



UNIVERZITET U NIŠU  
MEDICINSKI FAKULTET



**Milica S. Petrović**

**KOMPARATIVNO ISPITIVANJE EFIKASNOSTI  
BAZIČNE, LASERO- I FITOTERAPIJE KOD PACIJENATA  
SA HRONIČNOM PARODONTOPATIJOM**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Niš, 2018.



UNIVERSITY OF NIŠ  
FACULTY OF MEDICINE



**Milica S. Petrović**

**COMPARATIVE INVESTIGATION OF THE EFFICACY  
OF THE BASIC, LASER AND PHYTOTHERAPY  
IN PATIENTS WITH CHRONIC PERIODONTITIS**

DOCTORAL DISSERTATION

Niš, 2018.

## Podaci o doktorskoj disertaciji

Mentor: Prof. dr Ljiljana Kesić, redovni profesor, Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet

Naslov: KOMPARATIVNO ISPITIVANJE EFIKASNOSTI BAZIČNE, LASERO- I FITOTERAPIJE KOD PACIJENATA SA HRONIČNOM PARODONTOPATIJOM

Cilj istraživanja koje je sprovedeno kao klinička prospektivna studija je utvrditi efikasnost bazične, lasero- i fitoterapije kod pacijenata sa hroničnom parodontopatijom. Upoređeni su različiti pristupi lečenju hronične parodontopatije. Pored bazične (kauzalne) terapije koja je „zlatni standard” u terapiji hronične parodontopatije, primenjivana je terapija laserom male snage i fitoterapija.

U studiji je učestvovalo 111 ispitanika podeljenih u 4 grupe. Prvu, drugu i treću grupu činilo je po 30 ispitanika sa hroničnom parodontopatijom kod kojih je primenjena bazična terapija (I grupa), kombinovana bazična i fitoterapija (II grupa) i kombinovana lasero- i bazična (III grupa), pet dana zaredom. Klinički parametri su utvrđeni pre terapije, nakon petog tretmana i nakon mesec dana. Svi ispitanici su dobili uputstva o načinu održavanja oralne higijene i sprovedena je parodontalna terapija (profesionalno uklanjanje dentalnog plaka, zubnog kamenca i obrada parodontalnih džepova). Nakon toga, u grupi II, primenjena je fitoterapija (Tinctura paradentica<sup>®</sup> Institut “Dr Josif Pančić”, Beograd), dok je grupi III primenjena terapija laserom male snage (Kavo, 980 nm, 0.2 W, 6 J/cm<sup>2</sup>). Subgingivalni uzorci su sakupljeni pre terapije i nakon petog tretmana da bi se identifikovale sledeće bakterijske vrste: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* i *Treponema denticola*. Uzeti su i brisevi gingive i pravljen je direktan razmaz na pločici za citomorfometrijsku analizu. Četvrtu grupu je činio 21 ispitanik sa zdravim parodontom i dobrim opštim zdravljem. Upoređivanje rezultata vršeno je kliničkim ispitivanjem (indeksima oralne higijene, gingivalnim i parodontalnim indeksima), polymerase chain reaction (PCR) metodom za ispitivanje periodontopatogenih bakterija i citomorfometrijskim analizama.

Rezime:

Kliničko ispitivanje je pokazalo bolje rezultate u grupi sa primenjenom laseroterapijom. Poređenjem areala jedara nakon terapije, utvrđeno je da su njihove vrednosti statistički značajno više u grupi na bazičnoj terapiji, u odnosu na grupe sa kombinovanom terapijom (II and III), ponaosob ( $p < 0,001$ ). Nakon terapije, utvrđeno je smanjenje prisustva sledećih bakterijskih vrsta (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* i *Treponema denticola*) u svim terapijskim grupama, u odnosu na stanje pre terapije, izuzev bakterije *Tannerella forsythensis*, čije je prisustvo neznatno povećano u grupi na bazičnoj terapiji. U grupama sa kombinovanim terapijama (II i III) došlo je do statistički značajnog smanjenja prisustva *Tannerella forsythensis* i *Treponema denticola* ( $p < 0,001$ ). Međutim, u grupi sa laseroterapijom došlo je do statističkog smanjenja i svih ostalih bakterija: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* i *Prevotella intermedia* ( $p < 0,05$ ), kao i *Porphyromonas gingivalis* ( $p < 0,01$ ).

Na osnovu iznetog se može zaključiti da je kombinovana lasero i bazična terapija dala bolje kratkoročne rezultate u odnosu na primenu kombinovane - bazične i fitoterapije ili samo bazične terapije.

Naučna oblast:	Stomatologija
Naučna disciplina:	Parodontologija
Ključne reči:	Hronična parodontopatija, Laser, Fitoterapija, PCR, Citomorfometrijska analiza
UDK:	616.311.2-002-085.849.19:615.322
CERIF klasifikacija:	B 730
Tip licence Kreativne zajednice:	CC BY-NC-ND

## Data on Doctoral Dissertation

Doctoral Supervisor: Academic title, First and Last Name, Title of the University and Faculty

Title: COMPARATIVE INVESTIGATION OF THE EFFICACY OF THE BASIC, LASER AND PHYTOTHERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC PERIODONTITIS

Abstract: The aim of the investigation that was conducted as clinical prospective study was to establish efficacy of the basic, low level laser therapy (LLLT) and phytotherapy in patients with chronic periodontitis. Different approaches in the treatment of chronic periodontitis were compared. Beside basic (causal) therapy, that represents the "gold standard" for the treatment of chronic periodontitis, LLLT and phytotherapy were performed.

The study included 111 subjects divided into 4 groups. The first, the second and the third group was constituted as follows: 30 patients with chronic periodontitis, who received basic periodontal treatment (I group), combined basic and phytotherapy (II group) and combined LLLT and basic therapy (III group), for five consecutive days. Clinical parameters were measured before intervention, after the fifth treatment and after a month. All subjects received oral hygiene instructions and full-mouth periodontal treatment (professional removal of dental plaque and calculus, followed by curettage of periodontal pockets). Afterwards, in group II, phytotherapy was applied (Tinctura paradoxa ® Institut "Dr Josif Pančić", Beograd), while in group III, Kavo LLLT (980 nm, 0.2 W, 6 J/cm<sup>2</sup>) was applied. Subgingival samples were collected at baseline and after the fifth treatment to identify following bacterial species: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* and *Treponema denticola*. Gingival swabs were taken, and direct smears were prepared on slides for cytomorphometric analysis. The fourth group included 21 periodontally healthy subjects in good general health. The results were compared by clinical examination (oral hygiene indices, gingival and periodontal indices), polymerase chain reaction (PCR) method for detection of periodontopathogenic bacteria and cytomorphometric analysis.

The evaluation using clinical parameters showed better results in group III, there LLLT was applied. Comparing the values of nuclear area after therapy, it was established that their values were statistically significantly higher in the basic therapy group, compared to the combined therapy groups (II and III), independently ( $p < 0,001$ ). After treatment, the following bacterial species were found less frequently (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* and *Treponema denticola*) in all studied groups, compared to before treatment, except bacteria *Tannerella forsythensis*, that was found more frequently in the basic therapy group. In the combined therapy groups (II and III), a statistically significant decrease in the prevalence of bacteria was observed for *Tannerella forsythensis* and *Treponema denticola* ( $p < 0,001$ ). However, in the LLLT group, statistically significant decrease in the prevalence of the remaining bacteria was observed for the following: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Prevotella intermedia* ( $p <$

0,05), as well as Porphyromonas gingivalis ( $p < 0,01$ ).

Based on previous findings, it could be concluded that combined LLLT and basic therapy had better short - term outcomes compared to the basic and phytotherapy as well as basic therapy itself.

Scientific  
Field:

Dentistry

Scientific  
Discipline:

Parodontology

Key Words:

Chronic periodontitis, Laser, Phytotherapy, PCR, Cytomorphometric analysis

UDC:

616.311.2-002-085.849.19:615.322

CERIF  
Classification:

B 730

Creative  
Commons  
License Type:

CC BY-NC-ND

## **Zahvalnica**

*Neizmernu zahvalnost u izradi doktorske disertacije dugujem:*

**Prof. dr Ljiljani Kesić**, mojoj mentorki, koja me je u stopu pratila i čvrsto verovala u mene, hvala Vam za strpljenje, podršku i pokretačku snagu. Hvala Vam što ste me još kao studentkinju uveli u naučno-istraživačke vode i pokazali da istrajnost, požrtvovanost i iskrena vera u nauku daju najbolje rezultate;

**Prof. dr Jeleni Milašin**, hvala Vam na bezrezervnoj pomoći, stručnim savetima i korisnim sugestijama koje ste mi pružili tokom realizacije ove doktorske disertacije;

**Prof. dr Dušanki Kitić**, hvala Vam na konstruktivnim savetima, kao i na tome što ste mi pokazali da se poštovanje stiče znanjem i korektnim odnosom prema kandidatu;

**Prof. dr Draganu Mihailoviću**, hvala Vam za izdvojeno vreme i nesebičnu pomoć u procesu morfometrijske analize preparata;

**Doc. dr Radmili Obradović**, hvala Vam za stručne i prijateljske savete u toku realizacije ove doktorske disertacije.

*Posebnu zahvalnost dugujem:*

**Dipl. mikrobiologu Ibrahim Yousif Kannosh**, za veliku pomoć pri molekularno- genetičkoj analizi uzoraka koja se bazirala na PCR metodologiji;

**Dipl. ing. elektronike Miletu Randeloviću**, na pomoći tokom statističke i tehničke obrade podataka;

*Bez beskrajne podrške i ljubavi moje porodice, roditelja i sestre ništa ne bi bilo moguće. Hvala vam na tome što ste mi bili glavni oslonac u svim teškim trenucima i verovali u mene.*

*Ovo istraživanje je realizovano u okviru projekata Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije: OI 175075, III 46013; III 41018 i Internog projekta br.11, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Nišu.*

*Autor*

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE .....	2
2.1. Parodontopatija.....	2
2.1.1. Definicija.....	2
2.1.2. Klasifikacija parodontalnih oboljenja .....	2
2.1.2.1. Savremena klasifikacija oboljenja parodoncijuma.....	3
2.2. Etiologija parodontopatije .....	5
2.2.1. Opšte karakteristike dentalnog plaka .....	6
2.2.2. Formiranje dentalnog plaka .....	6
2.2.3. Struktura i fiziološka svojstva.....	8
2.1.3.1. Supragingivalni dentalni plak .....	8
2.1.3.2. Subgingivalni dentalni plak.....	8
2.2.4. Sastav dentalnog plaka.....	9
2.3. Mikroorganizmi dentalnog plaka.....	10
2.3.1. Mikroorganizmi u zavisnosti od stanja parodonta .....	10
2.3.2. Kriterijumi za identifikaciju parodontalnih patogena .....	12
2.3.3. Virulentni faktori mikroorganizama .....	13
2.3.4. Kolonizacija bakterija na tkiva parodonta .....	13
2.3.5. Invazija bakterija u tkiva domaćina .....	14
2.3.6. Mehanizmi kojima bakterije oštećuju tkiva .....	14
2.3.7. Transmisija bakterija.....	15
2.3.8. Periodontopatogeni mikroorganizmi .....	15
2.3.8.1. <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> .....	15
2.3.8.2. <i>Prevotella intermedia</i> .....	17
2.3.8.3. <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	18
2.3.8.4. <i>Tannerella forsythensis</i> .....	19
2.3.8.5. <i>Treponema denticola</i> .....	20
2.4. Klinička slika parodontopatije.....	20
2.5. Patogeneza parodontopatije.....	21
2.5.1. Promene u gingivi tokom patogeneze parodontopatije.....	22
2.5.2. Promene u alveolarnoj kosti tokom patogeneze parodontopatije .....	24
2.5.3. Promene u periodoncijumu tokom patogeneze parodontopatije.....	25
2.5.4. Promene u cementu tokom patogeneze parodontopatije.....	25



2.6. Terapija parodontopatije.....	26
2.6.1. Fitoterapija .....	27
2.6.2. Laser.....	31
2.6.2.1. Sastav i režim rada lasera .....	32
2.6.2.2. Podela lasera (prema vrsti aktivne materije) .....	33
2.6.2.3. Glavne osobine laserske svetlosti.....	33
2.6.2.4. Biološki efekti delovanja lasera .....	34
2.6.2.5. Terapijski efekti lasera sa stimulativnim delovanjem .....	35
2.6.2.6. Podela lasera u kliničkoj praksi.....	35
2.6.2.6.1. Laseri velike snage.....	35
2.6.2.6.2. Laseri male snage.....	35
2.6.2.7. Neželjeni efekti i kontraindikacije delovanja lasera .....	37
2.6.2.8. Preporučene doze lasera male snage .....	37
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....	38
4. MATERIJAL I METODE .....	39
4.1. Uključujući kriterijumi .....	39
4.4. Isključujući kriterijumi.....	39
4.3. Klinički parametri - stanje oralne higijene, gingive i parodontijuma.....	41
4.4. Molekularno - genetička ispitivanja.....	45
4.5. Citološka i morfometrijska ispitivanja .....	50
4.6. Statistička obrada podataka .....	51
4.7. Institucije u kojima je rađeno istraživanje.....	51
5. REZULTATI .....	52
5.1. Polna i starosna struktura ispitanika.....	52
5.2. Klinički parametri (procena stanja oralne higijene, gingive i parodontijuma).....	53
5.3. Analiza molekularno - genetičkih ispitivanja.....	65
5.4. Analiza citoloških i morfometrijskih ispitivanja.....	71
6. DISKUSIJA .....	89
7. ZAKLJUČAK.....	99
8. LITERATURA .....	101
PRILOG .....	125

# 1. UVOD

---

Parodontopatija je inflamatorno oboljenje, koje zahvata potporni aparat zuba i nastaje pod uticajem mikroorganizama dentalnog plaka. U nastanku i progresiji parodontopatije najznačajniju ulogu imaju anaerobni mikroorganizmi. Parodontalna destrukcija je rezultat kompleksne interakcije između direktnog delovanja njihovih produkata na tkiva parodontijuma i individualnog odgovora imunog sistema domaćina na ove agense. Po konsenzusu koji je 1999. godine donela Američka parodontološka akademija, a usvojio ceo naučni svet, razlikuju se: hronična parodontopatija, agresivna parodontopatija, bolesti parodontijuma kao manifestacija sistemskih oboljenja i ulcero-nekrozna parodontopatija. U ovu grupu oboljenja parodontijuma svrstavaju se parodontalni apsces, endo-parodontalne lezije i paro-endodontalne lezije, mukogingivalne lezije i okluzalna trauma (1,2).

Hronična parodontopatija, najčešći oblik, nastaje širenjem inflamacije sa gingive na dublja tkiva parodonta. Parodontalno oboljenje zahvata do 90% svetske populacije, pa je zbog svoje rasprostranjenosti okarakterisano kao socijalni problem, tako da je jako važno pronaći pravi i odgovarajući terapijski pristup (modalitet) (3).

Dobro je poznato da bazična (kauzalna) terapija, koja podrazumeva uklanjanje mekih naslaga, zubnog kamenca i obradu parodontalnih džepova, utiče na smirivanje ili eliminaciju inflamacije najpre u gingivi, a zatim u čitavom parodontijumu, predstavlja "zlatni standard" u terapiji ove bolesti. Hirurgija, selektivno brušenje i fizikalne metode od kojih terapija laserima male snage, koja treba da doprinese ubrzanom ozdravljenju parodontalnog tkiva tako što deluje antiinflamatorno, analgetski i antiedematozno su pomoćne metode u terapiji parodontopatije. Poseban značaj pridaje se upotrebi biljnih preparata, zbog toga što smanjuju inflamaciju i sprečavaju otpuštanje histamina. Koriste se kao antiseptici, analgetici, antioksidansi, antigljivična, antibakterijska i antivirusna pomoćna lekovita sredstva (4, 5).

Ova prospektivna studija, u kojoj su vršena ispitivanja kliničkih parametara (indeksa oralne higijene, gingivalnih i parodontalnih indeksa), PCR (polymerase chain reaction) analiza prisustva anaerobnih mikroorganizama koji su glavni etiološki faktor u nastanku parodontopatije, kao i citomorfometrijska analiza promena na gingivi pokazala je koji je terapijski modalitet najefikasniji.

## 2. PREGLED LITERATURE

---

### 2.1. Parodontopatija

#### 2.1.1. Definicija

Parodontopatija predstavlja hronično, destruktivno, multifaktorsko i kompleksno oboljenje potpornog aparata zuba, koga čini: gingiva, alveolarna kost, cement i periodoncijum. Etiopatogenetski *circulus vitiosus* koji vlada u parodoncijumu u toku aktivnosti patološkog procesa, uslovljava destrukciju svih parodontalnih tkiva, što ima za posledicu njihovu anatomsku i funkcionalnu dezintegraciju (6, 7).

#### 2.1.2. Klasifikacija parodontalnih oboljenja

Klasifikacija parodontalnih oboljenja je formirana na osnovu etiologije, patogeneze i kliničke slike postojećeg stanja parodoncijuma.

U poslednjoj deceniji 20-tog veka ustalila se klasifikacija parodontopatija na sledećih pet tipova (8, 9, 10):

- I parodontopatija odraslih (sporonapredujuća parodontopatija)
- II rane parodontopatije
  - A. prepubertetska parodontopatija
    - lokalizovana
    - generalizovana
  - B. juvenilna parodontopatija
    - lokalizovana
    - generalizovana
  - C. brzonapredujuća parodontopatija
- III parodontopatija povezana sa sistemskim oboljenjima
- IV ulceronekrozna parodontopatija
- V refraktorna parodontopatija (oboljenje koje slabo reaguje na bilo kakvu terapiju)

Klasifikaciju na prepubertetsku parodontopatiju, juvenilnu i brzonapredujuću parodontopatiju, kao i parodontopatiju odraslih uz izvesne modifikacije, prihvatila je Američka akademija za parodontologiju (APP) 1989. godine, Međunarodno udruženje stomatologa (FDI), kao i Svetska zdravstvena organizacija (WHO) - 1990. godine.

U Evropi se od 1993. godine koristila pojednostavljena podela parodontopatija na:

- parodontopatiju odraslih,
- rane parodontopatije i
- ulceronekrozne parodontopatije.

Poslednje usaglašavanje klasifikacije oboljenja parodontcijuma urađeno je 1999. godine u organizaciji Američke akademije za parodontologiju (AAP - Internacionalna grupa parodontologa) (8,11). Navedena klasifikacija dala je detaljan opis kriterijuma oboljenja gingive i potpornog aparata zuba (8).

### **2.1.2.1. Savremena klasifikacija oboljenja parodontcijuma**

#### *1. Oboljenja gingive:*

- gingivitis izazvani dentalnim plakom,
- oboljenja gingive nastala bez dejstva dentalnog plaka (12).

#### *2. Hronična parodontopatija:*

- lokalizovani,
- generalizovani oblik (13).

#### *3. Agresivna parodontopatija:*

- lokalizovani,
- generalizovani oblik (14).

#### *4. Parodontopatija kao manifestacija sistemskih oboljenja*

#### *5. Nekrotizirajuća parodontalna oboljenja (15):*

- akutni nekrotično - ulcerozni gingivitis (ANUG),
- akutni nekrotično - ulcerozni parodontitis (ANUP).

#### *6. Apscesi parodontcijuma:*

- gingivalni absces,
- parodontalni absces,
- perikoronarni absces.

7. *Parodontopatija udružena sa endodontskim lezijama* (16):

- endodontsko parodontalne lezije,
- parodontalno - endodontske lezije,
- kombinovane lezije.

8. *Razvojni i stečeni deformiteti i stanja* (17, 18):

- lokalna stanja - uslovi, koji predisponiraju (olakšavaju) pojavu gingivitisa i/ili parodontopatija,
- mukogingivalni deformiteti kod osoba sa prisutnim zubima,
- mukogingivalni deformiteti u bezubih osoba,
- okluzalna trauma.

Jednostavna podela parodontalnih oboljenja, prema kojoj se sva oboljenja klasifikuju u zavisnosti od tkiva u kojem se razvija patološki proces podrazumeva podelu na oboljenja gingive i oboljenja koja zahvataju čitav potporni aparat zuba - parodontcijum.

Prema ovoj podeli, prvoj grupi oboljenja pripadaju gingivitisi (19):

- *Gingivitis catarrhalis*,
- *Gingivitis necroticans ulcerosa acuta* (ANUG),
- *Gingivitis hyperplastica*,
- *Gingivitis fibromatosa* i
- *Gingivitis desquamativa*.

Kod osoba koje boluju od parodontopatije, patološkim procesom je zahvaćen ceo potporni aparat zuba (gingiva, alveolarna kost, periodoncijum i cement). Posledica takvih zbivanja su destruktivne promene u parodontacijumu, koje se klinički manifestuju zapaljenjem gingive, povlačenjem desni, formiranjem parodontalnih džepova sa sadržajem i pojavom subgingivalnih konkremenata, labavljanjem i patološkom migracijom zuba, a u završnoj fazi i ispadanjem zuba. Većina parodontopatija klinički se manifestuje prethodno navedenim simptomima. Oni su prisutni redovno u skoro svim oblicima parodontopatija, a u nekima od njih nisu podjednako izraženi (20).

Po ovoj pojednostavljenoj podeli parodontopatije se klasifikuju na:

- *parodontopatije odraslih*,
- *rane parodontopatije* i
- *ulceronekrozne parodontopatije*.

Preporuke Internacionalne grupe parodontologa iz 1999. godine o podeli parodontopatija prihvaćene su i u našoj stručnoj javnosti i u literaturi (8, 21, 22).

## 2.2. Etiologija parodontopatije

Glavni etiološki faktor u nastanku parodontopatije je dentalni plak (oralni biofilm). To je bezbojna organska naslaga lokalizovana na zubima koja se sastoji od: bakterija, leukocita, imunoglobulina, neorganskih materija, mucina, gljivica, deskvamiranih epitelnih ćelija i niskomolekularnih supstanci (1). Taloži se na svim površinama zuba, protetskim i konzervativnim radovima, zubnom kamencu i subgingivalnim konkrementima. Kvalitativna i kvantitativna zastupljenost mikroorganizama dentalnog plaka je kod svake individue različita, ali jedan gram sadrži i do  $22 \times 10^9$  bakterija. Zastupljene su brojne vrste anaerobnih Gram pozitivnih bakterija roda: *Peptostreptococcus*, *Peptococcus*, kao i Gram negativnih bacila roda: *Fusobacterium*, *Actinomyces* i drugih mikroorganizama (23-30).

Identifikovano je najmanje 750 bakterijskih vrsta koje su locirane subgingivalno (31), a smatra se da 20 različitih vrsta predstavljaju najjače parodontopatogene (32, 33). Iako je uloga mikroorganizama u nastanku parodontopatije od presudnog značaja, stepen oštećenja parodontalnih tkiva je posledica interakcije mikrobioloških faktora i imunskog odgovora domaćina (34).

U zdravom parodontocijumu mikrobiološka flora je sastavljena u najvećem broju od Gram pozitivnih bakterija. U parodontalnim lezijama se nalazi veliki broj raznovrsnih Gram negativnih anaerobnih vrsta (35). Dakle, razvojem parodontalnog oboljenja dolazi do promena u mikrobiološkom sastavu flore. Takođe, treba ukazati na to da postoje brojni lokalni i opšti faktori koji imaju uticaj na nastanak parodontopatije ili na tok i brzinu odvijanja patološkog procesa. Ovi faktori utiču na brže stvaranje dentalnog plaka ili olakšavaju delovanje njegovih štetnih agenasa (36 - 39). Sve faktore možemo podeliti u dve grupe:

Prva grupa su agensi lokalne prirode koji olakšavaju i ubrzavaju akumulaciju dentalnog plaka. Tu spadaju:

- 1) anatomske anomalije
- 2) impakcija hrane
- 3) loše navike
- 4) karijes zuba
- 5) jatrogeni faktori
- 6) lezije gingive.

Druga grupa su agensi opšte prirode koji smanjuju opštu otpornost organizma, otpornost parodontocijuma i ubrzavaju delovanje štetnih agenasa dentalnog plaka. Zahvaljujući

njihovom dejstvu promene u parodontcijumu se brže odvijaju, a razaranja su znatno teža. Ovi faktori rizika se mogu svrstati u dve podgrupe:

- 1) faktori rizika koji su nepromenljivi za osobu: genetska predispozicija, rasa i pol;
- 2) faktori rizika koji su promenljivi za osobu: interkurentna oboljenja, upotreba lekova, ishrana, starost, stres i pušenje (40 - 43).

### **2.2.1. Opšte karakteristike dentalnog plaka**

**Dentalni plak (oralni biofilm, dentalni biofilm, bakterijski ili mikrobnii plak)** je organska naslaga na zubima, bezbojna, opalescentna i ljjigava. Sastoji se od mucina, bakterija, gljivica i epitelnih ćelija. Ova naslaga može biti prebojena hranom i hromogenim bakterijama. Akumulira se na svim površinama zuba, protetskim i konzervativnim nadoknadama, zubnom kamencu i subgingivalnim konkrementima. Najčešće se javlja supragingivalno u gingivalnoj trećini, pokriva slobodne površine zuba koje nisu izložene trenju hrane usled žvakanja. Najpre se javlja iznad ruba gingive, stvara se obično na vestibularnoj strani, koju prekrije potpuno, isto tako i na oralnim i aproksimalnim površinama zuba. Može da se formira i u gingivalnom sulkusu, gingivalnim i parodontalnim džepovima, kada je u kontaktu sa pripojnim i sulkusnim epitelom. Češće se javlja na bočnim, nego na prednjim zubima i više se deponuje na mezijalnim i distalnim, nego na vestibularnim i oralnim površinama zuba. Dentalni plak se ispiranjem usta ili ispiranjem mlazom vode ne može ukloniti. To ga razlikuje od materije albe koja se lako uklanja čak i ispiranjem usta vodom (6).

Dentalni plak može da prekrije čitavu površinu krunice zuba. Posebno se akumulira na neravnim površinama, naročito u urođenim defektima gleđi i na neispoliranim stomatološkim radovima. Više se akumulira na mestima gde ne postoji fiziološko samočišćenje. Stvaranje dentalnog plaka je proporcionalno stepenu održavanja oralne higijene, tako da je isto posebno obilno kada se ona ne sprovodi, ili kada je nepravilna. Dokazano je da se stvara i kada se ne unose egzogeni ugljeni hidrati, tako da ishrana može da utiče na formiranje dentalnog plaka, ali joj se ne sme pripisivati bitan i odlučujući značaj (44–46).

### **2.2.2. Formiranje dentalnog plaka**

Brzina formiranja dentalnog plaka se razlikuje od osobe do osobe i zavisi od više faktora: oralne higijene, odbramenih potencijala osobe, sastava i brzine lučenja pljuvačke. Količina plaka se stalno povećava zbog narušene ravnoteže između sila koje uklanjaju plak i

koje ga formiraju. Male količine plaka su nevidljive, ali se mogu dobro videti i identifikovati upotrebom specijalnih boja (gencijana violet, eritrozina, bazični fuksin, metilensko plavo, fluorescein, eozin) za identifikaciju plaka u vidu rastvora i tableta. Prisustvo plaka može da se otkrije i sondiranjem: ako se sonda provlači po površini zuba u gingivalnoj trećini krunice zuba, na njoj ostaje izvesna količina dentalnog plaka. Između inflamacije gingive i formiranja dentalnog plaka postoji dvostruka veza - veća količina plaka povlači jaču inflamaciju, a jača inflamacija uslovljava veću količinu dentalnog plaka (44, 47).

Formiranje **dentalnog plaka** se odvija u više faza:

**Prva faza** je formiranje stečene dentalne pelikule. Sve površine usne duplje su prekrivene dentalnom pelikulom, sva tkiva, svi zubi, kao i sve restauracije (konzervativne i protetske).

Pelikulu čine glikoproteini (mucini) iz pljuvačke, supstance iz gingivalnog eksudata, produkti domaćinova ćelija (antitela), kao i sam debris. Komponente pelikule variraju na svim površinama, jer se pelikula formira apsorpcijom makromolekula okoline.

Mehanizam kojim se pelikula lepi za zub objašnjava se elektrostatskim, Van der Waals-ovim i hidrofobičnim silama, a i strukturama kao što su ekstracelularni polimeri, adhezini i fimbrije. Pelikula ima važnu ulogu u selekciji adherencije bakterija na površini zuba. Površina hidroksiapatita je negativno naelektrisana i ona privlači pozitivno naelektrisane komponente pljuvačke i gingivalne tečnosti. Pelikula ima i zaštitnu ulogu.

