streptococcus mitis/oralis*
4. *Fn* – *Fusobacterium nucleatum*
5. *Vl* – *veillonela*
6. *Cl* – *clostridium*
7. *Pg* – *porphiromonas gingivalis*

6.1 *Actinobacillus actinomicetemcomitans* (*Aa*)

Микробиолошките наоди на *Actinobacillus actinomicetemcomitans* (*Aa*) во текот на испитувањето (прв преглед и после 2.5 месеци) прикажани се на табела 7 (група пациенти подложени на системска примена doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена).

При првиот преглед регистрирани се 20 (66,67%) позитивни наоди, од нив после 2.5 месеци 10 (33,33%) наоди се позитивни, а 10 (33,33%) наоди се негативни.

При првиот преглед регистрирани се 10 (33,33%) негативни наоди, од нив после 2.5 месеци 4 (13,33%) наоди се позитивни, а 6 (20,00%) наоди негативни.

За $p > 0,05$ ($p = 0,18$) /McNemar's test/ нема значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

Табела 7. Наод на *Aa* при првиот преглед и после 2.5 месеци од применетата терапија

	Наод – прв преглед	Наод после 2.5 месеци		Row Totals
		Позитивен	Негативен	
Count	Позитивен	10	10	20
Total Percent		33,33%	33,33%	66,67%
Count	Негативен	4	6	10
Total Percent		13,33%	20,00%	33,33%
Count	All Grps	14	16	30
Total Percent		46,67%	53,33%	

6.2 *Peptostreptococcus species (P spp)*

Микробиолошките наоди на *Peptostreptococcus species (P spp)* во текот на испитувањето (прв преглед и после 2.5 месеци) прикажани се на табела 8

(пациенти на системска примена на doxycycline 100 мг еднаш дневно во текот на 30 дена).

При првиот преглед регистрирани се 20 (66,67%) позитивни наоди, од нив после 2.5 месеци 8 (26,67%) наоди се позитивни, а 12 (40,00%) наоди негативни. При првиот преглед регистрирани се 10 (33,33%) негативни наоди, од нив после 2.5 месеци 2 (6,67%) наоди се позитивни, а 8 (26,67%) наоди негативни. За $p < 0,05$ ($p = 0,02$) /McNemar's test/ постои значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

Табела 8. Наод на *P spp* при првиот преглед и после 2.5 месеци од применетата терапија

	Наод – прв преглед	Наод после 2.5 месеци		Row Totals
		Позитивен	Негативен	
Count	Позитивен	8	12	20
Total Percent		26,67%	40,00%	66,67%
Count	Негативен	2	8	10
Total Percent		6,67%	26,67%	33,33%
Count	All Grps	10	20	30
Total Percent		33,33%	66,67%	

6.3. *Streptococcus mitis/oralis* (St m)

Микробиолошките наоди на *Streptococcus mitis/oralis* (St m) во текот на испитувањето (прв преглед и после 2.5 месеци) прикажани се на табела 9 (пациенти на системска примена на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена).

При првиот преглед регистрирани се 21 (70,00%) позитивен наод, од нив после 2.5 месеци 18 (60,00%) наоди се позитивни, а 3 (10,00%) негативни.

При првиот преглед регистрирани се 9 (30,00%) негативни наоди, од нив после 2.5 месеци 5 (16,67%) наоди се позитивни, а 4 (13,33%) негативни.

За $p > 0,05$ ($p = 0,72$) /McNemar's test/ нема значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

Табела 9. Наод на St m при првиот преглед и после 2.5 месеци од применетата терапија

	Наод – прв преглед	Наод после 2.5 месеци		Row Totals
		Позитивен	Негативен	
Count	Позитивен	18	3	21
Total Percent	Позитивен	60,00%	10,00%	70,00%
Count	Негативен	5	4	9
Total Percent	Негативен	16,67%	13,33%	30,00%
Count	All Grps	23	7	30
Total Percent	All Grps	76,67%	23,33%	

6.4. *Fusobacterium nucleatum* (Fn)

Микробиолошките наоди на *Fusobacterium nucleatum* (Fn) во текот на испитувањето (прв преглед и после 2.5 месеци) прикажани се на табела 10

(пациенти на системска терапија на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена). При првиот преглед регистрирани се 24 (80,00%) позитивни наоди, од нив после 2.5 месеци 17 (56,67%) наоди се позитивни, а 7 (23,33%) негативни.

При првиот преглед регистрирани се 6 (20,00%) негативни наоди, од нив после 2.5 месеци 4 (13,33%) наоди се позитивни, а 2 (6,67%) негативни.

За $p > 0,05$ ($p = 0,55$) /McNemar's test/ нема значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

Табела 10. Наод на Fn при првиот преглед и после 2.5 месеци од применетата терапија

	Наод – прв преглед	Наод после 2.5 месеци		Row Totals
		Позитивен	Негативен	
Count	Позитивен	17	7	24
Total Percent	Позитивен	56,67%	23,33%	80,00%
Count	Негативен	4	2	6
Total Percent	Негативен	13,33%	6,67%	20,00%
Count	All Grps	21	9	30
Total Percent	All Grps	70,00%	30,00%	

6.5. *Veillonella* (VI)

Микробиолошките наоди на *Veillonella VI* во текот на испитувањето (прв преглед и после 2.5 месеци) прикажани се на табела 11 (пациенти на системска терапија на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена).

При првиот преглед регистрирани се 12 (40,00%) позитивни наоди, од нив после 2.5 месеци 2 (6,67%) наоди се позитивни, а 10 (33,33%) негативни.

При првиот преглед регистрирани се 18 (60,00%) негативни наоди, од нив после 2.5 месеци 6 (20,00%) наоди се позитивни а 12 (40,00%) негативни.

За $p > 0,05 (p = 0,45)$ /McNemar s test/ нема значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

Табела 11. Наод на VI при првиот преглед и после 2.5 месеци од применетата терапија

	Наод – прв преглед	Наод после 2.5 месеци		Row Totals
		Позитивен	Негативен	
Count	Позитивен	2	10	12
Total Percent	Позитивен	6,67%	33,33%	40,00%
Count	Негативен	6	12	18
Total Percent	Негативен	20,00%	40,00%	60,00%
Count	All Grps	8	22	30
Total Percent	All Grps	26,67%	73,33%	

6.6. *Clostridium* (CI)

Микробиолошките наоди на *Clostridium (CI)* во текот на испитувањето (прв преглед и после 2.5 месеци) прикажани се на табела 12 (пациенти на системска примена на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена).

При првиот преглед регистрирани се 3 (10,00%) позитивни наоди, од нив после 2.5 месеци 1 (3,33%) наод е позитивен, а 2 (6,67%) се негативни.

При првиот преглед регистрирани се 27 (90,00%) негативни наоди, од нив после 2.5 месеци 4 (13,33%) наоди се позитивни, а 23 (76,67%) негативни.

За $p > 0,05 (p = 0,68)$ /McNemar s test/ нема значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

Табела 12. Наод на *Cl* при првиот преглед и после 2.5 месеци од применетата терапија

	Наод-прв преглед	Наод после 2.5 месеци		Row Totals
		Позитивен	Негативен	
Count	Позитивен	1	2	3
Total Percent		3,33%	6,67%	10,00%
Count	Негативен	4	23	27
Total Percent		13,33%	76,67%	90,00%
Count	All Grps	5	25	30
Total Percent		16,67%	83,33%	

6.7. *Porphyromonas gingivalis* (Pg)

Микробиолошките наоди на *Porphyromonas gingivalis* (Pg) во текот на испитувањето (прв преглед и после 2.5 месеци) прикажани се на табела 13 (пациенти подложени на системска терапија на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена).

При првиот преглед регистрирани се 11 (36,67%) позитивни наоди, од нив после 2.5 месеци 2 (6,67%) наоди се позитивни, а 9 (30,00%) негативни.

При првиот преглед регистрирани се 19 (63,33%) негативни наоди, од нив после 2.5 месеци 1 (3,33%) наод е позитивен, а 18 (60,00%) е негативен.

За $p < 0,05 (p = 0,02)$ /McNemar's test/ постои значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

Табела 13. Наод на *Pg* при првиот преглед и после 2.5 месеци од применетата терапија

	Наод –прв преглед	Наод после 2.5 месеци		Row Totals
		Позитивен	Негативен	
Count	Позитивен	2	9	11
Total Percent		6,67%	30,00%	36,67%
Count	Негативен	1	18	19
Total Percent		3,33%	60,00%	63,33%
Count	All Grps	3	27	30
Total Percent		10,00%	90,00%	

II –Анализа на добиени наоди од пациенти кои примаа doxycycline системски два пати по 20 mg. дневно два и пол месеци

Втората група ја сочинуваат 30 пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg дневно (наутро и навечер) т.е. 75 дена (два и пол месеци).

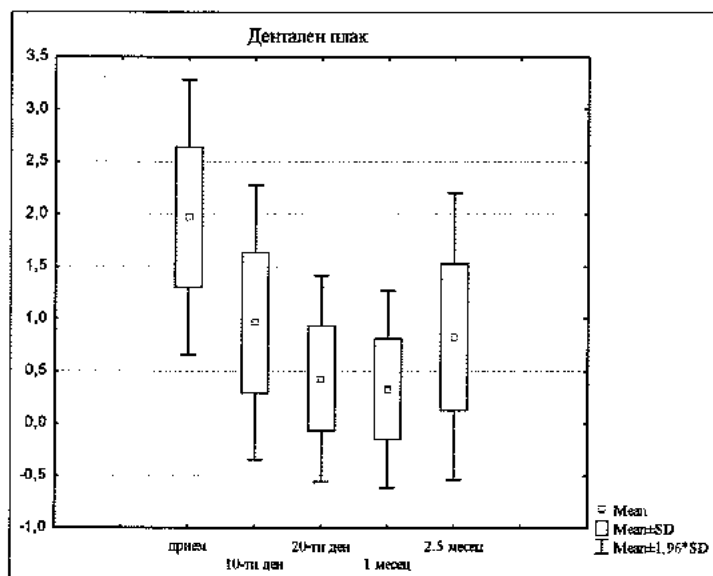
1. Индекс на дентален плак според Loe-Sillness

Вредностите на денталниот плак во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци (група пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg дневно два и пол месеци) прикажани се на табела 14 и графикон 6.

При првиот преглед вредноста на дентален плак варира во интервалот $1,97 \pm 0,67$; $\pm 95,00\%CI: 1,72-2,22$; минималната вредност изнесува 1, а максималната 3. После 10 дена терапија вредноста на дентален плак се движи во интервалот $0,97 \pm 0,67$; $\pm 95,00\%CI: 0,72-1,22$; минималната вредност изнесува 0, а максималната 2. По 20 дена терапија вредноста на дентален плак варира во интервалот $0,43 \pm 0,50$; $\pm 95,00\%CI: 0,25-0,62$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 1. Што се однесува до вредностите на дентален плак после 1 месец терапија, тие варираат во интервалот $0,33 \pm 0,48$; $\pm 95,00\%CI: 0,15-0,51$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 1, додека пак после 2.5 месеци вредностите на дентален плак варираат во интервалот $0,83 \pm 0,70$; $\pm 95,00\%CI: 0,57-1,09$; минималната вредност изнесува 0, а максималната 2.

Табела 14. Дескриптивна статистика на индексот на дентален плак според Loe-Sillness кај пациенти кои примаа системски doxycycline 2x 20 mg дневно во текот на 75 дена

Дентален плак	Valid N	Mean	Confidence -95,00%	Confidence +95,00%	Min.	Max.	Std. Dev.
прв преглед	30	1,97	1,72	2,22	1,00	3,00	0,67
10-ти ден	30	0,97	0,72	1,22	0,00	2,00	0,67
20-ти ден	30	0,43	0,25	0,62	0,00	1,00	0,50
1 месец	30	0,33	0,15	0,51	0,00	1,00	0,48
2.5 месеци	30	0,83	0,57	1,09	0,00	2,00	0,70



Графикон 6. Приказ на вредностите на дентален плак кај пациенти со системска примена на doxycycline 2x20 mg во различно испитуваните временски интервали

Разликите помеѓу вредностите на денталниот плак во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци прикажани се на табела 14.1.

За ANOVA Chi Sqr.=78,31 и $p < 0,001$ ($p=0,000$) постои значајна разлика помеѓу вредностите на дентален плак во анализираната релација.

При првиот преглед вредноста на денталниот плак варира во интервалот $1,97 \pm 0,67$.

После 10 дена терапија просечната вредност на денталниот плак е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,97 \pm 0,67$.

По 20 дена терапија просечната вредност на денталниот плак е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,43 \pm 0,50$.

После 1 месец терапија просечната вредност на дентален плак е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,33 \pm 0,48$, додека пак после 2.5 месеци просечната вредност на денталниот плак е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,83 \pm 0,70$.

Табела 14.1. Разлики на индексот на дентален плак кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 2x20 mg во различно испитуваните временски интервали

Friedman ANOVA / ANOVA Chi Sqr. (N=30, df=4)=78,31; p=0,000

Дентален плак	Average Rank	Sum of Ranks	Mean	Std.Dev.
Прв преглед	4,87	146,00	1,97	0,67
10-ти ден	3,10	93,00	0,97	0,67
20-ти ден	2,10	63,00	0,43	0,50
1 месец	2,05	61,50	0,33	0,48
2.5 месеци	2,88	86,50	0,83	0,70

Просечната вредност на дентален плак ($\bar{x}=0,83$) после 2.5 месеци за $Z=4,46$ и $p < 0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала од просечната вредност на дентален плак ($\bar{x}=1,97$) при првиот преглед (табела 14.1.1). (пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg дневно два и пол месеци).

Табела 14.1.1. Разлики на дентален плак кај пациенти на системска примена doxycycline 2x20 mg при првиот преглед и после 2.5 месеци од испитуваниот период

Дентален плак	Valid	T	Z	p-level
првиот преглед и 2.5 месеци	30	0,00	4,46	0,000

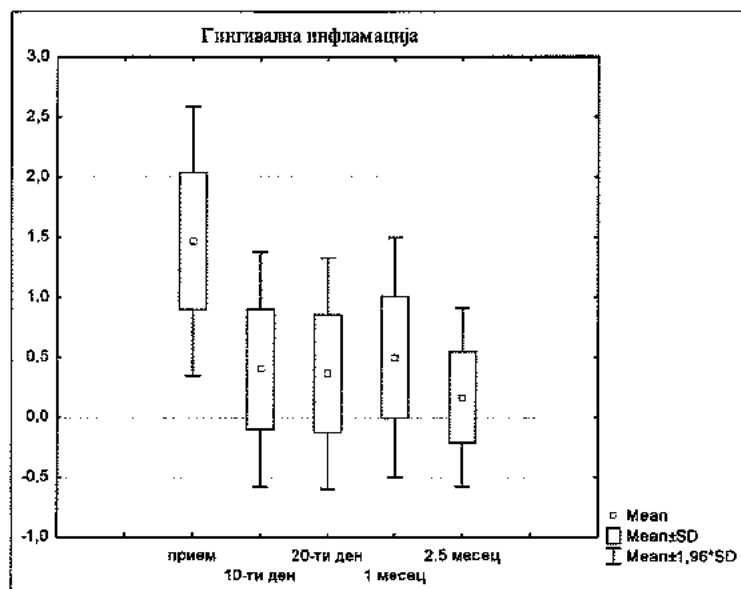
2. Индекс на гингивална инфламација според Cowell

Вредностите на гингивалната инфламација во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци (група на пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg дневно два и пол месеци) прикажани се на табела 15 и графикон 7.

При првиот преглед вредноста на гингивална инфламација варира во интервалот $1,47 \pm 0,57$; $\pm 95,00\%CI: 1,25-1,68$; минималната вредност изнесува 1 а максималната 3. После 10 дена терапија вредноста на гингивална инфламација се движи во интервалот $0,40 \pm 0,50$; $\pm 95,00\%CI: 0,21-0,59$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 1. После 20 дена терапија вредноста на гингивална инфламација варира во интервалот $0,36 \pm 0,48$; $\pm 95,00\%CI: 0,17-0,54$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 1. После 1 месец терапија вредноста на гингивална инфламација варира во интервалот $0,50 \pm 0,51$; $\pm 95,00\%CI: 0,31-0,69$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 1, додека пак после 2.5 месеци вредноста на гингивална инфламација варира во интервалот $0,17 \pm 0,38$; $\pm 95,00\%CI: 0,03-0,31$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 1.

Табела 15. Дескриптивна статистика на индексот на гингивална инфламација според Cowell кај пациенти кои примаа системски doxycycline 2x 20 mg дневно во текот на 75 дена

Гингивална инфламација	Valid N	Mean	Confidence -95,00%	Confidence +95,00%	Minimum	Maximum	Std. Dev.
прв преглед	30	1,47	1,25	1,68	1,00	3,00	0,57
10-ти ден	30	0,40	0,21	0,59	0,00	1,00	0,50
20-ти ден	30	0,36	0,17	0,54	0,00	1,00	0,48
1 месец	30	0,50	0,31	0,69	0,00	1,00	0,51
2.5 месеци	30	0,17	0,03	0,31	0,00	1,00	0,38



Графикон 7. Вредности на индексот на гингивална инфламација кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 2x20 mg во различно испитуваните временски интервали

Разликите помеѓу вредностите на гингивална инфламација во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци прикажани се на табела 15.1.

За ANOVA Chi Sqr.=61,75 и $p < 0,001$ ($p=0,000$) постои значајна разлика помеѓу вредностите на гингивална инфламација во анализираната релација.

При првиот преглед вредноста на гингивална инфламација варира во интервалот $1,47 \pm 0,57$.

После 10 дена терапија просечната вредност на гингивална инфламација е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,40 \pm 0,50$.

После 20 дена терапија просечната вредност на гингивална инфламација е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,36 \pm 0,48$.

После 1 месец терапија просечната вредност на гингивална инфламација е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,50 \pm 0,51$, додека пак после 2.5 месеци просечната вредност на гингивална инфламација е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,17 \pm 0,38$.

Табела 15.1 Разлики на индексот на гингивална инфламација кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 2x20 mg во различно испитуваните временски интервали

Гингивална инфламација	Average Rank	Sum of ranks	Mean	Std.Dev.
прв преглед	4,70	141,00	1,47	0,57
10-ти ден	2,65	79,50	0,40	0,50
20-ти ден	2,58	77,50	0,36	0,48
1 месец	2,92	87,50	0,50	0,51
2.5 месеци	2,15	64,50	0,17	0,38

Просечната вредност на гингивална инфламација ($\bar{x}=0,17$) после 2.5 месеци за $Z=4,62$ и $p < 0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала од просечната вредност на гингивална инфламација ($\bar{x}=1,47$) при првиот преглед (табела 15.1.1) (пациенти кои примат doxycycline два пати по 20 mg дневно два и пол месеци).

Табела 15.1.1 Разлики на индексот на гингивална инфламација кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 2x20 mg при првиот преглед и после 2.5 месеци од испитуваниот период

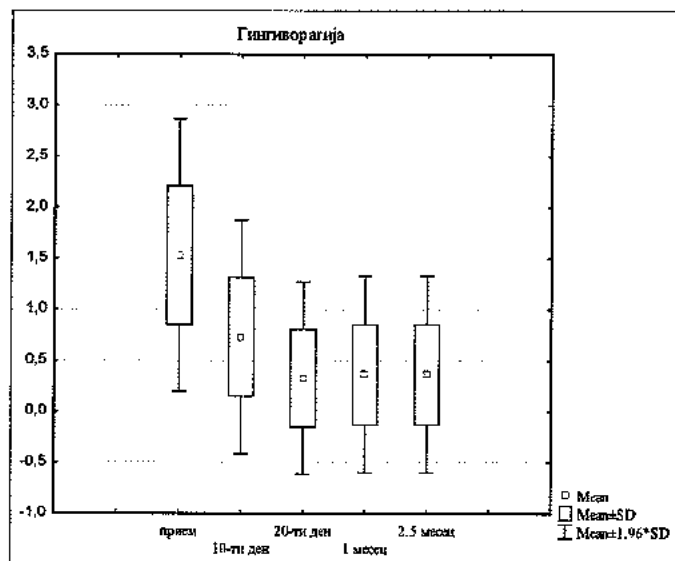
Гингивална инфламација	Valid	T	Z	p-level
прв преглед и 2.5 месеци	30	0,00	4,62	0,000

3. Индекс на гингиворагија според Cowell

Вредностите на гингиворагија во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци (пациенти подложени на системска примена doxycycline 2x20 mg еднаш дневно во текот на 30 дена) прикажани се на табела 16 и графикон 8. При првиот преглед вредноста на гингиворагија варира во интервалот $1,52 \pm 0,67$; $\pm 95,00\%CI: 1,27-1,78$; минималната вредност изнесува 1 а максималната 3. По 10 дена терапија вредноста на гингиворагија варира во интервалот $0,73 \pm 0,58$; $\pm 95,00\%CI: 0,52-0,95$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 2. По 20 дена терапија вредноста на гингиворагија варира во интервалот $0,33 \pm 0,48$; $\pm 95,00\%CI: 0,15-0,51$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 1. Додека после 1 месец терапија вредноста на гингиворагија варира во интервалот $0,36 \pm 0,48$; $\pm 95,00\%CI: 0,17-0,54$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 1. После 2.5 месеци вредноста на гингиворагија варира во интервалот $0,37 \pm 0,49$; $\pm 95,00\%CI: 0,18-0,55$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 1.

Табела 16. Дескриптивна статистика на индексот на гингиворагија според Cowell кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 2x20 mg дневно во текот на 75 дена

Гингиворагија	Valid N	Mean	Confidence -95,00%	Confidence +95,00%	Minimum	Maximum	Std. Dev.
прв преглед	30	1,52	1,27	1,78	1,00	3,00	0,67
10-ти ден	30	0,73	0,52	0,95	0,00	2,00	0,58
20-ти ден	30	0,33	0,15	0,51	0,00	1,00	0,48
1 месец	30	0,36	0,17	0,54	0,00	1,00	0,48
2.5 месеци	30	0,37	0,18	0,55	0,00	1,00	0,49



Графикон 8. Приказ на вредностите на гингиворагија кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 2x20 mg во различни временски интервали

Разликите помеѓу вредностите на гингиворагија во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци прикажани се на табела 16.1.

За ANOVA Chi Sqr.=58,16 и $p < 0,001 (p = 0,000)$ постои значајна разлика помеѓу вредностите на гингиворагија во анализираната релација. При првиот преглед вредноста на гингиворагијата варира во интервалот $1,52 \pm 0,67$. По 10 дена терапија просечната вредност на гингиворагија е помала во однос на првиот ден и варира во интервалот $0,73 \pm 0,58$. После 20 дена терапија просечната вредност на гингиворагија е помала во однос на првиот ден и варира во интервалот $0,33 \pm 0,4$. Додека пак по 1 месец терапија просечната вредност на гингиворагија е помала во однос на првиот ден и варира во интервалот $0,36 \pm 0,48$, а по 2.5 месеци просечната вредност на гингиворагија е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,37 \pm 0,49$.

Табела 16.1 Разлики на индексот на гингиворагија кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 2x20 mg во различно испитуваните временски интервали

Гингиворагија	Average Rank	Sum of Ranks	Mean	Std.Dev.
прв преглед	4,53	136,00	1,52	0,67
10-ти ден	3,20	96,00	0,73	0,58
20-ти ден	2,35	70,50	0,33	0,48
1 месец	2,47	74,00	0,36	0,48
2.5 месеци	2,45	73,50	0,37	0,49

Просечната вредност на гингиворагија ($\bar{x} = 0,37$) после 2.5 месеци за $Z = 4,20$ и $p < 0,001 (p = 0,000)$ значајно е помала од просечната вредност на гингиворагија ($\bar{x} = 1,52$) при првиот преглед (табела 16.1.1). (пациенти подложени на системска примена doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена).

Табела 16.1.1 Разлики на индексот на гингиворагија кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 2x20 mg при првиот преглед и после 2.5 месеци од испитуваниот период

Гингиворагија	Valid	T	Z	p-level
прв преглед и 2.5 месеци	30	0,00	4,20	0,000

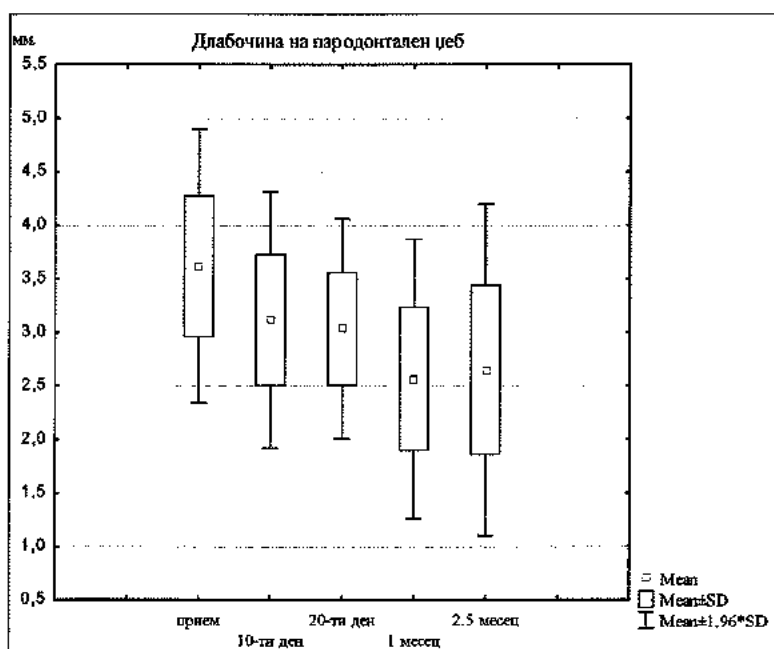
4. Индекс на длабочина на пародонтални џепови според Ramford

Вредностите на длабочина на пародонталните џепови во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци пациенти подложени на системска примена на doxycycline 2x20 mg прикажани се на табела 17 и графикон 9. При првиот преглед длабочината на пародонталните џепови варира во интервалот $3,61 \pm 0,64$ mm;

$\pm 95,00\%CI: 3,36-3,85$; минималната вредност изнесува 3 mm. а максималната 5 mm. После 10 дена терапија длабочината на пародонталните џекови варира во интервалот $3,12 \pm 0,61$ mm; $\pm 95,00\%CI: 2,89-3,34$; минималната вредност изнесува 2,50 mm. а максималната 4,50 mm. По 20 дена терапија длабочината на пародонталните џекови варира во интервалот $3,03 \pm 0,52$; $\pm 95,00\%CI: 2,84-3,23$; минималната вредност изнесува 2,50 mm. а максималната 4,50 mm. По 1 месец терапија вредностите за длабочина на пародонталните џекови варира во интервалот $2,57 \pm 0,67$ mm.; $\pm 95,00\%CI: 2,32-2,82$; минималната вредност изнесува 1,50 mm. а максималната 4,00 mm. а после 2.5 месеци вредностите се движат во границите од $2,65 \pm 0,79$ mm.; $\pm 95,00\%CI: 2,36-2,94$; минималната вредност изнесува 1,50 mm. а максималната 4,50 mm.

