

В О В Е Д

Пародонталната болест се дефинира како хроничен инфламаторен процес кој ги опфаќа забнопотпорните ткивни структури, а се карактеризира со полиморфна клиничка слика.

Афекцијата на пародонталниот комплекс се карактеризира со губиток на периодонталниот лигамент следени со фаза на ремисија и егзацербација. Овој процес доколку болеста не се лекува, порано или подоцна завршува со деструкција на пародонталните ткива и губиток на забите.

Научните сознанија за етиопатогенезата на пародонталната болест значајно се променети во последните неколку децении. Познато е присуството на патогените микроорганизми и нивниот дисбаланс со имунолошкиот одговор на домаќинот како важен услов за појавата на клиничките знаци и симптоми на пародонталната болест.

Постојат многу докази потврдени и емпириски и експериментално кои укажуваат дека развојот на пародонталната болест зависи и од голем број на ризик фактори.

Денес се повеќе се обрнува внимание на ефектите од пушењето, на хормоналниот дисбаланс, генетската предиспозиција, системските заболување за кои се верува дека го модифицираат одговорот на пародонтот кон пародонтопатогените. Многу автори се занимаваат со проучувањето на имунолошкиот одговор на пародонтот зафатен со пародонталната деструкција Димитровски (20), Поповска (65), имунохистолошките, биохемиските процеси Накова (59), Белазелкоска (4), Симоновски (73) .

Во поново време литературните податоци говорат за се поголемата инволвираност на слободните радикали во етиопатогенетските механизми во иницијацијата и прогресијата на пародонталната болест.

Кога Mc.CordKelle и Fridovich го откриле ензимот супероксид дисмутаза кој ја катализира разградбата на супероксидниот анјон создаден при унивалентната редукција на кислородот почнува историјата на слободните радикали, Chapple (11).

Иако кислородот е од витално значење за животот тој истовремено може да придонесе за појавата на многу заболувања и за забрзано стареење на организмот.

Кога кислородот се метаболизира или согорува во организмот се создава и парцијално редуциран кислород при што клетките создаваат одредени продукти познати како слободни радикали. Овие радикали потоа минуваат низ клетката оштетувајќи ја нејзината структура, истовремено причинувајќи клеточно оштетување (18).

Слободните радикали учествуваат во патогенезата на повеќе заболувања вклучувајќи го акутниот ревматоиден артрит, атеросклерозата, СИДА-та, пародонталната болест и други, Ames и Shigenaga (1).

Слободните радикали се високо реактивни транзиторни хемиски супстанции (атом, јон или молекули) кои во својата структура имаат еден или повеќе неспарени електрони, Halliwell (32). Еднаш создаден слободниот радикал може да предизвика низа верижни реакции, а потоа да реагира со други помалку реактивни молекули. Оваа верижна реакција се прекинува со дејството на неензимските антиоксиданси и ензимските механизми, Cochrane (15).

Заради присуството на неспарени електрони во својата структура слободните радикали се извонредно реактивни молекули и реагираат со различни биомолекули; протеини, липиди, липопротеини и др. Во текот на таа реакција доаѓа до оксидација на биомолекулите и нивно оштетување. На овој начин можат да бидат оштетени различни биолошки структури: сидовите на крвните садови, клеточните мембрани, DNK во јадрото. Во човечкиот организам се врши продукција на слободните радикали, дури и во текот на физиолошките процеси кои се одвиваат во клетките: оксидативната фосфорилација во митохондриите, фагоцитозата, биотрансформацијата на материите во ендоплазматскиот ретикулум и оксидоредуктивните процеси во присуство на метали. Но, освен во физиолошки услови овие високореактивни молекули можат да настанат и при ултравиолетово зрачење, радијација, пушење, загадување на животната средина, користењето на анестетици, аналгетици и цитостатици.

Најпознати се слободните радикали на кислородот: O_2^- - супероксидниот анјон; HOO^- - перхидроксилниот радикал; $H_2O_2^-$ - водород пероксид, OH^- - хидроксилен радикал и др.

Еднаш создадени слободните радикали можат да реагираат меѓу себе, што е најповолен, но воедно и најмалку веројатен исход, со оглед на нивниот краток живот. Доколку продукцијата на слободните радикали е во физиолошки рамки

тогаш антиоксидативниот систем на организмот ги врзува за себе, формирајќи реактивно стабилни соединенија.

Меѓутоа, кога продукцијата е зголемена или кога антиоксидативниот систем во организмот е истрошен (малнутриција, диети, зголемена физичка активност) тогаш зголеменото присуство на слободни радикали ќе придвижи верижна реакција на создавање на се поголем број на слободни радикали кои можат да бидат и пореактивни од иницијалниот. Ваквата верижна реакција тече се додека не ја прекине некој од антиоксидативните механизми во организмот.

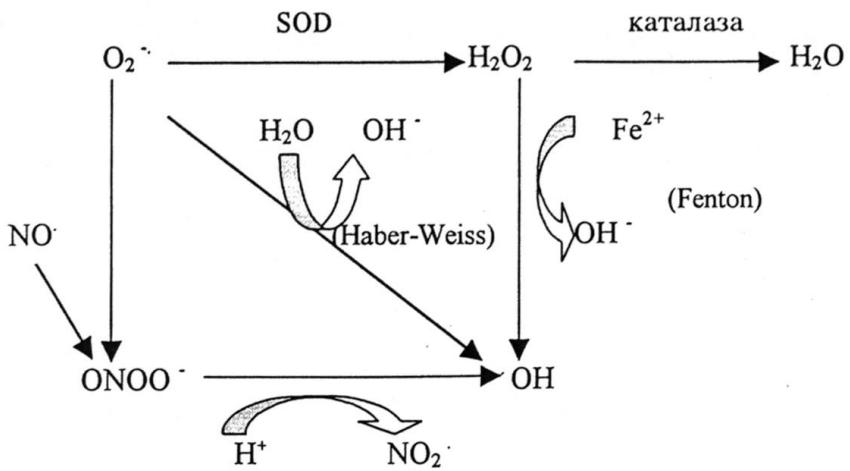
Повеќето испитувања се насочени кон слободните радикали со хидроксилни и супероксидни групи, кои се најважни за ткивното оштетување.

Нестабилниот супероксиден радикал ја уништува клетката и предизвкува нејзино стареење и апоптоза, Chapple (12). Заедно со хидроксилниот радикал тие предизвикуваат супресија на гените, кои се одговорни за регулација на делбата на клетката.

Зголемената продукција на овие радикали може да биде поврзана со зголемената активност на инфламаторните клетки и полиморфонуклеарните леукоцити (PMNL) присутни во епителот на гингивата при агресивните и хроничните форми на пародонтопатија, Kowashi и спр. (51).

Под дејство на бактериските антигени PMN леукоцити продуцираат супероксиден радикал со редукција на NADPH оксидаза (никотин амид динуклеотид фосфат) во текот на фагоцитната активност, Del maestro (19). Овој ензим е карактеристичен за хроничните грануломатозни заболувања, Curnette & Babior (17) каде што неутрофилите ги опфаќаат опсонираните бактерии и стануваат неспособни да ги отстранат.

Под дејство на ензимот супероксид дисмутаза (СОД) супероксидниот анјон се отстранува од ткивото и се трансформира во водороден пероксид, кој е присутен во мали количини во екстрацелуларната средина. Во присуство на каталазата водородниот пероксид се претвора во помалку штетни молекули на вода и кислород. Тогаш се создава хидроксилниот радикал со присуство на метални јони Fe и Cu - Fenton реакција, Sutton и спр.(77). Од друга страна, кога дејството на ензимот СОД е намалено хидроксилниот радикал повторно се создава преку Heber-Weiss-овата реакција.

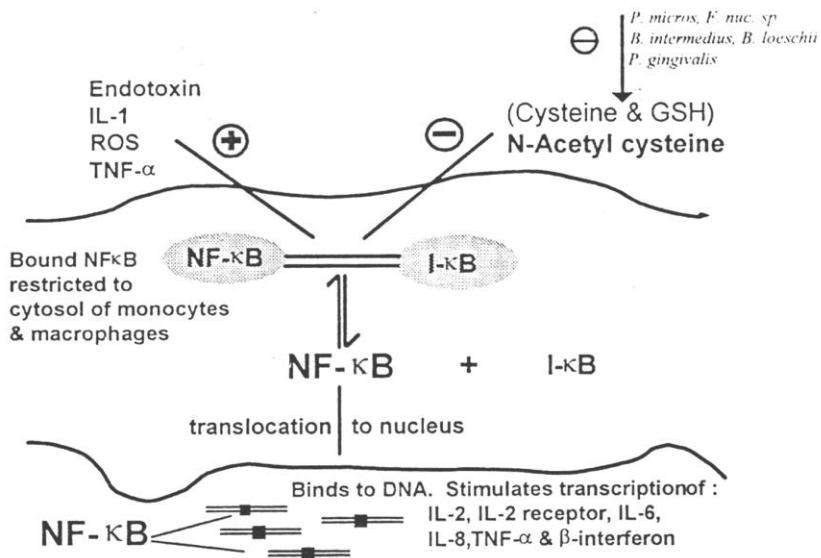


Слика 1. Создавање на реактивни оксигени супстанции (РОС)

Во последно време во реактивните оксигени супстанции (РОС), освен супероксидниот анјон и хидроксилниот анјон, се вбројуваат и молекули на водороден пероксид, хипохлореста киселина и азотен оксид, кои, исто така, се слободни радикали присутни во екстра и интрацелуларната средина, Halliwell & Gutteridge(33).

Водородниот пероксид е слаб оксиданс и е продукт на фагоцитозата под дејство на никотин амид аденин монофосфат. Предизвикува ткивно оштетување и е способен лесно да дифундира низ клеточната менбрана, Halliwell & Gutteridge (34), при што се вклучува во Фентон реакцијата со транзициони метали.

Се смета дека водородниот пероксид игра главна улога во оксидацијата на нуклеарниот фактор NF-kB- одговорен за транскрипцијата на неколку проинфламаторни цитокини важни за патогенезата на пародонталната болест и тоа IL-2, IL-6, IL-8, интерферон бета и тумор некротичниот фактор алфа, Liberman & Baltimore (53).



Слика 2. Приказ на интеракцијата помеѓу пародонтопатогените микроорганизми, NF- κ B транскрипцијата, цитокината продукција во инфламаторните клетки

Активацијата на NF- κ B е иницирана од бактериски ендотоксин IL-1 и TNF алфа, Vincent и сор. (83). Овој процес се одвива брзо и NF- κ B опстојува во цитоплазмата на инфламаторните клетки и е инхибиран од I- κ B. Тумор некротичниот фактор алфа и IL-1 се во состојба да го активираат NF- κ B преку протеинот киназа-С, која го фосфорилира I- κ B во цитоплазмата, ослободувајќи слободен NF- κ B без потреба од долга протеинска синтеза. Ослободениот NF- κ B дифундира низ мем branата на јадрото и се врзува со DNA, стимулирајќи ја транскрипцијата на mRNA и ја модулира цитокината продукција, која може да предизвика инфламација на пародонтот и ткивна деструкција, Osborn и сор. (61).

Хипохлорестата киселина се ослободува од азурофилните ензими, миелопероксидази во текот на фагоцитната дегранулација, Miyaski (55). Присуството на овој ензим покажува позитивна корелација со степенот на пародонталната болест, Cao и Smith (8).

Азотниот оксид е продукт на макрофагите, синтетизиран од азотниот диоксид за време на акутната инфламација на васкуларниот ендотел, Knowles и Moncada (49).

Против слободните радикали организмот се бори со посебни механизми кои се вклучуваат во т.н. антиоксидативна заштита. Антиоксидативната заштита на

организмот ги опфаќа сите органски и неоргански молекули кои можат да ги неутрализираат слободните радикали, а се класифицираат во две групи: ензимски и неензимски. Од ензимите кои се значајни како антиоксиданси се издвојуваат: супероксид дисмутазата, глутатион редуктазата, каталазата, глутатион пероксидазата и за нив се смета дека претставуваат прва линија на антиоксидативната заштита.

Во зависност од местото на дејствување антиоксидансите може да бидат екстраклеточни и интраклеточни.

Екстраклеточните антиоксиданси се протеини врзани за железото -феритин, трансферин, лактоферин, хемосидерин и протеини врзани за бакарот-церулоплазмин, Halliwell Gutteridge (34).

Антиоксидативната активност е карактеристична и за малите молекули какви што се албумините, аскорбатот, алфа- токоферолот, билирубините и уратите, Frei и сор. (25). Овие молекули се вбројуваат во групата на неензимските антиоксиданси.

Интраклеточните антиоксиданси какви што се супероксид дисмутазата, глутатион пероксидазата, каталазата, глутатионот и глутатион редуктазата ги елиминираат создадените слободни радикали во клетките. Многу од овие антиоксиданси се откриени во плунката и во гингивалниот флуид, Moore и сор. (56).