**Druga faza** je primarna ili inicijalna kolonizacija površine zuba bakterijama. Nekoliko časova posle formiranja dentalne pelikule, počinje naseljavanje bakterijama.

Prve bakterije koje naseljavaju dentalnu pelikulu su Gram pozitivni mikroorganizmi (koke, bacili i filamenti), kao što su *Streptococcaceae* i to *Streptococcus sanguinis* i *Actinomyces viscosus*. Ovi mikroorganizmi se vezuju za pelikulu pomoću specifičnih molekula, poznatijih kao adhezini. Adhezini se nalaze na površini bakterija i njime se one vezuju za receptore u dentalnoj pelikuli. Kod nekih bakterija (*Actinomyces viscosus*), ovi proteini - adhezini se nalaze na specijalnim produžecima, tzv. fimbrijama (31).

**Treća faza** je sekundarna kolonizacija i sazrevanje dentalnog plaka. Traje od drugog do četvrtog dana. Formirana inicijalna plakna masa se uočava proliferacijom već adheriranih bakterija ili pripajanjem i porastom novih vrsta bakterija, kada se menja njen kvalitativni sastav. Nastaje prelaz aerobne sredine u anaerobnu, koju naseljavaju Gram negativne anaerobne bakterije. Od ovih mikroorganizama najvažniji su: *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides fusiformis* (*Tannerella forsythensis*), *Capnocytophaga* i dr (33).



Karakteristika anaerobnih mikroorganizama je da oni adheriraju na već postojeće bakterije, a ne na čiste površine zuba i potporni aparat. Ove bakterije adheriraju jedne na druge, po principu koagregacije. Koagregacija je prisutna u prvim fazama samo između Gram pozitivnih bakterija, zatim između Gram pozitivnih i Gram negativnih, da bi u poslednjoj fazi bila prisutna samo između Gram negativnih (35).

*Četvrta faza* formiranja dentalnog plaka traje od četvrtog do sedmog dana kada se pojavljuju spirohete i pokretni bacili (48).

Strukturne razlike u razvoju su posledica uticaja lokalnih faktora okoline. Prisustvo inflamacije povećava broj bakterija i menja brzinu formiranja plaka. Komponente krvi i gingivalne tečnosti omogućavaju rast Gram negativnih bakterija i povećavaju njihov patogeni potencijal (44).

### 2.2.3. Struktura i fiziološka svojstva

Dentalni plak ima specifičnu strukturu. Prema lokalizaciji se deli na:

**2.2.3.1. Supragingivalni dentalni plak** ima slojevitú građu. Na površini zuba primarno se kolonizuju Gram pozitivne koke i bacili. Gram negativni bacili, filamenti, spirili i spirohete su na spoljašnjoj površini i to perpendikularno gradeći takozvanu „corncob” strukturu (sličnu kukuruzu) (49).

**2.2.3.2. Subgingivalni dentalni plak** se razlikuje po strukturi od supragingivalnog dentalnog plaka, zato što u ovoj regiji na stvaranje i rast mikroorganizama deluju ćelije inflamacije, kao i mnogi medijatori. Koronarni deo pripojenog plaka sadrži više Gram pozitivnih koka i bacila, a apikalni deo je bogat Gram negativnim bakterijama. Mikroorganizmi subgingivalnog plaka mogu da izvrše invaziju na pripojni epitel (34, 35).

Promene u sastavu mikroorganizama u supragingivalnom i subgingivalnom plaku utiču i na fiziološka svojstva plaka. Supragingivalni plak se pretežno sastoji od mikroorganizama koji koriste kiseonik, stvaraju uslove za razvoj i razmnožavanje anaerobnih vrsta bakterija. Pored toga Gram pozitivne koke i bacili koriste šećer kao izvor energije. Anaerobni sojevi su asaharolitični i oni koriste aminokiseline i peptide kao izvor energije, poreklom iz oštećenih kompleksnih makromolekula domaćina. Ova razlika je povezana sa mehanizmom delovanja plaka i posledicama koje proizilaze iz toga. Supragingivalni plak je zbog svojih kvalitativnih i kvantitativnih karakteristika zaslužan za razvoj karijesa u većoj meri u odnosu na subgingivalni plak, dok je za razvoj parodontopatije situacija obrnuta, tako da se tu glavna uloga pripisuje subgingivalnom dentalnom plaku (6, 31, 44).

## 2.2.4. Sastav dentalnog plaka

Intercelularni matriks i mikroorganizmi su osnova u strukturi dentalnog plaka. Intercelularni matriks čini 20-30% plakne mase. Sastavljen je od organskih i neorganskih materija koje proističu iz pljuvačke, gingivalne tečnosti i bakterijskih produkata (1, 6, 44, 45).

- Organske materije matriksa čine: polisaharidi, proteini, glikoproteini i u manjoj količini lipidi. Polisaharidi vode poreklo iz bakterija od kojih je dekstran dominantan i on služi kao izvor energije, ali i kao supstanca koja omogućava dalju akumulaciju bakterija. U matriksu plaka može da se nađe i albumin. On potiče iz gingivalne tečnosti. Glikoproteini potiču iz pljuvačke i glavna su komponenta pelikule, mada se inkorporiraju u masu plaka. Lipidi u plaku potiču iz razorenih membrana bakterija, ćelija domaćina i hrane.
- Neorganske komponente plaka su: kalcijum i fosfor kao najvažnije, a u tragovima ima natrijuma, kalijuma i fluora. Izvor neorganskih materija koje se nalaze u supragingivalnom plaku je pljuvačka. Kako se mineralne materije povećavaju u plaku, on se postepeno kalcificira i postaje zubni kamenac. Kamenac se zato najviše taloži u blizini izvodnih kanala velikih pljuvačnih žlezda, na lingvalnoj površini donjih sekutića i bukalnoj površini gornjih kutnjaka. Naročito se obilno taloži na mestima gde ne postoji fiziološko samočišćenje, kao što su neravne površine zubnih plombi i kod malponiranih zuba. Neorganske materije subgingivalnog dentalnog plaka potiču iz gingivalne tečnosti. Kalcifikacijom subgingivalnog dentalnog plaka nastaju konkrementi, odnosno subgingivalni kamenac. Konkrementi su tamnozeleni ili tamnobraon boje, zbog prisustva komponenata subgingivalnog matriksa, gde se kao posledica krvarenja nalaze produkti krvi. Fluor u dentalnom plaku je egzogenog porekla i inkorporira se zbog upotrebe paste za zube koje ga sadrže ili posle terapijske primene za mineralizaciju zubnih površina u cilju prevencije demineralizacije.
- Intercelularni matriks se ponaša kao hidrantni gel u kojem su uronjene bakterije. Pored bakterija u matriksu mogu da se nađu i gljivice, virusi i protozoe. Intercelularni matriks ujedno štiti bakterije i bakterijske produkte koje se nalaze u njemu.

## 2.3. Mikroorganizmi dentalnog plaka

Akumulirani mikroorganizmi dentalnog plaka u kombinaciji sa oštećenim odbrambenim mehanizmima domaćina odgovorni su za nastanak parodontalnih oboljenja (3).

Prva tumačenja su ukazivala da je celokupni dentalni plak podjednako patogen. Tako je postavljena „nespecifična plak hipoteza”. Po njoj delovanje dentalnog plaka je nespecifično. Isticao se kvantitativni sastav dentalnog plaka, bez analize kvalitativnog sastava. Tako mala količina dentalnog plaka stvara malu količinu štetnih materija koje se lako neutrališu od strane domaćina. Velika količina dentalnog plaka stvara veće probleme. Ova hipoteza bazirana je na činjenici da uklanjanje dentalnog plaka dovodi do poboljšanja parodontalnog statusa ispitanika (12, 27).

Međutim nespecifična hipoteza dentalnog plaka nije mogla da objasni neke situacije u praksi. Neke osobe iako imaju veliku količinu dentalnog plaka, ne razvijaju destruktivno oboljenje, ili u istim ustima pojedinačna mesta razvijaju oboljenja, a druga ne. Ovo je moglo da se objasni “specifičnom plak hipotezom”, odnosno da samo pojedine vrste dentalnih plakova mogu biti patogene, a njihova patogenost zavisi od prisustva specifičnih mikroorganizama. Povećanje rizika za oštećenje parodontijuma povezuje se sa mestima gde je akumuliran dentalni plak i zavisi od specifičnih patogenih mikroorganizama. To znači da oboljenje parodontijuma zavisi od delovanja specifičnih bakterija i da rezultuje različitim formama bolesti (44).

### 2.3.1. Mikroorganizmi u zavisnosti od stanja parodonta

Broj i proporcija pojedinih subgingivalnih bakterija varira idući od zdravog parodontijuma ka raznim formama oboljenja. Ukupan broj bakterija nađenih kod obolelog parodontijuma dvostruko je veći nego kod zdravog parodontijuma (47).

Zdrav parodontijum sadrži Gram pozitivne fakultativne bacile i koke i to oko 75% u odnosu na ostale vrste. To su bakterije iz grupa *Streptococcus* i *Actinomyces* (*Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Actinomyces viscosus* i *Actinomyces naeslundii*). U malom broju (oko 13%) mogu da se nađu: *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Capnocytophaga*, *Neisseria* i *Veillonella species*, *Campylobacter species*, a najmanje spirohete i pokretni bacili (48).

Prisustvo pojedinih bakterija ima i zaštitnu ulogu, jer se nalaze samo na zdravim mestima, a nema ih na obolelim, a to su: *Streptococcus sanguis*, *Veillonella parvula*, *Campylobacter* i *Capnocytophaga ochracea*.

Gingivitis nastaje kao reakcija na prisustvo mikroorganizama u dentalnom plaku, 3-4 dana nakon formiranja. Bakterijsku floru plaka kod gingivitisa čine u 44% slučajeva Gram pozitivni fakultativni bacili i koke sa izvesnim brojem Gram negativnih koka. Inflamatorni proces je praćen Gram negativnim bacilima, a zatim spirohetama i pokretnim mikrobima. Kod hroničnog gingivitisa postoji skoro ista proporcija Gram pozitivnih (56%) i Gram negativnih vrsta (44%), kao i fakultativnih (59%) i anaerobnih (41%) mikroorganizama. Gram pozitivni mikroorganizmi su: *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii* i *Peptostreptococcus micros*. Gram negativni su: *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Haemophilus* i *Campylobacter species*. Akutni ulceronekrotični gingivitis je akutna inflamacija gingive, koja se karakteriše nekrozom marginalne gingive, često prati stres i HIV infekciju. Praćen je bolom, zadahom, temperaturom i limfadenopatijom. Od mikroorganizama prisutni su *Bacteroides species* i spirohete u nekrotičnom tkivu, koji mogu da penetriraju i u zdravo tkivo (19).

Kod agresivne parodontopatije koja ima rani, brzi tok i koja prema najnovijoj klasifikaciji obuhvata prepubertetsku, juvenilnu i brzonapredujuću parodontopatiju, zastupljene su Gram negativne bakterije u 65% slučajeva (50). Prepubertetska parodontopatija je retka forma oboljenja koja zahvata primarnu dentitaciju. Može biti lokalizovana i generalizovana forma bolesti. Prisutni su sledeći mikroorganizmi: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, kao najvažniji, a zatim u manjem broju i *Porphyromonas gingivalis* i *Prevotella intermedia*. Većina osoba sa ovim oboljenjem ima imunološke abnormalnosti, pa kada se dijagnostikuje parodontopatija, to može biti prvi znak sistemske bolesti (50, 51).

Juvenilna parodontopatija spada u agresivnu formu oboljenja parodonticijuma i karakteriše se brzim i teškim gubitkom epitelnog pripoja i kosti kod osoba u pubertetu. Bolest se javlja kod osoba sa sistemskim defektima u regulacionim mehanizmima. Može da se javi u vidu lokalizovane i generalizovane forme. Češće se javlja kod devojčica nego kod dečaka i zahvata stalne molare i incizive. Od mikroorganizama prisutne su Gram negativne baterije, a skoro sva mesta naseljava *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* koji čini 90% svih bakterija. Drugih ima u manjem broju, a to su: *Porphyromonas gingivalis*, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eubacterium brachy*, *Capnocytophaga* i spirohete. Brzonapredujuća parodontopatija zahvata 7 - 15% populacije i karakteriše se brzom destrukcijom parodontalnih tkiva. Od mikroorganizama prisutni su: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens* i *Campylobacter rectus*. Ovo je veoma agresivna forma juvenilne parodontopatije zato što su prisutne dve bakterije koje u

kombinaciji deluju udruženo na zdravo tkivo (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* i *Porphyromonas gingivalis*) (44).

Potvrđeno je da je *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* primarni etiološki faktor agresivne parodontopatije. Ovaj mikroorganizam ima svojstvo da invadira u zdravo tkivo gingive. Hronična parodontopatija zahvata pretežno stariju populaciju. Razvija se sa fazama egzacerbacije, uz prosečan gubitak tkiva od 0,3 mm godišnje. Kod ovih pacijenata je u dentalnom plaku 90% anaeroba, a od njih su 70% Gram negativne vrste, sa stalnim prisustvom spiroheta. Gram pozitivne bakterije su zastupljene samo u razmeru od 10 - 13% (52, 53).

Prisutni su mikroorganizmi: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus* (*Tannerella forsythensis*), *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* i *Treponema denticola*. U fazi egzacerbacije povećava se broj sledećih mikroorganizama: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Prevotella intermedia* i *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Njihovom eliminacijom dolazi do poboljšanja. Parodontalna mikrobiotika je veoma kompleksni ekološki sistem sa mnogim interakcijama između samih bakterija, kao i bakterija domaćina (54).

### 2.3.2. Kriterijumi za identifikaciju parodontalnih patogena

Da bi jedan mikroorganizam bio uzročnik neke bolesti, on mora da ispuni Kohove postulate (55), koje je Sokranski (56) preradio za oboljenja parodonticijuma. Prema Sokranskom, mikroorganizmi treba da ispune sledeće postulate:

Povezanost sa bolešću na sledeći način: bakterija koja je odgovorna za pojavu parodontopatije, mora da bude u parodontalnim lezijama u većem broju, a zdrave lezije ne treba da je sadrže.

Eliminacija lečenjem: njihova eliminacija ili supresija treba da bude cilj uspešne terapije, a da se recidiv javlja njihovim ponovnim naseljavanjem.

Domaćinov odgovor ogleda se u povećanom nivou lokalnih i serumskih antitela kod obolelih od parodontopatije i u aktivnosti celularnog i humoralnog imunog sistema.

Virulentni faktori: bakterije treba da poseduju virulentne faktore, kojim treba da savladaju normalnu floru i da izbegnu domaćinove odbrambene faktore. Poznati virulentni faktori za *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* su: leukotoksin, kolagenaza, endotoksin, epiteltoksin i inhibitorni faktor fibroblasta. *Porphyromonas gingivalis* poseduje kolagenazu, supstancu sličnu tripsinu, fibrolizin, druge proteaze, endotoksin i fosfolipazu A. Na osnovu ovih uzročnika, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* se smatra glavnim uzročnikom agresivne parodonto-

patije, a *Porphyromonas gingivalis* i *Tannerella forsythensis* hronične parodontopatije. Prethodno navedene patogene bakterije su dokazane u ispitivanjima na eksperimentalnim životinjama (57–59).

Razvoj tehnologije omogućava preciznije otkrivanje specifičnih mikroorganizama u uzorcima subgingivalnog plaka, koji mogu biti rizik za progresiju oboljenja parodonticijuma (44).

### **2.3.3. Virulentni faktori mikroorganizama**

Da bi došlo do nastanka bolesti patogene bakterije treba da postoje ne samo u velikom broju, već i da su virulentne. Virulentni faktori su svojstva koja omogućavaju mikroorganizmima da izazovu oboljenje. Oni mogu da izazovu patološke promene i destrukciju parodontalnog tkiva kolonizacijom na tkivima ili invazijom bakterija i njihovih produkata u samo tkivo. Da bi pokazali patološko dejstvo, mikrobi treba da savladaju odbrambene mehanizme domaćina. Tkivna destrukcija nastaje stvaranjem bakterijskih supstanci koje direktno ili indirektno razaraju tkivo parodonticijuma. Virulentna svojstva bakterija se odnose na svojstva koja omogućavaju kolonizaciju i invaziju bakterija i njihovo direktno ili indirektno oštećenje tkiva domaćina (60, 61).

### **2.3.4. Kolonizacija bakterija na tkiva parodonta**

Kolonizacija bakterija se ostvaruje na nekoliko načina:

#### **1) Bakterijska adhezija**

Da bi bakterije izbegle uklanjanje putem gingivalnog eksudata, one moraju da se pripoje za razne površine. Svojim adhezinama bakterije se pripajaju za površinu krunice zuba, korena, za razna tkiva i već postojeći dentalni plak. Adhezini su specifični molekuli, lokalizovani na površini bakterija, koji se vezuju za receptore koji se nalaze u omotaču pljuvačke, preko raznih površina u usnoj duplji.

#### **2) Bakterijska koagregacija**

To je sposobnost bakterija da se svojim fimbrijama pripajaju za polisaharidne receptore na površini drugih bakterija koje su već pripojene.

Adherirane bakterije u gingivalnom sulkusu ili parodontalnim džepovima, nailaze na pogodnu okolinu, koja im dozvoljava da prežive u njoj. Tu je pogodna temperatura (od 30 - 38°C, pogodan pH (7.0 - 8.5), redoks potencijal i hranjive materije koje potiču od ostataka hrane, tkiva domaćina i samih bakterija. Pored toga i neke bakterije stvaraju produkte koji pogoduju razvoju drugih bakterija (62).

### 2.3.5. Invazija bakterija u tkiva domaćina

Prisustvo bakterija u tkivima domaćina prikazano je prvo kod ulceronekroznog gingivitisa, a zatim i kod hronične parodontopatije. Gram pozitivne i Gram negativne bakterije otkrivene su u intercelularnim prostorima gingivalnog tkiva i u alveolarnoj kosti. One prodiru u tkivo kroz ulceracije na sulkusnom epitelu i epitelu parodontalnog džepa, ali direktno penetriraju kroz zdrav epitel. Najveću moć penetracije imaju: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* i *Treponema denticola* (63).

Penetrirane bakterije oslobađaju toksične materije i enzime koji deluju na tkivo, čime se objašnjava njihova virulencija. Po mišljenju nekih autora egzacerbacija bolesti se tumači prodorom bakterija u tkivo. Sem toga, bakterije u tkivu deluju kao rezervoar odakle može da se vrši ponovna rekolonizacija. Zbog toga nekada nije dovoljna samo obrada džepa, već i dodatna terapija antibioticima (64, 65).

Da bi bakterije preživele u parodontalnom okruženju, one moraju da izbegnu ili da neutrališu odbrambene sisteme. Bakterije treba da savladaju stalno ispiranje koje vrši pljuvačka i gingivalna tečnost, mehaničko uklanjanje žvakanjem, antitela, polimorfonuklearne leukocite, mucine i druge blokirajuće mehanizme. Adhezija i invazija bakterija su mehanizmi kojima se bakterije suprotstavljaju domaćinovim sistemima za njihovu eliminaciju. Bakterije imaju tu sposobnost da produkuju supstance kojima suprimiraju aktivnost leukocita (leukotoksin A poreklom iz *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) (66).

### 2.3.6. Mehanizmi kojima bakterije oštećuju tkiva

Virulentnost bakterija se ogleda i u sposobnosti da vrše destrukciju tkiva domaćina. Bakterije mogu da izazovu destrukciju tkiva direktnim delovanjem invazijom, ili indirektno preko oslobođenih, biološki aktivnih supstanci. Bakterije mogu da produkuju inhibitore rasta ili materije koje oštećuju metabolizam domaćinovog tkiva (amonijak, isparljive sulfidne komponente, masne kiseline, peptide i indol) (67).

Veliki broj bakterijskih enzima (npr. kolagenaza) ima sposobnost da razgradi domaćinovo tkivo. Destruirano tkivo domaćina olakšava dalju invaziju bakterijama. Mora se znati da slične enzime produkuju i ćelije domaćina. Bakterijski produkti mogu da poremete imuni sistem. Prisustvo bakterijskih endoksina dovodi do aktivacije makrofaga i monocita, kao i drugih ćelija koje oslobađaju razne citokine i druge molekule (68, 69).

### 2.3.7. Transmisija bakterija

Nove tehnološke mogućnosti (izolovanje DNK) iz pojedinih vrsta bakterija pokazale su da osobe mogu da steknu nove, suspektne parodontalne patogene u toku života. Transmisija parodontalnih patogena može da bude iz usne duplje jedne osobe u usnu duplju druge. Postoje dva tipa transmisije: "vertikalna" kada se bakterije prenose sa roditelja na decu i "horizontalna", kada se bakterije prenose sa muža na ženu i obratno. Nađeno je da su pojedine bakterijske vrste prisutne u istoj porodici (6, 44).

### 2.3.8. Periodontopatogeni mikroorganizmi

Glavnu ulogu u parodontalnom oboljenju ima desetak bakterijskih vrsta, a među njima najvažniji su sledeći: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* (*Bacteroides forsythus*) i *Treponema denticola*.

#### 2.3.8.1. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) je ranije je bio poznat kao *bacterium Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Klinger (70) je 1912. godine dao prvo ime ovoj bakteriji *Actinomycetem comitans*, ali su ga Topley i Wilson (71), 1929. godine promenili u *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Potts i sar. (72) su 1985. godine opet promenili njegovo ime u *Haemophilus actinomycetemcomitans*. Nørskov-Lauritsen i Kilian su 2006. godine predložili novu klasifikaciju i reimenovanje u *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (73). *Actinobacillus actinomycetemcomitans* je svrstan u novi rod porodice *Pasteurellaceae*, zajedno sa *Haemophilus aphrophilus* i *Haemophilus segnis*. Ove tri vrste su nazvane: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Aggregatibacter aphrophilus* i *Aggregatibacter segnis* (74).

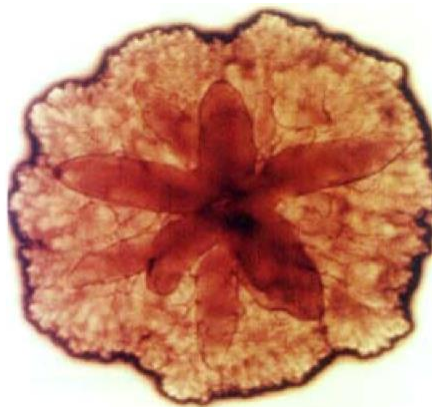
*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* je Gram negativna bakterija koja je u velikom procentu sastavni deo oralne flore celokupne ljudske populacije (75). Genetička raznolikost različitih serotipova Aa je velika (ima ih šest, od a - f), kao i njihova osobina da stvaraju i otpuštaju različite faktore virulencije (75). Najčešće se javljaju bacilarni oblici ovog periodontopatogena, a mogu se javiti i kokoidni oblici, koji ponekad daju karakterističan izgled bacilima u vidu Morzeove azbuke. Ovaj mikroorganizam je udružen sa različitim infekcijama kod čoveka, uključujući infektivni endokarditis, absces mozga i teške forme parodontopatije. Aa je Gram negativni fakultativni nepokretni kokobacil koji poseduje fimbrije. Raste na krvnom i čokoladnom agaru, gde formira kolonije tek posle inkubiranja od 48 do 72 časa. Ovaj



anaerobni bacil raste na temperaturi od 37°C, ali i na temperaturi 20 - 42°C. Na specijalnim hranilištima stvara kolonije koje su u primarnoj izolaciji sitne i lepljive, pa se teško skidaju sa površine agara. Izrazita kultura ovog kokobacila se stvara posle 5 - 7 dana rasta na hranjivim podlogama. Od ugljenih hidrata razlaže glikozu i fruktozu do kiseline bez gasa. Metil-red i indol testiranjem dobijaju se pozitivni rezultati. Nitrate redukuje u nitrite. Većina sojeva je ureaza pozitivna. Kolonije su nehemolitične, glatke, delimično providne sa svetlim, nepravilnim ivicama. Spada u biohemijski aktivne bakterije (produkuje katalazu i fermentuje ugljene hidrate).

Prevalenca ove bakterije varira u odnosu na geografsko poreklo, starost i životni stil ispitanih populacija (76, 77). *Aa* je deo normalne flore kod mnogih zdravih osoba, ali mu se pridaje veliki značaj u etiologiji agresivne parodontopatije. Različiti adhezini koje produkuje ova bakterija, kao i fimbrije koje poseduje su bitni faktori koji podstiču kolonizaciju u različitim ekološkim nišama usne duplje ljudi (78). *Aa* produkuje dva egzotoksina citoletalni toksin istezanja i leukotoksin. Citoletalni toksin istezanja se produkuje od strane mnogih Gram-negativnih bakterijskih vrsta i prouzrokuje smrt ćelija domaćina blokiranjem njihove proliferacije (79, 80, 81).

*Aa* je mali, kapnofilan, okrugao štapić, koji stvara male konveksne kolonije sa središtem u obliku zvezde, kada se uzgaja na pločici krvnog agara (Slika 1). Smatra se jednim od najjačih periodontalnih patogena.



**Slika 1.** Izgled kolonije *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (82)

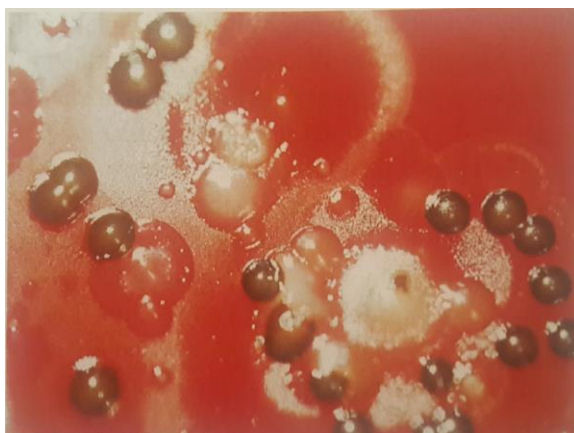
Zapažena je povećana učestalost ovog patogena kod osoba sa juvenilnom parodontopatijom (73, 83) u poređenju sa učestalošću u uzorcima plaka kod drugih kliničkih entiteta: gingivitis, hronična parodontopatija i zdrav parodont. Zbog toga što je kod pacijenata sa juvenilnom parodontopatijom nađen izrazito povećan broj serumskih antitela na ovu bakterijsku vrstu, može se zaključiti da postoji lokalna sinteza antitela na taj mikroorganizam. Kod uspešno

lečenih pacijenata, ova bakterija je eliminisana, dok su neuspesi u lečenju povezani sa snižavanjem broja bakterija u lečenim područjima. Bakterija stvara određen broj potencijalno štetnih metabolita uključujući leukotoksin, pa dovodi do razvoja parodontopatije kod eksperimentalnih životinja (84). Dokazano je da *Aa* sposoban da napadne ljudske gingivalne ćelije koje su kultivisane *in vitro* (85), kao i ljudske vaskularne endotelne ćelije i bukalne epitelne ćelije (86). Na dalje, istraživanja su pokazala da *Aa* podstiče apoptotsku smrt ćelije (87).

Najpouzdaniji podaci o povezanosti dobijeni su iz istraživanja aktivnih parodontalnih lezija, gde su za razliku od inaktivnih područja, aktivna imala veći procenat ove bakterije (88, 89).

### 2.3.8.2. *Prevotella intermedia*

*Prevotella intermedia* (*Prevotella nigrescens*) je crno pigmentisani *Bacteroides*, pripada rodu *Prevotella*, Gram negativni, kratak, okrugao, striktni anaerob, otporan na kratkotrajno izlaganje kiseoniku (Slika 2).



**Slika 2.** Crno pigmentisane kolonije su izolati bakterije - *Prevotella intermedia* (81)

Ova bakterija je nađena u subgingivalnom plaku ispitanika kod kojih je dijagnostikovana parodontopatija, pa se smatra jednim od periodontopatogenih bakterija. Član je takozvanog „narandžastog kompleksa”, gde pored *Prevotella intermedia* spadaju i *Prevotella nigrescens*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum* (podvrsta), *Eubacterium nodatum*, *Streptococcus constellatus* i tri vrste *Campylobacter* species (90). *Prevotella intermedia* je filogenetski slična sledećim bakterijama koje pripadaju istom rodu, a to su: *Porphyromonas gingivalis* i *Tannerella forsythensis*. *Prevotella* je identifikovana u sklopu sledećih oralnih infekcija: endodontske lezije (91, 92), *Gingivitis gravidarum* (93), *Gingivitis ulceronecroticans* (94).

