

# Utjecaj nekirurške parodontološke terapije na mikrobiološki profil, salivarni CRP i oksidacijski stres u slini

---

Hadžić, Zerina

Doctoral thesis / Disertacija

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:127:963111>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial 4.0 International](#)/[Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-26**



Repository / Repozitorij:

[University of Zagreb School of Dental Medicine Repository](#)





Sveučilište u Zagrebu  
STOMATOLOŠKI FAKULTET

Zerina Hadžić

**UTJECAJ NEKIRURŠKE  
PARODONTOLOŠKE TERAPIJE NA  
MIKROBIOLOŠKI PROFIL, SALIVARNI CRP  
I OKSIDACIJSKI STRES U SLINI**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2023.



Sveučilište u Zagrebu  
STOMATOLOŠKI FAKULTET

Zerina Hadžić

**UTJECAJ NEKIRURŠKE  
PARODONTOLOŠKE TERAPIJE NA  
MIKROBIOLOŠKI PROFIL, SALIVARNI CRP  
I OKSIDACIJSKI STRES U SLINI**

DOKTORSKI RAD

Mentor:

izv. prof. dr. sc. Ivan Puhar

Zagreb, 2023.



University of Zagreb  
SCHOOL OF DENTAL MEDICINE

Zerina Hadžić

**IMPACT OF NON-SURGICAL  
PERIODONTAL THERAPY ON MICROBIAL  
PROFILE, SALIVARY CRP AND OXIDATIVE  
STRESS IN SALIVA**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor:

izv. prof. dr. sc. Ivan Puhar

Zagreb, 2023.

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Ivan Puhar, doktor znanosti na Zavodu za parodontologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Rad je ostvaren u Privatnoj stomatološkoj ordinaciji Smile Dent u Sarajevu, BiH.

**Lektor hrvatskog jezika:** Blanka Kolenda, profesorica hrvatskog jezika i književnosti

**Lektor engleskog jezika:** Matea Jovanović Nešić, nastavnica engleskog jezika

### **Sastav Povjerenstva za ocjenu doktorskog rada:**

(za svakog člana Povjerenstva naknadno se rukom na za to predviđeno mjesto upisuju ime i prezime, akademsko zvanje i ustanova)

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_
5. \_\_\_\_\_

### **Sastav Povjerenstva za obranu doktorskog rada:**

(za svakog člana Povjerenstva naknadno se rukom na za to predviđeno mjesto upisuju ime i prezime, akademsko zvanje i ustanova)

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_
5. \_\_\_\_\_

**Datum obrane rada:** \_\_\_\_\_ (upisuje se naknadno rukom)

Rad sadrži:

- 137 stranica
- 9 slika
- 36 tablica
- 1 CD

Rad je vlastito autorsko djelo, koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata korištenih u radu. Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinos autora poslijediplomskog doktorskog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

## *Zahvala*

*Iskreno zahvaljujem svome mentoru izv. prof. dr. sc. Ivanu Puharu, na uloženom vremenu, strpljenju, te nesebičnoj pomoći i stručnom vodstvu tijekom izrade doktorskog rada. Zahvaljujem mu na prijedlozima, savjetima i preporukama koje su pomogle poboljšati kvalitetu istraživanja i rada.*

*Posebno zahvaljujem mojim roditeljima na podršci i pomoći tijekom mog dugogodišnjeg školovanja. Suprugu i sinu Harunu zahvaljujem na ljubavi, podršci i strpljenju tijekom izrade moje doktorske disertacije.*

## Sažetak

Dosadašnja istraživanja daju kontradiktorne dokaze o utjecaju parodontološke terapije na promjene u sustavnom upalnom odgovoru. Cilj istraživanja bio je na standardiziranom uzorku utvrditi razlike u mikrobiološkom profilu, salivarnom CRP-u te parametrima oksidacijskog stresa u slini tri mjeseca nakon provedenih dviju vrsta parodontološke terapije kod ispitanika uparenih po spolu, dobi i parodontološkom statusu.

Ispitivana skupina sastojala se od 16 pacijenata s parodontitisom, a u kontrolnoj skupini bilo je 16 ispitanika s generaliziranim parodontitisom stadija III i IV s minimalno 20 zubi, a parodontni status određen je pomoću standardnih parodontnih indeksa. Kod prve skupine ispitanika provedena je supragingivna i subgingivna terapija po principu *full-mouth* terapije uz upute u oralnu higijenu (ispitivana skupina), dok je kod druge skupine provedena samo supragingivna terapija uz upute u oralnu higijenu (kontrolna skupina). U uzorcima sline određeni su mikrobiološki profil, C-reaktivni protein i parametri oksidacijskoga stresa (8-OHdG, MDA, SOD). Posljednja faza provedena je nakon tri mjeseca te je uključivala ponovnu registraciju svih parodontoloških parametara (PD, RE, CAL, FMPS, FMBS) te ponovno uzimanje uzoraka sline za analizu parametara koji su ispitivani (mikrobiološki profil, salivarni CRP, 8-OHdG, MDA, SOD).

Istraživanjem su dobivene statistički vrlo značajne razlike u vrijednostima kliničkih parametara PD i FMBS, statistički značajna razlika kod parametara RE i CAL za ispitanu skupinu kod kojih je provedena supragingivna i subgingivna nekirurška terapija, u odnosu na kontrolnu skupinu kod koje je provedena supragingivna terapija. Tri mjeseca nakon provedene terapije, salivarni CRP i promatrani parametri oksidacijskoga stresa bili su statistički značajno niži kod ispitivane skupine, a nije postojala statistički značajna razlika u vrijednosti salivarnoga CRP-a u slini ispitivane skupine i kontrolne skupine. Nakon provedene parodontološke terapije vrijednosti parametara oksidacijskoga stresa bili su i dalje viši kod pušača u odnosu na nepušače sa parodontitisom. Sve dobivene vrijednosti ukazuju da provedba parodontološke terapije ima pozitivan učinak na vrijednosti s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa, pri čemu supragingivna i subgingivna terapija pokazuje bolje rezultate u usporedbi sa supragingivnom terapijom.

**Ključne riječi:** parodontitis, biomarker, C-reaktivni protein, oksidacijski stres, slina.

## Summary

**Aim:** Previous research provides conflicting evidence on the impact of periodontal therapy on changes in the systemic inflammatory response. The aim of the study was to determine the differences in microbiological profile, salivary CRP and oxidative stress parameters in saliva on a standardized sample three months after two types of periodontal therapy in subjects matched by sex, age and periodontal status.

**Materials and methods:** The study group consisted of 16 patients with periodontitis, and a control group of 16 subjects with generalized stage III and IV periodontitis with a minimum of 20 teeth, and periodontal status was determined using standard periodontal indices. The first group of subjects underwent supragingival and subgingival full-mouth therapy with instructions on oral hygiene (study group), while the second group received only supragingival therapy with instructions on oral hygiene (control group). Microbiological profile, C-reactive protein and oxidative stress parameters (8-OHdG, MDA, SOD) were determined in saliva samples. The final phase was performed after three months and included re-registration of all periodontal parameters (PD, RE, CAL, FMPS, FMBS) and re-sampling of saliva for analysis of parameters examined (microbiological profile, salivary CRP, 8-OHdG, MDA, SOD).

**Results:** The study revealed statistically significant differences in the values of clinical parameters PD and FMBS, a statistically significant difference in RE and CAL parameters for the study group in which supragingival and subgingival non-surgical therapy was performed, compared to the control group in which supragingival therapy was performed. Three months after therapy, salivary CRP and observed parameters of oxidative stress were statistically significantly lower in the study group, and there was no statistically significant difference in the value of salivary CRP in the saliva of the study group and the control group. After periodontal therapy, the values of oxidative stress parameters were still higher in smokers compared to non - smokers with periodontitis.

**Conclusion:** All obtained values indicate that the implementation of periodontal therapy has a positive effect on the values of s-CRP and oxidative stress parameters, with supragingival and subgingival therapy showing better results compared to supragingival therapy.

**Keywords:** periodontitis, biomarker, C-reactive protein, oxidative stress, saliva.



---

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Parodontitis.....	3
1.1.1. Etiologija parodontitisa .....	3
1.1.2. Mikrobiološki profil .....	4
1.1.3. Patogeneza parodontitisa.....	7
1.2. Oksidacijski stres.....	10
1.2.1. Slobodni kisikovi radikali (ROS) i superoksid dismutaza (SOD).....	11
1.2.2. Fiziološke uloge slobodnih radikala - fagocitoza i apoptoza .....	14
1.2.3. Malondialdehid (MDA).....	15
1.2.4. 8- hidroksideoksiguanozin (8-OHdG).....	17
1.2.5. Parodontitis i oksidacijski stres .....	18
1.3. Biomarkeri i slina .....	22
1.3.1. Biomarkeri.....	22
1.3.2. Biomarkeri u dijagnostici parodontitisa .....	22
1.3.3. Slina.....	24
1.3.4. Uloga sline u patologiji parodonta .....	25
1.3.5. Uzorkovanje sline.....	26
1.3.6. Tehnike analiziranja uzoraka sline .....	27
1.3.7. Dijagnostički potencijal sline .....	28
1.4. Proteini akutne faze u slini .....	29
1.4.1. C-reaktivni protein (CRP) u slini .....	29
<b>2. CILJEVI I SVRHA ISTRAŽIVANJA</b> .....	31
<b>3. ISPITANICI I METODE</b> .....	33
3.1. Ispitanici .....	34

---

3.2. Metode.....	35
3.3. Statistička obrada podataka.....	37
<b>4. REZULTATI .....</b>	<b>39</b>
4.1. Opći podatci o ispitanicima.....	40
4.2. Parodontološki parametri .....	42
4.3. Mikrobiološki profil u slini .....	44
4.4. Salivarni CRP i parametri oksidacijskog stresa u slini .....	47
4.5. Korelacije parodontoloških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa .....	49
4.6. T-test s dva uzorka uz pretpostavku nejednakih varijanci .....	57
4.6.1. T-test parodontoloških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa ispitivane skupine i kontrolne skupine na početku istraživanja .....	57
4.6.2. T-test parodontoloških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa ispitivane skupine i kontrolne skupine tri mjeseca nakon terapije .....	61
4.7. T-test za srednje vrijednosti uparenih dvaju uzorka.....	66
4.7.1. T-test parodontoloških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa ispitivane skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije .....	66
4.8. Parodontološki parametri, mikrobiološki profil, s-CRP i parametri oksidacijskoga stresa kod pušača i nepušača .....	75
4.8.1. Parodontološki parametri, mikrobiološki profil, s-CRP i parametri oksidacijskoga stresa kod nepušača u ispitivanoj skupini na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije .....	75
4.8.2. Parodontološki parametri, mikrobiološki profil, s-CRP i parametri oksidacijskoga stresa kod pušača u ispitivanoj skupini na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije .....	76
4.8.3. T-test za parodontološke parametre, mikrobiološki profil, s-CRP i parametre oksidacijskoga stresa kod nepušača i pušača u ispitivanoj skupini.....	77

---

4.8.4. Parodontološki parametri, mikrobiološki profil, s-CRP i parametri oksidacijskoga stresa kod nepušača u kontrolnoj skupini na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije.....	79
4.8.5. Parodontološki parametri, mikrobiološki profil, s-CRP i parametri oksidacijskoga stresa kod pušača u kontrolnoj skupini na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije .....	81
4.8.6. T-test za parodontološke parametre, mikrobiološki profil, s-CRP i parametre oksidacijskoga stresa kod nepušača i pušača u kontrolnoj skupini .....	83
4.9. Korelacija parodontoloških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa u ispitivanoj i kontrolnoj skupini pomoću izvedenih delta ( $\Delta$ ) varijabli.	84
<b>5. RASPRAVA.....</b>	<b>86</b>
<b>6. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>99</b>
<b>7. LITERATURA .....</b>	<b>102</b>
<b>8. ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>123</b>

## Popis skraćenica

<b>CRP</b>	C-reaktivni protein (eng. <i>C-reactive protein</i> )
<b>ROS</b>	slobodni kisikovi radikali (eng. <i>reactive oxygen species</i> )
<b>MCP-1</b>	monocitni hemoatraktivni protein tip 1 (eng. <i>monocyte chemoattractant protein-1</i> )
<b>DNK</b>	deoksiribonukleinska kiselina (eng. <i>deoxyribonucleic acid</i> )
<b>RNK</b>	ribonukleinska kiselina (eng. <i>ribonucleic acid</i> )
<b>SOD</b>	superoksid dismutaza (eng. <i>superoxide dismutase</i> )
<b>TNF</b>	faktor tumorske nekroze (eng. <i>tumor necrosis factor</i> )
<b>NADPH</b>	nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (eng. <i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i> )
<b>MDA</b>	malondialdehid (eng. <i>malondialdehyde</i> )
<b>8-OHdG</b>	8- hidroksideoksiguanozin (eng. <i>8-hydroxy-2'-deoxyguanosine</i> )
<b>ALP</b>	alkalna fosfataza (eng. <i>alkaline phosphatase</i> )
<b>ELISA</b>	enzimski povezani imunosorbentni test (eng. <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i> )

## **1. UVOD**

Parodontitis predstavlja jednu od najčešćih bolesti čovjeka i glavni je uzrok gubitka zubi nakon četrdeset i pete godine života, a karakterizira ga upala i destrukcija potpunoga aparata zuba. Ključnu ulogu u njegovu nastanku igraju mikroorganizmi dentalnoga plaka. U dentalnom plaku detektirano je više od 500 vrsta bakterija (1) međutim, samo neke od njih, poput *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia* i *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dovode se u vezu s bolestima parodonta (2). Iako je uloga mikroorganizama u nastanku parodontnih bolesti od presudnog značaja, stupanj destrukcije parodontnih tkiva posljedica je interakcije mikrobioloških čimbenika i imunosnoga odgovora domaćina (3). Važnu ulogu imaju neke sustavne bolesti i čimbenici rizika, prije svega: pušenje, dob, genetika, spol i socioekonomski čimbenici (4).

Dijagnoza parodontitisa najčešće se temelji na kliničkim mjerenjima, međutim, napretkom tehnologije traže se i druge mogućnosti dijagnostike i praćenja. Zapravo, ocijenjene su različite vrste biomarkera, gdje su kao izvor uzorka upotrijebljene različite biološke tekućine. U novijim se istraživanjima pozornost usmjerava na utjecaj parodontološke terapije na vrijednosti mjerljivih parametara upale u slini te mogućoj upotrebi tih analiza za *screening* i praćenje parodontne bolesti.

Poznato je da parodontitis uzrokuje upalni odgovor te da parametri upale, kao što su interleukin-6 i CRP, mogu biti pronađeni u povišenim koncentracijama kako u gingivnom tkivu i slini tako i u serumu (5). Slina je važna fiziološka tekućina koja u posljednje vrijeme brzo dobiva na popularnosti kao dijagnostički alat.

U području parodontologije, tradicionalni klinički kriteriji često nisu dovoljni za utvrđivanje mjesta aktivne bolesti, za praćenje odgovora na terapiju ili za mjerenje stupnja osjetljivosti na buduće napredovanje bolesti. Slina, kao ogledalo oralnog i sustavnog zdravlja, vrijedan je izvor za klinički relevantne informacije jer sadrži biomarkere specifične za jedinstvene fiziološke aspekte parodontnih bolesti (6). Predloženi dijagnostički markeri sline za parodontitis uključuju komponente seruma i sline, kao što su imunoglobulini, citokini, enzimi, bakterijske komponente ili proizvodi, interleukini i slično.

Dosadašnja istraživanja daju kontradiktorne dokaze o utjecaju parodontološke terapije na promjene u sustavnom upalnom odgovoru. Tako istraživanja pokazuju da kirurška parodontološka terapija dovodi do smanjenja vrijednosti markera upale u roku od mjesec dana i bitno smanjenje markera upale tijekom idućih šest mjeseci (7). Podaci o utjecaju supragingivne i subgingivne nekirurške parodontološke terapije na vrijednosti markera upale u slini dosta su oskudni, što njihovo istraživanje čini još interesantnijim.

## **1.1. Parodontitis**

### **1.1.1. Etiologija parodontitisa**

Parodontitis je multifaktorna kronična upalna bolest koju karakterizira propadanje tkiva koje podupire zub, inicirano od specifičnih bakterija biofilma. Parodontitis je kronična upalna bolest koja ugrožava integritet tkiva koje podupire zube, što uključuje gingivu, parodontni ligament, zubni cement i alveolarnu kost. Glavni etiološki čimbenik za nastanak parodontne bolesti je zubni plak-biofilm s mikroorganizmima, a imunosni odgovor domaćina uvelike određuje smjer bolesti. Čimbenici koji doprinose nastanku i progresiji parodontne bolesti su čimbenici okoline i genetski čimbenici, a neki od njih su: pušenje, sistavne bolesti kao što su dijabetes, hematološke i granulomatozne bolesti, neoplastične bolesti, upotreba imunosupresiva (8,9).

Patogene bakterije glavni su uzročnici u pokretanju i napredovanju parodontitisa. Međutim, patogeni ne uzrokuju izravno destrukciju, nego oštećenje nastaje kao rezultat složene interakcije mikrobiološkog utjecaja i imunoupalnih odgovora domaćina (10). Proces karakterizira dugoročno oslobađanje slobodnih kisikovih radikala (ROS) i neutrofilnih enzima.

Kod parodontitisa dolazi do opsežnog uništavanja parodontnoga ligamenta i alveolarne kosti s formiranjem džepa, gingivnom recesijom ili oboje, a klinički prisutnost prepoznatljivoga gubitka pričvrstka u parodontitisu razlikuje ga od gingivitisa (11). Prisutan je i gubitak parodontnoga ligamenta, njegove veze na cement zuba, kao i resorpcija alveolarne kosti.

### 1.1.2. Mikrobiološki profil

Glavni etiološki čimbenik nastanka parodontitisa jesu patogene bakterije. Istraživanja su pokazala da se u zubnome plaku nalazi više od 500 vrsta mikroorganizama (1). Za nastanak i progresiju parodontitisa kao najvažniji mikroorganizmi navedeni su: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia* i *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (2), a imunosni odgovor organizma i mikrobiološki čimbenik utječu na stupanj oštećenja parodontnih tkiva skupa s ostalim etiološkim čimbenicima parodontitisa. Kao važni etiološki čimbenici navedeni su i spol, starost, pušenje, genetika ali i socioekonomski uvjeti (4).

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* je Gram negativna, fakultativno anaerobna bakterija iz porodice *Pasteurellaceae*, koja se smatra jednim od glavnih uzročnika parodontitisa kod mladih osoba (12). Čimbenici virulencije uključuju čimbenike koji potiču kolonizaciju i inflamaciju, čimbenike koji djeluju na destrukciju tkiva domaćina i čimbenike koji blokiraju mehanizme reparacije oštećenih tkiva (13). Neki od tih čimbenika su: eksopolisaharidi, leukotoksin, EmaA adhesion, Aae autotransporter adhesin (14,15). Interakcija imunosnoga odgovora domaćina i čimbenika virulencije *A. actinomycetemcomitans* određuje proces resorpcije kosti kod parodontitisa. Kada budu izloženi obrambenom odgovoru imunosnoga sustava domaćina, čimbenici virulencije *A. actinomycetemcomitans* proizvode proupalne citokine koji poticanjem infiltracije upalnih stanica dovode do destrukcije parodontnih tkiva (16). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* može se smatrati oportunističkim patogenom koji stvara niz potencijalnih čimbenika virulencije, uključujući RTX leukotoksin povezan sa sekrecijskim sustavom tipa IV, a doprinosi adheziji bakterija, kao i citoletalnom distancirajućem toksinu koji mijenja stanice domaćina, npr. imunološke stanice i izlučeni kaperonin koji može aktivirati leukocite i inducirati resorpciju kosti (17). Osim toga, producira i niz proteina koji mijenjaju ciklus stanica domaćina i induciraju različite protuupalne citokine i kemokine (18).

*Prevotella intermedia* su anaerobne Gram-negativne bakterije čija je virulencija i proteolitička aktivnost niža u odnosu na bakterije kao što je *P.gingivalis*. *Porphyromonas endodontalis* je Gram-negativna anaerobna bakterija koja se primarno nalazi kod infekcija pulpe i kanalnog sustava korijena zuba, ali je izolirana i iz tonzila, površine jezika, i parodontnih džepova (19). Nekoliko studija povezalo je taj mikroorganizam s kroničnim parodontitisom (20,21).



Bakterijski kompleks nazvan „crveni kompleks“ koji čine *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* i *Tannerella forsythia*, snažno je povezan s uznapredovalim lezijama parodonta (22). Dok su parodontopatogene bakterije glavni etiološki čimbenik parodontitisa, destrukcija parodontnih tkiva u osnovi je rezultat imunosnoga odgovora domaćina na djelovanje bakterija. Pripadnici crvenog kompleksa su Gram-negativne anaerobne bakterije koje izražavaju više čimbenika virulencije koji omogućuju bakterijama kolonizaciju subgingivnih mjesta, narušavanje obrambenoga sustava domaćina, uništavanje parodontnoga tkiva, kao i promicanje imunosupresivnoga odgovora domaćina. Ovaj kompleks mikroorganizama smatra se najvažnijim kompleksom u progresiji parodontne bolesti jer se članovima tog kompleksa povećava broj i prevalencija s pogoršanjem kliničkih parametara parodontne bolesti.

Studije povezuju bakterije crvenog kompleksa s kroničnim parodontitisom i progresijom parodontne bolesti (23). Većina studija bakterijske koagregacije u oralnim biofilmovima usredotočena je na sposobnost patogenih vrsta, kao što je *P.gingivalis*, da se vežu za rane ili premošćujuće kolonizatore u složenoj mikrobnoj ekologiji dentalnog plaka. Iako opća literatura podržava snažnu koagregaciju između *P. gingivalis* i *F. nucleatum* kao važnog premošćujućeg mikroorganizma u subgingivnoj mikroflori, nisu svi sojevi tih vrsta sposobni za ovu interakciju. S odabranim parovima čini se da galaktoza može specifično inhibirati proces vezivanja, a *F. nucleatum* posjeduje mjesto adhezije koje veže galaktozu i koje posreduje u aktivnostima koagregacije s *P. gingivalis*, kao i drugim mikroorganizmima biofilma (24). Prikupljeni su i dokazi koji ukazuju na to da *F. nucleatum* ovim interbakterijskim interakcijama u biofilmu olakšava opstanak obligatnih anaerobnih bakterija u okruženju s kisikom (25).

*Tannerella forsythia* je Gram-negativna, nepigmentirajuća i nemobilna anaerobna bakterija, a studije su je povezale s uznapredovalim oblicima parodontne bolesti, uključujući teške oblike parodontitisa (26) i parodontitisom kod pušača (27). Nadalje, nedavno istraživanje pokazalo je kako je vjerojatnije da infekcija *T. forsythia* uzrokuje parodontitis kod žena s prekomjernom težinom nego kod žena s normalnom težinom (28), a smatra se i da prekomjerna tjelesna težina utječe na prekomjeren rast *T. forsythia*, čime su ti pojedinci izloženi većem riziku od razvoja parodontne bolesti (29). Patogeneza infekcije *T. forsythia* još uvijek nije točno poznata, a do sada je poznato nekoliko čimbenika virulencije *T. forsythia*. Protein vanjske membrane BspA je poznati čimbenik virulencije, a njegova uloga je vezivanje za fibronektin i druge komponente ekstracelularnog matriksa (30), vezivanje za epitelne stanice, koagregacija sa *F. nucleatum* (31).

Drugi poznati čimbenik virulencije je površinski (S-) sloj, sastavljen od dva velika odvojena glikoproteina koji je medijator hemoglutinacije, invazije/adherencije, a ujedno ima i protektivnu funkciju (32). *T. forsythia* posjeduje i enzimske hidrolitičke aktivnosti, uključujući sijalidazu i proteazu nalik tripsinu (33).

Istraživanja su pokazala da su spirohete i crno-pigmentirani bakteroidi povezani s kroničnom parodontnom bolešću odraslih osoba (34). *Treponema denticola* je identificirana kao specifična komponenta subgingivnog plaka koja je kvantitativno povišena kod teškog parodontitisa (35). *T. denticola* je obligatorno anaerobna Gram-negativna bakterija koja se ne detektuje u zdravoj usnoj šupljini sa zdravim parodontnim tkivima. Smatra se da ta brzopokretna bakterija čini i do 50% ukupnoga broja bakterija prisutnih u jednoj parodontnoj leziji (36), a utvrđena je i pozitivna veza između postotka ove spirohete u parodontnim džepovima i kliničkih parodontoloških parametara, krvarenja na sondiranju, gubitka pričvrstka, povećanja gingivnoga eksudata i povećanja zubnih naslaga (37). Jedna od karakteristika tog mikroorganizma je koagregacija sa *P.gingivalis* koja je posredovana sa proteinom dentilisinom kojim se ta spiroheta veže za fimbrije *P.gingivalis*. Moguće je da upravo ta veza putem koagregacije omogućava prijenos *P.gingivalis* u dublje regije parodontnoga džepa koje su povoljne za rast ovog anaerobnog organizma, a ujedno joj pruža i bolju nutritivnu sredinu za reprodukciju. Kao i druge parodontnopatogene bakterije, i *T. denticola* ima sposobnost vezivanja za niz površina, uključujući površinu zuba, stanice domaćina kao što su fibroblasti u gingivi, proteine ekstracelularnoga matriksa kao što je heparin, fibronektin i laminin (38).

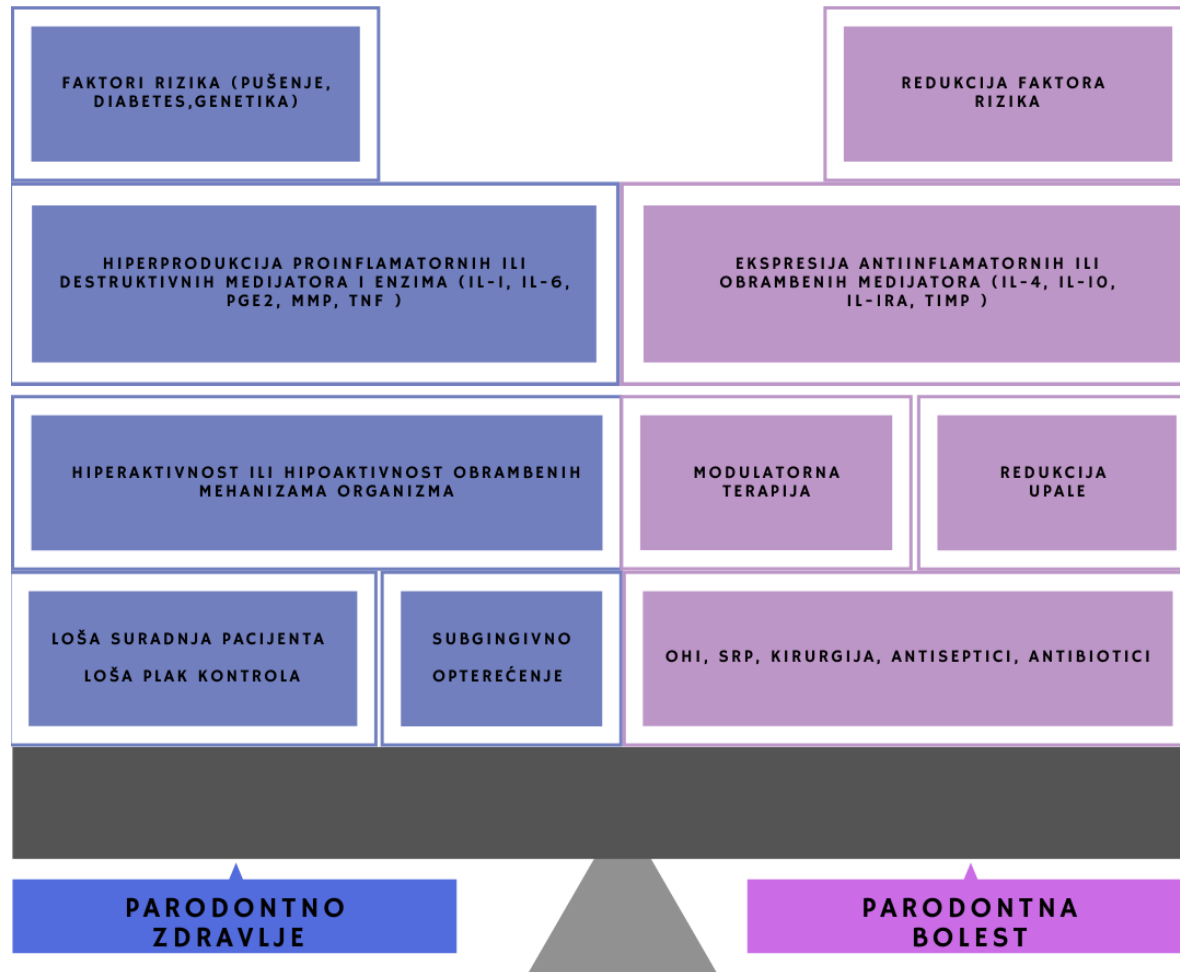
*Porphyromonas gingivalis* je također jedan od mikroorganizama koji je predložen kao marker za parodontitis, a Slots i sur. su još davne 1984. godine sugerirali da se parodontološko liječenje treba nastaviti sve dok se spirohete i *P.gingivalis* mogu detektirati kod pacijenta (39). *P.gingivalis* i *T. forsythia* su vrlo povezane bakterije u subgingivnom plaku parodontnih džepova različite dubine sondiranja (40), a ove bakterije crvenoga kompleksa pronađene su u dubokim parodontnim džepovima i velikim parodontnim lezijama (41), posebice kod odraslih osoba sa parodontitisom (42). *P.gingivalis* je Gram-negativna, mala crno-pigmentirana anaerobna bakterija koja ima specifičnu strukturu koja joj daje mogućnost interakcije sa domaćinom. Glavna karakteristika *P.gingivalis* je sposobnost adherencije i invazije na niz različitih vrsta stanica i tkiva, za što koristi više bakteroidnih komponenti: lipopolisaharide, proteaze, hemaglutinine i fimbrije (43). Interakcija *P.gingivalis* koagregacijom sa bakterijama kao što su *F. nucleatum* i *Streptococcus* spp,

omogućava ovim bakterijama uspješnu kolonizaciju subgingivnih struktura. Fimbrije *P.gingivalis* su tanke, duge proteinske strukture lokalizirane na vanjskoj membrani *P.gingivalis*, i daju tom mikroorganizmu sposobnost da se veže sa različitim strukturama domaćina, uključujući hemoglobin, makromolekule slina, fibroblasti, ekstracelularni matrix i epitelne stanice (44,45). *P.gingivalis* je mikroorganizam sposoban ometati funkcioniranje mreže citokina koji su nužni za održavanje parodontnoga zdravlja, sposoban je mijenjati lučenje interleukina-8, MCP-1 proteina i hemokina (46) te time utjecati na aktivnost polimorfonuklearnih leukocita na mjestu infekcije, a izostanak aktivnosti tih stanica, što može dovesti do zakašnjele reakcije imunostoga sustava kod parodontnih bolesti.

### **1.1.3. Patogeneza parodontitisa**

Parodontitis je upalna bolest koju karakterizira gubitak veze parodontnoga ligamenta tkiva i koštanoga tkiva oko zuba, zajedno sa stvaranjem parodontnih džepova zbog apikalne migracije spojnoga epitela. Upala tkiva gingive prvi je znak parodontne bolesti, obično kao odgovor na akumulaciju zubnoga plaka.

Depoziti bakterija i njihovi štetni metabolički produkti, poput kiselina i endotoksina, aktivne su komponente zubnoga plaka i smatraju se glavnim uzrokom nastanka karijesa i parodontitisa (47). Iako same bakterije plaka mogu izravno uzrokovati promjene na parodontnim tkivima, sada je poznato da imunostni odgovor organizma kao odgovor na postojanje bakterija plaka, producira razorne citokine i enzime čije djelovanje rezultira oštećenjem tkiva parodonta. Utvrđeno je da ozbiljnost parodontne bolesti ovisi o dinamičkoj ravnoteži interakcija mikroba i upalnoga odgovora domaćina (48). Da bismo dijagnosticirali i liječili parodontne bolesti, potrebna nam je jasna slika patogeneze bolesti. Bakterije plaka, zajedno sa svojim metaboličkim produktima kao što su endotoksini, djeluju izravno na epitel tkiva i uzrokuju stvaranje proteaza koje uzrokuju oštećenje tkiva (49). Infekcija uzrokuje povećanje propusnosti epitela, a bakterije zajedno sa svojim metaboličkim produktima dopiru do subepitelnoga vezivnog tkiva. Stanice epitelnoga i vezivnoga tkiva reagiraju na prisutnost bakterija i njihovih metaboličkih produkata stvaranjem medijatora upalnoga odgovora, koji potiču upalni odgovor tkiva. Produkti mikroorganizama dovode i do povećanoga nakupljanja proupalnih stanica iz cirkulacije i krvnih žila.