За плунката се најкарактеристични ензимските антиоксиданси: каталазата, супероксид дисмутазата, глутатион пероксидазата и глутатион редуктазата. Во поновите истражувања се испитува застапеноста на овие компоненти на плунката во корелација со факторите на ризик за појава на оралниот карцином и неговото настанување. Најчесто се врши испитување на концетрацијата на антиоксидансите во плунката кај пушачите кои немаат орален карцином, но претставуваат ризична група за појава на ова заболување. Утврдено е значително намалување на антиоксидативниот капацитет на плунката кај пушачите во споредба со непушачите. Во такви услови намалена е неутрализацијата на слободните радикали кои откако ќе ја надминат антиоксидативната заштита на плунката предизвикуваат т.н. оксидативен стрес.

Никотинот е главен алкалоид во цигарите и е одговорен за оштетувањето на имуниот систем, Singh и сор. (74). Никотинот пенетрира низ епителната бариера на

кожата и оралната мукоза, Hanes и сор. (35) и е способен да афектира во имунолошката одбрана, Neher (60), а ја менува и функцијата на фибробластите, колагената продукција и на секрецијата, Giannopoulou и сор. (27).

Zhang и сор. (90), Sano и сор. (69), Yildiz и сор. (89) укажуваат на влијанието на никотинот на генската експресија, секрецијата на хормоните и модулацијата на ензимската активност.

Пушењето се вбројува и во ризик факторите за настанување на пародонталната болест. Во поновите истражувања се укажува на податокот дека пародонталната болест кај пушачите е понапредната во споредба со непушачите без оглед на нивото на оралната хигиена. Како што беше спомнато, пушењето е една од алките во сложените механизми на создавањето на слободните радикали. Поради тоа, се поголем интерес предизвикуваат истражувањата во кои се корелираат пушењето, антиоксидативната заштита на пародонтот и прогресијата на пародонтопатијата.

ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД

Во современата медицина се поголемо внимание им се посветува на слободните радикали и оксидативниот стрес во патогенезата на многу заболувања, особено кога е во прашање пародонталната болест.

Во текот на развојот и прогресијата на пародонталната болест се зголемува цитокината експресија и имунолошката активност во гингивалното ткиво. Како резултат на оваа стимулација PMNL се карактеризираат со зголемена продукција на РОС.

Познато е дека PMNL се главни одбранбени клетки на ткивата во усната празнина и во интеракција со бактериите се активираат различни одбранбени биохемиски и физиолошки процеси на домаќинот, кои водат до уништување на патогените, но е можно и оштетување на локалното ткиво.

Во текот на оваа одбранбена реакција може да дојде и до оксидативни модификации на различни биомолекули и оштетување на гингивалното ткиво, периодонталниот лигамент и алвеоларната коска (70).

Во својата студија Del Maestro (19) ја прикажува комплексната зависност на оксидативната функција на PMNL кај пародонтопатијата, како и нивната улога во этиопатогенезата на пародонталната болест.

Многу студии укажуваат на фактот дека PMNL изолирани од пациентите со early-onset periodontitis создаваат поголемо ниво на супероксиден радикал отколку кај контролната група (47).

Waddington и сор. (85) сметаат дека инхибицијата или егзацербацијата на пародонталната болест, состојбата на стареење и други невровегетативни заболувања се должи на активноста на слободните радикали.

РОС предизвикуваат оштетување на протеините во гингивата и тоа на протеогликаните и хијалуронската киселина, Bartold и сор. (2). Настанува колагенолиза под влијание на хипохлорестата киселина (76) или како резултат на оксидацијата на важни ензими и тоа антипротеазите и на алфа 1 антитрипсинот, Varani и сор. (81). РОС се карактеризираат и со стимулација на проинфламаторните цитокини ослободени од моноцитите и макрофагите и активацијата на NF-кБ.

Присутна е PG-F2 продукција одговорна за коскената ресорпција и губиток на атachment (58). РОС имаат индиректно влијание врз екстрацелуларниот матрикс, при што тој се деградира под дејство на латентни ензими, како што се колагеназа и гелатиназа, Ramamurthy и сор.(68). РОС се способни да ја активираат латентната РМН колагеназа во гингивалниот флуид, Sonmalainen и сор (76).

Guarnieri и сор. (30) го испитувале супероксидниот радикал во гингивалниот флуид кај 14 пациенти со адултна пародонтопатија и кај 16 здрави испитаници. Тие не нашле разлики помеѓу испитуваната и контролната група. Тоа се должи на кусиот полуживот на СОД во екстрацелуларната средина, кој е оксидиран за време на испитувањето.

Супероксидниот радикал е локализиран на граничната површина од остеокластите и е одговорен за деградацијата на коскениот матрикс, Key (45).

Исто така, екцесивната продукција на слободните радикали може да биде под влијание на прооксидативниот ефект на тумор некротичниот фактор алфа, ослободен од активираните макрофаги. Притоа, слободните радикали ги напаѓаат двојните врски на полинезаситените масни киселини и предизвикуваат липидна пероксидација и оксидативен стрес.

Како најистакнат негативен ефект од делувањето на слободните радикали се наведува липидната пероксидација.

Краен продукт на липидната пероксидација е MDA- малондиалдехидот, кој служи како биохемиски маркер во означувањето на степенот на оксидативното оштетување на клеточната мембрана.

Овој продукт на липидната пероксидација може да реагира со слободни SH и NH₂ групи на аминокиселини, пептиди, протеини, нуклеотиди и фосфолипиди, доведувајќи до ковалентна модификација на овие макромолекули што предизвикува промени во нивните функционални особини (21).

Продукт на липидната пероксидација е простаноидот F2, Morrow и сор. (57), додека простаноидите се вклучени во лимфокината продукција, вазодилатација и остеокластична ресорпција на коската. Со процесот на липидна пероксидација се модифицираат функционалните карактеристики на клеточната мембрана и органели, со што настануваат промени во мембрanskата пропустливост и фрагилност.

Реактивните оксигени супстанции предизвикуваат оштетување на DNA и липидна пероксидација преку активацијата на циклооксигените и липооксигените.

Липидната пероксидација предизвикува дисфункција на Са зависните АТПази, при што настапува акумулација на Са зависните ензими како што се протеазите и фосфолипазите, кои се причинители за оштетувањето на клетката (66).

Испитувањата покажале дека антиоксидативната заштита на пародонтот од штетното делување на слободните радикали се должи на синцирот на антиоксиданси. Пародонтот се одликува со високо ниво на физиолошка инфильтрација со неутрофилни гранулоцити, кои што продуцираат слободни радикали. Пародонталното ткиво има повисоко ниво на глутатион во споредба со другите ткива и поголема активност на каталаза, Biasi и сор.(6). При недостиг на споменатите антиоксиданси се забележуваат деструктивни процеси во пародонтот, предизвикани од патолошкото дејство на слободните радикали.

Според Ellis и сор.(23) активноста на СОД и каталазата се намалени во гингивалното ткиво со зголемување на степенот на пародонталната болест.

Каталазата заедно со селениум зависната глутатион пероксидаза преземаат протективна улога против интрацелуларната акумулација на водородниот пероксид, YasminehThelogides (88).

Антиоксидативниот капацитет во плазмата е сигнификантно помал кај пациентите со пародонтопатија во однос на здрави испитаници. Нивото на глутатион, исто така, е ниско кај пародонтопатијата. Високото ниво на глутатион кај здрави испитаници е дел од одбранбената стратегија на епителните клетки против бактериските антигени. Кај пародонтопатијата леукоцитите стануваат хиперактивни и доведуваат до пораст на инфламацијата и зголемена продукција на слободни радикали, додека нивото на глутатион опаѓа, Griffith (29).

Frederiksson и сор.(24) го испитувале антиоксидативниот капацитет кај 22 пациенти со пародонтална болест и кај 16 здрави испитаници. Резултатите од прелиминарните студии покажале дека тоталниот антиоксидативен статус е сигнификантно намален кај пациентите со пародонтална болест во гингивалниот флуид, компарирано со контролната група. Покрај тоа, забележано е и намалување на антиоксидативниот капацитет во плазмата кај пациенти со пародонтопатија. Тие сметаат дека овие промени се резултат на хиперактивноста на неутрофилите, предизвикана од Fc-стимулацијата.

Chapple и сор.(13) ја одредувале концетрацијата на глутатион во гингивалниот флуид кај 10 пациенти со пародонтопатија и кај 6 здрави испитаници. Тие утврдиле дека намалената концетрација на глутатион во гингивалниот флуид кај заболени со пародонтопатија во однос на здравите испитаници е вроден дефект на гама – glutanyl, кој учествува во синтезата на глутатионот или е под влијанието на патогените микроорганизми како што се: *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium nucleatum polymorphum*, *Fusobacterium nucleatum vincenti*, кои го разградуваат глутатионот до хидрогени сулфиди. Овие хидрогени сулфиди во пародонталниот џеб се токсични за клетките и покрај инактивацијата на цитохромната оксидаза и инхибицијата на каталазата. Разградениот глутатион, исто така, може да ја спречи инхибицијата на NF- kB транскрипцијата, при што се зголемува ризикот од оштетување на пародонталните ткива.

Со антиоксидативна способност се карактеризира и супероксид дисмутазата. Кај човекот присутни се три изоформни облика на СОД: цитозолска бакар цинк- зависна СОД, матрикс митохондријална и екстрацелуларна СОД.

Испитувањата укажуваат на зголемената активност на овој ензим во плунката кај болни со рекурентен афтозен стоматит во однос на контролната група. Авторите ова го објаснуваат со зголемената продукција на слободните радикали од страна на одбранбените клетки, па зголемената активност на овој ензим претставува механизам на адаптација на домаќинот на овие неповољни услови (78).

Lunch и сор. (54) сметаат дека СОД активноста е зголемена во гингивалното ткиво кај пародонтопатијата, како резултат на зголемените потреби на СОД активноста и одбраната на гингивата во однос на здравите испитаници. Активноста на СОД е намалена во гингивалниот флуид кај пародонтопатијата. Непостоењето на корелација помеѓу СОД активноста во гингивата и гингивалниот флуид се должи на одвоеното дејство на СОД.

Kelly (44) евидентирал намалена концетрација на глутатион редуктазата во гингивалниот флуид кај пациенти со пародонтопатија споредено со концетрацијата на глутатион редуктаза кај здрави испитаници. Тоа се должи на регулацијата на проинфламаторните цитокини кои се присутни во процесот на ткивното оштетување. Евидентирана е РОС активација со транскрипција на нуклеарниот фактор бета, со последователна цитокина продукција.

Според Соре и сор.(16) кај пациентите со пародонтопатија во гингивалниот флуид антиоксидативниот капацитет е послаб во однос на контролната група, а е повисок во плазмата кај пациенти со пародонтопатија споредено со контролната група. Редуцираната антиоксидативна одбрана може да резултира поради послибиот системски инфламаторен процес предизвикан од периопатогените бактерии.

Voskresenski и сор.(84) ја анализирале улогата на антиоксидативниот систем во иницијацијата на пародонталната болест. Тие сугерираат на тоа дека патогените микроорганизми се одговорни за прекинот на физиолошкиот систем на липидната пероксидација остава зад себе ниско ниво на антиоксидативна заштита на пародонталното ткиво.

Голем број на РОС имаат кус полуживот од 10^{-9} до 10^{-6} секунди (67), но тие можат да предизвикаат ткивно оштетување и да иницираат верижни реакции. Има езогени извори на РОС како што се јонизирачката радијација и цигарите.

Податоците од литературата кои укажуваат на никотинот од цигарите како можен оксидативен стресор се контрадикторни. Студиите *in vivo* и *in vitro* на клетките на глодарите експонирани на никотин покажуваат намалување на слободните радикали, како и на каталазата и на супероксид дисмутазата, Bhagwat и сор.(5).

Некои автори укажуваат дека пушењето е причинител на генските оштетувања кај човекот и на клетките на глодарите, Hopkins и Evans (38), Jones и сор (42), но во некои студии генотоксичните ефекти од никотинот се ограничени и контрадикторни.

Никотинот според Doolittle и сор. (22) не претставува генотоксична опасност, алтерацијата на ДНА не е поврзана со содржината на никотинот, а Trivedi и сор. (79) назначуваат дека овој алкалоид незначително ја зголемува хромозомската аберација и хроматинските промени во клетките.

Heeshen и сор.(37) воочиле дека никотинот е вклучен во пролиферацијата на ендотелните клетки стимулирајќи ангиогенеза.

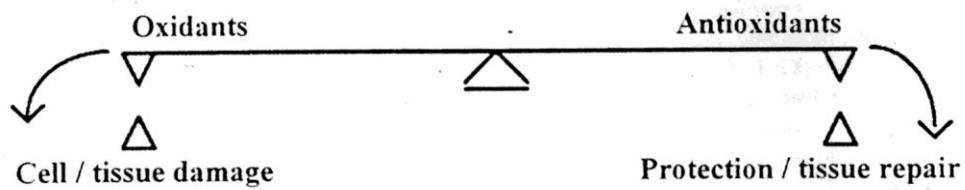
Студиите на Wetsher и сор. (86) покажале дека експонирањето на никотин предизвикува оксидативно оштетување на ткивата што резултира со намалена количина на глутатион каталаза и супероксид дисмутаза.