Табела 17. Deskriptivna statistika na длабочината на пародонтални џекови според Ramfjord кај пациенти на системска примена на doxycycline 2x20 mg дневно во текот на 75 дена

Длабочина на пародонтален џеб	Valid N	Mean	Confidence -95,00%	Confidence +95,00%	Minimum	Maximum	Std. Dev.
прв преглед	30	3,61	3,36	3,85	3,00	5,00	0,64
10-ти ден	30	3,12	2,89	3,34	2,50	4,50	0,61
20-ти ден	30	3,03	2,84	3,23	2,50	4,50	0,52
1 месец	30	2,57	2,32	2,82	1,50	4,00	0,67
2.5 месеци	30	2,65	2,36	2,94	1,50	4,50	0,79



Графикон 9. Приказ на вредностите на длабочина на пародонталните џекови кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 2x20 mg во различни временски интервали

Разликите помеѓу вредностите на длабочина на пародонталните џепови во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци прикажани се на табела 17.1. За ANOVA Chi Sqr.=89,54 и $p < 0,001 (p=0,000)$ постои значајна разлика помеѓу вредностите на длабочина на пародонталните џепови во анализираната релација.

При првиот преглед длабочината на пародонталните џепови варира во интервалот $3,61 \pm 0,64$ mm. По 10 дена терапија просечната длабочина на пародонталните џепови е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $3,12 \pm 0,61$ mm. Дваесетиот ден од применетата терапија просечната вредност на длабочина на пародонталните џепови е помала во однос на првиот ден и варира во интервалот $3,03 \pm 0,52$ mm. После 1 месец терапија просечната вредноста е помала во однос на првиот ден и варира во интервалот $2,57 \pm 0,67$ mm., што приближно е иста после 2.5 месеци каде просечната вредност на длабочина на пародонталните џепови е помала во однос на првиот ден и варира во интервалот $2,65 \pm 0,79$ mm.

Табела 17.1 Разлики во длабочината на пародонталните џепови кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 2x20 mg во различно испитуваните временски интервали

Длабочина на пародонтални џепови	Average Rank	Sum of Ranks	Mean	Std.Dev.
прв преглед	4,83	145,00	3,61	0,64
10-ти ден	3,40	102,00	3,12	0,61
20-ти ден	3,10	93,00	3,03	0,52
1 месец	1,72	51,50	2,57	0,67
2.5 месеци	1,95	58,50	2,65	0,79

Просечната вредност на длабочина на пародонталните џепови ($\bar{x}=2,65$ mm.) после 2.5 месеци за $Z=4,64$ и $p < 0,001 (p=0,000)$ значајно е помала од просечната вредност на длабочина на пародонталните џепови ($\bar{x}=3,61$ mm.) при првиот преглед (табела 4.1.1). (пациенти на системска примена на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена).

Табела 17.1.1 Разлики на вредностите на индексот на длабочина на пародонталните џепови кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 2x20 mg при првиот преглед и после 2.5 месеци од испитуваниот период

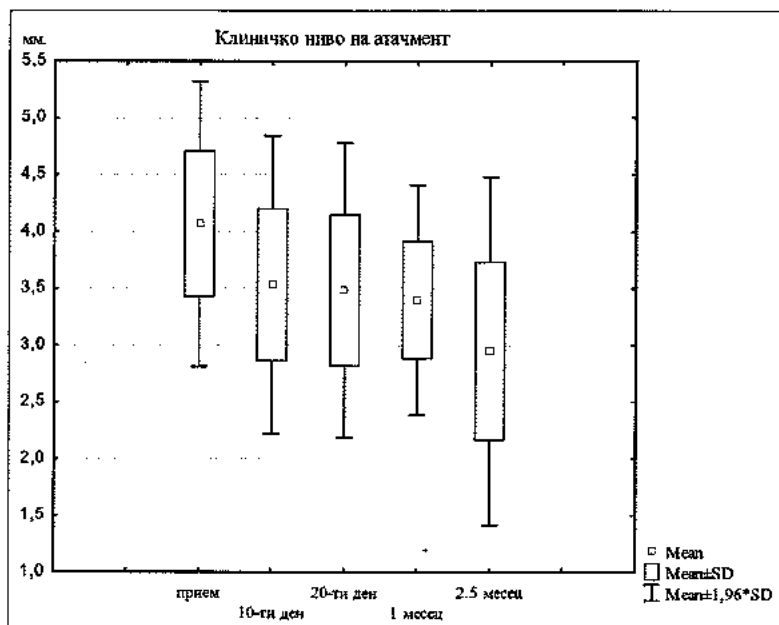
Длабочина на пародонтални џепови	Valid	T	Z	p-level
Прв преглед и 2.5 месеци	30	7,00	4,64	0,000

5. Индекс на епителна апикална миграција (клиничко ниво на атачмент) –EAM

Вредностите на EAM во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци (пациенти со системска примена на doxycycline 20 mg двапати дневно во текот на 75 дена) прикажани се на табела 18 и графикон 10. При првиот преглед вредноста на EAM варира во интервалот $4,06 \pm 0,63$ mm.; $\pm 95,00\%CI: 3,82-4,30$; минималната вредност изнесува 3 mm. а максималната 5,50 mm. По 10 дена терапија вредноста на EAM варира во интервалот $3,53 \pm 0,67$ mm.; $\pm 95,00\%CI: 3,28-3,78$; минималната вредност изнесува 2,50 mm., а максималната 5,00 mm. После 20 дена терапија вредноста на EAM варира во интервалот $3,48 \pm 0,66$; $\pm 95,00\%CI: 3,24-3,73$; минималната вредност изнесува 2,00 mm. а максималната 5,00 mm. После 1 месец терапија вредноста на EAM варира во интервалот $3,40 \pm 0,52$ mm.; $\pm 95,00\%CI: 3,21-3,59$; минималната вредност изнесува 2,00 mm. а максималната 4,50 mm., dodeka pak po 2.5 месеци вредноста на EAM варира во интервалот $2,95 \pm 0,78$ mm.; $\pm 95,00\%CI: 2,66-3,24$; минималната вредност изнесува 1,00 mm. а максималната 4,50 mm.

Табела 18. Дескриптивна статистика на индексот на EAM кај пациенти со системска примена на doxycycline 2x20 mg дневно во текот на 75 дена

Клиничко ниво на атачмент	Valid N	Mean	Confidence -95,00%	Confidence +95,00%	Minimum	Maximum	Std. Dev.
прв преглед	30	4,06	3,82	4,30	3,00	5,50	0,63
10-ти ден	30	3,53	3,28	3,78	2,50	5,00	0,67
20-ти ден	30	3,48	3,24	3,73	2,00	5,00	0,66
1 месец	30	3,40	3,21	3,59	2,00	4,50	0,52
2.5 месеци	30	2,95	2,66	3,24	1,00	4,50	0,78



Графикон 10. Вредности на EAM кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 2x20 mg во различно испитуваните временски интервали

Разликите помеѓу вредностите на EAM во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци прикажани се на табела 18.1.

За ANOVA Chi Sqr.=85,94 и $p < 0,001$ ($p=0,000$) постои значајна разлика помеѓу вредностите на EAM во анализираната релација.

При првиот преглед вредноста на ниво EAM варира во интервалот $4,07 \pm 0,64$ mm. После 10 дена терапија просечната вредност на EAM е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $3,53 \pm 0,67$ mm., а после 20 дена просечната вредност на EAM е помала во однос на првиот ден и варира во интервалот $3,48 \pm 0,66$ mm. После 1 месец терапија просечната вредност на EAM е помала во однос на првиот ден и варира во интервалот $3,40 \pm 0,52$ mm, додека пак, после 2.5 месеци просечната вредност на EAM е помала во однос на првиот ден и варира во интервалот $2,95 \pm 0,78$ mm.

Табела 18.1 Разлики на индексот на EAM кај пациенти подложени на системска примена doxycycline од 2x20 mg во различно испитуваните временски интервали

Клиничко ниво на атачмент	Average Rank	Sum of Ranks	Mean	Std.Dev.
прв преглед	4,78	143,50	4,06	0,63
10-ти ден	3,03	91,00	3,53	0,67
20-ти ден	2,98	89,50	3,48	0,66
1 месец	2,72	81,50	3,40	0,52
2.5 месеци	1,48	44,50	2,95	0,78

Просечната вредност на EAM ($\bar{x}=2,95$ mm.) после 2.5 месеци за $Z=4,70$ и $p < 0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала од просечната вредност на EAM ($\bar{x}=4,06$ mm.) при првиот ден (табела 18.1.1). (група пациенти подложени на системска примена на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена)

Табела 18.1.1 Разлика на индексот на EAM кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 2x20 mg при првиот преглед и после 2.5 месеци од испитуваниот период

Клиничко ниво на атачмент	Valid	T	Z	p-level
прв преглед и 2.5 месеци	30	0,00	4,70	0,000

6. Наоди од спроведената микробиолошка анализа

На табела 19 прикажан е наодот на патогени бактерии при првиот преглед на пациентите од втората група. Материјалот е земен од гингивалниот флуид на пародонталните џепови

Табела 19. Микробиолошки наод кај испитуваната група-пациенти при првиот преглед кои започнаа да примаат doxycycline 20 x20 mg дневно 2,5 месеци

Наод – прв преглед	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
1,2,3,4,5,6,7	2	2	6,67	6,67
1,2,3,4,5	2	4	6,67	13,33
1,2,3,4	4	8	13,33	26,67
1,3,4,5	1	9	3,33	30,00
1,2,4,6,7	1	10	3,33	33,33
4,5,6,7	1	11	3,33	36,67
1,4,5,7	1	12	3,33	40,00
1,2,3	3	15	10,00	50,00
1,3,4	1	16	3,33	53,33
2,3,4	4	20	13,33	66,67
1,2,7	1	21	3,33	70,00
2,4,7	1	22	3,33	73,33
2,3,7	1	23	3,33	76,67
3,4,5	1	24	3,33	80,00
4,5,7	1	25	3,33	83,33
1,2	3	28	10,00	93,33
2,3	1	29	3,33	96,67
4,5	1	30	3,33	100,00
Missing	0	30	0,00	100,00

Легенда:

1. *Aa* – *actinobacillus actinomicetemcomitans*
2. *P spp* – *peptostreptococcus species*
3. *St m* – *Streptococcus mitis/oralis*
4. *Fn* – *Fusobacterium nucleatum*
5. *VI* – *veillonela*
6. *Cl* – *clostridium*
7. *Pg* – *porphiromonas gingivalis*

Наодот на патогени бактерии (по 2,5 месеци) во групата на пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg дневно два и пол месеци е прикажан на табела 19.1.

Табела 19.1 Микробиолошки наод кај испитуваната група-пациенти кои примаа doxycycline 2x20 mg дневно после 2.5 месеци од применетата терапија

Наод по 2.5 месеци	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
1	1	1	3,33	3,33
3	4	5	13,33	16,67
1,2,3,4,5,6,7	3	8	10,00	26,67
1,2,3,	1	9	3,33	30,00
3,4,5	3	12	10,00	40,00
3,4,6	1	13	3,33	43,33
1,4,5	1	14	3,33	46,67
1,3	1	15	3,33	50,00
2,3	4	19	13,33	63,33
3,5	3	22	10,00	73,33
3,4	4	26	13,33	86,67
4,5	1	27	3,33	90,00
1,2	1	28	3,33	93,33
3,6	1	29	3,33	96,67
5,7	1	30	3,33	100,00
Missing	0	30	0,00	100,00

Легенда:

1. Aa – *Actinobacillus actinomicetemcomitans*
2. P spp – *Peptostreptococcus species*
3. St m – *Streptococcus mitis/oralis*
4. Fn – *Fusobacterium nucleatum*
5. Vl – *Veillonela*
6. Cl – *Clostridium*
7. Pg – *Porphiromonas gingivalis*

6.1 *Actinobacillus actinomicetemcomitans* (Aa)

Микробиолошките наоди на *Actinobacillus actinomicetemcomitans* (Aa) во текот на испитувањето (првиот преглед и после 2.5 месеци) прикажани се на табела 20 (група на пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg дневно 2,5 месеци).

При првиот преглед регистрирани се 18 (60,00%) позитивни наоди, од нив после 2.5 месеци 4 (13, 33 %) наоди се позитивни, а 14 (46,67%) негативни.

При првиот преглед регистрирани се 12 (40,00%) негативни наоди, од нив после 2.5 месеци 2 (6,67%) наоди се позитивни, а 10 (33,33%) негативни.

За $p < 0,05 (p = 0,06)$ /McNemar's test/ постои значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

Табела 20. Наод на *Aa* при првиот преглед и после 2.5 месеци

		Наод после 2.5 месеци		Row Totals
Наод – прв преглед		Позитивен	Негативен	
Count	Позитивен	4	14	18
Total Percent		13,33%	46,67%	60,00%
Count	Негативен	2	10	12
Total Percent		6,67%	33,33%	40,00%
Count	All Grps	6	24	30
Total Percent		20,00%	80,00%	

6.2. *Peptostreptococcus species (P spp)*

Микробиолошките наоди на *Peptostreptococcus species (P spp)* во текот на испитувањето (прв преглед и после 2.5 месеци) прикажани се на табела 21

(пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg. дневно два и пол месеци).

При првиот преглед регистрирани се 22 (73,33%) позитивни наоди, од нив после 2.5 месеци 8 (26,67%) наоди се позитивни, а 14 (46,67%) негативни. При првиот преглед регистрирани се 8 (26,67%) негативни наоди, од нив после 2.5 месеци 1 (3,33%) наод е позитивен, а 7 (23,33%) се негативни.

За $p < 0,01 (p = 0,002)$ /McNemar's test/ постои значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

Табела 21. Наод на *P spp* при првиот преглед и после 2.5 месеци од испитуваниот период

		Наод после 2.5 месеци		Row Totals
Наод – прв преглед		Позитивен	Негативен	
Count	Позитивен	8	14	22
Total Percent		26,67%	46,67%	73,33%
Count	Негативен	1	7	8
Total Percent		3,33%	23,33%	26,67%
Count	All Grps	9	21	30
Total Percent		30,00%	70,00%	

6.3. *Streptococcus mitis/oralis* (St m)

Микробиолошките наоди на *Streptococcus mitis/oralis* (St m) во текот на испитувањето (прв преглед и после 2.5 месеци) прикажани се на табела 22. (пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg. дневно два и пол месеци).

При првиот преглед регистрирани се 19 (63,33%) позитивни наоди, од нив после 2.5 месеци 17 (56,67%) се позитивни, а 2(6,67%) негативни.

При првиот преглед регистрирани се 11 (36,67%) негативни наоди, од нив после 2.5 месеци 8 (26,67%) наоди се позитивни, а 3(10,00%) негативни.

За $p > 0,05 (p = 0,11)$ /McNemar's test/ нема значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

Табела 22. Наод на St m при првиот преглед и после 2.5 месеци од испитуваниот период

	Наод – прв преглед	Наод после 2.5 месеци		Row Totals
		Позитивен	Негативен	
Count	Позитивен	17	2	19
Total Percent	Позитивен	56,67%	6,67%	63,33%
Count	Негативен	8	3	11
Total Percent	Негативен	26,67%	10,00%	36,67%
Count	All Grps	25	5	30
Total Percent	All Grps	83,33%	16,67%	

6.4 *Fusobacterium nucleatum* (Fn)

Микробиолошките наоди на *Fusobacterium nucleatum* (Fn) во текот на испитувањето (прв преглед и после 2.5 месеци) прикажани се на табела 23. (пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg. дневно 2,5 месеци). При првиот преглед регистрирани се 20 (66,67%) позитивни наоди, од нив после 2.5 месеци 7 (23,33%) наоди се позитивни, а 13 (43,33%) негативни.

При првиот преглед регистрирани се 10 (33,33%) негативни наоди, од нив после 2.5 месеци 6 (20,00%) наоди се позитивни, а 4 (13,33%) негативни.

За $p > 0,05 (p = 0,17)$ /McNemar's test/ нема значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

Табела 23. Наод на Fn при првиот преглед и после 2.5 месеци од примената терапија

	Наод – прв преглед	Наод после 2.5 месеци		Row Totals
		Позитивен	Негативен	
Count	Позитивен	7	13	20
Total Percent	Позитивен	23,33%	43,33%	66,67%
Count	Негативен	6	4	10
Total Percent	Негативен	20,00%	13,33%	33,33%
Count	All Grps	13	17	30
Total Percent	All Grps	43,33%	56,67%	

6.5 *Veillonela (VI)*

Микробиолошките наоди на *Veillonela (VI)* во текот на испитувањето (прв преглед и после 2.5 месеци) прикажани се на табела 24 (група пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg. дневно два и пол месеци).

При првиот преглед регистрирани се 11 (36,67%) позитивни наоди, од нив после 2.5 месеци 4 (13,33%) наоди се позитивни, а 7 (23,33%) негативни.

При првиот преглед регистрирани се 19 (63,33%) негативни наоди, од нив после 2.5 месеци 8 (26,67%) наоди се позитивни, а 11(36,67%) негативни.

За $p > 0,05 (p = 1,00)$ /McNemar s test/ нема значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

Табела 24. Наод на VI при првиот преглед и после 2.5 месеци од применетата

		Наод после 2.5 месеци		Row Totals
Наод – прв преглед		Позитивен	Негативен	
Count	Позитивен	4	7	11
Total Percent		13,33%	23,33%	36,67%
Count	Негативен	8	11	19
Total Percent		26,67%	36,67%	63,33%
Count	All Grps	12	18	30
Total Percent		40,00%	60,00%	

6.6 *Clostridium (CI)*

Микробиолошките наоди на *Clostridium (CI)* во текот на испитувањето (прв преглед и после 2.5 месеци) прикажани се на табела 25. (пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg дневно два и пол месеци).

При првиот преглед регистрирани се 5 (16,67%) позитивни наоди, од нив после 2.5 месеци 1 (3,33%) наод е позитивен, а 4 (13,33%) негативни.

При првиот преглед регистрирани се 25 (83,33%) негативни наоди, од нив после 2.5 месеци 4(13,33%) наоди се позитивни, а 21(70,00%) негативен.

За $p > 0,05 (p = 0,72)$ /McNemar s test/ нема значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

Табела 25. Наод на CI при првиот преглед и после 2.5 месеци од применетата терапија

		Наод после 2.5 месеци		Row Totals
Наод – прв преглед		Позитивен	Негативен	
Count	Позитивен	1	4	5
Total Percent		3,33%	13,33%	16,67%
Count	Негативен	4	21	25
Total Percent		13,33%	70,00%	83,33%
Count	All Grps	5	25	30
Total Percent		16,67%	83,33%	

6.7. *Porphyromonas gingivalis* (Pg)

Микробиолошките наоди на *Porphyromonas gingivalis* (Pg) во текот на испитувањето (прв преглед и после 2.5 месеци) прикажани се на табела 26. (пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg дневно 2,5 месеци).

При првиот преглед регистрирани се 10 (33,33%) позитивни наоди, од нив после 2.5 месеци терапија сите наоди (33,33%) се негативни.

Исто така при првиот преглед регистрирани се 20 (66,67%) негативни наоди, од нив после 2.5 месеци 4 (13,33%) наоди се позитивни, а 16 (53,33%) негативни. За $p > 0,05 (p = 0,18)$ /McNemar's test/ нема значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

Табела 26. Наод на Pg при првиот преглед и после 2.5 месеци

Count	Наод - прв преглед	Наод после 2.5 месеци		Row Totals
	Позитивен	Позитивен	Негативен	
	Позитивен	0	10	10
Total Percent		0,00%	33,33%	33,33%
Count	Негативен	4	16	20
Total Percent		13,33%	53,33%	66,67%
Count	All Grps	4	26	30
Total Percent		13,33%	86,67%	

III – Разлики на добиените наоди кај пациенти кои примаа doxycycline 100 mg дневно еден месец и пациенти кои примаа два пати по 20 mg. дневно два и пол месеци

1. Индекс на дентален плак според Löe-Sillness

Разлики во вредностите на дентален плак во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци, како резултат на применетата терапија во двете групи прикажани се на табела 27.

При првиот преглед за $Z=0,00$ и $p > 0,05 (p = 0,99)$ нема значајна разлика во просечните вредности на дентален плак во двете групи.

После 10 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=0,97$) на дентален плак кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци) за $Z=-3,15$ и $p < 0,01 (p = 0,002)$ значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=0,37$) на дентален плак кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg / 30 дена).

После 20 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=0,43$) на дентален плак кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци) за $Z=0,22$ и $p > 0,05 (p = 0,82)$ незначајно е помала од просечната вредност ($\bar{x}=0,47$) на дентален плак кај пациентите од првата група (100 mg doxycycline / 30 дена).

После 1 месец од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=0,33$) на дентален плак кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци) за

$Z=-0,44$ и $p>0,05(p=0,66)$ незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=0,27$) на дентален плак кај пациентите од првата подгрупа (doxycycline 100 mg / 30 дена).

После 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=0,83$) на дентален плак кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци) за $Z=0,63$ и $p>0,05(p=0,53)$ незначајно е помала од просечната вредност ($\bar{x}=0,93$) на дентален плак кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg / 30 дена).

Табела 27. Разлика помеѓу испитуваните групи според добиените вредности на денталниот плак во сите испитувани временски интервали

Дентален плак	Rank Sum 1x100 mg	Rank Sum 2 x 20 mg	U	Z	p-level	Valid N 1x100 mg	Valid N 2 x 20 mg
прв преглед	914,00	915,00	450,00	0,00	0,99	30	30
10-ти ден	702,00	1128,00	237,00	-3,15	0,002	30	30
20-ти ден	930,00	900,00	435,00	0,22	0,82	30	30
1 месец	885,00	945,00	420,00	-0,44	0,66	30	30
2.5 месеци	957,50	872,50	407,50	0,63	0,53	30	30

2. Индекс на гингивална инфламација според Cowell

Разликите во гингивалната инфламација во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци, како резултат на применетата терапија во двете групи прикажани се на табела 28.

При првиот преглед просечната вредност ($\bar{x}=1,57$) на гингивална инфламација кај пациентите од првата група за $Z=0,41$ и $p>0,05(p=0,68)$ незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=1,47$) на гингивална инфламација кај пациентите од втората група.

После 10 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=0,83$) на гингивална инфламација кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg/ 30 дена) за $Z=2,62$ и $p<0,01(p=0,009)$ значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=0,40$) на гингивална инфламација кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци).

После 20 дена од применетата терапија за $Z=0,00$ и $p>0,05(p=0,99)$ нема значајна разлика во просечните вредности на гингивална инфламација во двете групи.

После 1 месец од применетата терапија за $Z=0,00$ и $p>0,05(p=0,99)$ нема значајна разлика во просечните вредности на гингивална инфламација во двете групи.

После 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=0,17$) на гингивална инфламација кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци) за $Z=2,22$ и $p>0,05(p=0,03)$ значајно е помала од просечната вредност ($\bar{x}=0,50$) на гингивална инфламација кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg / 30 дена).

Табела 28. Разлика помеѓу испитуваните групи според добиените вредности на гингивалната инфламација во сите испитувани временски интервали

Гингивална инфламација	Rank Sum 100 mg	Rank Sum 2 x 20 mg	U	Z	p-level	Valid N 100 mg	Valid N 2 x 20 mg
прв преглед	942,50	887,50	422,50	0,41	0,68	30	30
10-ти ден	1092,00	738,00	273,00	2,62	0,009	30	30
20-ти ден	915,00	914,00	450,00	0,00	0,99	30	30
1 месец	914,00	915,00	450,00	0,00	0,99	30	30
2.5 месеци	1065,00	765,00	300,00	2,22	0,06	30	30

3. Индекс на гингиворагија според Cowell

Разликите во гингиворагијата во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци, како резултат на применетата терапија во двете групи прикажани се на табела 29.

При првиот преглед за $Z=0,00$ и $p>0,05(p=0,99)$ нема значајна разлика во просечните вредности на гингиворагијата во двете групи.

После 10 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=0,73$) на гингиворагија кај пациентите од втората група (doxycycline 100 mg / 30 дена) за $Z=1,12$ и $p>0,05(p=0,26)$ незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=0,53$) на гингиворагијата кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци).

После 20 дена од применетата терапија за $Z=0,00$ и $p>0,05(p=0,99)$ нема значајна разлика во просечните вредности на гингиворагијата во двете групи.

После 1 месец од применетата терапија за $Z=0,00$ и $p>0,05(p=0,99)$ нема значајна разлика во просечните вредности на гингиворагијата во двете групи.

После 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=0,97$) на гингиворагијата кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg / 2.5 месеци) за $Z=-3,49$ и $p<0,001(p=0,000)$ значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=0,37$) на гингиворагијата кај пациентите од втората група (doxycycline 2x 20 mg / 30 дена).

Табела 29. Разлика помеѓу испитуваните групи според добиените вредности на гингиворагија помеѓу сите испитувани временски интервали

Гингиворагија	Rank Sum 2 x 20 mg	Rank Sum 1 x 100 mg	U	Z	p-level	Valid N 100 mg	Valid N 2 x 20 mg
прв преглед	914,00	915,00	450,00	0,00	0,99	30	30
10-ти ден	991,00	839,00	374,00	1,12	0,26	30	30
20-ти ден	915,00	914,00	450,00	0,00	0,99	30	30
1 месец	914,00	915,00	450,00	0,00	0,99	30	30
2.5 месеци	679,00	1151,00	214,00	-3,49	0,000	30	30

4. Индекс на длабочина на пародонтален џеб според Ramfjord

Разликите во длабочина на пародонталните џеви во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци, како резултат на применетата терапија во двете групи прикажани се на табела 30.

При првиот преглед за $Z=0,00$ и $p>0,05(p=0,99)$ нема значајна разлика во просечните вредности на длабочина на пародонталните џеви во двете групи.