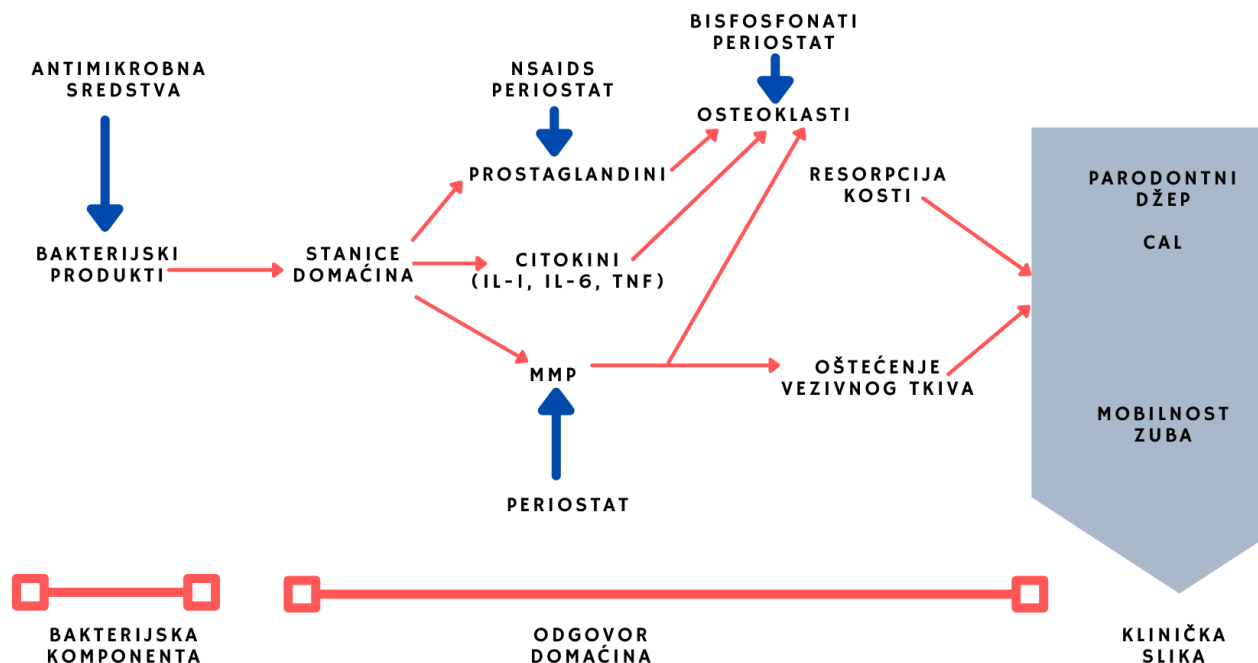
Slika 1. Ravnoteža parodontnog zdravlja i bolesti. Prilagođeno prema "Carranza's Clinical Periodontology", Newman, Takei, Klokkevold, Carranza, 10 izdanje, WB Saunders Company; 2006:275-82.

Neutrofili i polimorfonuklearne stanice su na početku dominirajuće stanice u samoj reakciji parodontnih tkiva (50). Imunosni odgovor organizma u parodontnom tkivu je oslobađanje proupalnih citokina, IL-1, TNF- $\alpha$  i IL-6. Polimorfonuklearne stanice na mjestu upalne reakcije također imaju funkciju bakterijske fagocitoze i njihova uništavanja. U početku takve upalne reakcije uključuju samo gingivno tkivo i obrambena su reakcija organizma protiv bakterija i

njihovih metaboličkih produkata. Ako infekcija traje, upalni se odgovor širi na ostala tkiva parodontnoga aparata, uključujući vezivno tkivo i alveolarnu kost, a monociti i limfociti sudjeluju tijekom same upalne reakcije. Monociti i makrofagi, kao odgovor na bakterijske endotoksine, stvaraju visoku razinu prostaglandina poput PGE<sub>2</sub>, TNF- $\alpha$  i interleukina IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  te IL-6 (51).

Ako se upalna reakcija nastavi i širenje upalne reakcije apikalno napreduje, sam proces uključuje osteoklaste koji kao odgovor na visoke razine prostaglandina, TNF- $\alpha$  i interleukina dovode do resorpcije alveolarne kosti. Visoka razina proupalnih medijatora obično je u ravnoteži s povećanom produkcijom protuupalnih medijatora poput IL-4 i IL-10 (52). U normalnim uvjetima, protuupalni medijatori su u ravnoteži sa proupalnim medijatorima, kontrolirajući tako sam proces destrukcije tkiva. U slučaju neravnoteže i povećane razine proupalnih medijatora dolazi do uništavanja vlakana parodontnoga ligamenta i resorpcije alveolarne kosti. Ako se ta upalna reakcija ne zaustavi, dolazi do sve većega uništavanja ligamentnih vlakana. Parodontni džepovi postaju sve dublji, vidljiv je gubitak adhezije gingive, a gubitak kosti vidljiv je na rendgenu.

Ako se razvila parodontna bolest, upravo ti posrednici upalnoga odgovora citokini i prostaglandini, kao i bakterije, ulaze u sustavnu cirkulaciju te i do same jetre gdje se proteini akutne upalne reakcije, kao što su C reaktivni protein, fibrinogen, haptoglobin, smatraju biomarkerima sustavnih upalnih bolesti. Ta nam činjenica govori o utjecaju parodontnih bolesti na cijeli organizam i njegovoj povezanosti s pojavom bolesti drugih organskih sustava poput kardiovaskularnih bolesti, komplikacija u trudnoći, komplikacija kod *diabetes mellitus* itd. (53, 54).



Slika 2. Medijatori upalne reakcije kod parodontne bolesti. Prilagođeno prema "Carranza's Clinical Periodontology", Newman, Takei, Klokkevold, Carranza, 10 izdanje, WB Saunders Company; 2006:275-82.

## 1.2. Oksidacijski stres

Helmut Sies je 1985. godine dao definiciju oksidacijskoga stresa u kojoj je oksidacijski stres definirao kao poremećaj u kojem slobodni radikali prevladavaju nad antioksidansima, uzrokujući oštećenje važnih staničnih makromolekula (proteina, lipida, ugljikohidrata i DNK)(55).

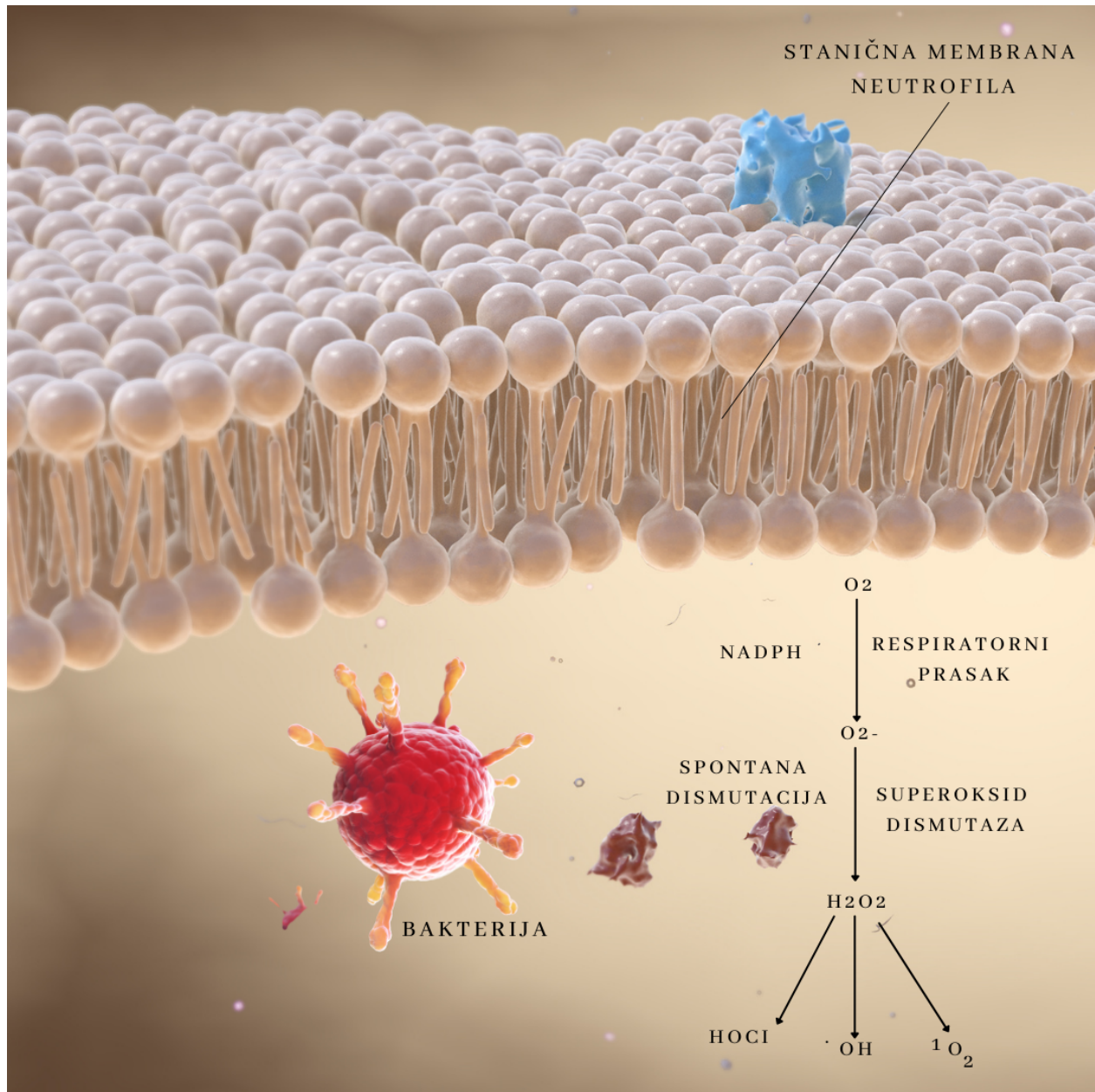
Reakcije redoksa (redukcije i oksidacije) su česta pojava u svim stanicama. Neravnoteža između procesa redukcije i oksidacije može dovesti do oksidacijskoga stresa u stanici koji je uništava. Proces oksidacije dio je regulatornoga biokemijskog funkcioniranja ljudskog tijela u procesu proizvodnje energije koja je nužna za život. Tijekom normalnih metaboličkih procesa stvaraju se slobodni radikali koji su uključeni u uobičajene biološke procese, ali mogu u nekontroliranim uvjetima uzrokovati oksidacijsko oštećenje stanica. Slobodni se radikali neprestano stvaraju u tijelu i u malim koncentracijama izvršavaju svoju fiziološku ulogu u regulaciji signalnih putova unutar stanice i među stanicama, fagocitozi, aktivaciji leukocita, u sintezi esencijalnih bioloških spojeva i

proizvodnji energije, staničnom rastu i programiranoj staničnoj smrti - apoptozi (56). Međutim, u situaciji povećanoga stvaranja i/ili neadekvatnoga uklanjanja slobodnih radikala, redoks homeostaza stanice je poremećena i stvara se negativan učinak, odnosno dolazi do pojave oksidacijskoga stresa. Na taj način stvoreni "višak" slobodnih radikala uzrokuje oštećenje staničnih lipida, proteina i nukleinskih kiselina. Patološki učinak slobodnih radikala očituje se u mogućem mijenjanju transdukcije signala i ekspresije gena (57). Oksidacijska oštećenja nastaju ili povećanom proizvodnjom slobodnih radikala ili nedovoljnom učinkovitošću sustava antioksidacijske zaštite.

Otkriveno je da slobodni radikali sudjeluju u patogenezi *diabetes mellitus*, arterioskleroze, HIV infekcije, autoimunih, neurodegenerativnih, malignih, upalnih i mnogih drugih bolesti.

### **1.2.1. Slobodni kisikovi radikali (ROS) i superoksid dismutaza (SOD)**

Slobodni kisikovi radikali (ROS) smatraju se važnima za brojne stanične procese kao vrsta signalnih molekula koje potječu iz molekularnoga kisika uzrokujući oštećenja lipida, proteina i DNK stanice. Takav učinak ROS-a može se jedino zaustaviti neutralizacijom antioksidacijskim tvarima. Kod izostanka neutralizacije, povišene vrijednosti ROS-a dovode do oksidacijskoga stresa koji je uključen u patogenezu brojnih oboljenja kao što su dijabetes i kardiovaskularne bolesti (58). Osnovne fiziološke funkcije slobodnih radikala su fagocitoza, transdukcija signala i apoptoza. Slobodni kisikovi radikali (ROS) predstavljaju prvu crtu obrane protiv infektivnih uzročnika. Najvažniji izvor formiranja ROS-a je stanični proces disanja, odnosno proces oksidacijske fosforilacije u mitohondrijama. Od ukupnoga utrošenog molekularnog kisika ( $O_2$ ) prilikom procesa oksidativne fosforilacije 90% dopijeva u mitohondrije, gdje se tijekom staničnoga disanja događa četvero-elektronsko smanjenje  $O_2$  u  $H_2O$ , a oslobođena energija koristi se za sintezu adenozin trifosfata (ATP). Zbog slabih veza između elektrona i odgovarajućih enzima koji su uključeni u njihov prijenos, dolazi do istjecanja elektrona i stvaranja ROS-a (59). Tijekom staničnog disanja, 2% kisika ne podliježe potpunoj redukciji na  $H_2O$  te sudjeluje u stvaranju ROS-a.

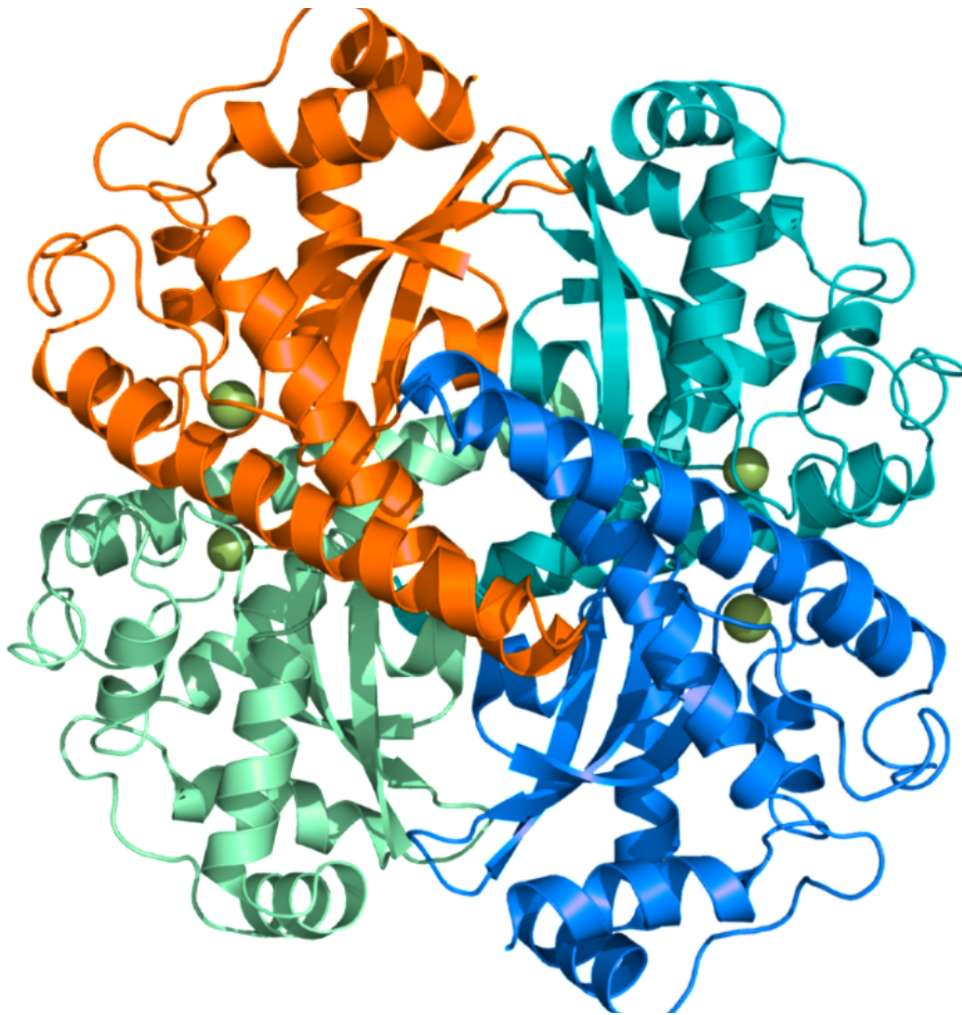


Slika 3. Proizvodnja slobodnih kisikovih radikala kod parodontitisa. Prilagođeno prema: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2017.00910/full>.

Nakon internalizacije patogena, neutrofilni proizvode  $O_2$  metaboličkim putem nazvanim "respiratorni prasak" uz NADPH-oksidadu. Nastali  $O_2$  se može pretvoriti u vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ) superoksid dismutasom ili spontanom dismutacijom.  $H_2O_2$  se može nadalje pretvoriti u različite derivate, kao što su hipokloralna kiselina (HOCl), hidroksilni radikal ( $\cdot OH$ ) i singletni kisik ( $^1O_2$ ).



Superoksid dismutaza je enzim koji superoksidne anionske radikale pretvara u manje aktivan spoj vodikova peroksida te u fiziološkim uvjetima na taj način blokira negativno djelovanje superoksid anionske radikale. Prvi put su ga izolirali Mann i Keilis 1938. godine iz goveđe krvi (hemokuprein), a njegovo enzimsko djelovanje dokazao je 1969. godine Mc. Cord i Fridovich te su ga nazvali superoksid dismutaza (60,61). Zanimanje i znanje o tom enzimu neprestano raste, a njegova uloga u organizmu je tema brojnih istraživanja.



Slika 4. Molekularna struktura superoksid dismutaze. Prilagođeno prema humanom tetrameru superoksid dismutaze.

Izoenzimi superoksid dismutaze nalaze se u mitohondrijama (mitohondrijska SOD-MnSOD), citosolu (citosolna SOD-CuZnSOD) te na površini stanica. Svaki od tih enzima vrši ulogu katalizatora u istoj reakciji, ali svaki od njih ujedno ima svoju specifičnu ulogu i mjesto djelovanja. Njegovo antioksidacijsko djelovanje je stoga vrlo bitno i u fiziološkim uvjetima taj enzim adekvatno kontrolira redoks reakcije. Citosolna CuZnSOD je najznačajniji i najaktivniji oblik superoksid dismutaze i čini 50-80% aktivnosti SOD-e. Cink kao suplement bitno podiže razinu obrane protiv infekcije i to indukcijom aktivnosti upravo tog enzima (62). Mitohondrijska SOD-MnSOD sadrži mangan kao kofaktor i nalazi se u mitohondrijama anaerobnih stanica te ima vrlo važnu ulogu u obrani od oksidacijskoga stresa s obzirom da su mitohondriji glavno mjesto stvaranja superoksida u staničnom disanju. Njegova aktivnost se povećava s povećanjem razine oksidacijskoga stresa.

### **1.2.2. Fiziološke uloge slobodnih radikala - fagocitoza i apoptoza**

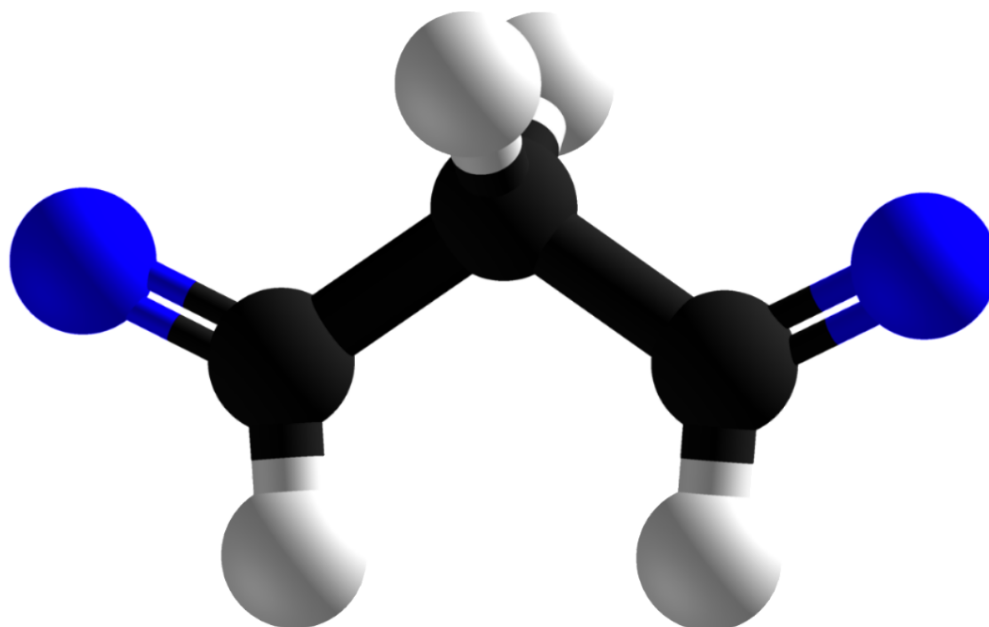
Tijekom procesa fagocitoze, koji je jedna od tri fiziološke funkcije slobodnih radikala u aktiviranim polimorfonuklearnim leukocitima i makrofazima, dolazi do "oksidacijske eksplozije" zbog čak 20 puta povećane potrošnje  $O_2$  i prekomjerne proizvodnje  $O_2$ , povećane proizvodnje vodikova peroksida ( $H_2O_2$ ) i drugih ROS-a s ciljem uništavanja mikroorganizama. Po ulasku stranog tijela u fagocit počinje reakcija fagocitoze sa oksidacijskom eksplozijom. Pod djelovanjem NADPH oksidaze, citokini - interleukin 1 i TNF (čimbenik nekroze tumora) stimuliraju taj proces. Konkretno, NADPH oksidaza kao davatelj elektrona katalizira jednostruku elektronsku redukciju kisika u superoksidni anionski radikal. Tijekom procesa oksidacijskoga raspada, oko 90% kisika u fagocitima pretvara se u superoksidni anionski radikal. U reakciji dviju molekula smanjuje se anionski radikal superoksida, a drugi se oksidira da bi se dobio vodikov peroksid i kisik. Sinteza vodikova peroksida u fagocitima također je olakšana izravnim dvogodišnjim smanjenjem molekularnoga kisika. Interakcija superoksidnog anionskog radikala i vodikova peroksida stvara hidroksilni radikal, a interakcija superoksida i dušikova monoksida stvara peroksnitritni radikal (63). Superoksidni radikal u fagocitima uništava fagocitne čestice inaktivacijom membranskih lipida, unutarstaničnih proteina (enzima i receptora), deoksiribonukleinske (DNK) i ribonukleinske

kiseline (RNK). Dakle, liza fagocitozirane bakterijske stanice nastaje za 30 do 60 minuta, a za potpuno uništavanje bakterija potrebna je prisutnost enzima proteaza.

Osim fagocitoze i transdukcije signala, slobodni radikali igraju značajnu fiziološku ulogu i u procesu apoptoze. Apoptoza predstavlja poseban oblik programirane stanične smrti koji je nezamjenjiv čimbenik u razvoju i homeostazi višestaničnih organizama (64). Krajnji cilj tog procesa je uništenje suvišnih ili oštećenih stanica bez izazivanja upalnoga odgovora. Primjeri fiziološke apoptoze uključuju uklanjanje nepotrebnih stanica tijekom organogeneze, uklanjanje neutrofila i limfocita koji su izvršili svoju ulogu, uklanjanje stanica zaraženih virusom i stanica koje su toliko oštećene da je popravljavanje nemoguće, primjerice tijekom ionizirajućeg zračenja, UV zračenja, hipoksije i promjene tumora. Apoptoza je također obrambeni mehanizam kojim se tijelo bori protiv zloćudne promjene oštećenih stanica. Točan mehanizam apoptoze, tj. kaskada događaja od prepoznavanja signala na staničnoj površini do događaja koji se zbivaju u jezgri još u potpunosti nije rasvijetljena. Poznati induktori programirane stanične smrti su fiziološki aktivatori (TNF, transformirajući čimbenik rasta  $\beta$ , neurotransmiteri, kalcij, nedostatak čimbenika rasta, gubitak matriksa, glukokortikoidi), aktivatori izazvani oštećenjem (virusna infekcija, bakterijski toksini, slobodni radikali, supresori tumora, nedostatak prehrambenih tvari), terapijska sredstva (kemoterapeutici, gama i UV zračenje) i toksični spojevi (etanol i  $\beta$ -amiloidni peptid) (65).

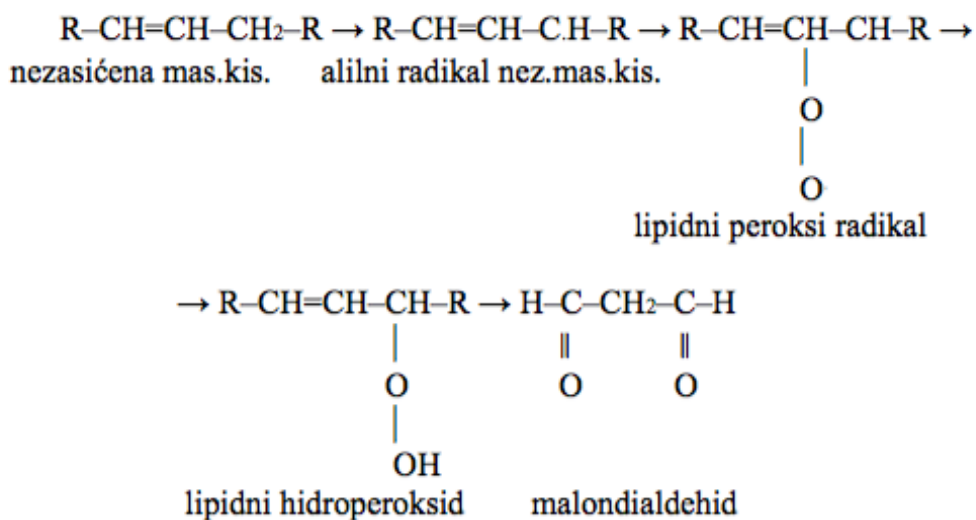
### **1.2.3. Malondialdehid (MDA)**

Toksični učinak slobodnih radikala očituje se kroz proces lipidne peroksidacije koja predstavlja proces oksidacijskoga oštećenja lipida. Produkti procesa lipidne peroksidacije imaju proupalno, toksično, mutageno te karcinogeno djelovanje, a jedan od produkata reakcije lipidne peroksidacije je i malondialdehid (MDA). Malondialdehid je terminalni produkt lipidne peroksidacije polinezasićenih masnih kiselina (PNMK) i priznat je kao valjan marker procesa lipidne peroksidacije koji se koristi za dokazivanje učinka oksidacijskoga stresa. MDA se najčešće koristi za mjerenje intenziteta oksidacijskoga oštećenja (66).



Slika 5. Molekularna struktura malondialdehida (MDA). Skicirano prema kemijskoj formuli.

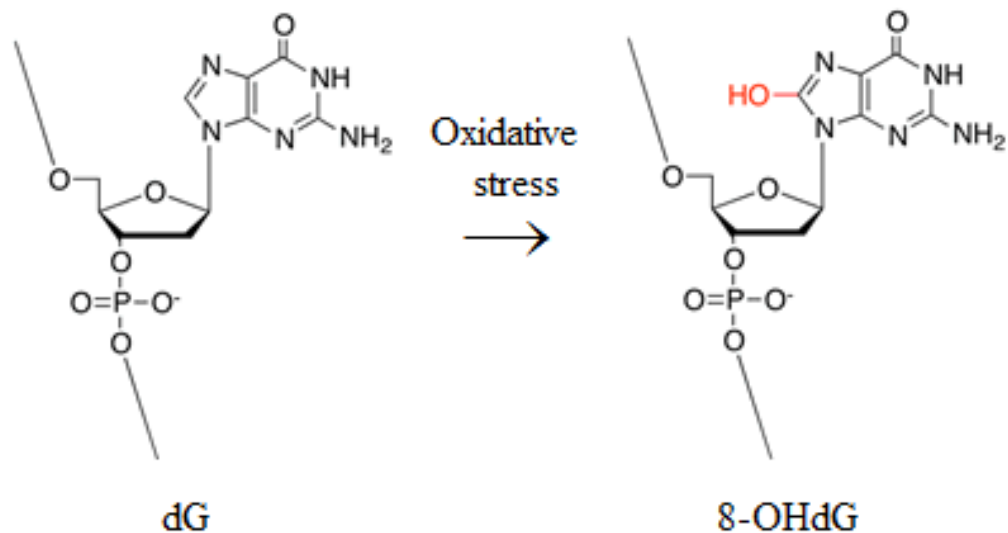
Proces nastanka malondialdehida (MDA) u procesu lipidne peroksidacije je prikazan sljedećom kemijskom reakcijom (67).



Slika 6. Kemijska reakcija nastanka malondialdehida

#### 1.2.4. 8- hidroksideoksiguanozin (8-OHdG)

8- hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) se smatra indikatorom oksidacijskoga oštećenja DNK (65). Naime djelovanjem oksidacijskoga oštećenja na DNK dolazi do promjena njegove strukture i genetskog oštećenja, a učinak slobodnih radikala na DNK može biti trenutni, odnosno odmah po njihovu nastanku, ili odgođen. Mogući oblici oštećenja DNK uključuju: prekid lanca DNK, interakciju DNK azotnih baza unutar jedne spirale ili između dve spirale DNK, oštećenja na proteinskim vezama i modifikacije baza u lancima DNK.



Slika 7. Kemijska reakcija nastanka 8- hidroksideoksiguanozin

Mnoga istraživanja pokazala su da 8- hidroksideoksiguanozin ima kritičnu ulogu kao biomarker za oksidacijski stres i karcinogenezu uslijed njegove uloge u oštećenju i izmjenama lanca DNK (68). Da je 8- hidroksideoksiguanozin dobar marker oksidacijskoga stresa u slini, pokazali su rezultati studije koja je mjerila 8-OHdG u serumu i slini pacijenata sa kroničnim parodontitisom, koji su pušači i nepušači u odnosu na dvije kontrolne grupe sastavljene od pušača i nepušača sa zdravim parodontnim tkivom. Rezultati te studije kažu da nema bitne razlike između četiri skupine za koncentraciju 8-OHdG u serumu, ali je nađeno je da je koncentracija 8-OHdG u slini bila značajno viša u obje skupine s kroničnim parodontitisom u usporedbi s parodontološki zdravim nepušačima (69).

### 1.2.5. Parodontitis i oksidacijski stres

Oksidacijski stres, 8- hidroksideoksiguanozin, malondialdehid i superoksid dismutaza pokazali su se kao važni markeri oštećenja i nastanka patoloških promjena, a neke od bolesti s kojima se povezuju su reumatski artritis, moždane i srčane bolesti, arterioskleroza, neurodegenerativne bolesti, dijabetes, karcinomi, ali i u procesu starenja organizma i kože (70). Postoje brojni dokazi o uključenosti oksidacijskoga stresa u progresiju parodontnih bolesti (71,72,73).

Polimorfonuklearni leukociti (PML) su glavne obrambene stanice tkiva usne šupljine i sudjeluju u imunološkim reakcijama koje štite usnu šupljinu i njezine strukture od potencijalnog štetnog djelovanja oralnih bakterija. Interakcija tih leukocita i bakterija pokreće različite obrambene biokemijske i fiziološke procese domaćina, koji dovode do uništavanja patogena, ali i do mogućeg oštećenja okolnoga tkiva. Polimorfonuklearni leukociti, kao odgovor na patogene, povećavaju potrošnju kisika te dolazi do tzv. respiracijskog praska, što rezultira povećanom proizvodnjom slobodnih radikala s pomoću kojih obrambene stanice uništavaju bakterije. Međutim, tijekom te obrambene reakcije može doći i do oksidacijske modifikacije različitih biomolekula i oštećenja lokalnoga tkiva kao svojevrsne kolateralne štete (74,75,76). Prekomjerna proizvodnja ROS-a, prije svega u polimorfonuklearnim leukocitima, dovodi do neselektivnoga oštećenja stanica, lipida stanične membrane, molekula DNK i proteina, kao i komponenti izvanstaničnog matriksa parodontata (77). U sustavnom protuupalnom okruženju polimorfonuklearni leukociti pacijenata sa kroničnim parodontitisom pokazuju hiperaktivnost i stvaraju veće količine superoksida. Istovremeno, porast aktivnosti polimorfonuklearnih leukocita i adhezija stanica na endotel pretpostavlja prisutnost promjena u njihovim interakcijama kod pacijenata s kroničnim parodontitisom, a navedene promjene dovode se u vezu s razvojem arterioskleroze i kardiovaskularnih komplikacija (78).