Чадот од цигарите содржи слободни радикали, како и супстанции кои предизвикуваат зголемена продукција на слободни радикали. Поради тоа пушењето цигари причинува и намален антиоксидативен капацитет во плунката, што придонесува за поизразен дисбаланс помеѓу слободните радикали и антиоксидативната заштита. Во овие услови се истакнува дејството на слободните радикали, кои поради својата изразена реактивност, можат да извршат оксидативна модификација на DNA, што директно е насочена кон малигната алтерација (36).

Студиите на Villablanca (82) укажуваат на постоењето на митогени ефекти во неколку клеточни видови по одредувањето на количеството на никотин во крвта кај пушачите две минути по прекинот на пушењето.

Haber (31) истакнува дека зголемената употреба на цигари може да биде ризик фактор во етиологијата и прогресијата на пародонталната болест.

Степенот со кој РОС влијае на прогресијата на пародонталната болест е се уште недоволно разјаснет и неговата улога не може да се разгледува изолирано (11). Општо е прифатено дека РОС континуирано се создаваат *in vivo*. Способноста на домаќинот да се заштити од РОС активноста се смета за клучен протективен механизам во кој се вклучуваат антиоксидативните групи, кои учествуваат во одржувањето на еклибриумот во ткивото на домаќинот (45). Овој механизам е основен кај акутните и хроничните форми на пародонтопатија, каде што експонираните епителни површини се поврзани со неутрофилната инфильтрација во подлабоките слоеви од сврзнатото ткиво. Перзистира постојана рамнотежа помеѓу антиоксидативната одбрана и создавањето на слободните радикали.



Слика 3. Постојано одржување на баланс помеѓу нивото на слободните радикали и капацитетот на антиоксидативна одбрана

ЦЕЛ НА ТРУДОТ

Респектирајќи ги претходно споменатите и не докрај разјаснетите механизми за дејството на слободните радикали ја формираавме целта на трудот:

- да се утврди партиципацијата на слободните радикали во патогенетските збиднувања на пародонталната болест, како и промените во антиоксидативниот статус на пародонталните ткива, афектирани со ова хронично заболување, преку клиничко-биохемиски параметри.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

За реализација на поставената цел на Клиниката за болести на устата и пародонтот беа проследени 90 пациенти, поделени во две групи на возраст од 20 до 55 години.

Во првата група беа опфатени 45 пациенти, кои се непушачи, со клинички знаци на хронична пародонтална болест. Во зависност од клиничкиот стадиум на заболувањето, пациентите беа поделени во три подгрупи од по 15 пациенти.

Во втората група беа опфатени 45 пациенти - пушачи, со дијагностицирана пародонтална болест, исто така, поделени во три подгрупи од по 15 пациенти, по клинички стадиуми.

Како контролна група ни послужија 30 испитаници без клинички знаци на пародонтална болест.

Дијагнозата беше поставена врз база на анамнестички податоци, клинички преглед и рентгенолошки наод.

И во првата и во втората испитувана група кај пациентите не беше нотирано хронично бubreжно заболување, хепатално заболување, инфективно, кардиоваскуларно заболување. Пациентите не беа под антибиотска терапија, ниту беа алергични на лекови.

А во втората испитувана група пациентите беа долгогодишни пушачи, кои во просек пушеа по една кутија цигари дневно.

Кај сите пациенти беа направени клинички и параклинички испитувања.

Клинички беа проследени следните параметри:

I Индекс на дентален плак по Silness-Loe (1963); според кој присутвото и количината на денталниот плак е вреднувано од 0 до 3 (ИДП).

0 - нема плак во гингивалната третина на забната коронка.

1 - плакот е дистрибуиран покрај маргиналната гингива, при што може да се детектира со сонда или по пат на боене.

2 - присуство на плак во гингивалниот сулкус или пародонталниот џеб, при што е видлив и со голо око.

3 - големо количество плак, кој го исполнува потполно гингивалниот сулкус или пародонталниот џеб, при што и интерденталниот септум е исполнет со плак.

II Индекс на гингивална инфламација по Loe-Silness(1964); Со кој вршиме проценка на состојбата на гингивата преку интензитетот на гингиворагијата при благо сондирање, со што утврдуваме дали заболувањето е во состојба на егзацербација или ремисија; Според кој гингивалната инфламација е степенувана од 0 до 3 (ИГИ).

0 - нормална гингива - гингивата е бледо розова, цврста со ситно зренста структура.

1 - блага инфламација, гингивалниот раб е со поцрвен колоритет од нормалниот, при што постои благ едем и зголемено количество на ексудат во гингивалниот сулкус. Нема крварење при сондирање.

2 - умерена инфламација, гингивата е хиперемична до изразит едем и зголемување на слободната гингива. При благ притисок со сонда се јавува крварење.

3 - силна инфламација, гингивата е со хиперемичен или ливиден колоритет, со назначен едем, а можно е и постоење на улцерации на гингивата. Постои тенденција за спонтано крварење.

III Степенот на пародонталната деструкција според класификацијата предложена од American Academy of Periodontology (1999); со која пародонталната деструкција беше одредувана врз основа на степенот на губитокот на атчмент (ниво на апикална миграција на припојниот епител):

- Прв клинички стадиум - слабо изразен губиток на атчмент до 2 мм;
- Втор клинички стадиум - умерено изразен губиток на атчмент од 2 до 5 мм;
- Трет клинички стадиум - силно изразен губиток на атчмент со над 5 мм апикална миграција на припојниот епител.

По извршениот клинички преглед и нотирањето на индексните вредности, кај сите групи на пациенти беа спроведени параклинички испитувања.

Тие се состоја во одредување на:

1. Слободни радикали во serum и исечоци од гингивалното ткиво.
2. Тотален антиоксидативен статус во serum и исечоци од гингивалното ткиво.
3. Липидна пероксидација во serum.

Земените примероци од гингивалното ткиво прво се мереа на аналитичка вага, па беа ставени во 1 мл фосфатен пуфер и замрзнати на минус 80 Целзиусови степени. На крајот примероците беа хомогенизирани 5 минути во хомогенизаторот "MICROSON ultrasonic cell disruptor", како и центрифугирани 5 минути на 5.000 вртежи.

Земените примероци крв беа центрифугирани 10 минути на 3.000 вртежи, а потоа беше пипетиран serumот од оформените елементи и замрзнат на минус 4 Целзиусови степени.

ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СЛОБОДНИТЕ РАДИКАЛИ ВО СЕРУМ И ВО ГИНГИВАЛНО ТКИВО

За одредување на слободните радикали во serumот и во гингивалното ткиво беше користена колориметриска метода со фотометар F.R.E.E.

Примероците од serumот и од гингивалното ткиво беа ставени во кивети полни со реагенс R2 и нежно измешани. Потоа беа додадени 20 микролитри од R1 реагенсот (Chromogene) и полека измешани. Потоа киветите беа ставени во фотометарот и по 5 минути беа прочитани резултатите прикажани во вредностите U.CARR.

Референтните вредности за слободните радикали во serumот и во гингивалното ткиво се помали од 300 U.CARR.

ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА ТОТАЛЕН АНТИОКСИДАТИВЕН СТАТУС ВО СЕРУМ И ВО ГИНГИВАЛНО ТКИВО

Тоталниот антиоксидативен статус беше определуван со (Randox, Crumlin, UK) спектрофотометриски есеј (600 nm), со намалување на интензитетот на обожувањето (од претходно создадениот радикал) во зависност од присуството на антиоксидативните супстанци во испитуваниот примерок ($\mu\text{mol/L}$).

Референтните вредности за вкупниот антиоксидативен статус во серумот и гингивалното ткиво е помало од 350 $\mu\text{mol/L}$.

ИСПИТУВАЊЕ НА ЛИПИДНАТА ПЕРОКСИДАЦИЈА ВО СЕРУМ

Нивото на липидната пероксидацija беше одредувано преку малонилдиалдехид (MDA) како супстанца која реагира со тиобарбитуратната киселина (TBA), користејќи се со флуорометрискиот метод на Yagi и сор., 1967. Притоа MDA беше користена како супстанца, краен продукт на липидната пероксидацija. Липидните пероксиди беа конвертирани во MDA која реагира со TBA, кој реагирачки комплекс има специфичен спектар за апсорбција при флуорометрирање. Серумот прво беше расторен во дестилирана вода и 20 процентна CCL₃COOH, а потоа беше додаден работниот раствор. Епруветите вриеја во водена бања 60 минути. За екстракција на оладената реактивна микстура беше додадено по 5 мл бутанол. Супернатантот се користеше за мерење на спектрофлуориметарот. Референтните вредности за липидната пероксидацija во серум изнесуваа 3,2 до 3,9 микромоли на литар.

СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА НА ПОДАТОЦИТЕ

Добиените резултати од испитуваните групи беа статистички обработени преку примената на Статистика 6:

- Базите на податоци се формирани со примена на специфични компјутерски програми за таа намена. Нивната обработка е извршена со помош на стандардни дескриптивни и аналитички биваријанти и мултиваријантни методи.
- Атрибутивните статистички серии се анализирани со одредување на коефициент на односи, пропорции, стапки и со утврдување на статистичката значајност меѓу откриените разлики.
- Нумеричките серии се анализирани со мерки на централна тенденција и со мерки на дисперзија на податоците.
- Веројатноста за асоцијација меѓу дистрибуциите на фреквенциите на две атрибутивни варијабли се проценува со примената на Х-квадрат тестот.
- Односот меѓу две нумерички варијабли е испитуван со помош на Pearson-ов коефициент на корелација.
- Се изработува и ANOVA - анализа на варијанса со post-hoc тест.
- Пресметување на ризиците е со односот на предимство - OR (odds ratio).

Р Е З У Л Т А Т И

Табела број 1. Приказ на просечните вредности на испитуваните параметри во контролната група - серум и гингивално ткиво

серум	број	просек	Минимум	Максимум	Стд.Дев.
Слободни радикали	15	283,4667	165,0	354,0	68,73226
Антиоксидативен капацитет	15	342,6667	330,0	360,0	10,99784
Липидна пероксидација	15	3,2533	3,0	3,8	0,30441
Гингивално ткиво					
Слободни радикали	15	200,0	170,0	230,0	23,29929
Антиоксидативен капацитет	15	338,0	330,0	350,0	6,76123

Просечната вредност на слободните радикали во серумот кај контролната група - 283,5 U.carr е во границите на референтни вредности т.е. <300 U.carr (таб. 1 и граф. 1). Просечната вредност на антиоксидативниот капацитет во серумот кај контролната група - 342,7 μ mol/l. припаѓа на мала редукција на антиоксидативната одбрана т.е. во 350-320 μ mol/l (таб. 1 и граф. 2).

Просечната вредност на липидна пероксидација во серумот кај контролната група - 3,2 μ mol/l. и е во границите на референтните вредности т.е. 3,2-3,9 μ mol/l (таб.1 и граф.3). Просечната вредност на слободните радикали во гингивалното ткиво кај контролната група - 200 U.carr. е во границите на референтните вредности т.е. <300 U.carr (таб. 1 и граф. 4).

Просечната вредност на антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво кај контролната група - 338 μ mol/l.припаѓа на мала редукција на антиоксидативната одбрана т.е. 350-320 μ mol/l (таб. 1 и граф. 5).

Табела број 2. Приказ на просечните вредности на испитуваните параметри во групата која припаѓа на првиот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи - serum и гингивално ткиво

серум	број	просек	Минимум	Максимум	Стд.Дев.
Слободни радикали	15	285,5333	228,0	320,0	27,39360
Антиоксидативен капацитет	15	337,3333	320,0	360,0	13,87015
Липидна пероксидација	15	3,4	3,2	3,9	0,17728
Гингивално ткиво					
Слободни радикали	15	323,3333	240,0	380,0	32,87784
Антиоксидативен капацитет	15	318,6667	300,0	350,0	14,57330

Просечната вредност на слободните радикали во serumот кај групата која припаѓа на првиот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи изнесува 285,5 U.carr е во границите на референтните вредности т.е. <300 U.carr (таб. 2 и граф. 1).

Просечната вредност на антиоксидативниот капацитет во serumот кај групата која припаѓа на првиот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи изнесува 337,3 $\mu\text{mol/l}$. и припаѓа на мала редукција на антиоксидативната одбрана т.е. 350-320 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 2 и граф. 2).

Просечната вредност на липидната пероксидација во serumот кај групата која припаѓа на првиот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи е 3,4 $\mu\text{mol/l}$. и е во границите на референтните вредности т.е. 3,2-3,9 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 2 и граф. 3).

Просечната вредност на слободните радикали во гингивалното ткиво кај групата која припаѓа на првиот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи - 323,3 U.carr. е во границите на низок оксидативен стрес т.е. 300-340 U.carr (таб. 2 и граф. 4).

Просечната вредност на антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво кај групата која припаѓа на првиот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи - 318,7 $\mu\text{mol/l}$. припаѓа на средна редукција на антиоксидативната одбрана т.е. 320-280 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 2 и граф. 5).