Kod parodontopatije udružene sa sistemskim oboljenjima, kao što su kardiovaskularna oboljenja (95), prevremeno rođenje beba male telesne težine (96), nađen je bakterijski DNK u aterosklerotičnom plaku (97) koji potvrđuje vezu između ovih oboljenja i bakterije - *Prevotella intermedia*. U prilog tome, uzimanjem krvi iz pupčane vrpce prevremeno rođenih beba utvrđen je veći titar antitela IgM klase u odnosu na bebe koje su rođene u punom terminu (98). Ispitivani su faktori virulencije *Prevotella intermedia* kao što su adhezini (99, 100), proteolitički enzimi (101) i lipopolisaharidi (102), ali njihova patogenost nije u potpunosti rasvetljena. Ova bakterija je prisutna i u zdravim ustima, jer je zahvaljujući fimbrijama koje poseduje u stanju da se veže i za ćelije oralne mukoze (103).

### 2.3.8.3. *Porphyromonas gingivalis*

*Porphyromonas gingivalis* (*Bacteroides gingivalis*) je član detaljno ispitivane grupe crno pigmentisanih bakterija koje pripadaju *Bacteroides species*. Izolati ovog soja su Gram negativni, anaerobni, nepokretni, asaharolitični štapići koji obično pokazuju morfologiju koka ili kratkih štapića (81, 104). Mikroorganizmi ove grupe stvaraju na pločicama krvnog agara kolonije smeđe do crne boje (Slika 3).



**Slika 3.** Crno pigmentisana kolonija - izolat *Porphyromonas gingivalis* (81)

Ova bakterija produkuje crni pigment, a ugljeno - hidrantna kapsula koja je obavija, prevenira opsonizaciju komplementa i inhibira fagocitozu kao i njeno uništavanje pomoću neutrofilnih granulocita. Lipopolisaharid, koga produkuje ova bakterija je veoma jak i može da inhibira hemotaksu i leukocitarno uništavanje. Ovaj mikroorganizam poseduje nekoliko faktora virulencije, uključujući proteaze (koje razgrađuju imunoglobuline, komplement, kolagena vlakna, hijaluronsku kiselinu) adhezine, endotoksine i citotoksine. Može direktno uticati na parodoncijum ili indirektno kada aktivacijom imunog sistema domaćina dovodi do oštećenja gingive i resorpcije alveolarne kosti, što je karakteristično za parodontopatiju (105, 106).

*Porphyromonas gingivalis* poseduje tri značajna faktora virulencije: fimbrije, gingipaine (cistein proteinaze) i lipopolisaharide. Spada u najinvazivnije periodontopatogene (107 - 110) koji su u stanju da se pripoje (111 - 114) i da napadnu (115 - 118) oralni epitel *in vitro*. Postoje razlike u adhezionoj moći između laboratorijskih i kliničkih vrsta (109 - 113). Ovome doprinose razlike u površinskim karakteristikama između vrsta (119), naročito prisustvo fimbrija (119-121). Lipopolisaharidi ove bakterije su jedinstveni, jezgro im je sastavljeno od polisaharida i lipida A (122).

#### 2.3.8.4. *Tannerella forsythensis*

*Tannerella forsythensis* (*Tannerella forsythia*, *Bacteriodes forsythus*) je nepigmentisana, saharolitična, Gram negativna, vretanasta, visoko pleomorfana, štapićasta, anaerobna bakterija (Slika 4). Ovu vrstu je teško kultivisati budući da je potrebno 7 do 14 dana za stvaranje malih kolonija (81). Njena važnost se naročito ističe u etiologiji hronične parodontopatije i njenim aktivnim lezijama (Slika 4).



**Slika 4.** *Tannerella forsythensis* na krvnom agaru (123)

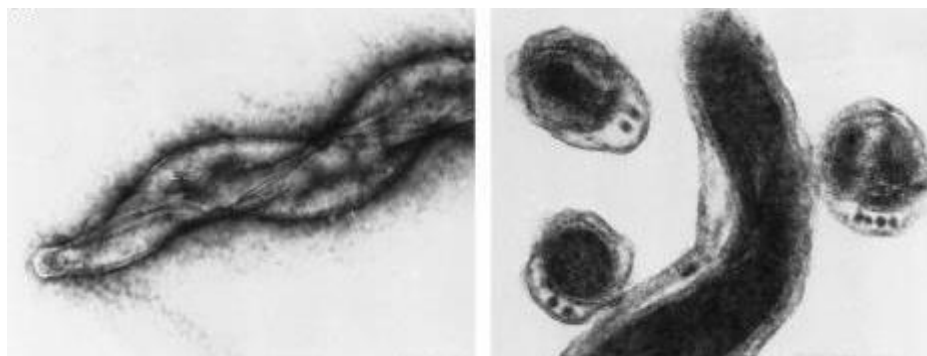
*Tannerella forsythensis* se može naći u supragingivalnom i u subgingivalnom dentalnom plaku. Crveni kompleks, kome pored *Tannerella forsythensis* pripadaju *Porphyromonas gingivalis* i *Treponema denticola* je u direktnoj korelaciji sa kliničkim parametrima parodontopatije, naročito dubinom parodontalnog džepa i indeksom krvarenja (124, 125).

*Tannerella forsythensis* poseduje nekoliko različitih faktora virulencije uključujući produkciju proteaze nalik tripsinu i lipopolisaharide (126, 127), pored toga poseduje sposobnost da prodre u ćelije domaćina i indukuje apoptozu (128, 129). Ovi faktori virulencije deluju bilo direktno, bilo tako što provociraju imuni odgovor domaćina, pa na taj način dovede do nastanka parodontopatije. Dodatno, ova bakterija u zajedničkim kulturama makro-

faga i inflamatornih ćelija dovodi do ekspresije proinlamatornih citokina, hemokina, prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) i matriks metaloproteinaze 9 (MMP-9) (130).

### 2.3.8.5. *Treponema denticola*

*Treponema denticola* je Gram negativna, anaerobna, pokretna oralna spiroheta sa izraženom proteolitičkom aktivnošću (Slika 5).



**Slika 5.** *Treponema denticola* snimljena pod elektronskim mikroskopom (131)

Produkuje lipopolisaharid i nespecifične metaboličke krajnje produkte, kao što je indol, vodonik-sulfid i amonijak koji je potencijalno toksičan za ćelije domaćina. Spirohete su zapažene u većem procentu kod pacijenata sa parodontopatijom u odnosu na parodontalno zdrave ispitanike. *Treponema denticola* je najčešće izolovana iz najaktivnijih parodontalnih džepova ispitanika sa parodontopatijom (132–134).

Mnoge studije su pokušale da rasvetle ulogu ove bakterije u parodontalnom oboljenju (135-138). Pokazano je da ima sposobnost da se prilepi za humane gingivalne fibroblaste, proteine bazalne membrane, kao i za druge supstance specijalnim pripojnim mehanizmima. Pripoj ove spirohete za humane gingivalne fibroblaste prouzrokuje citotoksičnost i ćelijsku smrt zbog oslobađanja enzima i drugih proteina u njihovu citoplazmu (139–141).

## 2.4. Klinička slika parodontopatije

U toku parodontopatije odvija se eksudativno - proliferativni tip zapaljenja zajedno sa degenerativno-atrofičnim procesima. Destruktivni procesi u dubljim parodontalnim tkivima dovode do razaranja potpornog aparata zuba sa pojavom parodontalnih džepova, labavljenjem i konačno ispadanjem zuba. Patognomonični znak parodontopatije jeste parodontalni džep, koji nastaje produbljivanjem gingivalnog sulkusa. Sastoji se od mekog zida (inflami-

rana gingiva), tvrdog zida (cement korena zuba i gleđ ili samo cement), dna (koronarni kraj izmenjenog pripojnog epitela koji je migrirao apikalnije od gleđno - cementne granice) i otvora parodontalnog džepa (1).

Simptomi, klinički znaci, koji se javljaju u toku parodontopatije su: 1) inflamacija gingive, 2) ogoljenje korenova zuba, 3) parodontalni džepovi, 4) gnojni eksudat u parodontalnim džepovima, 5) subgingivalni konkrementi, 6) labavljenje zuba, 7) patološka migracija i konačno ispadanje zuba (1).

## 2.5. Patogeneza parodontopatije

Utvrđeno je da parodontopatije počinju blagim asimptomatskim lezijama gingive, tako da je početak bolesti neprimetan. Prvo bude zahvaćen predeo ispod kontaktne tačke, vrh interdentalne papile, koji je "locus minoris resistentiae". Ova primarna oštećenja su prouzrokovana mikroorganizmima dentalnog plaka. Kao odgovor na primarna oštećenja javlja se inflamacija eksudativnog tipa sa vaskularnim reakcijama. Vaskularne reakcije, koje se klinički manifestuju u vidu crvenila i otoka gingive, su prvi vidljivi klinički znaci parodontopatije. U daljem toku bolesti u parodontocijumu, pored inflamacije eksudativnog tipa odvijaju se alterativni, proliferativni i atrofično-degenerativni procesi, koji se na kraju završavaju potpunom destrukcijom parodontocijuma i gubitkom zuba (1).

Klinička praksa i istraživanja pokazala su da inflamacija i destrukcija parodontocijuma ne zahvata sve zube, pa čak ni sve površine na jednom zubu. Čak i u osoba u kojih je zahvaćen parodontocijum svih zuba, težina inflamatornih promena i stepen oštećenja na različitim zubima i pojedinim površinama nisu identični (1, 142).

Utvrđeno je da je tok parodontopatije cikličan i da se periodi pogoršanja smenjuju sa periodima mirovanja, tako da postoje faze egzacerbacije i faze remisije oboljenja (143, 144). Fazu egzacerbacije karakteriše pogoršanje inflamacije, produbljivanje parodontalnih džepova i razaranje dubljih delova parodontocijuma. Ova faza može trajati nekoliko dana, nedelja pa i meseci. U fazi remisije zapaljenjske reakcije su slabije izražene, a prekida se dalji gubitak i razaranje vezivnog tkiva i alveolarne kosti, ili je njihov gubitak neznatan. Može se smatrati da faze remisije predstavljaju u stvari period u kome je uspostavljena ravnoteža između štetnih faktora dentalnog plaka i otpornosti domaćina. Ovako poremećena ravnoteža prouzrokuje napredovanje oboljenja i dalju destrukciju parodontocijuma. Dentalni plak utiče na nastanak i

razvoj patoloških procesa u parodontijumu sledećim mehanizmima: invazijom mikroorganizama, egzotoksinima, endotoksinima, enzimima i suzbijanjem imunog odgovora domaćina (6).

### 2.5.1. Promene u gingivi tokom patogeneze parodontopatije

Patogenetske promene u gingivi se manifestuju ćelijskom infiltracijom, promenama na vezivnotkivnim elementima, vaskularnim reakcijama i promenama osnovne međućelijske supstance (6).

Kvalitativni i kvantitativni sastav ćelijskog infiltrata u gingivi zavisi od faze u kojoj se parodontalna destrukcija nalazi. U toku gingivitisa, u predominaciji su polimorfonuklearni leukociti (PMNL) i T- limfociti, a u obolelih od parodontopatije plazma ćelije, čiji broj i lokalizacija prate tok parodontopatije. U ćelijskom inflamatornom infiltratu u toku parodontopatije prisutni su PMNL, kao i makrofagi. Burni biohemijski procesi u toku patogeneze parodontopatije i oslobađanje različitih medijatora inflamacije i enzima utiču na promene na krvnim sudovima. Najpre se manifestuju povećanom propustljivošću krvnih sudova (145, 146).

Tokom zapaljenskih i imunoloških reakcija dolazi do staze, zadebljanja zidova krvnih sudova, pa i njihove obliteracije. Sve ove promene utiču na disbalans kiseonika i redukciju oksidativnog metabolizma, koji ima za posledicu redukciju tkivnog metabolizma. Ove promene utiču na reparatorni potencijal tkiva (147). Klinički simptom parodontopatije - recesija gingive se javlja kao posledica svih ovih promena, ne samo vaskularnih, već i na vezivnotkivnim elementima i na krznu gingive. Ove promene izazvane su pored štetnog uticaja dentalnog plaka i pokušajem domaćina da zaštiti tkivo oslobađanjem proteolitičkih enzima i medijatora zapaljenja (148).

Remodelacija vezivnog tkiva je deo procesa rasta i razvoja, regulisanog kompleksom reakcija (ćelija - ćelija, ćelija - matriks, uključujući produkciju enzima, aktivaciju, inhibiciju i regulaciju citokina i faktora rasta). Remodelacija tkiva može biti narušena tokom nekih bolesti među kojima su i parodontopatije (149).

Endopeptidaze (ili proteaze) su ključni enzimi u procesu degradacije parodonta. Makromolekule matriksa mogu biti degradirane proteazama iz četiri najveće klase (metalo, serin, cistein i aspartik aktivne rezidue). Njihova uloga varira od situacije, u zavisnosti od tkiva i tipa ćelije, a posebno od toga koje su inflamatorne ćelije prisutne (150). Članove familije matriks metaloproteinaza uglavnom (ali ne samo one) sintetišu ćelije vezivnog tkiva. Njih mogu sintetisati i hematopoetične ćelije, uključujući monocite i makrofage, keratinocite i endotelijalne ćelije. Familija matriks-metaloproteinaza (151) obuhvata više podgrupa:

- intersticijalne kolagenaze (MMP - 1, - 8,- 13)
- želatinaze (MMP - 2, - 9 i takozvanu kolagenazu tipa IV)
- stromalazine (MMP - 3, - 10, - 11) i
- membranska grupa (MMP - 14, - 15, - 16 i - 17)

Matriks metaloproteinaze mogu biti inhibirane svuda prisutnim plazma proteinazama i inhibitorom  $\alpha 2$  - makroglobulinom (152, 153). Stepem destrukcije vezivnotkivnih elemenata tokom patogeneze parodontopatije zavisi od stepena ćelijske infiltracije i oni su u direktnoj korelaciji. Početak bolesti se manifestuje fragmentacijom i kidanjem manjeg broja kolagenih vlakana. Sa napredovanjem inflamatornog procesa, dolazi do dezorganizacije i poremećaja u pravcu prostiranja vezivnotkivnih elemenata. U najtežim formama dolazi do njihovog potpunog razaranja. Ovim promenama, pored kolagenih vlakana, zahvaćena su elastična i retikulinska (154).

Osnovnu međućelijsku supstancu čine mukopolisaharidi. Tokom zapaljenskih i imunih reakcija, oslobođeni medijatori zapaljenja, a pre svih hijaluronidaza, dovode do oštećenja međućelijske supstance, tako da prostori budu širi, a epitel spongiozniji. Slične promene se dešavaju u krznu gingive, tako da su prostori za prodor štetnih supstanci u krzno gingive još veći. Promene koje zahvataju vezivnotkivne elemente apikalnije od pripojnog epitela (destrukcija vezivnotkivnih elemenata, ćelijski infiltrat i edem) dovode do apikalnog pomeranja i formiranja parodontalnog džepa (155).

Parodontalni patogeni mogu posredovati u destrukciji vezivnog tkiva u toku parodontopatije sposobnošću antigena koji iniciraju mononuklearne fagocite da proizvode citokine (156). Ovi citokini i prostaglandini mogu indukovati ćelije gingive da sintetišu matriks metaloproteinaze, inicirajući degradaciju periodontalnih vlakana i koštanu resorpciju. Ćelije parodontocijuma su u stanju da sintetišu matriks metaloproteinazu kada su stimulisane. Istovremeno bakterijski antigeni indukuju mnoge produkte arahidonske kiseline koji su takođe uključeni u proteolizu tkiva gingive (157).

Imunoregulacija ima važnu ulogu u patogenezi parodontopatije. Reparatorne reakcije vode ka formiranju hroničnih inflamatornih infiltrata u čiji sastav ulaze makrofagi, limfociti i plazma ćelije, a praćeni su destrukcijom kolagena i gubitkom kosti. Makrofagi utiču na aktivaciju fibroblasta (158). Oni utiču u procesu zalečenja oslobađanjem fibronektina koji deluje hemotaktično na fibroblaste i druge faktore koji utiču na njihovu funkciju. Limfociti takođe oslobađaju citokine, koji su u stanju da aktiviraju i okupe fibroblaste.

Jedan od najvažnijih imunoregulatora u patogenezi parodontopatije je interleukin - 1 (IL-1). On pripada citokinima i mogu ga proizvoditi makrofagi, B - ćelije i epitelne (skvamozne) ćelije. Sintezu i oslobađanje IL - 1 stimulišu lipopolisaharidi ćelijske membrane mikroorganizama. IL -



1 utiče na imunomodulaciju odgovora preko dejstva B - i T - limfocita, IL - 2, fibroblastne produkcije, imunoglobulina i limfokina, kao i kolagenaze i prostaglandina (159, 160).

Gingivalna tečnost je gingivalni transudat koji potiče iz krvnih sudova (venula) vezivnog tkiva gingive. Prodire kroz pripojni epitel u gingivalni sulkus ili parodontalni džep. Gingivalni transudat je sličan serumu krvi. Sadrži inflamatorne ćelije i bakterije koje su prisutne na gingivi i u sulkusu ili parodontalnom džepu (161). U gingivalnoj tečnosti je identifikovano preko 65 biološki aktivnih sastojaka. Dijagnostički i prognostički markeri za parodontopatiju, koji su nađeni u plaku i gingivalnoj tečnosti uključuju prisustvo: specifičnih bakterija (162), njihovih produkata-isparljivih sumpornih jedinjenja (163) i specifičnih proteaza (164), biomarkera koji su uključeni u razvitak bolesti, ali ih domaćin proizvodi i to su matriks metaloproteinaze (165), neutrofilne elastaze i alkalne fosfataze (161, 166), biomarkeri oštećenog tkiva - hidroksiprolin/kolagen fragmenti (161, 167) i drugi markeri inflamacije kao što su prostaglandin E<sub>2</sub> i interleukin - 1 (168). Međutim, uprkos složenoj prirodi parodontalnog oboljenja, pojedinačno se izučavaju imuna i inflamatorna reakcija na polimikrobnu floru i individualna raznolikost u imunom odgovoru (169, 170).

### **2.5.2. Promene u alveolarnoj kosti tokom patogeneze parodontopatije**

Nivo alveolarne kosti je normalno obezbeđen postojećom ravnotežom dejstva lokalnih i sistemskih faktora koji dovode do formiranja i resorpcije alveolarne kosti. Faktori koji regulišu resorpciju kosti su: IL - 1, IL - 6, tumor nekroza faktor  $\alpha$ , limfotoksin, gama-interferon, prostaglandini i drugi metaboliti arahidonske kiseline, polni hormoni i dr. Faktori koji regulišu formiranje kosti su: faktor rasta dobijen iz trombocita (PDGF), faktor rasta hepatocita (HGF), insulinu sličan faktor rasta (IGF 1 i 2), transformišući faktor rasta  $\beta$  (TGF -  $\beta$ ), koštani morfogeni faktor (BMF) i dr. Oni obezbeđuju preduslove za kompletnu resorpciju kosti nakon povrede (6, 12).

Resorpcija alveolarne kosti u toku parodontopatije je posledica narušavanja ravnoteže u resorpciji i apoziciji alveolarne kosti. Smatra se da su tkivni citokini uključeni u ovaj proces (prostaglandin E<sub>2</sub>, IL - 1 $\beta$ , tumor necrosis factor  $\alpha$  i IL - 6). Cirkulišući faktori koštane remodelacije su steroidni hormoni, paratiroidni hormon, kalcitonin i vitamin D<sub>3</sub> (81, 171).

Resorpcija alveolarne kosti u toku parodontopatije izazvana je delovanjem lokalnih faktora. Lokalni faktori se dele u dve grupe: one koji su posledica širenja inflamacije iz gingive i oni koji su posledica delovanja traumatske okluzije. Kost se resorbuje bez stvaranja sekvencijalnih kvestara. Inflamacija gingive koja se širi u alveolarnu kost, vaskularnim kanalom interdental-

nog septuma, odgovorna je za horizontalnu resorpciju alveolarne kosti. Udruženo delovanje inflamacije i traumatske okluzije stvara vertikalnu (kosu) resorpciju alveolarne kosti (145).

Nisu do kraja razjašnjeni mehanizmi koštane resorpcije tokom patogeneze parodontopatije. Smatra se da se destrukcija alveolarne kosti najčešće dešava kao posledica:

- direktnog uticaja produkata dentalnog plaka koji osteoblaste (progenitorske ćelije) pretvaraju u osteoklaste,
- direktnog dejstva produkata dentalnog plaka,
- delovanja produkata dentalnog plaka koji stimulišu gingivalne ćelije da oslobađaju medijatore zapaljenja koji osteoblaste pretvaraju u osteoklaste i
- delovanja produkata dentalnog plaka koji utiču na ćelije gingive da oslobađaju agense koji će kao pomoćni faktori učestvovati u koštanoj resorpciji (172).

### **2.5.3. Promene u periodoncijumu tokom patogeneze parodontopatije**

Inflamacija se iz gingive širi u periodoncijum, pomoću krvnih i limfnih sudova, ali i duž periodontalnih vlakana. Pod dejstvom traumatske okluzije, pravac i brzina širenja inflamacije se menja, pa se inflamacija iz gingive direktno širi u periodoncijum (6, 13).

Značajnu barijeru za prodor inflamacije u periodoncijum čine snopovi gingivalne grupe periodontalnih vlakana (posebno transseptalna i cirkularna vlakna). Tokom patogenetskih zbivanja u gingivi ova vlakna bivaju oštećena, te se na taj način otvara put za širenje inflamacije u dublja parodontalna tkiva (81).

Tokom patogeneze parodontopatije u periodoncijumu se odvijaju vaskularne reakcije: ćelijska infiltracija, destrukcija vezivnotkivnih elemenata i promene u osnovnoj međućelijskoj supstanci. Destrukcija ekstracelularnog matriksa zavisi od balansa matriks metaloproteinaza i njihovih inhibitora. Ovaj balans je lokalno regulisan: IL - 1 $\alpha$ , IL - 1 $\beta$ , IL - 10, transformišućim faktorom rasta  $\beta$  i lipopolisaharidima (172).

Propadanje periodontalnih vlakana, za posledicu ima dalje apikalno pomeranje pripojnog epitela. Sve promene u periodoncijumu su ireverzibilne. Periodoncijum tokom inflamacije gubi regenerativnu moć, te se destruirana vlakna ne mogu nadoknaditi (145).

### **2.5.4. Promene u cementu tokom patogeneze parodontopatije**

Cement biva izložen dejstvu spoljnih faktora zbog dejstva vezivnotkivnih elemenata gingive i periodoncijuma, nastalih pod dejstvom dentalnog plaka i apikalne migracije pripojnog epitela. Ogoljeni cement gubi glavni izvor ishrane i podleže nekrozi. Istovremeno on

postaje tvrdi zid parodontalnog džepa, te na njemu dolazi do akumulacije i mineralizacije subgingivalnog dentalnog plaka. Demineralizacija i proteoliza Šarpejevih vlakana se odigrava pod dejstvom mikroorganizama i produkata inflamacije. Sa površine korena zuba se mogu odvojiti komadi nekrotičnog cementa i na taj način dentinski kanalići bivaju otvoreni. Pored direktnog prenosa termičkih, mehaničkih i hemijskih nadražaja na pulpu, postoji mogućnost prodora mikroorganizama u dentin. Posledica toga je pojava karijesa, pa i pulpita. Istovremeno prisustvo razmekšalog i nekrotičnog cementa pogoduje povećanoj akumulaciji dentalnog plaka. Na taj način doprinosi daljem širenju inflamatornog procesa koji zahvata čitav parodontcijum (6, 13).

## 2.6. Terapija parodontopatije

Lečenje parodontopatije se najčešće odvija u četiri faze:

1. **Prva faza** je etiološka, odnosno kauzalna, a podrazumeva uklanjanje inflamacije parodontcijuma, tj. dezorganizaciju bakterijskog plaka (biofilma), a zatim uklanjanje svih supragingivalnih i subgingivalnih naslaga, odstranjivanje faktora koji pogoduju nagomilavanju dentalnog plaka i opštih faktora koji smanjuju otpornost organizma. Istraživanja su pokazala da je bazičnom ili kauzalnom terapijom moguće smanjiti zapaljenje gingive, dubinu parodontalnih džepova i nivo pripojnog epitela (174–176).
2. **Druga faza** lečenja preduzima se najčešće nakon bazične terapije i odnosi se na delovanje na parodontalne džepove i na hiruško uklanjanje urođenih ili stečenih mukogingivalnih anomalija koje utiču na nastanak i tok parodontalnog oboljenja. Mukogingivalne anomalije su: uzana fiksna gingiva, plitak vestibulum usne duplje, defekti gingive sa ogoljenjem korena zuba, koronarni pripoj frenuluma jezika i usana, kao i lateralnih plika. Uklanjanje naslaga i obrada površine korena zuba dovodi do smanjenja broja Gram negativnih bakterija, omogućavajući istovremeno povećanje broja Gram pozitivnih koka i bacila, čija se predominacija vezuje za zdravu gingivu (1, 177)
3. **Treća faza** lečenja odnosi se na uspostavljanje povoljnih okluzalno-artikulacionih odnosa. Ove mere se primenjuju kod svih pacijenata kod kojih su okluzalni poremećaji izraženi.
4. **Četvrta faza** primenjuje se posle završene terapije parodontalnog oboljenja i odnosi se na program mera koje se primenjuju da bi se održali postignuti rezultati lečenja i sprečili recidivi. Prikladnom oralnom higijenom i pranjem zuba, pacijenti mogu uspešno sprečiti

ponovnu akumulaciju dentalnog plaka i na taj način produžiti remisiju. Za takve rezultate je potrebno najpre motivisati pacijenta da održava higijenu, a zatim obučiti ga da izabere dobru zubnu četkicu, da je pravilno upotrebljava, odnosno da primenjuje pravilnu tehniku pranja zuba u optimalnom vremenskom intervalu (2-3 minuta). Kontrolisati ga da li to radi redovno i pravilno (1, 178).

### 2.6.1. Fitoterapija

*Fitoterapija* u stomatologiji se smatra pomoćnom terapijskom metodom lečenja i uspešnog kontrolisanja gingivitisa i parodontopatije. Ona pored terapijskog efekta, ima ulogu u poboljšanju opšte otpornosti organizma. Biljne vrste i njihovi ekstrakti se uspešno koriste u stomatološkoj praksi kao antimikrobni biljni preparati. Pored toga što smanjuju inflamaciju i sprečavaju otpuštanje histamina, koriste se kao antiseptici, analgetici, antioksidansi, antigljivična, antibakterijska i antivirusna pomoćna lekovita sredstva. Biljne vrste i njihovi ekstrakti su poznati od davnina na svakom podneblju i korišćeni su vekovima unazad za prevenciju i lečenje različitih oboljenja, obzirom da interaguju sa ćelijskim receptorima u farmakodinamskom smislu. U današnje vreme, ova terapija se naziva tradicionalnom, a biljne vrste i njihovi ekstrakti su označeni kao alternativni lekoviti preparati (179, 180).

Kontrola dentalnog plaka, glavnog etiološkog faktora parodontopatije, kao i njena prevencija su cilj različitih strategija, počevši još od 1980. godine i to upotrebom antibiotika (tetraciklina i metronidazola), antiseptika (hlorheksidina), fenola, ulja i različitih biljnih preparata kao pomoćnih terapeutika (181).

Domorodački narodi su koristili prirodne četkice za pranje zuba napravljene od lekovitih biljnih vrsta. Ove prirodne četkice napravljene od grančica sadrže lekovite sastojke, koje proizvodi sama biljna vrsta. Lesley Tierra, u svojoj knjizi, objašnjava da grančice sadrže etarska ulja koja stimulišu cirkulaciju krvi; tanine koji zatežu gingivu; kao i druge supstance kao što je vitamin C, koji održava gingivu zdravom (182). Eukaliptus, hrast, jela i smreka, deluju na isti način. U Aziji, ljudi i dalje često koriste grančice drveta nim (*Azadirachta indica*) za čišćenje zuba (183).