Istraživanja su pokazala da ROS mogu oštetiti i glikoproteoglikane, uključujući hijaluronan i kolagen (79). Razgradnja kolagena kod parodontitisa dokazana je nalazom metabolita kolagena u gingivnoj tekućini (80), a njegova razgradnja nastaje uslijed djelovanja kolagenaze bakterija te procesom proteolize u odgovoru domaćina. ROS svojim djelovanjem, osim izravne destrukcije kolagena, dovodi i do izmijenjene funkcije fibroblasta kroz interakciju sa proizvodima lipidne peroksidacije kroz koji se očituje toksični efekt slobodnih radikala. Rezultati jedne studije pokazali su da oksidacijske promjene kolagena u parodontnim tkivima mogu usporiti migraciju neutrofila, te, s obzirom na ulogu ovih stanica u imunom odgovoru domaćina, predstavljaju važan čimbenik u patogenezi parodontitisa (81).

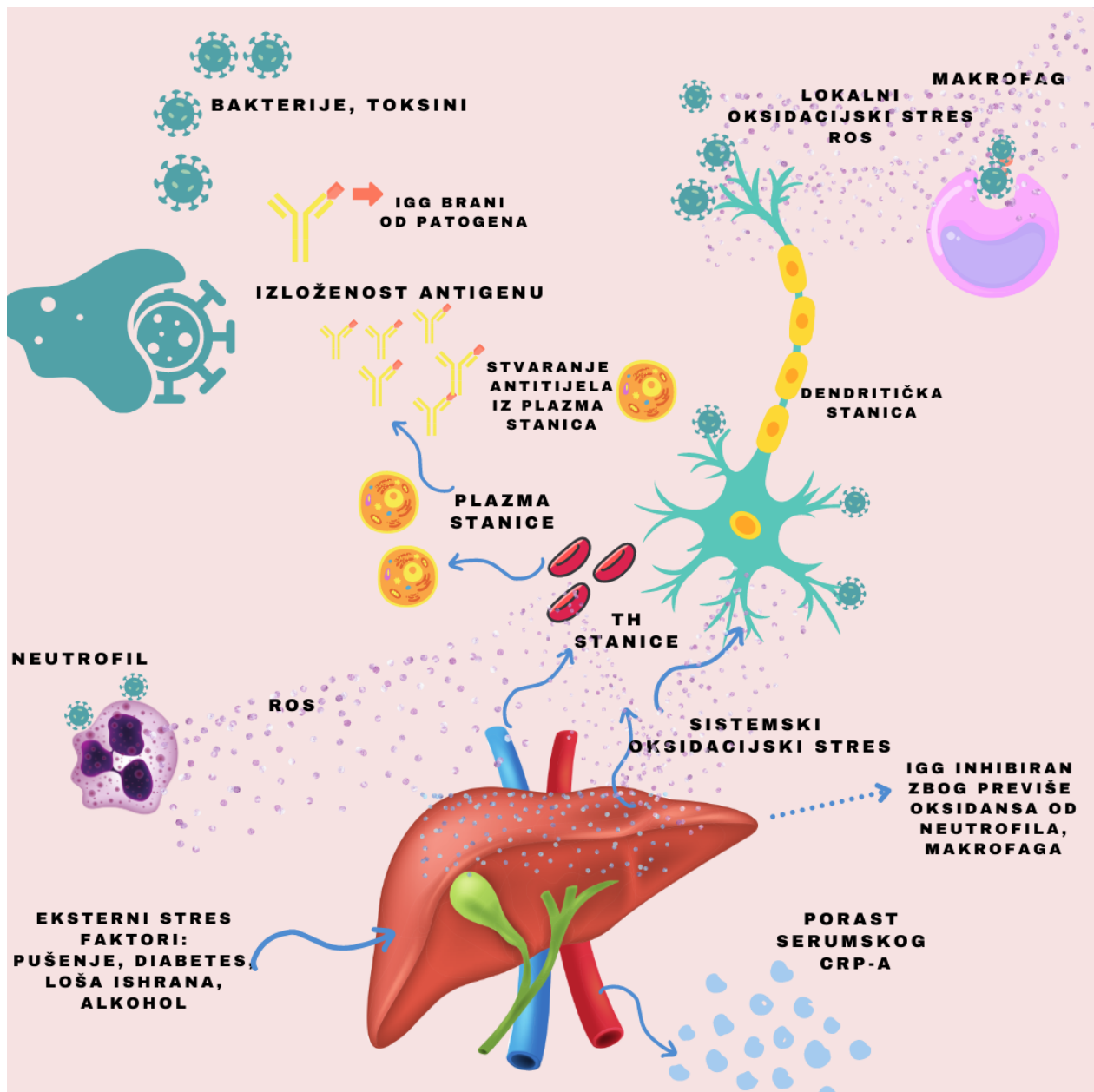
Da slobodni radikali utječu na progresiju parodontitisa potvrđuju i nalazi koji govore o utjecaju kisikovih radikala na aktivaciju i djelovanje osteoklasta (82). S obzirom da je parodontitis kronična bolest koju karakterizira destrukcija parodontnih tkiva, kod pacijenata sa parodontitisom nalazimo

povišene koncentracije slobodnih radikala kao što su NO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i HOO (83). Neravnoteža u proizvodnji slobodnih radikala i antioksidacijskoj zaštiti dovodi do oksidacijskoga stresa u usnoj šupljini. Studije pokazuju da se kod pacijenata sa parodontitisom u gingivnoj tekućini i slini nalaze značajno veće koncentracije proizvoda oksidacijske modifikacije proteina i DNK te krajnjih produkata lipidne peroksidacije u usporedbi sa pacijentima s zdravim parodontnim tkivom (84,85,86). Studije su dokazale i da vrijednosti markera oksidacijskog stresa u slini koreliraju sa stupnjem oštećenja parodontnih tkiva (87,88), ali i da se vrijednosti markera oksidacijskoga stresa smanjuju u slini pacijenata sa parodontitisom nakon provedene parodontološke terapije (86). Studije su također pokazale da su biomarkeri peroksidacije lipida (jedan od putova posredovanih oksidacijskim stresom), kao što su 8-izoprostan i malondialdehid (MDA), povišeni kod pacijenata s kroničnim parodontitisom (84,89). Istraživanje koje je promatralo učinke inicijalne parodontološke terapije kod pacijenata sa kroničnim parodontitisom na koncentraciju 8-OHdG u gingivnoj tekućini i slini otkriva da se oštećenje DNK i oksidacijski stres povećavaju u stanicama parodontnog tkiva kod pacijenata sa kroničnim parodontitisom u odnosu na kontrolnu skupinu pacijenata sa zdravim parodontnim tkivom, a parodontološko liječenje rezultira značajnim padom koncentracije 8-OHdG u uzorcima GCF-a. Koncentracije 8-OHdG također su se smanjile u slini nakon terapije pacijenata sa kroničnim parodontitisom, ali rezultat nije statistički signifikantan (90). Ova studija također ističe da je 8-OHdG važan i može otkriti ozbiljnost parodontne tegobe i učinak parodontološke terapije.

Singer i suradnici su u svojoj studiji dokazali da povećanje oksidacijskoga stresa mijenja vezu CRP-a u serumu i parodontitisa te da je navedena veza vidljiva samo kod povećanoga oksidacijskog stresa i izravno povezana sa inhibicijom serumskog IgG. Istovremeno, povećanje IgG protutijela u serumu, kao posljedica djelovanja bakterija iz usne šupljine, povezano je sa smanjenjem koncentracije serumskog CRP-a (91). Smatra se da serumske koncentracije 8-isoprostana modificiraju sustavni odgovor na akutnu upalnu reakciju, odgovor serumskih IgG protutijela i njihovu vezu sa parodontitisom te kod parodontitisa oksidacijski stres može utjecati preko inhibicije serumskog IgG na mogućnost sustavnoga izlaganja bakterijama iz usne šupljine. Autori su u studiji predložili model prikazan na slici 6. Oksidacijski stres djeluje na Th stanice, antigenprezentirajuće stanice reaguju izmjenom funkcije plazma stanica i Th-1 stanica, što umanjuje odgovor IgG protutijela na bakterije iz usne šupljine. Kako je reakcija IgG protutijela na bakterije



umanjena, toksini i toksične molekule bakterija iz plaka dospijevaju u cirkulaciju i utječu na povećano oslobađanje citokina iz inflamiranih parodontnih tkiva. Takav ishod mogao bi poticati medijatore sustavne upale koji potiču oslobađanje medijatora akutne faze upale, kao što je CRP iz jetre (91). Autori ove studije su ujedno utvrdili da su IgG protutijela na bakterije *Streptococcus sp.* i *Prevotella sp.* jedni od najsnažnijih mikroorganizama u modifikaciji koncentracije CRP-a u serumu, i da disfunkcije rada jetre mogu biti povezane sa nalazom i količinama određenih bakterija u usnoj šupljini, IgG protutijelima koja djeluju na te bakterije i razinama 8-isoprostana u serumu.



Slika 8. Djelovanje oksidacijskog stresa i IgG antitijela na CRP. Rast serumskog CRP-a i veza sa parodontitisom kod izraženog oksidacijskog stresa i preopterećenja ROS-om.

Prilagođeno prema: Singer RE, Moss K, Kim SJ, Beck JD, Offenbacher S. Oxidative Stress and IgG Antibody Modify Periodontitis-CRP Association. J Dent Res. 2015;94(12):1698-705.

### **1.3. Biomarkeri i slina**

#### **1.3.1. Biomarkeri**

Definicija biomarkera obuhvatila bi sljedeće: biomarkeri su biološka, biokemijska, antropometrijska, fiziološka i druga svojstva koja su objektivno mjerljiva, sposobna za prepoznavanje fizioloških ili patoloških procesa, farmakološkoga odgovora ili terapijske intervencije.

Postoje različite vrste biomarkera; idealni biomarker mora biti specifičan, osjetljiv, produktivan, brz, ekonomičan, neinvazivan i stabilan *in vivo* i *in vitro*. Osim toga, mora imati dovoljno pretkliničkog i kliničkog značaja za izmjenu odluka u vezi s patološkim procesom na koji se odnosi (92).

#### **1.3.2. Biomarkeri u dijagnostici parodontitisa**

Upalni proces u organizmu razvija se kao zaštitni odgovor na ozljedu, primordijalni je odgovor koji eliminira ili neutralizira strane organizme ili materijale općenito. Upalni odgovor koji nastaje u parodontnoj bolesti posreduje uglavnom B i T limfocitima, neutrofilima i monocitima/makrofazima.

Biomarkeri u parodontnim bolestima široko se mogu podijeliti na: upalne markere, markere destrukcije pričvrsnoga tkiva i markere remodelacije koštanoga tkiva (93). U upalne markere ubrajaju se:  $\beta$ -glukuronidaza, CRP, IL-1 $\beta$ , IL-16, MIP-1 $\alpha$  i TNF $\alpha$ . Marker destrukcije pričvrsnoga tkiva uključuju:  $\alpha$ 2 makroglobulin, MMP-8, MMP-9, AST, ALT i TIMP. Marker remodelacije koštanog tkiva su: alkalna fosfataza, osteoprotegrin, osteokacin, osteonektin, RANKL, HGF,  $\beta$  C-terminalni kolapenski telopeptid tipa 1 i C telopeptidni piridinolinski umreženi kolagen tipa 1. Oni

se aktiviraju za proizvodnju upalnih medijatora, uključujući citokine i hemokine (94). Nekoliko proupalnih citokina, uključujući interleukine poput IL-1, IL-6, IL-12, IL-17, IL-18 i IL-21; čimbenik nekroze tumora alfa (TNF $\alpha$ ) i interferon (IFN- $\gamma$ ) dokazano su uključeni u patogenezu parodontitisa (95).

Citokin koji je najviše istražen kao biomarker za otkrivanje u slini jest citokin IL-1 $\beta$  (96,97,98,99) koji je prepoznat kao važan posrednik u patofiziologiji parodontitisa (100). Prepoznata je i uloga IL-6 koji kao proupalni citokin djeluje na resorpciju kosti u prisutnosti infekcija (101). Također, studija koja je istraživala profile citokina u različitim fazama razvoja parodontitisa utvrdila je da su razine mRNA za IL-2 bitno povezane s određivanjem faze bolesti (102), što potvrđuje istraživanje koje govori o ulozi IL-2 u stimulaciji osteoklasta (103). Kada se TNF- $\alpha$  počeo istraživati kao mogući biomarker za dijagnozu parodontitisa, otkrili smo da postoje odstupanja u rezultatima, kao na primjer u studiji koja je provela istraživanje sa jednom zdravom skupinom i drugom s kroničnim parodontitisom, gdje su koncentracije TNF-a u slini bile veće u zdravoj skupini nego kod pacijenata sa kroničnim parodontitisom prije i nakon početka liječenja (104). Ti rezultati su suprotni studiji Yue i sur. (99), gdje su koncentracije TNF-a veće u slini bolesnika s uznapredovalim parodontitisom nego u slini zdravih ispitanika. To istraživanje je potkrijepljeno istraživanjima koja istražuju gubitak alveolarne kosti jer je koncentracija TNF-a u ispitanika s alveolarnom resorpcijom niska (105).

Za određivanje parodontitisa analizirani su i drugi biomarkeri. Jedan od njih je hondroitin sulfat, koji je prirodni glikozaminoglikan (GAG) prisutan u izvanstaničnom matriksu (106). Hondroitin sulfat prepoznat je po svojim imunomodulatornim učincima poput smanjenja nuklearne translokacije NF- $\kappa$ B, smanjenja proizvodnje protuupalnih citokina interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) i čimbenika nekroze tumora alfa (TNF $\alpha$ ), smanjenje ekspresije i aktivnosti dušikove oksid-sintaze-2 (NOS-2) i ciklooksigenaze-2 (COX-2)(107).

Posljednjih se godina upalni odgovora povezuju sa oksidacijskim stresom, posebice s reaktivnim vrstama kisika za koje se smatra da igraju središnju ulogu u progresiji mnogih upalnih bolesti(108). Oksidacijski stres stvara više proizvoda u tkivima zahvaćenim upalom, poput reaktivnih vrsta kisika koji su slobodni radikali i drugih neradikalnih derivata koji su uključeni u normalan stanični metabolizam (109). Neki metaboliti mogu oštetiti DNK, kao što je 8-hidroksi2'-deoksiguanozin (8-

OHdG) ili 8-okso-7,8-dihidro-2'-deoksiguanozin (8-oksodG), koji su dva česta oblika slobodnih radikala izazvana oksidacijskim lezijama. 8-oksodG se intenzivno koristi kao biomarker za oksidacijski stres (68).

### 1.3.3. Slina

Slina je jedinstvena biološka tekućina, a ima važnu ulogu u oralnoj fiziologiji. To je glavni igrač u procesu oralnog i općeg održavanja zdravlja organizma. Prema posljednjim podacima, predstavlja zrcalo općeg zdravstvenog stanje, odražavajući tako različite sustavne promjene u tijelu (110).

Slina je bezbojna viskozna tekuća mješavina oralnih tekućina koja uključuje sekrecije iz velikih i malih žlijezda slinovnica. Uz to, sadrži sastojke koji ne potječu iz salivarnih žlijezda: gingivna cervikalna tekućina, izlučeni bronhijalni i nosni sekret, serum i krvni derivati iz oralnih rana, bakterije i bakterijski proizvodi, virusi i gljivice, oštećene epitelne stanice, leukociti, elektroliti, imunoglobulini, proteini i enzimi, ostatci hrane, želučani sadržaj kod gastroezofagealnog refluksa i slično (111). Ove činjenice motiviraju na široku upotrebu uzoraka sline za dijagnozu različitih oralnih i sustavnih bolesti.

Slina se sastoji od različitih elektrolita, uključujući natrij, kalij, kalcij, magnezij, bikarbonat i fosfate. U slini se također nalaze imunoglobulini, proteini, enzimi, mucini i dušični proizvodi poput uree i amonijaka. Te komponente djeluju u povezanim funkcijama u sljedećem općem području: bikarbonati, fosfati i urea djeluju na moduliranje pH i puferske sposobnosti sline; makromolekularni proteini i mucini služe za čišćenje, agregaciju i/ili spajanje oralnih mikroorganizama i doprinose metabolizmu zubnog plaka; kalcij, fosfat i bjelančevine djeluju zajedno kao faktor prorjeđivanja i moduliraju demineralizaciju i remineralizaciju; i imunoglobulini, proteini i enzimi pružaju antibakterijsko djelovanje. Navedene se komponente obično javljaju u malim količinama, s različitim promjenama u protoku te kontinuirano pružaju niz važnih funkcija. Važno je naglasiti da se slina, kao jedinstvena biološka tekućina, mora smatrati cjelinom većom od zbroja njezinih dijelova (112). Slina je ujedno vrlo razrijeđena tekućina, sastavljena od više od 99% vode. Slina se ne smatra ultrafiltratom plazme (113). U nastajanju je

sline izotonična, ali postaje hipotonična prolaskom kroz kanalsku mrežu. Hipotoničnost nestimulirane sline omogućuje da okusni pupoljci prepoznaju različite okuse, a da ih ne maskiraju normalne razine natrija u plazmi. Hipotoničnost, posebice tijekom razdoblja s malim protokom, također omogućava ekspanziju i hidrataciju mucinskih glikoproteina koji zaštitno pokrivaju tkiva usne šupljine (114), dok niže razine glukoze, bikarbonata i uree u nestimuliranoj slini povećavaju hipotonično okruženje kako bi poboljšali osjet okusa.

Organski i anorganski sastavi sline mogu pružiti informacije o promjenama u enzimskoj aktivnosti kao odgovor na parodontnu upalu (115). Alkalna fosfataza (ALP) je protein koji veže kalcij-fosfat i fosfor-hidrolizni enzim i smatra se važnim pokazateljem formiranja kosti i fenotipski je marker za stanice osteoblasta (116). ALP je otkriven u parotidnoj, submandibularnoj i malim žlijezdama slinovnicama, kao i u stanicama deskamiziranog epitela, leukocitima i bakterijama iz zubnog plaka. Prisutnost ALP-a u slini i gingivnoj tekućini obično ukazuje na upalu i / ili uništavanje parodontnih tkiva. Među nekoliko sastojaka sline urea je organski spoj koji predstavlja konačni proizvod ljudskog katabolizma proteina. Hidroliza uree s pomoću bakterijskih enzima ureaze stvara amonijak i CO<sub>2</sub> te se smatra glavnim putem za proizvodnju alkalija u usnoj šupljini. Osim toga, amonijak je potencijalno citotoksičan za tkiva parodonta (117). Amonijak može povećati propusnost sulkusnog epitela za druge antigene i toksične tvari, igrajući tako temeljnu ulogu u pokretanju gingivitisa (118). Volumen sline u usnoj šupljini ovisi o nekoliko čimbenika poput stimulacije, cirkadijanog ritma, prehrane, dobi, lijekova i koncentracije vodikova (H<sup>+</sup>) iona. U međuvremenu, ti se čimbenici mogu izmijeniti i zbog patoloških stanja poput parodontne bolesti (119). Predlaže se da se slina može koristiti ne samo za dijagnosticiranje oralnih bolesti, nego i kao "pregled tijela", a može se koristiti i u dijagnostici sustavnih bolesti (120).

#### **1.3.4. Uloga sline u patologiji parodonta**

Slina ima veliki utjecaj na pokretanje, sazrijevanje i metabolizam plaka, a proteini u slini mogu igrati ulogu u mineralizaciji plaka. Navedeno je da mogu biti uključeni esteraza, pirofosfataza, kisela fosfataza i lizocim. Osobe s velikim naslagama zubnog kamenca imaju višu razinu

glikoproteina u slini od onih koji nemaju zubni kamenac (6,121,122). Polimorfonuklearni neutrofili (PMN) dopiru do usne šupljine migriranjem putem gingivnog sulkusa.

Neke od komponenti koje se koriste kao specifični biomarkeri za otkrivanje parodontne bolesti uključuju imunoglobuline (Ig) kao što su IgA, IgM, IgG koji interferiraju u adherenciji i bakterijskom metabolizmu, a prisutni su u povećanoj koncentraciji u slini pacijenata s kroničnim i agresivnim parodontitisom. Nespecifični markeri za agresivni parodontitis uključuju mucine koji ometaju kolonizaciju *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A. a), laktoferin koji inhibira rast mikroba (povećana korelacija s A. a). Oznake za kronični parodontitis uključuju lizozim koji regulira akumulaciju biofilma i peroksidazu koji ometa akumulaciju biofilma. Nespecifični markeri za kronični i agresivni parodontitis uključuju histatin koji neutralizira lipopolisaharid i enzime za koje se zna da utječu na parodont i C-reaktivne proteine (CRP) koji su prisutni u povećanim koncentracijama u slini i serumu pacijenata s parodontitisom (6).

Novija istraživanja o potencijalnoj ulozi parodontne bolesti kao čimbenika rizika za kardiovaskularne i cerebrovaskularne bolesti i pojave prijevremeno rođenih beba male porođajne težine donose novi značaj ovom aspektu analize sline (123,124,125).

Salivarni markeri kao potencijalni dijagnostički testovi za parodontnu bolest uključuju proteine porijeklom od domaćina (tj. enzime, imunoglobuline), fenotipske markere, stanice domaćina, hormone (kortizol), bakterije i bakterijske proizvode, ione i isparljive spojeve (126). Podatci također govore da salivarni MMP-8 i IL-1 $\beta$  služe kao biomarkeri alveolarnog gubitka kostiju, a time i parodontitisa (93).

### **1.3.5. Uzorkovanje sline**

Studije su pokazale da je preanalitički stadij ključan za dobivanje pouzdanih i ponovljivih rezultata ispitivanja sa uzorcima sline. To je razlog što mnogi autori posebnu pozornost usredotočuju na preduvjete koje pacijenti i uređaji moraju ispuniti prije nego što uzmu uzorak sline. Izbjegavanje bilo kakvih oralno-higijenskih postupaka na dan ispitivanja, suzdržavanje od hrane, tekućina i pušenja prije uzimanja uzoraka su među najpopularnijim, ali mogu varirati u skladu s ciljevima

studije (127). Utvrđeno je da je najbolji pristup dobivanje uzoraka u isto doba dana, najčešće između 8 i 9 sati ujutro (128). Važno je da kod zdravih ispitanika gingivna tekućina može iznositi do 0,5% volumena miješane sline (129). Tijekom oralno-higijenskih postupaka pojavljuju se sitni ogrebotine i povećava se eksudat iz plazme iz usta. Zbog toga se obično preporučuje da ispitanici ne peru zube ili primjenjuju bilo koje druge metode oralne higijene nekoliko sati prije nego što se uzme uzorak sline (130).

### **1.3.6. Tehnike analiziranja uzoraka sline**

Koncentracija mnogih tvari u slini bila je značajno niža nego u krvnoj plazmi i to zahtijeva korištenje vrlo osjetljivih testova i metoda dizajniranih za slinu te pravilno prikupljanje materijala. Mala koncentracija različitih tvari u usporedbi s razinama u krvi imala je potencijal spriječiti da dijagnostika sline bude klinički praktična, ali to je ograničenje nedavno prevladano jer su razvijene nove i vrlo osjetljive tehnike (npr. molekularna dijagnostika, nanotehnologija). Za određivanje koncentracije proteina u slini najčešće se koriste radijalna imunodifuzija, imunoelektroforeza, turbidimetrija, nefelometrija. Za otkrivanje razine citokina poželjni su ELISA, protocitometrija, ELISPOT, RT-PCR. ELISA testovi su osjetljiviji zahvaljujući korištenju monoklonskih protutijela (131).

Na temelju trenutno nastale biotehnologije u dijagnostici sline postalo je moguće odrediti broj biomarkera za razne bolesti. Popis uključuje zloćudne bolesti, nasljedne, autoimune, virusne i bakterijske infekcije, kardiovaskularne bolesti, stanja povezana s HIV-om. Ne možemo propustiti prikladnu upotrebu dijagnostike sline u praćenju terapija lijekovima, mjerenju razine hormona i, naravno, dijagnozi lokalne oralne bolesti. Ovi razvojni postupci proširili su raspon dijagnostike na bazi sline s jednostavne usne šupljine na cijeli fiziološki sustav. Stoga je dijagnostika na bazi sline najsvremenija dijagnostička tehnologija, a kliničarima može pružiti snažnu alternativu za upotrebu u doglednoj budućnosti za donošenje kliničkih odluka i predviđanje ishoda nakon liječenja (132).

U posljednja dva desetljeća pristupi dijagnostike sline usmjereni su na oralne bolesti. Interes predstavlja koncentracija dokazanih proteina u slini, s druge strane njihov odnos prema medicinskim stanjima i bolestima koje utječu na usnu šupljinu i tijelo. Stoga želim usmjeriti fokus ovog pregleda na određivanje proteina akutne faze u slini kod oralnih i sustavnih bolesti.

### **1.3.7. Dijagnostički potencijal sline**

Nedavno je dokazano da je slina među vjerodostojnim dijagnostičkim alatima za otkrivanje različitih biomarkera. Njegova perspektivna budućnost temelji se na dva glavna razloga. Prvo, karakteristični biomarkeri za različite bolesti pronađeni su u značajnim koncentracijama među komponentama sline. Drugo, poboljšanje postojećih tehnologija i razvoj novih, visoko osjetljivih metoda uspio je otkriti prihvatljivu osjetljivost i specifičnost biomarkera sline u odnosu na različite lokalne i sustavne uvjete.

Uz to, povišeni interes za slinom kao korisnom dijagnostičkom tekućinom tijekom posljednjih nekoliko desetljeća motiviran je dokazanom sposobnošću praćenja općeg zdravlja, otkrivanja pojave bolesti i praćenja napretka koji će se koristiti u opsežnim *screening* i epidemiološkim studijama (132).

U usporedbi s drugim dijagnostičkim medijima (kao što su uzorci tkiva, serum, cerebrospinalna tekućina i slično), uzorkovanje sline je lako, isplativo, neinvazivno dijagnostičko sredstvo za istraživanje i često se preferira kao alternativni dijagnostički pristup. Prednosti uzorkovanja sline uglavnom se vide u kategorijama bolesnika kada je venepunkcija teška za postići, na primjer kod male djece. Skupljanje sline ne uzrokuje tjeskobu ili nelagodu, a studije se mogu ponoviti. Uzorkovanje mogu izvoditi pojedinci samostalno nakon minimalne obuke, bez pomoći medicinskoga osoblja. Nadalje, relativno je sigurno dobiti brojne uzorke tijekom bolesti s minimalnim rizikom kontaminacije kako za pacijenta tako i za zdravstveno osoblje.

Brojne studije pokazale su da se slina može koristiti za dijagnostiku nasljednih poremećaja, autoimunih bolesti, malignih bolesti, infektivnih bolesti i endokrinih poremećaja, kao i za procjenu terapijskih razina lijekova i za praćenje uporabe ilegalnih droga (133). Dokazano je da je slina obećavajuća tjelesna tekućina za rano otkrivanje bolesti, a dijagnostika iz sline pokazala je



ogroman potencijal u kliničkim primjenama (132). Također, slina ima potencijal postati prvi dijagnostički uzorak izbora zahvaljujući napretku u tehnologiji otkrivanja zajedno s kombinacijama biomolekula s kliničkom povezanošću (134). Nadzor bioloških biljega sline za oralne i sustavne bolesti mogao bi postati važan dodatak kliničkim pregledima u epidemiološkim istraživanjima (98).

#### **1.4. Proteini akutne faze u slini**

Serumska koncentracija najaktivnijih proteina povećava se kao odgovor na ozljede tkiva, upale ili infekcije (135). Promjene u serumu / plazmi koncentracije koreliraju s povećanom sintezom u jetri (136). Većina proteina akutne faze sintetizira se u jetri, a neki od njih difundiraju ili se aktivno prenose u krv iz sline. Ostale se proizvode lokalno, uključujući i u pljuvačnim žlijezdama.

Danas je široko prihvaćeno da se sinteza proteina akutne faze odvija u više tipova izvan jetre. Vjerojatno isti upalni posrednici reguliraju proces sinteze proteina akutne faze kao i u hepatocitima (137). Ovisno o količini izmjerene razine, odgovor akutne faze može biti pozitivan ili negativan. Neke su razine proteina povišene tijekom akutne faze (pozitivni proteini akutne faze), dok je proizvodnja ostalih proteina smanjena (negativni proteini akutne faze). Određivanje koncentracije proteina akutne faze u slini predmet je mnogih studija. U osnovi to nije rutinska praksa u svakodnevnoj stomatologiji.

U različitim istraživanjima infarkta miokarda, psorijaze upalnih bolesti crijeva i maligniteta zabilježene su abnormalne razine proteina pozitivne akutne faze u serumu. Neke oralne bolesti kao parodontitis, oralni lichen planus, oralna leukoplakija, karcinom oralnih pločastih stanica, također su okarakterizirane povećanim pozitivnim APP-om.

##### **1.4.1. C-reaktivni protein (CRP) u slini**

CRP je ključni pokazatelj upale u kliničkoj praksi i koristi se svakodnevno. To je pentamerni protein akutne faze koji posreduje urođenu imunitet vezanjem na strane patogene i oštećene stanice, pokrećući klasični put kaskade komplementa. Sastoji se od 5 podjedinica svake molekularne težine 25.106 kD. Netaknuti CRP ima masu iznad granične vrijednosti za bubrežnu ekskreciju (43 kDa) i cirkulatorni je biomarker upale (138).

Koncentracija CRP u serumu obično se povećava u slučaju sistavne upale i ujedno je najčešće korišteni protein akutne faze u kliničkoj praksi. Nekoliko studija procijenilo je koncentraciju CRP-a u usnoj šupljini. Otkriven je u punoj slini u ispitivanju koje je obuhvatilo 45 odraslih osoba. Koncentracije (u rasponu od 0 do 472 pg/ml) nađene su kod pacijenata s gingivitisom te umjerenim i teškim parodontitisom, a ujedno su dobivene vrijednosti bile više u odnosu na kontrolnu skupinu sa zdravim ispitanicima (139). U jednom od ranijih istraživanju autori su koristili monoklonska protutijela i radioizotopski test za mjerenje razine CRP-a u gingivnoj tekućini (GCF) kod 24 pacijenta s parodontitisom. CRP se nije bitno razlikovao između oboljelih i zdravih mjesta kod istih pacijenata (140). Nalazi također pokazuju da je parodontitis povezan s visokim CRP-om u prisutnosti povišenog oksidacijskog stresa koji služi za suzbijanje IgG odgovora (91,141). Istraživači također smatraju prisutnost povišenoga CRP-a u slini poveznicom parodontitisa i nekih sustavnih bolesti (142,143). Souza i suradnici u svojoj studiji ističu da su novi sustavni pregledi već pokazali da pacijenti s parodontitisom pokazuju veću koncentraciju CRP-a u usporedbi sa zdravom kontrolom, ali da je većina tih kliničkih studija imala lošu kontrolu potencijalnih doprinosnih čimbenika kao što su pušenje, pretilost, hipertenzija, kronične sistavne upalne bolesti, visoke razine LDL-a i niste razine HDL-a, te smatraju da bi te čimbenike trebalo strogo kontrolirati u studijama kako bi se procijenila koncentracija CRP-a kao nespecifičnog pokazatelja upale kod parodontne infekcije (144).

## **2. CILJEVI I SVRHA ISTRAŽIVANJA**

Cilj istraživanja bio je na standardiziranom uzorku utvrditi razlike u mikrobiološkom profilu, salivarnom CRP-u te parametrima oksidacijskog stresa u slini tri mjeseca nakon provedenih dviju vrsta parodontološke terapije kod ispitanika uparenih po spolu, dobi i parodontološkom statusu. Kod prve skupine ispitanika provedena je supragingivna i subgingivna terapija uz upute u oralnu higijenu (ispitivana skupina), dok je kod druge skupine provedena samo supragingivna terapija uz upute u oralnu higijenu (kontrolna skupina). Istraživanje je kod pacijenata s parodontitisom registriralo i kliničke parametre uz uzimanje uzoraka sline na početku i tri mjeseca nakon terapije.

Obzirom na relativno mali broj istraživanja koja su istodobno promatrala povezanost nekirurške parodontološke terapije i promatranih parametara (mikrobiološki profil, salivarni CRP, 8-OHdG, MDA, SOD) u uzorcima sline, očekivani su rezultati koji bi mogli bitno pomoći u objašnjenju uloge supragingivne i subgingivne parodontološke terapije na vrijednosti parametara (mikrobiološki profil, salivarni CRP, 8-OHdG, MDA, SOD) u slini. Rezultati istraživanja također mogu doprinijeti boljoj spoznaji kako motivirati pacijente na provedbu adekvatne oralne higijene.