Табела број 3. Приказ на просечните вредности на испитуваните параметри во групата која припаѓа на вториот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи - серум и гингивално ткиво

серум	број	просек	Минимум	Максимум	Стд.Дев.
Слободни радикали	15	322,4667	298,0	342,0	13,84024
Антиоксидативен капацитет	15	340,0	320,0	350,0	9,25820
Липидна пероксидација	15	3,5133	3,20	3,9	0,25317
Гингивално ткиво					
Слободни радикали	15	400,0	380,0	450,0	16,47509
Антиоксидативен капацитет	15	298,0	280,0	320,0	10,82326

Просечната вредност на слободните радикали во серумот кај групата која припаѓа на вториот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи изнесува 322,5 U.carr и е во границите на низок оксидативен стрес т.е. 321-340 U.carr (таб. 3 и граф. 1). Просечната вредност на антиоксидативниот капацитет во серумот кај групата која припаѓа на вториот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи е 340 $\mu\text{mol/l}$. припаѓа на мала редукција на антиоксидативната одбрана т.е. 350-320 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 3 и граф. 2).

Просечната вредност на липидната пероксидација во серумот кај групата која припаѓа на вториот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи изнесува 3,5 $\mu\text{mol/l}$. е во границите на референтните вредности т.е. 3,2-3,9 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 3 и граф. 3).

Просечната вредност на слободните радикали во гингивалното ткиво кај групата која припаѓа на вториот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи е 400 U.carr. и е во границите на средно-висок оксидативен стрес т.е. 400-500 U.carr (таб. 3 и граф. 4).

Просечната вредност на антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво кај групата која припаѓа на вториот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи изнесува 298 $\mu\text{mol/l}$. и припаѓа на средна редукција на антиоксидативната одбрана т.е. 320-280 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 3 и граф. 5).

Табела број 4. Приказ на просечните вредности на испитуваните параметри во групата која припаѓа на третиот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи - serum и гингивално ткиво

серум	број	просек	Минимум	Максимум	Стд.Дев.
Слободни радикали	15	361,6	338,0	394,0	20,00286
Антиоксидативен капацитет	15	327,3333	300,0	360,0	19,44467
Липидна пероксидација	15	3,5533	3,2	3,9	0,27220
Гингивално ткиво					
Слободни радикали	15	440,0	420,0	460,0	16,90309
Антиоксидативен капацитет	15	290,0	280,0	300,0	8,45154

Просечната вредност на слободните радикали во серумот кај групата која припаѓа на третиот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи е 361,6 U.carr е во границите на среден оксидативен стрес т.е. 341-400 U.carr (таб. 4 и граф. 1).

Просечната вредност на антиоксидативниот капацитет во серумот кај групата која припаѓа на третиот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи изнесува 327,3 $\mu\text{mol/l}$. припаѓа на мала редукција на антиоксидативната одбрана т.е. 350-320 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 4 и граф. 2).

Просечната вредност на липидната пероксидација во серумот кај групата која припаѓа на третиот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи е 3,5 $\mu\text{mol/l}$. и е во границите на референтни вредности т.е. 3,2-3,9 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 4 и граф. 3).

Просечната вредност на слободните радикали во гингивалното ткиво кај групата која припаѓа на третиот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи е 440 U.carr. и е во границите на средно-висок оксидативен стрес т.е. 400-400 U.carr (таб. 4 и граф. 4).

Просечната вредност на антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво кај групата која припаѓа на третиот клинички стадиум на пародонтопатија кај непушачи е 290 $\mu\text{mol/l}$. и припаѓа на средна редукција на антиоксидативната одбрана т.е. 320-280 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 4 и граф. 5).

Табела број 5. Приказ на просечните вредности на испитуваните параметри во групата која припаѓа на првиот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи - serum и гингивално ткиво

серум	број	просек	Минимум	Максимум	Стд.Дев.
Слободни радикали	15	324,2667	300,0	340,0	10,50487
Антиоксидативен капацитет	15	330,0	320,0	350,0	11,33893
Липидна пероксидација	15	4,1267	3,9	4,4	0,15337
Гингивално ткиво					
Слободни радикали	15	396,0	380,0	410,0	9,10259
Антиоксидативен капацитет	15	297,3333	290,0	310,0	7,03732

Просечната вредност на слободните радикали во серумот кај групата која припаѓа на првиот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи е 324,3 U.carr е во границите на низококсидативен стрес т.е. 321-340 U.carr (таб. 5 и граф. 1).

Просечната вредност на антиоксидативниот капацитет во серумот кај групата која припаѓа на првиот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи изнесува 330 $\mu\text{mol/l}$. и припаѓа на мала редукција на антиоксидативната одбрана т.е. 350-320 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 5 и граф. 2).

Просечната вредност на липидната пероксидација во серумот кај групата која припаѓа на првиот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи 4,1 $\mu\text{mol/l}$. е покачена т.е. над референтните вредности од 3,2-3,9 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 5 и граф. 3).

Просечната вредност на слободните радикали во гингивалното ткиво кај групата која припаѓа на првиот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи е 396 U.carr. и е во границите на низок оксидативен стрес т.е. 300-340 U.carr (таб. 5 и граф. 4).

Просечната вредност на антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво кај групата која припаѓа на првиот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи изнесува 7,3 $\mu\text{mol/l}$. и припаѓа на средна редукција на антиоксидативната одбрана т.е. 320-280 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 5 и граф. 5).

Табела број 6. Приказ на просечните вредности на испитуваните параметри во групата која припаѓа на вториот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи - serum и гингивално ткиво

серум	број	просек	Минимум	Максимум	Стд.Дев.
Слободни радикали	15	375,0	345,0	394,0	15,68894
Антиоксидативен капацитет	15	310,0	300,0	340,00	11,95229
Липидна пероксидација	15	4,24	4,0	4,4	0,16818
Гингивално ткиво					
Слободни радикали	15	439,3333	400,0	460,0	22,18966
Антиоксидативен капацитет	15	288,6667	280,0	300,0	9,15475

Просечната вредност на слободните радикали во серумот кај групата која припаѓа на вториот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи изнесува 375 U.carr и е во границите на среден оксидативен стрес т.е. 341-400 U.carr (таб. 6 и граф. 1). Просечната вредност на антиоксидативниот капацитет во серумот кај групата која припаѓа на вториот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи изнесува 310 $\mu\text{mol/l}$. и припаѓа на средна редукција на антиоксидативната одбрана т.е. 320-280 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 6 и граф. 2).

Просечната вредност на липидната пероксидација во серумот кај групата која припаѓа на вториот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи е 4,2 $\mu\text{mol/l}$. е покачена т.е. над референтните вредности од 3,2-3,9 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 6 и граф. 3).

Просечната вредност на слободните радикали во гингивалното ткиво кај групата која припаѓа на вториот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи е 439 U.carr. е во границите на средно висок оксидативен стрес т.е. 400-500 U.carr (таб. 6 и граф. 4).

Просечната вредност на антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво кај групата која припаѓа на вториот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи изнесува 288,7 $\mu\text{mol/l}$. припаѓа на средна редукција на антиоксидативната одбрана т.е. 320-280 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 6 и граф. 5).

Табела број 7. Приказ на просечните вредности на испитуваните параметри во групата која припаѓа на третиот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи - serum и гингивално ткиво

серум	број	просек	Минимум	Максимум	Стд.Дев.
Слободни радикали	15	417,9333	404,0	434,0	10,70692
Антиоксидативен капацитет	15	292,0	260,0	340,0	28,83450
Липидна пероксидација	15	4,2400	4,0	4,4	0,15946
Гингивално ткиво					
Слободни радикали	15	598,0	570,0	630,0	26,51145
Антиоксидативен капацитет	15	267,3333	250,0	280,0	13,87015

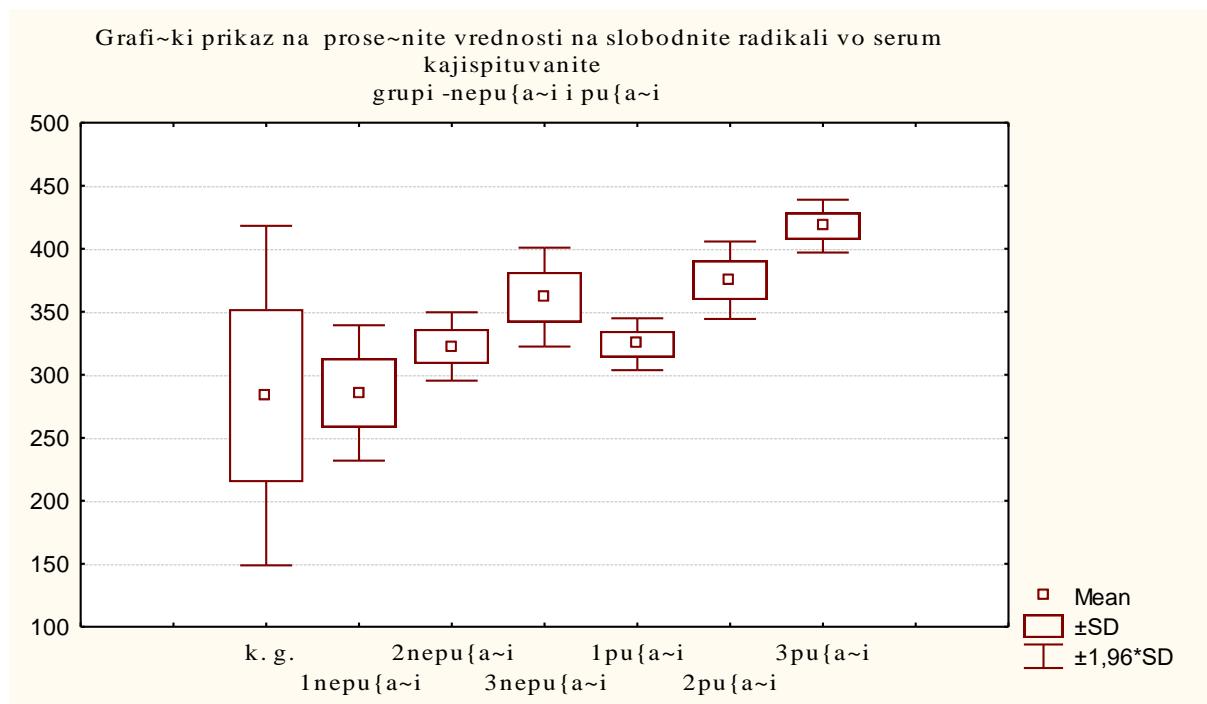
Просечната вредност на слободните радикали во серумот кај групата која припаѓа на третиот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи изнесува 417,9 U.carr и е во границите на висок оксидативен стрес т.е. 401-500 U.carr (таб. 7 и граф. 1). Просечната вредност на антиоксидативниот капацитет во серумот кај групата која припаѓа на третиот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи изнесува 292 $\mu\text{mol/l}$. припаѓа на средна редукција на антиоксидативната одбрана т.е. 320-280 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 7 и граф. 2).

Просечната вредност на липидната пероксидација во серумот кај групата која припаѓа на третиот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи 4,2 $\mu\text{mol/l}$. е покачена т.е. над референтните вредности од 3,2-3,9 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 7 и граф. 3).

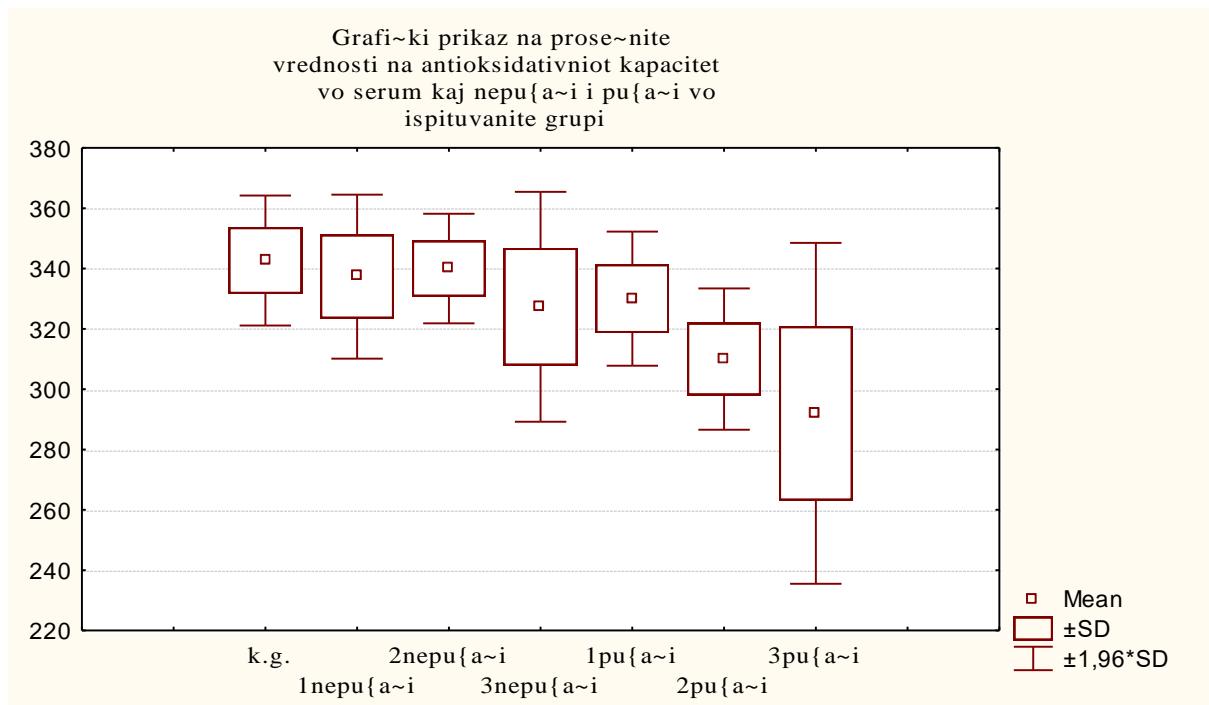
Просечната вредност на слободните радикали во гингивалното ткиво кај групата која припаѓа на третиот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи изнесува 598 U.carr. и е во границите на висок оксидативен стрес т.е. >500 U.carr (таб. 7 и граф. 4).