Rastvor za ispiranje usne duplje (*The Natural Dentist, Medford, Mass.*) na bazi lekovitog bilja je terapija koja deluje na mikroorganizme, izazivače gingivitisa i parodontopatije. Pokazano je da ima blagotvorni efekat tako što smiruje upalu gingive, inhibira rast aerobnih i anaerobnih mikroorganizama (184). Ova vodica za ispiranje usta sadrži antiinflamatorne supstance kao što su aloe vera, neven i antibakterijske supstance biljke zlatni tuljan (*Hydrastis*

*Canadensis*) i semena grejpfruta, koje deluju baktericidno na mikroorganizme koje su izazivači za gingivitisa i parodontopatije, i pospešuje nivo održavanja oralne higijene (185).

Različitim vrstama ekstrakcije menja se koncentracija minerala, etarskih ulja i drugih farmakološki aktivnih jedinjenja, koja utiču na njihova lekovita svojstva (186, 187). Biljne vrste i njihovi ekstrakti se koriste da pospeše površnu cirkulaciju, povećaju eliminaciju štetnih materija, smanje upalu, smire i ublaže iritaciju. Biljni preparati se mogu koristiti u obliku pilula, sirupa i infuzije, ili spolja kao kreme, masti i obloge. Lokalna aplikacija ulja od karanfilića, na primer, smanjuje zubobolju. Svaki biljni preparat treba da sadrži informaciju o pravilnom doziranju, načinu upotrebe, farmakološkim svojstvima, neželjenim efektima i interakcijama sa drugim lekovima (187).

**Biljne vrste** koje se koriste kao pomoćna sredstva u terapiji parodontalnog oboljenja su:

### 1) **Žalfija (*Salvia officinalis* L.)**

Žalfija, pripada porodici *Lamiaceae*. U biljnoj medicini ima višestruku namenu, preporučuje se za lečenje grlobolje, stomatitisa, gingivitisa i parodontopatije (188). Eterično ulje žalfije ima antibakterijska, antigljivična i antivirusna svojstva. Žalfija se koristi da smanji inflamaciju kod stomatitisa, faringitisa i tonzilitisa (188). Koristi se kao rastvor za ispiranje usne duplje više puta dnevno (189). Pistorius i sar. su prijavili značajno smanjenje inflamacije gingive korišćenjem vodice za ispiranje usta, koja sadrži sledeće biljne vrste: *Salvia officinalis*, *Mentha x piperita*, *Matricaria chamomilla*, *Commiphora myrrha*, *Carum carvi*, *Eugenia caryophyllus* i *Ehinacea purpurea*, a preporučuje se ispiranje usne duplje jednom dnevno (190).

#### *Neželjena dejstva*

Konzumiranje čaja od žalfije se ne preporučuje u trudnoći, ali je ispiranje usne duplje i grgorenje dozvoljeno. Takođe, dojilje ne bi trebalo da koriste žalfiju zato što ometa produkciju mleka (179).

### 2) ***Aloe vera* (*Aloe vera* (L.) Burm. f.)**

*Aloe vera* pripada porodici *Asphodelaceae*, sadrži antrahinonska jedinjenja, vitamine, enzime, minerale, šećere, masne kiseline, amino kiseline i salicilnu kiselinu (191). *Aloe vera* (u obliku gela) pospešuje zarastanje rana, a može se koristiti i za opekotine, kod promena nastalih nakon ujeda insekata, kao i drugih kožnih i sluzokožnih lezija. Zbog brojnih lekovitih osobina, koristi se kao dodatak ishrani i jak je antioksidans. Pospešuje zarastanje rana, tako da ima primenu u parodontalnoj hirurgiji, aplikuje se nakon intervencije direktno na operisanu regiju. Može se koristiti prilikom povrede gingive četkicom za zube, čačkalicom ili tvrdom hranom. Preparati koji u svom sastavu imaju aloe veru imaju široki spektar indikacija u stomatološkoj

praksi, obzirom na njena baktericidna, antiinflamatorna, antivirusna, antigljivična i imuno-stimulišuća svojstva (191–193). Scherer i sar. (194) su ispitivali vodicu za ispiranje usne duplje koja sadrži Aloe veru i utvrdili da smanjuje inflamaciju gingive.

### **3) Kamilica (*Matricaria chamomilla* L.)**

Pripada porodici *Asteraceae* i jedna je od najpoznatijih lekovitih biljnih vrsta. Koristi se kao sastojak rastvora za ispiranje usta u preventivi i terapiji gingivitisa i parodontopatije. Može se upotrebljavati u obliku tinkture, kapsula ili tableta (179). McKay i Blumberg su u studiji na eksperimentalnim životinjama pokazali antiinflamatorno dejstvo jednog od najčešće konzumiranih biljnih čajeva - čaja od kamilice (195).

#### *Neželjena dejstva*

Prijavljene su alergijske reakcije na kamilicu (*Matricaria chamomilla* L.) (196). Ove reakcije su praćene konstrikcijom bronhija kod sistemske upotrebe i promenama na koži kod lokalne primene (197).

### **4) Nana Peppermint (*Mentha piperita* L.)**

Nana pripada porodici *Lamiaceae* i deluje antiinflamatorno, a etarsko ulje nane deluje kao analgetik (198). Tablete i kapsule, napravljene od lista nane, mogu se rastvorene koristiti kao vodica za ispiranje usta kod gingivitisa i parodontopatije (179). Etarsko ulje i list nane se koriste za spravljanje vodica za ispiranje usta i gelova koji deluju na periodontopatogene bakterije (199).

#### *Neželjena dejstva*

Generalno se čaj od nane smatra bezbednim za konzumaciju. Ulje nane može da uzrokuje simptome pečenja i žarenja u gastrointestinalnom traktu (200).

### **5) Čajno drvo (*Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel)**

Čajno drvo ili *Melaleuca alternifolia* pripada porodici *Myrtaceae*. Ulje ;ajnog drveta je koncentrisano biljno ulje od lišća drveta koje potiče iz Australijskog priobalnog područja. Nanosi se direktno na inflamirane desni, radi trenutnog olakšanja tegoba (179). Vodica za ispiranje usta smiruje upalu i koristi se kod endodonskog tretmana, u terapiji nekroze pulpe (201). *Melaleuca alternifolia* je pokazala dobru efikasnost u kontroli mikrobnog biofilma, sa značajnom redukcijom indeksa krvarenja (202). Santamaria i sar. su ispitivali antimikrobne efekte gela sa esencijalnim uljem *Melaleuca alternifolia* na ispitanicima koji nose ortodonske proteze i utvrdili da je efikasan u kontroli dentalnog plaka (203).

### 6) *Ehinacea (Echinacea spp.)*

*Ehinacea*, biljka koja pripada porodici *Asteraceae*, aktivira imuni sistem domaćina (196). Njeni sastojci deluju zajedno da povećaju produkciju i aktivnost belih krvnih ćelija (limfocita i makrofaga). Vodica za ispiranje usta sa ehinaceom, žalfijom, uljem od nane, mentom i kamilicom koristi se u tretmanu kod pacijenata sa gingivitisom i parodontopatijom (204). Dokumentovano je da ehinacea smanjuje inflamaciju (199).

#### *Neželjena dejstva*

Toksične reakcije kod upotrebe biljke *Ehinacea* nikada nisu prijavljene. Nekoliko studija je dokazalo korisno delovanje ovih biljnih vrsta kod lečenja gripa i prehlade (205-207).

### 7) *Ruzmarin (Rosmarinus officinalis L.)*

Ruzmarin, pripada porodici *Lamiaceae*, njegovo etarsko ulje, ima antibakterijska i antigljivična svojstva (primenjuje se u terapiji hronične kandidijaze) (208). Koncentrovano etarsko ulje se ne uzima per os (209). Druge studije (210, 211) o etarskom ulju ruzmarina su pokazale njegovu antimikrobnu aktivnost. Santoyo i sar. su zaključili da su sledeća jedinjenja etarskog ulja ruzmarina odgovorna za antimikrobnu aktivnost: borneol, 1,8-cineole, kamfor, verbenon i  $\alpha$ -pinen (212). Bornelon daje bolje rezultate u poređenju sa kamforom i verbenonom (212).

#### *Neželjena dejstva*

Uzimanje ruzmarina tokom trudnoće se ne preporučuje. Često uzimanje, može teoretski, da pospeši razvoj sideropenije ili hipoferemije (212).

### 8) *Crvena detelina (Trifolium pratense L.)*

Crvena detelina pripada porodici *Fabaceae*. Rastvor za ispiranje usne duplje od crvene dateline se koristi kao pomoćna terapija gingivitisa i parodontopatije. Koristi se tako što se etarsko ulje utrljava u obolele desni, a ima i antigljivično dejstvo, pa se koristi u terapiji kandidijaze (183). Ramos i sar. su u *in vitro* i *in vivo* istraživanjima, ukazali na antiinflamatornu aktivnost suvog ekstrakta crvene deteline (213).

### 9) *Američki zimzelen (Botaničko ime: Gaultheria procumbens L.)*

Pripada porodici *Ericaceae*, a vodica za usta od listova zimzeleni je odličan adstrigens i antiseptik, dok se etarsko ulje koristi kod faringitisa i gingivitisa (183). Nikolić i sar. su pokazali da metil-salicilat, najdominantniji sastojak etarskog ulja ove biljke, ispoljava antimikrobnu aktivnost na široki spektar Gram - pozitivnih i Gram - negativnih bakterija, antigljivičnu aktivnost, kao i antioksidativni potencijal (214).

### 10) Šimširika (*Berberis vulgaris* L.)

Šimširika pripada porodici *Berberidaceae*. Berberin je najefikasniji alkaloid iz šimšira, koji se dodaje pasti za zube i vodicama za ispiranje usta zbog njegovog antimikrobnog delovanja (215). Gel od šimširike se koristi kao efikasno sredstvo za kontrolu mikrobnog plaka i u terapiji gingivitisa kod dece (216). Sok ove biljne vrste sadrži veliku količinu vitamina C, tako da pojačava odbrambeni odgovor organizma i stimulise apsorpciju gvožđa (217).

Enzo i Palombo su pokazali da su alkaloidi kao što je berberin efikasniji protiv bakterija kao što su *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* i *Porphyromonas gingivalis* nego protiv bakterija kao što su *Lactobacilli* i *Streptococci* (218). Berberin takođe inhibira aktivnost kolagenaze bakterija: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* i *Porphyromonas gingivalis*, dva poznata periodontopatogena (218). Makrem i sar. su zaključili da se aplikovanjem gela od šimširike redukuje 56% indeks dentalnog plaka i 33% vrednosti gingivalnog indeksa (219). Vrednovali su kliničke i histološke parametre posle aplikacije gela od šimširike kod pacijenata koji su imali parodontopatiju, a bili su indikovani za parodontalnu hirurgiju (219).

Fitoterapija, kao metoda lečenja, se ubrzano širi osvajajući čitav svet. Biljni preparati se koriste u stomatološkoj praksi da smanje inflamaciju, kao antioksidansi, analgetici, antibiotici, antivirusni i antigljivični lekovi. Biljni preparati su pomoćna sredstva u terapiji gingivitisa i parodontopatije, a utiču i na jačanje imuniteta domaćina. Primena biljnih preparata u terapiji parodontopatije ima veliki potencijal, ali su neophodna dalja istraživanja na ovom polju da bi se otklonila neželjena dejstva, utvrdile interakcije sa drugim lekovima, kao i primena adekvatne doze terapeutika pri njihovom ordiniranju (180).

### 2.6.2. Laser

Akronim LASER sastavljen je od početnih slova reči **L**ight **A**mplification by the **S**timulated **E**mission of **R**adiation, što znači pojačanje svetlosti pomoću pobudene emisije zračenja. Laserska svetlost predstavlja stimulisanu emisiju elektromagnetnog zračenja iz spektra nejonizujućeg zračenja, talasne dužine od 1 nm do 1 mm i obuhvata ultraljubičasto, infracrveno zračenje i vidljivu svetlost. Prvi rubinski laser konstruisao je Teodor Maiman (1960) koristeći teoriju Alberta Ajnštajna o stimulisanoj emisiji zračenja, ali su laser za korišćenje u stomatologiji, konstruisali Sretn i Goldman 1994. godine (220-222). Laserska svetlost nastaje iz posebnih supstanci, specijalnim načinom pobuđivanja, kojim se omogućava da atomi često menjaju nivo energije (4).



### 2.6.2.1. Sastav i režim rada lasera

Laser se sastoji iz: 1) *aktivnog medijuma*, 2) *mehanizma za pobuđivanje* i 3) *rezonantnog sistema*.

- 1) **Aktivni medijum** čini materija u kojoj nastaje umnožavanje fotona, odnosno akumulacija dovedene energije - stimulirana emisija zračenja. Svi emitovani fotoni imaju istu talasnu dužinu, istu fazu i isti smer kretanja. Medijum može biti *čvrst* (rubin, neodimijum, itrijum, granit, galijum, aluminijum i arsenid), *tečan* (rastvor organskih boja) i *gasovit* (helijum, neon, kripton, ugljen - dioksid, argon i azot). Talasna dužina laserskog zračenja određena je prirodom aktivnog medijuma (223).
- 2) **Laserska pumpa** je izvor energije za pobuđivanje atoma aktivnog medijuma i može biti optička, električna, hemijska i elektronska.
- 3) **Rezonator (fibrooptički sistem)** sačinjava sistem ogledala koja se nalaze na krajevima aktivnog medijuma. Rezonator produžava put emitovanja fotona, odnosno reflektuje svetlost nazad u aktivni medijum više puta i na taj način stimuliše pojavu nove svetlosti i čini je koherentnijom (224).
- 4) **Sistem za hlađenje** poseduju laseri velike snage. To su najčešće, voda ili vazduh (225).

**Rad lasera** može biti:

- 1) **Kontinuirani režim rada** označava emisiju zračenja čija se snaga ne menja u toku vremena.
- 2) **Impulsni režim rada** označava emisiju zračenja samo za vreme zračenja strujnih impulsa koji se dovode laseru. Impulsni laseri imaju uvek srednju snagu manju od izlazne snage zato što laser ne emituje zračenje u pauzi između dva impulsa. Impulsni režim se karakteriše frekvencijom koja se izražava u hercima (Hz) i predstavlja broj impulsa u jednoj sekundi (226, 227).

Energija koju laser preda izražava se u džulima (J). Ona predstavlja proizvod snage lasera (P) koja se izražava u vatima (W) i vremena zračenja (t) iskazanog u sekundama (s) (226, 227). Formula za njegovo izračunavanje je:  $E = P \times t$ , ( $J = W \times s$ ) (228).

### 2.6.2.2. Podela lasera (prema vrsti aktivne materije)

Laseri prema tipu agregatnog stanja aktivne sredine se dele na:

- 1) *čvrste lasere* koji kao aktivnu sredinu koriste kristalnu ili amorfnu supstanciju, a to su najčešće rubin, staklo i itrijum - aluminijum - granat (YAG). Predstavnici ove grupe lasera su rubinski, Nd: YAG i Er: YAG laser (229).
- 2) *gasovite lasere* koji kao aktivnu supstanciju koriste razne gasove, njihove smeše i pare metala. Predstavnici ove grupe lasera su helijum - neonski (HeNe), neon - kriptonski, argonski i azotni i CO<sub>2</sub> laseri (230).
- 3) *tečne lasere* koji kao aktivnu sredinu koriste tečnosti kao što su benzol, nitrobenzol, rastvor organskih boja DYE - laseri. Njihova talasna dužina kreće se od 1051 do 1055 nm (231).

### 2.6.2.3. Glavne osobine laserske svetlosti

Glavne osobine laserske svetlosti su:

- **Velika koherentnost** – izlazni zraci su u istoj fazi (fotoni iz pobuđenog atoma se kreću u istom pravcu i imaju istu fazu kao upadni foton).
- **Monohromatičnost** – svi emitovani fotoni su iste talasne dužine.
- **Usmerenost** – (mala divergencija i visok intenzitet) - paralelan snop laserskog zraka omogućava visoku koncentraciju energije na maloj površini.
- **Gustina svetlosti** – energetska koncentracija fotonskih radijacija koja se meri u srilbilima.
- **Talasna dužina ( $\lambda$ )** - jedan od najbitnijih činilaca koji određuju karakter uzajamnog delovanja energije i biološkog tkiva. Izražava se u mikromretrima ( $\mu\text{m}$ ), nanometri- ma (nm) i angstromima ( $\text{Å}$ ).
- **Snaga** - parametar koji određuje količinu energije koja za jedinicu vremena utiče na organizam. Određuje sumarnu dozu zračenja. Snaga se izražava u vatima (W), kilovatima (kW) i megavatima (mW).
- **Gustina snage ( $P$ )** – snaga zračenja na jedinicu površine, odnos između snage zračenja i izložene površine S. Optimalna gustina snage za kliničku primenu je 20 do 1200 mW/cm<sup>2</sup>.
- **Frekvencija impulsa ( $f$ )** – broj impulsa za jedinicu vremena. Meri se u hercima (Hz).
- **Vreme ekspozicije ( $t$ )** – Određuje trajanje delovanja i količinu energije koju prima pacijent. Vrednosti su u rasponu od 0 do 99 (232, 233).

#### 2.6.2.4. Biološki efekti delovanja lasera

Biološki efekti delovanja lasera su primarni i sekundarni:

##### ▪ Primarni efekti

**Fotohemijski** (biohemijski) – laserska svetlost stimuliše oslobađanje hemijskih medijatora (serotonin, bradikinin i histamin); ubrzava sintezu vitamina A i D; aktivira sistem DNK i RNK i stimuliše razmnožavanje ćelija; stimuliše pretvaranje adenzin difosfat (ADP) u adenzin trifosfat (ATP) ubrzavajući ćelijski metabolizam; i inhibira sintezu prostaglandina (233-236).

**Fotoelektrični** (bioelektrični) – jako električno polje koje se stvara oko laserskih zraka do vodi do normalizacije potencijala ćelijske membrane nervnih vlakana i onemogućava normalno odvijanje procesa depolarizacije (blokira kalijum natrijumovu pumpu i prenos jona natrijuma i hlora s jedne i kalijuma s druge strane, tako da se prekida prenos nervnih impulsa (237).

**Fotoenergetski** (bioenergetski) – laserska svetlost stimuliše pretvaranje adenzin-difosfata (ADF) u adenzin trifosfat (ATP), gde se na nivou mitohondrija povećava intracelularna energija (238).

##### ▪ Sekundarni efekti

1) **Stimulacija ćelijskog metabolizma** – ogleda se u ubrzanoj ćelijskoj razmeni materija; deobi i diferencijaciji ćelija; povećanoj intracelularnoj energiji u obliku ATP i povećanom prilivu kiseonika (posledica pojačane mikrocirkulacije), tako da je stimulirano ćelijsko disanje, kao i unošenje hranljivih i eliminacija toksičnih materija (239).

2) **Stimulacija mikrocirkulacije** – laserska svetlost stimuliše oslobađanje histamina koji parališe prekapilarni sfinkter što za posledicu ima arteriolarnu dilataciju (240). Ovaj efekat se ne zasniva na lokalnom povećanju temperature tkiva. Minimalno povećanje temperature tkiva, do fizioloških granica, posledica je pojačanog ćelijskog metabolizma i vazodilatacije krvnih sudova. Prednost lasera u odnosu na druge fizikalne metode (infra-crveno, ultra-violetno zračenje, dijatermija itd.) jeste da svoj terapijski efekat ostvaruje bez termičkog dejstva, te se može slobodno koristiti u inficiranom tkivu (233).

**Prema biološkim efektima koje stvaraju, laseri se dele na:**

- lasere sa *destruktivnim* delovanjem i
- lasere sa *stimulativnim* delovanjem (241).

### 2.6.2.5. Terapijski efekti lasera sa stimulativnim delovanjem

- 1) **Analgetički efekat** – nastaje kao posledica fotoelektričnog dejstva i stabilizacije ćelijske membrane neurona (blokada prenosa nervnih impulsa); brža resorpcija zapaljenjskog eksudata koji smanjuje pritisak izlivena tečnosti na periferne nervne završetke; aktivna vazodilatacija stvara uslove za bolju ishranu i regeneraciju oštećenih nerava; dok povećana produkcija endorfina u likvoru i serumu hiperpolarizuje ćelijske membrane i izaziva centralnu i perifernu akciju na neurohumoralne hemijske medijatore i sintezu endogenih peptida, što takođe ima analgetičko dejstvo (242-244).
- 2) **Antiinflamatorni efekat** – stimuliše fagocitnu aktivnost neutrofilnih leukocita, mikro- i makrofaga; mitotsku aktivnost makrofaga; a sveukupno stimuliše celularni i humoralni imunitet. Efekat lasera na zapaljenje sastoji se i u stimulaciji nespecifične humoralne odbrane i porastu sinteze komplemenata, lizozoma i interferona (239). Isto tako, stimulacijom makrofagalnog sistema aktivira se i imunokompetentni sistem (T i B limfociti) sa kojim nastupa specifična imunološka odbrana (239).
- 3) **Antiedematozni efekat** – ubrzava regeneraciju limfnih i venskih sudova i smanjuje intrakapilarni pritisak, izazivajući bržu eliminaciju (apsorpciju) izlivena tečnosti (245).
- 4) **Biostimulativni efekat** – stimuliše rast i reprodukciju fibroblasta i osteoblasta, sintezu kolagenih vlakana, regeneraciju nervnih, endotelnih i epitelnih ćelija, mitotsku aktivnost makrofaga i enzimsku aktivnost ćelija (245).

### 2.6.2.6. Podela lasera u kliničkoj praksi

**2.6.2.6.1. Laseri velike snage** koje karakterišu destruktivni efekti, pa se zato oni koriste u hirurgiji za vaporizaciju, inciziju i kauterizaciju (246). Dominantan je toplotni efekat. Proces laserske incizije nije rezultat sagorevanja tkiva, već vaporizacije, odnosno isparenja vode u tkivu. Oštećenja nastala sprovođenjem toplote zavise od vremenske izloženosti laserskom snopu (4).

Efekti delovanja lasera velike snage su ireverzibilni i izazivaju trajna oštećenja mekih tkiva. Koriste se za biopsiranje, uklanjanje tumoroznih lezija, koagulaciju tkiva, gingivektomiju, gingivoplastiku, frenektomiju, kod odstranjivanja karijesa, sterilizacije kanala korena i kod izbeljivanja zuba (232, 233, 247).

**2.6.2.6.2. Laseri male snage** (niskoenergetski laseri, soft laseri), karakterišu se biološkim efektima koji dovode do biostimulacije ćelija i tkiva. Ovi laseri koriste se za stimulaciju reparativnih procesa u oštećenom tkivu, ne pokazuju destruktivne efekte. Biostimulišući efekti

postiću se laserskim zrakom kada je prisutna mala snaga i mala gustina energije, ali bez termičkog efekta (248).

Za lečenje površinskih lezija koriste se laseri snage od 1 - 10 mW. Ovi laseri izazivaju lokalnu biostimulaciju ćelijske aktivnosti. Za tretman dubljih tkivnih struktura koriste se laseri male snage od 10-100 mW (249, 250).

U kliničkoj praksi najčešće se koriste gasni (HeNe) i poluprovodnički (GaAs i GaAlAs) laseri. Primena lasera male snage, može ostvariti stimulatívne, ali i inhibitorne efekte na specifične metaboličke procese. Stepén biološkog dejstva laserskog zraka na različite ćelije, tkiva i organe zavisi od interakcije laserski zrak - tkivo, odnosno od sposobnosti ozračenog tkiva da upija svetlosnu energiju (251, 252).

Dejstvo lasera zavisi od talasne dužine, frekvencije, energije i gustine snage zračenja na jedinicu površine i širine laserskog snopa. Značajne su i osobine tkiva: prokrvljenost, pigmentacija, hidratisanost, toplotna provodljivost, koeficijent apsorpcije i refleksije, debljina podsluzokožnog i podkožnog tkiva (253).

Pozitivan efekat laserskog zračenja je i u procesima zarastanja rana: aktivira ćelijske funkcije: povećanje ATP - sinteze, DNK i RNK, povećanje proliferacije fibroblasta, povećanje sinteze kolagena, stimuliše makrofage, oslobađa citokine, produkuje faktore rasta i stimuliše stvaranje novih krvnih sudova (233).

Laser male snage primenjuje se u postoperativnom toku, jer ubrzava proces zarastanja rana, suzbija postoperativni edem, bol i trizmus (244, 245). Smanjuje rizik nastanka postoperativnih komplikacija. Laseri male snage utiču na osteogeni potencijal kosti i aktivacijom osteoblasta dolazi do bržeg sazrevanja kosti (stvaranja kalusa). Smatra se da je za proces ubrzanog zarastanja potrebno 5 do 7 tretmana. Pored stimulacije regenerativnih procesa koštanog tkiva, efikasnost lasera je i u osteointegraciji biomaterijala implantiranih u koštano tkivo.

Laseri male snage primenjuju se i u terapiji gingivitisa i parodontopatije (254). Gingiva podvrgnuta laserskom zračenju pokazuje mitotičnu moć i stabilizaciju epitela. HeNe laseri stimulišu faktore rasta koji deluju na diferencijaciju ćelija povećavajući proliferaciju i sekreciju komponenata matriksa. Stimulišući reparatorne i regenerativne procese u inflamiranoj gingivi, produžuje se trajnost postignutih efekata i umanjuje rizik od progresije parodontalnih oboljenja (255, 256).

### **2.6.2.7. Neželjeni efekti i kontraindikacije delovanja lasera**

Laseri male snage nemaju štetne efekte delovanja ako se upotrebljavaju uz propisano doziranje i zaštitne mere. Zbog jakog svetlosnog efekta laserskog zraka, obavezna je primena specijalnih zaštitnih naočara i za lekara i za pacijenta. Laserski svetlosni snop može delovati štetno na očno tkivo. Zbog mogućnosti refleksije laserskog snopa, treba izbegavati upotrebu instrumenata sa čije se površine može reflektovati laserski snop (ogledala i polirani metali).

Laser ne treba koristiti u zoni epifiznog rasta kod dece, u predelu očiju i štitne žlezde, kod srčanih bolesnika sa pejsmejrkerom, kod malignih bolesti i hemoragičnog sindroma, epileptičara i trudnica (239, 241).

### **2.6.2.8. Preporučene doze lasera male snage**

U anglosaksonskoj literaturi preporučuje se doza od 0.5 - 8 J/cm<sup>2</sup> u ukupnoj dnevnoj dozi od 15 J/cm<sup>2</sup> i vremenu aplikacije od 3 - 15 minuta, za dnevnu ekspoziciju. Svetska asocijacija laseroterapije (World Association of Laser Therapy - WALT) (255) preporučuje da se tretmani sprovode svakodnevno tokom dve nedelje, ili svakog drugog dana, 3 do 4 nedelje u seriji od 25 tretmana sa ponavljanjem nakon 1 - 3 meseca (13, 246, 254).

Zahvaljujući opisanim terapijskim efektima, laseri male snage deluju na tkivo, prvenstveno antiinflamatorno, ali i stimulatивно na reparacijske i regeneracijske procese u gingivi (241). Zbog toga se laseri danas primenjuju kao dopunska, veoma uspešna, fizikalna metoda lečenja.

### 3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

---

Nakon pregleda i analize dostupne literature, a uzevši u obzir činjenicu da je za ispitivanje najboljeg terapijskog modaliteta potrebno pored utvrđivanja kliničkih parametara parodontopatije, izvršiti dodatne analize pre i posle terapijskih procedura koje bi preciznije ukazale na rezultate različitih pristupa lečenju pacijenata sa hroničnom parodontopatijom, postavljeni su ciljevi istraživanja:

- utvrditi kliničko stanje zdravlja gingive i dubljih tkiva parodonta ispitanika, kao i klinički nalaz stanja parodoncijuma na mestu uzimanja uzoraka indeksima oralne higijene, gingivalnim i parodontalnim indeksima, pre i posle terapije,
- utvrditi efikasnost primene bazične terapije u tretmanu hronične parodontopatije,
- utvrditi efikasnost primene fitoterapije nakon bazične terapije u tretmanu hronične parodontopatije (Tinctura paradentoica<sup>®</sup> Institut “Dr Josif Pančić”, Beograd),
- utvrditi efikasnost primene terapije laserom male snage nakon bazične terapije u tretmanu hronične parodontopatije,
- izvršiti citološka i morfometrijska ispitivanja gingive pre i posle primene bazične, lasero- i fitoterapije,
- izvršiti molekularno-genetičku analizu sadržaja parodontalnih džepova, metodom PCR (eng. Polymerase Chain Reaction), pre i posle primene bazične, lasero- i fitoterapije,
- izvršiti komparaciju dobijenih rezultata i ispitivanje povezanosti svih dobijenih parametara.