После 10 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=3,12$ mm.) за длабочина на пародонталните џеви кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg / 75 дена) за $Z=0,50$ и $p>0,05(p=0,62)$ незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=3,03$) длабочина на пародонталните џеви кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg / 1 месец).

После 20 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=3,03$ mm.) длабочина на пародонтален џеб кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg / 75 дена) за $Z=4,52$ и $p<0,001(p=0,000)$ значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=2,28$) длабочина на пародонтален џеб кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg / 1 месец).

После 1 месец од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=2,57$ mm.) длабочина на пародонталните џеви кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg / 75 дена) за $Z=0,29$ и $p>0,05(p=0,77)$ незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=2,52$) длабочина на пародонталните џеви кај пациентите од втората група (doxycycline 1 x 100 mg / 1 месец).

После 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=2,98$) длабочина на пародонталните џеви кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg / 2.5 месеци) за $Z=-1,80$ и $p>0,05(p=0,07)$ незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=2,65$) длабочина на пародонталните џеви кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg / 75 дена).

Табела 30. Разлика помеѓу испитуваните групи според добиените вредности за длабочина на пародонталните џеви во сите испитувани временски

Длабочина на пародонтален џеб	Rank Sum 2 x 20 mg	Rank Sum 1x100 mg	U	Z	p-level	Valid N 100 mg	Valid N 2 x 20 mg
прв преглед	914,00	915,00	450,00	0,00	0,99	30	30
10-ти ден	949,00	881,00	416,00	0,50	0,62	30	30
20-ти ден	1221,00	609,00	144,00	4,52	0,000	30	30
1 месец	934,50	895,50	430,50	0,29	0,77	30	30
2.5 месеци	793,50	1036,50	328,50	-1,80	0,07	30	30

5. Епителна апикална миграција (клиничко ниво на атачмент)-EAM

Разликите во клиничкото ниво на атачмент во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци, како резултат на применетата терапија во двете групи прикажани се на табела 31.

При првиот преглед за $Z=0,00$ и $p>0,05$ ($p=0,99$) нема значајна разлика во просечните вредности на атачмент во двете групи.

После 10 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=3,53$ mm.) на атачментот кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg / 75 дена) за $Z=0,77$ и $p>0,05$ ($p=0,44$) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=3,38$ mm.) на атачмент кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg / 1 месец).

После 20 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=3,48$ mm.) на атачмент кај пациентите од првата група (doxycycline 2x20 mg / 75 дена) за $Z=0,69$ и $p>0,05$ ($p=0,49$) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=3,35$ mm.) на атачмент кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg / 1 месец).

После 1 месец од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=3,40$ mm.) на атачмент кај пациентите од втората група (doxycycline 100 mg / 30 дена) за $Z=1,52$ и $p>0,05$ ($p=0,13$) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=3,22$) на атачмент кај пациентите од првата група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци).

После 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=3,35$) на ЕАМ кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg / 1 месец) за $Z=-2,10$ и $p<0,05$ ($p=0,04$) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=2,95$) на атачмент кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg / 75 дена).

Табела 31. Разлика помеѓу испитуваните групи според добиените вредности за ЕАМ во сите испитувани временски интервали

Клиничко ниво на атачмент	Rank Sum 100 mg	Rank Sum 2 x 20 mg	U	Z	p-level	Valid N 100 mg	Valid N 2 x 20 mg
Прв преглед	914,00	915,00	450,00	0,00	0,99	30	30
10-ти ден	967,00	863,00	398,00	0,77	0,44	30	30
20-ти ден	961,50	868,50	403,50	0,69	0,49	30	30
1 месец	1017,50	812,50	347,50	1,52	0,13	30	30
2.5 месеци	773,00	1057,00	308,00	-2,10	0,04	30	30

6. Разлики помеѓу испитуваните групи во однос на микробиолошкиот наод

6.1 *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa)

Прикажаните резултати на табела 32 се однесуваат на разликата во наодите на *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa) после терапија со doxycycline 2 x 20 mg дневно 2.5 месеци (втора група), односно со doxycycline 100 mg дневно 30 дена (прва група).

Во втората група / пациенти кои примаа doxycycline 2 x 20 mg дневно 2.5 месеци / после 2.5 месеци регистрирани се 6 (10,00%) позитивни и 24 (40,00%) негативни наоди на (Aa).

Во првата група / пациенти кои примаа doxycycline 100 мг. дневно 30 дена / регистрирани се 14(23,33%) позитивни и 16(26,67%) негативни наоди на (Aa).

Во прикажаната дистрибуција на табела 32, за Pearson Chi-square=4,80 и $p > 0,05$ ($p=0,03$) постои значајна разлика во наодите на *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa) помеѓу двете групи пациенти.

Табела 32. Разлика помеѓу двете испитувани групи во однос на Aa после 2.5 месеци

	Група / doxycycline	Наод после 2.5 месеци		Row Totals
		Позитивен	Негативен	
Count	2 x 20 mg	6	24	30
Total Percent		10,00%	40,00%	50,00%
Count	100 mg	14	16	30
Total Percent		23,33%	26,67%	50,00%
Count	All Grps	20	40	60
Total Percent		33,33%	66,67%	

6.2. *Peptostreptococcus species* (P spp)

Прикажаните резултати на табела 33 се однесуваат на разликата во наодите на *Peptostreptococcus species* (P spp) после терапија со doxycycline 2 x 20 mg дневно 2.5 месеци (втора група), односно со doxycycline 100 mg дневно 30 дена (прва група). Во втората група / пациенти кои примаа doxycycline 2 x 20 mg дневно 2.5 месеци /, после 2.5 месеци регистрирани се 9 (15,00%) позитивни и 21 (35,00%) негативни наоди на (P spp). Во првата група / пациенти кои примаа doxycycline 100 mg дневно 30 дена / после 2.5 месеци, регистрирани се 10 (16,67%) позитивни и 20 (33,33%) негативни наоди на (P spp). Во прикажаната дистрибуција на табела 33, за Pearson Chi-square=0,08 и $p > 0,05$ ($p=0,78$) нема значајна разлика во наодите на *Peptostreptococcus species* (P spp) помеѓу двете групи на пациенти.

Табела 33. Разлика помеѓу двете испитувани групи во однос на P spp после 2.5 месеци

	Група / doxycycline	Наод после 2.5 месеци		Row Totals
		Позитивен	Негативен	
Count	2 x 20 mg	9	21	30
Total Percent		15,00%	35,00%	50,00%
Count	1x100 mg	10	20	30
Total Percent		16,67%	33,33%	50,00%
Count	All Grps	19	41	60
Total Percent		31,67%	68,33%	

6.3 *Streptococcus mitis/oralis* (St m)

Прикажаните резултати на табела 34 се однесуваат на разликата во наодите на *Streptococcus mitis/oralis* (St m) после терапија со doxycycline 2 x 20 mg дневно 2.5 месеци (втора група), односно со doxycycline 100 mg дневно 30 дена (прва група).

Во втората група / пациенти кои примаа doxycycline 2 x 20 mg дневно 2,5 месеци / после 2,5 месеци регистрирани се 25 (41,67%) позитивни и 5 (8,33%) негативни наоди на St m.

Во првата група / пациенти кои примаа doxycycline 100 mg дневно 30 дена / после 2.5 месеци регистрирани се 23 (38,33%) позитивни и 7 (11,67%) негативни наоди на St m.

Во прикажаната дистрибуција на табела 34, за Pearson Chi-square=0,42 и $p > 0,05 (p = 0,52)$ /Fisher $p > 0,05 (p = 0,37)$ / нема значајна разлика во наодите на *Streptococcus mitis/oralis* (St m) помеѓу двете групи на пациенти.

Табела 34. Разлика помеѓу двете испитувани групи во однос на St m после 2.5 месеци

	Група / doxycycline	Наод после 2.5 месеци		Row
		Позитивен	Негативен	Totals
Count	2 x 20 mg	25	5	30
Total Percent		41,67%	8,33%	50,00%
Count	100 mg	23	7	30
Total Percent		38,33%	11,67%	50,00%
Count	All Grps	48	12	60
Total Percent		80,00%	20,00%	

6.4 *Fusobacterium nucleatum* (Fn)

Прикажаните резултати на табела 35 се однесуваат на разликата во наодите на *Fusobacterium nucleatum* (Fn) после терапија со doxycycline 2 x 20 mg дневно 2.5 месеци (втора група), односно со doxycycline 100 mg дневно 30 дена (прва група).

Во втората група / пациенти кои примаа doxycycline 2 x 20 mg дневно 2.5 месеци / после 2.5 месеци регистрирани се 13 (21,67%) позитивни и 17 (28,33%) негативни наоди на Fn.

Во првата група / пациенти кои примаа doxycycline 100 mg дневно 30 дена / после 2.5 месеци регистрирани се 21 (35,00%) позитивни и 9 (15,00%) негативни наоди на Fn.

Во прикажаната дистрибуција на табела 35, за Pearson Chi-square=4,34 и $p < 0,05 (p = 0,04)$ постои значајна разлика во наодите на *Fusobacterium nucleatum* (Fn) помеѓу двете групи пациенти.

Табела 35. Разлика помеѓу двете испитувани групи во однос на *Fп* после 2.5 месеци

	Група / doxycycline	Наод после 2.5 месеци		Row
		Позитивен	Негативен	Totals
Count	2 x 20 mg	13	17	30
Total Percent		21,67%	28,33%	50,00%
Count	100 mg	21	9	30
Total Percent		35,00%	15,00%	50,00%
Count	All Grps	34	26	60
Total Percent		56,67%	43,33%	

6.5. *Veillonela* (VI)

Прикажаните резултати на табела 36. се однесуваат на разликата во наодите на *Veillonela* (VI) после терапија со doxycycline 2 x 20 mg дневно 2.5 месеци (втора група), односно со doxycycline 100 mg дневно 30 дена (прва група).

Во втората група / пациенти кои примаа doxycycline 2 x 20 mg дневно 2.5 месеци / после 2.5 месеци регистрирани се 12 (20,00%) позитивни и 18 (30,00%) негативни наоди на (VI).

Во првата група / пациенти кои примаа doxycycline 100 mg дневно 30 дена / после 2.5 месеци регистрирани се 8 (13,33%) позитивни и 22 (36,67%) негативни наоди на (VI).

Во прикажаната дистрибуција на табела 36, за Pearson Chi-square=1,20 и $p > 0,05 (p = 0,27)$ нема значајна разлика во наодите на *Veillonela* (VI) помеѓу двете групи на пациенти.

Табела 36. Разлика помеѓу двете испитувани групи во однос на *VI* после 2.5 месеци

	Група / doxycycline	Наод после 2.5 месеци		Row
		Позитивен	Негативен	Totals
Count	2 x 20 mg	12	18	30
Total Percent		20,00%	30,00%	50,00%
Count	100 mg	8	22	30
Total Percent		13,33%	36,67%	50,00%
Count	All Grps	20	40	60
Total Percent		33,33%	66,67%	

6.6 *Clostridium (Cl)*

Прикажаните резултати на табела 37 се однесуваат на разликата во наодите на *Clostridium (Cl)* после терапија со doxycycline 2 x 20 mg дневно 2.5 месеци (втора група), односно со doxycycline 100 mg дневно 30 дена (прва група).

Во втората група / пациенти кои примаа doxycycline 2 x 20 mg дневно 2.5 месеци / после 2.5 месеци регистрирани се 5 (8,33%) позитивни и 25 (41,67%) негативни наоди на *Cl*.

Во првата група / пациенти кои примаа doxycycline 100 mg дневно 30 дена / после 2.5 месеци регистрирани се 5 (8,33%) позитивни и 25(41,67%) негативни наоди на (*Cl*).

Во прикажаната дистрибуција на табела 37 наодите на *Clostridium (Cl)* во двете подгрупи на пациенти се идентични.

Табела 37. Разлика помеѓу двете испитувани групи во однос на *Cl* после 2,5 месеци

	Група / doxycycline	Наод после 2.5 месеци		Row
		Позитивен	Негативен	Totals
Count	2 x 20 mg	5	25	30
Total Percent		8,33%	41,67%	50,00%
Count	100 mg	5	25	30
Total Percent		8,33%	41,67%	50,00%
Count	All Grps	10	50	60
Total Percent		16,67%	83,33%	

6.7 *Porphyromonas gingivalis (Pg)*

Прикажаните резултати на табела 38 се однесуваат на разликата во наодите на *Porphyromonas gingivalis (Pg)* после терапија со doxycycline 2 x 20 mg дневно 2.5 месеци (втора група), односно со doxycycline 100 mg дневно 30 дена (прва група).

Во втората група / пациенти кои примаа doxycycline 2 x 20 mg дневно 2.5 месеци / после 2.5 месеци регистрирани се 4 (6,67%) позитивни и 26 (43,33%) негативни наоди на *Pg*.

Во првата група / пациенти кои примаа doxycycline 100 mg дневно 30 дена / после 2.5 месеци регистрирани се 3(5,00%) позитивни и 27(45,00%) негативни наоди на (*Pg*).

Во прикажаната дистрибуција на табела 38, за $p > 0,05 (p = 0,50)$ /Fisher exact/ нема значајна разлика во наодите на *Porphyromonas gingivalis (Pg)* помеѓу двете групи на пациенти.

Табела 38. Разлика помеѓу двете испитувани групи во однос на *Pg* после 2,5 месеци

	Група / doxycycline	Наод после 2.5 месеци		Row Totals
		Позитивен	Негативен	
Count	2 x 20 mg	4	26	30
Total Percent		6,67%	43,33%	50,00%
Count	100 mg	3	27	30
Total Percent		5,00%	45,00%	50,00%
Count	All Grps	7	53	60
Total Percent		11,67%	88,33%	

IV - Одредување концентрации на doxycycline во гингивален флуид и плунка во одредени временски интервали.

1. Одредување doxycycline во гингивален флуид и плунка

Прелиминарните испитувања кои се направени со цел да се утврдат оптималните хроматографски услови за одредување doxycycline опфатија оптимизирање на составот на мобилната фаза, оптимизирање pH на мобилната фаза, оптимизирање на брановата должина на екситација и емисија, оптимизирање на протокот на мобилната фаза и оптимизирање на волуменот на инјектирање.

Мобилните фази кои се користат за хроматографска анализа на doxycycline содржат соли на калциум и магнезиум што интензивираат флуоресценцијата на молекулот (во нашиот случај како агенс за интензивирање на флуоресценцијата на доксициклин беше избран CaCl_2), натриум ацетат како агенс за подобрување на симетријата на пикот кој беше избран (Na_2EDTA).

Како органски растворувач во мобилната фаза беше користен метанол (MeOH) и неговата % застапеност во мобилната фаза беше испитувана во опсег од 20-50% (V/V). Уделот на MeOH во мобилната фаза при кој се добива најдобро разделување и најдобра симетрија на пикот на doxycycline и тетрациклин (внатрешен стандард, IS) изнесуваше 50% (V/V). pH вредноста на мобилната фаза е оптимизирана во опсег од 6,5 – 8,5, при што оптималната pH вредност изнесува 8,1. Протокот на мобилната фаза е оптимизиран во опсег од 0,6 – 1 mL min⁻¹, а вредноста од 0,8 mL min⁻¹ е избрана за понатамошните анализи. Оптимизацијата на волуменот на инјектирање (60-100 µL) е извршена со цел да се развие и валидира метод кој се одликува со висока осетливост, точност и прецизност. Оптимизацијата е направена на примероци GCF кои ја содржат најниската концентрација на DOX од калибрационата крива. Финалниот волумен на инјектирање беше 100 µL. Интензитетот на флуоресценција е проучуван на стандардни раствори кои содржат DOX и TC, на четири комбинации на бранови должини на екситација и емисија и тоа:

а) $\lambda_{\text{ex}}=375$ и $\lambda_{\text{em}}=512$

б) $\lambda_{\text{ex}}=380$ и $\lambda_{\text{em}}=512$

в) $\lambda_{ex}=380$ и $\lambda_{em}=520$

г) $\lambda_{ex}=380$ и $\lambda_{em}=532$

Најголем интензитет на флуоресценција е забележан во следните услови: $\lambda_{ex}=380$ и $\lambda_{em}=532$ и овие бранови должини се користеа во понатамошните анализи. По оптимизацијата на хроматографските услови, вкупното време потребно за изведување на анализите изнесува 10 min.

Врз основа на прелиминарните испитувања утврдени се оптималните услови за анализа на doxycycline во гингивален флуид кои се прикажани во табела 39.

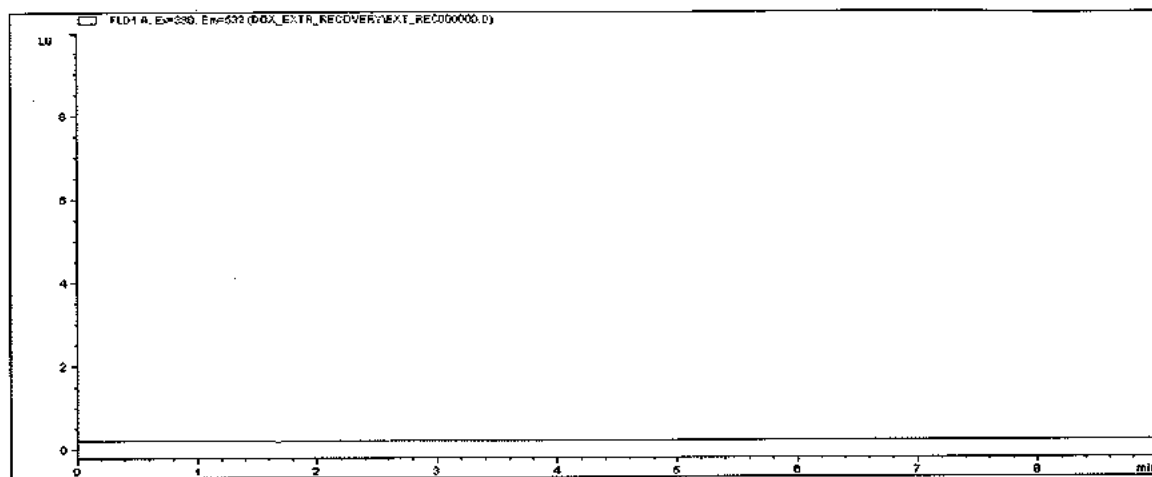
Табела 39. Оптимизирани хроматографски услови за определување на doxycycline во гингивален флуид

Параметар	Оптимални услови
Колона	Purospher STAR RP 18e, 250 x 4.6 mm, 5 μ m
Мобилна фаза Растворувач А: метанол 50 % Растворувач Б: 25 mM AcONa, 10 mM EDTA и 15 mM CaCl ₂ 50 % (pH=8.1)	
Проток	0.8 mL min ⁻¹
Температура на колона	30 °C
Бранова должина на ексцитација	$\lambda_{ex}=380$
Бранова должина на емисија	$\lambda_{em}=532$
Волумен на инјектирање	100 μ L

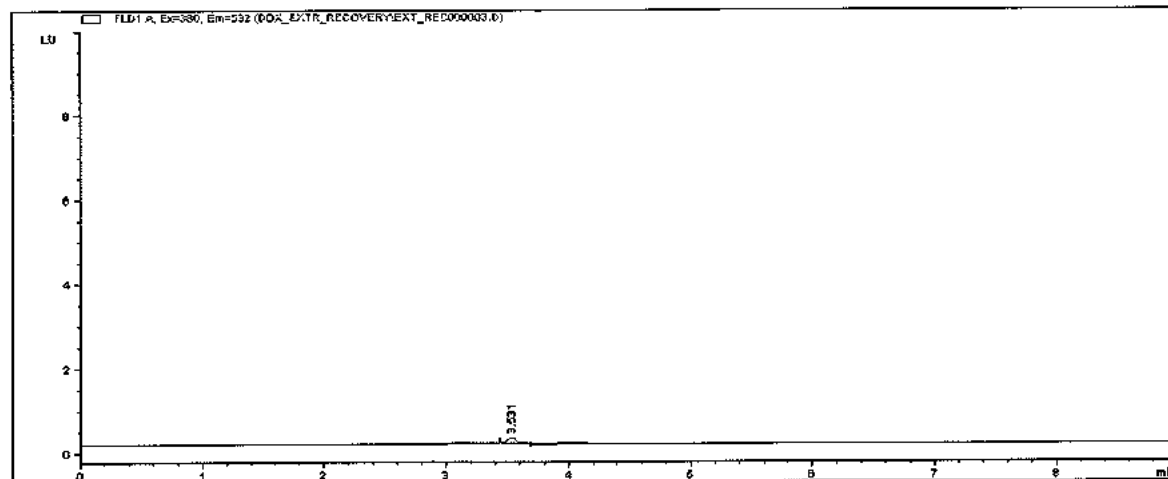
Со цел да се избере најсоодветниот внатрешен стандард, според литературните податоци испитани се неколку соединенија како што тетрациклин и окситетрациклин. Тетрациклин е избран за внатрешен стандард поради тоа што релативно блиску се елуира до DOX и неговиот пик покажува подобра симетрија во однос на пикот на окситетрациклин.

Селективност

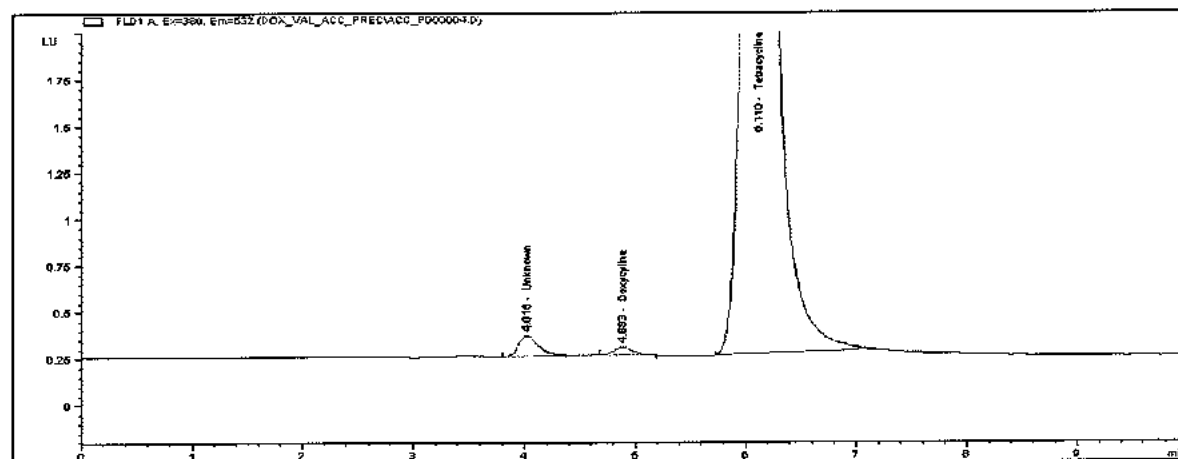
Анализата на хроматограмите добиени од работни раствори на гингивален флуид и плунка кои не содржат DOX и TC, како и хроматограмите добиени од примероци на гингивален флуид и плунка, во кој беше додаден DOX во концентрација од 5 ng mL⁻¹ и 20 ng mL⁻¹, соодветно, покажаа дека не се јавуваат интерферирачки пикови на ретенционото време на анализот од интерес и внатрешниот стандард, со што беше потврдена селективноста на методот. Хроматограмите се дадени во прилог.



Графикон 20. Хроматограм добиен со работен раствор на GCF што не содржи DOX и TC



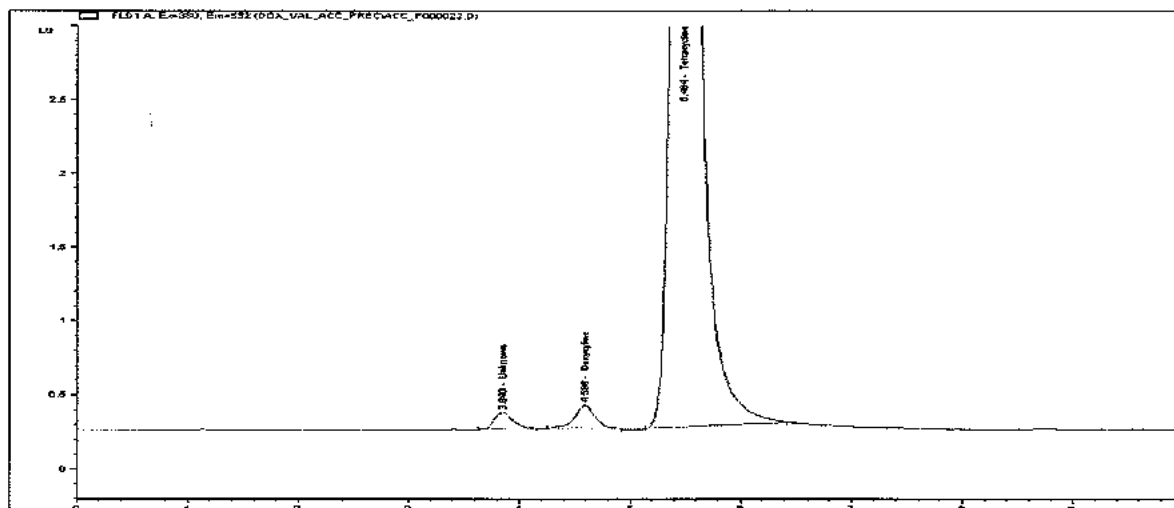
Графикон 21. Хроматограм добиен со анализа на примерок од плунка што не содржи DOX и IS



Графикон 22. Хроматограм од работен раствор на гингивален флуид што содржи 5 ng mL^{-1} DOX (1) и $1 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ IS (2)

Линеарност

Определувањето на линеарноста беше извршено со анализа на 7 концентрациски точки на калибрационата крива, во концентрациско подрачје $5 - 250 \text{ ng mL}^{-1}$, за гингивален флуид и $20 - 500 \text{ ng mL}^{-1}$ за плунка. Равенката на калибрационата крива за определување на DOX во GCF е $y = 0.0006x - 0.0002$ ($R^2 = 0.9972$), додека равенката на калибрационата крива за определување на DOX во плунка е $y = 0.0006x + 0.0027$ ($R^2 = 0.9965$). Резултатите добиени со примена на линеарна регресиона анализа укажаа на постоење на линеарна зависност во испитуваното концентрациско подрачје.