Nulta hipoteza istraživanja bila je da nema razlike u promatranom mikrobiološkom sastavu, salivarnom CRP-u i parametrima oksidacijskoga stresa između parodontoloških pacijenata kod kojih je provedena supragingivna i subgingivna instrumentacija i pacijenata kod kojih je provedena samo supragingivna instrumentacija.

### **3. ISPITANICI I METODE**

### 3.1. Ispitanici

Istraživanje je obuhvatilo ispitanike - pacijente u privatnoj stomatološkoj ordinaciji u Sarajevu. Istraživanje se provodilo kao kontrolirana randomizirana studija na dvjema skupinama od po 16 ispitanika (ukupno 32 ispitanika) s dijagnozom parodontitisa. Veličina uzorka od 32 ispitanika (sample size analysis,  $d=2$ ) izračunata je s intervalom pouzdanosti od 95%,  $\alpha= 0.05$  i snagom od 80% korištenjem standardne devijacije za parametar CAL prema studiji autora Shojaee M, Fereydooni Golpasha M, Maliji G, Bijani A, Aghajanpour Mir SM, Mousavi Kani SN. *C - Reactive Protein Levels in Patients with Periodontal Disease and Normal Subjects*, Int J Mol Cell Med. 2013 Summer;2(3):151-5.

Ispitivana skupina sastojala se od 16 pacijenata s parodontitisom (8 muškaraca i 8 žena, prosječne dobi  $41,75 \pm 4,81$  godina). U kontrolnoj skupini bilo je 16 ispitanika (9 muškaraca i 7 žena, prosječne dobi  $43,50 \pm 6,29$  godina).

Kriteriji isključivanja bili su: ranija parodontološka terapija, nekontrolirana sustavna bolest, nedavna ili aktualna akutna ili kronična infekcija, trudnoća, nedavna ili trenutna upotreba antibiotika ili analgetika. Za dijagnostiku parodontitisa koristili su se stomatološko ogledalo i parodontološka sonda. Dijagnoza parodontitisa postavljena je temeljem posljednje Klasifikacije parodontnih bolesti iz 2017. godine, a u istraživanje su uključeni pacijenti s generaliziranim parodontitisom stadija III i IV s minimalno 20 zubi.

Pacijentima kod kojih je nije provedena inicijalna parodontološka terapija predstavljena je mogućnost sudjelovanja u istraživanju te su po pristanku, bili upućeni u detalje daljnjeg postupka. Po pristanku na sudjelovanje svi pacijenti su potpisali informativni pristanak. Randomizacija pacijenata koji zadovoljavaju kriterije uključivanja u studiju provodila se pomoću programa Excel (*generate random numbers*). Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Stomatološkog fakulteta (05-PA-30-XIII-1/2020) te je provedeno u skladu s etičkim principima Helsinške deklaracije.

### 3.2. Metode

Za dijagnostiku parodontitisa koristili su se stomatološko zrcalo i standardna parodontološka sonda (PCP-15, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). Isti istraživač je proveo parodontološki pregled kod svih pacijenata. Pacijentima su izmjereni standardni parodontološki parametri i indeksi na 6 mjesta po zubi, a oni su uključivali dubinu sondiranja (engl. *probing depth*, PD), recesiju gingive (RE), razinu kliničkog pričvrstka (engl. *clinical attachment level*, CAL), plak indeks (engl. *plaque indeks*, PI, O'Leary i sur, 1972.) i indeks krvarenja pri sondiranju (engl. *bleeding on probing*, BOP, Ainamo i Bay, 1975.).

Prilikom sondiranja korištena je sila od 0,25N, a dubina sondiranja (PD) je definirana kao udaljenost od slobodnog ruba gingive do zaustavljanja sonde na dnu džepa. Sondiranje je provedeno na šest mjesta oko svakoga zuba (mezio-vestibularno, vestibularno, disto-vestibularno, mezio-oralno, oralno i disto-oralno) i mjereno je u milimetrima (mm). Recesija gingive (RE) je definirana kao udaljenost od caklinsko-cementnog spojišta do slobodnoga ruba gingive i mjerena je u mm. Razina kliničkog pričvrstka (CAL) definirana je kao udaljenost od caklinsko-cementnoga spojišta do dna džepa, a izračunata je zbrajanjem vrijednosti dubine sondiranja i recesije gingive pojedine plohe zuba, tj. mjerenjem udaljenosti od caklinsko-cementnoga spojišta do dna sulkusa/parodontnoga džepa. Za potrebe istraživanja određene su prosječne vrijednosti svih navedenih parodontoloških parametara s obzirom na broj pregledanih zubi ili zubnih ploha.

Za ocjenu oralne higijene, odnosno određivanje plaka upotrebljen je *Full mouth plaque score* (FMPS), plak indeks po koji se računa dijeljenjem plak-pozitivnih ploha s ukupnim brojem ploha koje su pregledane na prisutnost plaka. Incidencija plaka izražena u postocima prema formuli:

$$\text{FMPS} = (\text{broj mjesta s plakom} / \text{broj svih ispitanih mjesta}) \times 100$$

Neposredno po mjerenju dubine sondiranja bilježila su se i mjesta koja krvare nakon navedenoga postupka. Za registraciju krvarenja korišten je *Full mouth bleeding score* (FMBS), indeks krvarenje koji se računa na način da se podijeli broj mjesta s krvarenjem i ukupni broj sondiranih mjesta.

Izražavamo ga u postocima prema formuli:

$$\text{FMBS} = (\text{broj krvarećih mjesta} / \text{broj svih ispitanih mjesta}) \times 100$$

Sljedeća faza istraživanja uključivala je uzimanje uzorka sline za analizu mikrobiološkoga profila, CRP-a u slini i parametara oksidacijskoga stresa (8-OHdG, MDA, SOD) također iz sline. Uzorci sline za analizu svih pacijenata uzeti su u jutarnjim satima, između 8 i 10 sati. Supragingivna i subgingivna parodontološka terapija provedena je strojnim i ručnim instrumentima uz upotrebu lokalne anestezije po principu *full-mouth* terapije, odnosno unutar 24 sata. Druga skupina pacijenata (kontrolna skupina), koja je za potrebe studije dobila samo supragingivnu parodontološku terapiju (*full-mouth*), prošla je subgingivnu terapiju nakon završetka istraživanja, odnosno tri mjeseca nakon supragingivne terapije koja se provodila za potrebe istraživanja.

Mikrobiološki profil je uključio 7 najčešćih parodontopatogenih bakterija: *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* i *Tannerella forsythia*, a analiziran je upotrebom PERIODONTSCREEN REAL-TM PCR testa za analizu i kvantifikaciju navedenih 7 mikroorganizama proizvođača Sacace Biotechnologies, Italija, metodom molekularne hibridizacije. Salivarni CRP je analiziran metodom ELISA Human C Reactive Protein ELISA Kit (PTX1) proizvođača Abcam, Cambridge, Ujedinjeno Kraljevstvo, za detekciju i kvantifikaciju. Parametri oksidacijskoga stresa 8-OHdG, MDA i SOD analizirani su ELISA metodom upotrebom seta za detekciju i kvantifikaciju triju navedenih parametara oksidacijskoga stresa iz sline proizvođača Cell Biolabs OxiSelect iz Sjedinjenih Američkih država.

Ukratko, nakon uzimanja uzoraka pristupilo se provedbi nekirurške parodontološke terapije kod ispitanika i to: kod prve skupine supragingivna i subgingivna parodontološka terapija (ispitivana skupina), kod druge skupine samo supragingivna parodontološka terapija (kontrolna skupina). Obje skupine ispitanika dobivale su uz terapiju jednake upute za oralnu higijenu.

Treća i posljednja faza provedena je nakon tri mjeseca te je uključivala ponovnu registraciju svih parodontoloških parametara (PD, RE, CAL, FMPS, FMBS) te ponovno uzimanje uzoraka sline za analizu parametara koji su ispitivani (mikrobiološki profil, salivarni CRP, 8-OHdG, MDA, SOD).



### 3.3. Statistička obrada podataka

Svi prethodno prikupljeni podatci objedinili su se u programu Microsoft Excell. Parodontološki parametri su korelirani s ispitivanim parametrima (mikrobiološki profil, CRP, 8-OHdG, MDA, SOD).

Metode deskriptivne statistike upotrebljavale su se za određivanje mjere središnje tendencije (aritmetička sredina) i mjere varijabilnosti (standardna devijacija) kod numeričkih obilježja. Varijable kod kojih je utvrđeno da statistički značajno odstupaju od teorijski očekivane normalne raspodjele kao mjere središnje tendencije i raspona, korišteni su medijan i interkvartilni raspon.

Metode komparativne statistike obuhvatile su: Pearsonov  $\chi^2$  test i Fisherov test za testiranje (ne)zavisnosti pojedinih parova promatranih atributivnih obilježja, t-test za utvrđivanje razlike srednjih vrijednosti kod numeričkih obilježja (starost, broj prisutnih zuba, parodontološki indeksi, usporedba indeksa prije i poslije terapije, uspjeh terapije, stupanj oksidacijskoga stresa) između dviju skupina ispitanika, Mann-Whitney test za utvrđivanje razlike srednjih vrijednosti kod numeričkih obilježja između skupina ispitanika, dok se povezanost između dviju varijabli testirala Spearmanovim koeficijentom korelacije. Kao standardizirana mjera veličine učinka, uz Mann-Whitney U-test, naveden je AUC izračunat prema formuli:  $U/(m*n)$ , gdje je U rezultat Mann-Whitney testa, a m i n su veličine dvaju uzoraka.

Izvedena (posrednička) varijabla delta ( $\Delta$ ) uključena je kao prikaz razlike između varijabli na drugom mjerenju (konačno) i na početku ispitivanja (osnovno stanje), izračunato oduzimanjem za varijable: parodontološki parametri (PD, RE, CAL, FMPS, FMBS), mikrobiološki profil (PE, PG, AA, TD, FN, PI, TF), s-CRP i parametri oksidacijskoga stresa (8-OHdG, MDA, SOD). Negativan broj predstavljao je smanjenje, a pozitivan porast zabilježen na kraju perioda ispitivanja. Međusobne usporedbe su izvršene pomoću delta ( $\Delta$ ) i to  $\Delta$ Mean i  $\Delta$ Median za spomenute varijable, s ciljem preciznog određivanja razlike i provjere statističke značajnosti rezultata.

U svim primijenjenim testovima, rezultati kod kojih je razina značajnosti barem 95% ( $p < 0,05$ ) tumačili su se kao statistički značajni, a oni s razinom značajnosti minimalno 99% ( $p < 0,01$ ) kao

statistički visoko značajni. Rezultati kod kojih je razina značajnosti ispod 95% ( $p \geq 0,05$ ) interpretirani su kao rezultati bez statističkog značaja.

#### **4. REZULTATI**

#### 4.1. Opći podatci o ispitanicima

U istraživanju su sudjelovala 32 ispitanika, koji su podijeljeni u dvije skupine, ispitanici i kontrolna skupina. Ispitivanu skupinu činilo je 16 pacijenata s dijagnozom parodontitisom, od kojih je bilo osam žena i osam muškaraca, a prosječna starost ispitanika bila je  $41,75 \pm 4,81$  godine. Kontrolnu skupinu činilo je 16 pacijenata sa parodontitisom, sedam žena i devet muškaraca prosječne starosti  $43,50 \pm 6,29$  godina.

U skupini ispitanika kao i u kontrolnoj skupini bilo je osam pušača i osam nepušača. Konzumacija cigareta kod pušača u skupini ispitanika kretala se od 5 do 15 pack / years, a prosječna vrijednost iznosila je 4,92. U kontrolnoj skupini kod pušača konzumacija cigareta kretala se od 2,5 do 25 pack / years, a prosječna vrijednost bila je 6,03 pack / years.

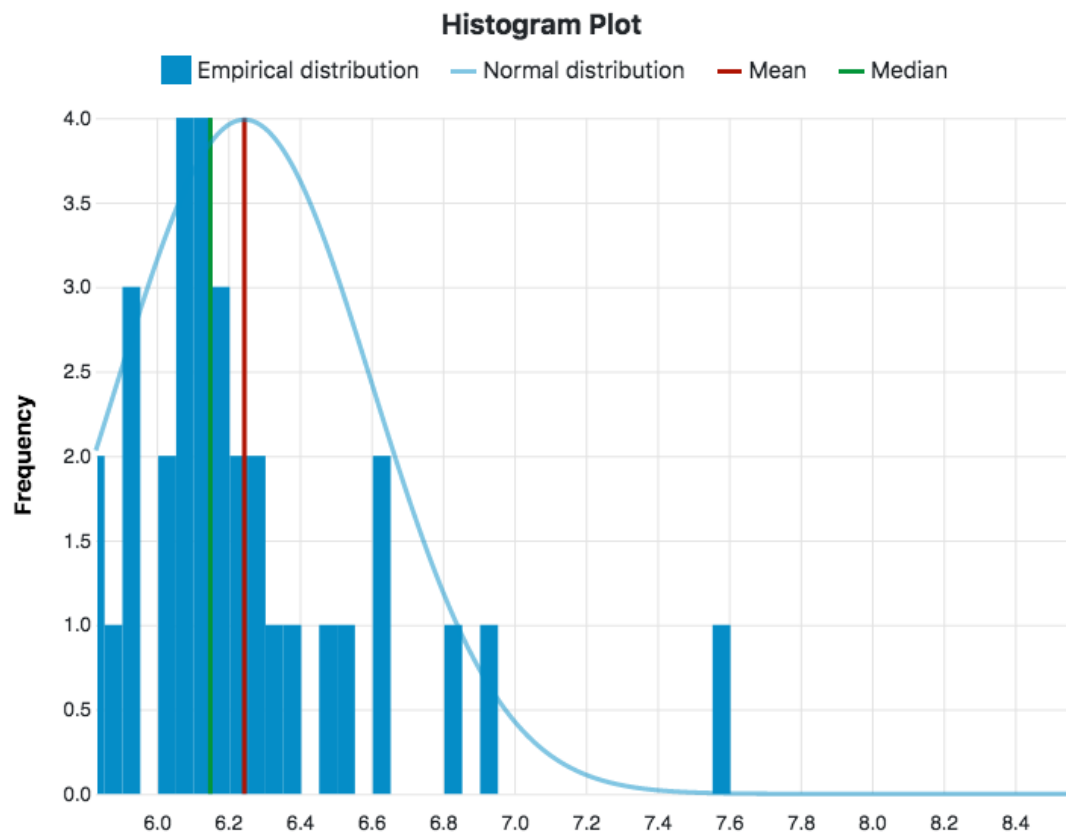
Prosječan broj ekstrahiranih zuba u skupini ispitanika na početku i tri mjeseca nakon terapije bio je 5,9, dok je u kontrolnoj skupini prosječan broj ekstrahiranih zuba na početku istraživanja bio 5,8, a tri mjeseca nakon terapije 6,0.

Tablica 1. Opći podatci o ispitanicima

Opći podatci	Spol muški	Spol ženski	Broj pušača	Broj nepušača	Prosjek pack / years kod pušača	Prosjek broja ekstrahiranih zuba	Starost Mean	Starost SD
Ispitivana skupina prvo mjerenje	8	8	8	8	4,92	5,9	41,75	4,81
Ispitivana skupina drugo mjerenje	8	8	8	8	4,92	5,9	41,75	4,81
Kontrolna skupina prvo mjerenje	9	7	8	8	6,03	5,8	43,50	6,29
Kontrolna skupina drugo mjerenje	9	7	8	8	6,03	6,0	43,50	6,29

Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija.

Normalnost distribucije varijabli testirana je te je uočena normalna distribucija varijabli. Prema Shapiro-Wilk testu p-vrijednost bila je 0.0003, Shapiro-Francia p-vrijednost 0 ( $W' = 0.0303$ ), D'Agostino-Pearson p-vrijednost također 0, što govori da je distribucija varijabli normalna (Graf 1).



Slika 9. Histogram prikaz testa normalne distribucije varijabli za PD

#### 4.2. Parodontološki parametri

**Tablica 2.** Parodontološki parametri ispitivane skupine na početku istraživanja

Ispitivana skupina prvo mjerenje	Mean	SD	Median	IQR
Dubina sondiranja (PD) (mm)	6,18	0,16	6,18	0,16
Recesija gingive (RE) (mm)	3,57	0,93	3,57	1,41
Razina kliničkog pričvrstka(CAL) (mm)	9,73	0,97	9,73	1,45
Full mouth plaque score (FMPS) (%)	63,14	11,03	63,14	16,95
Full mouth bleeding score (FMBS) (%)	54,33	16,42	54,33	29,17
<b>BROJ ZUBI</b>	22,13	1,45	22,13	2,00

Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija; IQR=interkvartilni raspon.

**Tablica 3.** Parodontološki parametri ispitivane skupine nakon tri mjeseca

<b>Ispitivana skupina drugo mjerenje</b>	<b>Mean</b>	<b>SD</b>	<b>Median</b>	<b>IQR</b>
<b>Dubina sondiranja (PD) (mm)</b>	5,04	0,22	5,06	0,27
<b>Recesija gingive (RE) (mm)</b>	3,99	0,84	3,89	0,97
<b>Razina kliničkog pričvrstka (CAL) (mm)</b>	9,10	0,95	8,83	1,76
<b>Full mouth plaque score (FMPS) (%)</b>	50,04	8,79	50,60	9,35
<b>Full mouth bleeding score (FMBS)(%)</b>	39,95	13,14	41,81	18,79
<b>BROJ ZUBI</b>	22,13	1,45	22,50	2,00

Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija; IQR=interkvartilni raspon.

**Tablica 4.** Parodontološki parametri kontrolne skupine na početku istraživanja

<b>Kontrolna skupina prvo mjerenje</b>	<b>Mean</b>	<b>SD</b>	<b>Median</b>	<b>IQR</b>
<b>Dubina sondiranja (PD) (mm)</b>	6,47	0,48	6,24	0,72
<b>Recesija gingive (RE) (mm)</b>	3,38	0,62	3,45	0,63
<b>Razina kliničkog pričvrstka(CAL) (mm)</b>	9,85	0,80	9,67	0,67
<b>Full mouth plaque score (FMPS) (%)</b>	63,64	10,13	63,61	17,42
<b>Full mouth bleeding score (FMBS) (%)</b>	57,31	9,73	56,29	8,90
<b>BROJ ZUBI</b>	22,19	1,28	22,50	2,00

Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija; IQR=interkvartilni raspon.

**Tablica 5.** Parodontološki parametri kontrolne skupine nakon tri mjeseca

Kontrolna skupina drugo mjerenje	Mean	SD	Median	IQR
Dubina sondiranja (PD) (mm)	6,31	0,49	6,19	0,64
Recesija gingive (RE) (mm)	3,47	3,50	0,59	0,68
Razina kliničkog pričvrstka(CAL) (mm)	9,77	0,53	0,80	0,98
Full mouth plaque score (FMPS) (%)	55,97	10,84	55,51	11,91
Full mouth bleeding score (FMBS) (%)	52,88	9,14	54,17	10,02
<b>BROJ ZUBI</b>	22,00	1,21	22,00	10,02

Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija; IQR=interkvartilni raspon.

#### 4.3. Mikrobiološki profil u slini

Mikrobiološki profil uključivao je sedam najčešćih parodontopatogenih bakterija: *Porphyromonas endodontalis* (PE), *Porphyromonas gingivalis* (PG), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (AA), *Treponema denticola* (TD), *Fusobacterium nucleatum* (FN), *Prevotella intermedia* (PI) i *Tannerella forsythia* (TF). Vrijednosti mjerenja na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije kod ispitivane skupine i kontrolne skupine izražene su u apsolutnim vrijednostima te prikazane tablicama.



**Tablica 6.** Mikrobiološki profil ispitivane skupine na početku istraživanja

Ispitivana skupina prvo mjerenje	Mean	SD	Median	IQR
PE	9.533.843,8	27.967.026,0	293.100	1.885.325
PG	149.906,3	137.232,1	203.100	269.600
AA	185.018,8	182.767,6	185.950	287.525
TD	1.581.737,5	940.719,2	1.959.500	1.198.300
FN	5.852.056,3	7.743.891,6	2.020.500	4.228.750
PI	3.041.406,3	7.445.530,4	268.650	163.650
TF	3.946.018,8	5.448.866,4	2.209.000	1.027.250

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*; Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija; IQR=interkvartilni raspon.

**Tablica 7.** Mikrobiološki profil ispitivane skupine tri mjeseca nakon terapije

Ispitivana skupina drugo mjerenje	Mean	SD	Median	IQR
PE	1.059.521,9	3.801.643,9	72.200	123.975
PG	63.660,0	70.813,4	47.825	94.325
AA	40.784,4	51.481,6	24.185	66.100
TD	177.964,4	215.144,7	105.100	173.418
FN	383.198,1	285.196,6	329.900	435.075
PI	57.154,4	129.960,2	4.870	18.008
TF	101.338,1	104.778,2	80.000	79.975

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella*

*intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*; Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija; IQR=interkvartilni raspon.

**Tablica 8.** Mikrobiološki profil kontrolne skupine na početku istraživanja

Kontrolna skupina prvo mjerenje	Mean	SD	Median	IQR
PE	26.097.950,0	52.953.997,2	1.999.000	7.926.350
PG	286.556,3	166.129,3	267.900	172.525
AA	186.487,5	133.182,9	180.900	179.450
TD	2.262.687,5	1.224.311,0	2.681.500	1.700.250
FN	6.663.675,0	7.792.625,7	2.749.500	4.048.000
PI	909.587,5	896.342,9	618.750	1.144.800
TF	3.253.712,5	3.508.411,7	2.251.000	1.876.500

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*; Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija; IQR=interkvartilni raspon.

**Tablica 9.** Mikrobiološki profil kontrolne skupine tri mjeseca nakon terapije

Kontrolna skupina drugo mjerenje	Mean	SD	Median	IQR
PE	8.000.475,0	18.941.909,4	1.499.500	1.433.150
PG	180.550,0	137.561,0	153.250	142.600
AA	191.962,5	171.795,1	146.350	247.175
TD	2.008.000,0	1.451.917,5	1.776.000	1.310.800
FN	9.554.125,0	12.436.846,6	3.032.500	12.676.750
PI	751.212,5	1.147.270,9	340.600	728.425
TF	3.978.131,3	6.845.270,2	1.659.500	3.315.100

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella*

*intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*; Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija; IQR=interkvartilni raspon.

#### 4.4. Salivarni CRP i parametri oksidacijskog stresa u slini

**Tablica 10.** Koncentracije salivarnog CRP-a (s-CRP) i parametara oksidacijskoga stresa u slini ispitivane skupine na početku istraživanja

Ispitivana skupina prvo mjerenje	Mean	SD	Median	IQR
s-CRP(pg/ml)	6.246,22	2.098,09	6.554,61	2.925,80

Ispitivana skupina prvo mjerenje	Mean	SD	Median	IQR
8-0HdG (ng/ml)	3,04	1,97	2,77	3,47
MDA(pmol/ml)	2,74	1,73	2,88	3,31
SOD(U/ml)	0,50	0,28	0,44	0,38

s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija; IQR=interkvartilni raspon; 8-OHdG- 8- hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza.

**Tablica 11.** Koncentracije s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa u slini ispitivane skupine tri mjeseca nakon terapije

<b>Ispitivana skupina drugo mjerenje</b>	<b>Mean</b>	<b>SD</b>	<b>Median</b>	<b>IQR</b>
<b>s-CRP(pg/ml)</b>	2.760,76	1.108,28	2.745,29	1.100,30

<b>Ispitivana skupina drugo mjerenje</b>	<b>Mean</b>	<b>SD</b>	<b>Median</b>	<b>IQR</b>
<b>8-0HdG (ng/ml)</b>	1,58	1,12	1,41	1,17
<b>MDA(pmol/ml)</b>	1,76	1,58	1,43	2,72
<b>SOD(U/ml)</b>	0,15	0,23	0,07	0,14

s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija; IQR=interkvartilni raspon; 8-OHdG-8- hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza.

**Tablica 12.** Koncentracije s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa u slini kontrolne skupine na početku istraživanja

<b>Kontrolna skupina prvo mjerenje</b>	<b>Mean</b>	<b>SD</b>	<b>Median</b>	<b>IQR</b>
<b>s-CRP(pg/ml)</b>	3.613,81	1.992,34	3.471,88	1.556,13

<b>Kontrolna skupina prvo mjerenje</b>	<b>Mean</b>	<b>SD</b>	<b>Median</b>	<b>IQR</b>
<b>8-0HdG (ng/ml)</b>	2,48	1,76	1,79	2,81
<b>MDA(pmol/ml)</b>	2,06	1,49	2,06	2,03
<b>SOD(U/ml)</b>	0,55	0,43	0,50	0,76

s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija; IQR=interkvartilni raspon; 8-OHdG-8- hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza.

**Tablica 13.** Koncentracije s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa u slini kontrolne skupine tri mjeseca nakon terapije

Kontrolna skupina drugo mjerenje	Mean	SD	Median	IQR
CRP(pg/ml)	3.056,61	1.796,51	2.429,60	1.438,42

Kontrolna skupina drugo mjerenje	Mean	SD	Median	IQR
8-0HdG (ng/ml)	1,81	1,58	1,81	1,52
MDA(pmol/ml)	1,79	1,26	1,79	1,86
SOD(U/ml)	0,59	0,62	0,59	0,72

s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija; IQR=interkvartilni raspon; 8-OHdG-8- hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza.

#### 4.5. Korelacije parodontoloških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa

Rezultati korelacije parodontoloških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa kod ispitanika na početku istraživanja pokazuju korelacijsku vezu nekoliko parametara: iznimno jaku korelaciju razine kliničkoga pričvrstka (CAL) i recesije gingive (RE) kod ispitanika ( $P=0,98$ ), jaku korelaciju vrijednosti *Fusobacterium nucleatum* (FN) i *Prevotella intermedia* (PI) u uzorcima sline ( $P=0,77$ ), koncentracije malondialdehida (MDA) i superoksid dismutaza (SOD) u uzorcima sline ( $P=0,73$ ), vrijednosti *Porphyromonas gingivalis* (PG) u slini i dubine sondiranja (PD) 0,66. Slabija korelacija pronađena je kod dubine sondiranja (PD) i plak indeksa (PI) ( $P=0,62$ ), koncentracije s-CRP-a i malondialdehida (MDA) ( $P=0,59$ ), dubine sondiranja (PD) i vrijednosti *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (AA) ( $P=0,58$ ). Ostale korelacije nisu pokazale bitne vrijednosti (Tablica 14).

**Tablica 14.** Pearson korelacioni koeficijent (P). Korelacije parodontoških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa kod ispitivane skupine na početku istraživanja.

Korelacija - Ispitivana skupina - Prvo mjerenje	PE	PG	AA	TD	FN	PI	TF	s-CRP (pg/ml)	8-OHdG (ng/ml)	MDA (pmol/ml)	SOD (U/ml)	PD (mm)	RE (mm)	CAL (mm)	FMPS (%)	FMBS (%)	BROJ ZUBI
PE	1																
PG	-0,24	1															
AA	-0,33	0,33	1														
TD	-0,47	-0,34	0,32	1													
FN	-0,05	0,37	-0,19	-0,12	1												
PI	-0,13	0,19	0,03	0,32	0,77	1											
TF	-0,11	-0,36	-0,35	0,19	-0,28	-0,14	1										
s-CRP (pg/ml)	-0,48	-0,1	0,17	0,41	-0,33	-0,25	0,13	1									
8-OHdG (ng/ml)	-0,02	-0,04	0,27	0,55	-0,26	-0,05	0,02	0,36	1								
MDA (pmol/ml)	-0,36	0	0,18	0,3	-0,17	-0,22	0,01	0,59	0,56	1							
SOD (U/ml)	-0,06	-0,15	0,06	0,3	-0,12	-0,11	-0,02	0,51	0,36	0,73	1						
PD (mm)	-0,22	0,66	0,58	0,12	-0,1	-0,06	-0,33	0,12	0,53	0,37	0,05	1					
RE (mm)	-0,3	0,27	-0,08	0,15	0,4	0,37	0,06	-0,06	-0,08	0,23	0,23	0,08	1				
CAL (mm)	-0,39	0,39	0,04	0,18	0,36	0,33	0,01	0,01	0,01	0,31	0,23	0,26	0,98	1			
FMPS (%)	-0,23	-0,36	-0,43	0,03	0,4	0,25	-0,07	-0,06	-0,44	-0,11	-0,07	-0,62	0,01	-0,07	1		
FMBS (%)	0,03	0,4	0	-0,25	0,4	0,15	-0,38	-0,23	-0,33	-0,36	-0,23	0	0,56	0,53	0,03	1	
BROJ ZUBI	-0,06	-0,29	-0,04	0,08	-0,46	-0,44	0,47	0,21	0,12	0,31	0,24	-0,16	0,02	0	-0,36	-0,3	1

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*; s-CRP - salivarni C-reaktivni protein; 8-OHdG-8-hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza; PD-dubina sondiranja; RE- recesija gingive; CAL-razina kliničkog pričvrstka; FMPS-plak indeks; FMBS-krvarenje pri sondiranju.

Kod drugog mjerenja parametara kod skupine ispitanika, 3 mjeseca nakon terapije, potvrđena je jaka korelacija razine kliničkog pričvrstka (CAL) i recesije gingive (RE) kod ispitanika (0,88), koncentracije malondialdehida (MDA) i 8- hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) (P=0,67), te slabija veza indeksa krvarenja pri sondiranju (FMBS) i malondialdehida (MDA) (P=0,64), i malondialdehida (MDA) i superoksid dismutaze (SOD) (Tablica 15).

**Tablica 15.** Pearson korelacioni koeficijent (P). Korelacije parodontoških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa kod ispitivane skupine tri mjeseca nakon terapije.

Korelacija – Ispitivana skupina - Drugo njičenje	PE	PG	AA	TD	FN	PI	TF	s-CRP (pg/ml)	8-OHdG (ng/ml)	MDA (pmol/ml)	SOD (U/ml)	PD (mm)	RE (mm)	CAL (mm)	FMPS (%)	FMBS (%)	BROJ ZUBI
PE	1																
PG	-0,24	1															
AA	-0,23	-0,13	1														
TD	-0,05	-0,24	0,28	1													
FN	0,22	0,02	0,04	0,11	1												
PI	-0,12	-0,12	0,21	0,31	0,19	1											
TF	0,02	-0,33	-0,04	-0,24	-0,51	0,08	1										
s-CRP (pg/ml)	-0,25	-0,42	0,01	-0,28	-0,03	0,21	0,12	1									
8-OHdG (ng/ml)	0,07	-0,14	0,1	0,16	-0,06	-0,18	-0,12	0,3	1								
MDA (pmol/ml)	-0,26	-0,09	0,36	-0,2	-0,05	-0,36	-0,03	0,41	0,67	1							
SOD (U/ml)	-0,13	-0,04	0,51	-0,24	-0,3	-0,15	0,25	0,06	0,08	0,62	1						
PD (mm)	0,07	0,26	0,05	0,33	0,06	0,26	-0,18	-0,01	0,53	0,24	0,06	1					
RE (mm)	-0,1	-0,11	0,11	0,15	0,27	0,19	-0,15	0,07	0,08	0,06	-0,06	-0,11	1				
CAL (mm)	-0,09	0,19	0,05	0,12	0,26	0,1	-0,29	0,02	0,24	0,21	0,06	0,25	0,88	1			
FMPS (%)	-0,09	0,04	-0,12	-0,23	-0,04	0,36	0,11	-0,18	-0,56	-0,44	0,05	-0,5	0,02	-0,19	1		
FMBS (%)	0,08	0,08	-0,28	-0,01	0,27	0,5	-0,21	0,05	-0,37	-0,64	-0,58	-0,27	0,5	0,31	0,49	1	
BROJ ZUBI	-0,01	-0,36	-0,05	-0,03	-0,29	-0,55	0,15	0,05	0,19	0,24	0,09	-0,24	0,09	0,01	-0,26	-0,33	1



PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*; s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; 8-OHdG-8-hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza; PD-dubina sondiranja; RE- recesija gingive; CAL-razina kliničkog pričvrstka; FMPS-plak indeks; FMBS-krvarenje pri sondiranju.

Rezultati korelacije parodontoških parametara, mikrobiološkoga profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa kod kontrolne skupine na početku istraživanja pokazuju korelacijsku vezu nekoliko parametara: recesije gingive (RE) i razine kliničkoga pričvrstka (CAL) ( $P=0,81$ ), koncentracije s-CRP-a i superoksid dismutaze (SOD) ( $P=0,68$ ), te slabiju vezu indeksa krvarenja pri sondiranju (FMBS) i *Porphyromonas gingivalis* (PG) ( $P=0,61$ ), malondialdehida (MDA) i 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) (Tablica 16).