## 4. MATERIJAL I METODE

---

Ispitivanje je urađeno u vidu kliničke prospektivne studije, a sprovedeno je na odabiru od 111 ispitanika podeljenih u četiri grupe:

- I grupa:** 30 ispitanika sa hroničnom parodontopatijom kod kojih je primenjena bazična terapija;
- II grupa:** 30 ispitanika sa hroničnom parodontopatijom kod kojih su primenjene bazična terapija i fitoterapija;
- III grupa:** 30 ispitanika sa hroničnom parodontopatijom kod kojih su primenjene bazična terapija i terapija laserima male snage;
- IV grupa: kontrolnu grupu** je činio 21 ispitanik, sa zdravim parodontom i dobrim opštim zdravljem, ili ispitanici koji su bili lečeni od parodontopatije godinu ili više dana pre istraživanja i za koje se smatra da imaju stabilno stanje parodonta.

Kod svih ispitanika urađen je pregled parodontalnih tkiva, utvrđeni su klinički parametri parodontopatije, prisustvo patogenih bakterija kao i citomorfometrijska analiza epitelnih ćelija gingive. Izbor se vršio konsektivnom randomizacijom: po dolasku ispitanik je bio usmeren u redovnu odgovarajuću grupu.

**4.1. Uključujući kriterijumi:** ispitanici sa hroničnom parodontopatijom koja ima klasične kliničke simptome: inflamaciju gingive, prisustvo parodontalnih džepova 3,5 do 5,5 mm, gubitak epitelnog pripoja više od 2 mm, prisutne supra i subgingivalne čvrste naslage. Studijom su obuhvaćeni ispitanici sa parodontopatijom bez drugih sistemskih oboljenja i medicinskih problema. Dijagnoza je postavljena od strane jednog parodontologa na osnovu kliničkih simptoma i parametara parodontopatije (indeksa). Ispitanici sa parodontopatijom, koji su učestvovali u ovom istraživanju dolazili su prvi put sa zahtevom za lečenje parodontopatije ili su to bili pacijenti koji nisu imali intervenciju na parodontu duže od godinu dana.

**4.2. Isključujući kriterijumi:** ispitanici koji su bili podvrgnuti antibiotskoj terapiji u poslednja 3 meseca, oni koji imaju autoimuno ili sistemsko oboljenje, stečenu ili urođenu koagulopatiju, ispitanici sa krvnim oboljenjima, akutnim ili hroničnim infekcijama, kao i trudnice, mlađi od 18 godina, pušači i ispitanici koji su podvrgnuti hemo- ili zračnoj terapiji.



Dijagnoza parodontopatije je postavljena na osnovu klasičnih metoda: anamneze, kliničke slike i primene indeksa oralne higijene, gingivalnih i parodontalnih indeksa. Svim ispitanicima je posle uzete anamneze, urađen klinički pregled, kao i procena stanja oralne higijene (plak indeks, indeks zubnog kamenca, indeks subgingivalnih zubnih konkremenata), procena stanja zdravlja gingive (gingivalni indeks, indeks krvarenja gingive) i procena stanja parodontijuma (PDI po Ramfjordu i CPITN).

Kod **I grupe** ispitanika je primenjena samo bazična (kauzalna) parodontalna terapija, koja je imala za cilj eliminaciju inflamacije. Obuhvatala je identifikaciju i uklanjanje dentalnog plaka pomoću paste za uklanjanje mekih naslaga i poliranje zuba (Vantal, Galenika) i rotirajućih četkica. Čvrste naslage (zubni kamenac i konkrementi) su uklonjene ultrazvučnim aparatom Woodpecker (UDS-J) i srpastim instrumentom. Obrada parodontalnih džepova je urađena malim srpastim instrumentom, parodontalnom kiretom i ispiranjem 3% vodonik peroksidom, a takođe urađena je motivacija i obučavanje ispitanika pravilnoj oralnoj higijeni, kao i eliminacija mogućih faktora rizika.

Kod **II grupe** ispitanika nakon bazične terapije urađena je fitoterapija rastvorom tinktura paradentoica<sup>®</sup>, Institut “Dr Josif Pančić”, Beograd. Preparat (Slika 6) je aplikovan uz pomoć igle i šprica u zapremini od 0.1 ml po parodontanom džepu. Sastav ovih kapi ima sledeće komponente:

- tinktura nevena (*Tinct. Calendulae*),
- tinktura hajdučke trave (*Tinct. Millefolii*),
- tinktura vranilove trave (*Tinct. Origani*),
- tinktura troskota (*Tinct. Polygoni*),
- tinktura žalfije (*Tinct. Salviae*),
- tinktura trave od srdobolje (*Tinct. Tormentillae*) i
- etarsko ulje pitome nane (*Aetheroleum Menthae pip*).



**Slika 6.** Tinctura paradentoica<sup>®</sup>

Ove kapi predstavljaju kombinaciju tinktura u čijem sastavu dominiraju: tanini, flavonoidi i etarska ulja. Zahvaljujući svom kompleksnom sastavu preparat ispoljava adstringentno, antiseptično, antiinflamatorno, blago anestetično i hemostatično dejstvo.

Kod **III grupe** ispitanika nakon bazične terapije primenjena je laserska terapija diodnim laserom male snage- KaVo, MASTER lase (Biberach, Nemačka). Talasna dužine od 980 nm, sa izlaznom snagom od 0.2 W u kontinuiranom režimu rada, a ekspozicija 7 minuta po tretiranom kvadrantu koji je obuhvatio površinu gingive oko zuba od 17 do 11 i 21 do 27 u gornjoj i od 37

do 31 i 41 do 47 u donjoj vilici. Parodontološka terapija i terapija laserom primenjivane su pet uzastopnih dana.

Kod **IV grupe** ispitanika - **kontrolne grupe** urađen je pregled parodontalnih tkiva, klinički parametri, mikrobiološko ispitivanje i citomorfološka analiza epitelnih ćelija gingive.

Parodontološka, fito- i terapija laserima male snage vršena je pet uzastopnih dana. Pre terapije i nakon pete terapije određeni su indeksi oralne higijene (Pli, Izk, Ikon), gingivalni (Gi, Ikrv) i parodontalni (PDI, CPITN) indeksi, zatim su uzeti su uzorci za molekularno - genetičko ispitivanje papirnatom poenima, kao i brisevi sa gingive uz pomoć sterilne vaticice za stereometrijsku i citološku analizu gingive. Ispitanici su zakazani za kontrolni pregled mesec dana posle terapije i tada su određene vrednosti svih ispitivanih indeksa.

### 4.3. Klinički parametri - stanje oralne higijene, gingive i parodoncijuma

Svim ispitanicima pre početka, nakon pete terapije i pri kontrolnom pregledu mesec dana po završenoj terapiji određeni su indeksi oralne higijene i gingivalni indeksi. Parodontalni indeksi su određeni pre početka terapije i pri kontrolnom pregledu mesec dana po završenoj terapiji.

Korišćeni su sledeći indeksi:

#### **Indeksi oralne higijene**

##### *Plak indeks – Pli*

Dentalni plak je određivan posle identifikacije oralnog biofilma 1% rastvorom gencijane violet. Prosečan indeks dobija se kada se vrednosti indeksa za pojedine zube saberu, a potom podele brojem pregledanih zuba (257) . Prisustvo plak indeksa boduje se na sledeći način:

**Tabela 1.** Vrednosti i kriterijumi plak indeksa

Vrednost Pli	Kriterijumi
0	Nema plaka na površini krunice zuba
1	Plak prekriva do 1/3 visine krunice zuba
2	Plak prekriva do 2/3 visine krunice zuba
3	Plak prekriva preko 2/3 visine krunice zuba

***Indeks zubnog kamenca – Izk***

Ovaj indeks služi za određivanje količine zubnog kamenca. Postupak određivanja količine zubnog kamenca vrši se slično kao i određivanje Pli.

Pregledani su svi zubi sa sve četiri površine: oralne, vestibularne i obe aproksimalne. Utvrđivanje količine kamenca jedne osobe vrši se tako što se saberu vrednosti za pojedine zube i ovaj rezultat se deli sa brojem pregledanih zuba (1).

**Tabela 2.** Vrednosti i kriterijumi indeksa zubnog kamenca

Vrednosti Izk	Kriterijumi
0	Zubnog kamenca nema
1	Zubni kamenac ne pokriva više od 1/3 visine krunice zuba
2	Zubni kamenac pokriva više od 1/3, a manje od 2/3 visine krunice zuba
3	Zubni kamenac pokriva više od 2/3 visine krunice zuba

***Indeks subgingivalnih zubnih kokremenata – Ikon***

Ovaj indeks služi za određivanje količine subgingivalnih konkremenata. Postupak određivanja vrši se slično kao i postupak određivanja prethodna dva indeksa.

Pregledaju se svi zubi sa sve četiri površine: oralne, vestibularne i obe aproksimalne. Utvrđivanje količine subgingivalnih konkremenata osobe vrši se tako što se saberu vrednosti za pojedine zube i ovaj rezultat se deli sa brojem pregledanih zuba (1).

**Tabela 3.** Vrednosti i kriterijumi indeksa subgingivalnih kokremenata

Vrednosti Ikon	Kriterijumi
0	Konkremenata nema
1	Konkrementi ne pokrivaju više od 1/3 obima korena posmatranog zuba
2	Konkrementi pokrivaju više od 1/3, a manje od 2/3 obima korena posmatranog zuba
3	Konkrementi pokrivaju više od 2/3 obima korena posmatranog zuba

## Gingivalni indeksi

### *Gingivalni indeks – Gi*

Stepen inflamacije gingive je određivan gingivalnim indeksom - Gi (257). Uz pomoć ovog indeksa ocenjuje se stanje gingive sa vestibularne, mezijalne, oralne i distalne strane svakog prisutnog zuba. Ukupan gingivalni indeks se dobije ako se saberu sve vrednosti stanja gingive sa vestibularne, mezijalne, oralne i distalne strane za sve zube, a potom dobijeni zbir podeli sa četiri. Dobijena vrednost se potom podeli sa brojem prisutnih zuba.

Ispitanici, u kojih se gingivalni indeks kreće od 0.1 do 1.0 imaju blagu inflamaciju gingive, a oni sa indeksom od 1.1 do 2.0 umerenu inflamaciju. Ako srednja vrednost gingivalnog indeksa iznosi od 2.1 do 3.0 inflamacija gingive se procenjuje kao teška, odnosno jako izražena.

**Tabela 4.** Vrednosti i kriterijumi gingivalnog indeksa

Vrednosti Gi	Kriterijumi
0 – normalna gingiva	Gingiva je bledoružičaste boje, čvrsta, sitno - zrnaste površine. Kad se dobro osuši ona je bez sjaja. Papila je u interdentalnom prostoru. Oblik papile zavisi od položaja zuba.
1 – blaga inflamacija	Ivica gingive je nešto crvenije boje. Postoji blag edem. Povećano je izlučivanje gingivalnog eksudata iz sulkusa.
2 – umerena inflamacija	Gingiva je crvene boje. Izražen je edem i uvećanje slobodne gingive. Postoji krvarenje iz gingive na blag pritisak sondom.
3 – jaka inflamacija	Gingiva je jasno crvene ili crvenoplavičaste boje. Veoma je uvećana. Postoji tendencija ka spontanom krvarenju. Postoje ulceracije na gingivi.

### *Indeks krvarenja – Ikr*

Stepen krvarenja gingive je određivan indeksom krvarenja gingive – Ikr (1). Uz pomoć ovog indeksa ocenjuje se prisustvo krvarenja gingive sa vestibularne, mezijalne, oralne i distalne strane svakog prisutnog zuba. Ukupan indeks krvarenja se dobija ako se saberu sve vrednosti prisutnog krvarenja gingive sa vestibularne, mezijalne, oralne i distalne strane za sve zube, a potom dobijeni zbir podeli sa četiri. Dobijena vrednost se potom podeli sa brojem prisutnih zuba.

**Tabela 5.** Vrednosti i kriterijumi indeksa krvarenja gingive – Ikr

Vrednosti Ikr	Kriterijumi
0	Gingiva ne krvari na provokaciju
1	Krvarenje na blag pritisak sondom 10-30 sekundi posle provokacije
2	Krvarenje na blag pritisak sondom, u toku provokacije
3	Spontano krvarenje gingive

### Parodontalni indeksi

#### *Parodontalni indeks po Ramfjordu – (Periodontal Disease Index – PDI)*

Parodontalni indeks služi za određivanje stanja čitavog parodonticijuma. Pomoću ovog indeksa može se izolovano i utvrditi stanje gingive. Stanje se utvrđuje na šest reprezentativnih zuba koji predstavljaju čitav zubik. To su: gornji desni i donji levi prvi molar, gornji levi i donji desni prvi inciziv, gornji levi i donji desni prvi premolar (16, 21, 24, 36, 41 i 44). Ako neki od ovih zuba nedostaje ne može se zameniti drugim zubom. Za određivanje stanja čitavog potpornog aparata zuba, određuje se koliko je njegov deo razoren. Ovo se utvrđuje merenjem rastojanja od gledno - cementne granice do dna parodontalnog džepa odnosno do koronarnog kraja pripojnog epitela (NPE - nivo pripojnog epitela) (1).

**Tabela 6.** Vrednosti i kriterijumi Parodontalnog indeksa po Ramfjordu – PDI

Vrednosti PDI	Kriterijumi
Za utvrđivanje stanja gingive	
0	Odsustvo znakova inflamacije gingive
1	Blaga ili umerena inflamacija koja ne zahvata gingivu oko cele krunice zuba
2	Blaga ili umerena inflamacija koja zahvata gingivu oko cele krunice zuba
3	Jaka inflamacija: intenzivna hiperemija i izražen edem gingive (mogu postojati ulceracije i spontano krvarenje)
Za utvrđivanje stanja parodonticijuma	
4	Rastojanje od gledno - cementne granice do dna parodontalnog džepa (NPE) ne prelazi 3 mm
5	Kada je to rastojanje 3,1 mm - 6mm
6	Kada je to rastojanje veće od 6,1 mm

***CPITN (community periodontal index of treatment needs),  
indeks stanja parodontijuma u jednoj zajednici i potrebe lečenja***

Ovim indeksom može da se utvrdi prisustvo, odnosno rasprostranjenost oboljenja parodontijuma (gingivitisi i parodontopatije) u jedne osobe ili u nekoj populaciji, kao i njihova težina. Prostim konverzijom dobijenih rezultata može se odrediti i koliko je osoba potrebno obuhvatiti lečenjem, kao i koje preventivne i terapijske mere treba preduzeti.

Čitav zubik se podeli u šest sekstanata: 17 - 14, 13 - 23, 24 - 27, 47 - 44, 43 - 33, 34 - 37. U svakom segmentu se pregledaju svi zubi. Radi sigurnosti na svakom zubu se vrši nekoliko sondiranja. Traži se najteže oštećenje parodontijuma i ono predstavlja dati sekstant. Bodovanje se vrši samo u onim sekstantima u kojima postoji najmanje dva zuba u funkciji. Svakom sekstantu se dodeli odgovarajući bod, vrednosti se sabere i podele sa brojem sekstanata (1).

**Tabela 7.** Vrednosti i kriterijumi CPITN

Vrednosti CPITN	Kriterijumi
0	Zdrav parodontijum
1	Krvarenje gingive posle sondiranja (gingivit)
2	Prisutne čvrste naslage na zubima (kamenac, konkrementi) ili prominentne ivice plombi ili protetskih radova. Rastojanje od gleđno - cementne granice do dna parodontalnog džepa (NPE) ne prelazi 3.5 mm
3	Rastojanje od gleđno - cementne granice do dna parodontalnog džepa (NPE) je 3.5 - 5.5 mm
4	Rastojanje od gleđno - cementne granice do dna parodontalnog džepa (NPE) je veće od 5.5 mm

#### **4.4. Molekularno - genetička ispitivanja**

**Molekularno - genetička ispitivanja:** uzorkovan je subgingivalni dentalni plak, pažljivim aplikovanjem papirnog poena (Diadent - Group International Inc, Cheongju, Korea) u najdublji parodontalni džep u svakom kvadrantu.

Aplikovana su po dva papirnata poena u najdublji parodontalni džep svakog kvadranta (20 sekundi), pre i posle pete terapije, dok su kod kontrolne grupe isti aplikovani u gingivalni sulkus. Odlagani su u sterilne ependorfice (zapremine 1.5 ml, Ismaning, Germany) uz dodavanje 100 µl sterilne dejonizovane vode i čuvani na  $-70^{\circ}\text{C}$  do PCR analize. Izolacija eventualno prisutne bakterijske DNK vršena je tretiranjem uzoraka proteinazom K (Thermo Fisher scientific, Waltham, MA) na temperaturi od  $56^{\circ}\text{C}$  tokom 30 minuta, nakon čega je sledila inaktivacija enzima zagrevanjem uzoraka na temperaturi od  $95^{\circ}\text{C}$  tokom 15 minuta. Tako pripremljeni materijal čuvan je na  $-20^{\circ}\text{C}$  do PCR procedure.

Uzorci dentalnog plaka i tkiva gingive su ispitani na postojanje periodontopatogenih mikroorganizama: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* i *Treponema denticola*. Za izvođenje tehnike PCR korišćene su poznate sekvence prajmera. Multipleks PCR tehnika, koja omogućava simultanu amplifikaciju različitih genskih sekvenci uz korišćenje nekoliko parova prajmera. Amplifikacija je obavljena u PCR aparatu PeqStar, PeqLab, Erlangen, Nemačka (Slika 7).



**Slika 7.** PCR aparat

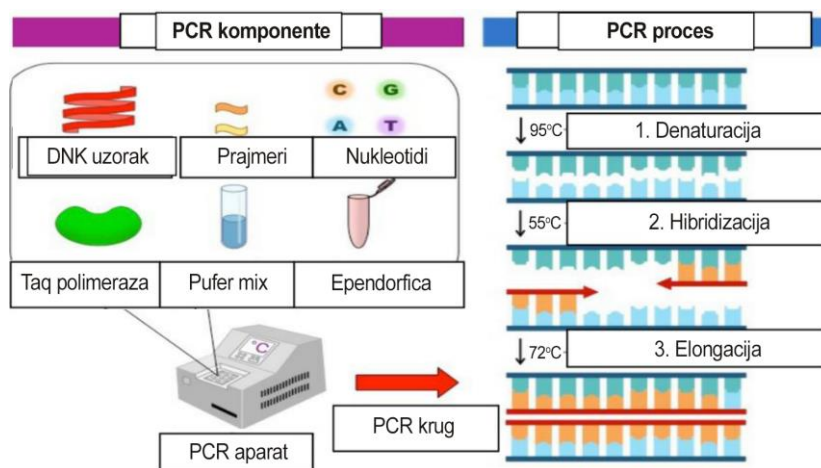
Sekvence svih prajmera i dužine očekivanih amplicona prikazane su u Tabeli 8. PCR je rađena u zapremini od 25 µl, a reakciona smeša je bila sledećeg sadržaja: sterilna voda, PCR pufer, 2,5 mM  $\text{MgCl}_2$ , 200 µM dNTP, 5 µM prajmeri, 0,1 U Taq polimeraze, 4 µl uzorka sa eventualno prisutnom DNK.

**Tabela 8.** Bakterije, prajmeri, broj baznih parova, sekvence prajmera i temperature hibridizacije

Bakterija	Prajmer	Broj baznih parova	Sekvence prajmera	Temperatura hibridizacije
<i>Aggregatibacter</i>	AAF		5'-GCTAATACCGCGTAGAGTCGG-3'	55°C
<i>actinomycetemcomitans</i>	AAV	500	5'-ATTTACACCTCACTTAAAGGT-3'	
<i>Prevotella</i>	PrevoF		5'-CGTGGACCAAAGATTCATCGGTGGA-3'	55°C
<i>intermedia</i>	PrevoR	259	5'-CCGCTTTACTCCCAACAAA-3'	
<i>Porphyromonas</i>	PGF		5'-CTG TGT GTT TAT GGC AAA CTT C -3'	55°C
<i>gingivalis</i>	PGR	392	5'-AAC CCC GCT CCC TGT ATT CCG A-3'	
<i>Tannerella</i>	TanF		5'-GCGTATGTAACCTGCCCGCA-3'	55°C
<i>forshythensis</i>	TanR	600	5'-TGCTTCAGTGTTCAGTTATACCT-3'	
<i>Treponema</i>	TDF		5'-TAATACCGAATGTGCTCATTACAT-3'	60°C
<i>denticola</i>	TDR	316	5'-TCAAAGAAGCATTCCCTCTTCTTCTTA-3'	

Reakcija se odvija u 35 ponovljenih ciklusa sinteze DNK, gde se u toku jednog ciklusa podrazumevaju sledeća tri koraka (Slika 8):

1. Denaturacija DNK, zagrevanjem reakcione smeše na 95°C, čime se postiže raskidanje vodoničnih veza.
2. Hibridizacija prajmera sa matricom, dolazi do formiranja vodoničnih veza između prajmera i komplementarne sekvence na matrici. U zavisnosti od dužine nukleotidne sekvence prajmera hibridizacija se izvodi na temperaturi od 55-60°C.
3. Elongacija prajmera katalizovana DNK polimerazom, odnosno ugradnja nukleotida na krajevima DNK prajmera (sinteza DNK) odvija se na temperaturi 72°C, koja je optimalna za rad polimeraze.

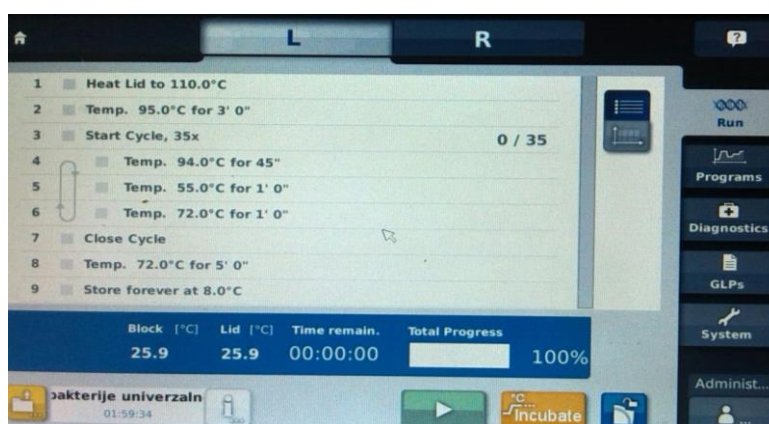
**Slika 8.** Šematski prikaz reakcione smeše i PCR procedure



S obzirom na to da svaki novosintetisani fragment služi kao matrica za sintezu DNK u narednom ciklusu, dolazi do eksponencijalnog porasta broja amplifikata, tako da se nakon tridesetog ciklusa dobija  $10^7$ - $10^9$  kopija željenog fragmenta, što je sasvim dovoljno za njegovu detekciju. Temperaturni profil izvođenja PCR procedure prikazan je u tabeli 9 i na slici 9.

**Tabela 9.** Temperaturni profil PCR procedure

Početna denaturizacija	Denaturizacija	Hibridizacija	Elongacija	Krajnja elongacija
3 min.	45 sek.	1 min.	1 min.	5 min.
95°C	94°C	55-60°C	72°C	72°C

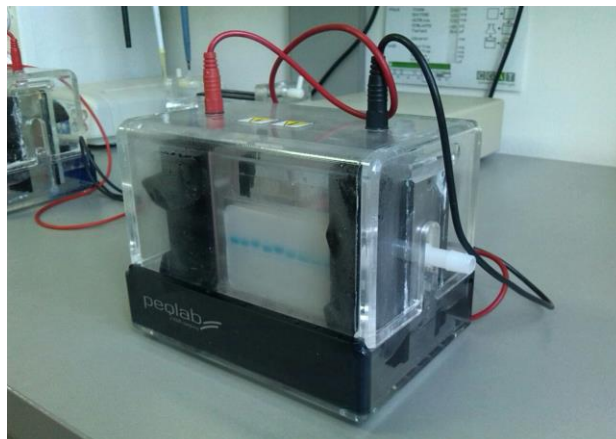


**Slika 9.** Temperaturni profil na PCR aparatu (PeqStar, PeqLab, Erlangen, Nemačka)

Uzorci koji su PCR analizirani, očitavaju se elektroforezom na 8% poliakrilamidnom gelu (Tabela 10) u TBE puferu (tris-borate-EDTA (10X) -Thermo Fisher scientific, Waltham, MA), pri konstantnom naponu struje od 240 V tokom 60 minuta. Poliakrilamidni gel se priprema tako što dolazi do kopolimerizacije akrilamid i bis-akrilamida (N-N'-metilen-bis akrilamid) i APS (10%) (amonijum persulfat). APS sadrži persulfatne slobodne radikale koji katalizuju reakciju polimerizacije, koju pokreće TEMED (N'- tetrametiletildiamin).

Gel elektroforeza je metod separacije i analize makromolekula i njihovih produkata koji je zasnovan na razlici u njihovoj veličini i naelektrisanju. Gel elektroforeza koristi razlike između biomakro-molekula u njihovoj pokretljivosti u gelu kada se nađu u električnom polju. Razlike u pokretljivosti zavise od razlika u molekularnoj masi molekula i njihovom naelektrisanju, koje je presudno za smer kretanja makromolekula u električnom polju. DNK se kreće od katode ka anodi zahvaljujući prisustvu velikog broja fosfatnih grupa, koje su na fiziološkoj pH vrednosti u jonizovanom stanju, odnosno negativno naelektrisane. Razlike u dužini DNK

fragmenata uslovljavaju da različiti fragmenti stignu do različitih pozicija u gelu. Uzorci se analiziraju tako što se pomešaju sa puferom za nalivanje, koji povećava njihovu gustinu, boji ih, a taj način omogućava direktno praćenje elektroforeze (Slika 10).



**Slika 10.** PerfectBlue™PeQ lab aparat za elektroforezu

Za vizuelizaciju amplifikovanih fragmenata DNK, gel je bojen etidijum-bromidom (Tabela 10) osvetljen UV transiluminatorom u vidu svetlećih traka.

**Tabela 10.** Uputstvo za preparaciju 8% poliakrilamidnog gela

<b>Destilovana H<sub>2</sub>O</b>	3.96%
<b>5x TBE (tris-borate-EDT) pufer</b>	1.3 ml
<b>Akrlamid/bis-akrlamid (40%)</b>	1.3 ml
<b>APS (10%) (amonijum persulfat)</b>	45 µl
<b>TEMED (N'- etrametiletilendiamin)</b>	8.4µl

Postojanje elektroforetskih traka očekivane dužine na gelu označavalo je pozitivan nalaz na određenu bakteriju (Slika 11).



**Slika 11.** Vizuelizacija amplifikovanih fragmenata DNK na poliakrilamidnom gelu

## 4.5. Citološka i morfometrijska ispitivanja

Svim ispitanicima pre terapije i u toku kontrolnog pregleda dan posle pete terapije uzimani su uzorci (brisevi) sa gingive i pravljen je direktan razmaz na pločici. Uzorci su fiksirani i sušeni na vazduhu u trajanju najmanje jedan sat, a zatim bojeni Papanikolau metodom na Institutu za patološku anatomiju Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Nišu.

Brzo Papanikolau bojenje-CYTOSEMICOLOR® (Semikem d.o.o. Sarajevo, Bosna i Hercegovina) je urađeno po proceduri: izliti reagense po zatom redosledu u kadice za bojenje. Preparati se moraju prilikom bojenja više puta uranjati u rastvor, jer samo držanje preparata u rastvoru daje slabe rezultate bojenja. Nakon fiksacije Semifix® sprejem preparat uroniti u:

1. destilovanu vodu 10 x 1 sekunda
2. Harrisov modifikovani hematoksilin 1 x 1 minuta
3. Isprati pod mlazom vode 1 x 5 sekundi
4. 2 - Propanol 2 x 1 sekunda
5. Polihromatski modifikovani rastvor 1 x 1 minuta
6. 2 - Propanol 80% 5 x 1 sekunda
7. 2 - Propanol 5 x 1 sekunda
8. 2 - Propanol 5 x 1 sekunda
9. Ksilen 5 x 1 sekunda
10. Ksilen 5 x 1 sekunda

Nakon bojenja potrebno je hitno fiksirati Imerzionim uljem ili DPX-lepkom, pa prekriti pokrovnim staklom.