Графикон 23. Хроматограм од примерок на плунка што содржи 20 ng mL^{-1} DOX (1) и $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ IS (2)

Точност и прецизност

При одредување на точноста и прецизноста на методот беа подготвени работни раствори од гингивален флуид во кои беше додаден хлорхексидин, на четири различни концентрациски нивоа: 5 ng mL^{-1} , 20 ng mL^{-1} , 100 ng mL^{-1} , и 200 ng mL^{-1} за GCF и 20 ng mL^{-1} , 50 ng mL^{-1} , и 150 ng mL^{-1} и 400 ng mL^{-1} , за плунка. Точноста беше пресметана во однос на стандардната калибрациона крива и беше изразена како точност во еден работен ден (with-in-run accuracy) и точност во неколку работни денови (between-run accuracy). Прецизноста беше пресметана како прецизност во еден работен ден (with-in-run precision) и прецизност во неколку работни денови (between-run precision) и изразена како коефициент на варијација (CV, %).

Критериумите кои треба да се исполнат при определување на точноста и прецизноста на биоаналитичките методи предвидени во водичот за валидација, предвидуваат точноста и прецизноста да се движи во границите $\pm 15\%$ од номиналните концентрации, освен за концентрациите кои соодветствуваат на најниската концентрациска точка од калибрационата крива и каде вредностите треба да се движат $\pm 20\%$ од номиналните концентрации. Од резултатите добиени при одредувањето на точноста и прецизноста кои се прикажани во табела, јасно се гледа дека се исполнети предвидените критериуми со што се потврдува дека применетиот HPLC метод е точен и прецизен.

Табела 40. Податоци за точноста и прецизноста на HPLC методот за определување на doxycycline во гингивален флуид

	Додаден DOX (ng mL ⁻¹)	Определен DOX (ng mL ⁻¹) ^a	Точност (%)	Прецизност ^a (CV, %)
Точност во еден работен ден	5	5,27±0,15	105,33	2,90
	20	19,20±1,19	96,00	6,22
	100	97,91±0,88	97,91	0,90
	200	192,61±2,69	96,31	1,40
Точност во неколку работни денови	5	5,33±0,01	107,00	1,08
	20	20,94±1,26	104,70	6,01
	100	106,61±2,15	106,6	2,02
	200	191,08±1,23	95,54	0,64

^a Резултатите се изразени како средна вредност ±SD

Табела 41. Податоци за точноста и прецизноста на HPLC методот за определување на доксициклин во плунка

	Додаден DOX (µg mL ⁻¹)	Определен DOX (µg mL ⁻¹) ^a	Точност (%)	Прецизност (CV, %)
Точност во еден работен ден	20	22,22 ±0,18	111,2	0,81
	50	48,15±0,62	96,29	2,59
	150	154,24±1,04	102,83	1,34
	400	400,49±9,32	100,12	4,66
Точност во неколку работни денови	20	21,32±0,46	109,26	2,11
	50	47,61±1,14	95,23	4,78
	150	150,19±6,26	100,12	8,34
	400	395,98±13,96	98,99	7,05

^a Резултатите се изразени како средна вредност ±SD

Аналитички принос

Вредностите за аналитичкиот принос за DOX во GCF и плунка се движат 94,60-98,77 % и 95,95-98,78 %, соодветно. Резултатите се прикажани во таб. бр. 42. Аналитичкиот принос за IS се 96,20 % за GCF и 97,35 % за плунка. Добиените вредности при определување на аналитичкиот принос за DOX и внатрешниот стандард, ТС, укажуваат на задоволителен аналитички принос и репродукцибилна постапка за екстракција.

Табела 42. Аналитички принос на DOX по екстракција на примероци од GCF и плунка

	DOX (ng mL ⁻¹)	Аналитички принос (%) ^a
GCF	5	94,60±0,99
	20	96,33±0,29
	100	95,37±0,21
	200	98,77±0,10
Плунка	20	97,00±0,50
	50	96,13±0,31
	150	98,78±0,23
	400	95,95±0,63

^a Резултатите се изразени како средна вредност ±SD

Примена на валидираниот HPLC-FLD метод за квантитативно одредување на DOX во примероци од GCF и плунка

Во третманот на пародонталната болест системски или локално може да се применуваат антибиотици, антисептици како и одредени антиинфламаторни лекови кои претставуваат ефикасно дополнување на конвенционалната, механичка терапија. Администрацијата на суб-антимикробни дози на доксициклин (20 mg DOX, два пати во текот на денот) во значителна мера ја намалува активноста на матрикс металопротеиназите, ензими кои играат значајна улога во уништувањето на ткивата на пародонтот. За разлика од конвенционалното дозирање (100 mg DOX, еднаш дневно, во текот на две недели до еден месец) кое е проследено со ризик од развој на бактериска резистентност, субантимикробните дози на доксициклин не предизвикуваат развој на бактериска резистенција.

По извршената оптимизација и валидација на HPLC-FLD метод за квантитативно одредување на DOX во примероци од GCF и плунка, истиот беше применет за анализа на примероци од пациенти заболени од пародонтална болест кои примаат терапија со

100 mg DOX и субантимикробна доза на DOX. Во табела бр. 43, прикажани се определените концентрации на DOX во примероци на GCF и плунка.

Табела 43. Концентрации на DOX во примероци на GCF и плунка добиени од пациенти заболени од пародонтална болест третирани со 100 mg DOX

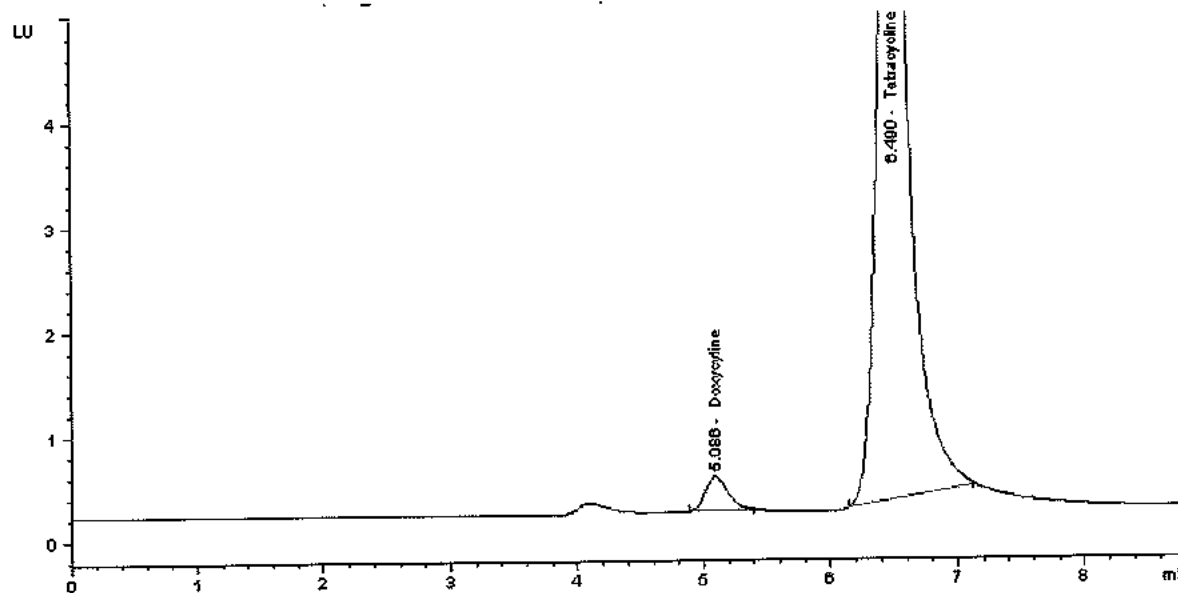
Време (денови)	GCF ($\mu\text{g mL}^{-1}$) ^a	RSD (%)	Плунка ($\mu\text{g mL}^{-1}$) ^a	RSD (%)
7	2.24±0.32	14.21	0.19±0.03	17.31
15	1.68±0.19	11.07	0.07±0.01	15.0
30	1.39±0.17	12.76	0.04±0.01	12.58

^a Резултатите се изразени како средна вредност ±SD

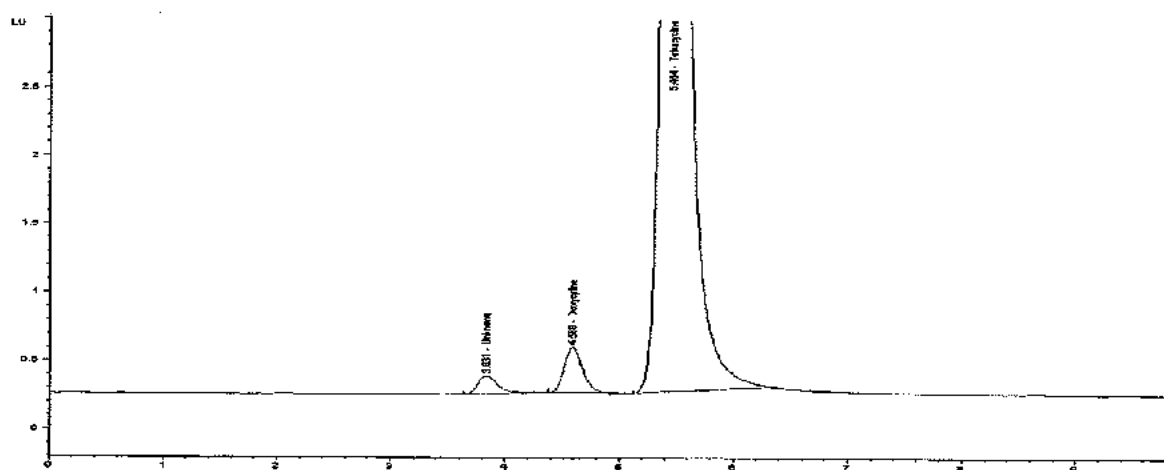
Табела 44. Концентрации на DOX во примероци на GCF и плунка добиени од пациенти заболени од пародонтална болест третирани со субантимикробна доза 20 mg DOX

Време (денови)	GCF ($\mu\text{g mL}^{-1}$) ^a	RSD (%)	Плунка ($\mu\text{g mL}^{-1}$) ^a	RSD (%)
18	1.72±0.29	17.07	0.71±0.10	14.20
37	1.67±0.33	20.14	0.88±0.22	24.58
75	1.38±0.12	8.78	0.31±0.07	21.01

^a Резултатите се изразени како средна вредност ±SD



Графикон 24. Хроматограм добиен со анализа на примерок од гингивален флуид од пациент третиран со субантимикробна доза на доксициклин 18 дена по почетокот на терапијата (1- доксициклин, 2-тетрациклин, IS)



Графикон 25. Хроматограм добиен со анализа на примерок плунка од пациент третиран со субантимикробна доза на доксициклин 7 дена по почетокот на терапијата (1- доксициклин, 2-тетрациклин, IS)

2. Одредување активноста на LDH во гингивален флуид пред и после спроведениот третман

А) Активност на LDH во гингивален флуид кај пациенти на системска терапија со 1x100 mg doxycycline

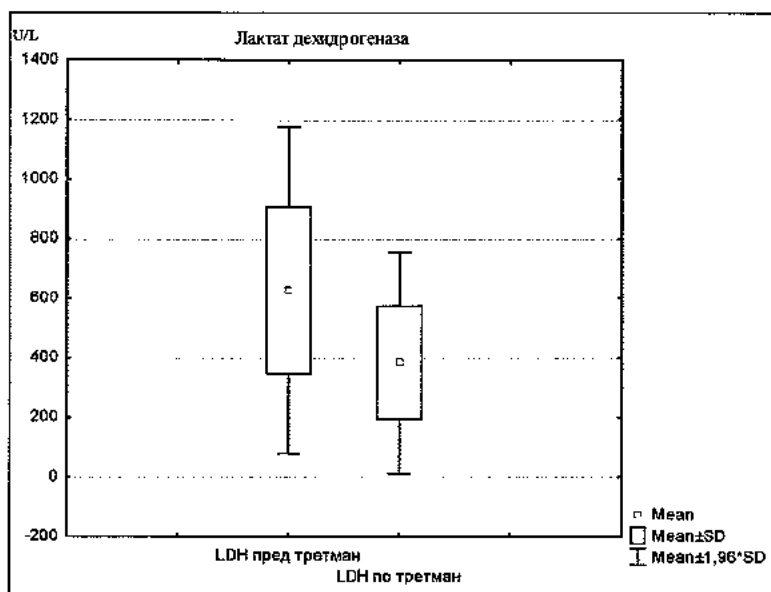
Вредностите на лактат дехидрогеназа во релацијата пред третман и по третман (група на пациенти подложени на системска примена doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена) прикажани се на табела 45 и графикон 26.

Пред третман вредноста за активноста на лактат дехидрогеназа варира во GCF во интервалот $626,84 \pm 279,94$ U/L; $\pm 95,00\%CI: 522,31-731,37$; минималната вредност изнесува 49,80 U/L, а максималната 1050,08 U/L.

По третман вредноста за активност на лактат дехидрогеназа варира во интервалот $384,75 \pm 190,12$ U/L; $\pm 95,00\%CI: 313,76-455,74$; минималната вредност изнесува 35,62 U/L, а максималната 716,89 U/L.

Табела 45. Дескриптивна статистика на активноста на лактат дехидрогеназа пред и после третман со 1x100 mg doxycycline во GCF

Лактат дехидрогеназа	Valid N	Mean	Confidence -95,00%	Confidence +95,00%	Minimum	Maximum	Std. Dev.
LDH (U/L) пред третман	30	626,84	522,31	731,37	49,80	1050,08	279,94
LDH (U/L) по третман	30	384,75	313,76	455,74	35,62	716,89	190,12



Графикон 26. Приказ на активноста на лактат дехидрогеназа пред и после третман кај пациенти со 1x100 mg doxycycline

Разликата помеѓу вредноста на лактат дехидрогеназа во релацијата пред третман и по третман прикажана е на табела 45.1.

Активност на лактат дехидрогеназа по третманот за $t=10,85$ и $p<0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала во однос на вредноста пред третман (табела 45.1).

Табела 45.1. Разлика на активноста на лактат дехидрогеназа кај пациенти на системска терапија 1x100 mg doxycycline пред и после третман

Лактат дехидрогеназа	Mean	Std.Dv.	N	Diff.	Std.Dv.	t	df	p
LDH пред третман	626,84	279,94						
LDH по третман	384,75	190,12	30	242,09	122,25	10,85	29	0,000

Б) Активност на LDH во гингивален флуид кај пациенти на системска терапија со 2x20 mg doxycycline

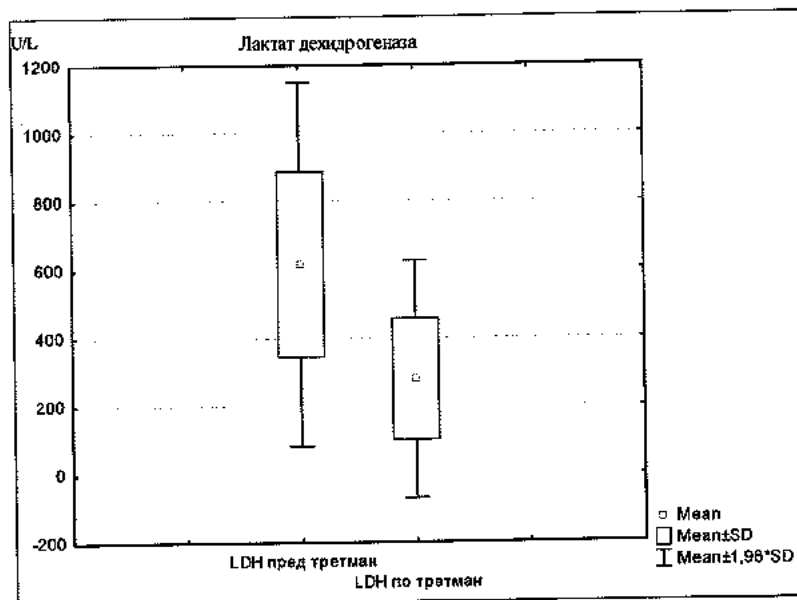
Активност на лактат дехидрогеназа во релацијата пред и по третман (група пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg дневно два и пол месеци) прикажани се на табела 46. и графикон 27.

Пред третман вредноста на лактат дехидрогеназа варира во интервалот $616,84 \pm 272,01$ U/L; $\pm 95,00\%CI: 515,27-718,42$; минималната вредност изнесува 149,76 U/L. а максималната 1241,40 U/L.

По третман вредноста на лактат дехидрогеназа варира во интервалот 278,55±177,64 U/L; ±95,00%CI:212,22-344,88; минималната вредност изнесува 16,89 U/L, а максималната 791,64 U/L.

Табела 46. Дескриптивна статистика на активноста на лактат дехидрогеназа пред и после третман со 2x20 mg doxycycline

Лактат дехидрогеназа	Valid N	Mean	Confidence -95,00%	Confidence +95,00%	Minimum	Maximum	Std.Dev.
LDH пред третман	30	616,84	515,27	718,42	149,76	1241,40	272,01
LDH по третман	30	278,55	212,22	344,88	16,89	791,64	177,64



Графикон 27. Приказ на активноста на лактат дехидрогеназа пред и после третман кај пациенти со 2x20 mg doxycycline

Разликата помеѓу вредноста на лактат дехидрогеназа во релацијата пред третман и по третман прикажана е на табела 46.1.

Вредноста на лактат дехидрогеназа по третманот за $Z=4,78$ и $p<0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала во однос на вредноста пред третман.

Табела 46.1 Разлика на активноста на лактат дехидрогеназа кај пациенти на системска терапија 1x100 mg doxycycline пред и после третман

Лактат дехидрогеназа	Valid	T	Z	p-level
LDH пред третман и LDH по третман	30	0,00	4,78	0,000

В) Разлики во активноста на лактат дехидрогеназа помеѓу двете испитувани групи пред и после спроведениот третман со doxycycline

Просечната вредност ($\bar{x}=626,84$ U/L) на лактат дехидрогеназа (пред третман) кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg / 30 дена) за $t=-0,14$ и $p>0,05$ ($p=0,89$) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=616,84$) на лактат дехидрогеназа (пред третман) кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци) (табела 47).

Табела 47. Разлика во активноста на лактат дехидрогеназа помеѓу испитуваните групи пред спроведениот третман

Лактат дехидрогеназа	Mean 2x20 mg	Mean 100 mg	t-value	df	p	Valid N 2x20 mg	Valid N 100 mg	Std.Dev. 2x20 mg	Std.Dev. 100 mg
LDH пред третман	616,84	626,84	-0,14	58	0,89	30	30	272,01	279,94

Просечната вредност на активноста ($\bar{x}=384,75$ U/L) на лактат дехидрогеназа (по третман) кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg / 30 дена) за $Z=-2,07$ и $p<0,05$ ($p=0,04$) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=287,53$) на лактат дехидрогеназа (по третман) кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци) (табела 47.1).

Табела 47.1. Разлика во активноста на лактат дехидрогеназа помеѓу испитуваните групи после спроведениот третман

Лактат дехидрогеназа	Rank Sum 2x20 mg	Rank Sum 1x100 mg	U	Z	p-level	Valid N 2x20 mg	Valid N 100 mg
LDH по третман	775,00	1055,00	310,00	-2,07	0,04	30	30

Г) Активност на LDH во плунка кај пациенти на системска терапија со 1x100 mg doxycycline

Вредностите на лактат дехидрогеназа во релацијата пред третман и по третман (група на пациенти подложени на системска примена doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена) прикажани се на табела 48.

Пред третман вредноста за активност на лактат дехидрогеназа варира во плунка во интервалот $631,01 \pm 282,85$ U/L; $\pm 95,00\%CI: 530,28-739,47$; минималната вредност изнесува 53,94 U/L, а максималната 1059,68 U/L.

По третман вредноста за активност на лактат дехидрогеназа варира во интервалот $388,16 \pm 198,24$ U/L; $\pm 95,00\%CI: 319,81-460,24$; минималната вредност изнесува 39,91 U/L, а максималната 723,91 U/L.

Табела 48. Дескриптивна статистика на активност на лактат дехидрогеназа пред и после третман со 1x100 mg doxycycline во плунка

Лактат дехидрогеназа	Valid N	Mean	Confidence -95,00%	Confidence +95,00%	Minimum	Maximum	Std.Dev.
LDH (U/L) пред третман	30	631,01	530,28	739,47	53,94	1059,68	282,85
LDH (U/L) по третман	30	388,16	319,81	460,24	39,91	723,91	198,24

Разликата помеѓу вредноста на лактат дехидрогеназа во релацијата пред третман и по третман прикажана е на табела 45.1.

Активност на лактат дехидрогеназа по третманот за $t=11,42$ и $p<0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала во однос на вредноста пред третман (табела 48.1).

Табела 48.1. Разлика на активност на лактат дехидрогеназа кај пациенти на системска терапија 1x100 mg doxycycline пред и после третман

Лактат дехидрогеназа	Mean	Std.Dv.	N	Diff.	Std.Dv.	t	df	p
LDH пред третман	631,01	282,85						
LDH по третман	388,16	198,24	30	249,92	123,37	11,42	29	0,000

Д) Активност на LDH во плунка кај пациенти на системска терапија со 2x20 mg doxycycline

Активност на лактат дехидрогеназа во релацијата пред и по третман (група пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg, дневно два и пол месеци) прикажани се на табела 49.

Пред третман вредноста на лактат дехидрогеназа варира во интервалот $621,93 \pm 280,11$ U/L; $\pm 95,00\%$ CI: 562,18-723,39; минималната вредност изнесува 155,38 U/L. а максималната 1286,33 U/L.

По третман вредноста на лактат дехидрогеназа варира во интервалот $282,66 \pm 174,02$ U/L; $\pm 95,00\%$ CI: 219,23-351,62; минималната вредност изнесува 55,14 U/L. а максималната 742,53 U/L.

Табела 49. Дескриптивна статистика на активноста на лактат дехидрогеназа пред и после третман со 2x20 mg doxycycline

Лактат дехидрогеназа	Valid N	Mean	Confidence -95,00%	Confidence +95,00%	Minimum	Maximum	Std.Dev.
LDH пред третман	30	621,93	562,18	723,39	155,38	1286,33	280,11
LDH по третман	30	282,66	219,23	351,62	55,14	742,53	174,02

Разликата помеѓу вредноста на лактат дехидрогеназа во релацијата пред третман и по третман прикажана е на табела 49.1.

Вредноста на лактат дехидрогеназа по третманот за $Z=4,99$ и $p<0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала во однос на вредноста пред третман.

Табела 49.1 Разлика на активноста на лактат дехидрогеназа кај пациенти на системска терапија 1x100 mg doxycycline пред и после третман

Лактат дехидрогеназа	Valid	T	Z	p-level
LDH пред третман и LDH по третман	30	0,00	4,99	0,000

Г) Разлики во активноста на лактат дехидрогеназа помеѓу двете испитувани групи пред и после спроведениот третман со doxycycline

Просечната вредност ($\bar{x}=631,01$ U/L) на лактат дехидрогеназа (пред третман) кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg / 30 дена) за $t=-0,16$ и $p>0,05$ ($p=0,91$) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=621,93$) на лактат дехидрогеназа (пред третман) кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци) (табела 50).

Табела 50. Разлика во активноста на лактат дехидрогеназа во плунка помеѓу испитуваните групи пред спроведениот третман

Лактат дехидрогеназа	Mean 2x20 mg	Mean 100 mg	t-value	df	p	Valid N 2x20 mg	Valid N 100 mg	Std. Dev. 2x20 mg	Std. Dev. 100 mg
LDH пред третман	621,93	631,01	-0,16	59	0,91	30	30	280,11	282,85

Просечната вредност на активноста ($\bar{x}=388,16$ U/L) на лактат дехидрогеназа (по третман) кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg / 30 дена) за $Z=-2,15$ и $p<0,05$ ($p=0,04$) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=282,66$ на лактат дехидрогеназа (по третман) кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци) (табела 49.1).

Табела 49.1. Разлика во активноста на лактат дехидрогеназа помеѓу испитуваните групи после спроведениот третман

Лактат дехидрогеназа	Rank Sum 2x20 mg	Rank Sum 1x100 mg	U	Z	p-level	Valid N 2x20 mg	Valid N 100 mg
LDH по третман	768,22	1063,05	318,00	-2,23	0,04	30	30

ДИСКУСИЈА

ДИСКУСИЈА

Широко е познат фактот дека примарниот етиолошки фактор во појавата и прогресијата на пародонталната болест е денталниот плак. Болеста започнува со лезии на гингивата, а потоа резултира со воспалителни и деструктивни процеси во длабоките пародонтални структури. Отстранување на причините и нејзините последици се дефинитивна цел во секоја терапевска постапка без разлика дали станува збор за конзервативна или хируршка терапија. Конзервативниот терапевтски пристап вклучува механичко отстранување на тврдите депозити од тврдиот џеп и киретажа на мекиот ѕид на пародонталниот џеп, кој понекогаш може да биде дополнет со одредени антимикробни средства, локално или системски. Со оглед на фактот дека на пародонталната болест се придодава инфективна природа, се повеќе се зборува за примена на антибиотици, како додаток на конзервативната постапка.