Просечната вредност на антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво кај групата која припаѓа на третиот клинички стадиум на пародонтопатија кај пушачи изнесува 267,3 $\mu\text{mol/l}$. и припаѓа на голема редукција на антиоксидативната одбрана т.е. 280-250 $\mu\text{mol/l}$ (таб. 7 и граф. 5).

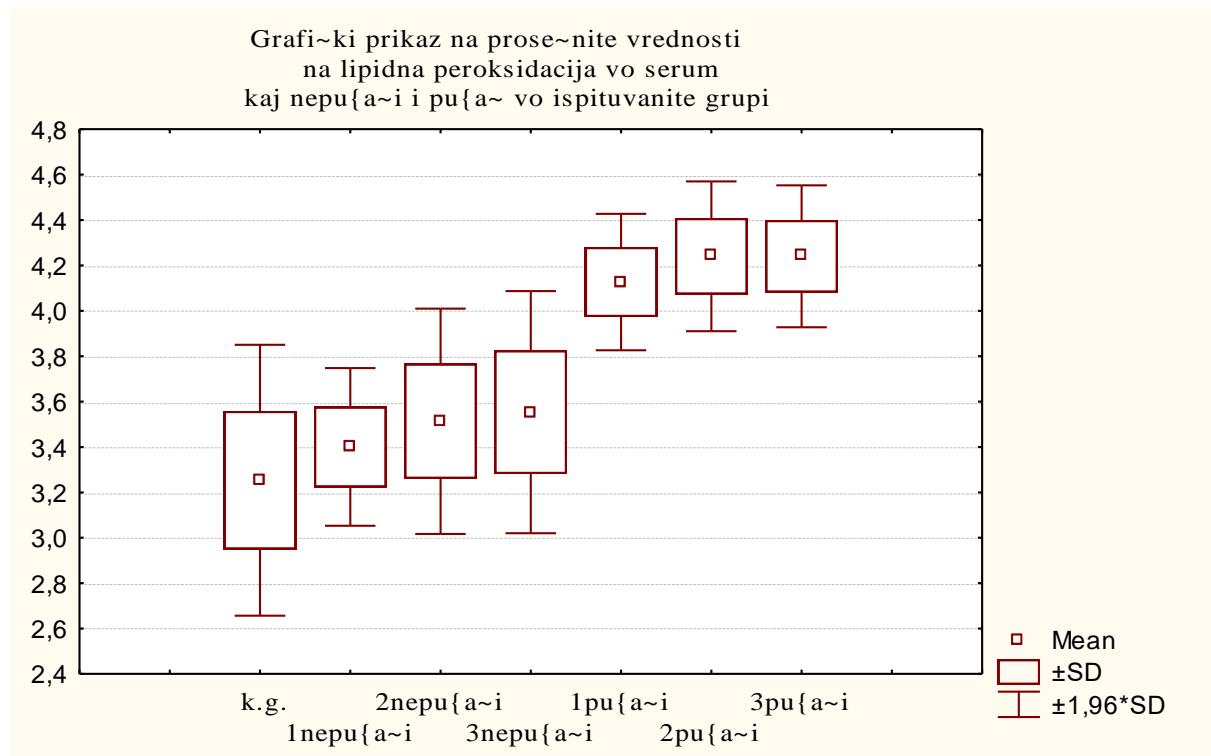
Графикон број 1.



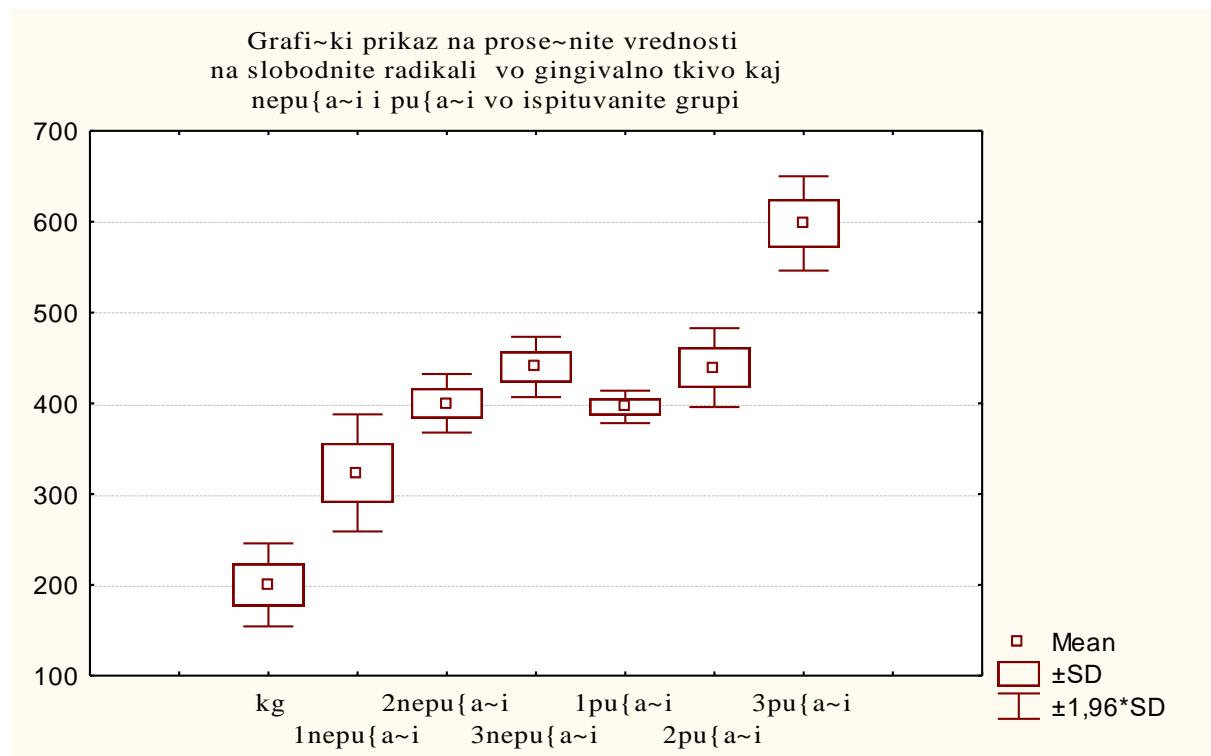
Графикон број 2.



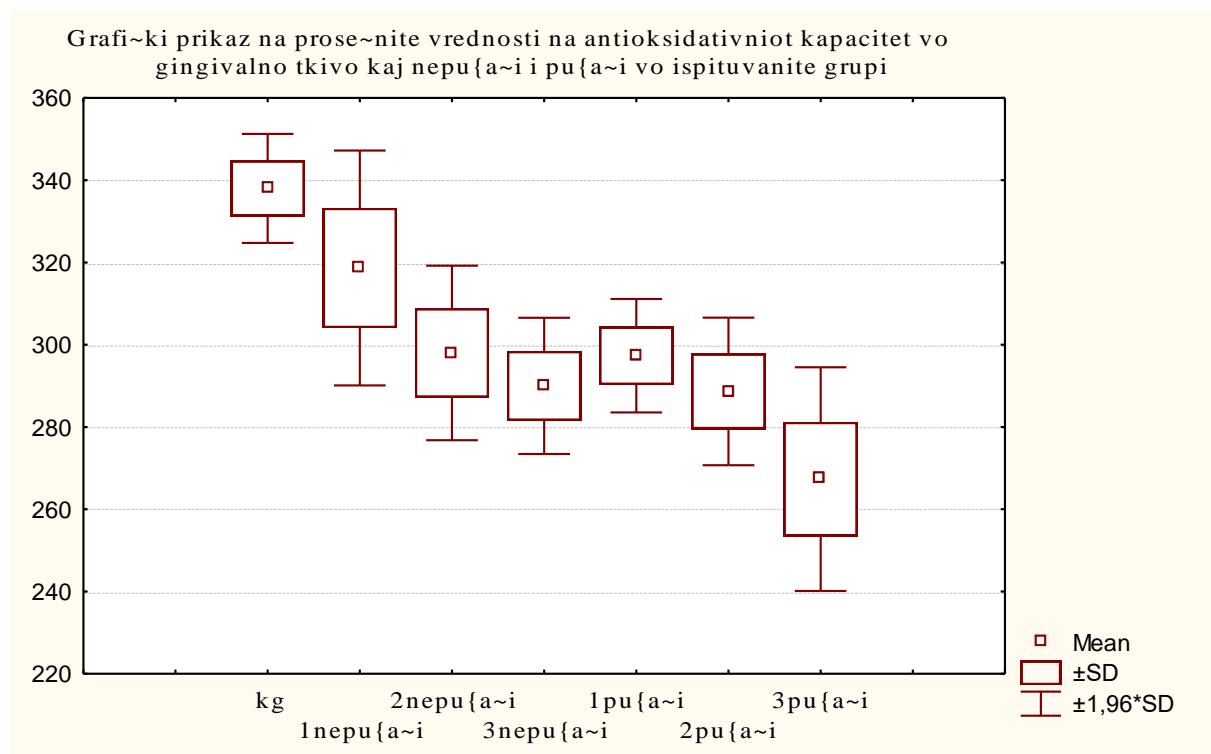
Графикон број 3.



Графикон број 4.



Графикон број 5.



Табела број 8. Приказ на Анализа на варијанса кај испитуваните параметри кај четирите испитувани групи - непушачи

серум	SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
Слободни радикали	61168,93	3	20389,64	84926,8	56	1516,55	13,4448	0,00000
Антиоксидативен капацитет	2018,33	3	672,78	10880,0	56	194,286	3,46283	0,02216
Липидна пероксидација	0,81	3	0,27	3,67	56	0,066	4,13798	0,01016
Гингивално ткиво								
Слободни радикали	502125,0	3	167375	30533,3	56	545,238	306,976	0,00000
Антиоксидативен капацитет	20965,0	3	6988,3	6253,33	56	111,667	62,5821	0,00000

Табела број 9. Приказ на Post-hoc Tukey-honest significant difference(HSD)

група	контролна	I клинички стадиум	II клинички стадиум	Шклинички стадиум
контролна		0,998964	0,039744	0,000162
I клинички стадиум	0,998964		0,056543	0,000166
II клинички стадиум	0,039744	0,056543		0,038831
Шклинички стадиум	0,000162	0,000166	0,038831	

Разликата на просечните вредности помеѓу контролната група, првиот, вториот и третиот клинички стадиум кај непушачи кој се регистрира кај слободните радикали, антиоксидативниот капацитет во serumot и гингивалното ткиво и липидната пероксидација во serumot се статистички сигнификантни за $p<0,05$ (таб. 8 и 9).

Табела број 10. Приказ на Анализа на варијанса кај испитуваните параметри кај четирите испитувани групи - пушачи

серум	SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
Слободни радикали	154930,7	3	51643,58	72733,60	56	1298,814	39,76210	0,000000
Антиоксидативен капацитет	22360,0	3	7453,33	17133,33	56	305,952	24,36109	0,000000
Липидна пероксидација	10,3	3	3,42	2,38	56	0,042	80,49869	0,000000
Гингивално ткиво								
Слободни радикали	1207340	3	402446,7	25493,33	56	455,2381	884,0356	0,000000
Антиоксидативен капацитет	39418	3	13139,4	5200,00	56	92,8571	141,5017	0,000000

Табела број 11. Приказ на Post-hoc Tukey-honest significant difference(HSD)

група	контролна	Iклинички стадиум	IIклинички стадиум	Шклинички стадиум
контролна		0,015646	0,000159	0,000159
I клинички стадиум	0,015646		0,001777	0,000159
II клинички стадиум	0,000159	0,001777		0,009989
Шклинички стадиум	0,000159	0,000159	0,009989	

Разликата на просечните вредности помеѓу контролната група, првиот, вториот и третиот клинички стадиум кај пушачи кој се регистрира кај слободните радикали, антиоксидативниот капацитет во серумот и гингивалното ткиво и липидната пероксидација во серумот се статистички сигнификантни за $p<0,05$ (таб. 10 и11).