Za morfometrijsku analizu korišćen je program Image J, na mikroskopu NU2 (Olympus BX50, Carl Zeiss, Tokyo, Japan), objektiv x 40 (NA 0.75). Na citološkom materijalu morfometrijskom analizom praćene su sledeće varijable: areal jedra (AREA), optička gustina jedra (OPTDENS), standardna devijacija optičke gustine jedra (SDOPTDEN), modna vrednost optičke gustine jedra (MODEOD), minimalna optička gustina jedra (MINEOD), maksimalna optička gustina jedra (MAXOD), obim (perimetar) jedra (PERIMITE), cirkularnost jedra (CIRCULAR), Feret-ov dijametar jedra (FERET), integrisana optička gustina jedra (IOD) i zaobljenost jedra (ROUNDNESS).

## 4.6. Statistička obrada podataka

Statistička obrada rezultata obavljena je programom SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Dati su osnovni deskriptivni statistički parametri za kvalitativnu i kvantitativnu procenu dobijenih rezultata: apsolutni brojevi, relativni brojevi, aritmetička sredina, standardna devijacija i medijana.

Normalnost distribucije kontinualnih varijabli, u zavisnosti od veličine uzorka, ispitivana je Kolmogorov-Smirnov testom ili Shapiro-Wilk- ovim testom.

Za ocenu značajnosti razlike ( $p$ ) između ispitivanih vrednosti između dve nezavisne grupe ispitanika korišćen je Man - Vitnijev (Mann - Whitney) U test ili Studentov t-test nezavisnih uzoraka (Student's t test for independent samples), u zavisnosti da li parametri nemaju ili imaju normalnu raspodele. Po istom osnovu, za poređenje vrednosti u različitim periodima u okviru istih grupa korišćen je Vilkoksonov test ranga (Wilcoxon Signed Ranks Test) ili Student- ov test uparenih uzoraka (Paired samples t-tests ).

Za testiranje statističke značajnosti razlika apsolutnih frekvencija među uzorcima korišćen je  $\chi^2$  test (Mantel - Haenszel) ili Fišerov (Fisher) test egzaktno verovatnoće, ukoliko je apsolutna frekvencija bila manja od 5.

Kao prag statističke značajnosti korišćena je vrednost  $p < 0,05$ .

## 4.7. Institucije u kojima je rađeno istraživanje

Polazeći od ciljeva istraživanja, koncipirana je metodologija za njihovu realizaciju. Primenjena metodologija u ovom istraživanju odobrena je od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Nišu odlukom broj 01-7420, dana 10.10.2011. godine.

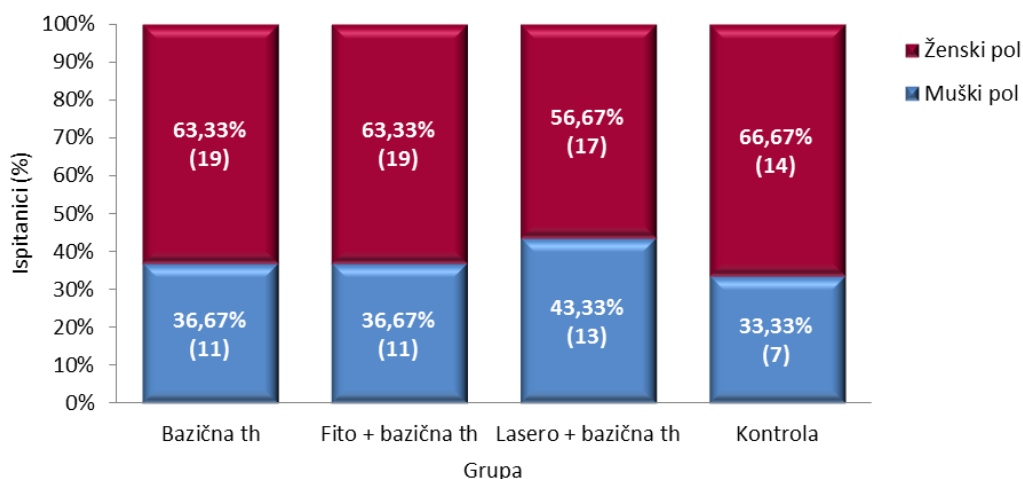
Istraživanje je obavljeno u sledećim institucijama:

1. Klinika za stomatologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu,
2. Institut za patologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu,
3. Institut za molekularnu biologiju i humanu genetiku Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

## 5. REZULTATI

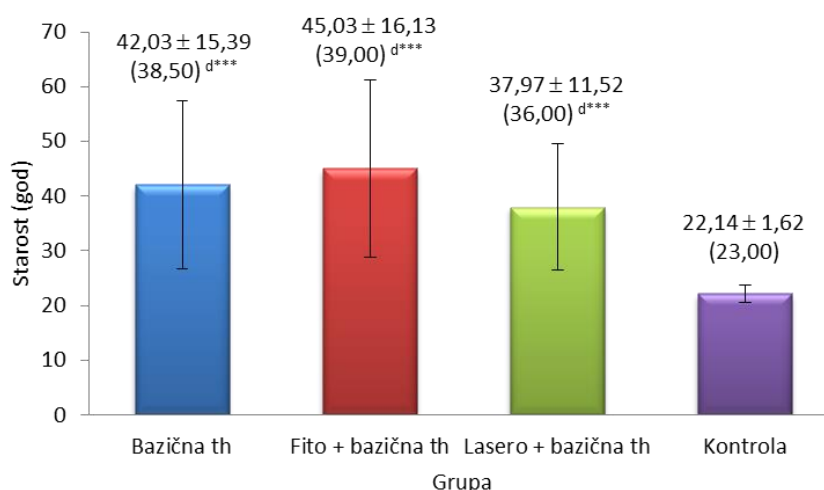
### 5.1. Polna i starosna struktura ispitanika

Polna struktura ispitanika prikazana je na grafikonu 1. Utvrđeno je da se ispitivane grupe nisu statistički značajno razlikovale po polu (Pirsonov  $\chi^2$  test).



**Grafikon 1.** Polna struktura ispitivanih grupa

Osnovni deskriptivni parametri starosti ispitanika dati su na grafikonu 2. Utvrđena je statistički značajno veća starost ispitanika svih terapijskih grupa u odnosu na kontrolu (Man - Vitnijev test,  $p < 0,001$ ).



**Grafikon 2.** Starost ispitanika u terapijskim grupama i kontroli

(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

d – vs kontrola, \*\*\* –  $p < 0,001$  (Man - Vitnijev test)

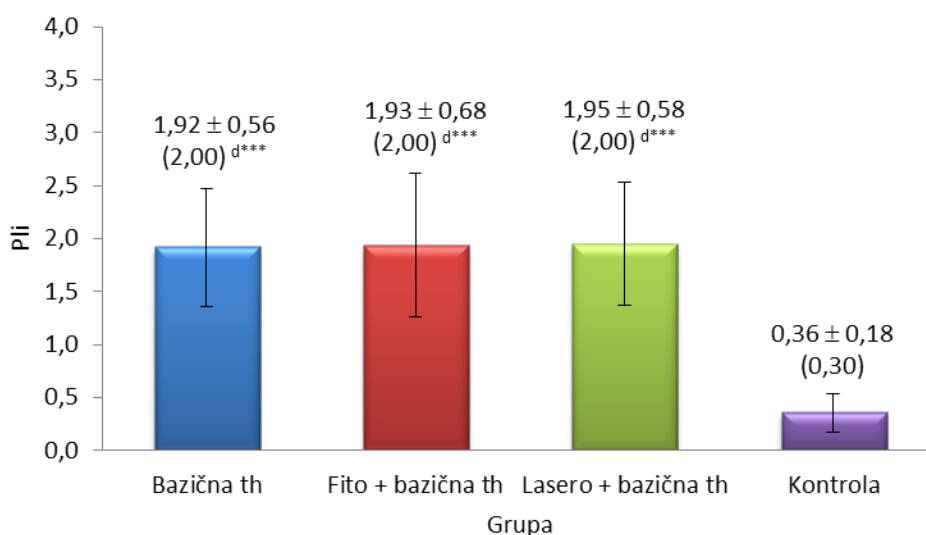
## 5.2. Klinički parametri

### (procena stanja oralne higijene, gingive i parodoncijuma)

#### Indeksi oralne higijene

##### *Plak indeks - Pli*

Osnovni deskriptivni parametri Pli ispitanika pre početka terapije prikazani su na grafikonu 3. Utvrđeno je da su vrednosti statistički značajno veće u svim terapijskim grupama ponaosob u odnosu na kontrolu, dok se vrednosti ovog parametra između terapijskih grupa nisu razlikovale (Man - Vitnjev test,  $p < 0,001$ ).



**Grafikon 3.** Pli ispitanika u terapijskim grupama i kontroli pre početka terapije

(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

d - vs kontrola, \*\*\* –  $p < 0,001$  (Man - Vitnjev test)

U tabeli 11 i na grafikonu 4 prikazane su vrednosti Pli u terapijskim grupama pre, nakon pete terapijske procedure i mesec dana posle terapije. Posle 5. terapijske procedure vrednosti ovog parametra u svim terapijskim grupama su svedene na nulte. U svim terapijskim grupama potvrđeno statistički značajno smanjenje ovog parametra nakon 5. terapijske procedure u odnosu na vrednosti parametra pre terapije (Vilkoksonov test ranga,  $p < 0,001$ ). Poređenjem vrednosti pre i mesec dana posle sprovedene terapije, u svim grupama su takođe utvrđene statistički značajno niže vrednosti mesec dana posle terapije. Treba zapaziti da je mesec dana posle sprovedene terapije najveća vrednost Pli kod ispitanika sa bazičnom terapijom, nešto niža pri

kombinaciji fito i bazične terapije, a najniža pri kombinaciji lasero i bazične terapije. Poređenjem vrednosti mesec dana posle sprovedene terapije, utvrđeno je da je vrednost Pli statistički značajno viša u grupi sa bazičnom u odnosu na grupu sa kombinacijom lasero i bazične terapije (Man - Vitnjev test,  $p < 0,05$ ). Sve navedeno ukazuje da su sve tri terapijske procedure nakon 5. terapijske procedure dovele do statistički značajnog poboljšanja Pli, da su vrednosti ovog indeksa mesec dana posle terapije takođe statistički značajno niže no pre terapije, ali i da su najbolji rezultati postignuti kombinacijom lasero i bazične terapije.

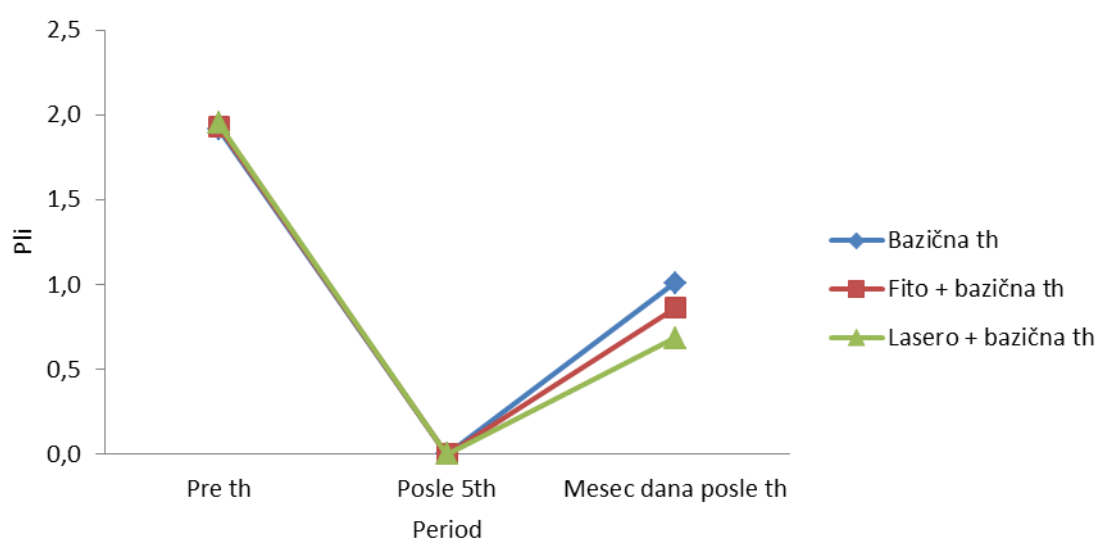
**Tabela 11.** Vrednosti Pli pre, posle 5. terapije i mesec dana nakon sprovedene terapije u terapijskim grupama (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija	Fito + bazična terapija	Lasero + bazična terapija
Pre terapije	$1,92 \pm 0,56^{BC***}$ (2,00)	$1,93 \pm 0,68^{BC***}$ (2,00)	$1,95 \pm 0,58^{BC***}$ (2,00)
Posle 5. terapije	$0,00 \pm 0,00$ (0,00)	$0,00 \pm 0,00$ (0,00)	$0,00 \pm 0,00$ (0,00)
Mesec dana posle terapije	$1,01 \pm 0,49^{c*}$ (1,00)	$0,86 \pm 0,33$ (1,00)	$0,68 \pm 0,31$ (0,70)

B – vs posle 5. terapije, C– vs mesec dana posle terapije (Vilkoksonov test ranga)

c – vs lasero + bazična terapija (Man - Vitnjev test)

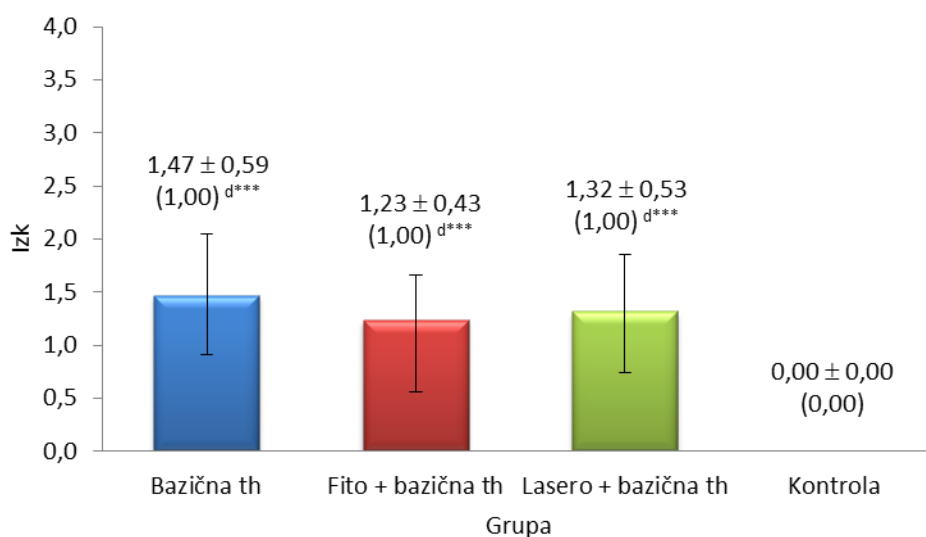
\* –  $p < 0,05$ , \*\*\* –  $p < 0,001$



**Grafikon 4.** Kretanje srednjih vrednosti Pli ispitanika u terapijskim grupama pre, nakon 5. terapijske procedure i mesec dana posle terapije

### ***Indeks zubnog kamenca - Izk***

Vrednosti osnovnih deskriptivnih parametara Izk ispitanika pre početka terapije dati su na grafikonu 5. Utvrđeno je da su vrednosti ovog parametra statistički značajno veće u svim terapijskim grupama ponaosob u odnosu na kontrolnu, dok između terapijskih grupa nije bilo statistički značajnih razlika ovog parametra (Man - Vitnjev test,  $p < 0,001$ ).



**Grafikon 5.** Izk ispitanika u terapijskim grupama i kontroli pre početka terapije

(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

d - vs kontrola, \*\*\* –  $p < 0,001$  (Man - Vitnjev test)

U tabeli 12 i na grafikonu 6 date su vrednosti Izk u terapijskim grupama pre, nakon 5. terapijske procedure i mesec dana posle terapije. Već nakon 5. terapijske procedure, u svim terapijskim grupama vrednosti ovog parametra su svedene na nulu, na kom nivou su ostale i mesec dana posle terapije. U svim terapijskim grupama potvrđeno je statistički značajno smanjenje ovog parametra nakon 5. terapijske procedure u odnosu na vrednosti pre terapije kao i mesec dana posle sprovedene terapije (Vilkoksonov test ranga,  $p < 0,001$ ). Dakle, sve tri terapijske procedure su već nakon pete terapije dovele do statistički značajnog poboljšanja Izk, odnosno do potpunog eliminisanja zubnog kamenca, što je stanje koje je zadržano i mesec dana posle sprovedene terapije.



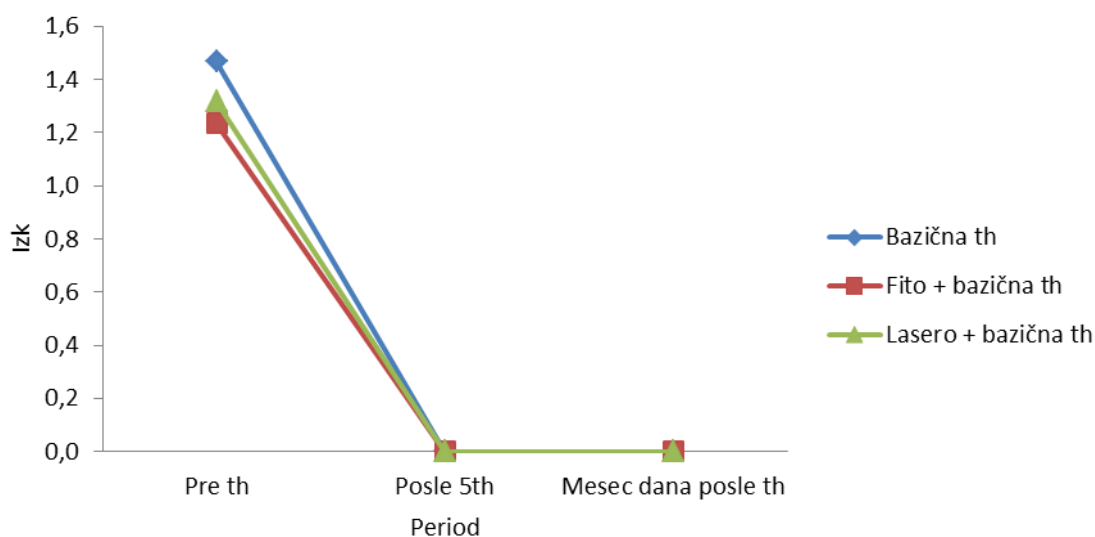
**Tabela 12.** Vrednosti Izk pre, posle 5. terapije i mesec dana nakon sprovedene terapije u terapijskim grupama

(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija	Fito + bazična terapija	Lasero + bazična terapija
Pre terapije	$1,47 \pm 0,59^{BC***}$ (1,00)	$1,23 \pm 0,43^{BC***}$ (1,00)	$1,32 \pm 0,53^{BC***}$ (1,00)
Posle 5. terapije	$0,00 \pm 0,00$ (0,00)	$0,00 \pm 0,00$ (0,00)	$0,00 \pm 0,00$ (0,00)
Mesec dana posle terapije	$0,00 \pm 0,00$ (0,00)	$0,00 \pm 0,00$ (0,00)	$0,00 \pm 0,00$ (0,00)

B - vs posle 5. terapije, C - vs mesec dana posle terapije (Vilkoksonov test ranga)

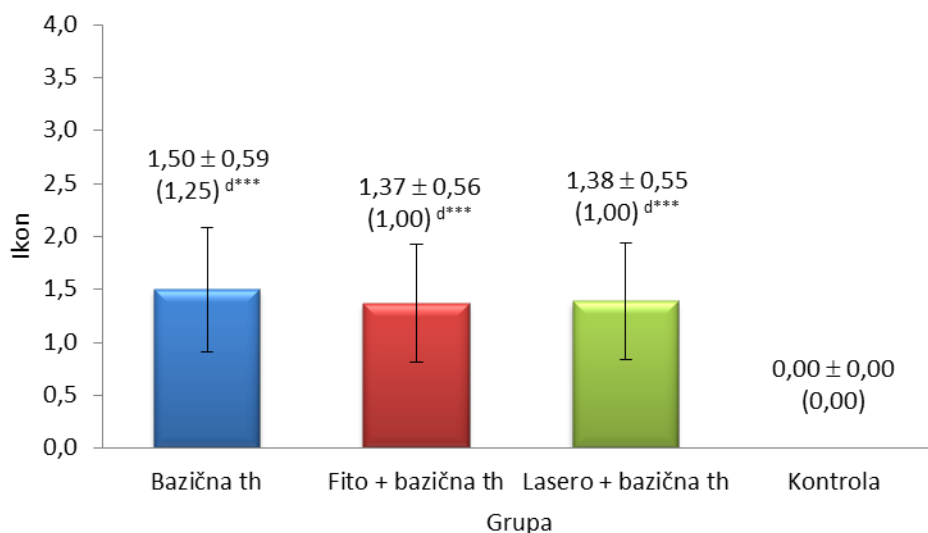
\*\*\* –  $p < 0,001$



**Grafikon 6.** Kretanje srednjih vrednosti Izk ispitanika u terapijskim grupama pre, nakon 5. terapijske procedure i mesec dana posle terapije

### *Indeks subgingivalnih zubnih konkremenata – Ikon*

Osnovni deskriptivni parametri Ikon u ispitivanim grupama pre početka terapije dati su na grafikonu 7. Utvrđeno je da su statistički značajno veće vrednosti Ikon u svim terapijskim grupama ponaosob u odnosu na kontrolnu grupu (Man-Vitnijev test,  $p < 0,001$ ). Vrednosti ovog parametra nisu se statistički značajno razlikovale između terapijskih grupa.



**Grafikon 7.** Ikon ispitanika u terapijskim grupama i kontroli pre početka terapije

(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

d - vs kontrola, \*\*\* -  $p < 0,001$  (Man - Vitnijev test)

Vrednosti Ikon u terapijskim grupama pre, nakon 5. terapijske procedure i mesec dana posle terapije date su u tabeli 13 i na grafikonu 8. Kao i u slučaju prethodnog parametra, Ikon je već posle 5. terapijske procedure sveden na nulu u svim terapijskim grupama, a ta vrednost je ostala nepromenjena i mesec dana posle terapije. U poređenju sa vrednostima pre terapije, u svim terapijskim grupama je potvrđeno statistički značajno smanjenje ovog parametra nakon 5. terapijske procedure i mesec dana posle sprovedene terapije (Vilkoksonov test ranga,  $p < 0,001$ ). Sve tri terapijske procedure su već nakon 5. terapije dovele do statistički značajnog smanjenja Ikon, tj. do potpunog eliminisanja zubnog konkrementa, a ovo stanje je ostalo nepromenjeno i mesec dana posle sprovedene terapije.

**Tabela 13.** Vrednosti Ikon pre, posle 5. terapije i mesec dana nakon sprovedene terapije

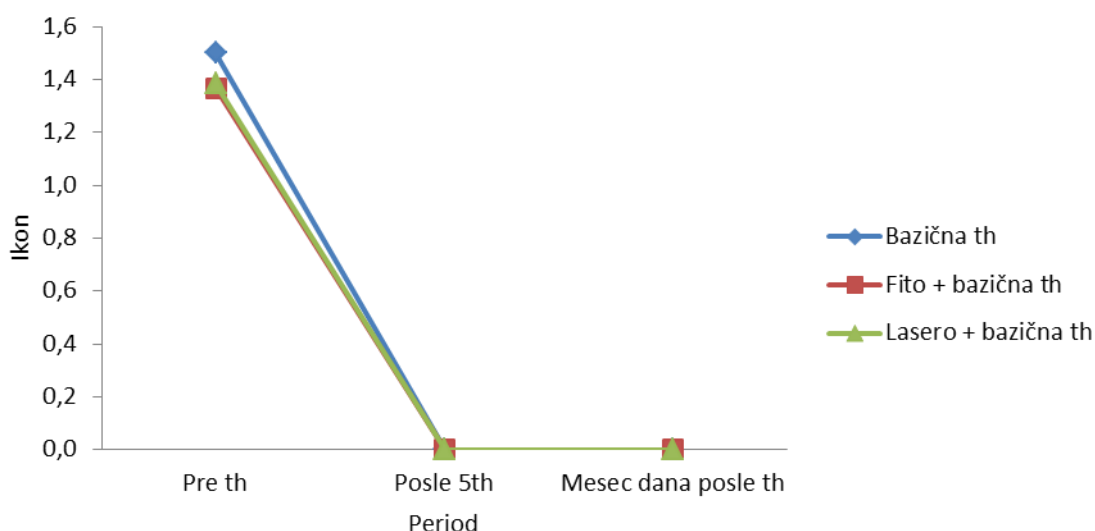
u terapijskim grupama

(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija	Fito + bazična terapija	Lasero + bazična terapija
Pre terapije	1,50 ± 0,59 <sup>BC***</sup> (1,25)	1,37 ± 0,56 <sup>BC***</sup> (1,00)	1,38 ± 0,55 <sup>BC***</sup> (1,00)
Posle 5. terapije	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)
Mesec dana posle terapije	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)

B - vs posle 5. terapije, C - vs mesec dana posle terapije (Vilkoksonov test ranga)

\*\*\* -  $p < 0,001$

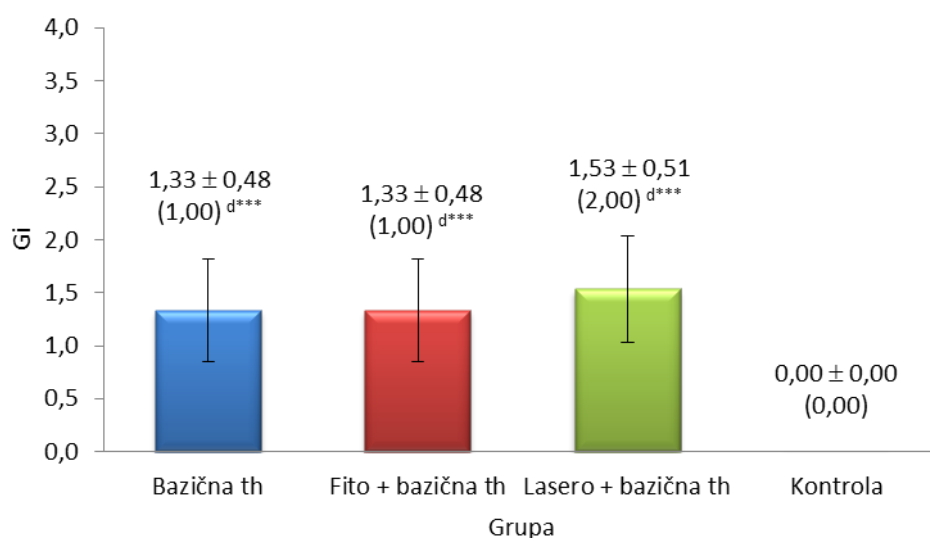


**Grafikon 8.** Kretanje srednjih vrednosti Ikon ispitanika u terapijskim grupama pre, nakon 5. terapijske procedure i mesec dana posle terapije

### Gingivalni indeksi

#### *Gingivalni indeks – Gi*

Na grafikonu 9 prikazani su osnovni deskriptivni parametri Gi u ispitivanim grupama pre početka terapije. Utvrđeno je da su statistički značajno veće vrednosti ovog parametra u svim terapijskim grupama ponaosob u odnosu na kontrolnu, dok se vrednosti ovog parametra nisu statistički značajno razlikovale između terapijskih grupa (Man - Vitnjev test,  $p < 0,001$ ).



**Grafikon 9.** Gi ispitanika u terapijskim grupama i kontroli pre početka terapije (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

d - vs kontrola, \*\*\* –  $p < 0,001$  (Man - Vitnjev test)

U tabeli 14 i na grafikonu 10 prikazane su vrednosti Gi u terapijskim grupama pre, nakon 5. terapijske procedure i mesec dana posle terapije. Posle 5. terapijske procedure evidentan je pad Gi u svim terapijskim grupama u odnosu na vrednosti pre terapije koji je statistički značajan (Vilkoksonov test ranga,  $p < 0,001$ ). Iako je mesec dana posle terapije došlo do blagog porasta vrednosti Gi u svim terapijskim grupama u odnosu na period posle 5. terapijske procedure, ove vrednosti su i dalje statistički značajno niže no one pre terapije ( $p < 0,001$ ). Poređenjem vrednosti Gi između grupa utvrđeno je da su vrednosti ovog parametra statistički značajno niže u grupi sa kombinovanom bazičnom i laseroterapijom no u grupi koja je imala samo bazičnu terapiju, kako posle 5. terapije (Man - Whitnijev test,  $p < 0,01$ ), tako i mesec dana posle terapije (Man – Whitnijev test,  $p < 0,05$ ). Ovo ukazuje da su sve tri terapijske procedure nakon 5. terapije dovele do statistički značajnog poboljšanja Gi, da su vrednosti ovog indeksa mesec dana posle terapije takođe statistički značajno niže no pre terapije, a da su najbolji rezultati postignuti kombinacijom lasero i bazične terapije.