Познато е дека деструкцијата на сврзното ткиво и коскената ресорпција во пародонтално-ткивниот комплекс се случува индиректно како резултат на прекумерен имуноинфламаторен одговор кај домаќинот на присуство на бактерискиот плак. Иако бактериските патогени иницираат воспаление на пародонтот, одговорот на домаќинот на овие патогени е еднакво ако не и поважно во посредување на сврзно ткивните дефекти, вклучувајќи го и губењето на коскената маса.^(101, 102)

Патолошки прекумерните нивоа на различните MMPs имаат можност да ги деструираат сите главни компоненти на екстрацелуларниот матрикс во гингивата, пародонталниот лигамент и алвеоларна коска, вклучувајќи ги и колагените влакна (главно тип I и III), протеогликаните, и базалните мембрани.⁽¹⁰³⁻¹⁰⁵⁾

Стандардниот третман на пародонталната болест останува и понатаму високо неспецифичен. Имено, тој се состои од механички дебридман со цел да се намали вкупно бактериското оптоварување и промена на условите во кои опстануваат овие микроорганизми.⁽¹⁰⁵⁾ Сепак, не сите пациенти, ниту сите третирани површини можат да одговорат рамномерно и позитивно на конвенционално применетата механичка терапија. Недоволната ефикасност на терапијата може да се должи на многу локални и општи фактори, анатомски услови и варијации, различни форми на пародонталната болест, како и составот и отпорноста на периопатогените.⁽¹⁰⁶⁻¹⁰⁷⁾ Врз основа на овие неоспорни факти, одредени автори претпоставуваат дека ефикасноста од спроведениот третман вообичаено изостанува кај пациенти со агресивна пародонтопатија или кај пациенти со придружни медицински компликации и проблеми, во кои дополнително применетата антимикробна терапија има можност да го подобри неговиот клинички исход, па дури и да биде од суштинско значење за успешен третман.^(108,109)

Во некои студии направена е проценка за улогата на антибиотиците со цел да се спречи или намали прогресијата на пародонталната болест. Системски администрираните антибиотици може да навлезат во пародонтот преку серумот. Таму, во тешко достапните места можат да допрат до оние микроорганизми кои се достапни или тешко достапни за механичко отстранување.⁽¹⁰⁸⁾ Применетата антибиотска терапија,

има потенцијал да уништи добар квантум од сите периопатогени бактерии кои ги колонизираат длабоките простори во усната празнина, како и клинички тешко достапните површини, кои би можеле да предизвикаат хронична инфекција. Американската академија за Пародонтологија, вели дека постои веројатност антибиотиците да бидат посебно корисни за сите оние за кои конвенционалниот механички третман се покажа како неефикасен, како и за сите оние кои страдаат од акутни инфекции на пародонтот (некротизирачка или агресивна пародонтопатија, одредени медицински компромитирани пациенти и пациентите кои пушат.⁽¹¹⁰⁾ Исто така, веќе се знае дека пародонтопатијата предизвикана од *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* често бара антибиотски третман, бидејќи оваа бактерија се наоѓа на сите лигавични површини на усната празнина и е посебно способна во колонизација и освојување на сите меки ткива.⁽¹¹¹⁾ Сепак, главниот пристап во системската терапија со антибиотици кога станува збор за пародонталниот третман е монотерапија.⁽¹⁰⁾

За оваа цел се користат различни антибиотици. Во литературата широка е примената на амоксицилин со клавулонска киселина. Оваа терапевска примена покажува ниски концентрации во гингивалната цервикална течност

(GCF). Метронидазол докажан е како ефикасно средство за третирање на напредните и упорни пародонтопатии, во чија патогенеза се вклучени *Porphyromonas gingivalis* или *Prevotella intermedia*.⁽¹¹²⁻¹¹³⁾ Тој овозможува ефикасни антибактериски концентрации во гингивата и GCF, но неговата орална администрација се чини дека има малку влијание врз оралната и интестинална микрофлора.

Сепак како антибиотици кои имаат силно влијание врз пародонтолошкиот статус се тетрациклините (доксциклин и миноциклин) за кои се претпоставува дека се активни против периопатогените како што е *A. actinomycetemcomitans*^(84,104). Тие имаат антиколагенолитични својства и може да влијаат врз намалување на оштетувањето на пародонталните ткива и коскената ресорпција, од проста причина што системската администрација на тетрациклините може да достигнат релативно високи концентрации во GCF. Клиндамицинот е ефикасна дополна исто така во третманот на напредните и упорни форми на пародонтопатија против грам позитивните коки и грам негативните стапчести анаероби. Сепак, овие медикаменти треба да се пропишани со претпазливост поради ризикот од прекумерен раст на *Clostridium difficile*, кој може да резултира со псевдомембранозен колитис.⁽¹⁰⁸⁾ Ципрофлоксацин е ефикасен против повеќе периопатогени, вклучувајќи го *A. Actinomycetemcomitans*. Овој антибиотик ефикасно продира во заболените пародонтални структури и може да достигне повисоки концентрации во GCF од серумот.^(108,115) Како пародонтот може да биде домаќин на различни соеви периопатогени бактерии, се поверојатно е дека комбинираниите антибиотици поефикасно влијаат врз атакираниот пародонт.

Ваквите комбинации вклучуваат метронидазол и амоксицилин за инфекции со *A. Actinomycetemcomitans*, метронидазол и ципрофлоксацин за мешани пародонтални инфекции или кај пациенти кои се алергични на амоксицилин. Спротивно на тоа, антагонистички ефекти се забележани помеѓу одредени антибиотици, на пример, тетрациклини и одредени β -лактами.⁽¹⁰⁸⁻¹⁰⁹⁾ Неколку студии се посветени на примена на медикаментозната терапија која влијае врз периопатогените микроорганизми со кои

се модулира реакцијата на домаќинот. Целта на домаќинот е модулаторната терапија да ја врати рамнотежата на проинфламаторните или деструктивни медијатори и анти-воспалителните и заштитните медијатори на онаа кај здравите индивидуи. Еден од единствените MMP инхибитори кој широко се применуваат во САД, Канада и Европа е примена на субантимикробни дози на доксициклин (SDD). Голем број студии покажаа дека тералевтските ефекти на тетрациклините се базираат на инхибиторното својство на колагенолитичната активност на MMPs, со цел да се намали деструкцијата на сврзното ткиво, и да се намали коскената ресорпција.⁽¹¹⁶⁾ SDD, од 20 mg два пати дневно во 2 недели, значително ја намалува колагеназата активност во GCF и гингивата кај возрасни пациенти со пародонтопатија.⁽²⁶⁾ Во една друга студија, примената на SDD предизвика подобрување на одредени клинички параметри пред се длабочината на пародонталните џепови, особено кога се ординира кај пациенти периодично во текот на 6 месечниот период.⁽¹¹⁷⁾ Доказите покажуваат дека, исто така, SDD придонесуваат за намалување на сврзоткивната деструкција под дејство на проинфламаторните медијатори и цитокини (интерлеукин-1 и тумор некроза фактор- α) и зголемување на производството на колаген, потенцирајќи ја остеобластната активност.^(8,103,104,118,119)

Денес на располагање постојат многу антибиотици кои може да бидат ординирани, локално или системски.⁽⁹⁵⁾ Тетрациклините се еден од антибиотиците кои имаат широк спектар на дејство и имаат можност да ги инхибираат анаеробните микроорганизми. Литературата говори дека тоа е можно да се случи за многу краток период, најчесто од 5 дена.⁽⁹⁶⁾ Докажано е дека доксициклинот е најчестиот антибиотик кој припаѓа во групата антимикробни средства кои се активни против повеќето перипатогени, поради ниската минимална инхибиторна концентрација (MIC).⁽¹²⁰⁾

Во нашата студија компарирани се клиничките ефекти кај пациенти со хронична пародонтопатија третирани со doxycycline од 100 mg еднаш дневно во еден месец и doxycycline од 20 mg двапати дневно во времетраење од два и пол месеци.

Од студијата е евидентно дека наспроти првиот клинички преглед кај испитаниците од двете групи кај сите индексни вредности забележени се подобри клинички наоди независно дали станува збор за доза од 100 mg или 40 mg дневно.

Имено, при првиот преглед, кај пациенти кои примаа doxycycline од 100 mg дневно, вредноста на денталниот плак варира во интервалот $1,96 \pm 0,66$; $\pm 95,00\%$ CI: 1,71-2,21, а после 10 дена терапија вредноста на дентален плак варира во интервалот $0,37 \pm 0,49$; $\pm 95,00\%$ CI: 0,18-0,55. Дваесет дена од применетата терапија вредноста на дентален плак се движи во интервалот $0,47 \pm 0,51$; $\pm 95,00\%$ CI: 0,28-0,66, додека пак после 1 месец терапија вредноста на денталниот плак варира во интервалот $0,27 \pm 0,45$; $\pm 95,00\%$ CI: 0,10-0,43. После 2,5 месеци вредноста на дентален плак варира во интервалот $0,93 \pm 0,52$; $\pm 95,00\%$ CI: 0,74-1,13. Дескриптивната статистика на индексот на дентален плак според Löe-Sillness кај пациенти подложени на системска примена doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена покажа варирање и системско намалување од првиот преглед до периодот од 75 дена. При првиот преглед вредноста на индексот на дентален плак изнесуваше 1,96, а после 2,5 месеци од спроведениот третман изнесува 0,93. Разликите помеѓу вредностите

на денталниот плак во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци за ANOVA Chi Sqr.=81,00 и $p<0,001$ ($p=0,000$) постои значајна разлика помеѓу вредностите на дентален плак во анализираната релација.

Скоро идентични се наодите со гингивалната инфламација и гингиворагија.

Вредностите на гингивална инфламација во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2,5 месеци (пациенти подложени на системска примена на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена) прикажуваат дека при првиот преглед вредноста на гингивалната инфламација варира во интервалот $1,57 \pm 0,68$; $\pm 95,00\%CI: 1,31-1,82$. После 10 дена терапија вредноста на гингивална инфламација варира во интервалот $0,83 \pm 0,53$; $\pm 95,00\%CI: 0,64-1,03$, а по 20 дена терапија вредноста на гингивална инфламација варира во интервалот $0,37 \pm 0,49$; $\pm 95,00\%CI: 0,18-0,55$. Додека пак по 1 месец терапија вредноста на гингивална инфламација варира во интервалот $0,49 \pm 0,50$; $\pm 95,00\%CI: 0,30-0,68$, а после 2.5 месеци вредноста на гингивална инфламација варира во интервалот $0,50 \pm 0,51$. За ANOVA Chi Sqr.=64,80 и $p<0,001$ ($p=0,000$) постои значајна разлика помеѓу вредностите на гингивална инфламација во анализираната релација.

При првиот преглед вредноста на гингиворагија варира во интервалот $1,53 \pm 0,68$; $\pm 95,00\%CI: 1,28-1,79$, после 10 дена терапија вредноста на гингиворагија се движи во интервалот $0,53 \pm 0,51$; $\pm 95,00\%CI: 0,34-0,72$. После 20 дена терапија вредноста на гингиворагија варира во интервалот $0,32 \pm 0,47$; $\pm 95,00\%CI: 0,14-0,50$. После 1 месец терапија вредноста на гингиворагија варира во интервалот $0,37 \pm 0,49$; $\pm 95,00\%CI: 0,18-0,55$, а после 2,5 месеци вредноста на гингиворагија варира во интервалот $0,93 \pm 0,45$; $\pm 95,00\%CI: 0,77-1,10$. За ANOVA Chi Sqr.=60,20 и $p<0,001$ ($p=0,000$) постои значајна разлика помеѓу вредностите на гингиворагија во анализираната релација.

Просечната вредност на гингиворагија ($\bar{x}=0,93$) после 2.5 месеци за $Z=3,30$ и $p<0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала од просечната вредност на гингиворагија ($\bar{x}=1,53$) при првиот преглед.

При првиот преглед вредноста на длабочина на пародонталните џекови варира во интервалот $3,62 \pm 0,65$ mm. После 10 дена терапија просечната вредност на длабочина на пародонталните џекови е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $3,03 \pm 0,68$ mm. После 20 дена терапија просечната вредност на длабочина на пародонталните џекови е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $2,28 \pm 0,54$ mm.

После 1 месец терапија просечната вредност на длабочина на пародонталните џекови е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $2,52 \pm 0,65$ mm. После 2.5 месеци просечната вредност на длабочина на пародонталните џекови е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $2,98 \pm 0,66$ mm.

За ANOVA Chi Sqr.=97,02 и $p<0,001$ ($p=0,000$) постои значајна разлика помеѓу вредностите на длабочина на пародонталните џекови во анализираната релација.

Што се однесува до EAM наодите се скоро идентични.

При првиот преглед вредноста на EAM варира во интервалот $4,07 \pm 0,64$ mm. После 10 дена терапија просечната вредност на EAM е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $3,38 \pm 0,61$ mm. После 20 дена терапија просечната вредност на EAM е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $3,35 \pm 0,54$ mm. После 1 месец терапија просечната вредност на EAM е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $3,22 \pm 0,43$ mm. После 2.5 месеци просечната вредност на EAM е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $3,35 \pm 0,60$ mm.

Просечната вредност на EAM ($\bar{x}=3,35$ mm.) после 2.5 месеци за $Z=4,62$ и $p<0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала од просечната вредност на EAM ($\bar{x}=4,07$ mm.) при првиот преглед.

Овие резултати се во согласност со наодите добиени од Promsudthi и сор.⁽¹²¹⁾ и O'Connell и сор.⁽¹²²⁾ и Kiran.⁽¹²³⁾

Во интергрупната споредба, просечната длабочина на пародонталните џепови се намалила значајно во периодот до 4 месеци кај испитуваата група.⁽¹²¹⁻¹²²⁾ Во спротивност на оваа студија, Llambes и сор.⁽¹²⁴⁾ забележале значителни промени во длабочина на пародонталните џепови по 3 месеци од спроведениот третман. Во меѓугрупната споредба на контролната и испитуваната група средните вредности на клиничкиот губиток на атачментот покажа значителна добивка во временски период до 4 месеци. Компарацијата покажа значително поголема добивка на клиничкиот атачмент кај испитуваната група Оваа студија е во согласност со наодите на Grossi и сор.⁽¹²⁵⁾ и Promsudthi и сор.⁽¹²¹⁾, каде што е забележана значителна на клиничкиот атачмент по 3 месеци. Овие резултати укажуваат на оптимално решени состојби на пародонталните лезии секаде онаму каде испитуваната група е третирана со антибиотици, во споредба со контролната група каде е применета конвенционалната постапка.⁽¹²⁵⁾ Сепак, во некои студии се прикажани конфликтни резултати кои не успеаа да забележат каква било значајна добивка во клиничкиот атачмент во групата која беше подложена на обработка на пародонталните џепови дополнета со доксициклин, наспроти оние кои беа третирани само со обработка на пародонталните џепови после 3 месеци.^(122,124)

Ова значително намалување на длабочината на пародонталните џепови и добивката во клиничкиот атачмент авторите ја објаснуваат со антимикуробното и дополнително антиколагенолитичко дејство на доксициклинот.^(125,126) Образложението за изборот на примена на доксициклин како додаток на конвенционално применетата метода е поддржано од неговата способност да постигне повисоки концентрации во гингивалната цервикална течност, и од можноста за модулирање на клиничкиот ефект на домаќинот. Доксициклинот ги инхибира матриксметалопротеиназите, со што посредува во намалени можности за пародонтална разградба.⁽¹²⁷⁾

Некои студии не успеаа да го откријат позитивниот терапевски ефект на доксициклинот врз корекција на вредностите кои се однесуваат на длабочина на пародонталните џепови и клиничкиот губиток на атачментот.^(122,124,128)

Иако во литературата постојат прилично контрадикторни резултати, за тетрациклините и нејзините сродни медикаменти се знае дека учествуваат во активирање на латентните про-MMP, деескалација на MMP, и неутрализација на оксидативните механизми одговорни за пародонталното ткивно уништување.^(129,130) Овој доказ обезбеди основа за нов терапевтски пристап во контрола на пародонталната болест не само кај здрави лица, туку и кај оние со искомпромитирано медицинско здравје, пред се кај пациенти со diabetes mellitus за користење на тетрациклините и нивните деривати во третманот на пародонталната болест.⁽¹³¹⁾

Од спроведената микробиолошка анализа во оваа студија може да се заклучи дека при првиот преглед и после 2,5 месеци од истражувањето (пациенти на системска примена на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена) постои видна разлика. При првиот преглед регистрирани се 20 (66,67%) позитивни наоди, од нив после 2,5 месеци 8 (26,67%) наоди се позитивни, а 12 (40,00%) наоди негативни за *peptostreptococcus species*. При првиот преглед регистрирани се 10 (33,33%) негативни наоди, од нив после 2,5 месеци 2 (6,67%) наоди се позитивни, а 8 (26,67%) наоди негативни. За $p < 0,05$ ($p = 0,02$) /McNemar's test/ постои значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

До идентични наоди се дојде и при одредување на *porphomonas gingivalis*. Имено, при првиот преглед регистрирани се 11 (36,67%) позитивни наоди, од нив после 2,5 месеци 2 (6,67%) наоди се позитивни, а 9 (30,00%) негативни.

При првиот преглед регистрирани се 19 (63,33%) негативни наоди, од нив после 2,5 месеци 1 (3,33%) наод е позитивен, а 18 (60,00%) е негативен.

За $p < 0,05$ ($p = 0,02$) /McNemar's test/ постои значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

После истражувањето, евидентна беше значајна разлика само за *peptostreptococcus species* и *porphomonas gingivalis*, за сите преостанати бактериски соеви кои квалитативно беа одредени пред почеток на терапијата: *actinobacillus actinomycetemcomitans*, *streptococcus mitis/oralis*, *fusobacterium nucleatum*, *veillonella* и *clostridium* не беше евидентирана статистичка значајност на разликите на вредностите.

Со оглед на фактот дека пародонталната болест е предизвикана од микроорганизми кои живеат на или под маргиналната гингива најдобар начин да се контролира пародонталната инфекција е да се контролираат патогените видови кои живеат во овие локации.⁽¹³²⁾

Механичката терапија опфаќа отстранување на денталниот биофилм и елиминирање на локалните иритирачки фактори кои се темел на почетната пародонтална терапија, која не секогаш е доволна за солидни или барем задоволителни терапевтски ефекти. Се смета дека системскиот третман со антибиотици има можност да ги уништи или потисне резервоарите на периопатогените кои не се во можност механички целосно да бидат елиминирани и кои потенцијално би можеле да генерираат хронична реинфекција на третираниите површини.⁽¹⁰⁸⁾ Одговорот на домаќинот на плакот е различен и зависи од повеќе основни и дополнителни фактори. Понекогаш се вели дека е еднаков или пак, уште поважно зависи од квалитативните и квантитативните

особености на бактерискиот биофилм кога станува збор за третман стратегии во менаџирање на пародонталната болест.⁽¹⁰⁵⁾

Обработка на тврдиот и мекиот сид на пародонталниот џеп е основа на нехируршката терапија во лекувањето на пародонталната болест. Сепак, резултатите од оваа терапија се често непредвидливи и зависат од многу различни фактори.⁽¹³³⁾ Примената на системски антибиотици, како дел од терапијата на пародонталната болест се дебатира со децении.⁽¹³³⁾ Мета-анализата од страна на Haffajee и сор.⁽¹⁰⁾ објави дека системски администрираните антиминобни агенци обезбедуваат значителна клиничка корист во однос на клиничката добивка на епителната апикална миграција. Во литературата досега се предложени голем број бенефиции од примена на дополнителната антиминобна терапија. Иако, постојат доволно податоци кои наведуваат дека антибиотиците може да помогнат во лекувањето на пародонтопатијата, оптимален протокол за нивно користење сепак не е јасно дефинирано. Овој недостаток на јасни протоколи за употреба на антибиотиците може да биде делумно како резултат на специфичните особини на биофилмовите, кои овозможуваат субгингивалните периопатогени потешко да се отстрануваат од региите во кои долго може да бидат прикрупени за подлогата. Затоа, етаблирање на специјални стратегии со цел отстранување на субгингивалната микрофлора во биофилмот е повеќе од пожелно. Во меѓувреме, можните стратегии во третманот на конвенционалната терапија треба да бидат прилагодени на моменталните знаење за биофилмовите.

Амоксицилин со метронидазол е антиминобна комбинација која значително ги подобрува краткорочните пародонтални клинички резултати благодарение на својот синергистички ефект и уништување на *A. Actinomycescomitans*.^(10, 134)

Herrera и сор.⁽¹³³⁾ покажаа статистички значајна дополнителна корист од примена на спирамицин врз длабочината на пародонталните џекови и апикалната епителна миграција.

Во литературата најдвојце на два извештаи преку кој се проценети микробиолошките карактеристики на патогените бактерии кои се директно поврзани и вклучени во пародонталната болест.^(84, 103) Постојат сознанија каде *Porphyromonas gingivalis* е поврзан со агресивната пародонтопатија⁽¹⁰⁸⁾ а, *A. Actinomycescomitans* е асоциран со хроничната и агресивната пародонтопатија.⁽¹³⁵⁾ Литературата изобилува со податоци и за други специфични асоцијации помеѓу периопатогените, со цел да се предвидат микробиолошки показатели на афектираниот пародонтот кој ќе ни овозможи да се утврдат ризик факторите, како и причината, прогресијата и рецидивите на пародонталната болест. Клиничките резултати се вистински практични ресурси со кој може да се направи сериозна проценка на пародонталниот статус, иако намалувањето на бројот на субгингивалните периопатогени, корекцијата на клиничкиот атачмент и намалување на длабочината на пародонталните џекови се под влијание на многу други фактори.⁽¹³⁶⁾ Тешка и напредната пародонтална болест често се поврзува со пушење, дијабетес, и полиморфизам во IL-1 ген.⁽¹³⁶⁾ Губење на коскената минерална густина во скелетот (остеопенија / остеопороза) исто така се поврзува со загуба на пародонтот.⁽¹³⁷⁾ Досега прилично темелно е проучуван микробиолошкиот однос помеѓу системските услови, локалните фактори и бактериски патогени групи со цел да

се расветлат третман стратегиите кои се насочени кон одржување на пародонталната стабилност. При разгледување на различните фактори кои се поврзани со системската антимикробна примена во третманот на пародонталните заболувања, секогаш треба да бидат земени предвид несаканите ефекти. Особено, несакан ефект кај поедини пациенти е зголемување на бактериска отпорност, која е главен глобален јавен здравствен проблем. Овој недостаток се препишува на системските антибиотици, кои не треба да се користат рутински, туку во строго дефинирани состојби и одредени околности во кои опстанува пародонтот.^(109,138) Во неколку случаи, клиничките испитувања потврдиле проблеми во stomакот, дијареа, и општа nelaгодност кај 15% пациенти третирани со оваа терапија за 7 дена.⁽¹³⁴⁾

Отпука и идејата и потребата за примена на антимикробни средства но во облик на субдоза во кој приматот му припаѓа на doxycycline-от.

Слично на сите претходни студии несаканите ефекти се реткост иако во литературата се споменуваат одредени несакани настани поврзани со гастроинтестиналниот и генитоуринарниот тракт (инфекции) или пак реакции на кожата (црвенило и фотосензитивност).⁽⁹⁾ Различни клинички студии со користење субдоза на doxycycline не покажаа разлика во состав или резистентноста на усната, фекална, или вагинална микрофлора. Исто така овие студии не покажаа прекумерен раст на опортунистички патогени во усната празнина, гастроинтестиналниот систем, или генитоуринарниот систем. Сепак, се вели дека субантимикробната доза на doxycycline се одлични лекови во третманот на пародонталната болест, кои долгорочно ги поткрепуваат клинички добиените резултати.⁽¹³⁸⁻¹⁴⁰⁾

Во ова истражување проследени се терапевските ефекти од применетиот doxycycline во субдоза 2x20 mg дневно во времетраење од 75 дена, и компарирани со групата испитаници третирани со doxycycline 1x100 mg дневно во текот на еден месец.

При првиот преглед вредноста на денталниот плак варира во интервалот $1,97 \pm 0,67$.

После 10 дена терапија просечната вредност на денталниот плак е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,97 \pm 0,67$.

По 20 дена терапија просечната вредност на денталниот плак е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,43 \pm 0,50$.

После 1 месец терапија просечната вредност на дентален плак е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,33 \pm 0,48$, додека пак после 2.5 месеци просечната вредност на денталниот плак е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,83 \pm 0,70$.

За ANOVA Chi Sqr.=78,31 и $p < 0,001$ ($p = 0,000$) постои значајна разлика помеѓу вредностите на дентален плак во анализираната релација. Резултатите покажуваат дека просечната вредност на дентален плак ($\bar{x} = 0,83$) после 2.5 месеци за $Z = 4,46$ и $p < 0,001$ ($p = 0,000$) значајно е помала од просечната вредност на дентален плак ($\bar{x} = 1,97$) при првиот преглед.

Што се однесува до гингивалната инфламација и гингиворагија наодите се многу слични. Имено, после 10 дена терапија просечната вредност на гингивална инфламација е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,40 \pm 0,50$.

После 20 дена терапија просечната вредност на гингивална инфламација е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,36 \pm 0,48$.

После 1 месец терапија просечната вредност на гингивална инфламација е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,50 \pm 0,51$, додека пак после 2.5 месеци просечната вредност на гингивална инфламација е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $0,17 \pm 0,38$. Просечната вредност на гингивална инфламација ($\bar{x}=0,17$) после 2.5 месеци за $Z=4,62$ и $p < 0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала од просечната вредност на гингивална инфламација ($\bar{x}=1,47$) при првиот преглед.

Кај индексот на гингиворагија при првиот преглед вредноста варира во интервалот $1,52 \pm 0,67$; $\pm 95,00\%CI: 1,27-1,78$; минималната вредност изнесува 1 а максималната 3. По 10 дена терапија вредноста на гингиворагија варира во интервалот $0,73 \pm 0,58$; $\pm 95,00\%CI: 0,52-0,95$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 2. По 20 дена терапија вредноста на гингиворагија варира во интервалот $0,33 \pm 0,48$; $\pm 95,00\%CI: 0,15-0,51$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 1. Додека после 1 месец терапија вредноста на гингиворагија варира во интервалот $0,36 \pm 0,48$; $\pm 95,00\%CI: 0,17-0,54$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 1. После 2.5 месеци вредноста на гингиворагија варира во интервалот $0,37 \pm 0,49$; $\pm 95,00\%CI: 0,18-0,55$; минималната вредност изнесува 0 а максималната 1.

За ANOVA Chi Sqr. = 58,16 и $p < 0,001$ ($p=0,000$) постои значајна разлика помеѓу вредностите на гингиворагија во анализираната релација. Просечната вредност на гингиворагија ($\bar{x}=0,37$) после 2.5 месеци за $Z=4,20$ и $p < 0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала од просечната вредност на гингиворагија ($\bar{x}=1,52$) при првиот преглед.

При првиот преглед длабочината на пародонталните џекови варира во интервалот $3,61 \pm 0,64$ mm. По 10 дена терапија просечната длабочина на пародонталните џекови е помала во однос на првиот преглед и варира во интервалот $3,12 \pm 0,61$ mm. Дваесетиот ден од применетата терапија просечната вредност на длабочина на пародонталните џекови е помала во однос на првиот ден и варира во интервалот $3,03 \pm 0,52$ mm. После 1 месец терапија просечната вредност е помала во однос на првиот ден и варира во интервалот $2,57 \pm 0,67$ mm., што приближно е иста после 2.5 месеци каде просечната вредност на длабочина на пародонталните џекови е помала во однос на првиот ден и варира во интервалот $2,65 \pm 0,79$ mm. За ANOVA Chi Sqr. = 89,54 и $p < 0,001$ ($p=0,000$) постои значајна разлика помеѓу вредностите на длабочина на пародонталните џекови во анализираната релација.