**Tablica 16.** Pearson korelacioni koeficijent (P). Korelacije parodontoških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa kod kontrolne skupine na početku istraživanja.

Korelacija - Kontrolna skupina - Prvo mijerenje	PE	PG	AA	TD	FN	PI	TF	s-CRP (pg/ml)	8-OHdG (ng/ml)	MDA (pmol/ml)	SOD (U/ml)	PD (mm)	RE (mm)	CAL (mm)	FMPS (%)	FMBS (%)	BROJ ZUBI
PE	1																
PG	0,24	1															
AA	0,36	0,1	1														
TD	-0,33	-0,53	-0,06	1													
FN	0,04	-0,31	0,21	0,46	1												
PI	-0,03	0,11	0,02	-0,21	-0,15	1											
TF	-0,25	0,03	0,26	0,33	0,5	0,2	1										
s-CRP (pg/ml)	-0,19	0,08	0	0,26	-0,25	-0,2	-0,16	1									
8-OHdG (ng/ml)	-0,01	-0,11	0,22	0,32	0,1	-0,43	0,33	0,57	1								
MDA (pmol/ml)	-0,09	-0,14	0,17	0,27	0,28	-0,11	0,25	0,49	0,61	1							
SOD (U/ml)	-0,4	0,15	-0,28	-0,03	-0,37	0,19	0	0,68	0,48	0,49	1						
PD(mm)	-0,14	-0,16	0,1	0,27	-0,08	-0,53	-0,14	0,47	0,25	0,06	-0,01	1					
RE (mm)	-0,16	0,11	-0,12	-0,04	-0,41	-0,2	-0,16	0,35	0,46	0	0,45	0,06	1				
CAL (mm)	-0,21	0	-0,03	0,13	-0,36	-0,47	-0,2	0,55	0,5	0,04	0,35	0,63	0,81	1			
FMPS (%)	0	0,38	-0,28	-0,02	-0,11	-0,51	-0,12	0,5	0,27	0,36	0,26	0,36	-0,06	0,17	1		
FMBS (%)	0,17	0,61	-0,3	-0,34	-0,07	-0,52	-0,18	-0,05	0,07	-0,13	0,01	-0,1	0,21	0,11	0,53	1	
BROJ ZUBI	0,03	-0,43	-0,3	0,09	0,13	0,16	0,02	-0,39	-0,14	-0,46	-0,17	-0,3	-0,09	-0,25	-0,48	-0,17	1

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*; s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; 8-OHdG-8-hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza; PD-dubina sondiranja; RE- recesija gingive; CAL-razina kliničkog pričvrstka; FMPS-plak indeks; FMBS-krvarenje pri sondiranju.

Kod drugog mjerenja u kontrolnoj skupini potvrđena je vrlo jaka korelacija recesije gingive (RE) i razine kliničkog pričvrstka (CAL) (0,88), te jaka korelacija vrijednosti *Tannerella forsythia* (TF) i *Prevotella intermedia* (PI) (P=0,74), dubine sondiranja (PD) i vrijednosti *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (AA) (P=0,69), CRP-a i 8- hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) (P=0,67), s-CRP-a i malondialdehida (MDA) (P=0,65) (Tablica 17).

**Tablica 17.** Pearson korelacioni koeficijent (P). Korelacije parodontoloških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa kod kontrolne skupine tri mjeseca nakon terapije.

Korelacija - Kontrolna skupina - Drugo mjerenje	PE	PG	AA	TD	FN	PI	TF	s-CRP (pg/ml)	8-OHdG (ng/ml)	MDA (pmol/ml)	SOD (U/ml)	PD (mm)	RE (mm)	CAL (mm)	FMPS (%)	FMBS (%)	BROJ ZUBI
PE	1																
PG	0,31	1															
AA	0,01	-0,21	1														
TD	-0,23	-0,34	-0,14	1													
FN	-0,23	-0,35	-0,16	0,18	1												
PI	-0,12	-0,17	0,07	0,32	0,07	1											
TF	-0,14	0,01	0,27	0,04	0,3	0,74	1										
s-CRP (pg/ml)	-0,2	0,19	0,12	0,22	-0,08	-0,38	-0,18	1									
8-OHdG (ng/ml)	-0,12	-0,23	0,17	0,16	0,14	-0,32	-0,23	0,67	1								
MDA (pmol/ml)	-0,38	-0,02	-0,02	0,41	0,42	-0,23	-0,05	0,65	0,63	1							
SOD (U/ml)	-0,24	-0,02	0,09	-0,04	-0,46	0,04	-0,21	0,38	0,5	0,23	1						
PD (mm)	0,11	-0,32	0,69	-0,21	-0,43	0,07	0	0,18	0,4	-0,18	0,53	1					
RE (mm)	0,18	0,17	0,16	-0,25	0,53	0,18	0,44	-0,05	0,11	0,31	-0,15	-0,11	1				
CAL (mm)	0,16	0,04	0,35	-0,26	0,36	0,27	0,53	0,09	0,31	0,25	0,14	0,25	0,88	1			
FMPS (%)	-0,34	0,16	-0,04	0,08	0,39	0,1	0,28	-0,08	-0,26	0,15	-0,33	-0,5	0,02	-0,19	1		
FMBS (%)	0,13	-0,03	-0,06	-0,03	0,65	0,34	0,39	-0,38	-0,12	-0,09	-0,44	-0,27	0,5	0,31	0,49	1	
BROJ ZUBI	0,13	0,25	0,09	0,22	-0,15	0	0,19	0,01	-0,21	0,06	-0,41	-0,24	0,09	0,01	-0,26	-0,33	1

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*; s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; 8-OHdG-8-hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza; PD-dubina sondiranja; RE- recesija gingive; CAL-razina kliničkog pričvrstka; FMPS-plak indeks; FMBS-krvarenje pri sondiranju.

#### **4.6. T-test s dva uzorka uz pretpostavku nejednakih varijanci**

##### **4.6.1. T-test parodontoloških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa ispitivane skupine i kontrolne skupine na početku istraživanja**

Rezultati t-testa pokazuju da postoji statistički značajna razlika u vrijednosti kliničkog parametra PD ( $p = 0,016$ ) između ispitanika i kontrolne skupine, dok su razlike vrijednosti ostalih kliničkih parametara; RE, CAL, FMPS i FMBS, ispitivane skupine i kontrolne skupine na početku istraživanja statistički bez značaja.

**Tablica 18.** T-test parodontoloških parametara ispitivane skupine i kontrolne skupine na početku istraživanja

<i>PD (mm)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>RE (mm)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	6,18375	6,47375	Mean	3,571875	3,378125
Variance	0,02705167	0,22845167	Variance	0,86698958	0,38750958
Observations	16	16	Observations	16	16
df	19		df	26	
t Stat	-2,2948785		t Stat	0,69193694	
P(T<=t)	<b>0,01665006</b>		P(T<=t)	0,24755514	
t Critical	1,72913281		t Critical	1,70561792	

<i>CAL (mm)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>FMPS (%)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	9,731875	9,8509375	Mean	63,138125	63,643125
Variance	0,94474958	0,64794073	Variance	121,564643	102,567396
Observations	16	16	Observations	16	16
df	29		df	30	
t Stat	-0,3773717		t Stat	-0,1349272	
P(T<=t)	0,35432256		P(T<=t)	0,44678534	
t Critical	1,69912703		t Critical	1,69726089	

<i>FMBS (%)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	54,330625	57,311875
Variance	269,653993	94,6902963
Observations	16	16
df	24	
t Stat	-0,6247444	
P(T<=t)	0,26901679	
t Critical	1,71088208	

PD-dubina sondiranja; RE- recesija gingive; CAL-razina kliničkog pričvrstka; FMPS-plak indeks; FMBS- krvarenje pri sondiranju.

Mikrobiološki profil u uzorcima sline na početku istraživanja kod ispitivane skupine i kontrolne skupine pokazuje razliku statistički bez značaja za mikroorganizme PE, AA, FN, PI, i TF, dok je razlika bila statistički značajna za PG ( $p=0,009$ ) i TD ( $p=0,045$ ).

**Tablica 19.** T-test mikrobiološkog profila ispitivane skupine i kontrolne skupine na početku istraživanja

<i>PE</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>PG</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	9533843,75	26097950	Mean	149906,25	286556,25
Variance	8,34298E+14	2,80413E+15	Variance	20088155292	27598933292
Observations	16	16	Observations	16	16
df	23		df	29	
t Stat	-1,098427369		t Stat	-2,50304826	
P(T<=t)	0,141692003		P(T<=t)	<b>0,009098345</b>	
t Critical	1,713871528		t Critical o	1,699127027	

<i>AA</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>TD</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	185018,75	186487,5	Mean	1581737,5	2262687,5
Variance	35630944292	17737678500	Variance	9,43949E+11	1,49894E+12
Observations	16	16	Observations	16	16
df	27		df	29	
t Stat	-0,025431084		t Stat	-1,742703626	
P(T<=t)	0,489949074		P(T<=t)	<b>0,045990999</b>	
t Critical	1,703288446		t Critical	1,699127027	

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*.

**Tablica 19.** T-test mikrobiološkog profila ispitivane skupine i kontrolne skupine na početku istraživanja ( nastavak tablice )

<i>FN</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>PI</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	5852056,25	6663675	Mean	3041406,25	909587,5
Variance	6,39657E+13	6,0725E+13	Variance	5,54359E+13	8,03431E+11
Observations	16	16	Observations	16	16
df	30		df	15	
	-				
t Stat	0,290733435		t Stat	1,13707762	
P(T<=t)	0,38662784		P(T<=t)	0,136672396	
t Critical	1,697260887		t Critical	1,753050356	

<i>TF</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	3946018,75	3253712,5
Variance	2,96901E+13	1,2309E+13
Observations	16	16
df	26	
t Stat	0,427305285	
P(T<=t)	0,336337542	
t Critical	1,70561792	

FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*.

Koncentracija s-CRP-a u uzorcima sline je bila statistički značajno različita u odnosu na kontrolnu skupinu ( $p=0,0005$ ), dok su parametri oksidacijskoga stresa: 8-OHdG, MDA i SOD imali statistički beznačajnu vrijednost.



**Tablica 20.** T-test s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa ispitivane skupine i kontrolne skupine na početku istraživanja

<i>s-CRP</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>8-OHdG (ng/ml)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	6246,22192	3613,81268	Mean	3,043225	2,4753125
Variance	4401996,54	3969404	Variance	3,88367854	3,0982284
Observations	16	16	Observations	16	16
df	30		df	30	
t Stat	3,63927051		t Stat	0,85971478	
P(T<=t) one-tail	<b>0,00050906</b>		P(T<=t) one-tail	0,19838226	
t Critical one-tail	1,69726089		t Critical one-tail	1,69726089	

<i>MDA(pmol/ml)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>SOD(U/ml)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	2,737015	2,05850625	Mean	0,49806875	0,5526625
Variance	3,00622529	2,2093188	Variance	0,08120502	0,18835289
Observations	16	16	Observations	16	16
df	29		df	26	
t Stat	1,18840818		t Stat	-0,4206074	
P(T<=t)	0,12215703		P(T<=t)	0,33874902	
t Critical	1,69912703		t Critical	1,70561792	

s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; 8-OHdG-8- hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza.

#### 4.6.2. T-test parodontoloških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa ispitivane skupine i kontrolne skupine tri mjeseca nakon terapije

Rezultati istraživanja pokazuju da tri mjeseca nakon terapije postoji statistički vrlo značajna razlika u vrijednostima kliničkih parametara PD ( $p=2,33E-09$ ) i FMBS ( $p=0,001$ ), statistički značajna razlika kod parametara RE ( $p=0,02$ ) i CAL ( $p=0,01$ ) kod ispitivane skupine i kontrolne skupine.

Ne postoji statistički značajna razlika u vrijednosti kliničkog parametra PI ( $p=0,05$ ) kod ispitivane skupine i kontrolne skupine tri mjeseca nakon terapije.

**Tablica 21.** T-test parodontoloških parametara ispitivane skupine i kontrolne skupine tri mjeseca nakon terapije

<i>PD (mm)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>RE (mm)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	5,040625	6,306875	Mean	3,990625	3,465
Variance	0,046272917	0,237609583	Variance	0,70469958	0,35324
Observations	16	16	Observations	16	16
df	21		df	27	
t Stat	-9,50626986		t Stat	2,04411616	
P(T<=t)	<b>2,33337E-09</b>		P(T<=t)	<b>0,02540388</b>	
t Critical	1,720742903		t Critical	1,70328845	

<i>CAL (mm)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>FMPS (%)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	9,096982047	9,771470332	Mean	50,039375	55,965625
Variance	0,893554791	0,640434913	Variance	77,3043129	117,460253
Observations	16	16	Observations	16	16
df	29		df	29	
t Stat	-2,17832752		t Stat	-1,698576	
P(T<=t)	<b>0,018827908</b>		P(T<=t)	0,05005251	
t Critical	1,699127027		t Critical	1,69912703	

**Tablica 21.** T-test parodontoloških parametara ispitivane skupine i kontrolne skupine tri mjeseca nakon terapije ( nastavak tablice )

<i>FMBS (%)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	39,95375	52,87875
Variance	172,5785317	83,55197167
Observations	16	16
df	27	
t Stat	-3,23042670	
P(T<=t)	<b>0,001621162</b>	
t Critical	1,703288446	

PD-dubina sondiranja; RE- recesija gingive; CAL-razina kliničkog pričvrstka; FMPS-plak indeks; FMBS- krvarenje pri sondiranju.

Mikrobiološki profil mikroorganizama u slini tri mjeseca nakon terapije pokazuje statistički vrlo značajnu razliku u vrijednostima kod ispitivane skupine i kontrolne skupine: PG (p=0,003), AA (p=0,001), TD (p=6,713E-05), FN (p=0,004), PI (p=0,014) i TF (p=0,019). Rezultat je statistički bez značaja za PE (p=0,08).

**Tablica 22.** T-test mikrobiološkog profila ispitivane skupine i kontrolne skupine tri mjeseca nakon terapije

<i>PE</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>PG</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	1059521,875	8000475	Mean	63660	180550
Variance	1,44525E+13	3,58796E+14	Variance	5014542707	18923038667
Observations	16	16	Observations	16	16
df	16		df	22	
	-			-	
t Stat	1,437077232		t Stat	3,022019178	
P(T<=t)	0,084981951		P(T<=t)	<b>0,003133111</b>	
t Critical	1,745883676		t Critical	1,717144374	
<i>AA</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>TD</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	40784,375	191962,5	Mean	177964,375	2008000
Variance	2650354960	29513543833	Variance	46287224173	2,10806E+12
Observations	16	16	Observations	16	16
df	18		df	16	
t Stat	-3,3718217		t Stat	-4,98725098	
P(T<=t)	<b>0,00169847</b>		P(T<=t)	<b>6,71388E-05</b>	
t Critical	1,73406361		t Critical	1,745883676	
<i>FN</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>PI</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	383198,125	9554125	Mean	57154,375	751212,5
Variance	81337085523	1,54675E+14	Variance	16889652213	1,31623E+12
Observations	16	16	Observations	16	16
df	15		df	15	
t Stat	-2,94882355		t Stat	-2,40448018	
P(T<=t)	<b>0,004978601</b>		P(T<=t)	<b>0,014782422</b>	
t Critical	1,753050356		t Critical	1,753050356	

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter*

*actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*.

**Tablica 22.** T-test mikrobiološkog profila ispitivane skupine i kontrolne skupine tri mjeseca nakon terapije ( nastavak tablice )

<i>TF</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	101338,125	3978131,25
Variance	10978480376	4,68577E+13
Observations	16	16
df	15	
t Stat	-2,26511966	
P(T<=t)	<b>0,019372545</b>	
t Critical	1,753050356	

TF- *Tannerella forsythia*.

Ne postoji statistički značajna razlika u koncentraciji s-CRP-a u slini kod ispitivane skupine i kontrolne skupine tri mjeseca nakon terapije ( $p=0,29$ ). Statistički visoka značajna razlika postojala je kod koncentracije parametra oksidacijskog stresa SOD ( $p=0,007$ ), dok rezultat nije bio statistički značajan za parametre 8-OHdG ( $p=0,31$ ) i MDA ( $p=0,47$ ).

**Tablica 23.** T-test s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa ispitivane skupine i kontrolne skupine tri mjeseca nakon terapije

<i>s-CRP</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>8-OHdG (ng/ml)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	2760,756875	3056,611469	Mean	1,5761625	1,814625
Variance	1228288,528	3227464,539	Variance	1,249390321	2,497346578
Observations	16	16	Observations	16	16
df	25		df	27	
t Stat	-0,56063183		t Stat	-0,49278047	
P(T<=t)	0,290019416		P(T<=t)	0,313075757	
t Critical	1,708140761		t Critical	1,703288446	

<i>MDA(pmol/ml)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>SOD(U/ml)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	1,7595125	1,78878125	Mean	0,150025	0,58771875
Variance	2,505991587	1,584074366	Variance	0,055064607	0,382431532
Observations	16	16	Observations	16	16
df	29		df	19	
t Stat	-0,0578894		t Stat	-2,64693468	
P(T<=t)	0,477116891		P(T<=t)	<b>0,007952569</b>	
t Critical	1,699127027		t Critical	1,729132812	

s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; 8-OHdG-8- hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza.

#### 4.7. T-test za srednje vrijednosti uparenih dvaju uzorka

##### 4.7.1. T-test parodontoloških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa ispitivane skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije

Rezultati t-testa za sve kliničke parametre PD, RE, CAL, FMPS i FMBS, za ispitivanu skupinu na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije su statistički vrlo značajni: PD ( $p=4,62E-14$ ), RE

( $p=2,08E-05$ ), CAL ( $p=4,22E-05$ ), PI ( $p=1,75E-06$ ), i BOP ( $p=3,86E-08$ ).

**Tablica 24.** T-test parodontoloških parametara ispitivane skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije

<i>PD (mm)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>RE (mm)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	6,18375	5,040625	Mean	3,571875	3,990625
Variance	0,027051667	0,046272917	Variance	0,866989583	0,704699583
Observations	16	16	Observations	16	16
Pearson Correlation	0,580856677		Pearson Correlation	0,950243552	
df	15		df	15	
t Stat	25,47248353		t Stat	5,705569086	
P(T<=t)	<b>4,62571E-14</b>		P(T<=t)	<b>2,08257E-05</b>	
t Critical	1,753050356		t Critical	1,753050356	

<i>CAL (mm)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>FMPS (%)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	9,731875	9,096982047	Mean	63,138125	50,039375
Variance	0,944749583	0,893554791	Variance	121,5646429	77,30431292
Observations	16	16	Observations	16	16
Pearson Correlation	0,876743085		Pearson Correlation	0,746466383	
df	15		df	15	
t Stat	5,327799631		t Stat	7,120619584	
P(T<=t)	<b>4,22357E-05</b>		P(T<=t)	<b>1,75147E-06</b>	
t Critical	1,753050356		t Critical	1,753050356	

PD-dubina sondiranja; RE- recesija gingive; CAL-razina kliničkog pričvrstka; FMPS-plak indeks.

**Tablica 24.** T-test parodontoloških parametara ispitivane skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije ( nastavak tablice )

<i>FMBS (%)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	54,330625	39,95375
Variance	269,6539929	172,5785317
Observations	16	16
Pearson Correlation	0,943083066	
df	15	
t Stat	9,673289789	
P(T<=t)	<b>3,8609E-08</b>	
t Critical	1,753050356	

FMBS- krvarenje pri sondiranju.

Rezultati t-testa za mikrobiološki profil kod ispitivane skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije su statistički vrlo značajni za PG ( $p=0,0008$ ), AA ( $p=0,001$ ), TD ( $p=5,73E-06$ ), FN ( $p=0,006$ ), TF ( $p=0,006$ ), a statistički bez značaja za PE ( $p=0,09$ ) i PI ( $p=0,06$ ).

**Tablica 25.** T-test mikrobiološkog profila ispitivane skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije

<i>PE</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>PG</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	9533843,75	1059521,875	Mean	149906,25	63660
Variance	8,34298E+14	1,44525E+13	Variance	20088155292	5014542707
Observations	16	16	Observations	16	16
Pearson Correlation	0,969457009		Pearson Correlation	0,846747372	
df	15		df	15	
t Stat	1,344280459		t Stat	3,831793932	
P(T<=t)	0,099418262		P(T<=t)	<b>0,000816778</b>	
t Critical	1,753050356		t Critical	1,753050356	

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*.



**Tablica 25.** T-test mikrobiološkog profila ispitivane skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije ( nastavak tablice )

<i>AA</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>TD</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	185018,75	40784,375	Mean	1581737,5	177964,375
Variance	35630944292	2650354960	Variance	9,43949E+11	46287224173
Observations	16	16	Observations	16	16
Pearson Correlation	0,70868321		Pearson Correlation	0,540719184	
df	15		df	15	
t Stat	3,685340318		t Stat	6,423289611	
P(T<=t)	0,001102148		P(T<=t)	5,73254E-06	
t Critical	1,753050356		t Critical	1,753050356	

<i>FN</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>PI</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	5852056,25	383198,125	Mean	3041406,25	57154,375
Variance	6,39657E+13	81337085523	Variance	5,54359E+13	16889652213
Observations	16	16	Observations	16	16
Pearson Correlation	0,518005095		Pearson Correlation	0,506314415	
df	15		df	15	
t Stat	2,785290838		t Stat	1,61735346	
P(T<=t)	<b>0,006932493</b>		P(T<=t)	<b>0,063316605</b>	
t Critical	1,753050356		t Critical	1,753050356	

<i>TF</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	3946018,75	101338,125
Variance	2,96901E+13	10978480376
Observations	16	16
Pearson Correlation	0,557624363	
df	15	
t Stat	2,852591354	
P(T<=t)	<b>0,006051436</b>	
t Critical	1,753050356	

AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*.

Statistički vrlo značajni rezultati dobiveni su kod koncentracije CRP-a u slini kod ispitivane skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije ( $p=1,25E-08$ ), te za sva tri promatrana parametra oksidacijskoga stresa: 8-OHdG ( $p=1,45E-05$ ), MDA ( $p=3,22E-05$ ), i SOD ( $p=8,44E-06$ ).

**Tablica 26.** T-test s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa ispitivane skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije

<i>s-CRP</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>8-OHdG (ng/ml)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	6246,221919	2760,756875	Mean	3,043225	1,5761625
Variance	4401996,54	1228288,528	Variance	3,883678545	1,249390321
Observations	16	16	Observations	16	16
Pearson Correlation	0,833787872		Pearson Correlation	0,940533829	
df	15		df	15	
t Stat	10,53091566		t Stat	5,899319045	
P(T<=t)	<b>1,2597E-08</b>		P(T<=t)	<b>1,45994E-05</b>	
t Critical	1,753050356		t Critical	1,753050356	
<i>MDA(pmol/ml)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>SOD(U/ml)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	2,737015	1,7595125	Mean	0,49806875	0,150025
Variance	3,006225292	2,505991587	Variance	0,081205017	0,055064607
Observations	16	16	Observations	16	16
Pearson Correlation	0,91111633		Pearson Correlation	0,642345279	
Hypothesized Mean			Hypothesized Mean		
Difference	0		Difference	0	
df	15		df	15	
t Stat	5,471519304		t Stat	6,203512739	
P(T<=t)	<b>3,22022E-05</b>		P(T<=t)	<b>8,44572E-06</b>	
t Critical	1,753050356		t Critical	1,753050356	

s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; 8-OHdG-8- hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid;

SOD-superoksid dismutaza.

#### 4.7.2. T-test parodontoloških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa kontrolne skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije

Rezultati t-testa parodontoloških parametara za kontrolnu skupinu statistički su vrlo značajni za PD ( $p=0,001$ ), RE ( $p=0,001$ ), FMPS ( $p=0,00017$ ) i FMBS ( $p=0,005$ ), dok su za CAL ( $p=0,02$ ) statistički značajni.

**Tablica 27.** T-test parodontoloških parametara kontrolne skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije

<i>PD (mm)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>RE (mm)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable2</i>
Mean	6,47375	6,306875	Mean	3,378125	3,465
Variance	0,22845167	0,23760958	Variance	0,38750958	0,35324
Observations	16	16	Observations	16	16
Pearson Correlation	0,92677746		Pearson Correlation	0,98725631	
df	15		df	15	
t Stat	3,60892102		t Stat	-3,436904	
P(T<=t)	<b>0,00128903</b>		P(T<=t)	<b>0,00183457</b>	
t Critical	1,75305036		t Critical	1,75305036	

<i>CAL (mm)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>FMPS (%)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	9,8509375	9,77147033	Mean	63,643125	55,965625
Variance	0,64794073	0,64043491	Variance	102,567396	117,460253
Observations	16	16	Observations	16	16
Pearson Correlation	0,98430449		Pearson Correlation	0,79995003	
df	15		df	15	
t Stat	2,23412643		t Stat	4,60775797	
P(T<=t)	<b>0,02056087</b>		P(T<=t)	<b>0,00017084</b>	
t Critical	1,75305036		t Critical	1,75305036	

PD-dubina sondiranja; RE- recesija gingive; CAL-razina kliničkog pričvrstka; FMPS-plak indeks.

**Tablica 27.** T-test parodontoloških parametara kontrolne skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije ( nastavak tablice )

<i>FMBS (%)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	57,311875	52,87875
Variance	94,6902963	83,5519717
Observations	16	16
Pearson Correlation	0,79547953	
df	15	
t Stat	2,92584828	
P(T<=t)	<b>0,00521645</b>	
t Critical	1,75305036	

FMBS- krvarenje pri sondiranju.

Rezultati t-testa za mikrobiološki profil kod kontrolne skupine statistički su vrlo značajni za PG ( $p=0,0004$ ), i statistički značajni za FN ( $p=0,03$ ). Rezultati nisu statistički značajni za PE ( $p=0,06$ ), AA ( $p=0,43$ ), TD ( $p=0,18$ ), PI ( $p=0,18$ ) i TF ( $p=0,29$ ).

**Tablica 28.** T-test mikrobiološkoga profila kontrolne skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije

<i>PE</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>PG</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	26097950	8000475	Mean	286556,25	180550
Variance	2,80413E+15	3,58796E+14	Variance	27598933292	18923038667
Observations	16	16	Observations	16	16
Pearson Correlation	0,550085376		Pearson Correlation	0,787511953	
df	15		df	15	
t Stat	1,595174059		t Stat	4,13253701	
P(T<=t)	0,065761177		P(T<=t)	<b>0,000442945</b>	
t Critical	1,753050356		t Critical	1,753050356	

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*.

**Tablica 28.** T-test mikrobiološkoga profila kontrolne skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije ( nastavak tablice )

<i>AA</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>TD</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	186487,5	191962,5	Mean	2262687,5	2008000
Variance	17737678500	29513543833	Variance	1,49894E+12	2,10806E+12
Observations	16	16	Observations	16	16
Pearson Correlation	0,663011115		Pearson Correlation	0,665211697	
df	15		df	15	
t Stat	-0,16840365		t Stat	0,914111709	
P(T<=t)	0,434257729		P(T<=t)	0,187559208	
t Critical	1,753050356		t Critical	1,753050356	

<i>FN</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>PI</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	6663675	9554125	Mean	909587,5	751212,5
Variance	6,0725E+13	1,54675E+14	Variance	8,03431E+11	1,31623E+12
Observations	16	16	Observations	16	16
Pearson Correlation	0,921272033		Pearson Correlation	0,805853322	
df	15		df	15	
t Stat	-1,90516253		t Stat	0,931753102	
P(T<=t)	<b>0,038056204</b>		P(T<=t)	0,183109717	
t Critical	1,753050356		t Critical	1,753050356	

<i>TF</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	3253712,5	3978131,25
Variance	1,2309E+13	4,68577E+13
Observations	16	16
Pearson Correlation	0,659274974	
df	15	
	-	
t Stat	0,552561455	
P(T<=t)	0,294351887	
t Critical	1,753050356	

AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*;

Rezultati t-testa statistički su vrlo značajni kod kontrolne skupine za s-CRP ( $p=0,001$ ), kao i za parametar oksidacijskoga stresa 8-OHdG ( $p=0,0008$ ). Rezultati su statistički značajni za parametar oksidacijskoga stresa MDA ( $p=0,04$ ), dok za treći promatrani parametar oksidacijskoga stresa SOD, rezultati nisu statistički značajni ( $p=0,36$ ).

**Tablica 29.** T-test s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa kontrolne skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije

<i>s-CRP</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>8-OHdG (ng/ml)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	3613,81268	3056,61147	Mean	2,4753125	1,814625
Variance	3969404	3227464,54	Variance	3,0982284	2,49734658
Observations	16	16	Observations	16	16
Pearson Correlation	0,95282922		Pearson Correlation	0,92075825	
df	15		df	15	
t Stat	3,63468678		t Stat	3,84180866	
P(T<=t)	<b>0,00122271</b>		P(T<=t) on	<b>0,00080024</b>	
t Critical	1,75305036		t Critical	1,75305036	
<i>MDA(pmol/ml)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>	<i>SOD(U/ml)</i>	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	2,05850625	1,78878125	Mean	0,5526625	0,58771875
Variance	2,2093188	1,58407437	Variance	0,18835289	0,38243153
Observations	16	16	Observations	16	16
Pearson Correlation	0,92008668		Pearson Correlation	0,75405053	
df	15		df	15	
t Stat	1,82138778		t Stat	-0,3441394	
P(T<=t)	<b>0,04427505</b>		P(T<=t)	0,36775921	
t Critical	1,75305036		t Critical	1,75305036	

s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; 8-OHdG-8- hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza.

#### 4.8. Parodontološki parametri, mikrobiološki profil, s-CRP i parametri oksidacijskoga stresa kod pušača i nepušača

##### 4.8.1. Parodontološki parametri, mikrobiološki profil, s-CRP i parametri oksidacijskoga stresa kod nepušača u ispitivanoj skupini na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije

Kod nepušača iz ispitivane skupine tri mjeseca nakon provedene supragingivne i subgingivne terapije nalazimo statistički visoko značajno smanjenje svih promatranih kliničkih parametara osim parametra RE, gdje je zabilježeno statistički vrlo značajno povećanje ( $p=0,007$ ) i vrlo značajno poboljšanje kod s-CRP i parametara oksidacijskoga stresa. U mikrobiološkom profilu došlo je do značajnog sniženja vrijednosti bakterija PG, AA i TD, dok za ostale mikroorganizme nije uočena statistički značajno smanjenje broja mikroorganizama u slini.

**Tablica 30.** Parametri kod nepušača u ispitivanoj skupini na početku istraživanja i 3 mjeseca nakon terapije

Ispitivana skupina nepušači – I i II mjerenje	Mean-I mjerenje	SD-I mjerenje	Mean-II mjerenje	SD-II mjerenje	p vrijednost
Dubina sondiranja (PD) (mm)	6,14	0,09	5,04	0,16	<b>2,73E-07</b>
Recesija gingive (RE) (mm)	3,57	0,93	3,91	0,86	<b>0.007</b>
Razina kliničkog pričvrstka (CAL) (mm)	9,65	0,99	8,96	1,06	<b>0.004</b>
FMPS (%)	65,18	9,55	53,21	8,74	<b>0.003</b>
FMBS (%)	61,83	9,12	46,66	9,51	<b>4,88E-07</b>
CRP(pg/ml)	4.813,77	1.925,97	2.413,15	1.369,43	<b>4,16E-05</b>
8-0HdG (ng/ml)	2,22	1,51	1,05	0,65	<b>0.004</b>
MDA(pmol/ml)	1,31	0,91	0,44	0,38	<b>0.003</b>
SOD(U/ml)	0,32	0,15	0,06	0,05	<b>0.0006</b>
PE	18.620.562,50	39.981.790,44	2.010.619	5.374.145	0.10
PG	136.075,00	146.991,43	69.359	80.409	<b>0.02</b>
AA	149.275,00	140.287,49	23.378	32.721	<b>0.01</b>
TD	1.392.100	1.161.884,07	231.504	257.076	<b>0.006</b>
FN	6.467.350	9.378.887,09	319.859	218.807	0.05
PI	3.812.262,50	9.120.682,21	106.953	174.484	0.14
TF	3.818.887,50	5.603.903,26	102.765	52.530	0.05

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*; s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; 8-OHdG-8-hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza; Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija.