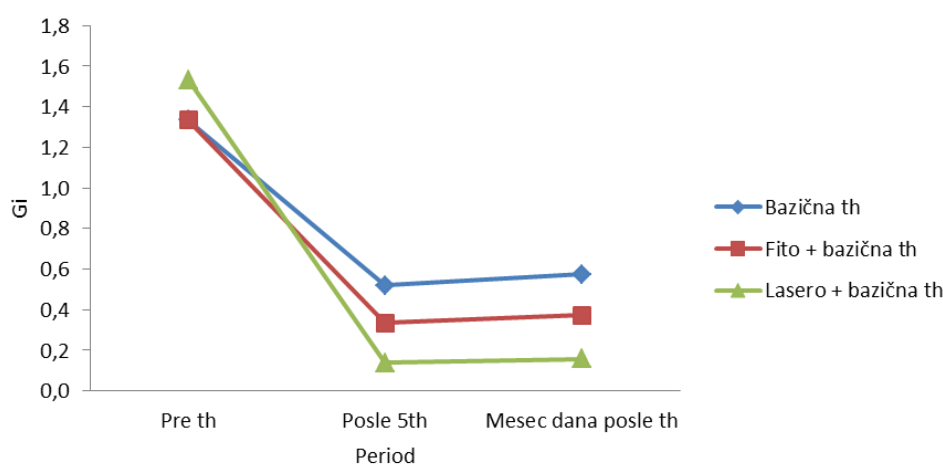
**Tabela 14.** Vrednosti Gi pre, posle 5. terapije i mesec dana nakon sprovedene terapije u terapijskim grupama (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija	Fito + bazična terapija	Lasero + bazična terapija
Pre terapije	$1,33 \pm 0,48^{BC***}$ (1,00)	$1,33 \pm 0,48^{BC***}$ (1,00)	$1,53 \pm 0,51^{BC***}$ (2,00)
Posle 5. terapije	$0,52 \pm 0,50^{c**}$ (0,75)	$0,33 \pm 0,50$ (0,00)	$0,14 \pm 0,29$ (0,00)
Mesec dana posle terapije	$0,58 \pm 0,66^{c*}$ (0,20)	$0,37 \pm 0,50$ (0,00)	$0,16 \pm 0,29$ (0,00)

B – vs posle 5. terapije, C – vs mesec dana posle terapije (Vilkoksonov test ranga)

c – vs lasero + bazična terapija (Man - Vitnijev test)

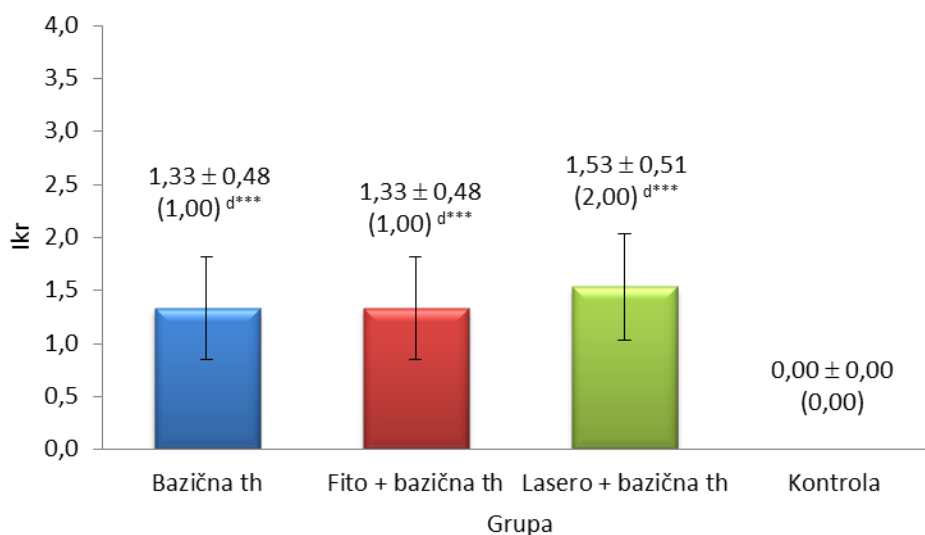
\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$



**Grafikon 10.** Kretanje srednjih vrednosti Gi ispitanika u terapijskim grupama pre, nakon 5. terapijske procedure i mesec dana posle terapije

### *Indeks krvarenja – Ikr*

Osnovni deskriptivni parametri Ikr u ispitivanim grupama pre početka terapije prikazani su na grafikonu 11. Statistički značajno veće vrednosti ovog parametra su u svim terapijskim grupama ponaosob u odnosu na kontrolnu (Man-Vitnjev test,  $p < 0,001$ ), a nema statistički značajnih razlika ovog parametra između terapijskih grupa.



**Grafikon 11.** Ikr ispitanika u terapijskim grupama i kontroli pre početka terapije  
(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

d – vs kontrola, \*\*\* –  $p < 0,001$  (Man-Vitnjev test)

Vrednosti Ikr u terapijskim grupama pre, nakon 5. terapijske procedure i mesec dana posle terapije date su u tabeli 15 i na grafikonu 12. Evidentan je statistički značajan pad Ikr posle 5. terapijske procedure u svim terapijskim grupama u odnosu na vrednosti pre terapije -Vilkoksonov test ranga ( $p < 0,001$ ). Mesec dana posle terapije došlo je do porasta vrednosti ovog parametra u svim terapijskim grupama u odnosu na period posle 5. terapijske procedure, ali su vrednosti i dalje statistički značajno niže no one pre terapije ( $p < 0,001$ ). Man - Vitnjevovim testom, poređenjem vrednosti Ikr između grupa utvrđeno je da su vrednosti ovog parametra statistički značajno niže u grupi sa kombinovanom bazičnom i laseroterapijom no u grupi koja je imala samo bazičnu terapiju, posle 5. terapije ( $p < 0,01$ ), ali i mesec dana posle terapije ( $p < 0,05$ ). Sve tri terapijske procedure nakon 5. terapije dovele su do statistički značajnog poboljšanja Ikr, vrednosti ovog indeksa mesec dana posle terapije takođe su statistički značajno niže no pre terapije, a najbolji rezultati postignuti su kombinacijom bazične i laseroterapije.

**Tabela 15.** Vrednosti Ikr pre, posle 5. terapije i mesec dana nakon sprovedene terapije u terapijskim grupama

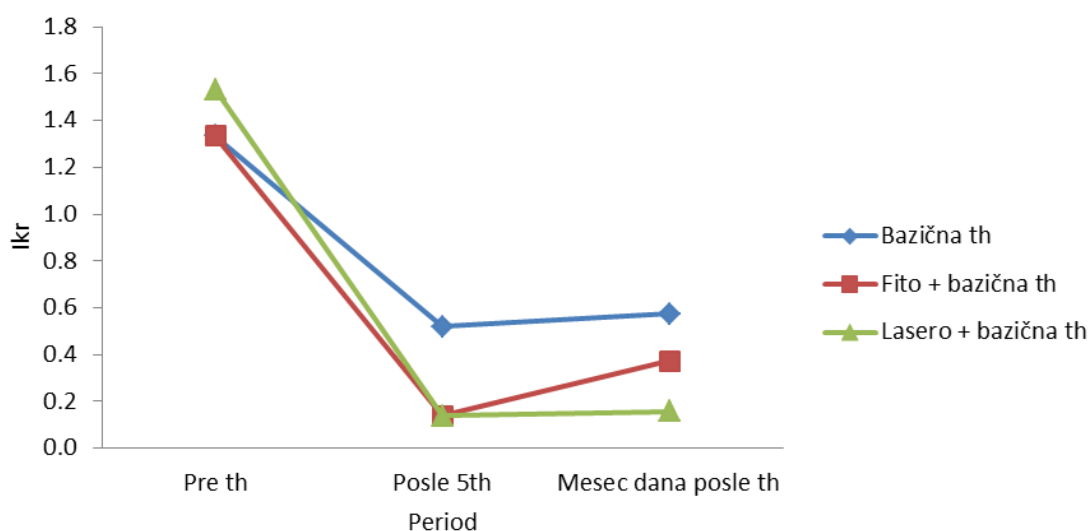
(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija	Fito + bazična terapija	Lasero + bazična terapija
Pre terapije	$1,33 \pm 0,48^{BC***}$ (1,00)	$1,33 \pm 0,48^{BC***}$ (1,00)	$1,53 \pm 0,51^{BC***}$ (2,00)
Posle 5. terapije	$0,52 \pm 0,50b^{c**}$ (0,75)	$0,33 \pm 0,50$ (0,00)	$0,14 \pm 0,29$ (0,00)
Mesec dana posle terapije	$0,58 \pm 0,66^{c*}$ (0,20)	$0,37 \pm 0,50$ (0,00)	$0,16 \pm 0,29$ (0,00)

B – vs posle 5. terapije, C – vs mesec dana posle terapije (Vilkoksonov test ranga)

c – vs lasero + bazična terapija (Man – Vitnijev test)

\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$

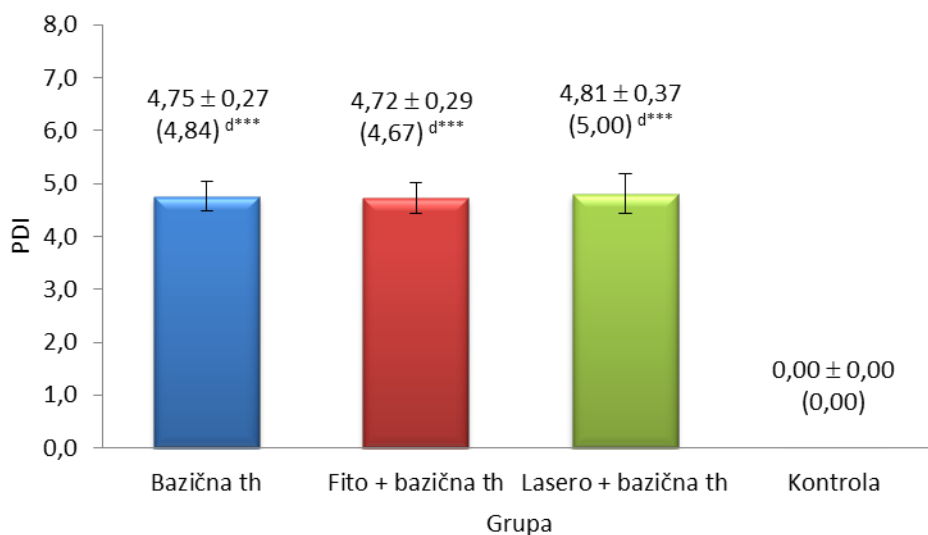


**Grafikon 12.** Kretanje srednjih vrednosti Ikr ispitanika u terapijskim grupama pre, nakon 5. terapijske procedure i mesec dana posle terapije

## Parodontalni indeksi

### Parodontalni indeks po Ramfjordu – (Periodontal Disease Index –PDI)

PDI, čiji su osnovni deskriptivni parametri u ispitivanim grupama pre početka terapije prikazani su na grafikonu 13, statistički je značajno većih vrednosti u svim terapijskim grupama ponaosob u odnosu na kontrolnu grupu –  $p < 0,001$  (Man - Vitnijev test). Između terapijskih grupa nema statistički značajnih razlika ovog parametra.



**Grafikon 13.** PDI ispitanika u terapijskim grupama i kontroli pre početka terapije

(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

d - vs kontrola, \*\*\* -  $p < 0,001$  (Man - Vitnjev test)

Na osnovu podataka u tabeli 16 i na grafikonu 14, mesec dana posle terapije u svim terapijskim grupama utvrđene su statistički značajno niže vrednosti PDI u odnosu na vrednosti pre terapija (Vilkoksonov test ranga,  $p < 0,001$ ). Poređenjem vrednosti PDI između grupa mesec dana posle terapije, utvrđeno je da su vrednosti ovog parametra statistički značajno niže u grupi sa kombinovanom bazičnom i laseroterapijom, no u grupi koja je imala samo bazičnu terapiju (Man-Vitnjev test,  $p < 0,05$ ). Sve tri terapijske procedure mesec dana nakon terapije dovele su do statistički značajnog poboljšanja PDI, odnosno smanjenja, a na osnovu vrednosti PDI mesec dana posle terapije, najbolji rezultati su postignuti kombinacijom lasero i bazične terapije.

**Tabela 16.** Vrednosti PDI pre i mesec dana nakon sprovedene terapije u terapijskim grupama

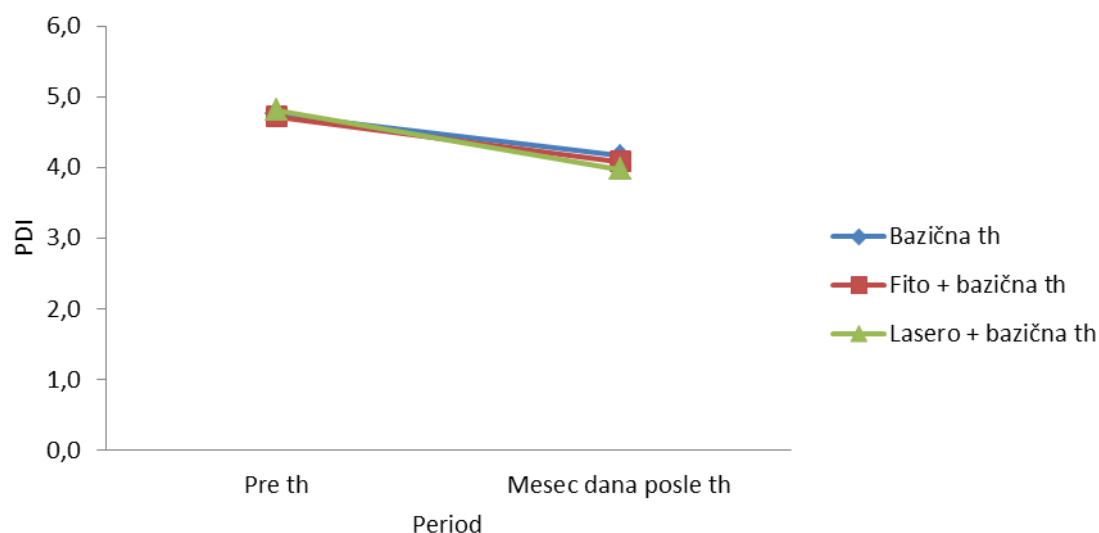
(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija	Fito + bazična terapija	Lasero + bazična terapija
Pre terapije	$4,75 \pm 0,27^{C***}$ (4,84)	$4,72 \pm 0,29^{C***}$ (4,67)	$4,81 \pm 0,37^{C***}$ (5,00)
Mesec dana posle terapije	$4,17 \pm 0,44^{c*}$ (4,09)	$4,09 \pm 0,39$ (4,17)	$3,98 \pm 0,34$ (4,00)

C – vs mesec dana posle terapije (Vilkoksonov test ranga)

c – vs lasero + bazična terapija (Man - Vitnjev test)

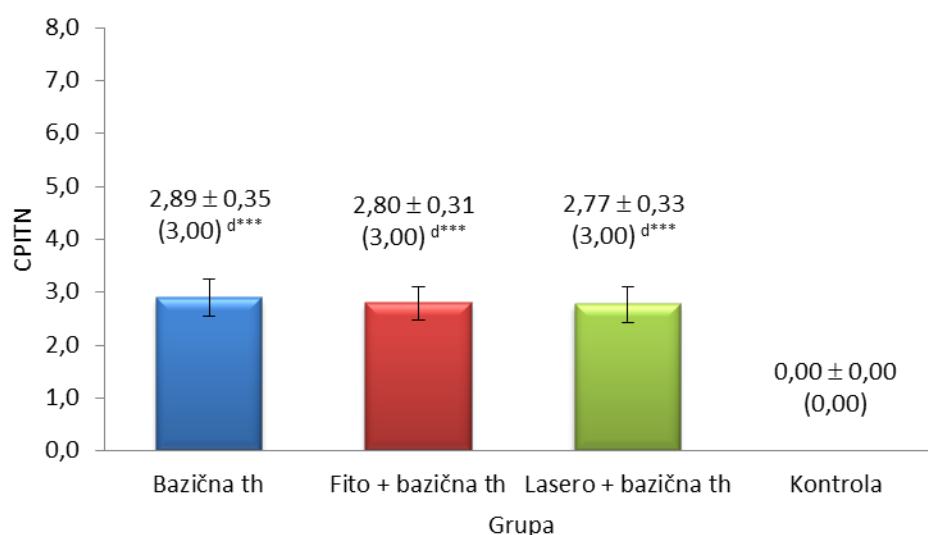
\* –  $p < 0,05$ , \*\*\* –  $p < 0,001$



**Grafikon 14.** Kretanje srednjih vrednosti PDI ispitanika u terapijskim grupama pre i mesec dana posle terapije

**Indeks stanja parodonticijuma u jednoj zajednici i potrebe lečenja – CPITN (community periodontal index of treatment needs)**

Osnovni deskriptivni parametri CPITN u ispitivanim grupama pre početka terapije dati su na grafikonu 15. Vrednosti CPITN statistički su značajno veće u svim terapijskim grupama ponaosob u odnosu na kontrolu grupu –  $p < 0,001$  (Man - Vitnijev test). Nema statistički značajnih razlika ovog parametra između terapijskih grupa.



**Grafikon 15.** CPITN ispitanika u terapijskim grupama i kontroli pre početka terapije (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

d – vs kontrola, \*\*\* –  $p < 0,001$  (Man - Vitnijev test)

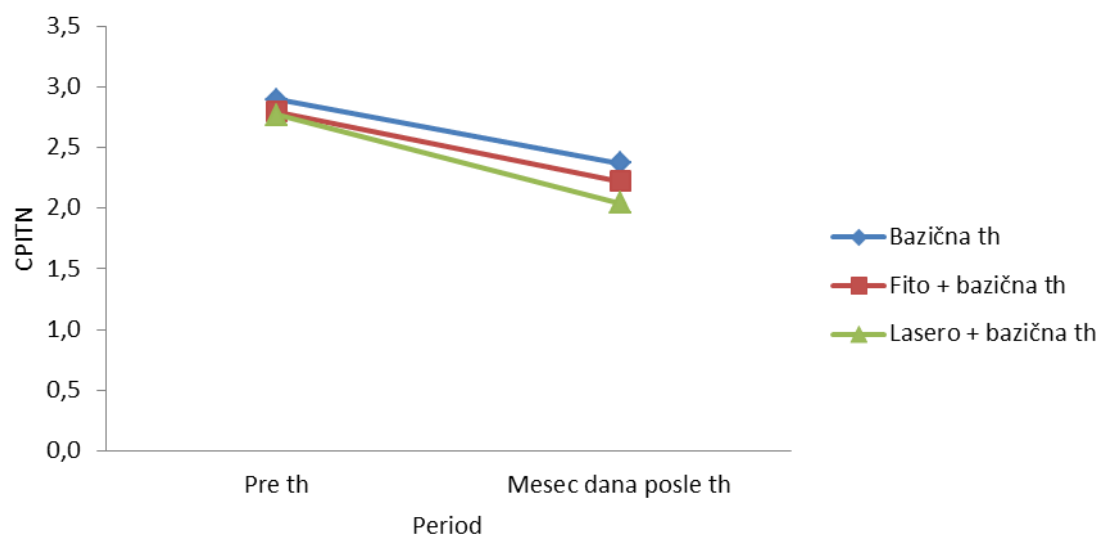


Mesec dana posle terapije u svim terapijskim grupama, na osnovu podataka u tabeli 17 i na grafikonu 16, utvrđene su statistički značajno niže vrednosti CPITN u odnosu na vrednosti pre terapije (Vilkoksonov test ranga,  $p < 0,001$ ). Poređenjem CPITN vrednosti mesec dana posle terapije, utvrđene su statistički značajno više vrednosti u grupi sa kombinovanom bazičnom i fitoterapijom (Man - Vitnijev test,  $p < 0,01$ ), kao i samo bazičnom terapijom (Man-Vitnijev test,  $p < 0,001$ ) u odnosu na grupu koja je imala kombinovanu bazičnu i laseroterapiju. Sve tri terapijske procedure mesec dana nakon terapije dovode do statistički značajnog poboljšanja CPITN, odnosno njegovog smanjenja, ali najbolji rezultati postignuti su kombinacijom lasero i bazične terapije.

**Tabela 17.** Vrednosti CPITN pre i mesec dana nakon sprovedene terapije u terapijskim grupama (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija	Fito + bazična terapija	Lasero + bazična terapija
Pre terapije	$2,89 \pm 0,35^{C***}$ (3,00)	$2,80 \pm 0,31^{C***}$ (3,00)	$2,77 \pm 0,33^{C***}$ (3,00)
Mesec dana posle terapije	$2,37 \pm 0,35^{c***}$ (2,42)	$2,22 \pm 0,26^{**c}$ (2,17)	$2,04 \pm 0,25$ (2,00)

C – vs mesec dana posle terapije (Vilkoksonov test ranga)  
 c – vs lasero + bazična terapija (Man - Vitnijev test)  
 \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$



**Grafikon 16.** Kretanje srednjih vrednosti CPITN ispitanika u terapijskim grupama pre i mesec dana posle terapije

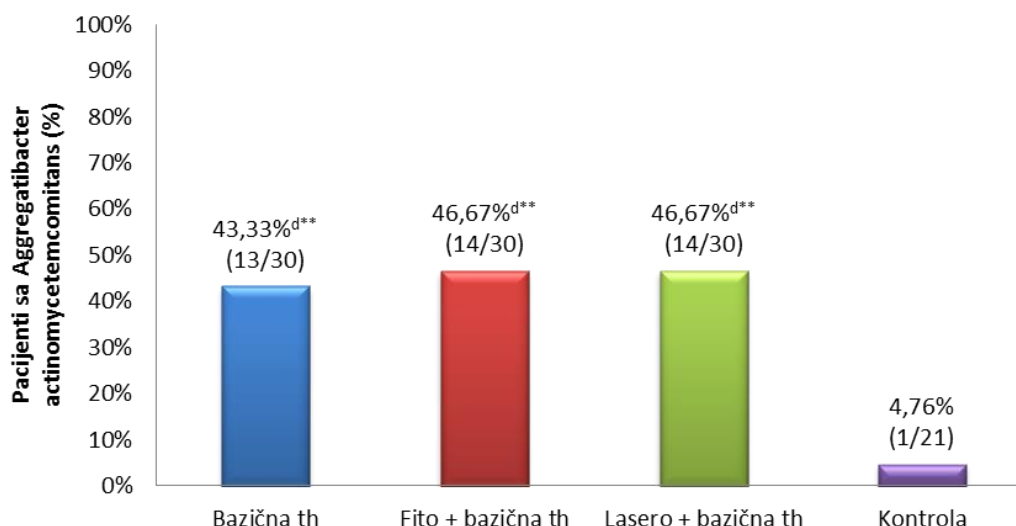
### 5.3. Analiza molekularno - genetičkih ispitivanja

U svim grupama, pre i posle terapije, analizirano je prisustvo sledećih bakterija: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Prevotella intermedia* (Pi), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythensis* (Tf) i *Treponema denticola* (Td). Rezultati su prikazani u tabelama 18–22 i grafikonima 17–26.

Pre terapije Mantel - Haenszel testom su ustanovljene statistički značajne razlike između grupa koje su date na grafikonima 17 - 26. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* je bila zastupljenija u sve tri terapijske grupe ponaosob u odnosu na kontrolu ( $p < 0,01$ ). Nije bilo statistički značajne razlike u zastupljenosti *Prevotella intermedia* između grupa. *Porphyromonas gingivalis* je pre terapije statistički daleko niže zastupljena u grupi na bazičnoj terapiji u odnosu na sve ostale grupe ponaosob ( $p < 0,001$ ), *Tannerella forsythensis* je statistički zastupljenija u grupama na kombinovanoj terapiji no u grupi na bazičnoj ili u kontrolnoj grupi ponaosob. *Treponema denticola* je pre terapije statistički bila zastupljenija u grupama sa kombinovanom terapijom u odnosu na kontrolu ( $p < 0,001$ ), a sličan je slučaj i u grupi samo na bazičnoj terapiji, ali sa manjim nivoom značajnosti ( $p < 0,05$ ).

Posle sprovedene terapije nije bilo statistički značajnih razlika između terapijskih grupa, izuzev u slučaju *Porphyromonas gingivalis* gde je procentualna zastupljenost u fito + bazičnoj terapiji statistički značajno viša no u odnosu na bazičnu terapiju, na nivou kao i pre terapije ( $p < 0,001$ ), ali i u odnosu na lasero + bazičnu terapiju ( $p < 0,05$ ), kod koje je ostvareno statistički značajno smanjenje prisustva ove bakterije u odnosu na perid pre terapije ( $p < 0,01$ ).

Prethodno izneto je posledica činjenice da je utvrđeno smanjenje prisustva bakterija posle terapije u odnosu na stanje pre terapije kod svih tipova bakterija i u svim terapijskim grupama, izuzev bakterije *Tannerella forsythensis* čije je prisustvo neznatno povećano u grupi na bazičnoj terapiji. U grupi sa kombinovanom fito i bazičnom terapijom došlo je do statistički značajnog smanjenja prisustva *Tannerella forsythensis* i *Treponema denticola*, što je slučaj i u grupi koja je bila na kombinovanoj lasero i bazičnoj terapiji ( $p < 0,001$ ). Međutim, u grupi na kombinovanoj lasero i bazičnoj terapiji došlo je do statističkog smanjenja i svih ostalih bakterija: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* i *Prevotella intermedia* ( $p < 0,05$ ) i *Porphyromonas gingivalis* ( $p < 0,01$ ). Na osnovu iznetog se može reći da je kombinovana lasero i bazična terapija dala najbolje rezultate u pogledu smanjenja zastupljenosti pozitivnih bakterioloških nalaza (tabele 18 - 22).