Просечната вредност на длабочина на пародонталните џекови ($\bar{x}=2,65$ mm.) после 2.5 месеци за $Z=4,64$ и $p < 0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала од просечната вредност на длабочина на пародонталните џекови ($\bar{x}=3,61$ mm.) при првиот преглед.

Вредностите на EAM во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци (пациенти со системска примена на doxycycline 20 mg двапати дневно во текот на 75 дена) прикажа дека при првиот преглед вредноста на EAM варира во интервалот $4,06 \pm 0,63$ mm.; $\pm 95,00\%CI: 3,82-4,30$; минималната вредност изнесува 3 mm. а максималната 5,50 mm. По 10 дена терапија вредноста на EAM варира

во интервалот $3,53 \pm 0,67$ мм.; $\pm 95,00\%CI: 3,28-3,78$; минималната вредност изнесува 2,50 мм., а максималната 5,00 мм. После 20 дена терапија вредноста на EAM варира во интервалот $3,48 \pm 0,66$; $\pm 95,00\%CI: 3,24-3,73$; минималната вредност изнесува 2,00 мм. а максималната 5,00 мм. После 1 месец терапија вредноста на EAM варира во интервалот $3,40 \pm 0,52$ мм.; $\pm 95,00\%CI: 3,21-3,59$; минималната вредност изнесува 2,00 мм. а максималната 4,50 мм., додека пак по 2.5 месеци вредноста на EAM варира во интервалот $2,95 \pm 0,78$ мм.; $\pm 95,00\%CI: 2,66-3,24$; минималната вредност изнесува 1,00 мм. а максималната 4,50 мм.

За ANOVA Chi Sqr.=85,94 и $p < 0,001$ ($p=0,000$) постои значајна разлика помеѓу вредностите на EAM во анализираната релација.

Просечната вредност на EAM ($\bar{x}=2,95$ мм.) после 2.5 месеци за $Z=4,70$ и $p < 0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала од просечната вредност на EAM ($\bar{x}=4,06$ мм.) при првиот ден.

Од добиените наоди сосема е извесно дека подобри клинички ефекти се добиени после примена на doxycycline-от во доза од 2x20 mg

Разлики во вредностите на дентален плак во релацијата прв преглед, 10-ти, 20-ти ден, 1 месец и 2.5 месеци, како резултат на применетата терапија во двете групи прикажува дека после 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=0,83$) на дентален плак кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци) за $Z=0,63$ и $p > 0,05$ ($p=0,53$) незначајно е помала од просечната вредност ($\bar{x}=0,93$) на дентален плак кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg / 30 дена).

За сите преостанати испитувани клинички параметри разликите покажаа видни предности кај групата испитаници третирани со субдоза doxycycline 2x20 mg

После 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=0,17$) на гингивална инфламација кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци) за $Z=2,22$ и $p > 0,05$ ($p=0,03$) значајно е помала од просечната вредност ($\bar{x}=0,50$) на гингивална инфламација кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg / 30 дена).

Кога станува збор за индексот на гингиворагија после 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=0,97$) на гингиворагијата кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg / 2.5 месеци) за $Z=-3,49$ и $p < 0,001$ ($p=0,000$) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=0,37$) на гингиворагијата кај пациентите од втората група (doxycycline 2x 20 mg / 30 дена).

После 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=2,98$) длабочина на пародонталните џепови кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg / 2.5 месеци) за $Z=-1,80$ и $p > 0,05$ ($p=0,07$) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=2,65$) длабочина на пародонталните џепови кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg / 30 дена), додека пак после 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=3,35$) на EAM кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg / 2.5 месеци) за $Z=-2,10$ и $p < 0,05$ ($p=0,04$) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=2,95$) на атачмент кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg / 30 дена).

Темелно анализираните резултати започнувајќи од 10-от, 20-от и 1 месец од опсервациониот период прикажуваат сигнификано значајно пониски вредности за индексот на длабочина на пародонталните џекови кај групата третирана со doxycycline 1 x 100 mg и скоро изедначени вредности на индексот на гингивална инфламација и гингиворагија. Сепак после 2,5 месеци подобри терапевски резултати се евидентни кај сите испитувани индекси во групата пациенти третирани со doxycycline 2x20 mg

Нашите наоди се во согласност со наодите на многу автори.^(10, 84, 104, 119,141,142)

Во врска со ова, го поткрепуваме сознанието дека системските антибиотици како дополнителна терапија аплицирани во субантимикробна доза, може да понуди дополнителна предност во однос на самостојната обработка при конвенционално спроведената терапија. Во овој контекст пред се се мисли на клиничкиот губиток на атачментот, длабочина на пародонталните џекови. Сепак, разликите во студијата методологија и недостаток на одредени факти може да бидат сериозен хендикеп за посеопфатни анализи. Од студијата тешко беше да се извлечат конечни заклучоци, иако пациентите со длабоки џебови, прогресивна или "активна форма" на болеста, или специфичниот микробиолошки профил, може да бидат од корист после оваа дополнителна терапија.⁽¹³³⁾ Спротивно на овие наоди⁽¹⁴³⁾ заклучува дека доказите за дополнителна корист од дополнителна терапија со антибиотици кај пациенти со хронична пародонтопатија е недоволна и неуверлива. Авторот смета дека дополнително добро дизајнирани студии се потребни за да се процени ефектот на антибиотици врз пародонталниот статус, особено, ако стане збор за испитаници пушачи.

Што се однесува до микробиолошкиот наод кај испитаниците третирани со doxycycline 2x20 mg добиените резултати беа различни од оние кои се третирани со doxycycline 1x100 mg после 2,5 месеци. За *actinobacillus actinomycetemcomitans* резултатите покажаа дека при првиот преглед регистрирани се 18 (60,00%) позитивни наоди, од нив после 2,5 месеци 4 (13, 33 %) наоди се позитивни, а 14 (46,67%) негативни.

При првиот преглед регистрирани се 12 (40,00%) негативни наоди, од нив после 2,5 месеци 2 (6,67%) наоди се позитивни, а 10 (33, 33%) негативни.

За $p < 0,05 (p = 0,06)$ /McNemar's test/ постои значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

До идентични наоди дојдовме и при *peptostreptococcus species*. При првиот преглед регистрирани се 22 (73,33%) позитивни наоди, од нив после 2,5 месеци 8 (26,67%) наоди се позитивни, а 14 (46,67%) негативни. При првиот преглед регистрирани се 8 (26,67%) негативни наоди, од нив после 2,5 месеци 1 (3,33%) наод е позитивен, а 7 (23,33%) се негативни.

За $p < 0,01 (p = 0,002)$ /McNemar's test/ постои значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди.

Од спроведените разлики евидентно е дека во втората група / пациенти кои примаа doxycycline 2 x 20 mg дневно 2,5 месеци / после 2,5 месеци регистрирани се 6 (10,00%) позитивни и 24 (40,00%) негативни наоди на (Aa).

Во првата група / пациенти кои примаа doxycycline 100 мгр. дневно 30 дена / регистрирани се 14(23,33%) позитивни и 16(26,67%) негативни наоди на (Aa).

Во прикажаната дистрибуција, за Pearson Chi-square=4,80 и $p > 0,05$ ($p=0,03$) постои значајна разлика во наодите на *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa) помеѓу двете групи пациенти. Исто така во прикажаната дистрибуција, за Pearson Chi-square=4,34 и $p < 0,05$ ($p=0,04$) постои значајна разлика во наодите на *Fusobacterium nucleatum* (Fn) помеѓу двете групи пациенти.

Спротивно од нашите добиени наоди⁽¹⁴⁴⁾ локално применетиот доксициклин го промовира елиминирање на *T. forsythensis* и *P. gingivalis* каде се применува како дополна на пародонтолошкиот третман, во споредба со конвенционално применетата постапка. До идентични наоди дошол и⁽¹⁴⁵⁾. Кај пушачи, дополнително применетиот доксициклин локално, резултира со поголемо намалување на фреквенцијата на *P. gingivalis* после првично спроведената терапија во споредба со конвенционалниот третман.

Вообичаено тетрациклините се лекови на избор кога станува збор за терапија на заболениот пародонт. Тие се бактериостатици и имаат антибактериска активност која се манифестира со инхибиција на микробиолошки протеинската синтеза кој се реализира преку пристап до внатрешноста на бактериската клетка. Doxycycline-от лесно може да помине директно преку липидниот би-слој на бактерискиот клеточен ѕид и внатрешната цитоплазматската мембрана. Во клетките, тетрациклините специфично се врзуваат за 30-тата субединица на рибозомите. Ова врзување се случува со цел да се спречи аминоксил tRNA рецептор на mRNA рибозомите, кои за возврат го спречуваат додавање на аминоксил групата во оформување на пептидниот синџир.⁽¹⁴⁶⁾ Постојат и докази дека тетрациклините може да предизвикаат промени во бактериската цитоплазматска мембрана, олеснување на истекување на нуклеотиди и други соединенија од клетката. Оваа активност се објаснува со брза инхибиција на репликацијата на ДНК што се случува кога клетките се изложени на повисоки концентрациски вредности на тетрациклин отколку што е потребно за протеинска инхибиција. Од сите медикаменти doxycycline-от има највисок протеински капацитет и најдолг полуживот, посебно ефикасен во инхибиција на грам-негативните факултативни анаероби⁽¹⁴⁷⁾ т.е. *actinobacillus actinomycetemcomitans* (*agggregatibacter actinomycetemcomitans*), *campylobacter rectus*, *eikenella corrodens* и *capnocytophaga*. Сепак, тетрациклините се чини дека се многу поефикасни во инхибиција на грам-негативни факултативни анаероби. Се администрира орално, а неговата апсорпција од гастроинтестиналниот тракт е прилично брза. Sakkelari и сор.⁽¹⁴⁸⁾ утврди дека просечната концентрација на системски администрираниот тетрациклин во гингивалниот цервикален флуид е помал отколку во плазмата (меѓу 0 и 8 mg/ml).

Освен антибактериската активност, doxycycline-от, исто така, покажува дополнителни фармаколошки својства, кои се од посебно значење за лекување на пародонталната болест. Во овој контекст вреди да биде спомената колагеназната инхибиција. Се верува дека антиколагеназната активност е поврзана со извор на ензими кои ги деградираат сврзните ткива. Овие ензими се добиени од многу извори, вклучувајќи ги фибробластите, епителните клетки, макрофагите (ММР-1) и неутрофили (ММР-8).⁽¹⁴⁹⁾ Доксициклинот е најпотентната тетрациклинска молекула одговорна за колагеназната инхибиција.

Поедини податоци покажуваат дека просечната концентрација во гингивалниот цервикален флуид на системски администрираниот тетрациклин е помала од онаа во плазмата. Концентрацијата на тетрациклинот во GCF е силно поврзана со концентрација во плазмата, што укажува на примарната улога на апсорпција на лекот. Системски администрираните антибиотици се дистрибуираат на местото на делување во пародонтот. Просечната концентрација во GCF се движи меѓу 0 и 8µg/ml. Овие наоди покажуваат дека лошата апсорпција на орално-администрираните тетрациклини може да се смета за причина во варијабилноста на клиничкиот одговор на антибиотици, забележани во секојдневната пракса.⁽¹⁴⁸⁾

Подобри клинички ефекти се откриени при следење на длабочина на пародонталните џепови и гингивалната инфламација кај испитаниците третирани со конвенционален третман дополнет со субдоза на doxycycline, во споредба со класично применетата постапка дополнет со плацебо. Сепак авторите заклучуваат дека за попрецизни информации потребно е подолго траење на третманот со лекови и побројна група која е потребно да ги потврди овие прелиминарни наоди.⁽¹⁵⁰⁾

Prevotella intermedia, црно пигментирани, анаеробни, грам-негативни бактерии, се посебно осетливи под дејство на различни типови антибиотици. Антибиотските третмани преку системски или локални апликации може да бидат корисни во лекување на пародонталната болест. Одредените минимално инхибиторни концентрации за тестираните антибиотици (тетрациклин, миноциклин, доксициклин и олфацин) покажаа инхибиторни активности од 5-100 пати. Во биофилмовите со *Prevotella intermedia* биоактивноста беше значително зголемена, што укажува на проблеми кои се вклучени во процесот на дизајнирање антибиотска терапија во третманот на пародонталната болест.⁽¹⁵¹⁾

Освен doxycycline-от во третманот на пародонталната болест се применуваат и флуорокинолони, ципрофлоксациклин, метронидазол и други медикаменти како дополна во конвенционалната терапија. Имено, поради поволната фармакокинетика, со флуоро-кинолонски моксифлоксацин може да се појави ветувачки тренд за дополнителна системска антибиотска терапија при пародонталните инфекции со *A. actinomycetemcomitans*.⁽¹⁵²⁾

Системските лекови се адјуванти на пародонталната терапија. Лековите кои се применуваат може да се поделат во две главни категории: антибиотици и средства за модулација. Антибиотиците се покажале како вредни дополненија во одредени форми на пародонталната болест, како што се локализирана и генерализирана агресивна пародонтопатија, како и тешки хронични пародонтопатији. Антибиотиците може да се аплицираат поединечно, или во комбинација со конвенционалната терапија. Модулаторите вклучуваат Periostat, нестероидни анти-инфламаторни лекови, алендронатот (Fosamax), хормонска заменска терапија и анти-артритични лекови. Овие агенци предизвикуваат корисни клинички ефекти благодарение на различни механизми на дејствување, вклучувајќи инхибиција на матрикс металопроотеиназите, инхибиција на производство на простагландини, стимулација на остеобластите, инхибиција на остеокластите, како и други анти-воспалителни механизми на дејство.⁽¹⁵³⁾

Многу антибиотици и други хемотерапевтски агенци се користат како дополнење на механичката пародонтална терапија. Клиничките и микробиолошките резултати

добиели после системска администрација на тетрациклин, пеницилин, клиндамицин, и метронидазол, како и комбинација на метронидазол со аугументин како адјуванс после применетата конвенционална пародонтална терапија покажа позитивни клинички наоди за сите тестирани медикаменти. Неодамна, воведувањето на новата генерација на контролирано ослободување на локално применетите антимицробни агенси им овозможуваат на терапевтите можност за лекување на поединечните форми на пародонталната болест со висока концентрација на лекот. Клиничките ефекти добиени од мултицентрична клиничките испитувања со PerioChip, која содржи хлорхексидин, и со Atridox, која содржи доксициклин, се сумирани, откаде произлегуваат конечните, сугестии за избор на соодветен антимицробен агенс со минимизирана можност за развој на отпорност кон антибиотиците во пародонталната флора.⁽¹⁵⁴⁾

Во студијата на Feres⁽¹⁵⁵⁾ се утврди процентот и преваленцата на доксициклин отпорните видови во субгингивалните плак формации примероци земени за време и по доксициклин администрација. После системска апликација на доксициклин во доза од 100 mg / ден за 14 дена, докажани се позитивни клинички ефекти. Примероците од плак акумулациите од дисталните површини од 2 случајно избрани заби беа проследени 3, 7 и 14 ден за време и по антибиотската администрација. По 7 дена на анаеробна инкубација, разликите во пропорциите на отпорни видови помеѓу испитуваната и контрола група покажа среден % (+/- мерење) на изолати отпорни на 4 микрограми / ml. доксициклин во плак примероците, се зголемија од 6 +/- 2-48 +/- 9% во текот на доксициклин администрација, и се намалија на 25 +/- 6% 2 недели подоцна и 9 +/- 2% за 90 дена. Во плунката, % на отпорни изолати се зголемил од 13 +/- 1% до 81 +/- 10% во текот на доксициклин администрација, а падна на 46 +/- 8% 2 недели подоцна и 22 +/- 5% на 90 дена. Процентуалната отпорност на изолати значително не се промени во плаковните или плунковните примероци од контролната група. При сите посети, најмногу распространети отпорни видови се: *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Veillonella parvula*, *Actinomyces gerencseriae*, *Streptococcus constellatus*, *Actinomyces naeslundii* *genospecies* 2, *Eikenella corrodens* и *Actinomyces naeslundii* *genospecies*. И покрај пронаоѓањето на зголемената резистентност, околу 50% од микроорганизмите кон крајот од 14 ден од денот на системската администрација на доксициклин добиени се соевите кои се чувствителни на применетиот медикамент.

Системски применетиот доксициклин е еден од почестите антимицробни медикаменти кои се користат во третманот на пародонталните инфекции, а сепак малку се знае за неговиот ефект врз субгингивалниот биофилм за време и по неговата администрација. Скромно, но значајно е евидентирано намалување на средната длабочина на пародонталниот џеп после системската примена на doxycycline-от. Во текот на терапијата е евидентна редукција на поедини бактериски соеви од денталниот биофилм, но, по прекин на доксициклинот, забележано е зголемување на *actinomyces*, додека *streptococcus* се вратил на почетните пропорции. Односот меѓу овие два рода во суштина е реципрочена, зголемување на еден е придружена со намалување на другиот микроорганизам. Периопатогените вклучувајќи ги *B. forsythus*, *P. gingivalis*, *T. denticola* и *A. actinomycetemcomitans* не се значително променети после оралната администрација на доксициклин како дополна на конвенционално применетата постапка.⁽¹⁵⁶⁾

Врз основа на досегашните добиени наоди вреди да заклучиме дека тетрациклините претставуваат антибиотици со широк спектар на делување кои наоѓаат примена во третман на најразлични инфекции предизвикани од Грам (+) и Грам (-) бактерии, микоплазма и хламидија.⁽¹⁵⁷⁾

Доксициклинот (DOX) претставува семисинтетски антибиотик кој е добиен со хемиска модификација на молекулата на окситетрациклин.⁽¹⁵⁸⁾ DOX пенетрира и се акумулира во ткивата на усната празнина како што се дентинот, емајлот на забите и гингивата и претставува ефективна терапија во третманот на најразлични инфламаторни состојби во усната празнина меѓу кои и пародонталната болест.⁽¹⁵⁹⁾ Основниот механизам на дејство на DOX се темели на неговиот инхибиторен ефект кон ензими наречени матрикс-металопротеинази (MMP's) имаат значајна улога во деградацијата на сврзното ткиво на пародонтот во текот на пародонталната болест.

Една од терапевтските стратегии во третманот на пародонталната болест е *per os* администрација на доксициклин како адјуванс на класичниот механички третман.⁽¹⁴⁸⁾ Со оглед на фактот дека DOX постигнува ниски концентрации во GCF и плунка по администрација на терапевтските дози, се наложува потреба од развој на осетливи аналитички методи за негово одредување во овие примероци.

Методите за одредување доксициклин во биолошки примероци се темелат на примена на високо-ефективна течна хроматографија (HPLC) со UV детекција која се карактеризира со ниска осетливост.⁽¹⁶⁰⁾ LC-MS методите се одликуваат со висока специфичност и сензитивност, но нивната примена е отежната поради посебните аналитички и финансиски услови кои се потребни за да се применат во лабораториите.

Имајќи го предвид фактот дека тетрациклините формираат високо флуоресцентни комплекси со двовалентни катјони како што се Ca^{2+} и Mg^{2+} ,⁽¹⁶¹⁾ постои можност за развој на методи со примена на високо-ефективна течна хроматографија со флуоресцентна детекција (HPLC-FLD). Оваа метода се одликува со висока сензитивност и специфичност и подлежи на помалку интерференци од испитуваниот примерок.⁽¹⁵⁷⁾

Во третманот на пародонталната болест системски или локално може да се применуваат антибиотици, антисептици како и одредени антиинфламаторни лекови кои претставуваат ефикасно дополнување на конвенционалната, механичка терапија. Администрацијата на суб-антимикробни дози на доксициклин (20 mg DOX, два пати во текот на денот, PerioStat®) во значителна мера ја намалува активноста на матрикс металопротеиназите, ензими кои играат значајна улога во уништувањето на ткивата на пародонтот. За разлика од конвенционалното дозирање (100 mg DOX, еднаш дневно, во текот на две недели до еден месец) кое е проследено со ризик од развој на бактериска резистентност, субантимикробните дози на доксициклин не предизвикуваат развој на бактериска резистенција.

Во оваа студија, по извршената оптимизација и валидација на HPLC-FLD метод за квантитативно одредување на DOX во примероци од GCF и плунка, истиот беше применет за анализа на примероци од пациенти заболени од пародонтална болест кои примаат терапија со 100 mg DOX и субантимикробна доза на DOX.

Концентрациите на DOX во примероци на GCF и плунка добиени од пациенти заболени од пародонтална болест третирани со 100 mg DOX прикажаа вредности кои се разликуваат во гингивалниот цервикален флуид и плунка, после спроведениот третман. Имено, после 7 дена од системската апликација на 100 mg DOX, вредностите на медикаментот во гингивален цервикален флуид се движеа од 2.24 ± 0.32 ($\mu\text{g mL}^{-1}$), а во плунка 0.19 ± 0.03 ($\mu\text{g mL}^{-1}$). После 15 дена вредностите на DOX во гингивалниот цервикален флуид изнесуваа 1.68 ± 0.19 ($\mu\text{g mL}^{-1}$), а во плунка 0.07 ± 0.01 ($\mu\text{g mL}^{-1}$). Знатно намалување и во двата медиума беше регистрирано после спроведените мерења на концентрациите на DOX после 1 месец од третманот. Имено, во гингивалниот цервикален флуид концентрацијата изнесуваше 1.39 ± 0.17 ($\mu\text{g mL}^{-1}$), а во плунката 0.04 ± 0.01 ($\mu\text{g mL}^{-1}$). Резултатите покажаа континуирано и постепено намалување на вредностите на DOX во двата следени медиума во трите временски испитувани после 7, 15 и 30 дена кај испитуваната група која беше третирана со 100 mg doxycycline еднаш дневно во текот на еден месец.

Испитуваната група која беше подложена на терапија со 2x20 mg doxycycline покажа вредности на концентрацијата на DOX слични како во претходно испитуваната група. Всушност после 18 дена од примената терапија во гингивалниот цервикален флуид вредностите на DOX изнесуваа 1.72 ± 0.29 $\mu\text{g mL}^{-1}$. За разлика од нив, во плунката концентрацијата на медикаментот беше значително намалена и вредностите се движеа од 0.71 ± 0.10 . После 37 дена од администрацијата на DOX концентрацијата во цервикалниот флуид наспроти првото мерење беше намалено и изнесува 1.67 ± 0.33 $\mu\text{g mL}^{-1}$, а во плунката 0.88 ± 0.22 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Последното мерење во гингивалниот цервикален флуид концентрацијата на DOX изнесува 1.38 ± 0.12 $\mu\text{g mL}^{-1}$, а во плунката 0.31 ± 0.07 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Од добиените резултати може да се види дека концентрациите на DOX во GCF се значително повисоки во однос на концентрациите во плунка што веројатно се должи на функцијата на гингивалните фибробласти кои претставуваат резервоари за DOX.⁽¹⁶²⁾

Во однос на варијациите на вредностите на доксициклинот независно од примената доза во гингивалниот цервикален флуид се чини дека концентрациите се помалку променливи, иако постепено се намалуваат наспроти прилично нестабилните вредности на доксициклинот во плунката.

Со акумулирање на доксициклинот во фибробластите, се претпоставува дека фибробластите потенцијално може да ја подобрат распределбата на доксициклинот во GCF, како и да придонесат за разлика помеѓу постигнување максимални серумски нивоа и постигнување на задоволителни нивоа во гингивалниот цервикален флуид. На овој начин, тие, исто така, може да придонесат за релативно високо стабилно концентрациски вредности на доксициклинот постигнат во GCF.

Литературата докажа дека фибробластите од гингивата поседуваат транспортери кои се способни да го движат доксициклинот во или надвор од клетката. На тој начин ја одржуваат рамнотежата меѓу интрацелуларната и екстрацелуларната концентрацијата.⁽¹⁶³⁾ Оваа рамнотежа фаворизира интрацелуларни нивоа кои се најмалку 60 пати повисоки од екстрацелуларните нивоа за Миноциклин и најмалку 8

пати повисоки од оние за ciprofloxacin.⁽¹⁶³⁾ Во текот на антимицробната терапија *in vivo*, при транспорт во клетката треба да доминираат процесите кои во текот на одредени периоди ги балансираат нивоата на медикаментот во биолошките течности. Ако нивоата на антибиотик се намалат од нивните највисоки вредности во крвта и ткивото, настанува истекување на медикаментот од фибробластите на гингивата и на овој начин може да помогнат во одржување на релативно високи антимицробни нивоа во интерстицијалната течност. Поради уникатната архитектура на гингивата,⁽¹⁶⁴⁾ во процесот на балансирање антибиотикот од клетката поминува низ прикрупениот епител и се филтрира во гингивалниот флуид. Претпоставувајќи дека фибробластите функционираат како резервоари на антибиотици во гингивата, би можело да се објасни зошто тетрациклините,⁽¹⁶⁵⁾ доксициклин,⁽¹⁶⁶⁾ миноциклин,⁽¹⁶⁷⁾ и ципрофлоксацин⁽¹⁶⁸⁾ постигнуваат повисоки нивоа во GCF отколку во крвниот серум.

Нашите наоди се во согласност со оние кои претходно се пријавени од Copway⁽¹⁶⁹⁾ кои користат идентични методи на HPLC анализа. Сепак, нашите забележаните нивоа доксициклин се пониски од оние кои се претходно пријавени, а достапни во литературата.⁽¹⁶⁶⁾

Сесмета дека doxycycline-от е посебно ефикасен против *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, и други патогени кои се моќни да извршат инвазија на меките ткива од пародонталниот џеп. Така, акумулација на тетрациклини и флуорохинолони од фибробластите во гингивата сврзното ткиво потенцијално може да ја подобрат ефикасноста на овие антимицробни агенси со зголемување на нивните локални концентрации во гингивата и одржување на нивните вредности во еден подолг рок. Нашите наоди претпоставуваме дека се темелат на активноста на фибробластите кои играат важна улога во распределбата на флуорохинолони и тетрациклини на гингивата, што е фактор кој мора да се земе предвид со цел да се оптимизира пародонталната антимицробна хемотерапија.

Горе објаснетиот механизам е всушност објаснување на нашите добиени резултати. Ниски вредности на доксициклинот во гингивалниот флуид и плунката, а солидни клинички ефекти.