**Табела број 12. Приказ на Анализа на варијанса кај слободните радикали
во серумот од првиот клинички стадиум кај непушачи
и пушачи и контролната група**

Контролна група и прв кл. стадиум кај непушачи и пушачи								
	SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
Слободни радикали	15845,91	2	7922,956	78188,40	42	1861,629	4,255927	0,020748
Контролна група и втор кл. стадиум кај непушачи и пушачи								
Слободни радикали	63295,51	2	31647,76	72265,47	42	1720,606	18,39337	0,000002
Контролна група и трет кл. стадиум кај непушачи и пушачи								
Слободни радикали	136797,7	2	68398,87	73344,27	42	1746,292	39,16806	0,000000

Табела број 13. Приказ на Post-hoc Tukey-honest significant difference(HSD)

Група	контролна	I клинички стадиум - непушачи	I клинички стадиум - пушачи
контролна		0,990644	0,034531
I клинички стадиум Непушачи	0,990644		0,046885
I клинички стадиум Пушачи	0,034531	0,046885	
Група	контролна	II клинички стадиум - непушачи	II клинички стадиум - пушачи
контролна		0,035762	0,000119
II клинички стадиум Непушачи	0,035762		0,003535
II клинички стадиум Пушачи	0,000119	0,003535	
Група	контролна	III клинички стадиум - непушачи	III клинички стадиум - пушачи
контролна		0,000135	0,000119
III клинички стадиум Непушачи	0,000135		0,001900
III клинички стадиум Пушачи	0,000119	0,001900	

Разликата на просечните вредност на слободните радикали во серумот кај контролната група и во сите три клинички стадиуми - непушачи и пушачи е статистички сигнификантна за $p<0,05$ (таб. 12-13)

Табела број 14. Приказ на Анализа на варијанса кај антиоксидативниот капацитет од трите клинички стадиуми помеѓу непушачи и пушачи и контролната група

	SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
Контролна група и прв кл. стадиум кај непушачи и пушачи								
Антиоксидативен капацитет	1213,333	2	606,6667	6186,667	42	147,3016	4,118534	0,023266
Контролна група и втор кл. стадиум кај непушачи и пушачи								
Антиоксидативен капацитет	9871,111	2	4935,556	4893,333	42	116,5079	42,36240	0,000000
Контролна група и трет кл. стадиум кај непушачи и пушачи								
Антиоксидативен капацитет	20253,33	2	10126,67	18626,67	42	443,4921	22,83393	0,000000

Табела број 15. Приказ на Post-hoc Tukey-honest significant difference (HSD)

Група	контролна	I клинички стадиум - непушачи	I клинички стадиум - пушачи
контролна		0,457861	0,017876
I клинички стадиум Непушачи	0,457861		0,234626
I клинички стадиум Пушачи	0,017876	0,234626	
Група	контролна	II клинички стадиум - непушачи	II клинички стадиум - пушачи
контролна		0,778404	0,000119
II клинички стадиум Непушачи	0,778404		0,000119
II клинички стадиум Пушачи	0,000119	0,000119	
Група	контролна	III клинички стадиум - непушачи	III клинички стадиум - пушачи
контролна		0,126291	0,000119
III клинички стадиум Непушачи	0,126291		0,000222
III клинички стадиум Пушачи	0,000119	0,000222	

Разликата на просечните вредност на антиоксидативниот капацитет во серумот кај контролната група и во трите клинички стадиуми - непушачи и пушачи- поединечно е статистички сигнификантна за $p < 0,05$ (таб. 14-15).

Табела број 16. Приказ на Анализа на варијанса кај липидната пероксидација од трите клинички стадиуми помеѓу непушачи и пушачи и контролната група

	SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
Контролна група и прв кл. стадиум кај непушачи и пушачи								
липидна пероксидација	6,561333	2	3,280667	2,066667	42	0,049206	66,67161	0,000000
Контролна група и втор кл. стадиум кај непушачи и пушачи								
липидна пероксидација	7,845778	2	3,922889	2,590667	42	0,061683	63,59804	0,000000
Контролна група и трет кл. стадиум кај непушачи и пушачи								
липидна пероксидација	7,675111	2	3,837556	2,690667	42	0,064063	59,90238	0,000000

Табела број 17. Приказ на Post-hoc Tukey-honest significant difference (HSD)

Група	контролна	I клинички стадиум - непушачи	I клинички стадиум - пушачи
контролна		0,178552	0,000119
I клинички стадиум Непушачи	0,178552		0,000119
I клинички стадиум Пушачи	0,000119	0,000119	
Група	контролна	II клинички стадиум - непушачи	II клинички стадиум - пушачи
контролна		0,017484	0,000119
II клинички стадиум Непушачи	0,017484		0,000119
II клинички стадиум Пушачи	0,000119	0,000119	
Група	контролна	III клинички стадиум - непушачи	III клинички стадиум - пушачи
контролна		0,006483	0,000119
III клинички стадиум Непушачи	0,006483		0,000119
III клинички стадиум Пушачи	0,000119	0,000119	

Разликата на просечните вредности на липидната пероксидација во серумот кај контролната група и кај трите клинички стадиуми - непушачи и пушачи - поединечно е статистички сигнификантна за $p<0,05$ (таб. 16-17).

Табела број 18. Приказ на Анализа на варијанса кај слободните радикали во гингивалното ткиво од трите клинички стадиуми помеѓу непушачи и пушачи и контролната група

Контролна група и прв кл. стадиум кај непушачи и пушачи								
	SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
Слободни радикали	294537,8	2	147268,9	23893,33	42	568,8889	258,8711	0,000000
Контролна група и втор кл. стадиум кај непушачи и пушачи								
Слободни радикали	494137,8	2	247068,9	18293,33	42	435,5556	567,2500	0,00
Контролна група и трет кл. стадиум кај непушачи и пушачи								
Слободни радикали	1204840	2	602420,0	21440,00	42	510,4762	1180,114	0,00

Табела број 19. Приказ на Post-hoc Tukey-honest significant difference (HSD)

Група	контролна	I клинички стадиум - непушачи	I клинички стадиум - пушачи
контролна		0,000119	0,000119
I клинички стадиум Непушачи	0,000119		0,000119
I клинички стадиум Пушачи	0,000119	0,000119	
Група	контролна	II клинички стадиум - непушачи	II клинички стадиум - пушачи
контролна		0,000119	0,000119
II клинички стадиум Непушачи	0,000119		0,000133
II клинички стадиум Пушачи	0,000119	0,000133	
Група	контролна	III клинички стадиум- непушачи	III клинички стадиум - пушачи
контролна		0,000119	0,000119
III клинички стадиум Непушачи	0,000119		0,000119
III клинички стадиум Пушачи	0,000119	0,000119	

Разликата на просечните вредност на слободните радикали во гингивалното ткиво кај контролната група и кај трите клинички стадиуми непушачи и пушачи, поединечно е статистички сигнификантна за $p<0,05$ (таб. 18-19).

Табела број 20. Приказ на Анализа на варијанса кај антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво од трите клинички стадиуми помеѓу непушачи и пушачи и контролната група

	SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
Контролна група и прв кл. стадиум кај непушачи и пушачи								
Антиоксидативен капацитет	12413,33	2	6206,667	4306,667	42	102,5397	60,52941	0,000000
Контролна група и втор кл. стадиум кај непушачи и пушачи								
Антиоксидативен капацитет	20604,44	2	10302,22	3453,333	42	82,22222	125,2973	0,000000
Контролна група и трет кл. стадиум кај непушачи и пушачи								
Антиоксидативен капацитет	39057,78	2	19528,89	4333,333	42	103,1746	189,2800	0,000000

Табела број 21. Приказ на Post-hoc Tukey-honest significant difference(HSD)

Група	контролна	I клинички стадиум - непушачи	I клинички стадиум - пушачи
контролна		0,000130	0,000119
I клинички стадиум Непушачи	0,000130		0,000120
I клинички стадиум Пушачи	0,000119	0,000120	
Група	контролна	II клинички стадиум - непушачи	II клинички стадиум - пушачи
контролна		0,000119	0,000119
II клинички стадиум Непушачи	0,000119		0,019731
II клинички стадиум Пушачи	0,000119	0,019731	
Група	контролна	III клинички стадиум - непушачи	III клинички стадиум - пушачи
контролна		0,000119	0,000119
III клинички стадиум Непушачи	0,000119		0,000119
III клинички стадиум Пушачи	0,000119	0,000119	

Разликата на просечните вредност на антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво кај контролната група и кај трите клинички стадиуми непушачи и пушачи поединечно е статистички сигнификантна за $p<0,05$ (таб. 20-21).

Табела број 22. Приказ на коефициентот на корелација помеѓу слободните радикали, антиоксидатниот капацитет и липидната пероксидација во serumot

	слободни радикали	антиоксидативен капацитет	липидна пероксидација
слободни радикали		-,6313 <i>p=,000</i>	,4911 <i>p=,000</i>
антиоксидативен капацитет	-,6313 <i>p=,000</i>		-,5005 <i>p=,000</i>
липидна пероксидација	,4911 <i>p=,000</i>	-,5005 <i>p=,000</i>	

Помеѓу слободните радикали и антиоксидативниот капацитет се регистрира негативна јака статистички сигнификантна корелација (таб. 22).

Помеѓу слободните радикали и липидната пероксидација се регистрира позитивна умерено јака статистички сигнификантна корелација (таб. 22).

Помеѓу липидната пероксидација и антиоксидативниот капацитет се регистрира негативна умерено јака статистички сигнификантна корелација (таб. 22).

Статистички сигнификантна зависност регистрираме единствено помеѓу вредностите на слободните радикали во serumot и пушчењето – $\chi^2=7,247$ и $p=0,0072$. Пушчењто ја зголемува можноста за повисоки вредности на слободните радикали во serumot >300 U.carr за единаесет пати ($OR=11,8556$; $CI95\% 1,3303 < OR < 90,9536$).

ДИСКУСИЈА

Неспорно е дека супрагингивалниот дентален плак причинува гингивит, кој со својата апикална екстензија може да се трансформира во пародонтална болест.

Развојот и прогресијата на пародонталната болест е проследена со поголема колонизација на пародонтопатогени микроорганизми во денталниот плак, кои предизвикуваат зголемена цитокина експресија и имунолошка активност во гингивалното ткиво. Како резултат на оваа активност PMNL се карактеризираат со зголемено искористување на кислородот и во нив се случува вистинска "респираторна експлозија" која предизвикува зголемена продукција на слободни радикали со што PMNL ги "убиваат" бактериите, но можат и да го оштетат локалното ткиво.

Во текот на еволутивниот разиток на организмот воспоставен е специфичен одбранбен систем т.н. антиоксидативен систем од штетното делување на слободните радикали.

Антиоксидантите се присутни во мали концентрации во однос на супстанциите кои што се оксидираат, па тие можат да ја спречат или да ја намалат нивната оксидација.

Се додека постои рамнотежа помеѓу продукцијата на слободните радикали и антиоксидативната заштита на клетките, слободните радикали не го истакнуваат својот штетен ефект. Прекумерното создавање на слободните радикали над физиолошкото ниво или намалената концентрација на антиоксиданси доведува до оксидативен стрес.

Претходно наведените податоци ја наметнуваат потребата да го проследиме можноот влијание на слободните радикали во проучувањето на патогенетските механизми на пародонталната болест.

Откривањето на реактивните оксигени супстанции, зголемувањето на бакарните и железни јони кои ја катализираат продукцијата на најголем број реактивни групи и нарушенниот баланс помеѓу оксидативниот и антиоксидативниот капацитет во пародонталниот џеб го потврдуваат нивното учество во прогресијата на пародонталната болест.

Во многу стручни и научни публикации (14), се обрнува внимание на можната инволвираност на слободните радикали во серумот и гингивалното ткиво врз деструкцијата на пародонталните ткива во текот на инфламаторниот процес.

Во реализираните испитувања на нашиот материјал, за нивото на слободните радикали во серумот кај нашите пациенти (непушачи) забележавме зголемување на вредноста на слободните радикали со напредување на клиничкиот стадиум на пародонтопатијата. Нашите резултати, пак, за липидната пероксидација кај непушачите-пародонтални болни, покажуваат поголеми вредности во споредба со контролната група, но сепак се во границите на референтните вредности. Слични вредности регистриравме и за антиоксидативниот капацитет во серумот кај нашите испитаници-непушачи (Таб. 1, 2, 3 и 4).

Нашите резултати, кои се однесуваат на нивото на слободните радикали во серумот кај пародонталните болни (непушачи) се во согласност со наодите на Kopprasch и сор. (50).

Респектирајќи ги сознанијата на голем број автори и нивните согледувања за зголеменото количество на слободни радикали во серумот во текот на хроничниот инфламаторен процес кај пациентите со пародонтопатија, Soolari и сор.(75), истакнале дека зголемената продукција на слободни радикали е резултат на неутрофилната стимулација од микроорганизмите на денталниот плак и нивните продукти.