#### **4.8.2. Parodontološki parametri, mikrobiološki profil, s-CRP i parametri oksidacijskoga stresa kod pušača u ispitivanoj skupini na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije**

Kod pacijenata pušača iz ispitivane skupine tri mjeseca nakon provedene terapije došlo je do statistički vrlo značajnog poboljšanja svih promatranih kliničkih parodontoloških parametara osim parametra RE, gdje je zabilježeno statistički vrlo značajno povećanje ( $p=0,0009$ ), i vrlo značajno poboljšanje s-CRP-a, te parametara oksidacijskog stresa: 8-OHdG, MDA i SOD. U mikrobiološkom profilu nakon terapije nalazimo statistički visoko značajno smanjenje broja mikroorganizama PG, TD, te statistički značajno smanjenje broja AA, FN i TF. Kod mikroorganizama PE i PI rezultat nije statistički značajan.



**Tablica 31.** Parametri kod pušača u ispitivanoj skupini na početku istraživanja i 3 mjeseca nakon terapije

Ispitivana skupina pušači – I i II mjerenje	Mean-I mjerenje	SD-I mjerenje	Mean-II mjerenje	SD-II mjerenje	p vrijednost
<b>Dubina sondiranja (PD) (mm)</b>	6,23	0,21	5,04	0,27	<b>1,59E-07</b>
<b>Recesija gingive (RE) (mm)</b>	3,58	0,99	4,07	0,87	<b>0.0009</b>
<b>Razina kliničkog pričvrstka (CAL) (mm)</b>	9,81	1,01	9,23	0,87	<b>0.003</b>
<b>FMPS (%)</b>	61,09	12,64	46,87	8,14	<b>0.0001</b>
<b>FMBS (%)</b>	46,83	19,14	33,25	13,29	<b>0.001</b>
<b>CRP(pg/ml)</b>	7.678,67	1.016,57	3.108,37	693,21	<b>6,17E-08</b>
<b>8-OHdG (ng/ml)</b>	3,87	2,12	2,10	1,27	<b>0.0009</b>
<b>MDA(pmol/ml)</b>	4,17	0,96	3,08	1,11	<b>0.003</b>
<b>SOD(U/ml)</b>	0,68	0,28	0,24	0,31	<b>0.001</b>
<b>PE</b>	447.125,00	714.378,63	108.425	143.464	0.07
<b>PG</b>	163.738,00	144.921,71	57.961	64.851	<b>0.01</b>
<b>AA</b>	220.763,00	231.843,01	58.191	62.579	<b>0.02</b>
<b>TD</b>	1.771.375	768.488,49	124.425	162.932	<b>0.0002</b>
<b>FN</b>	5.236.763	6.945.539,98	446.538	342.414	<b>0.04</b>
<b>PI</b>	2.270.550,00	5.852.025,49	7.356	8.910	0.15
<b>TF</b>	4.073.150,00	5.672.835,65	99.911	144.088	<b>0.04</b>

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*; s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; 8-OHdG-8-hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza; Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija.

#### 4.8.3. T-test za parodontološke parametre, mikrobiološki profil, s-CRP i parametre oksidacijskoga stresa kod nepušača i pušača u ispitivanoj skupini

T-testom je izvršena usporedba promatranih parametara između nepušača i pušača na početku

istraživanja i 3 mjeseca nakon provedene terapije. Na početku istraživanja postojala je statistički značajna razlika u vrijednostima parametara FMBS ( $p=0,03$ ) sa značajno višim vrijednostima FMBS kod nepušača u skupini ispitanika, a tri mjeseca nakon provedene terapije rezultat je također statistički značajna za ovaj parametar ( $p=0,02$ ) sa FMBS kod nepušača  $46,66 \pm 9,51$ , a kod pušača  $33,25 \pm 13,29$ . Na početku istraživanja postojala je statistički vrlo značajna razlika u koncentraciji CRP-a u slini ( $p=0,004$ ) sa značajno višim koncentracijama kod pušača ( $7.678,67 \pm 1.016,57$  pg/ml) u odnosu na nepušače ( $4.813,77 \pm 1.925,97$  pg/ml). Značajno više koncentracije MDA ( $p=0,0001$ ) i SOD ( $p=0,01$ ) bile su kod pušača u odnosu na nepušače na početku istraživanja u skupini ispitanika te značajno više koncentracije 8-OHdG i MDA tri mjeseca nakon provedene terapije.

**Tablica 32.** T-test za parodontološke parametre, mikrobiološki profil, s-CRP i parametre oksidacijskoga stresa kod nepušača i pušača u ispitivanoj skupini

	<b>p -1</b>	<b>p - 2</b>
<b>Dubina sondiranja (PD) (mm)</b>	0.07	0.44
<b>Recesija gingive (RE) (mm)</b>	0.49	0.39
<b>Razina kliničkog pričvrstka (CAL) (mm)</b>	0.38	0.31
<b>Plak indeks (FMPS)(%)</b>	0.24	0.09
<b>Krvarenje pri sondiranju (FMBS)(%)</b>	<b>0.03</b>	<b>0.02</b>
<b>CRP(pg/ml)</b>	<b>0.004</b>	0.14
<b>8-OHdG (ng/ml)</b>	0.06	<b>0.04</b>
<b>MDA(pmol/ml)</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0002</b>
<b>SOD(U/ml)</b>	<b>0.01</b>	0.07
<b>PE</b>	0.12	0.17
<b>PG</b>	0.13	0.31
<b>AA</b>	0.11	<b>0.04</b>
<b>TD</b>	0.21	0.10
<b>FN</b>	0.38	0.14
<b>PI</b>	0.36	0.07
<b>TF</b>	0.28	0.05

**p-1: p vrijednosti t-testa za nepušače i pušače u ispitivanoj skupini na početku istraživanja**

**p-2: p vrijednosti t-testa za nepušače i pušače u ispitivanoj skupini tri mjeseca nakon provedene terapije**

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*; s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; 8-OHdG-8-hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza; Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija.

#### **4.8.4. Parodontološki parametri, mikrobiološki profil, s-CRP i parametri oksidacijskoga stresa kod nepušača u kontrolnoj skupini na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije**

U kontrolnoj skupini kod nepušača tri mjeseca nakon provedene supragingivne parodontološke terapije došlo je do statistički vrlo značajnog poboljšanja kliničkih parametara PD, FMPS, i statistički značajnog poboljšanja kod parametara CAL i FMBS. Vrijednost kliničkoga parametra RE je bila statički značajno viša ( $p=0,01$ ). Vrijednosti koncentracije parametra oksidacijskoga stresa 8-OHdG bile su značajno niže nakon provedene terapije ( $p=0,01$ ). U mikrobiološkom profilu vrlo značajno je smanjen broj PG ( $p=0,004$ ), i značajno smanjen broj TD ( $p=0,03$ ) i FN ( $p=0,04$ ).

**Tablica 33.** Parodontološki parametri, mikrobiološki profil, s-CRP i parametri oksidacijskoga stresa kod nepušača u kontrolnoj skupini na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije

Kontrolna skupina nepušači – I i II mjerenje	Mean-I mjerenje	SD-I mjerenje	Mean-II mjerenje	SD-II mjerenje	p vrijednost
Dubina sondiranja (PD) (mm)	6,45	0,41	6,2213	0,4	<b>0.003</b>
Recesija gingive (RE) (mm)	3,14	0,58	3,2713	0,59	<b>0.01</b>
Razina kliničkog pričvrstka (CAL) (mm)	9,59	0,77	9,4920	0,71	<b>0.04</b>
Plak indeks (FMPS)(%)	61,73	7,48	52,2225	5,55	<b>0.001</b>
Krvarenje pri sondiranju (FMBS)(%)	58,72	9,49	52,5350	7,12	<b>0.03</b>
CRP(pg/ml)	2.467,38	994,34	2.146	578,82	0.14
8-OHdG (ng/ml)	1,53	1,15	0,9599	0,71	<b>0.01</b>
MDA(pmol/ml)	1,2244	0,90	1,0468	0,58	0.23
SOD(U/ml)	0,16	0,12	0,2058	0,18	0.12
PE	50.902.262,50	67.832.408,59	14.966.213	25.637.940	0.07
PG	290.000	157.205,82	162.438	128.851	<b>0.004</b>
AA	208.375,00	108.557,10	196.325	131294,2143	0.41
TD	2.290.750	950.433,40	1.791.900	649.284,46	<b>0.03</b>
FN	8.658.250	9.075.669,13	10.892.000	11.387.767,64	<b>0.04</b>
PI	764.587,50	1.006.072,09	722.050	1.323.497,35	0.45
TF	2.639.012,50	3.638.756,20	4.647.875	9.592.114,35	0.19

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*; s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; 8-OHdG-8-hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza; Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija.

#### **4.8.5. Parodontološki parametri, mikrobiološki profil, s-CRP i parametri oksidacijskoga stresa kod pušača u kontrolnoj skupini na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije**

Rezultati pokazuju da je 3 mjeseca nakon terapije kod pušača u kontrolnoj skupini značajno povišen klinički parametar RE ( $p=0,03$ ), a vrijednosti FMPS i FMBS statistički su značajno niže. Vrijednost koncentracije salivarnog CRP-a je statistički vrlo značajno niža nakon provedene terapije ( $p=6,73E-05$ ), kao i koncentracija parametra oksidacijskoga stresa 8-OHdG. U mikrobiološkom profilu uočeno je značajno smanjenje broja mikroorganizama PG, dok za ostale mikroorganizme rezultati nisu statistički značajni.

**Tablica 34.** Parodontološki parametri, mikrobiološki profil, s-CRP i parametri oksidacijskoga stresa kod pušača u kontrolnoj skupini na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije

Kontrolna skupina pušači – I i II mjerenje	Mean-I mjerenje	SD-I mjerenje	Mean-II mjerenje	SD-II mjerenje	p vrijednost
Dubina sondiranja (PD) (mm)	6,4988	0,57	6,3925	0,57	0.07
Recesija gingive (RE) (mm)	3,61	0,60	3,6588	0,57	<b>0.03</b>
Razina kliničkog pričvrstka (CAL) (mm)	10,11	0,80	10,0509	0,83	0.15
Plak indeks (FMPS)(%)	65,55	12,47	59,7088	13,74	<b>0.02</b>
Krvarenje pri sondiranju (FMBS)(%)	55,90	10,41	53,2225	11,32	<b>0.02</b>
CRP(pg/ml)	4.760,24	2.124,39	3967,3559	2164,5022	<b>6,73E-05</b>
8-OHdG (ng/ml)	3,42	1,80	2,6694	1,78	<b>0.01</b>
MDA(pmol/ml)	2,8900	1,53	2,5308	1,34	0.06
SOD(U/ml)	0,94	0,19	0,9697	0,67	0.45
PE	1.293.638	1.144.860,32	1.034.738	798.845	0.18
PG	283.113	185.471,82	198.663	152.306	<b>0.02</b>
AA	164.600	158.523,39	187.600	214386,6534	0.27
TD	2.234.625	1.518.843,35	2.224.100	1.997.240,56	0.49
FN	4.669.100	6.218.033,26	8.216.250	14.059.668,69	0.13
PI	1.054.587,50	813.264,25	780.375	1.032.910,75	0.06
TF	3.868.412,50	3.503.157	3.308.388	2.715.783,42	0.36

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*; s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; 8-OHdG-8-hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza; Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija.

#### 4.8.6. T-test za parodontološke parametre, mikrobiološki profil, s-CRP i parametre oksidacijskoga stresa kod nepušača i pušača u kontrolnoj skupini

T-testom je izvršena usporedba promatranih parametara između nepušača i pušača na početku istraživanja i tri mjeseca nakon provedene terapije u kontrolnoj skupini. Na početku istraživanja postojala je statistički vrlo značajna razlika u koncentraciji CRP-a u slini ( $p=0,005$ ) sa značajno višim koncentracijama kod pušača ( $4.760,24 \pm 2.124,39$  pg/ml) u odnosu na nepušače ( $2.467,38 \pm 994,34$ pg/ml), te tri mjeseca nakon provedene terapije ( $p=0,01$ ), gdje su kod pušača i dalje bile prisutne više koncentracije u odnosu na nepušače. Značajno više koncentracije svih parametara oksidacijskoga stresa bile su kod pušača na početku istraživanja u odnosu na nepušače, kao i tri mjeseca nakon provedene terapije.

**Tablica 35.** T-test za parodontološke parametre, mikrobiološki profil, s-CRP i parametre oksidacijskog stresa kod nepušača i pušača u kontrolnoj skupini

	<b>p -1</b>	<b>p - 2</b>
<b>Dubina sondiranja (PD) (mm)</b>	0.41	0.24
<b>Recesija gingive (RE) (mm)</b>	0.09	0.11
<b>Razina kliničkog pričvrstka (CAL) (mm)</b>	0.10	0.08
<b>Plak indeks (FMPS) (%)</b>	0.14	0.05
<b>Krvarenje pri sondiranju (FMBS) (%)</b>	0.18	0.43
<b>CRP(pg/ml)</b>	<b>0.005</b>	<b>0.01</b>
<b>8-OHdG (ng/ml)</b>	<b>0.003</b>	<b>0.008</b>
<b>MDA(pmol/ml)</b>	<b>0.002</b>	<b>0.009</b>
<b>SOD(U/ml)</b>	<b>4,04E-07</b>	<b>0.004</b>
<b>PE</b>	<b>0.04</b>	0.08
<b>PG</b>	0.47	0.31
<b>AA</b>	0.19	0.45
<b>TD</b>	0.47	0.30
<b>FN</b>	0.14	0.28
<b>PI</b>	0.26	0.45
<b>TF</b>	0.27	0.33

**p-1:** p vrijednosti t-testa za nepušače i pušače u kontrolnoj skupini na početku istraživanja

**p-2:** p vrijednosti t-testa za nepušače i pušače u kontrolnoj skupini tri mjeseca nakon

## **provedene terapije**

PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*; s-CRP- salivarni C-reaktivni protein; 8-OHdG-8-hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza; Mean-aritmetička sredina; SD-standardna devijacija.

### **4.9. Korelacija parodontoloških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa u ispitivanoj i kontrolnoj skupini pomoću izvedenih delta ( $\Delta$ ) varijabli**

Uporabom  $\Delta$ mean izvedenih varijabli za parodontološke parametre, mikrobiološki profil, s-CRP i parametre oksidacijskoga stresa u korelaciji parametara ispitivane skupine i kontrolne skupine, dobiveni su statistički visoko značajni rezultati za parodontološke parametre: PD, RE, CAL i FMBS. U vrijednostima parametra FMPS postojala je statistički značajna razlika.

Statistički visoko značajni rezultati također su bili za mikroorganizme AA, TD, FN, a statistički značajna razlika bila je prisutna kod TF. Rezultati nisu statistički značajni za parametre PE, PG i PI. Dobiveni rezultati pokazali su statistički vrlo značajnu razliku u vrijednostima koncentracija s-CRP i parametara oksidacijskoga stresa (8-OHdG, MDA, SOD) između ispitivane skupine i kontrolne skupine na završetku istraživanja upotrebom  $\Delta$ mean vrijednosti ovih varijabli.



**Tablica 36.** Korelacija parodontoloških parametara, mikrobiološkog profila, s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa u ispitivanoj i kontrolnoj skupini pomoću izvedenih delta ( $\Delta$ ) varijabli

	ISPITIVANA SKUPINA		KONTROLNA SKUPINA		p vrijednost
	$\Delta$ Mean	$\Delta$ Median	$\Delta$ Mean	$\Delta$ Median	
<b>PD</b>	- 1,14	- 1,07	- 0,17	- 0,05	<b>&lt;0,001</b>
<b>RE</b>	0,42	0,39	0,09	0,05	<b>&lt;0,001</b>
<b>CAL</b>	- 0,63	- 0,78	- 0,08	- 0,14	<b>&lt;0,001</b>
<b>FMPS</b>	- 13,10	- 15,92	- 7,68	- 8,10	<b>0,031</b>
<b>FMBS</b>	- 14,38	- 14,64	- 4,43	- 2,12	<b>&lt;0,001</b>
<b>PE</b>	- 8.474.321,88	- 220.900,00	- 18.097.475,00	- 499.500,00	0,232
<b>PG</b>	- 86.246,25	- 155.275,00	- 106.006,25	- 114.650,00	0,272
<b>AA</b>	- 144.234,38	- 161.765,00	5.475,00	- 34.550,00	<b>0,005</b>
<b>TD</b>	- 1.403.773,13	- 1.854.400,00	- 254.687,50	- 905.500,00	<b>0,001</b>
<b>FN</b>	- 5.468.858,13	- 1.690.600,00	2.890.450,00	283.000,00	<b>0,008</b>
<b>PI</b>	- 2.984.251,88	- 263.780,00	- 158.375,00	- 278.150,00	0,075
<b>TF</b>	- 3.844.680,63	- 2.129.000,00	724.418,75	- 591.500,00	<b>0,010</b>
<b>s-CRP</b>	- 3.485,47	- 3.809,32	- 557,20	- 1.042,28	<b>&lt;0,001</b>
<b>8-OHdG</b>	- 1,47	- 1,36	- 0,66	- 0,46	<b>0,018</b>
<b>MDA</b>	- 0,98	- 1,45	- 0,27	- 0,65	<b>0,002</b>
<b>SOD</b>	- 0,35	- 0,37	0,04	- 0,05	<b>&lt;0,001</b>

PD-dubina sondiranja; RE- recesija gingive; CAL-razina kliničkog pričvrstka; FMPS-plak indeks; FMBS-krvarenje pri sondiranju; PE-*Porphyromonas endodontalis*; PG-*Porphyromonas gingivalis*; AA-*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; TD-*Treponema denticola*; FN-*Fusobacterium nucleatum*; PI-*Prevotella intermedia*; TF- *Tannerella forsythia*; s-CRP - salivarni C-reaktivni protein; 8-OHdG-8- hidroksideoksiguanozin; MDA-malondialdehid; SOD-superoksid dismutaza;  $\Delta$ Mean- delta aritmetička sredina; p-vrijednost izražena za  $\Delta$ Mean;



Parodontitis kao upalna bolest povezana je sa povišenim koncentracijama CRP-a koji je široko rasprostranjen marker za upalne bolesti. Mikroorganizmi, kao sastavni dio plaka, proizvode toksine i nusprodukte koji izazivaju obrambenu imunosnu reakciju organizma, a reakcija organizma na upalnu bolest odlikuje se aktivacijom citokina i medijatora sustavne upalne reakcije.

Niz studija potvrdilo je pozitivan učinak nekirurške parodontološke terapije kao esencijalne komponente inicijalne parodontološke terapije koja ima za cilj eliminaciju etiološkoga čimbenika parodontne bolesti – biofilma. U jednoj od studija, šest tjedana nakon *full-mouth* nekirurške supragingivne i subgingivne terapije došlo je do statistički značajnog smanjenja vrijednosti kliničkih parametara PD, CAL, FMPS, FMBS, kao i do statistički značajnog snižavanja vrijednosti koncentracije CRP-a u serumu i GCF-u te značajnog mikrobiološkog učinka (145). U studiji Kanmaz i suradnika, tri i šest mjeseci nakon provedene nekirurške parodontološke terapije kod pacijenata s parodontitisom stadija III i IV te razreda C došlo je do statistički značajnog poboljšanja svih kliničkih parodontoloških parametara u odnosu na početke vrijednosti i kod pušača i nepušača, a autori smatraju da je Hawthorne učinak potencijalno utjecao na nalaz sličnih kliničkih parametara kod pušača i nepušača (146). Za ovu je studiju zanimljivo da je u skupini nepušača vrijednost plak indeksa ostala visoka tri i šest mjeseci nakon provedene terapije, što je slično sa rezultatom ovoga istraživanja. Dva mjeseca nakon provedene nekirurške parodontološke terapije, kod pacijenata sa generaliziranim kroničnim parodontitisom klinički parametri CAL i PD statistički značajno su sniženi, kao i broj mikroorganizama *P. endodontalis*, *P. gingivalis* i *T. forsythia* (147). U studijama Graziani i suradnici tri mjeseca nakon provedene *full-mouth* nekirurške parodontološke terapije došlo je do značajnog poboljšanja svih kliničkih parodontoloških parametara sa značajnim smanjenjem broja i postotka parodontnih džepova i značajnim sniženjem BOP-a i PI-a (148,149), kao i u studiji de Suoza i suradnika, gdje su svi klinički parodontološki parametri bili značajno sniženi 60 dana nakon provedene terapije, a broj mjesta sa  $CAL \geq 4$  mm značajno se smanjio (144). Slični rezultati bili su i u studiji Taylor i suradnika, koje je uključivala 64 pacijenta sa parodontitisom, pri čemu autori ističu da je bila potrebna dodatna motivacija za oralnu higijenu (150).

Rezultati t-testa za sve kliničke parametre PD, RE, CAL, FMPS i FMBS, za ispitivanu skupinu na početku istraživanja i tri mjeseca nakon terapije statistički su vrlo značajni za sve promatrane

kliničke parametre: PD ( $p=4,62E-14$ ), RE ( $p=2,08E-05$ ), CAL ( $p=4,22E-05$ ), FMPS ( $p=1,75E-06$ ), i FMBS ( $p=3,86E-08$ ). Nešto lošiji napredak, ali ipak signifikantni rezultati, bio je i u kontrolnoj skupini sa vrlo značajnim rezultatima za PD ( $p=0,001$ ), RE ( $p=0,001$ ), FMPS ( $p=0,00017$ ) i FMBS ( $p=0,005$ ), dok su za CAL ( $p=0,02$ ) rezultati bili statistički značajni. Rezultati istraživanja pokazali su da tri mjeseca nakon terapije postoji statistički vrlo značajna razlika u vrijednostima kliničkih parametara PD ( $p=2,33E-09$ ) i FMBS ( $p=0,001$ ), statistički značajna razlika kod parametara RE ( $p=0,02$ ) i CAL ( $p=0,01$ ) kod ispitivane skupine i kontrolne skupine, kod kojih je u kliničkoj fazi istraživanja provedena različita terapija. Ne postoji statistički značajna razlika u vrijednosti kliničkog parametra FMPS ( $p=0,05$ ) kod ispitivane skupine i kontrolne skupine tri mjeseca nakon terapije.

Iako su rezultati pokazali značajno poboljšanje kliničkih parametara, izdvajaju se rezultati za kliničke parametre FMPS i FMBS. Prema preporukama za parodontološku terapiju, pored plitkih džepova ( $\leq 4$  mm) za stabilizaciju pacijentove bolesti preporučeno je da FMBS bude  $<30\%$  (151). Na početku istraživanja prosječan FMBS u ispitivanoj skupini bio je  $54,33 \pm 16,42$ , a tri mjeseca nakon provedene terapije prosječan FMBS je bio  $39,95 \pm 13,14$ . Postotak mjesta sa PD-om od 4 mm na početku istraživanja bio je 6,69% kod ispitivane skupine promatrano na ukupan broj zuba, a tri mjeseca nakon provedene terapije mjesta sa dubinom sondiranja od 4 mm činila su 21,80% svih sondiranih površina. U kontrolnoj skupini FMBS na početku istraživanja bio je  $57,31 \pm 9,73$ , a tri mjeseca nakon provedene terapije  $52,88 \pm 9,14$ . PD je na početku istraživanja bio 4 mm kod 7,28% zubnih površina, a tri mjeseca nakon supragingivne terapije 8,43%. Dobivene vrijednosti FMBS tri mjeseca nakon provedene terapije, kao i FMPS nakon terapije, nezadovoljavajući su kod obje skupine. Zbog dobivenih vrijednosti kod svih pacijenata, pacijenti su ponovno reinstruirani za mjere pravilnoga održavanja oralne higijene te je nastavljen tretman parodontne bolesti.

Rezultati istraživanja pokazali su da je smanjenje vrijednosti kliničkih parametara PD, RE, CAL, FMPS i FMBS u ispitivanoj skupini bilo statistički značajno veće od smanjenja vrijednosti kliničkih parametara u kontrolnoj skupini gdje je provedena supragingivna terapija.

Ne postoji puno studija koje su se bavile mjerenjem salivarnog CRP-a i utjecajem parodontološke terapije na njegove vrijednosti, a dostupna literatura ne daje čvrste podatke o ovom pitanju. U studiji koja je uključivala pacijente sa gingivitisom, umjerenim parodontitisom, teškim oblikom

parodontitisa, skupinu bezubih pacijenata te kontrolnu skupinu, koncentracije CRP-a u slini kretale su se u rasponu od 0 pg/ml do 472 pg/ml, a značajno niže koncentracije bile su u zdravoj kontrolnoj skupini u odnosu na sve druge skupine. Autori ove studije smatraju da su koncentracije CRP-a u slini izravno povezane sa parodontološkim statusom osobe (139). Koncentracije salivarnoga CRP-a iz njihove studije daleko su niže od prosječne vrijednosti u istraživanju provedenom radi doktorske disertacije, ali i u studiji Shojaee i suradnika. Ranija istraživanja pokazala su da se, ukoliko se parodontitis tretira, serumski CRP snižava (152,153). U studiji Tamakija i suradnika, kod pacijenata s kroničnim parodontitisom došlo je do statistički značajnog snižavanja CRP-a u serumu jedan i dva mjeseca nakon provedene nekirurške parodontološke terapije (154), a u nekim istraživanjima nije došlo do snižavanja koncentracije serumskog CRP-a nakon parodontološke terapije (155). Također, ranija istraživanja utvrdila su da se povišene koncentracije CRP-a mogu povezati sa visokim brojem parodontopatogenih bakterija pacijenata sa parodontitisom (156) te da s provedbom parodontološke terapije dolazi do snižavanja broja parodontnih patogena i serumskoga CRP-a (144,150,157).

Objavljene studije također kažu da pacijenti sa parodontitisom imaju više koncentracije CRP-a u odnosu na zdravu kontrolnu skupinu, ali većina ovih studija nije razmotrila utjecaj sustavnih čimbenika kao što su sustavne upalne i kronične bolesti, hipertenzija, dijabetes, pušenje, i gojaznost, te bi uticaj tih čimbenika na vrijednosti koncentracije salivarnog CRP-a trebao biti ispitan kako bi se točno mogla procijeniti valjanost salivarnoga CRP-a kao biomarkera parodontne bolesti. Potvrda za tu tvrdnju su nalazi studija u kojima su pacijenti sa parodontitisom i nekom od sustavnih upalnih bolesti imali više koncentracije salivarnoga CRP-a u odnosu na pacijente sa parodontitisom koji nisu imali drugih zdravstvenih problema (158,159).

Dobivene koncentracije salivarnog CRP-a kod ispitanika na početku studije, gdje je prosječna vrijednost koncentracije salivarnog CRP-a bila 6.246,22 pg/ml, slične su vrijednostima koje je u mjerenju salivarnog CRP-a kod pacijenata sa kroničnim parodontitisom pokazalo statistički značajne razlike u odnosu na pacijente sa gingivitisom i zdravu kontrolnu skupinu (141). U istoj studiji, korelacija salivarnoga CRP-a i kliničkih parodontoloških parametara pokazala je pozitivnu korelaciju za parametre CAL, GI, i BI.

Koncentracije salivarnog CRP u ovome istraživanju bile su statistički značajno niže kod ispitivane skupine tri mjeseca nakon parodontološke terapije ( $p=1,25E-08$ ), kao i u kontrolnoj skupini ( $p=0,001$ ), a ne postoji statistički značajna razlika u koncentraciji CRP-a u slini kod ispitivane skupine i kontrolne skupine tri mjeseca nakon terapije ( $p=0,29$ ). Međutim, na početku istraživanja postojala je statistički značajna razlika u koncentraciji salivarnoga CRP-a kod ispitivane skupine i kontrolne skupine iako je u ispitivanoj skupini utvrđeno značajno veće snižavanje koncentracije CRP-a (početak - 6246,22 pg/ml, tri mjeseca nakon terapije - 2760,76 pg/ml). Bitno je istaknuti da je u kontrolnoj skupini prosječna koncentracija CRP-a bila daleko niža u odnosu na ispitivanu skupinu i iznosila je 3613,81 pg/ml, a kod drugoga mjerenja tri mjeseca nakon terapije nije došlo do značajnog snižavanja koncentracije CRP-a i prosječna koncentracija je bila 3056,61 pg/ml. Ti rezultati su slični rezultatima studije s velikim uzorkom, Leea i suradnika, gdje je nakon parodontološke terapije također došlo do sniženja koncentracije salivarnoga CRP kod ispitivane skupine u odnosu na kontrolnu skupinu, ali rezultati nisu bili statistički značajni te su autori zaključili da salivarni CRP možda nije dobar parametar za predviđanje učinka parodontološke terapije (160). Kod ispitivane skupine tri mjeseca nakon provedene *full-mouth* supragingivne i subgingivne parodontološke terapije, vrijednosti koncentracije salivarnoga CRP-a bile su statistički vrlo značajne ( $p=1,25E-08$ ), a za mikrobiološki profil rezultati su statistički vrlo značajni za *P. gingivalis* ( $p=0,0008$ ), *A. actinomycetemcomitans* ( $p=0,001$ ), *T. denticola* ( $p=5,73E-06$ ), *F. nucleatum* ( $p=0,006$ ), *T. forsythia* ( $p=0,006$ ), a statistički bez značaja za *P. endodontalis* ( $p=0,09$ ) i *P. intermedia* ( $p=0,06$ ), što je slično rezultatima studije Morozumija i suradnika (145). Rezultati istraživanja pokazali su da je smanjenje koncentracije s-CRP u ispitivanoj skupini ( $\Delta\text{mean} = -3.485,47$  pg/ml) bilo statistički značajno veće od smanjenja koncentracije s-CRP u kontrolnoj skupini ( $\Delta\text{mean} = -557,20$  pg/ml) ( $p < 0,001$ ).

Rezultati istraživanja pokazali su statistički visoko značajnu razliku vrijednosti koncentracije parametra oksidacijskog stresa SOD ( $p=0,007$ ), dok rezultat nije bio statistički značajan za parametre 8-OHdG ( $p=0,31$ ) i MDA ( $p=0,47$ ) kod ispitivane skupine i kontrolne skupine tri mjeseca nakon provedene terapije.

Statistički vrlo značajni rezultati dobiveni su kod vrijednosti koncentracije CRP-a u slini kod ispitivane skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon provedene supragingivne i subgingivne terapije ( $p=1,25E-08$ ), te za sva tri promatrana parametra oksidacijskoga stresa: 8-

OHdG ( $p=1,45E-05$ ), MDA ( $p=3,22E-05$ ) i SOD ( $p=8,44E-06$ ). Također, rezultati t-testa statistički su vrlo značajni kod kontrolne skupine za s-CRP ( $p=0,001$ ), kao i za parametar oksidacijskog stresa 8-OHdG ( $p=0,0008$ ). Rezultati su statistički značajni za parametar oksidacijskog stresa MDA ( $p=0,04$ ), dok za treći promatrani parametar oksidacijskog stresa SOD rezultati nisu statistički značajni ( $p=0,36$ ).

Sve dobivene vrijednosti ukazuju da provedba parodontološke terapije ima pozitivan učinak na vrijednosti koncentracija s-CRP i parametara oksidacijskoga stresa, pri čemu supragingivna i subgingivna terapija pokazuje bolje rezultate, što je jasno vidljivo po statistički značajnim rezultatima promatranih parametara tri mjeseca nakon provedene terapije.

Oksidacijski stres povezan je sa nastankom brojnih sustavnih bolesti, ali i parodontne bolesti (58). Kod parodontitisa, kao jedne od upalnih bolesti, utvrđene su povišene vrijednosti ROS-a koji su glavna karakteristika upalnih procesa, gdje se neutrofilima bore sa parodontopatogenim mikroorganizmima te neizravno i izravno utječu na destrukcije parodontnih tkiva (161). Ujedno, dokazano je da je aktivnost polimorfonukleara kod pacijenata sa parodontitisom uvećana uslijed uvećane citoplazmatske produkcije ROS-a, kao što je superoksid uvećan mijenjajući interakciju polimorfonukleara u endotelu (78). Autori ove studije navode da izmjena interakcije polimorfonukleara i endotela kod pacijenata s parodontitisom može dovesti do kardiovaskularnih komplikacija.

D'Aiuto i suradnici su usugerirali da bi oksidacijski stres uočen kod pacijenata s parodontitisom mogao biti usko povezan s biomarkerima upale, uključujući CRP, te pretpostavljaju da je povezanost između dubine sondiranja i oksidacijskoga stresa koju su uočili, mogla biti posredovana razinama CRP-a (58). Prema Pearson korelaciji, u ispitivanoj skupini na početku mjerenja uočena je veza s-CRP i MDA, te s-CRP i SOD, kao i međusobna povezanost parametara MDA i SOD. Također, u kontrolnoj skupini na početku istraživanja Pearsonova korelacija pokazala je vezu s-CRP i SOD te vezu s-CRP i kliničkoga parametra CAL, što je slično rezultatima istraživanja D'Aiuto i suradnika te bismo mogli potvrditi da je oksidacijski stres povezan sa CRP-om kao biomarkerom upale.