Како индикатор на патогенетските случувања во гингивата ја следевме активноста на лактат дехидрогеназата во гингивален цервикален флуид и плунка. Добиените резултати во двата медиуми беа скоро идентични, така помеѓу нив не беше добиена статистички значајна разлика. Имено, кај пациентите кои примаа doxycycline-от од 100 mg еднаш дневно, пред третман вредноста за активноста на лактат дехидрогеназа варира во GCF во интервалот $626,84 \pm 279,94$ U/L; $\pm 95,00\%CI: 522,31-731,37$; минималната вредност изнесува 49,80 U/L, а максималната 1050,08 U/L. По третман вредноста за активност на лактат дехидрогеназа варира во интервалот $384,75 \pm 190,12$ U/L; $\pm 95,00\%CI: 313,76-455,74$; минималната вредност изнесува 35,62 U/L, а максималната 716,89 U/L.

Разликата помеѓу вредноста на лактат дехидрогеназа во релацијата пред третман и по третман за $t=10,85$ и $p<0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала во однос на вредноста пред третманот.

Активност на лактат дехидрогеназа во релацијата пред и по третман (група пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg. дневно два и пол месеци) укажаа на фактот дека пред третман вредноста на лактат дехидрогеназа варира во интервалот $616,84 \pm 272,01$ U/L; $\pm 95,00\%CI: 515,27-718,42$; минималната вредност изнесува 149,76 U/L. а максималната 1241,40 U/L. По третман вредноста на лактат дехидрогеназа варира во интервалот $278,55 \pm 177,64$ U/L; $\pm 95,00\%CI: 212,22-344,88$; минималната вредност изнесува 16,89 U/L. а максималната 791,64 U/L. Имено, вредноста на лактат дехидрогеназа по третманот за $Z=4,78$ и $p < 0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала во однос на вредноста пред третман.

Споредбените анализи помеѓу двете испитувани групи укажуваат дека просечната вредност ($\bar{x}=626,84$ U/L) на лактат дехидрогеназа (пред третман) кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg / 30 дена) за $t=-0,14$ и $p > 0,05$ ($p=0,89$) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=616,84$) на лактат дехидрогеназа (пред третман) кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци).

Просечната вредност на активноста ($\bar{x}=384,75$ U/L) на лактат дехидрогеназа (по третман) кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg / 30 дена) за $Z=-2,07$ и $p < 0,05$ ($p=0,04$) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=287,53$) на лактат дехидрогеназа (по третман) кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци).

Добиените наоди за активноста на лактат дехидрогеназата во оваа студија се сосема логични. Пролонгираното долготрајно дејство на doxycycline-от во период од 2,5 месеци ја намали нејзината активност во втората група. Имено, ставот извлечен од литературата за парцијално ослободување на медикаментот од резервоарите на фибробластите кај групата испитаници е толкување на нашите добиени наоди во двете групи, со предност на групата третирана со субдоза на doxycycline-от. Дозираниот долгорочно ослободување на медикаментот, влијае врз патогенетските случувања во пародонталното ткиво, меѓу другото делувајќи врз корекција на ензимските случувања, кои дефинитивно се одразуваат врз клиничкиот наод на испитаниците.

Во суштина механизмите на doxycycline-от вклучуваат надолна регулација на цитокини и MMP-9 нивоа на протеини и инхибиција на активностите на колагеназата. и MMP-9. На овој начин, ефектите на доксициклинот се објаснуваат барем делумно, со што се оправдуваат неговите терапевтски потенцијали за разни хронични воспалителни болести вклучувајќи пародонтпатија, која може да го намали ризикот од системски заболувања, поврзани со оваа и други заболувања.

ЗАКЛУЧОЦИ

ЗАКЛУЧОЦИ

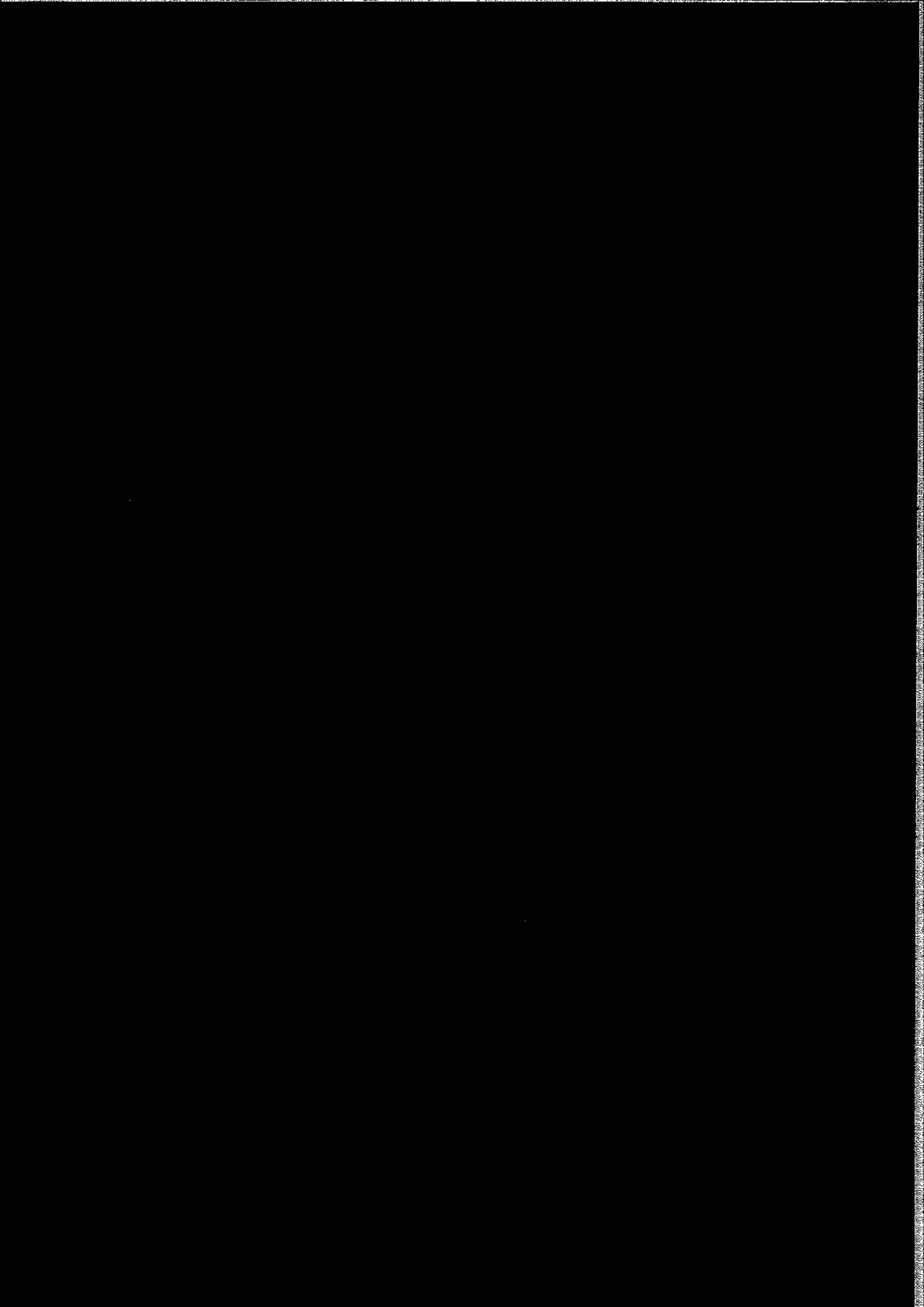
Од поставените цели, спроведените истражувања и добиените наоди ги извлековме следните заклучоци:

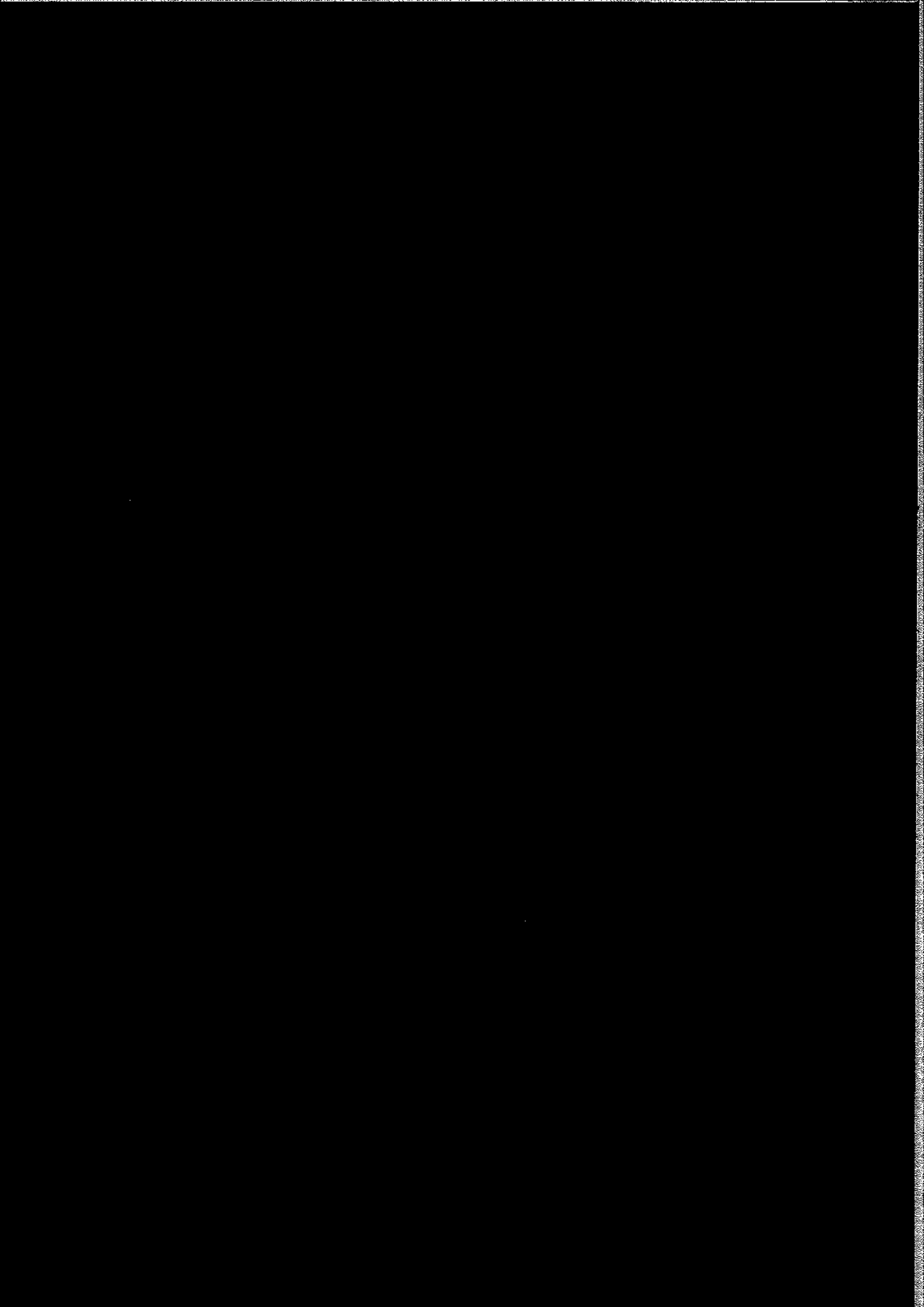
- Кај пациенти подложени на системска примена на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена, се докажа дека после 2,5 месеци просечната вредност на: дентален плак ($\bar{x}=0,93$), гингивална инфламација ($\bar{x}=0,50$), гингиворагија ($\bar{x}=0,93$), длабочина на пародонталните џекови ($\bar{x}=2,98$ mm.) и EAM ($\bar{x}=3,35$ mm.) значајно се помали од просечната вредност на денталниот плак ($\bar{x}=1,96$), гингивална инфламација ($\bar{x}=1,57$), гингиворагија ($\bar{x}=1,53$), длабочина на пародонталните џекови ($\bar{x}=3,62$ mm.) и EAM ($\bar{x}=4,07$ mm.) при првиот преглед.
- Микробиолошкиот наод кај пациенти со системска примена на doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена прикажа дека после 2,5 месеци нема значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди за *Aa*, *St m*, *Fn*, *Vl* и *Cl*, а постои значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди за *P spp* и *Pg*.
- Кај пациенти кои примаа системски doxycycline 2x20 mg дневно во текот на 75 дена, после 2,5 месеци евидентиравме дека просечната вредност на: дентален плак ($\bar{x}=0,83$), гингивална инфламација ($\bar{x}=0,17$), гингиворагија ($\bar{x}=0,37$), длабочина на пародонталните џекови ($\bar{x}=2,65$ mm.) и EAM ($\bar{x}=2,95$ mm.) значајно се помали од просечната вредност на денталниот плак ($\bar{x}=1,97$), гингивална инфламација ($\bar{x}=1,47$), гингиворагија ($\bar{x}=1,52$), длабочина на пародонталните џекови ($\bar{x}=3,61$ mm.) и EAM ($\bar{x}=4,06$ mm.) при првиот преглед.
- Микробиолошкиот наод кај пациенти со системска примена на doxycycline 2x20 mg дневно во текот на 75 дена прикажа дека после 2,5 месеци нема значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди за *St m*, *Fn*, *Vl* и *Cl*, *Pg* а постои значајна разлика во прикажаната дистрибуција на позитивни и негативни наоди за *Aa* и *P spp*.
- После 10 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=0,97$) на дентален плак кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=0,37$) на дентален плак кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg). После 20 дена просечната вредност ($\bar{x}=0,43$) на дентален плак кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg) незначајно е помала од просечната вредност ($\bar{x}=0,47$) на дентален плак кај пациентите од првата група (100 mg doxycycline). После 1 месец просечната вредност ($\bar{x}=0,33$) на дентален плак кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=0,27$) на дентален плак кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg). После 2,5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=0,83$) на дентален плак кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg) незначајно е помала од просечната вредност ($\bar{x}=0,93$) на дентален плак кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg).

- После 10 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=0,83$) на гингивална инфламација кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=0,40$) на гингивална инфламација кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg). После 20 дена и 1 месец нема значајна разлика во просечните вредности на гингивална инфламација во двете групи. После 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=0,17$) на гингивална инфламација кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg) значајно е помала од просечната вредност ($\bar{x}=0,50$) на гингивална инфламација кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg).
- После 10 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=0,73$) на гингиворагија кај пациентите од втората група (doxycycline 100 mg) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=0,53$) на гингиворагијата кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg). После 20 дена и 1 месец од применетата терапија за $Z=0,00$ и $p>0,05(p=0,99)$ нема значајна разлика во просечните вредности на гингиворагијата во двете групи. После 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=0,97$) на гингиворагијата кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=0,37$) на гингиворагијата кај пациентите од втората група (doxycycline 2x 20 mg).
- После 10 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=3,12$ mm.) за длабочина на пародонталните џекови кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=3,03$) длабочина на пародонталните џекови кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg). После 20 дена просечната вредност ($\bar{x}=3,03$ mm.) на длабочина на пародонтален џеб кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=2,28$) длабочина на пародонтален џеб кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg). После 1 месец од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=2,57$ mm.) длабочина на пародонталните џекови кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=2,52$) длабочина на пародонталните џекови кај пациентите од втората група (doxycycline 1 x 100 mg). После 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=2,98$) длабочина на пародонталните џекови кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=2,65$) длабочина на пародонталните џекови кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg).
- После 10 дена од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=3,53$ mm.) на атачментот кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=3,38$ mm.) на атачмент кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg). После 20 дена и 1 месец од применетата терапија просечната вредност ($\bar{x}=3,48$ mm.) на атачмент кај пациентите од првата група (doxycycline 2x20 mg) незначајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=3,35$ mm.) на атачмент кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg). После 2.5 месеци просечната вредност ($\bar{x}=3,35$) на EAM кај пациентите од првата група (doxycycline 1 x 100 mg) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=2,95$) на атачмент кај пациентите од втората група (doxycycline 2x20 mg).

- Од испитуваните разлики помеѓу двете испитувани групи во однос на микробиолошкиот наод во прикажаната дистрибуција постои значајна разлика во наодите на *Aa*, *Fn*, помеѓу двете групи пациенти, за сите преостанати микроорганизми *P spp*, *St m*, *VI*, *CI* и *Pg*.
- Евидентно е континуирано и постепено намалување на вредностите на doxycycline во двата следени медиуми (гингивален цервикален флуид и плунка) во трите временски испитувани после 7, 15 и 30 дена кај испитуваната група која беше третирана со 100 mg doxycycline еднаш дневно во текот на еден месец.
- Кај групата пациенти третирани со doxycycline 2x20 mg вредностите на doxycycline нотирани во временските интервали 18,37 и 75 дена континуирано се намалуваат во гингивалниот флуид, а во плунката евидентно е лесно зголемување во 37 дена, а после 75 дена вредностите се дефинитивно намалени во однос на мерењето во 18 ден.
- Вредностите на лактат дехидрогеназа во релацијата пред третман и по третман (група на пациенти подложени на системска примена doxycycline 100 mg еднаш дневно во текот на 30 дена) покажа дека вредноста за активноста на лактат дехидрогеназа варира во GCF во интервалот $626,84 \pm 279,94$ U/L. По третманот вредноста за активност на лактат дехидрогеназа е намалена и варира во интервалот $384,75 \pm 190,12$ U/L. Активност на лактат дехидрогеназа по третманот за $t=10,85$ и $p < 0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала во однос на вредноста пред третман.
- Активност на лактат дехидрогеназа во релацијата пред и по третман (група пациенти кои примаа doxycycline два пати по 20 mg. дневно два и пол месеци) прикажа дека пред третман вредноста на лактат дехидрогеназа варира во интервалот $616,84 \pm 272,01$ U/L. а по третман вредноста на лактат дехидрогеназа варира во интервалот $278,55 \pm 177,64$ U/L. Вредноста на лактат дехидрогеназа по третманот за $Z=4,78$ и $p < 0,001$ ($p=0,000$) значајно е помала во однос на вредноста пред третман.
- Просечната вредност на активноста ($\bar{x}=384,75$ U/L) на лактат дехидрогеназа (по третман) кај пациентите од првата група (doxycycline 100 mg / 30 дена) за $Z=-2,07$ и $p < 0,05$ ($p=0,04$) значајно е поголема од просечната вредност ($\bar{x}=287,53$) на лактат дехидрогеназа (по третман) кај пациентите од втората група (doxycycline 2 x 20 mg / 2.5 месеци).
- Одредените вредности на активноста на лактат дехидрогеназата во плунка се слични, скоро идентични, откаде и разликите помеѓу двете испитувани групи се незначајни.

ЛИТЕРАТУРА





ЛИТЕРАТУРА

1. Messier C, Epifano F, Genovese S, Grenier D. Licorice and its potential beneficial effects in common oro-dental diseases. *Oral Dis* 2012;18:32-9.
2. O'Brien-Simpson NM, Veith PD, Dashper SG, Reynolds EC. Antigens of bacteria associated with periodontitis. *Periodontol* 2000 2004;35:101-34.
3. Feng Z, Weinberg A. Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues. *Periodontol* 2000 2006;40:50-76.
4. Soell M, Elkaim R, Tenenbaum H. Cathepsin C, matrix metalloproteinases, and their tissue inhibitors in gingiva and gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *J Dent Res* 2002;81:174-8.
5. Rai B, Kharb S, Jain R, Anand SC. Biomarkers of periodontitis in oral fluids. *J Oral Sci* 2008;50:53-6.
6. Lee W, Aitken S, Sodek J, McCulloch CA. Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: Role of active enzyme in human periodontitis. *J Periodontal Res* 1995;30:23-3.
7. Cobb CM. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: An evidence-based perspective of scaling and root planing. *J Clin Periodontol* 2002;29(Suppl.2):6-16.
8. Suvan JE. Effectiveness of mechanical nonsurgical pocket therapy. *Periodontol* 2000 2005;37:48-71.
9. Preshaw PM, Hefti AF, Novak MJ, Michalowicz BS, Pihlstrom BL, Schoor R, et al. Sub-antimicrobial dose doxycycline enhances the efficacy of scaling and root planing in chronic periodontitis: A multicenter trial. *J Periodontol* 2004;75:1068-76.
10. Haffajee AD, Socransky SS, Gunsolley JC. Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:115-81.
11. Slots J, Rams TE. Antibiotics in periodontal therapy: advantages and disadvantages. *J Clin Periodontol* 1990; 17:479-493.
12. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol* 1994; 2000(5):78-111.
13. Greenstein G, Polson A. The role of local drug delivery in the management of periodontal diseases. *J Periodontol* 1998; 69:507-520
14. Killoy WJ, Polson AM. Controlled local delivery of antimicrobial in the treatment of periodontitis. *Dent Clin North Am* 1998; 42:263-283
15. Offenbacher S. Periodontal diseases: Pathogenesis. *Ann Periodontol* 1996;1:821-878
16. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol* 2000 1997;14:216-48.
17. Hassell TM. Tissues and cells of the periodontium. *Periodontol* 2000 1997; 14:216-248.
18. Fullmer HM, Gibson W. Collagenolytic activity in gingivae of man. *Nature* 1966; 209:728-729.
19. Lee W, Aitken S, Kulkarni G, Birek P, Overall CM, Sodek J, McCulloch CA. Collagenase activity in recurrent periodontitis: relationship to disease progression and doxycycline therapy. *J Periodontal Res* 1991;26(6):479-85.
20. Romanelli R, Mancini S, Laschinger C, Overall CM, Sodek J, McCulloch CA. Activation of neutrophil collagenase in periodontitis. *Infect Immun* 1999;67(5):2319-26.
21. Chaturvedi TP, Srivastava R, Srivastava AK, Gupta V, Verma PK. Doxycycline poly e- The effect of adjunctive low-caprolactone nanofibers in patients with chronic periodontitis - a clinical evaluation. *J Clin Diagn Res* 2013;7(10):2339-42
22. Shehwaro N, Langlois AL, Gueutin V, Gauthier M, Casenave M, Izzedine H. Doxycycline or how to create new with the old?. *Therapie*. 2014;69(2):129-41.
23. Bezerra MM, Brito GAC, Ribeiro RA, Rocha FAC. Low-dose doxycycline prevents inflammatory bone resorption in rats. *Braz J Med Biol Res* 2002;35(5):613-616.



24. Sadaf N, Anoop B, Dakshina B, Shweta B. Evaluation of efficacy of tetracycline fibers in conjunction with scaling and root planing in patients with chronic periodontitis. *J Indian Soc Periodontol*. 2012;16(3):392-7
25. Slots J, Rosling BG. Suppression of periodontopathic microflora in localized juvenile periodontitis by systemic tetracycline. *J Clin Periodontol* 1983;10:465-486
26. Golub LM, Ciancio S, Ramamurthy NS, Leung M, McNamara TF. Low-dose doxycycline therapy: effect on gingival and crevicular fluid collagenase activity in humans. *J Periodontol Res* 1990; 25:321-330
27. Golub LM, Sorsa T, Lee HM, Ciancio S, Sorbi D, Ramamurthy NS, Gruber B, Salo T, Kontinen YT. Doxycycline inhibits neutrophil (PMN) – type matrix metalloproteinases in human adult periodontitis gingival. *J Clin Periodontol* 1995; 22:100-109.
28. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. 1995. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49:711-745.
29. Akalin FA, Baltacıoglu E, Sengün D, Hekimoglu S, Taskin M, Etikan I, Fisenk I. A comparative evaluation of the clinical effects of systemic and local doxycycline in the treatment of chronic periodontitis. *Journal of Oral Science* 2004;6(1):25-35.
30. Maezono H, Y. Noiri Y, Asahi Y, Yamaguchi M, Yamamoto R, Izutani N, Azakami H, Ebisu S. Antibiofilm Effects of Azithromycin and Erythromycin on *Porphyromonas gingivalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55(12):5887-92.
31. Kucers A, Crowe SM, Grayson ML, Hoy JF. The use of antibiotics. A clinical review of antibacterial, antifungal and antiviral drugs. 5th ed, Butterworth-Heinemann, Oxford, 1997; 719-762.
32. Listgarten MA, Lindhe J, Hellden L. Effect of tetracycline and/or scaling on human periodontal disease. Clinical, microbiological and histopathological observations. *J Clin Periodontol* 1978;5: 246-271.
33. Scopp IW, Froum SJ, Sullivan M, Kazandjian G, Wank D, Fine A. Tetracycline: a clinical study to determine its effectiveness as long-term adjuvant. *J Periodontol* 1980;51:328-330.
34. Lindhe J, Heijl L, Goodson JM, Socransky SS. Local tetracycline delivery using hollow fiber devices in periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1979;6:141-149.
35. Moskow BS. Repair of extensive periodontal defect after tetracycline administration. *J Periodontol* 1986;57:29-34.
36. Mattout P, Moskow BS, Fourel J. Repair potential in localized juvenile periodontitis. A case in point. *J Periodontol* 1990; 61:653-660.
37. Ichimiya T et al. The influence of azithromycin on the biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* *in vitro*. *Chemotherapy* 1996;42:186-191.
38. Starner TD, Shrout JD, Parsek MR, Appelbaum PC, Kim C. Subinhibitory concentrations of azithromycin decrease nontypeable *Haemophilus influenzae* biofilm formation and diminish established biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother* 2008 52:137-145.
39. Kolenbrander PE. Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. *Annu Rev Microbiol* 2000;54:413-437.
40. Gomi K et al. Effects of full-mouth scaling and root planing in conjunction with systemically administered azithromycin. *J Periodontol* 2007;78:422-429.
41. Lo Bue AM, Rossetti B, Cali G, Nicoletti G, Condorelli F. Antimicrobial interference of a sub-inhibitory concentration of azithromycin on fimbrial production of *Porphyromonas gingivalis*. *J Antimicrob Chemother* 1997;40:653-657.
42. Tamura A, Ara T, Imamura Y, Fujii T, Wang PL. The effects of antibiotics on *in vitro* biofilm model of periodontal disease. *Eur J Med Res* 2008; 13:439-445.
43. Slots J. Systemic antibiotics in periodontics. *J Periodontol* 2004; 75: 1553-65.
44. Mandell RL, Tripodi LS, Savitt E, Goodson JM, Socransky SS. The effect of treatment on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in localized juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1986; 57: 94-9.
45. Akincibay H, Orsal SO, Sengün D, Tozum TF. Systemic administration of doxycycline versus metronidazole plus amoxicillin in the treatment of localized aggressive periodontitis: a clinical and microbiologic study. *Quintessence Int* 2008; 39: e33-9.