Во студиите на Sheikhin и сор.(72), се укажува на влијанието на *F. nucleatum* и *F.necrophorum* во зголемената продукција на слободните радикали, еластазата и цитокините IL-8, TNF-алфа и IL-бета кај пациентите со пародонтална болест.

Овие цитокини ја активираат респираторната активност во неутрофилните клетки и го поттикнуваат оксидативниот стрес во локалното ткиво кај хроничните и агресивните форми на пародонтопатија.

Претходно споменатите автори, исто така, истакнуваат дека *F. nucleatum* можат да предизвикаат липидна пероксидација и дека фагоцитозата на овие микроорганизми предизвикува поголема продукција на слободни радикали отколку фагоцитозата на микроорганизмите од видот на *Porphyromonas gingivalis* или *A. actinomycetemcomitans*.

Според Goulet и сор. (28), иако *P. gingivalis* има инхибиторен ефект врз создавањето на слободни радикали од неутрофилите. Овие микроорганизми се способни да се поврзат со трансферинот и да ослободуваат железо или пептидни фрагменти кои што содржат железо. На овој начин ослободените продукти

учествуваат во деструкцијата на ткивото со катализа на токсичните хидроксилни радикали по пат на Фентон реакција.

Во прилог на ова, одат испитувањата на Wright и сор. (87), според кои зголеменото ниво на слободни радикали во серумот е високо сигнификантно кај хроничните форми на пародонтопатија во однос на контролната група.

Спротивно на претходните автори испитувањата на Hurtia и сор. (39), укажуваат дека нивото на слободните радикали е непостојано кај агресивните форми на пародонтопатија, што се должи на недостигот на ензимот diacylglycerol kinase во неутрофилите, ензим кој е одговорен за контрола на респираторната експлозија.

Во инфламираните регии липидите кои што се локализирани на мембрите на клетките и на мембрите на митохондриите се главна цел на слободните радикали.

Најголем дел од податоците од литературата кој се однесува на липидната пероксидација кај пациенти со пародонтална болест укажуваат на зголемено ниво во однос на здравите испитаници.

Според Canacki и сор. (7), оксидативното оштетување на слободните радикали води кон липидна пероксидација на полинезаситените масни киселини, што има за последица оштетување на клеточните структури и оксидативна модификација на DNA.

Липидната пероксидација предизвикува верижна реакција и создава липидни водородни пероксиди и алдехиди кои што делуваат врз липидните молекули. Водородниот пероксид кој што е акумулиран во клеточната мембра на рефлектира со трансмембранска активност на ензимите, протеините и нивниот транспорт. И како резултат на овие активности настануваат промени во мембриската пропустливост и пореметување во делбата на клетката.

Во експериментите на Krol (52), се истакнува влијанието на липидната пероксидација во инфламаторните процеси и деструкцијата на пародонталните ткива. Според овој автор сигнификантното зголемување на липидната пероксидација е во корелација со вредностите на плак индексот, длабочината на пародонталниот цеб и гингивалниот индекс. По спроведениот пародонтален третман тие регистрирале сигнификантно намалување на нивото на липидната пероксидација.

Анализата на вкупниот антиоксидативен капацитет во серумот кај пациенти со пародонтопатија и неговото значење за настанувањето на заболувањето е предмет на проучување во неколку студии.

Испитувањата укажуваат на намален антиоксидативен капацитет во серумот кај пациенти со пародонтопатија во однос на здравите испитаници.

Разликата на просечните вредности на слободните радикали, антиоксидативниот капацитет и липидната пероксидација во серумот кај контролната група, првиот, вториот и третиот клинички стадиум кај пациентите - непушачи со пародонтална болест се статистички сигнификантни за $p < 0,05$. (Таб. 8 и 9)

Pavlica и сор. (63), утврдиле дека концентрацијата на антиоксидативниот капацитет во серумот кај пациенти со пародонтопатија е во зависност од јачината на заболувањето.

Податоците од прелиминарните студии на антиоксидативниот капацитет покажале дека вкупниот антиоксидативен капацитет е сигнификантно помал во серумот кај пациентите со пародонтопатија во однос на контролната група, (46).

Нашите вредности на Pearson-овиот коефициент на корелација покажаа јака негативна корелација помеѓу слободните радикали и антиоксидативниот капацитет. Исто така, регистрирана е и позитивна умерено јака сигнификанта корелација помеѓу слободните радикали и липидната пероксидација, а помеѓу липидната пероксидација и антиоксидативниот капацитет е забележана негативно умерено јака статистички сигнификанта корелација. (Таб. 22)

Во текот на пародонталната болест промените во антиоксидативниот капацитет се резултат на хипер-реактивноста на периферните неутрофили како одговор на Fc гама стимулацијата предизвикана од продукцијата на слободните радикали.

Антиоксидативниот капацитет во серумот кај пациенти со пародонтопатија може да има намалена концетрација како резултат на пречувствителноста на клетките кон штетните ефекти на слободните радикали.

Намалениот антиоксидативен капацитет во серумот настанува поради зголемената оксигена активност во текот на инфламаторниот процес кај пациентите со пародонтална болест и истиот може да биде обновен по спроведен пародонтален третман.

Слободните радикали се несакани меѓупродукти на нормалниот аеробен клеточен механизам со можност за оштетување на разни интраклеточни органели врз кои се темели секоја нормална клеточна функција. Притоа доаѓа до појава на низа заболувања, со последици кои често се карактеризираат со иреверзилен карактер. Клетките се заштитуваат од уништувањето предизвикано од слободните радикали преку дејството на антиоксидантите кои се способни со своите високи концентрации да ги заштитат клетките од оксидативниот стрес.

Во реализираните испитувања на нашиот материјал, за нивото на слободните радикали во гингивалното ткиво кај нашите пациенти (непушачи) регистриравме аналогни резултати како и во крвниот serum. Имено, забележавме зголемување на вредноста на слободните радикали со напредување на клиничкиот стадиум на пародонтопатијата. Нашите резултати, пак, за антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво кај непушачите-пародонтални болни, покажуваат намалување на нивото на антиоксиданси кај вториот и третиот клинички стадиум на пародонтопатија (Табела 1, 2, 3 и 4). Просечната вредноста на антиоксидативниот капацитет кај овие два стадиума на пародонталната болест и припаѓа на средната редукција на антиоксидативната одбрана.

Во прилог на нашите резултати одат и испитувањата на Segal (71), според кој зголеменото ниво на слободните радикали во гингивалното ткиво се во корелација со степенот на инфламацијата. Според него хроничните инфламаторни процеси се поврзани со оксидативен стрес. А во патогенетските механизми се вклучени и неутрофилните леукоцити во кои се создава оксидативна "експлозија", како резултат на зголеменото ниво на слободните радикали. Слободните радикали учествуваат во дигестијата на ензимите ослободени во вакуолите од цитоплазматските гранули.

За да настане зголемена производство на слободни радикали потребно е да се обезбеди минимум еден процент кислороден притисок и pH на средината во пародонталниот цеб од 7 до 7,5 (14).

Во голем број на студии се укажува на поврзаноста на слободните радикали со дисфункцијата на митохондриите, некрозата и апоптозата на клетките (91). Во митохондриите непрекинато се создаваат слободни радикали во присуство на електронски транспортен синџир. При зголемено ниво на слободни радикали и

акумулацијата на железни јони настапува дисфункција на митохондриите и оштетување на нивните структури.

Во биолошките системи слободните радикали во мали количини константно се создаваат во клетките во текот на физиолошките процеси. Фибробластите во перодонталниот лигамент и во гингивата ослободуваат калциумови јони и слободни радикали (14). Фибробластите кои се изложени на дејството на микроорганизмите од денталниот плак имаат поголемо ниво на калциумови јони и зголемена продукција на слободни радикали со што е зголемена остеокластичната активност. Директна улога во ресорпцијата на алвеоларната коска кај пародонталната болест имаат водородните радикали и водородниот пероксид, кои можат да ги разградат протеогликаните присутни во алвеоларната коска и во гингивалното ткиво.

Во текот на пародонталната болест под влијание на пародонтопатогените микроорганизми слободните радикали ослободени од неутрофилните леукоцити ги активираат инфламаторните цитокини, протеинот 1 и нуклеарниот фактор капа бета во сврзнатото ткиво на гингивата и периодонталниот лигамент. Тие предизвикуваат остеокластична активност. Сето ова резултира со оксидативен стрес и оштетување на пародонталните ткива. Процесот е проследен со ослободување на проинфламаторни медијатори, оксидативни продукти, липидна пероксидација и ткивен инхибитор на матриксметалопротеинази.

Дел од теориите за патогенезата на пародонталната болест особено значење им придаваат на промените на крвните садови. Факторите на ризик за пародонтопатијата доведуваат до недостиг на антиоксидативниот систем. Со аеробното разградување на фагоцитите се ослободуваат слободните радикали, кои се акумулираат во гингивалната течност и во ткивото на гингивата. PMNL ги ослободуваат инфламаторните медијатори како што се хидролизин и кинин. Овие материји предизвикуваат фази на дилатација и фази на спазам на капиларната мрежа во гингивата и имунолошки нарушувања. Се јавуваат фази на хипероксија и хипооксија на пародонтот и дифузија на слободните радикали од гингивалното ткиво во алвеоларната коска. Оксидацијата на липидите под дејство на слободните радикали во алвеоларната коска, атеросклерозата на крвните садови во коската и имунолошките механизми предизвикуваат деструкција на колагените влакна и ресорпција на алвеоларната коска.

Во текот на нашето испитување регистриравме просечна вредност на антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво кај групата на пациенти од првиот клинички стадиум на пародонтопатија - непушачи со средна редукција на антиоксидативната одбрана. Во вториот и во третиот клинички стадиум на пародонтопатија утврдивме средна редукција на антиоксидативната одбрана. (Таб. 2, 3 и 4)

Разликата на просечните вредности за слободните радикали и антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво помеѓу контролната група и трите клинички стадиуми на пародонтална болест е статистички сигнификанта за $p < 0,05$. (Таб. 8 и 9)

Нашите резултати се во согласност со Ellis и сор. (23), кои констатирале дека намалувањето на антиоксидативниот капацитет е во корелација со зголемувањето на длабочината на пародонталниот џеб. Податоците на Katsuragi и сор. (43), пак, укажале дека намаленото ниво на антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво има протективен одговор при инфламаторните процеси на гингивата.

Кај пациентите со пародонтопатија Panjamurthy и сор. (62), регистрирале сигнификантно намален антиоксидативен капацитет, а зголемена активност на супероксид дисмутазата во гингивалното ткиво во однос на контролната група.

Во студиите на Petrovich и сор. (64), се истакнува заштитната улога на антиоксидативниот систем насочена кон оксидативното оштетување предизвикано од хидроксилните радикали ослободени од металните јони во пародонталниот џеб, кои се во позитивна корелација со јачината на пародонталната болест.

Намалениот антиоксидативен капацитет сметаме дека може да настане како вроден дефект во синтезата на глутатион редуктазата, кој е контролиран од комплекс на клеточни фактори или од други ендогени и егзогени влијанија, како периодогените микроорганизми присутни во денталниот плак. Поедини микроорганизми како што се фузо бактериите ја разградуваат глутатион редуктазата до хидрогени сулфиди. Овие сулфиди се токсични во пародонталниот џеб и го инхибираат дејството на каталазата. Подоцна оваа активност може да доведе до одреден feed back во NF Бета транскрипцијата на проинфламаторните цитокини и зголемување на ризикот од оштетување на ткивото.

Испитувањата покажале дека антиоксидативната заштита на пародонтот се должи на голем број антиоксиданси, а степенот на заштитата е во зависност од тоа на кој стадиум на оксидативен стрес делуваат. Се смета дека антиоксидантите делуваат синхроно, заедно еден со друг.

Од друга страна, најновите истражувања укажуваат на фактот дека соодветното ниво на антиоксиданси треба строго да се дефинира и да не интерферира со корисната улога на оксидантите како физиолошки медијатори вклучени во фагоцитозата и апоптозата. Во малку состојби реактивните оксигени супстанци можат да пројават и физиолошки функции како супероксидниот анјон во процесот на фагоцитозата, азотниот оксид во регулацијата на васкуларниот тонус и хипохлорестата киселина при инфекции.

Во многу истражувања се истакнува дека пушењето цигари има за последица намалување на антиоксидативниот капацитет, поради што пушењето се вбројува во факторите на ризик за настанување на пародонтална болест. Се смета дека количеството на испушени цигари, како и долготрајноста на пушењето влијаат врз јачината на заболувањето.

Никотинот делува преку неуронските ацетилхолин рецептори во мозокот, кој е одговорен за склоноста кон употребата на цигари.