Drugi mehanizam povezanosti upale i oksidacijskog stresa, koji se navodi u studiji D'Aiuto i sur., jest povezanost između PD-a i bakterijemije. U tom slučaju oksidacijsko oštećenje nastaje

naknadno, što rezultira većim oksidacijskim stresom. Dobiveni rezultati Pearsonove korelacije parametara u ovom istraživanju pokazali su vezu PD-a i parodontnih patogena PG i AA u ispitivanoj skupini na početku istraživanja. U kontrolnoj skupini tri mjeseca nakon provedene terapije, prema rezultatima Pearsonove korelacije, postoji veza kliničkog parametra PD i patogena AA, ali i veza parametra RE i patogena FN te parametra CAL i patogena TF.

MDA je dobro istražen parametar oksidacijskoga stresa čije su povišene koncentracije kod pacijenata sa parodontitisom u odnosu na parodontno zdrave kontrolne skupine dokazane u brojnim studijama, a njegova povišena koncentracija povezana je i sa nalazom parodontopatogenih bakterija i njihovih produkata (84). Brojne studije dokazale su da je istovremeno antioksidacijski potencijal snižen kod pacijenata sa parodontitisom (162,163,164). Smatra se da je povišeni oksidacijski stres kod pacijenata s parodontitisom povezan sa sniženim antioksidacijskim potencijalom koji se nalazi kod pacijenata sa parodontitisom kao posljedica lipidne peroksidacije tijekom upalne reakcije u parodontnim tkivima (165). Jedno od istraživanja koje je uključivalo pacijente sa kroničnim parodontitisom, generaliziranim agresivnim parodontitisom i zdravu kontrolnu skupinu pokazalo je da nema razlike u koncentraciji MDA u slini i serumu između pacijenata s parodontitisom i zdrave kontrole, dok je kod pacijenata sa parodontitisom koncentracija MDA u slini bila signifikantno viša u odnosu na kontrolnu skupinu, pri čemu nije bilo razlike između koncentracije MDA u slini pacijenata s kroničnim parodontitisom i pacijenata sa generaliziranim agresivnim parodontitisom. Rezultati iste studija također govore da su koncentracije MDA u slini u izravnoj vezi sa kliničkim parodontološkim parametrima i da bi ta spoznaja mogla biti ključ u razumijevanju mehanizma parodontne bolesti (166). U rezultatima ovog istraživanja nije utvrđena jaka veza MDA i nekog od kliničkih parodontoloških parametara, osim u Pearsonovoj korelaciji parametara kod ispitivane skupine tri mjeseca nakon provedene terapije s kliničkim parametrom FMBS. Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je MDA statistički vrlo značajno snižen kod ispitivane skupine tri mjeseca nakon provedene terapije ( $p=3,22E-05$ ), kao i u kontrolnoj skupini tri mjeseca nakon provedene supragingivne terapije ( $p=0,04$ ), zbog čega možemo reći da bi MDA u slini mogao poslužiti kao parametar za promatranje učinaka parodontološke terapije.

8-OHdG je jedan od najučestalijih produkata oksidacijskoga oštećenja DNK nastalih djelovanjem ROS-a. Prema Chappleu i Matthews, procjena specifičnih znakova proteinskog, DNK i lipidnog



oksidacijskog oštećenja je najučinkovitiji način procjene razine oksidacijskoga stresa (83) te se 8-OHdG može koristiti kao oksidacijska vrsta DNK u analizi oksidacijskoga stresa. 8-OHdG odgovara gvaninu u 8-hidroksigvanin i mnogi ga smatraju najbolje proučenim produktom oksidacijskoga oštećenja DNK (86). Povišene koncentracije 8-OHdG dokazane su kod pacijenata oboljelih od parodontitisa u serumu (88), u GCF-u (87), i u slini (167,168). Studije su također dokazale snižavanje koncentracije 8-OHdG u slini pacijenata nakon provedene parodontološke terapije te se smatra da je snižavanje rezultat pozitivnih učinaka parodontološke terapije na smanjenje upalne reakcije u parodontu (169, 170).

U studiji Dede i suradnika, 8-OHdG kod 24 pacijenta s kroničnim parodontitisom u slini imao je prosječnu koncentraciju 605.5 pg/ml, što je nešto niže od prosječne vrijednosti dobivene u ovom istraživanju: 3,04 ng/ml za skupinu ispitanika i 1,58 ng/ml za kontrolnu skupinu na početku istraživanja, što bi prosječno za obje skupine bilo 2,31 ng/ml. U navedenoj studiji je kod ispitanika provedena supragingivna i subgingivna parodontološka terapija u obliku *full-mouth* terapije uz instrukcije oralne higijene, a rezultati studije pokazuju da su tri mjeseca nakon terapije statistički značajno snižene vrijednosti FMPS i FMBS, dok vrijednosti PD i CAL nisu bile statistički značajno niže. Koncentracija salivarnoga 8-OHdG nije bila značajno niža 3 mjeseca nakon provedene terapije, dok je u uzorcima GCF-a koncentracija 8-OHdG bila statistički značajno niža te autori studije smatraju da je GCF kao biomarker korisniji od sline i da 8-OHdG iz GCF-a može ukazivati na stupanj parodontne bolesti i na učinke provedene terapije (90).

U studiji iz 2016.godine, 8-OHdG je bio značajno viši kod pacijenata s kroničnim parodontitisom u odnosu na zdravu kontrolnu skupinu, korelirao je s kliničkim parametrima i količinom patogenih mikroorganizama *P. gingivalis*, *T. forsythia*, i *T. denticola* na početku studije i tri mjeseca nakon provede terapije te je bio statistički značajno snižen tri mjeseca nakon provede terapije (171). Ti rezultati slični su rezultatima ovog istraživanja u nekoliko rezultata – u ispitivanoj skupini tri mjeseca nakon provedene terapije postojalo je značajno sniženje vrijednosti svih promatranih bakterija, uključujući *P. gingivalis*, *T. forsythia*, i *T. denticola*, Pearsonov test u kontrolnoj skupini pokazao je korelaciju koncentracije 8-OHdG i *T. denticola* u slini, korelaciju koncentracije 8-OHdG sa kliničkim parametrima PD i FMPS u ispitivanoj skupini na drugom mjerenju i korelaciju koncentracije 8-OHdG i kliničkoga parametra CAL u kontrolnoj skupini na početku istraživanja.

SOD je enzimski antioksidant čija je veza sa parodontitisom ispitana u više studija. U slini pacijenata sa kroničnim parodontitisom SOD je snižen u odnosu na zdravu kontrolnu skupinu te postoji: negativna korelacija SOD-a i medijatora oksidacijskog stresa MDA i 8-OHdG (168) te negativna korelacija SOD-a i kliničkih parametara kod pacijenata sa kroničnim parodontitisom (172). Nakon parodontološke terapije dolazi do snižavanja koncentracije SOD-a u slini pacijenata sa kroničnim parodontitisom (173), što se slaže sa rezultatima ovoga istraživanja. SOD u ispitivanoj skupini tri mjeseca nakon terapije statistički visoko značajno snižen ( $p=8,44E-06$ ), dok u kontrolnoj skupini tri mjeseca nakon supragingivne terapije SOD nije bio statistički značajno snižen u odnosu na početak istraživanja ( $p=0,36$ ). Korelacija SOD-a i drugih parametara oksidacijskoga stresa ustanovljena je Pearsonovim testom u skupini ispitanika sa MDA, dok sa 8-OHdG nije postojala veza. U kontrolnoj skupini utvrđena je slaba korelacija SOD-a i 8-OHdG na početku istraživanja. Rezultati istraživanja pokazali su da je smanjenje koncentracija parametara oksidacijskoga stresa 8-OHdG, MDA i SOD u ispitivanoj skupini bilo statistički značajno veće od smanjenja koncentracija parametara oksidacijskoga stresa u kontrolnoj skupini ( $p<0,001$ ).

Brojne studije navode da postoji veća incidencija oksidacijskoga stresa kod pušača (174,175). Niz je slobodnih radikala u sastavu duhanskoga dima koji mogu dovesti do povećanoga stvaranja ROS-a, koji su sposobni pokrenuti i uzrokovati oksidacijska oštećenja pa kod pušača postoji povećani rizik od sustavnoga oksidacijskog oštećenja i upalnog oštećenja parodontnih tkiva (176). Istovremeno s povišenim oksidacijskim djelovanjem, studije su zabilježile niži antioksidacijski kapacitet kod pušača u odnosu na nepušače, koji bi mogao biti posljedica djelovanja povišene koncentracije oksidansa kod pušenja (177). Kontraverzni su podatci o utjecaju pušenja na pojedine markere oksidacijskoga stresa. U pojedinim studijama SOD je kod pušača viši u odnosu na nepušače (176,178), dok su neke studije u svojim rezultatima prikazale niže koncentracije SOD-a kod pušača u odnosu na nepušače (179). U jednoj od studija SOD je bio niži kod pušača u odnosu na nepušače oboljele od blagog i srednje teškog oblika parodontitisa, a koncentracije SOD-a ujedno su bile niže kod teških pušača (više od 10 cigareta dnevno) u odnosu na pacijente koji su konzumirali manje od 10 cigareta dnevno i kontrolnu skupinu (180).

U nizu studija su kod pušača sa parodontitisom pronađene više koncentracije MDA u odnosu na nepušače sa parodontitisom (181). U studiji Hendeka i suradnika, tri mjeseca nakon inicijalne parodontološke terapije došlo je do signifikantnog sniženja koncentracije 8-OHdG u slini pacijenata koji su bili pušači, ali i kod nepušača sa kroničnim parodontitisom, ukazujući da

inicijalna parodontološka terapija snižava koncentracije ovog parametra bez obzira na status pušenja te autori smatraju da se 8-OHdG može koristiti kao biomarker oksidacijskog oštećenja DNA kod pacijenata sa parodontitisom (69). Studija Ondera i suradnika, koja je dokazala da su parametri oksidacijskoga stresa MDA i 8-OHdG značajno viši kod pacijenata sa kroničnim parodontitisom u odnosu na zdravu kontrolnu skupinu, nije zabilježila bitan utjecaj pušenja na koncentracije MDA i 8-OHdG u slini, ali ističe da je salivarni MDA pokazao veću osjetljivost na pušenje. Ista studija ističe pozitivnu korelaciju MDA i 8-OHdG u slini i kliničkih parametara, dok korelacija nije postojala između serumske MDA i kliničkih parametara. Autori također smatraju da je MDA u slini izravno povezana sa lokalnom upalnom reakcijom (169). Azar i suradnici usporedili su koncentracije salivarnoga CRP-a kod pušača i nepušača, a rezultati su pokazali znatan porast salivarnoga CRP-a kod pušača u odnosu na nepušače (182).

Na početku ovog istraživanja postojala je statistički vrlo značajna razlika u koncentraciji CRP-a u slini ( $p=0,004$ ) sa značajno višim koncentracijama kod pušača ( $7.678,67 \pm 1.016,57$  pg/ml) u odnosu na nepušače ( $4.813,77 \pm 1.925,97$  pg/ml). Značajno više koncentracije MDA ( $p=0,0001$ ) i SOD ( $p=0,01$ ) bile su kod pušača u odnosu na nepušače na početku istraživanja u ispitivanoj skupini te značajno više koncentracije 8-OHdG i MDA tri mjeseca nakon provedene terapije. Slično tomu, i u kontrolnoj skupini na početku istraživanja postojala je statistički vrlo značajna razlika u koncentraciji CRP-a u slini ( $p=0,005$ ) sa značajno višim koncentracijama kod pušača ( $4.760,24 \pm 2.124,39$  pg/ml) u odnosu na nepušače ( $2.467,38 \pm 994,34$  pg/ml) te tri mjeseca nakon provedene terapije ( $p=0,01$ ), gdje je salivarni CRP kod pušača bio  $3967,36 \pm 2.164,50$  pg/ml a kod nepušača nakon provedene terapije  $2,146 \pm 578,82$  pg/ml. Ti nam brojevi govore da su pušači iz obje skupine imali statistički značajno više koncentracije salivarnoga CRP-a u odnosu na nepušače, što je u suglasnosti sa studijama koje su navodile podatke o višim koncentracijama CRP u slini pušača u odnosu na nepušače sa parodontitisom. Značajno više koncentracije svih parametara oksidacijskoga stresa, 8-OHdG, MDA i SOD-a, bile su kod pušača na početku istraživanja u odnosu na nepušače, a iako smo uočili pad koncentracija parametara oksidacijskoga stresa nakon provedene parodontološke terapije, i dalje su koncentracije ovih parametara bile statistički vrlo značajno više kod pušača u odnosu na nepušače. Time su potvrđene tvrdnje da su navedeni parametri oksidacijskoga stresa osjetljivi na pušenje te, iako je provedena parodontološka terapije, koncentracije tih parametara i dalje će biti više kod pušača u odnosu na nepušače sa parodontitisom.

Ove rezultate možemo smatrati još jednom potvrdom niza dokaza koji govore o negativnom učinku pušenja na parodontno zdravlje.

Poznato je da je niz mikroorganizama povezan s nastankom i progresijom parodontitisa, a neke od bakterija kao što su *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola* – bakterije crvenog kompleksa označene su kao iznimno parodontnopatogene bakterije. Pored navedenih, u mikrobiološki profil bile su uključene i *P. endodontalis*, *F. nucleatum*, *P. intermedia*, i *A. actinomycetemcomitans* - jedna od najbolje istraženih parodontnopatogenih bakterija. Prema studiji Scapolija i suradnika, *T. forsythia* i *T. denticola* povezane su sa svim stadijima parodontne bolesti, dok su neke od njih, na primjer *P. endodontalis* i *P. gingivalis*, specifično povezane sa parodontitisom. U ovoj je studiji *A. actinomycetemcomitans* pronađen kod svega 10 % slučajeva od ukupno 539 pacijenata (183). Ranije studije potvrđuju da nekirurška parodontološka terapija pozitivno utječe na smanjenje prisutnosti parodontnopatogenih bakterija kao što su *T. denticola* i *P. gingivalis* (184,185,186), *P. endodontalis*, *T. forsythia* i *P. gingivalis* (147), *P. gingivalis* i *A. actinomycetemcomitans* (157).

Prema rezultatima ovog istraživanja, tri mjeseca nakon provedene supragingivne i subgingivne terapije u ispitivanoj skupini utvrđeno je statistički vrlo značajno sniženje za *P. gingivalis* ( $p=0,0008$ ), *A. actinomycetemcomitans* ( $p=0,001$ ), *T. denticola* ( $p=5,73E-06$ ), *F. nucleatum* ( $p=0,006$ ), *T. forsythia* ( $p=0,006$ ), a statistički bez značaja za *P. endodontalis* ( $p=0,09$ ) i *P. intermedia* ( $p=0,06$ ). U kontrolnoj skupini tri mjeseca nakon provedene supragingivne terapije redukcija mikrobiološkog profila bila je značajno manja: statistički vrlo značajna za *P. gingivalis* ( $p=0,0004$ ), statistički značajna za *F. nucleatum* ( $p=0,03$ ), a bez značaja za *P. endodontalis* ( $p=0,06$ ), *A. actinomycetemcomitans* ( $p=0,43$ ), *T. denticola* ( $p=0,18$ ), *P. intermedia* ( $p=0,18$ ) i *T. forsythia* ( $p=0,29$ ). Rezultati su pokazali da je redukcija mikrobiološkog profila u ispitivanoj skupini bila statistički značajno veća od redukcije mikrobiološkog profila u kontrolnoj skupini za mikroorganizme: AA ( $p=0,005$ ), TD ( $p=0,001$ ), FN ( $p=0,008$ ) i TF ( $p=0,010$ ). Redukcija mikrobiološkog profila u ispitivanoj skupini nije bila statistički značajno manja od redukcije mikrobiološkog profila u kontrolnoj skupini za mikroorganizme: PE ( $p=0,232$ ), PG ( $p=0,272$ ) i PI ( $p=0,075$ ).

Mikrobiološki profil u slini tri mjeseca nakon terapije pokazao je statistički vrlo značajnu razliku u vrijednostima kod ispitivane skupine i kontrolne skupine za *P. gingivalis* ( $p=0,003$ ), *A.*

*actinomycetemcomitans* ( $p=0,001$ ), *T. denticola* ( $p=6,713E-05$ ), *F. nucleatum* ( $p=0,004$ ), *P. intermedia* ( $p=0,014$ ) i *T. forsythia* ( $p=0,019$ ). Rezultat je bio statistički bez značaja za *P. endodontalis* ( $p=0,08$ ). Rezultati su pokazali da je u ispitivanoj skupini postojala korelacija između *P. intermedia* i *F. nucleatum* na početku istraživanja, *F. nucleatum* i *T. forsythia* tri mjeseca nakon provedene terapije. U kontrolnoj skupini korelacija je postojala između *T. denticola* i *P. gingivalis* na početku istraživanja te između *F. nucleatum* i *T. forsythia* – kao i u ispitivanoj skupini, i između *T. forsythia* i *P. intermedia* tri mjeseca nakon provedene terapije. Zbog fimbrija koje im omogućavaju dobru adheziju za tkiva domaćina te invaziju i veće preživljavanje u gingivi, *P. gingivalis* se smatra iznimno potentnom i otpornom bakterijom. Zato je interesantan rezultat ovog istraživanja koji se odnosi upravo na *P. gingivalis*. Naime, prema dobivenim rezultatima *P. gingivalis* je bio statistički vrlo značajno snižen u obje testne skupine, a tri mjeseca nakon terapije pokazao je i statistički vrlo značajnu razliku u vrijednostima kod ispitivane skupine i kontrolne skupine. *T. forsythia* se smatra manje adherentnom bakterijom jer u svojoj strukturi ne posjeduje fimbrije, a prema dobivenim rezultatima *T. forsythia* je bila statistički vrlo značajno snižena u obje testne skupine tri mjeseca nakon provedene terapije. Ranije studije navode korelaciju *T. forsythia* s *P. gingivalis* i *P. endodontalis* (147) te je korelacija ovog mikroorganizma sa *F. nucleatum*, koja je prisutna u obje testne skupine, vrlo zanimljiva.

U studiji Tomita i suradnika, koja je uključivala pacijente oboljele od kroničnog i agresivnog parodontitisa, prevalencija *P. gingivalis* i *T. forsythia* bila je veća od 60 % kod pacijenata s agresivnim i kroničnim parodontitisom, a *T. forsythia* je predominantno više pronađena kod pacijenata sa kroničnim parodontitisom. Studija je utvrdila i pozitivnu korelaciju bakterija i kliničkih parodontoloških parametara PD i CAL (187). Slična korelacija kliničkih parametara i navedenih mikroorganizama utvrđena je kod ispitivane skupine: *P. gingivalis* i PD (0,66); u kontrolnoj skupini: slabija korelacija na početku istraživanja *P. gingivalis* i FMBS (0,61), korelacija *T. forsythia* i kliničkog parametra CAL na početku istraživanja (0,55) i tri mjeseca nakon provedene terapije (0,53).

Ovo istraživanje potvrdilo je i interakciju *P. gingivalis* i *T. denticola*, koju je Grenier opisao 1992.godine navodeći da između tih mikroorganizama postoji jaka koagregacija te da *T. denticola* ne ostvaruje koagregaciju sa drugim bakterijama (188). Isti autor u svome drugom radu navodi da

interakcija tih dvaju mikroorganizma na mjestu infekcije uslijed njihove proteolitičke aktivnosti i patogenih svojstava igra važnu ulogu u nastanku i progresiji parodontne bolesti (189). Njihovu vezu i zajedničku virulenciju opisao je i Kesavalu, navodeći da se i kod prisutnosti malih količina *P. gingivalis* njegova virulencija značajno pojačana u prisutnosti *T. denticola* (190).

Iz svega navedenog možemo zaključiti da nekirurška parodontološka terapije utječe na nalaz koncentracije salivarnoga CRP-a, parametre oksidacijskoga stresa te mikroorganizme koji su istraživani, ali dodatna istraživanja, koja bi uključila veći broj sudionika uz razmatranje učinka sustavnih čimbenika ili etioloških čimbenika kao što je pušenje, nužna su za realnu sliku CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa iz sline kao potencijalnih biomarkera za parodontitis.



1. Tri mjeseca nakon provedene parodontološke terapije postoji statistički vrlo značajna razlika u vrijednostima kliničkih parametara PD i FMBS, statistički značajna razlika kod parametara RE i CAL za ispitivanu skupinu kod kojih je provedena supragingivna i subgingivna nekirurška terapija, u odnosu na kontrolnu skupinu kod koje je provedena supragingivna terapija.
2. Parodontološka terapija nije dala zadovoljavajući rezultat za kliničke parametre FMPS i FMBS, zbog čega je nakon istraživanja nastavljena terapija i reinstrukcija za održavanje oralne higijene svih sudionika istraživanja.
3. Tri mjeseca nakon provedene terapije, salivarni CRP je statistički značajno niži kod ispitivane skupine, a ne postoji statistički značajna razlika u koncentraciji salivarnoga CRP-a u slini ispitivane skupine i kontrolne skupine.
4. Dokazana je statistički visoka značajna razlika koncentracije parametra oksidacijskoga stresa SOD, dok rezultat nije bio statistički značajan za parametre 8-OHdG i MDA kod ispitivane skupine i kontrolne skupine tri mjeseca nakon provedene terapije. Statistički vrlo značajni rezultati dobiveni su kod koncentracije CRP-a u slini kod ispitivane skupine na početku istraživanja i tri mjeseca nakon provedene supragingivne i subgingivne terapije te za sva tri promatrana parametra oksidacijskoga stresa: 8-OHdG, MDA i SOD.
5. Sve dobivene vrijednosti ukazuju da provedba parodontološke terapije ima pozitivan učinak na koncentraciju s-CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa, pri čemu supragingivna i subgingivna terapija pokazuje bolje rezultate u usporedbi sa supragingivnom terapijom.
6. Parametar oksidacijskoga stresa MDA statistički je vrlo značajno snižen kod ispitivane skupine tri mjeseca nakon provedene terapije, kao i u kontrolnoj skupini tri mjeseca nakon provedene supragingivne terapije, zbog čega možemo reći da bi MDA u slini mogao poslužiti kao parametar za promatranje učinka parodontološke terapije.



7. Parametar oksidacijskoga stresa SOD je u ispitivanoj skupini tri mjeseca nakon terapije statistički visoko značajno snižen, dok u kontrolnoj skupini tri mjeseca nakon supragingivne terapije SOD nije bio statistički značajno snižen u odnosu na početak istraživanja.
8. Pušači iz obje skupine pacijenata imali su statistički značajno više koncentracije salivarnoga CRP-a u odnosu na nepušače. Značajno više koncentracije svih parametara oksidacijskoga stresa, 8-OHdG, MDA i SOD, bile su kod pušača na početku istraživanja u odnosu na nepušače te su potvrđene tvrdnje da su navedeni parametri oksidacijskoga stresa u slini osjetljivi na pušenje.
9. Nakon provedene parodontološke terapije koncentracije parametara oksidacijskoga stresa i dalje su više kod pušača u odnosu na nepušače sa parodontitisom. Ovaj rezultat možemo smatrati potvrdom niza dokaza koji govore o negativnog učinku pušenja na parodontno zdravlje.
10. Mikrobiološki profil u slini tri mjeseca nakon terapije pokazao je statistički vrlo značajnu razliku u vrijednostima kod ispitivane skupine i kontrolne skupine za *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *F. nucleatum*, *P. intermedia* i *T. forsythia*.
11. Ovo istraživanje potvrdilo je interakciju mikroorganizama *P. gingivalis* i *T. denticola*, koja igra važnu ulogu u nastanku i progresiji parodontne bolesti.
12. Dodatna istraživanja sa većim brojem ispitanika potrebna su kako bi se mogla ocijeniti korisnost i upotrebljivost salivarnoga CRP-a i parametara oksidacijskoga stresa iz sline kao biomarkera parodontitisa u svakodnevnoj praksi.

## **7. LITERATURA**

- 1 Zambon J. Periodontal diseases: microbial factors. *Ann Periodontol.* 1996;1(1): 879–25.
- 2 Consensus report. Periodontal diseases: Pathogenesis and microbial factors. *Ann Periodontol.* 1996;1(1):926-32.
- 3 Wolff L, Dahlen G, Aepli D. Bacteria as risk markers for periodontitis. *J Periodontol.* 1994;65(4):498–10.
- 4 Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2001;25(1):8–20.
- 5 Stathopoulou PG, Buduneli N, Kinane DF. Systemic Biomarkers for Periodontitis. *Curr Oral Health Rep.* 2015;2(1):218–26.
- 6 Giannobile WV, Beikler T, Kinney JS, Ramseier CA, Morelli T, Wong DT. Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: current state and future directions. *Periodontol 2000.* 2009;50:52-64.
- 7 Górski B, Górska R. The impact of periodontal treatment on inflammatory markers and cellular parameters associated with atherosclerosis in patients after myocardial infarction. *Cent Eur J Immunol.* 2018;43(4):442-52.
- 8 Haubek D. The highly leukotoxic JP2 clone of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: evolutionary aspects, epidemiology and etiological role in aggressive periodontitis. *APMIS Suppl.* 2010;(130):1-53.
- 9 Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2004;34:9-21.
- 10 Patel SP, Pradeep AR, Chowdhry S. Crevicular fluid levels of plasma glutathione peroxidase

(eGPx) in periodontal health and disease. Arch Oral Biol. 2009;54(6):543-8.

11 Laxman VK, Annaji S. Tobacco use and its effects on the periodontium and periodontal therapy. J Contemp Dent Pract. 2008;9(7):97-07.

12 Fine DH, Markowitz K, Furgang D, et al. Aggregatibacter actinomycetemcomitans and its relationship to initiation of localized aggressive periodontitis: longitudinal cohort study of initially healthy adolescents. J Clin Microbiol. 2007;45(12):3859-69.

13 Henderson B, Wilson M, Sharp L, Ward JM, Actinobacillus actinomycetemcomitans, J. Med. Microbiol. 2002; 51:1013–20.

14 Tang G, Kitten T, Munro CL, Wellman GC, Mintz KP. EmaA, a potential virulence determinant of Aggregatibacter actinomycetemcomitans in infective endocarditis. Infect Immun. 2008;76(6):2316-24.

15 Fine DH, Velliyagounder K, Furgang D, Kaplan JB. The Actinobacillus actinomycetemcomitans autotransporter adhesin Aae exhibits specificity for buccal epithelial cells from humans and old world primates. Infect Immun. 2005;73(4):1947-53.

16 Gholizadeh P, Pormohammad A, Eslami H, Shokouhi B, Fakhrzadeh V, Kafil HS. Oral pathogenesis of Aggregatibacter actinomycetemcomitans. Microb Pathog. 2017;113(1):303-11.

17 Saglie FR, Resende MT, Carranza F Jr, Newman MG. Intragingival presence of microorganisms associated with grade I active destructive periodontal lesions [Spanish]. Av Odontostomatol. 1988;4(8):385–90.

18 Henderson B, Nair SP, Ward JM, Wilson M. Molecular pathogenicity of the oral opportunistic pathogen Actinobacillus actinomycetemcomitans. Ann Rev Microbiol. 2003;57(1):29–55.

19 Dahlén G, Leonhardt A. A new checkerboard panel for testing bacterial markers in periodontal disease. Oral Microbiol Immunol. 2006;21(1):6-11.

20 Kumar PS, Griffen AL, Barton JA, Paster BJ, Moeschberger ML, Leys EJ. New bacterial species associated with chronic periodontitis. *J Dent Res.* 2003;82(5):338-44.

21 Rajasekaran M, Nainar DA, Alamelu S, Arun KV. Microbiological Profile in Endodontic-periodontal Lesion. *J Oper Dent Endod.* 2016;1(1):25-29.

22 Holt SC, Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the 'red complex', a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol 2000.* 2005;38(1):72-122.

23 Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000.* 2002;28:12-55.

24 Shanitzki B, Hurwitz D, Smorodinsky N, Ganeshkumar N, Weiss EI. Identification of a *Fusobacterium nucleatum* PK1594 galactose-binding adhesin. *Oral Microbiol Immunol.* 1998;13(1):47–50.

25 Bradshaw DJ, Marsh PD, Watson GK, Allison C. Role of *Fusobacterium nucleatum* and coaggregation in anaerobe survival in planktonic and biofilm oral microbial communities during aeration. *Infect Immun.* 1998;66(10):4729–32.

26 Tran SD, Rudney JD, Sparks BS, Hodges JS. Persistent presence of *Bacteroides forsythus* as a risk factor for attachment loss in a population with low prevalence and severity of adult periodontitis. *J Periodontol.* 2001;72(1):1–10.

27 Zambon JJ, Grossi SG, Machtei EE, Ho AW, Dunford R, Genco RJ. Cigarette smoking increases the risk for subgingival infection with periodontal pathogens. *J Periodontol.* 1996;67(10):1050–4.

28 Brennan RM, Genco RJ, Wilding GE, Hovey KM, Trevisan M, Wactawski-Wende J. Bacterial species in subgingival plaque and oral bone loss in postmenopausal women. *J Periodontol.* 2007; 78(6):1051–61.

29 Haffajee AD, Socransky SS. Relation of body mass index, periodontitis and *Tannerella*

forsythia. J Clin Periodontol. 2009;36(2):89–99.

30 Honma K, Kuramitsu HK, Genco RJ, Sharma A. Development of a gene inactivation system for *Bacteroides forsythus*: construction and characterization of a BspA mutant. Infect Immun. 2001;69(7):4686–90.

31 Sharma A, Inagaki S, Sigurdson W, Kuramitsu HK. Synergy between *Tannerella forsythia* and *Fusobacterium nucleatum* in biofilm formation. Oral Microbiol Immunol. 2005;20(1):39-2.

32 Sabet M, Lee SW, Nauman RK, Sims T, Um HS. The surface (S-) layer is a virulence factor of *Bacteroides forsythus*. Microbiology (Reading). 2003;149(12):3617-27.

33 Saito T, Ishihara K, Kato T, Okuda K. Cloning, expression, and sequencing of a protease gene from *Bacteroides forsythus* ATCC 43037 in *Escherichia coli*. Infect Immun. 1997;65(11):4888-91.

34 Slots J, Genco RJ. Black-pigmented *Bacteroides* species, *Campylobacter* species, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: Virulence factors in colonization, survival and tissue destruction. J Dent Res. 1984;63(3):412-21.

35 Simonson LG, Goodman CH, Morton HE. Quantitative immunoassay of *Triponema denticola* serovar C in adult periodontitis. J Clin Microbiol. 1990;28(7):1493-96.

36 Moore WE, Moore LV. The bacteria of periodontal diseases. Periodontol 2000. 1994;5(1):66-7.

37 Armitage GC, Dickinson WR, Jenderseck RS, Levine SM, Chambers DW. Relationship between the percentage of subgingival spirochetes and the severity of periodontal disease. J Periodontol. 1982;53(9):550-6.

38 Batista da Silva AP, Lee W, Bajenova E, McCulloch CA, Ellen RP. The major outer sheath protein of *Treponema denticola* inhibits the binding step of collagen phagocytosis in fibroblasts. Cell Microbiol. 2004;6(5):485-98.

39 Slots J, Emrich LJ, Genco RJ, Rosling BG. Relationship between some subgingival bacteria and periodontal pocket depth and gain or loss of periodontal attachment after treatment of adult periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1985;12(7):540-52.

40 Gmür R, Strub JR, Guggenheim B. Prevalence of *Bacteroides forsythus* and *Bacteroides gingivalis* in subgingival plaque of prosthodontically treated patients on short recall. *J Periodontal Res.* 1989;24(2):113-20.

41 Kesavalu L, Holt SC, Ebersole JL. Trypsin-like protease activity of *Porphyromonas gingivalis* as a potential virulence factor in a murine lesion model. *Microb Pathog.* 1996;20(1):1-10.

42 Umeda M, Tominaga Y, He T, Yano K, Watanabe H, Ishikawa I. Microbial flora in the acute phase of periodontitis and the effect of local administration of minocycline. *J Periodontol.* 1996;67(4):422-7.

43 Holt SC, Kesavalu L, Walker S, Genco CA. Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000.* 1999;20:168-38.

44 Amano A. Molecular interaction of *Porphyromonas gingivalis* with host cells: implication for the microbial pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol.* 2003;74(1):90-6.

45 Marquez-San Miguel S, Rupf S, Frenzel J, Eschrich K. The effects of extracts from periodontopathic bacteria on human periodontal fibroblasts stimulated with mineralization supplements. *J Oral Sci.* 2003;45(3):127-37.