46. van Winkelhoff AJ, Rodenburg JP, Goene RJ, Abbas F, Winkel EG, de Graaff J. Metronidazole plus amoxicillin in the treatment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated periodontitis. *J Clin Periodontol* 1989; 16: 128-31.
47. Rooney J, Wade WG, Sprague SV, Newcombe RG, Addy M. Adjunctive effects to non-surgical periodontal therapy of systemic metronidazole and amoxicillin alone and combined. A placebo controlled study. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 342-50.
48. Winkel EG, Van Winkelhoff AJ, Timmerman MF, Van der Velden U, Van der Weijden GA. Amoxicillin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis patients. A double-blind placebo-controlled study. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 296-305.
49. Sigusch B, Beier M, Klünger G, Pfister W, Glockmann E. A 2-step non-surgical procedure and systemic antibiotics in the treatment of rapidly progressive periodontitis. *J Periodontol* 2001; 72: 275-83.
50. Kunthira DM, Caine FA, Palcanis KG, Best AM, Ranney RR. A clinical trial of phenoxymethyl penicillin for adjunctive treatment of juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1985; 56: 352-8.
51. Saxen L, Asikainen S. Metronidazole in the treatment of localized juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* 1993; 20: 166-71.
52. Noyan U, Yilmaz S, Kuru B, Kadir T, Acar O, Buget E. A clinical and microbiological evaluation of systemic and local metronidazole delivery in adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 158-65.
53. Golub LM, Lee HM, Stoner JA, Reinhardt RA, Sorsa T, Goren AD, Payne JB
54. Doxycycline effects on serum bone biomarkers in post-menopausal women. *J Dent Res* 2010; 89(6):644-9 Payne JB, Golub LM, Stoner JA, Lee HM, Reinhardt RA, Sorsa T, Slepian MJ. The effect of subantimicrobial-dose-doxycycline periodontal therapy on serum biomarkers of systemic inflammation: a randomized, double-masked, placebo-controlled clinical trial. *J Am Dent Assoc* 2011;142(3):262-73.
55. Golub LM, Lee HM, Greenwald RA, Ryan ME, Sorsa T, Salo T, Giannobile WV. A matrix metalloproteinase inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival crevicular fluid during adult periodontitis. *Inflamm Res* 1997;46(8):310-9
56. Crout RJ, Lee HM, Schroeder K, Crout H, Ramamurthy NS, Wiener M, Golub LM The "cyclic" regimen of low-dose doxycycline for adult periodontitis: a preliminary study. *J Periodontol* 1996;67(5):506-14.
57. Caton JC, Ciancio SG, Blieden TM, Bradshaw M, Crout RJ, Hefti AF, Massaro JM, Polson AM, Subantimicrobial dose doxycycline as an adjunct to scaling and root planing: post-treatment effects. *J Clin Periodontol* 2001;28(8):782-9
58. Walker C, Thomas J, Nangó S, Lennon J, Wetzel J, Powala C. Long-term treatment with subantimicrobial dose doxycycline exerts no antibacterial effect on the subgingival microflora associated with adult periodontitis. *J Periodontol* 2000; 71(9):1465-71
59. Skidmore R, Kovach R, Walker C, Thomas J, Bradshaw M, Leyden J, Powala C, Ashley R. Effects of subantimicrobial-dose doxycycline in the treatment of moderate acne. *Arch Dermatol* 2003;139(4):459-64
60. Sookkhee S, Chulasiri M, Prachyabrued W. Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of Thai volunteers: inhibition of oral pathogens. *J Appl Microbiol* 2001;90:172-79.
61. Slots J, Ting M. Systemic antibiotics in the treatment of periodontal disease. *Periodontol* 2000 2002;28:106-76.
62. Ellen RP, McCulloch CA. Evidence versus empiricism: Rational use of systemic antimicrobial agents for treatment of periodontitis. *Periodontol* 2000 1996;10:29-44.
63. van Winkelhoff AJ, Rams TE, Slots J. Systemic antibiotic therapy in periodontics. *Periodontol* 2000 1996;10:45-78.
64. Joikovskiy DL, Ciancio S. Chemotherapeutic agents. In: Carranza FA, Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, editors. *Clinical periodontology*. 10th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2006. pp. 798-812.
65. Ağan S, Sönmez S, Serdar M. The effect of topical doxycycline usage on gingival crevicular fluid MMP-8 levels of chronic and aggressive periodontitis patients: a pilot study. *Int J Dent Hyg*. 2006;4(3):114-21.
66. Oettinger-Barak O, Dashper SG, Catmull DV, Adams GG, Sela MN, Machtei EE, Reynolds EC. Antibiotic susceptibility of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* JP2 in a biofilm. *J Oral Microbiol* 2013;5.

67. van Winkelhoff AJ, Tijnhof CJ, de Graaff J. Microbiological and clinical results of metronidazole plus amoxicillin therapy in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. *J Periodontol* 1992; 63: 52-7.
68. Walker C, Karpinia K. Rationale for use of antibiotics in periodontics. *J Periodontol* 2002; 73: 1188-96.
69. Pavicic MJ, van Winkelhoff AJ, Pavicic-Temming YA, de Graaff J. Amoxicillin causes an enhanced uptake of metronidazole in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: a mechanism of synergy. *J Antimicrob Chemother* 1994; 34: 1047-50.
70. Ardila CM, Lopez MA, Guzman IC. High resistance against clindamycin, metronidazole and amoxicillin in *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* isolates of periodontal disease. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2010; 15:947-51.
71. Christersson LA, Zambon JJ. Suppression of subgingival *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in localized juvenile periodontitis by systemic tetracycline. *J Clin Periodontol* 1993;20(6):395-401
72. Novak MJ, Polson AM, Adair SM. Tetracycline therapy in patients with early juvenile periodontitis. *J Periodontol*. 1988;59(6):366-72.
73. Rams TE, Keyes PH, Wright WE, Howard SA (1985) Long-term effect of microbiologically modulated periodontal therapy on advanced adult periodontitis. *J AmDent Assoc* 1985; 111, 429-441.
74. Goodson JM, Hogan PE, Dunham SL. Clinical responses following periodontal treatment by local drug delivery. *J Periodontol* 1985;56(11 Suppl):81-7
75. Goodson JM, Cugini MA, Kent RL, Armitage GC, Cobb CM, Fine D, Fritz ME, Green E, Imoberdorf MJ, Killoy WJ, et al. Multicenter evaluation of tetracycline fiber therapy: I. Experimental design, methods, and baseline data. *J Periodontal Res*. 1991;26(4):361-70.
76. Polson AM, Garrett S, Stoller NH, Bandt CL, Hanes PJ, Killoy WJ, Harrold CQ, Southard GL, Duke SP. Multi-center comparative evaluation of subgingivally delivered sanguinarine and doxycycline in the treatment of periodontitis. I. Study design, procedures, and management. *J Periodontol* 1997;68(2):110-18.
77. Polson AM, Garrett S, Stoller NH, Bandt CL, Hanes PJ, Killoy WJ, Southard GL, Duke SP, Bogle GC, Drisko CH, Friesen LR. Multi-center comparative evaluation of subgingivally delivered sanguinarine and doxycycline in the treatment of periodontitis. II. Clinical results. *J Periodontol* 1997;68(2):119-26
78. Westergaard J, Fiehn NE, Larsen T. Use of antibiotics for the treatment of marginal periodontitis. *Tandlaegebladet* 1991;95(14):641-9.
79. Newman MG, Kornman KS, Doherty FM. A 6-month multi-center evaluation of adjunctive tetracycline fiber therapy used in conjunction with scaling and root planing in maintenance patients: clinical results. *J Periodontol*, 1994;65(7):685-91.
80. Sanz M, Serrano C, Garcia C, Echevarria C, O'Connor A. Clinical and microbiological efficacy of tetracycline fiber therapy in relapsing periodontal sites during supportive periodontal therapy. *J Dent Res* 1997;76:153.
81. Sanz M, Serrano C, Garcia C, Echevarria C, O'Connor A. The use of tetracycline-containing controlled-release fibers in the treatment of refractory periodontitis. *J Periodontol* 1997; 68(4):353-61.
82. Lindhe J, Liljenberg B, Adielsson B. Effect of long-term tetracycline therapy on human periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1983;10(6):590-601.
83. Goodson JM, Cugini MA. Comparative response of mobile teeth following monolithic fiber therapy of scaling. *J Dent Res* 1988;67:208.
84. Caton JG, Ciancio SG, Blieden TM, Bradshaw M, Crout RJ, Hefti AF, Massaro JM, Polson AM, Thomas J, Walker C. Treatment with subantimicrobial dose doxycycline improves the efficacy of scaling and root planing in patients with adult periodontitis. *J Periodontol*. 2000;71(4):521-32.
85. Drisko CL, Bray KS, Hardman P, Raptley J, Killoy WJ, Leroux B, Zhu C. Efficacy of sustained release metronidazole discs in adult periodontitis. *J Dent Res* 1993;72:360.
86. Purucker P, Mertes H, Goodson JM, Bernimoulin JP. Local versus systemic adjunctive antibiotic therapy in 28 patients with generalized aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2001 ;72(9):1241-5.

87. Baker PJ, Evans RT, Coburn RA, Genco RJ. Tetracycline and its derivatives strongly bind to and are released from the tooth surface in active form. *J Periodontol* 1983;54(10):580-5.
88. Bostanci N, Akgül B, Tsakanika V, Allaker RP, Hughes FJ, McKay IJ. Effects of low-dose doxycycline on cytokine secretion in human monocytes stimulated with *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Cytokine* 2011;56(3):656-61.
89. Emingil G, Gürkan A, Atilla G, Berdeli A, Cinarcik S. Adjunctive low-dose doxycycline therapy effect on clinical parameters and gingival crevicular fluid tissue plasminogen activator levels in chronic periodontitis. *Inflamm Res* 2006;55(12):550-8.
90. Górska R, Nedzi-Góra M. The effects of the initial treatment phase and of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and MMP-8, MMP-9, and TIMP-1 levels in the saliva and peripheral blood of patients with chronic periodontitis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2006;54(6):419-26.
91. Emingil G, Atilla G, Sorsa T, Savolainen P, Baylas H. Effectiveness of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and gingival crevicular fluid laminin-5 gamma2 chain levels in chronic periodontitis. *J Periodontol* 2004;75(10):1387-96.
92. Alptekin NO, Kurtoglu F, Serpek B, Duran I, Gözütü M. Effects on the clinical indices and gingival crevicular fluid enzyme activities of the cyclical regimen of low-dose doxycycline therapy for adult periodontitis. *J Int Acad Periodontol*. 2000;2(1):3-8.
93. Buduneli E, Buduneli N, Vardar-Sengül S, Kardeşler L, Atilla G, Lappin D, Kinane DF. Systemic low-dose doxycycline and alendronate administration and serum interleukin-1beta, osteocalcin, and C-reactive protein levels in rats. *J Periodontol* 2005;76(11):1927-33.
94. Ahuja A, C. S. Baiju CS, Ahuja V. Role of antibiotics in generalized aggressive periodontitis: A review of clinical trials in humans. *J Indian Soc Periodontol* 2012; 16(3): 317-323.
95. Chaturvedi TP, Srivastava R, Srivastava AK, Gupta V, Verma PK. Evaluation of metronidazole nanofibers in patients with chronic periodontitis: A clinical study. *Int J Pharma Investig* 2012;2:213-217.
96. Ahuja A, Ali J, Rahman S. Biodegradable periodontal intrapocket device containing metronidazole and amoxicillin: formulation and characterization. *Pharmazie* 2006;61:25-29.
97. Farhad SZ, Aminzadeh A², Mafi M¹, Barekatalin M³, Naghney M¹, Ghafari MR¹. The effect of adjunctive low-dose doxycycline and licorice therapy on gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels in chronic periodontitis. *Dent Res J (Isfahan)*. 2013; 10(5):624-9.
98. Engebretson SP, Judith Hey-Hadavi J. Sub-antimicrobial Doxycycline for Periodontitis Reduces Hemoglobin A1c in Subjects with Type 2 Diabetes: a Pilot Study. *Pharmacol Res* 2011; 64(6): 624-629.
99. Koss M, Castro S, Lopez M. Enzymatic Profile of Gingival Crevicular Fluid in Association with Periodontal Status, *Lab Med* 2009; 40 (5): 277-280.
100. Vienneau DS, Kindberg CG. Development and validation of a sensitive method for tetracycline in gingival crevicular fluid by HPLC using fluorescence detection, *J. Pharm. Biomed Anal* 1997;16: 111-117.
101. Socransky S S. Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease, *Journal of Dental Research* 1970; 49(2):203-222.
102. Socransky SS, Haffajee AD. Microbial mechanisms in the pathogenesis of destructive periodontal diseases: a critical assessment, *Journal of Periodontol Research*, 1991; 26(3):195-212.
103. Golub LM, McNamara TF, Ryan ME. Adjunctive treatment with subantimicrobial doses of doxycycline: effects on gingival fluid collagenase activity and attachment loss in adult periodontitis, *Journal of Clinical Periodontology*, 2001; 28(2):146-156.
104. Mohammad A R, Preshaw PM, Bradshaw MH, Hefti AF, Powala CV, Romanowicz M. Adjunctive subantimicrobial dose doxycycline in the management of institutionalised geriatric patients with chronic periodontitis. *Gerodontology*, 2005; 22(1):37-43.
105. Caton J, Ryan ME. Clinical studies on the management of periodontal diseases utilizing subantimicrobial dose doxycycline (SDD), *Pharmacological Research* 2011; 63(2):114-120.
106. Slots J, Ting M. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in human periodontal disease: occurrence and treatment, *Periodontology* 2000, 1999;20(1): 82-121.
107. AAP—American Association of Periodontology, "Parameter on "refractory" periodontitis, *Journal of Periodontology*, 2000;71(5), suppl: 859-860.

108. Bidault P, Chandad F, Grenier D. Systemic antibiotic therapy in the treatment of periodontitis, *Journal of the Canadian Dental Association*, 2007; 73(6):515–520.
109. Matesanz-Pérez P, García-Gargallo M, Figuera E, Bascones-Martínez A, Sanz M, Herrera D. A systematic review on the effects of local antimicrobials as adjuncts to subgingival debridement, compared with subgingival debridement alone, in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2013;40(3):227–41.
110. Baumer A, Sayed N, El Kim TS, Reitmeir P, Eickholz P, Pretzl B. Patient-related risk factors for tooth loss in aggressive periodontitis after active periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology*, 2011; 38(4):347–354.
111. Berglundh T, Liljenberg B, Lindhe J. Some cytokine profiles of T-helper cells in lesions of advanced periodontitis, *Journal of Clinical Periodontology* 2002; 29(8):705–709.
112. Feres M, Haffajee AD, Allard K, Som S, Socransky SS. Change in subgingival microbial profiles in adult periodontitis subjects receiving either systemically-administered amoxicillin or metronidazole. *Journal of Clinical Periodontology* 2001;28(7): 597–609.
113. Walter C, Kulik EM, Weiger R, Zitzmann NU, Waltimo T. Additive or synergistic antimicrobial effects of amoxicillin and metronidazole on whole plaque samples: a preliminary report. *Journal of the International Academy of Periodontology*, 2011;13(1):11–16.
114. Gu Y, Lee HM, Sorsa T. Non-antibacterial tetracyclines modulate mediators of periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: a mechanistic link between local and systemic inflammation," *Pharmacological Research*, 2011; 64(6): 573–579,
115. Kotsilkov K, Popova Chr. Effectiveness of target antimicrobial therapy of severe chronic periodontitis part III. Clinical attachment gain," *Journal Of IMAB* 2010;16(4): 24–26.
116. Golub M, McNamara TF, D'Angelo G, Greenwald R A, Ramamurthy NS. A non-antibacterial chemically modified tetracycline inhibits mammalian collagenase activity *Journal of Dental Research* 1987;66(8):1310–1314.
117. Thomas JG, Metheny RJ, Karakiozis JM, Wetzel JM, Crout RJ. Long-term sub-antimicrobial doxycycline (Periostat) as adjunctive management in adult periodontitis: effects on subgingival bacterial population dynamics. *Adv Dent Res*. 1998 Nov;12(2):32–9
118. Novak MJ, Johns LP, Miller RC, Bradshaw MH. Adjunctive benefits of subantimicrobial dose doxycycline in the management of severe, generalized, chronic periodontitis, *Journal of Periodontology*, 2002;73(7):762–769.
119. Preshaw PM, Novak MJ, Mellonig J. Modified release subantimicrobial dose doxycycline enhances scaling and root planing in subjects with periodontal disease," *Journal of Periodontology*, 2008; 79(3):440–452.
120. Garrett S, Adams GF, Bogle G, Donly K, Drisko CH, Hallmon WW, et al. The effect of locally delivered controlled release doxycycline or scaling and root planing on periodontal maintenance patients over 9 months. *J Periodontol*. 2000; 71: 22–30.
121. Promsudthi A, Pimapsri S, Deerochanawong C, Kanchanasita W. The effect of periodontal therapy on uncontrolled type 2 diabetes mellitus in older subjects. *Oral Dis*. 2005;11:293–298
122. O'Connell PA, Taba M, Nomizo A, Foss Freitas MC, Suaid FA, Ujemura SA, et al. Effects of periodontal therapy on glycemic control and inflammatory markers. *J Periodontol*. 2008;79:774–783.
123. Kiran M, Arpak N, Unsal E, Erdogan MF. The effect of improved periodontal health on metabolic control in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol*. 2005;32:266–272.
124. Llambes F, Silvestre FJ, Hernandez-Mijares A, Guiha R, Caffesse R. Effect of non-surgical periodontal treatment with or without doxycycline on the periodontium of type 1 diabetic patients. *J Clin Periodontol*. 2005;32:915–920.
125. Grossi SG, Skrepctnski FB, DeCaro T, Robertson DC, Ho AW, Dunford RG, et al. Treatment of periodontal disease in diabetics reduces glycated hemoglobin. *J Periodontol*. 1997;68:713–719.
126. Sorsa T, Ingman T, Suomalainen K, Halinen S, Saari H, Kontinen YT, et al. Cellular source and tetracycline-inhibition of gingival crevicular fluid collagenase of patients with labile diabetes mellitus. *J Clin Periodontol*. 1992;19:146–149.
127. Koromantzou PA, Makrilakis K, Dereka X, Offenbacher S, Katsilambros N, Vrotsos IA, et al. Effect of non-surgical periodontal therapy on C-reactive protein, oxidative stress, and matrix metalloproteinase (MMP)-9 and MMP-2 levels in patients with type 2 diabetes: a randomized controlled study. *J Periodontol*. 2012;83:3–10.

128. Rodrigues DC, Taba MJ, Novaes AB, Souza SL, Grisi MF. Effect of non-surgical periodontal therapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Periodontol.* 2003;74:1361-1367.
129. Lindy O, Kontinen YT, Suomalainen K, Ingman T, Saari H, et al. Doxycycline in the protection of serum alpha-1-antitrypsin from human neutrophil collagenase and gelatinase. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37:592-594.
130. Hanemaaijer R, Visser H, Koolwijk P, Sorsa T, Salo T, Golub LM, et al. Inhibition of MMP synthesis by doxycycline and chemically modified tetracyclines (CMTs) in human endothelial cells. *Adv Dent Res.* 1998;12:114-118.
131. Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA(1c): analysis of glucose profiles and HbA(1c) in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care.* 2002;25:275-278.
132. Teles RP, Haffajee AD, Socransky SS. Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontology* 2000, 2006; 42(1):180-218.
133. Herrera D, Sanz M, Jepsen S, Needleman I, Rold'an S. A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology*, 2002; 29(3):136-159.
134. Guerrero A, Griffiths GS, Nibali L. Adjunctive benefits of systemic amoxicillin and metronidazole in nonsurgical treatment of generalized aggressive periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial, *Journal of Clinical Periodontology*, 2005;32(10): 1096-1107.
135. Buchmann R, Nunn ME, Van Dyke TE, Lange DE. Aggressive periodontitis: 5-year follow-up of treatment, *Journal of Periodontology*, 2002; 73(6): 675-683.
136. Beikler T, Prior K, Ehmke B, Flemmig TF. Specific antibiotics in the treatment of periodontitis—a proposed strategy. *J Periodontol.* 2004;75(1):169-75
137. Reinhardt RA, Stoner JA, Golub LM. Efficacy of sub-antimicrobial dose doxycycline in post-menopausal women: clinical outcomes. *Journal of Clinical Periodontology*, 2007; 34(9):768-775.
138. Lindhe J, Palmer R. Group C summary *Journal of Clinical Periodontology*, 2000; 29(3): 160-162.
139. Payne JB, Stoner J A, Nummikoski PV. Subantimicrobial dose doxycycline effects on alveolar bone loss in postmenopausal women. *Journal of Clinical Periodontology*, 2007;34(9):776-787.
140. Payne JB, Golub LM. Using tetracyclines to treat osteoporotic/osteopenic bone loss: from the basic science laboratory to the clinic, *Pharmacological Research*, 2011; 63(2):121-129.
141. Sgolastra F, Petrucci A, Catto R, Giannoni M, Monaco A. Long-term efficacy of subantimicrobial-dose doxycycline as an adjunctive treatment to scaling and root planing: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol.* 2011;82(11):1570-81.
142. Albandar JM. Adjunctive antibiotics with nonsurgical periodontal therapy improve the clinical outcome of chronic periodontitis in current smokers. *J Evid Based Dent Pract.* 2012 Sep;12(3 Suppl):63-6.
143. Angaji M, Gelskey S, Nogueira-Filho G, Brothwell D. A systematic review of clinical efficacy of adjunctive antibiotics in the treatment of smokers with periodontitis. *J Periodontol.* 2010;81(11):1518-28.
144. Machion L, Andia DC, Saito D, Klein MI, Gonçalves RB, Casati MZ, Nociti FH Jr, Sallum EA. Microbiological changes with the use of locally delivered doxycycline in the periodontal treatment of smokers. *J Periodontol.* 2004;75(12):1600-4.
145. Shaddox M L, Andia DC, Casati MZ, Nociti FH Jr, Sallum EA, Collwitzer J, Walker CB. Microbiologic changes following administration of locally delivered doxycycline in smokers: a 15-month follow-up. *J Periodontol.* 2007;78(11):2143-9.
146. Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2001;65:232-60.
147. Patil V, Mali R, Mali A. Systemic anti-microbial agents used in periodontal therapy. *J Indian Soc Periodontol.* 2013;17(2): 162-168.
148. Sakkelari D, Goodson JM, Kolokotronis A. Concentration of 3 tetracyclines in plasma, GCF and Saliva. *J Clin Periodontol.* 2000;27:53-60.
149. Sorsa T, Saari H, Kontinen YT. Human neutrophil collagenase and oxygen derived free radicals. *New Engl J Med.* 1989;321:327-8.

150. Tüter G, Kurtiş B, Serdar M, Aykan T, Okyay K, Yücel A, Toyman U, Pinar S, Cemri M, Cengel A, Walker SG, Golub LM. Effects of scaling and root planing and sub-antimicrobial dose doxycycline on oral and systemic biomarkers of disease in patients with both chronic periodontitis and coronary artery disease. *J Clin Periodontol.* 2007 Aug;34(8):673-81.
151. Takahashi N, Ishihara K, Kimizuka R, Okuda K, Kato T. The effects of tetracycline, minocycline, doxycycline and ofloxacin on *Prevotella intermedia* biofilm. *Oral Microbiol Immunol.* 2006;21(6):366-71.
152. Müller HP, Holderrieth S, Burkhardt U, Höfler U. In vitro antimicrobial susceptibility of oral strains of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to seven antibiotics. *J Clin Periodontol.* 2002; 29(8):736-42.
153. Ciancio SG. Systemic medications: clinical significance in periodontics. *J Clin Periodontol.* 2002; 29 Suppl 2:17-21.
154. Walker C. The supplemental use of antibiotics in periodontal therapy. *Compend Contin Educ Dent.* 1999;20(4 Suppl):4-12; quiz 34.
155. Feres M, Haffajee AD, Goncalves C, Allard KA, Som S, Smith C, Goodson JM, Socransky SS. Systemic doxycycline administration in the treatment of periodontal infections (II). Effect on antibiotic resistance of subgingival species. *J Clin Periodontol.* 1999;26(12):784-92.
156. Feres M, Haffajee AD, Goncalves C, Allard KA, Som S, Smith C, Goodson JM, Socransky SS. Systemic doxycycline administration in the treatment of periodontal infections (I). Effect on the subgingival microbiota. *J Clin Periodontol.* 1999;26(12):775-83.
157. Ng K. & Linder S, HPLC separation of tetracycline analogues: comparison study of Laser-based polarimetric detection with UV detection, *J Chrom Sci*, 2003; 41: 460-466.
158. Denic M, Sunaric S, Kesic L, Minic I, Obradovic R, Denic M, Petrovic M. Rp-HPLC assay of doxycycline in human saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontal disease. *J Pharm Biomed Anal.* 2013;78-79: 170-175.
159. Skúlason S, Ingólfsson E, Kristmundsdóttir T. Development of a simple HPLC method for separation of doxycycline and its degradation products. *J Pharm Biomed Anal.* 2003;33(4):667-72.
160. Kim TS, Lee SH, Eickholz P, Zimmer H, Kim CK. Systemic detection of doxycycline after local administration, *Acta Odontol Scan*, 2009; 67: 289-296.
161. Andersson C.R., Rupp W.S., Wu W.S., Complexities in tetracycline analysis—chemistry, matrix extraction, clean-up, and liquid chromatography, *J. Chrom A*, 2005;1075: 23-32.
162. Lavda M, Clausnitzer CE, Walters JD. Distribution of systemic ciprofloxacin and doxycycline to gingiva and gingival crevicular fluid. *J Periodontol.* 2004;75(12):1663-7.
163. Yang Q, Nakkula RJ, Walters JD. Accumulation of ciprofloxacin and minocycline by cultured human gingival fibroblasts. *J Dent Res.* 2002;81:836-840.
164. Schroeder HE, Listgarten MA. The gingival tissues: The architecture of periodontal protection. *Periodontol 2000.* 1997;13:91-120.
165. Gordon JM, Walker CB, Murphy JC, Goodson JM, Socransky SS. Concentration of tetracycline in human gingival fluid after single doses. *J Clin Periodontol.* 1981;8:117-121.
166. Pascale D, Gordon J, Lamster I, Mann P, Seiger M, Arndt W. Concentration of doxycycline in human gingival fluid. *J Clin Periodontol.* 1986;13:841-844.
167. Ciancio SG, Mather ML, McMullen J. An evaluation of minocycline in patients with periodontal disease. *J Periodontol.* 1980;51:530-534.
168. Conway TB, Beck FM, Walters JD. Gingival fluid ciprofloxacin levels at healthy and inflamed human periodontal sites. *J Periodontol.* 2007;71:1448-1452.