Во текот на нашето испитување регистриравме зголемено ниво на слободни радикали во серумот кај пушачите со пародонтална болест, при што само во третиот клинички стадиум просечната вредност е во границите на висок оксидативен стрес. За разлика од непушачите, кај пушачите со пародонтопатија во сите три стадиуми на болеста, регистриравме зголемена серумска липидна пероксидација и тоа над референтните вредности. Антиоксидативниот капацитет, кој што го регистриравме во серумот кај пациентите со втор и трет клинички стадиум на пародонтопатија, припаѓаше на средна редукција на антиоксидативна одбрана. (Таб. 5, 6 и 7)

Разликата на просечните вредности, за слободните радикали, липидната пероксидација и антиоксидативниот капацитет во серумот, помеѓу пародонталните болни непушачи и пушачи, е статистички значајна за $p<0,05$. (Таб. 12, 13, 14, 15, 16 и 17)

Во текот на нашето испитување, со помош на X^2 тестот регистриравме статистички сигнификантна зависност единствено помеѓу вредностите на

слободните радикали во серумот и пушењето ($X^2 = 7,247$ и $p=0,0072$). Врз основа на одредувањето на OR (odds ratio) утврдивме дека пушењето ја зголемува можноста за повисоки вредности на слободните радикали во серумот за 11 пати.

И разликата на просечните вредности, за слободните радикали и антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво, помеѓу пародонталните болни непушачи и пушачи, е статистички значајна за $p<0,05$. (Таб. 18, 19, 20 и 21)

Резултатот кој што сакаме да го нагласиме е големата редукција на антиоксидативниот капацитет во ткивото на гингивата кај пушачите, пародонталните болни со трет клинички стадиум на болеста. (Таб. 7)

Нашите резултати се во согласност со наодите на Chang и сор. (9), кои укажуваат на зголеменото ниво на слободните радикали заедно со намаленото ниво на антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво кај пушачите со пародонтопатија.

Добиените резултати во текот на нашето истражување уште еднаш го наметнуваат прашањето: дали пушењето во патогенетските процеси на пародонталната болест предизвикува зголемена продукција на слободни радикали или, пак, го намалува антиоксидативниот капацитет на пародонталните ткива.

Како и да е точниот механизам со кој пушењето придонесува за развојот и клиничките манифестиации на пародонталната болест е се уште непознат.

Малубројни се информациите што ни се на располагање да ни укажат на акутните ефекти од пушењето цигари на нивото на слободните радикали и антиоксидантите во серумот кај пациентите со пародонтопатија. Повеќето истражувања се насочени кон влијанието од акутните ефекти на пушењето врз оксидативниот стрес и инфламацијата на *in vitro* модели и на животни.

Во поедини студии е анализирано дејството на акутните ефекти од пушењето кое предизвикува оштетување на ткивата со зголемено ниво на липидната пероксидација 15 минути по пушењето и зголемено ниво на водороден пероксид 30 минути по пушењето, како и деградација на екстрацелуларните матрикс протеини. Во периферната крв е забележано зголемено ниво на неутрофилни гранулоцити и супресија на еозинофилите. Исто така, намален е бројот на лимфоцити, а во капиларната мрежа бројот на базофилите е намален 10 минути по пушење на две цигари. По 24 часа се зголемува нивото на глутатион

редуктазата, што претставува протективен механизам за клетките против оксидативниот стрес предизвикан од цигарите (40).

Во своите студии Krol (52), го проследил можното влијание на цигарите врз продукцијата на голем број реактивни оксигени супстанци, кое може да предизвика оксидативно оштетување на ендотелните клетки. Овие клетки го синтетизираат азотниот оксид од L-arginine под дејство на ендогените ензими и го регулираат тонусот на крвните садови и локалниот проток на крвта. Намалената концентрација на азотниот оксид е знак за ендотелна дисфункција придрожена со намалена концентрација на аскорбинската киселина кај пушачите, што предизвикува вазоконстрикција на пародонталните ткива.

Кај консументите на цигари се намалува и нивото на мочна киселина, цистеин, метионин со што се зголемува оксидативниот стрес. Ова е придржено со високо ниво на 8 - hidroxydeoxy - guanosine (8-OhdG) и малондиалдехид (MDA) во крвта кај пушачите.

Истражувањата покажале дека 8-OhdG е најзначаен биомаркер за степенот на оксидативното оштетување на DNK. И со анализа на овој маркер е утвредно дека кај пациенти со пародонтопатија неговата концентрација е зголемена во однос на контролната група, која значително се намалува по соодветната терапија.

Со анализа на MDA, крајниот продукт на липидната пероксидација, утврдивме дека во серумот кај пациентите со пародонтална болест настапува зголемување на неговата содржина во однос на контролната група и групата на пациенти кои се непушачи.

Нашите наоди се во согласност со наодите на Garg и сор. (26), кои укажуваат на намалено ниво на липидната пероксидација во серумот кај непушачите во однос на пушачите, што се должи на оштетувањето на виталните структури на клетката.

Треба да се истакне дека пушачите кои пушат подолг временски период и имаат хронично функционално оштетување на ендотелните клетки, исто така, имаат помала антиоксидативна активност во серумот споредено со пациентите кои пушат покус временски период.

Во неколку студии е анализирана концентрацијата на мочната киселина кај пациенти - пушачи со дијагностицирана пародонтална болест, кои

укажуваат на намалената концентрација на овој антиоксиданс во однос на контролната група (3). Овие резултати може да се објаснат со потрошувачката на мочната киселина во неутрализацијата на слободните радикали, чија концентрација прекумерно се создава во оваа состојба. Како последица на оксидативното оштетување на проетиените во локалното ткиво, постои можност мочната киселина да е присутна и во гингивалниот флуид. Мочната киселина е способна да формира комплекси со металните јони и да го намали оксидативниот потенцијал на железото, без оксидативни промени на самата киселина.

Зголемената продукција на слободните радикали кај пушачите е резултат на вдишувањето на чадот од цигарите при што неутрофилните леукоцити директно се изложуваат на токсичните ефекти од никотинот.

Никотинот од цигарите предизвикува промени во фагоцитозата, зголемена продукција на слободни радикали, зголемена експресија на проинфламаторни цитокини, како што се IL-1 и IL-6. Со ова пушачите се изложени на зголемена гингивална вазоконстрикција, фиброза и намален проток на крвта во гингивалното ткиво. Никотинот е цитотоксичен за фибробластите и предизвикува редукција на клеточната пролиферација и на синтезата на протеините (80).

Jeng и сор. (41), истакнале дека токсичните компоненти од цигарите предизвикуваат сигнификантно намалување на ензимската активност на антиоксидандите, како и зајакнување на протективната улога на глутатионот против штетните ефекти од цигарите.

Испитувањата на експериментални животни покажале дека повеќекратното внесување на препарати што содржат глутатион придонесува кон намалувањето на вредностите на пародонталните индекси. Меѓутоа, нивната вистинска вредност во превенцијата и терапијата треба да се потврдат преку клинички студии.

Chang и сор. (10), демонстрирале дека цигарите предизвикуваат намалување на глутатионот во фибробластите и под влијание на пародонтогените микроорганизми создаваат хидрогени сулфиди, со што се активираат инфламаторните цитокини кои предизвикуваат оштетување на пародонталните ткива. Намаленото ниво на глутатионот може да претставува уште еден предиспонирачки фактор за настанувањето на пародонталната болест.

Во заштитата на оралните ткива значајна улога имаат и антиоксидантите во плунката. Во поедини истражувања кај пушачите е анализирана активноста на саливарната пероксидаза. Утврдено е дека нејзината активност кај пушачите се намалува. Како последица се јавува непотполна елиминација на водородниот пероксид од оралната средина и во реакција со останатите радикали и молекули, тој создава пореактивни радикали, кои ги оштетуваат биомолекулите (48).

Врз основа на анализирање на нашите резултати и литературните податоци можеме да одговориме на претходно поставеното прашање. Имено, сметаме дека пушењето, пред се, предизвикува намалување на антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво кај пациентите со пародонтална болест.

Откривањето на реактивните оксигени супстанци со сигурност не ја означуваат појавата на оксидативен стрес кај пациентите со пародонталната болест. Тоа се случува при нарушенa антиоксидативна одбрана и појава на нарушен сооднос помеѓу создавањето на реактивните оксигени супстанци и антиоксидативниот одбранбен механизам. Токму тука ја согледуваме улогата на пушењето како можен фактор кој го нарушува соодносот помеѓу создавањето на реактивните оксигени супстанци и антиоксидативниот одбранбен механизам.

Прикажаните резултати може да имаат и практично значење, бидејќи во превенцијата и лекувањето на пародонталната болест покрај веќе познатите тераписки процедури може да се употребат и егзогени антиоксиданси како што се витамините (A, Ц, Е), со цел да се подобри антиоксидативниот капацитет на испитаниците.

ЗАКЛУЧОЦИ

Од добиените резултати и нивната статистичка обработка можеме да го заклучиме следното:

1. Во реализираните испитувања на нашиот материјал, за нивото на слободните радикали во серумот кај пациентите непушачи забележавме зголемување на вредноста на слободните радикали како што напредуваше клиничкиот стадиум на пародонтопатијата. Нашите резултати за липидната пероксидација кај непушачите со дијагностицирана пародонтопатија, покажаа поголеми вредности во споредба со контролната група, но сепак беа во границите на референтните вредности. Слични вредности забележавме и за антиоксидативниот капацитет во серумот кај нашите испитаници од групата непушачи.

2. Што се однесува до разликите на просечните вредности на слободните радикали, антиоксидативниот капацитет и на липидната пероксидација во серумот кај контролната група, првиот, вториот и третиот клинички стадиум кај пациентите - непушачи со пародонтална болест забележавме дека се статистички сигнификантни за $p < 0,05$.

3. Регистрирана е јака негативна корелација (Pearson-овиот коефициент на корелација) помеѓу слободните радикали и антиоксидативниот капацитет. Исто така, регистрирана е и позитивна умерено јака сигнификанта корелација помеѓу слободните радикали и липидната пероксидација, а помеѓу липидната пероксидација и антиоксидативниот капацитет е забележана негативно умерено јака статистички сигнификанта корелација.

4. При испитување на нашиот материјал, за нивото на слободните радикали во гингивалното ткиво кај непушачите регистриравме аналогни резултати како и во крвниот serum. Забележавме и зголемување на вредноста на слободните радикали со напредување на клиничкиот стадиум на пародонтопатијата. Резултатите за антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво кај непушачите-пародонтални болни, покажуваат намалување на нивото на антиоксиданси кај вториот и третиот клинички стадиум. Просечната вредноста на антиоксидативниот капацитет кај овие

два стадиума на пародонталната болест и припаѓа на средната редукција на антиоксидативната одбрана.

5. Регистриравме просечна вредност на антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво кај пациентите - непушачи од првиот клинички стадиум на пародонтопатија со средна редукција на антиоксидативната одбрана. Во вториот и во третиот клинички стадиум на пародонтопатија регистриравме средна редукција на антиоксидативната одбрана.

6. Забележавме дека разликата на просечните вредности за слободните радикали и антиоксидативниот капацитет во гингивалното ткиво помеѓу контролната група и трите клинички стадиуми на пародонтална болест е статистички сигнификанта за $p < 0,05$.

7. Намалениот антиоксидативен капацитет сметаме дека може да настане како вроден дефект во синтезата на глутатион редуктазата, кој е контролиран од комплекс на клеточни фактори или од други ендогени и егзогени влијанија, како периодогените микроорганизми присутни во денталниот плак.

8. Регистриравме зголемено ниво на слободни радикали во серумот кај пушачите со пародонтална болест, при што само во третиот клинички стадиум просечната вредност е во границите на висок оксидативен стрес. За разлика од непушачите, кај пушачите со пародонтопатија во сите три стадиуми на болеста, регистриравме зголемена серумска липидна пероксидација и тоа над референтните вредности. Антиоксидативниот капацитет во серумот кај пациентите со втор и трет клинички стадиум на пародонтопатија, припаѓа на средна редукција на антиоксидативната одбрана.

9. Разликата на просечните вредности, за слободните радикали, липидната пероксидација и антиоксидативниот капацитет во серумот, помеѓу пародонталните болни непушачи и пушачи, е статистички значајна за $p < 0,05$.

10. Во текот на нашето испитување, со помош на χ^2 тестот регистриравме статистички сигнификантна зависност единствено помеѓу вредностите на слободните радикали во серумот и пушењето ($\chi^2 = 7,247$ и $p=0,0072$). Врз основа на одредувањето на OR (odds ratio) утврдивме дека пушењето ја зголемува можноста за повисоки вредности на слободните радикали во серумот за 11 пати.

11. Антиоксидативната заштита на пародонтот е резултат на голем број антиоксиданси, додека степенот на заштитата зависи од тоа на кој стадиум на оксидативен стрес делуваат. Антиоксидансите делуваат синхроно, заедно еден со друг.

12. Врз основа на изнесените резултати може да се заклучи дека слободните радикали и оксидативниот стрес може да имаат важна улога во патогенетските механизми на пародонталната болест. Во случај на дисбаланс помеѓу продукцијата на слободните радикали и способноста за неутрализација на антиоксидансите доаѓа до оксидативен стрес со кој може да се објасни биохемиската алка на сложените патогенетски механизми за настанување на ова заболување. Покрај тоа, пушењето цигари предизвикува и намалување на антиоксидативниот капацитет што води кон уште поизразено нарушување на рамнотежата меѓу слободните радикали и антиоксидативната заштита.