46 Kobayashi-Sakamoto M, Isogai E, Hirose K. *Porphyromonas gingivalis* modulates the production of interleukin 8 and monocyte chemotactic protein 1 in human vascular endothelial cells. *Curr Microbiol.* 2003;46(2):109-14.

47 Lang NP, Mombelli A, Attstrom R. Dental plaque and calculus. In: Lindhe J, Karring T, Lang

NP, ed. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Munksgaard: Blackwell 2003; pp. 81- 105.

48 Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1 beta and interleukin 10 levels in chronic periodontitis. *J Dent*. 2004;32(7):511-20.

49 Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2014;64(1):57-80.

50 Scott DA, Krauss J. Neutrophils in periodontal inflammation. *Front Oral Biol*. 2012;15:56-83.

51 Kayal RA. The role of osteoimmunology in periodontal disease. *Biomed Res Int*. 2013;2013:639368.

52 Ramadan DE, Hariyani N, Indrawati R, Ridwan RD, Diyatri I. Cytokines and Chemokines in Periodontitis. *Eur J Dent*. 2020;14(3):483-95.

53 Pessolano, L.G., Kramer, C.D., Simas, A. et al. Periodontal Disease and Birth Outcomes: Are We Missing Something?. *Curr Oral Health Rep*. 2020;7:62–1.

54 Llambés F, Arias-Herrera S, Caffesse R. Relationship between diabetes and periodontal infection. *World J Diabetes*. 2015;6(7):927-35.

55 Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med*. 1991;91(3C):31-8.

56 Stevanović J, Borozan S, Jović S, Ignjatović I. Fiziologija slobodnih radikala. *Vet Glasnik* 2011;65(1-2):95-07.

57 Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. New York: Oxford University Press;1999.pp.617-783.

58 D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Patel K, Suvan J, Donos N. Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. *J Dent Res*. 2010;89(11):1241-6.



- 59 Bondy SC, Nadery S. Contribution of hepatic cytochrome P450 systems to the generation of reactive oxygen species. *Biochem Pharmacol.* 1994;48(1):155-9.
- 60 Fridovich I. Superoxide dismutases: studies of structure and mechanism. *Adv Exp Med Biol.* 1976;74(1):530-9.
- 61 Fridovich I. Superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem.* 1975;44(1):147-59.
- 62 Prasad AS, Beck FWJ, Bao B, Snell D, Fitzgerald JT. Duration and severity of symptoms and levels of plasma interleukin-1 receptor antagonist, soluble tumor necrosis factor receptor and adhesion molecules in patients with common cold treated with zinc acetate. *J Infect Dis.* 2008;197(6):795-02.
- 63 Đorđević B, Pavlović D, Kocić MG. *Biohemija slobodnih radikala.* Niš, Medicinski fakultet, 2000.
- 64 Boehm I. Apoptosis in physiological and pathological skin: implications for therapy. *Curr Mol Med.* 2006;6(4):375-94.
- 65 Đukić M. *Oksidativni stres - Kliničko dijagnostički značaj.* Beograd: Mono i Manjana; 2008.
- 66 Jovičić A, Mihajlović R, Jovanović M, Čolić M, Selaković MV. Content of malondialdehyde and TGF- $\beta$  in the CSF of patients in the acute phase of completed stroke. *Eur J Neurol.* 2000;(suppl):110.37.
- 67 Sheu JY, Chen PH, Tseng WC, Chen CY, Tsai LY, Huang YL. Spectrophotometric determination of a thiobarbituric acid-reactive substance in human hair. *Anal Sci.* 2003;19(6):957-60.
- 68 Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2009 Apr;27(2):120-39.

69 Hendek MK, Erdemir EO, Kisa U, Ozcan G. Effect of Initial Periodontal Therapy on the Oxidative Stress Markers in Gingival Crevicular Fluid, Saliva and Serum in Smokers and Non-Smokers With Chronic Periodontitis. *J Periodontol.* 2015;86(2):273-82.

70 Cesaratto L, Vascotto C, Calligaris S, Tell G. The importance of redox state in liver damage. *Ann Hepatol.* 2004;3(3):86-92.

71 Kanzaki H, Wada S, Narimiya T, Yamaguchi Y, Katsumata Y, Itohiya K, et al. Pathways that regulate ROS scavenging enzymes, and their role in defense against tissue destruction in periodontitis. *Front Physiol.* 2017;8:351.

72 Kataoka K, Ekuni D, Tomofuji T, Irie K, Kunitomo M, Uchida Y, et al. Visualization of oxidative stress induced by experimental periodontitis in keap1- dependent oxidative stress detector- luciferase mice. *Int J Mol Sci.* 2016;17(11):1907.

73 Kumar J, Teoh SL, Das S, Mahakknaukrah P. Oxidative stress in oral diseases: Understanding its relation with other systemic diseases. *Front Physiol.* 2017;8:693.

74 Brock GR, Butterworth CJ, Matthews JB, Chapple IL. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol.* 2004; 31(7):515–21.

75 Moore S, Calder KA, Miller NJ, Rice-Evans CA. Antioxidant activity of saliva and periodontal disease. *Free Radic Res.* 1994;21(6):417–25.

76 Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta* 2004; 343(1-2):1– 16.

77 Canakci CF, Ciceki Y, Canakci V. Reactive oxygen species and human inflammatory periodontal diseases. *Biochem (Mosc).* 2005;70(6):619-28.

78 Martinez-Herrera M, López-Domènech S, Silvestre FJ, Silvestre-Rangil J, Banuls C, Victor CM, Rocha M. Chronic periodontitis impairs polymorponuclear leucocyte-endothelium cell interactions and oxidative stress in humans. *J Clin Periodontol.* 2018;45(12):1429-39.

79 Waddington RJ, Moseley R, Embery G. Reactive oxygen species: a potential role in the

pathogenesis of periodontal diseases. *Oral Dis.* 2000;6(3):138-51.

80 Giannobile WV. C-telopeptide pyridinoline cross-links. Sensitive indicators of periodontal tissue destruction. *Ann N Y Acad Sci.* 1999;30(878):404–12.

81 Monboisse JC, Rittie L, Lamfarraj H, Garnotel R, Gillery P. In vitro glycooxidation alters the interactions between collagens and human polymorphonuclear leucocytes. *Biochem J.* 2000;350(3):777–83.

82 Hall TJ, Schaeublin M, Jeker H, Fuller K, Chambers TJ. The role of reactive oxygen intermediates in osteoclastic bone resorption. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;207(1):280–7.

83 Chapple ILC, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000.* 2007;43:160-232.

84 Akalın FA, Baltacıoğlu E, Alverca A, Karabulut E. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2007;34(7):558-65.

85 Tsai CC, Chen HS, Chen SL, Ho YP, Ho KY, Wu YM, Hung CC. Lipid peroxidation: a possible role in the progression of the chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2005;40(5):378-84.

86 Takane M, Sugano N, Iwasaki H, Iwano Y, Shimizu N, Ito K. New biomarker evidence of oxidative DNA damage in whole saliva from clinically healthy and periodontally diseased individuals. *J Periodontol.* 2002;73(5):551-4.

87 Takane M, Sugano N, Ezawa T, Uchiyama T, Ito K. A marker of oxidative stress in saliva: association with periodontally-involved teeth of a hopeless prognosis. *J Oral Sci.* 2005;47(1):53-7.

88 Konopka T, Król K, Kopeć W, Gerber H. Total antioxidant status and 8-hydroxy-20-deoxyguanosine levels in gingival and peripheral blood of periodontitis patients. *Arch Immunol Ther Exp.* 2007;55(6):417-25.

89 Pradeep A, Rao NS, Bajaj P, Agarwal E. 8-Isoprostane: A lipid peroxidation product in gingival crevicular fluid in healthy, gingivitis and chronic periodontitis subjects. *Arch Oral Biol.* 2013;58(5):500-4.

90 Dede FO, Ozden FO, Avci B. 8-hydroxy-deoxyguanosine levels in gingival crevicular fluid and saliva in patients with chronic periodontitis after initial periodontal treatment. *J Periodontol.* 2013;84(6):821-8.

91 Singer RE, Moss K, Kim SJ, Beck JD, Offenbacher S. Oxidative Stress and IgG Antibody Modify Periodontitis-CRP Association. *J Dent Res.* 2015;94(12):1698-705.

92 Torres Courchoud I, Pérez Calvo JI. Biomarcadores y práctica clínica. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra.* 2016;39(1):5-8.

93 Miller CS, King CP Jr, Langub MC, Kryscio RJ, Thomas MV. Salivary biomarkers of existing periodontal disease: A cross-sectional study. *J Am Dent Assoc.* 2006;137(3):322-9.

94 Birkedal-Hansen H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res.* 1993;28(6-2):500-10.

95 Yucel-Lindberg T, Båge T. Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. *Expert Rev Mol Med.* 2013;15(7):7-22.

96 Ebersole JL, Nagarajan R, Akers D, Miller CS. Targeted salivary biomarkers for discrimination of periodontal health and disease(s). *Front Cell Infect Microbiol.* 2015;5(1):62-3.

97 Liukkonen J, Gürsoy UK, Pussinen PJ, Suominen AL, Könönen E. Salivary concentrations of interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-17A, and IL-23 vary in relation to periodontal status. *J Periodontol.* 2016;87(12):1484-91.

98 Rathnayake N, Åkerman S, Klinge B, Lundegren N, Jansson H, Tryselius Y, et al. Salivary biomarkers of oral health—A cross-sectional study. *J Clin Periodontol.* 2013;40(2):140-7.

99 Yue Y, Liu Q, Xu C, Loo WTY, Wang M, Wen G, et al. Comparative evaluation of cytokines

in gingival crevicular fluid and saliva of patients with aggressive periodontitis. *Int J Biol Markers*. 2013;28(1):108-12.

100 Oh H, Hirano J, Takai H, Ogata Y. Effects of initial periodontal therapy on interleukin-1 $\beta$  level in gingival crevicular fluid and clinical periodontal parameters. *J Oral Sc*. 2015;57(2):67-71.

101 Azuma MM, Samuel RO, Gomes- Filho JE, Dezan-Junior E, Cintra LTA. The role of IL-6 on apical periodontitis: A systematic review. *Int Endod J*. 2014;47(7):615-21.

102 Ebersole JL, Kirakodu S, Novak MJ, Stromberg AJ, Shen S, Orraca L, et al. Cytokine gene expression profiles during initiation, progression and resolution of periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2014;41(9): 853-61.

103 Scarel-Caminaga R, Trevilatto P, Souza A, Brito R, Line SRP. Investigation of an IL-2 polymorphism in patients with different levels of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2002;29(7):587-91.

104 Eivazi M, Falahi N, Eivazi N, Eivazi MA, Raygani AV, Rezaei F. The effect of scaling and root planning on salivary TNF- $\alpha$  and IL-1 $\alpha$  concentrations in patients with chronic periodontitis. *Open Dent J*. 2017;11(1):573-80.

105 Ng PYB, Donley M, Hausmann E, Hutson AD, Rossomando EF, Scannapieco FA. Candidate salivary biomarkers associated with alveolar bone loss: Cross-sectional and in vitro studies. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2007;49(2):252-60.

106 Du Souich P, García AG, Vergés J, Montell E. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of chondroitin sulphate. *J Cell Mol Med*. 2009;13(8A):1451-63.

107 Egea J, García AG, Verges J, Montell E, López MG. Antioxidant, antiinflammatory and neuroprotective actions of chondroitin sulfate and proteoglycans. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010;18(1):24-7.

108 Wang Y, Andrukhov O, Rausch-Fan X. Oxidative stress and antioxidant system in periodontitis. *Front Physiol*. 2017;8:910-13.

109 Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signa*. 2012;24(5):981-90.

110 Nagler R. Saliva Analysis for Monitoring Dialysis and Renal Function. *Clin Chem*. 2008;54(9):1415-7.

111 Nagler R, Hershkovich O, Lischinski S, Diamond E, Reznick AZ. Saliva analysis in clinical setting: revisiting an underused diagnostic tool. *J Investig Med*. 2002;50(3):214–25.

112 Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *J Prosthet Den*. 2001;85(2):162-9.

113 Dowd FJ. Saliva and dental caries. *Dent Clin North Am*. 1999;43(4):579-97.

114 Tabak LA, Levine MJ, Mandel ID, Ellison SA. Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity. *J Oral Pathol*. 1982;11(1):1-17.

115 Todorovic T, Dozic I, Vicente- Barreto M, Ljuskovic B, Pejovic J, Marjanovic M, et al. Salivary enzymes and periodontal disease. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*. 2005;133:372-8.

116 Dec C, Cohen MM. Mutations affecting bone-forming cells. In: Hall BK, editor. *The Osteoblast and Osteocyte*. New Jersey: Telford Press; 1990;431-87.

117 Fure S, Lingström P, Birkhed D. Effect of three months' frequent use of sugar-free chewing gum with and without urea on calculus formation. *J Dent Res*. 1998;77(8):1630-7.

118 Clancy KA, Pearson S, Bowen NH, Burne RA. Characterization of recombinant, ureolytic *Streptococcus mutans* demonstrates an inverse relationship between dental plaque ureolytic capacity and cariogenicity. *Infect Immun*. 2000;68(5):2621-9.

119 Ghezzi IN, Lange LA. Determination of variation of stimulated salivary flow rates. *J Dent Res*. 2000;79(11):1874-8.

120 Hu S, Loo JA, Wong DT. Human saliva proteome analysis and disease biomarker discovery. *Expert Rev Proteomics*. 2007;4(4):531-8.

121 Nanci A. Salivary Glands. *TenCate's Oral Histology Development, Structure and Function*. 8th ed. South Asia edition. India: Reed Elsevier India Private Limited; 2012. pp. 253-77.

122 Tiwari M. Science behind human saliva. *J Nat Sci Biol Med*. 2011;2(1):53-8.

123 Joshipura KJ, Douglass CW, Willett WC. Possible explanations for the tooth loss and cardiovascular disease relationship. *Ann Periodontol*. 1998;3(1):175-83.

124 Morrison HI, Ellison OF, Taylor GW. Periodontal disease and risk of fatal coronary heart and cerebrovascular diseases. *J Cardiovasc Risk*. 1999;6(1):7-11.

125 Offenbacher S, Beck JD, Lieff S, Slade G. Role of periodontitis in systemic health: Spontaneous preterm birth. *J Dent Educ*. 1998;62(10):852-8.

126 Newman MG, Klokkevold PR, Takei HH, Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology*. 10th ed. Philadelphia: Saunders; 2009

127 Jentisch H, Beetke E, Göche R. Salivary acute phase proteins as biomarker in oral and systemic disease. *Clin Oral Invest*. 2004;8(3):156-60.

128 Dawes C, Weatherell J. Kinetics of fluoride in the oral fluids. *Journal of dental research*. 1990;69(2):638-44.

129 Cimasoni G. *Monographs in oral science. The crevicular fluid, Vol. 3*, Basel, Switzerland; 1974.

130 Hold KM, de Boer D, Zuidema J, Maes RAA. Saliva as an analytical tool in toxicology. *Int J Drug Test*. 1999;1(1):1-36.

131 Altankova I, Naumova E. *Clinical Immunology*. Lice, Sofia; 2008.

132 Lee YH, Wong DT. Saliva: An emerging bio fluid for early detection of diseases. *Am J Dent.* 2009;22(4):241-8.

133 Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva—A review. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(2):197-12.

134 Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kostner K, Punyadeera C. Diagnostic potential of saliva: Current state and future applications. *Clin Chem.* 2011;57(5):675-87.

135 Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Front Immunol.* 2018;9:754.

136 Jain S, Gautam V, Naseem S. Acute-phase proteins: As diagnostic tool. *J Pharm Bioallied Sci.* 2011;3(1):118-27.

137 Fournier T, Medjoubi-N N, Porquet D. Alpha-1-acid glycoprotein. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1482(1-2):157-71.

138 Christensen EI, Birn H, Storm T, Weyer K, Nielsen R. Endocytic receptors in the renal proximal tubule. *Physiology (Bethesda).* 2012;27(4):223-36.

139 Pederson ED, Stanke SR, Whitener SJ, Sebastiani PT, Lamberts BL, Turner DW. Salivary levels of 2-macroglobulin, alpha- 1-antitrypsin, C-reactive protein, cathepsin G and elastase in humans with or without destructive periodontal disease. *Arch Oral Biol.* 1995;40(12):1151–5.

140 Sibraa P, Reinhardt R, Dyer J, DuBois L. Acute-phase protein detection and quantification in gingival crevicular fluid by direct and indirect immunodot. *J Clin Periodontol.* 1991;18(2):101-6.

141 Shojaee M, Golpasha MF, Majili G, Bijani A, Mir SMA, Kani SNM. C - Reactive Protein Levels in Patients with Periodontal Disease and Normal Subjects. *Int J Mol Cell Med.* 2013;2 (3) 151-5.

142 Pitiphat W, Savetsilp W, Wara-Aswapati N. C-reactive protein associated with periodontitis



in a Thai population. *J Clin Periodontol.* 2008;35(2):120-5.

143 Mattila KJ, Pussinen PJ, Paju S. Dental infections and cardiovascular diseases: a review. *J Periodontol.* 2005; 76(11Suppl): 2085–8.

144 De Souza AB, Okawa RT, Silva CO, Araujo MG. Short-term changes on C-reactive protein (CRP) levels after non-surgical periodontal treatment in systemically healthy individuals. *Clin Oral Investig.* 2017 Jan;21(1):477-84.

145 Morozumi T, Yashima A, Gomi K, Ujiie Y, Izumi Y, Akizuki T, Mizutani K, Takamatsu H, Minabe M, Miyauchi S, Yoshino T, Tanaka M, Tanaka Y, Hokari T, Yoshie H. Increased systemic levels of inflammatory mediators following one-stage full-mouth scaling and root planing. *J Periodontal Res.* 2018;53(4):536-544.

146 Kanmaz B, Lappin DF, Nile CJ, Buduneli N. Effects of smoking on non-surgical periodontal therapy in patients with periodontitis Stage III or IV, and Grade C. *J Periodontol.* 2020;91(4):442-53.

147 Lombardo Bedran TB, Marcantonio RA, Spin Neto R, Alves Mayer MP, Grenier D, Spolidorio CL, et al. *Porphyromonas endodontalis* in chronic periodontitis: a clinical and microbiological cross-sectional study. *J Oral Microbiol.* 2012;4:10123.

148 Graziani F, Cei S, Orlandi M, Gennai S, Gabriele M, Filice N, Nisi M, D'Aiuto F. Acute-phase response following full-mouth versus quadrant non-surgical periodontal treatment: A randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2015;42(9):843-52.

149 Graziani F, Cei S, Tonetti M, Paolantonio M, Serio R, Sammartino G, Gabriele M, D'Aiuto F. Systemic inflammation following non-surgical and surgical periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 2010;37(9):848-54.

150 Taylor B, Tofler G, Morel-Kopp MC, Carey H, Carter T, Elliott M, Dailey C, Villata L, Ward C, Woodward M, Schenck K. The effect of initial treatment of periodontitis on systemic markers

of inflammation and cardiovascular risk: a randomized controlled trial. *Eur J Oral Sci.* 2010;118(4):350-6.

151 Loos BG, Needleman I. Endpoints of active periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 2020 Jul;47 Suppl 22(Suppl 22):61-71.

152 Koromantzou PA, Makrilakis K, Dereka X, Offenbacher S, Katsilambros N, Vrotsos IA, Madianos PN. 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(1):3-10.

153 D' Aiuto F, Parkar M, Andreou G, Suvan J, Brett PM, Ready D, Tonetti MS. Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res.* 2004;83(2):156–60.

154 Tamaki, N., Tomofuji, T., Ekuni, D. *et al.* Periodontal treatment decreases plasma oxidized LDL level and oxidative stress. *Clin Oral Invest.* 2011;15:953–58.

155 Ioannidou E, Malekzadeh T, Dongari-Bagtzoglou A. Effect of periodontal treatment on serum C-reactive protein levels: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol.* 2006; 77(10):1635–1642.

156 Noack B, Genco RJ, Trevisan M, Grossi S, Zambon JJ, De Nardin E. Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level. *J Periodontol.* 2001;72(9):1221-7.

157 Pejčić A, Kešić Lj, Milašin J, Pešić Z, Mirković D. Utjecaj parodontološke terapije na C-reaktivni protein i parodontne patogene kod pacijenata s parodontopatijom. *Acta Stomatol Croat.* 2011;45(1)14-3.

158 Redman RS, Kerr GS, Payne JB, Mikuls TR, Huang J, Sayles HR, et al. Salivary and serum procalcitonin and C-reactive protein as biomarkers of periodontitis in United States veterans with osteoarthritis or rheumatoid arthritis. *Biotechnic & Histochemistry : Official Publication of the Biological Stain Commission.* 2016;91(2):77-5.

159 Ebersole JL, Kryscio RJ, Campbell C, Kinane DF, McDevitt J, Christodoulides N, et al. Salivary and serum adiponectin and C-reactive protein levels in acute myocardial infarction related to body mass index and oral health. *J Periodontal Res.* 2017;52(3):419-27.

160 Lee CH, Chen YW, Tu YK, Wu YC, Chang PC. The potential of salivary biomarkers for predicting the sensitivity and monitoring the response to nonsurgical periodontal therapy: A preliminary assessment. *J Periodontal Res.* 2018;53(4):545-54.

161 Kanzaki H, Wada S, Narimiya T, Yamaguchi Y, Katsumata Y, Itohiya K, Fukaya S, Miyamoto Y, Nakamura Y. Pathways that Regulate ROS Scavenging Enzymes, and Their Role in Defense Against Tissue Destruction in Periodontitis. *Front Physiol.* 2017;8:351.

162 Chapple ILC, Brock G, Eftimiadi C, Matthews JB. Glutathione in gingival crevicular fluid and its relationship to local antioxidant capacity in periodontal health and disease. *Mol Pathol.* 2002;55(6):367-73.

163 Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, Newman HN, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol.* 2002;29(3):189-94.

164 Baltacıoğlu E, Akalın FA, Alver A, Balaban F, Unsal M, Karabulut E. Total antioxidant capacity and superoxide dismutase activity levels in serum and gingival crevicular fluid in postmenopausal women with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2006;33(6):385-92.

165 Panjamurthy K, Manoharan S, Ramachandran CR. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with periodontitis. *Cellular & Molecular Biology Letters.* 2005;10(2):255-64.

166 Baltacıoğlu E, Yuva P, Aydın G, Alver A, Kahraman C, Karabulut E, Akalın FA. Lipid peroxidation levels and total oxidant/antioxidant status in serum and saliva from patients with

chronic and aggressive periodontitis. Oxidative stress index: a new biomarker for periodontal disease? *J Periodontol.* 2014;85(10):1432-41.

167 Sezer U, Çiçek Y, Canakçi CF. Increased salivary levels of 8-hydroxydeoxyguanosine may be a marker for disease activity for periodontitis. *Dis Markers.* 2012;32(3):165-72.

168 Canakci CF, Cicek Y, Yildirim A, Sezer U, Canakci V. Increased levels of 8-hydroxydeoxyguanosine and malondialdehyde and its relationship with antioxidant enzymes in saliva of periodontitis patients. *Eur J Dent.* 2009;3(2):100-6.

169 Önder C, Kurgan Ş, Altıngöz SM, Bağış N, Uyanık M, Serdar MA, Kantarcı A, Günhan M. Impact of non-surgical periodontal therapy on saliva and serum levels of markers of oxidative stress. *Clin Oral Investig.* 2017;21(6):1961-69.

170 Kurgan Ş, Önder C, Altıngöz SM, Bağış N, Uyanık M, Serdar MA, Kantarcı A. High sensitivity detection of salivary 8-hydroxy deoxyguanosine levels in patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2015;50(6):766-74.

171 Yang X, Li C, Pan Y. The Influences of Periodontal Status and Periodontal Pathogen Quantity on Salivary 8-Hydroxydeoxyguanosine and Interleukin-17 Levels. *J Periodontol.* 2016;87(5):591-0.

172 Trivedi S, Lal N, Mahdi AA, Singh B, Pandey S. Association of salivary lipid peroxidation levels, antioxidant enzymes, and chronic periodontitis. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2015;35(2):14-9.

173 Novakovic N, Todorovic T, Rakic M, Milinkovic I, Dozic I, Jankovic S, Aleksic Z, Cakic S. Salivary antioxidants as periodontal biomarkers in evaluation of tissue status and treatment outcome. *J Periodontal Res.* 2014;49(1):129-36.

174 Buduneli N, Kardesler L, Isik H, Willis CS, Hawkins SI, Kinane DF, Scott DA. Effect of smoking and gingival inflammation on salivary antioxidant capacity. *J Clin Periodontol*. 2006;33(3):159–64.

175 Foronjy R, D’Armiento J. The effect of cigarette smoke derived oxidants on the inflammatory response of lung. *Clin Appl Immunol Rev*. 2006;6(1):53–72.

176 Aziz AS, Kalekar MG, Suryakar AN, Benjamin T, Prakashan MJ, Ahmed BM, Sayyad M. Assessment of some biochemical oxidative stress markers in male smokers with chronic periodontitis. *Indian J Clin Biochem*. 2013;28(4):374-80.

177 Nagamma T, Anjaneyulu K, Baxi J, Dayaram P, Singh P. Effects of cigarette smoking on lipid peroxidation and antioxidant status in cancer patients from Western Nepal. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2011;12(1):313-6.

178 Raghuvendra U, D’Souza V, D’Souza B. Erythrocyte MDA and antioxidant status in oral squamous cell carcinoma patients and tobacco chewers/smokers. *Biomed Res*. 2010;21(4):441–4.

179 Garg N, Singh R, Dixit J, Jain A, Tewari V. Levels of lipid peroxides and antioxidants in smokers and nonsmokers. *J Periodontal Res*. 2006;41(5):405-10.

180 Agnihotri R, Pandurang P, Kamath SU, Goyal R, Ballal S, Shanbhogue AY, Kamath U, Bhat GS, Bhat KM. Association of cigarette smoking with superoxide dismutase enzyme levels in subjects with chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2009 Apr;80(4):657-62.

181 Guentsch A, Pershaw PM, Streak SB, Klinger G, Glokman E, Sigusch BW. Lipid peroxidation and antioxidant activity in saliva of periodontitis patients: effect of smoking and periodontal treatment. *Clin Oral Invest*. 2008;12(4):345–52.

182 Azar R, Richard A. Elevated salivary C-reactive protein levels are associated with active and passive smoking in healthy youth: A pilot study. *J Inflamm (Lond)*. 2011;8(1):37.

183 Scapoli L, Girardi A, Palmieri A, Martinelli M, Cura F, Lauritano D, Carinci F. Quantitative analysis of periodontal pathogens in periodontitis and gingivitis. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2015;29(3 Suppl 1):101-10.

184 Simonson LG, Robinson PJ, Pranger RJ, Cohen ME, Morton HE. *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* as prognostic markers following periodontal treatment. *J Periodontol*. 1992;63(4):270-3.

185 Gunsolley JC, Zambon JJ, Mellott CA, Brooks CN, Kaugars CC. Periodontal therapy in young adults with severe generalized periodontitis. *J Periodontol*. 1994;65(3):268-73.

186 Ali RW, Lie T, Skaug N. Early effects of periodontal therapy on the detection frequency of four putative periodontal pathogens in adults. *Journal of Periodontology*. 1992;63(6):540-7.

187 Tomita S, Komiya-Ito A, Imamura K, Kita D, Ota K, Takayama S, Makino-Oi A, Kinumatsu T, Ota M, Saito A. Prevalence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythia* in Japanese patients with generalized chronic and aggressive periodontitis. *Microb Pathog*. 2013;61-62:11-5.

188 Grenier D. Demonstration of a bimodal coaggregation reaction between *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola*. *Oral Microbiol Immunol*. 1992;7(5):280-4.

189 Grenier D. Nutritional interactions between two suspected periodontopathogens, *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun*. 1992;60(12):5298-301.

190 Kesavalu L, Holt SC, Ebersole JL. Virulence of a polymicrobial complex, *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis*, in a murine model. *Oral Microbiol Immunol*. 1998;13(6):373-7.



Mr. dr. sc. Zerina Hadžić, dr. dent. med rođena je u Tuzli, 09.04.1986., gdje je završila osnovnu i srednju školu. Stomatološki fakultet Sveučilišta u Sarajevu upisala je 2004. godine, a diplomirala 2009. godine, a za vrijeme studija nagrađena je Priznanjem Federalnog ministarstva obrazovanja i nauke kao jedan od najboljih studenata u Federaciji Bosne i Hercegovine. Tijekom studiranja aktivno je sudjelovala u znanstveno-istraživačkim radovima i sudjelovala u organizaciji dva Kongresa stomatologa u organizaciji Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Sarajevu. Nakon pripravničkog staža, počinje raditi u privatnoj stomatološkoj praksi u Sarajevu, a istovremeno upisuje magistarski studij na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Sarajevu. Magistarski studij završila je uspješnom obranom magistarskog rada na temu: "Određivanje nivoa interleukina-6 kao medijatora upale u pljuvački pacijenata oboljelih od agresivnog i hroničnog parodontitisa" i time ispunila propisane uvjete za stjecanje znanstvenog stupnja: Magistar stomatoloških nauka. Aktivno je učestvovala na brojnim stomatološkim kongresima i pohađala niz edukacija i tečajeve iz područja stomatologije. Doktorski studij na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisuje 2018. godine. Istovremeno, nastavlja obrazovanje upisujući trogodišnji studij za specijaliste parodontologije i oralne medicine 2019. godine u Sarajevu. Autor je nekoliko znanstvenih i stručnih radova. Aktivno je sudjelovala na međunarodnim i domaćim znanstvenim kongresima.

#### **Popis objavljenih radova:**

1. Hadžić Z, Puhar I. Oxidative stress and C-reactive protein as salivary biomarkers in smokers with periodontitis stage III and IV after non-surgical periodontal therapy (a pilot study). Acta Medica Mediterranea 2023; Prihvaćen za objavu – rad proistekao iz doktorskog rada.
2. Pašić E, Hadžić S, Gojkov-Vukelić M, Hadžić Z. Treatment of oral lesions as side effects after administration of erythritol powder containing 0,3% chlorhexidine and 0,2% chlorhexidine digluconate oral antiseptic: case report. Stomatološki vjesnik 2022;11(2):45-9.



3. Hadžić Z, Puhar I. C-reactive protein in saliva of non-smoking patients with periodontitis (a pilot study). Journal of Health Sciences 2021;11(2):98-01. Rad proistekao iz doktorskog rada.
4. Hadzic Z, Pasic E, Hukic M, Gojkov Vukelic M, Hadzic S. Salivary Interleukin-6 Levels in Patients with Periodontitis Stage IV. Meandros Med Dent J. 2021;22(2):140-7.
5. Hadžić Z, Pašić E, Gojkov Vukelić M, Hadžić S. Effects of Lactobacillus Reuteri Lozenges (Prodentis) as Adjunctive Therapeutic Agent in Non-Surgical Therapy of Periodontitis. Balk J Dent Med, 2021;25(1):41-5.
6. Hadzic Z. COVID-19 Impact on Dentists in Bosnia and Herzegovina: Qualitative Study. Acta Scientific Dental Sciences. 2020;4(7):59-3.

**Knjige:**

1. Hadžić Z, Kerleta V. Standardi sigurnosti i kvaliteta za stomatološku djelatnost. Sarajevo: AKAZ, 2020.
2. Hadžić F, Hadžić Z. Energetska efikasnost u BiH. Sarajevo: Fridrich Ebert Stiftung, 2020.

**Kongresna priopćenja:**

1. Hadžić Z, Puhar I. Oxidative stres in smokers with periodontitis stage IV: A pilot study. J Clin Periodontol.2022; 49 Suppl. 23:174-5.
2. Puhar I, Hadžić Z. Microbiological profile in saliva of non-smokers with periodontitis stage III and IV: A pilot study. J Clin Periodontol.2022; 49 Suppl. 23:171.
3. Hadžić Z, Pašić E. Effects of Lactobacillus Reuteri lozenges in non-surgical therapy of periodontitis. 25th BASS Congress Abstract Book 2022:140.
4. Hadžić Z. Oral health symptoms of sleep disorders. Mediterranean Forum. Book of Abstracts. 2020. ISSN 2712-1399.

5. Hadžić Z, Pašić E. Interleukin-6 in saliva of patients with chronic and aggressive periodontitis. Stomatološki vjesnik 2019;8(1):36.

6. Hadžić Z, Pašić E. Interleukin- 6 as a mediator of inflammation in saliva of patients with chronic periodontitis. Stomatološki vjesnik 2019;8(1):40-1.

7. Smajić Z, Fočo F. Advantages of Karapandzic arterial flap in lower lip reconstruction for patients with malignant cancers – with aspects of dentistry. Ain Shams Int. Book of Abstracts. 2010:43.