**Grafikon 17.** Ispitanici sa pozitivnim nalazom na patogenu bakteriju *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pre terapije i kontrolna grupa

\*\* –  $p < 0,01$

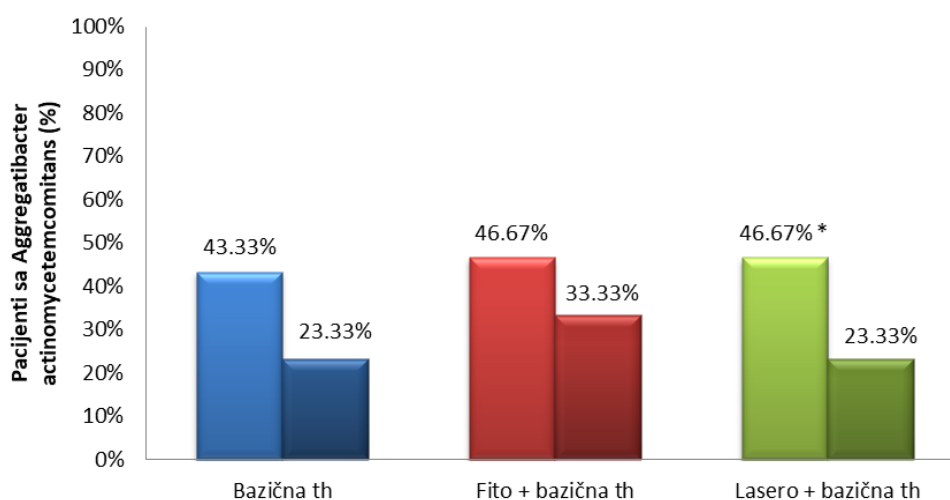
d – vs kontrola

**Tabela 18.** Pozitivnost rezultata na patogenu bakteriju *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pre i posle sprovedene terapije u terapijskim grupama (vrednosti su date u obliku % (pozitivni rezultati/broj ispitanika))

Period	Bazična terapija	Fito + bazična terapija	Lasero + bazična terapija
Pre	43,33% (13/30)	46,67% (14/30)	46,67% (14/30) <sup>C*</sup>
Posle	23,33% (7/30)	33,33% (10/30)	23,33% (7/30)

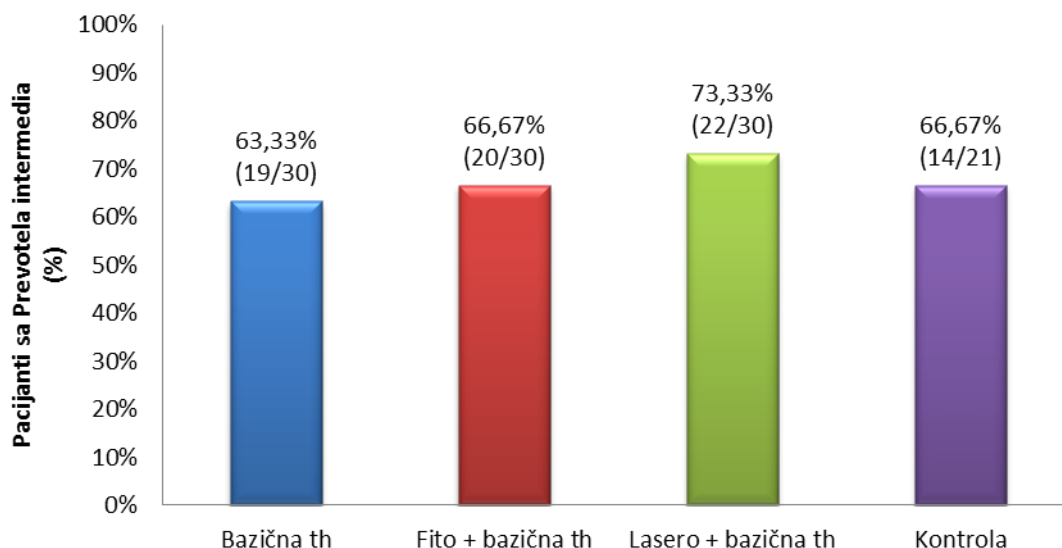
\* –  $p < 0,05$

C – vs posle terapija



**Grafikon 18.** Ispitanici sa pozitivnim nalazom na patogenu bakteriju

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* u terapijskim grupama pre i posle terapije (\* –  $p < 0,05$ )



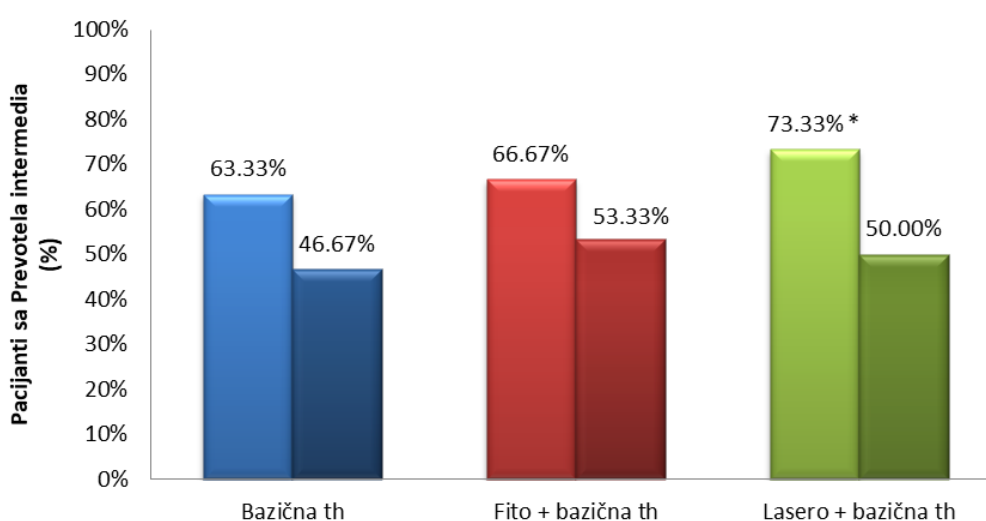
**Grafikon 19.** Ispitanici sa pozitivnim nalazom na patogenu bakteriju *Prevotella intermedia* pre terapije i kontrolna grupa

**Tabela 19.** Pozitivnost rezultata na patogenu bakteriju *Prevotella intermedia* pre i posle sprovedene terapije u terapijskim grupama (vrednosti su date u obliku % (pozitivni rezultati/broj ispitanika))

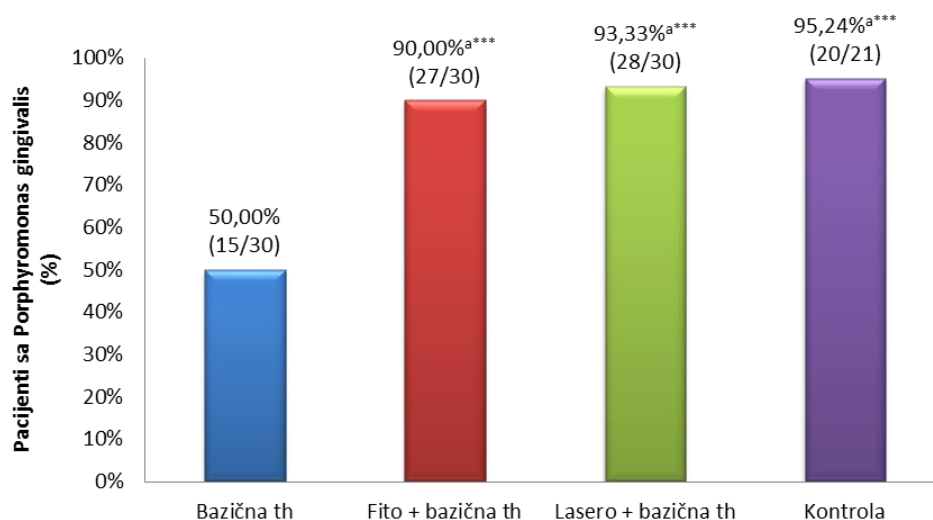
Period	Bazična terapija	Fito + bazična terapija	Lasero + bazična terapija
Pre	63,33% (19/30)	66,67% (20/30)	73,33% (22/30) <sup>C*</sup>
Posle	46,67% (14/30)	53,33% (16/30)	50,00% (15/30)

\* – p < 0,05

C – vs posle terapije



**Grafikon 20.** Ispitanici sa pozitivnim nalazom na patogenu bakteriju *Prevotella intermedia* u terapijskim grupama pre i posle terapije (\* – p < 0,05)



**Grafikon 21.** Ispitanici sa pozitivnim nalazom na patogenu bakteriju *Porphyromonas gingivalis* pre terapije i kontrolna grupa

\*\*\* – p < 0,001

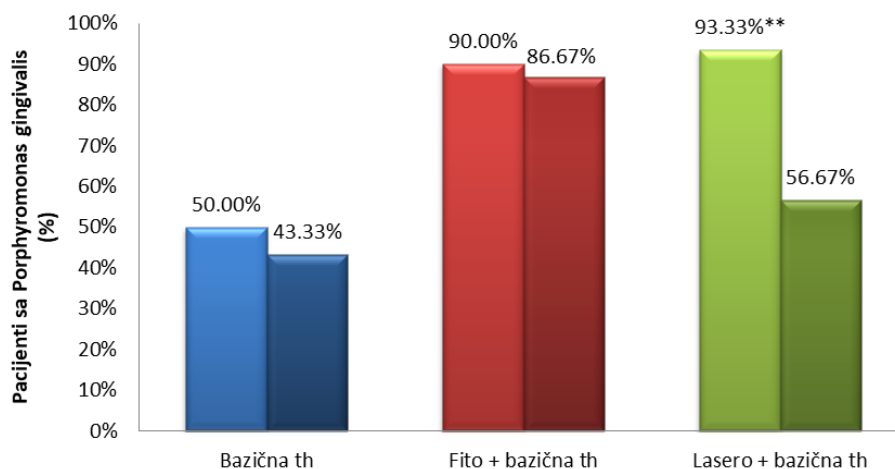
a – vs bazična terapija

**Tabela 20.** Pozitivnost rezultata na patogenu bakteriju *Porphyromonas gingivalis* pre i posle sprovedene terapije u terapijskim grupama (vrednosti su date u obliku % (pozitivni rezultati/broj ispitanika))

Period	Bazična terapija	Fito + bazična terapija	Lasero + bazična terapija
Pre	50,00% (15/30)	90,00% (27/30)	93,33% (28/30) <sup>C***</sup>
Posle	43,33% (13/30)	86,67% (26/30) <sup>a***c*</sup>	56,67% (17/30)

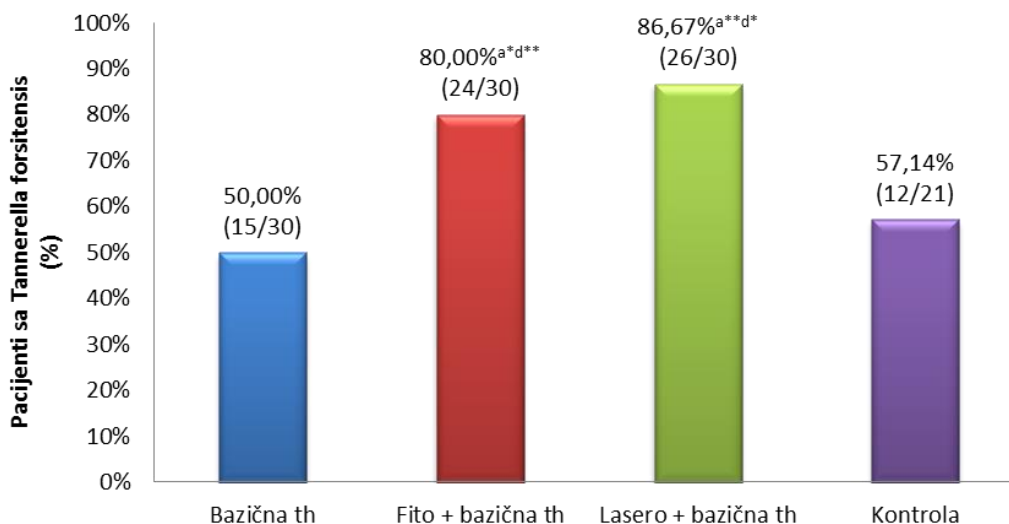
\* – p < 0,05, \*\* – p < 0,01, \*\*\* – p < 0,001

a – vs bazična terapija, c – vs lasero + bazična terapija, C – vs posle terapije



**Grafikon 22.** Ispitanici sa pozitivnim nalazom na patogenu bakteriju

*Porphyromonas gingivalis* u terapijskim grupama pre i posle terapije (\*\* – p < 0,01)



**Grafikon 23.** Ispitanici sa pozitivnim nalazom na patogenu bakteriju *Tannerella forsythensis* pre terapije i kontrolna grupa

\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$

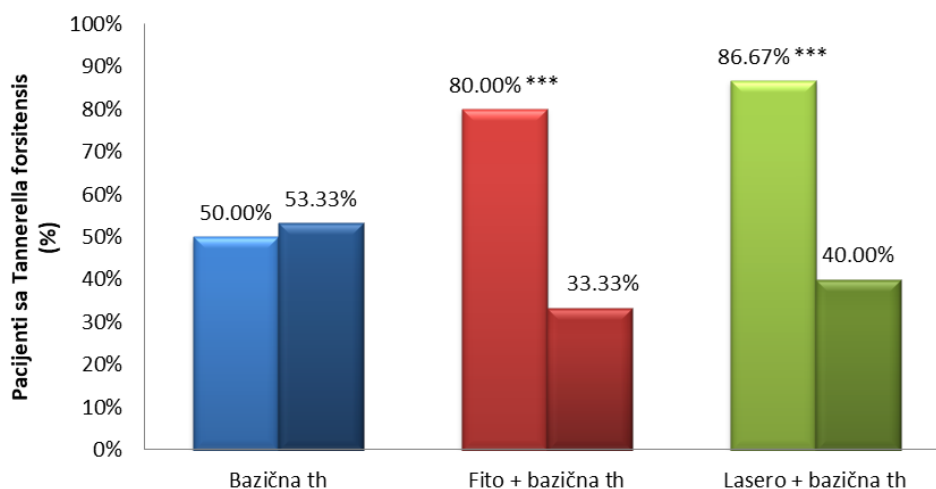
a – vs bazična terapija, d – vs kontrola

**Tabela 21.** Pozitivnost rezultata na patogenu bakteriju *Tannerella forsythensis* pre i posle sprovedene terapije u terapijskim grupama (vrednosti su date u obliku % (pozitivni rezultati/broj ispitanika))

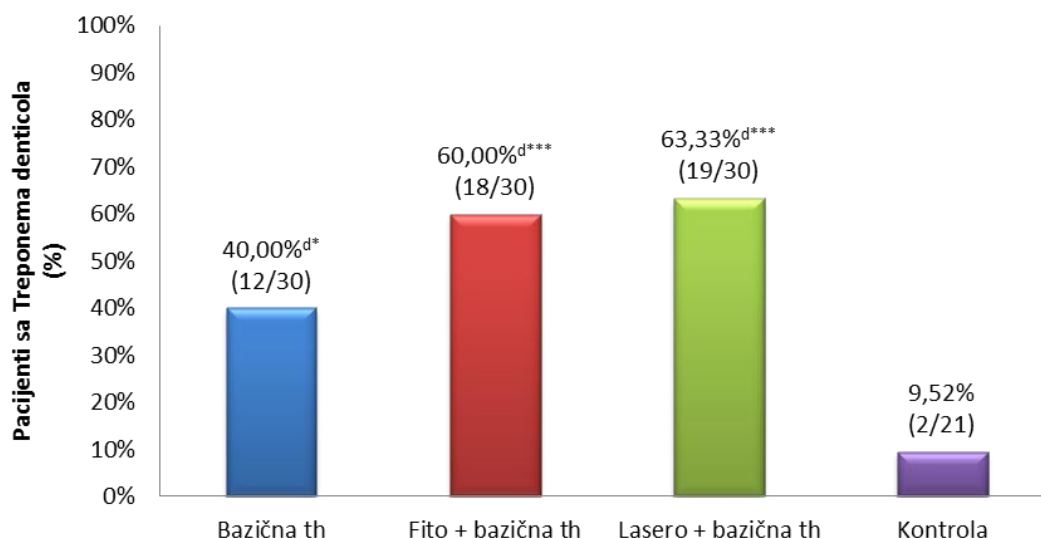
Period	Bazična terapija	Fito + bazična terapija	Lasero + bazična terapija
Pre	50,00% (15/30)	80,00% (24/30) <sup>C***</sup>	86,67% (26/30) <sup>C***</sup>
Posle	53,33% (16/30)	33,33% (10/30)	40,00% (12/30)

\*\*\* –  $p < 0,001$

C – vs posle terapije



**Grafikon 24.** Ispitanici sa pozitivnim nalazom na patogenu bakteriju *Tannerella forsythensis* u terapijskim grupama pre i posle terapije (<sup>\*\*\*</sup> –  $p < 0,001$ )



**Grafikon 25.** Ispitanici sa pozitivnim nalazom na patogenu bakteriju *Treponema denticola* pre terapije i kontrolna grupa

\* –  $p < 0,05$ , \*\*\* –  $p < 0,001$

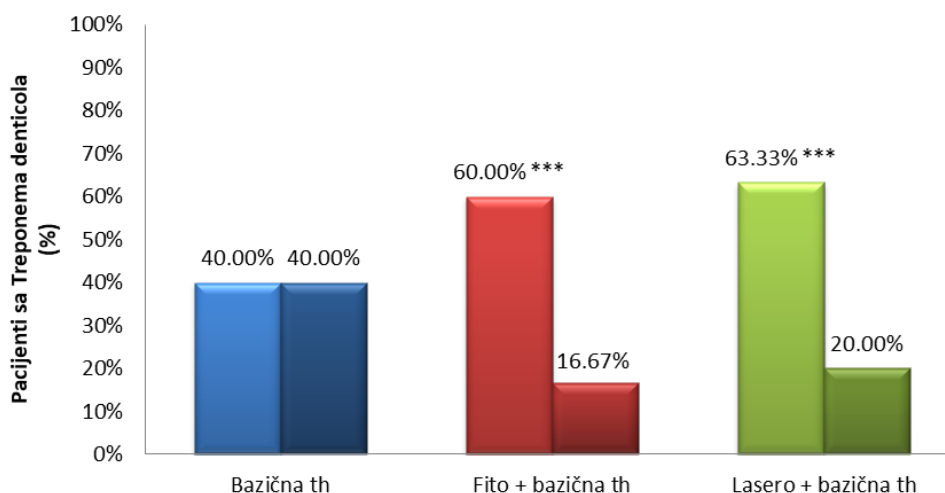
d – vs kontrola

**Tabela 22.** Pozitivnost rezultata na patogenu bakteriju *Treponema denticola* pre i posle sprovedene terapije u terapijskim grupama (vrednosti su date u obliku % (pozitivni rezultati/broj ispitanika))

Period	Bazična terapija	Fito + bazična terapija	Lasero + bazična terapija
Pre	40,00% (12/30)	60,00% (18/30) <sup>C***</sup>	63,33% (19/30) <sup>C***</sup>
Posle	40,00% (12/30)	16,67% (5/30)	20,00% (6/30)

\*\*\* –  $p < 0,001$

C – vs posle terapije



**Grafikon 26.** Ispitanici sa pozitivnim nalazom na patogenu bakteriju

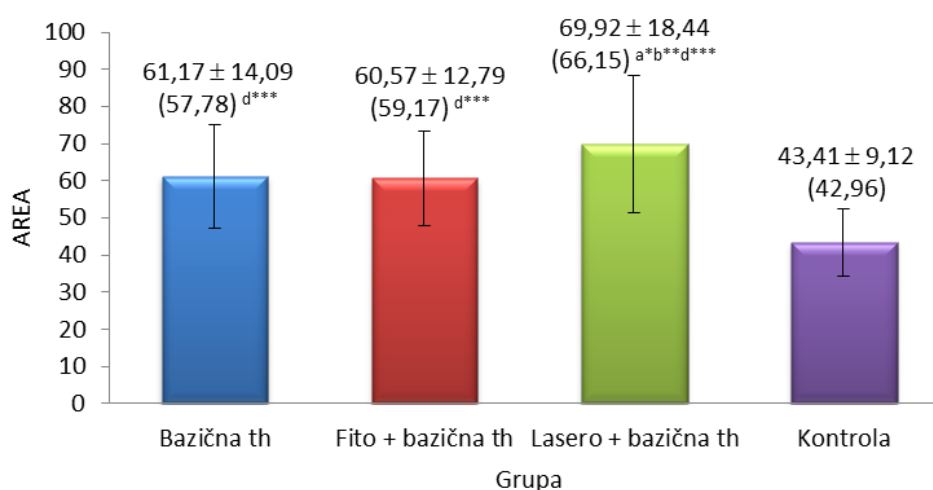
*Treponema denticola* u terapijskim grupama pre i posle terapije (\*\*\*) –  $p < 0,001$ )

## 5.4. Analiza citoloških i morfometrijskih ispitivanja

Citološki nalaz pre i posle: bazične, kombinovanih: bazične i fitoterapije, kao i bazične i laseroterapije i kontrolne grupe ispitanika prikazan je u prilogu 1 (slika P1-P7).

### Areal (površina) jedra (AREA)

Osnovni deskriptivni parametar *areal jedra* je projekciona površina, koja je definisana kao broj piksela, a prikazuje se u  $\mu\text{m}^2$ . U ispitivanim grupama pre početka terapije dat je na grafikonu 27. Vrednosti *areala jedara* statistički su značajno veće u svim terapijskim grupama ponaosob u odnosu na kontrolu –  $p < 0,001$ . Takođe, vrednosti *areala jedara* bile su najveće u grupi sa lasero + bazičnom terapijom, statistički značajno više no u grupi sa bazičnom ( $p < 0,05$ ), kao i fito + bazičnom terapijom ( $p < 0,01$ ).



**Grafikon 27.** *Areal jedara* u ispitivanim grupama i kontroli pre početka terapije (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

a – vs bazična terapija, b – vs fito + bazična terapija, d – vs kontrola,

\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ . \*\*\* –  $p < 0,001$  (Man - Vitnijev test)

Posle terapije, na osnovu podataka u tabeli 23 i na grafikonu 23, u svim terapijskim grupama, vrednosti *areala jedara* su statistički značajno niže no pre terapije:  $p < 0,05$  u grupi na bazičnoj, ali sa još većom statističkom značajnošću,  $p < 0,001$ , u grupama na bazičnoj i fito, kao i bazičnoj i laseroterapiji. Poređenjem *areala jedara* vrednosti posle terapije, utvrđeno je da je ova vrednost najviša u grupi na bazičnoj terapiji, statistički značajno viša u odnosu na ostale dve terapijske grupe ponaosob (Man-Witnijev test,  $p < 0,001$ ). Na osnovu iznetog konstatovano je da sve tri terapijske procedure nakon terapije dovode do statistički značajnog smanjenja *areala*



jedara. Najveće smanjenje *areala jedara* postignuto je kombinacijom lasero i bazične terapije (grafikon 28).

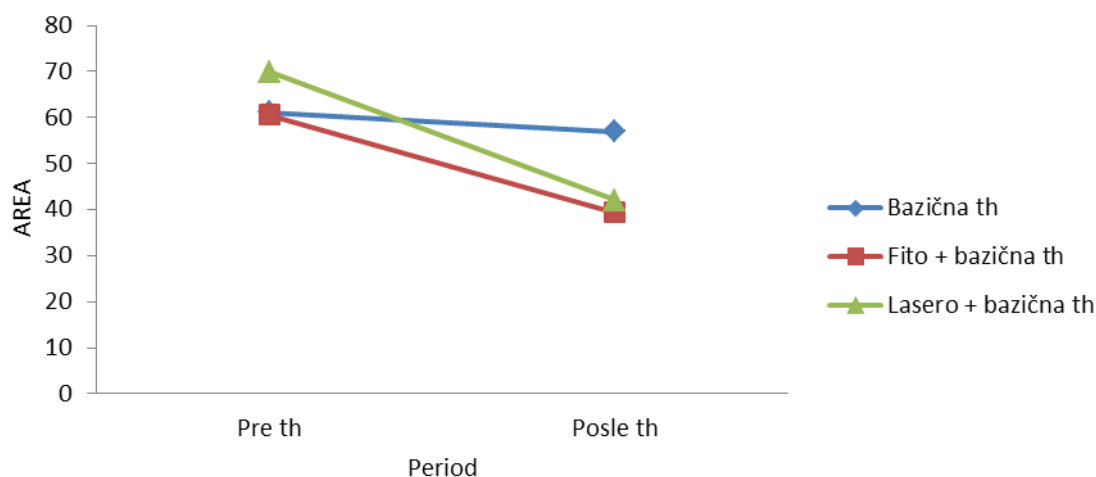
**Tabela 23.** Vrednosti *areala jedara* pre i posle sprovedene terapije u ispitivanim grupama (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija	Fito + bazična terapija	Lasero + bazična terapija
Pre terapije	$61,17 \pm 13,51^{C*}$ (59,02)	$60,82 \pm 12,59^{C***}$ (59,53)	$68,25 \pm 18,03^{C***}$ (65,55)
Posle terapije	$56,98 \pm 16,68^{bc***}$ (52,49)	$39,43 \pm 9,11$ (37,54)	$41,87 \pm 8,93$ (41,85)

C – vs posle terapije (Vilkoksonov test ranga),

b – vs fito + bazična terapija, c – vs lasero + bazična terapija (Man-Vitnijev test)

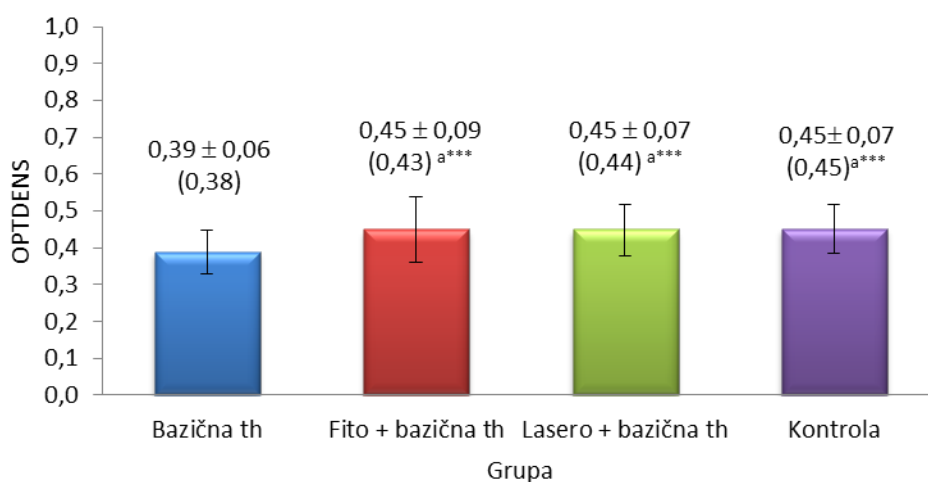
\* –  $p < 0,05$ , \*\*\* –  $p < 0,001$



**Grafikon 28.** Kretanje srednjih vrednosti *areala jedara* ispitanika u terapijskim grupama pre i posle terapije

### Optička gustina jedra (OPTDENS)

Na grafikonu 29 dat je osnovni deskriptivni parametar *optička gustina jedra* u ispitivanim grupama pre početka terapije. Vrednost *optičke gustine jedara* pre terapije u grupi na bazičnoj terapiji statistički je značajno niža no u ostale dve terapijske grupe i kontrolu –  $p < 0,001$ .



**Grafikon 29.** Optička gustina jedara u ispitivanim grupama i kontroli pre početka terapije (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

a– vs bazična terapija

\*\*\* –  $p < 0,001$  (Man - Vitnijev test)

Na osnovu podataka u tabeli 21 i na grafikonu 30, vrednosti *optičke gustine jedara* u okviru terapijskih grupa nisu se nakon terapije bitnije razlikovale u odnosu na vrednosti pre terapije iako je vrednost u grupi na bazičnoj terapiji nešto niža, a u ostale dve grupe nešto viša no pre terapije. Upoređujući vrednosti *optičke gustine jedara* posle terapije između grupa Man - Whitney testom potvrđeno je da su vrednosti u grupama na bazičnoj + fitoterapiji, kao i bazičnoj + lasero terapiji statistički značajno više u odnosu na vrednosti u grupi koja je samo na bazičnoj terapiji.

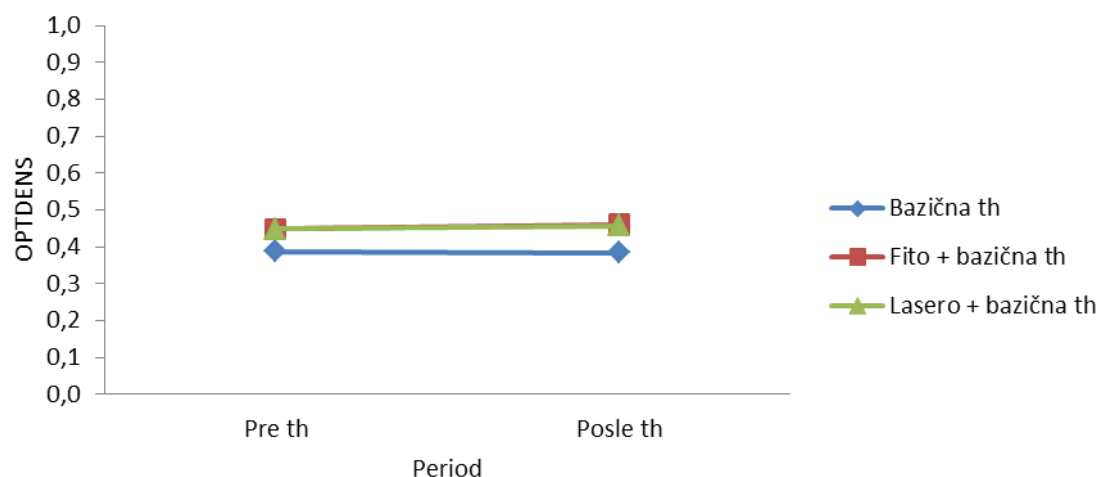
**Tabela 24.** Vrednosti *optičke gustine jedara* pre i posle sprovedene terapije u ispitivanim grupama

(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija	Fito + bazična terapija	Lasero + bazična terapija
Pre terapije	0,39 ± 0,06 (0,38)	0,45 ± 0,09 (0,43)	0,45 ± 0,07 (0,44)
Posle terapije	0,38 ± 0,07 (0,37)	0,46 ± 0,07 a*** (0,45)	0,46 ± 0,07 a*** (0,45)

a– vs bazična terapija

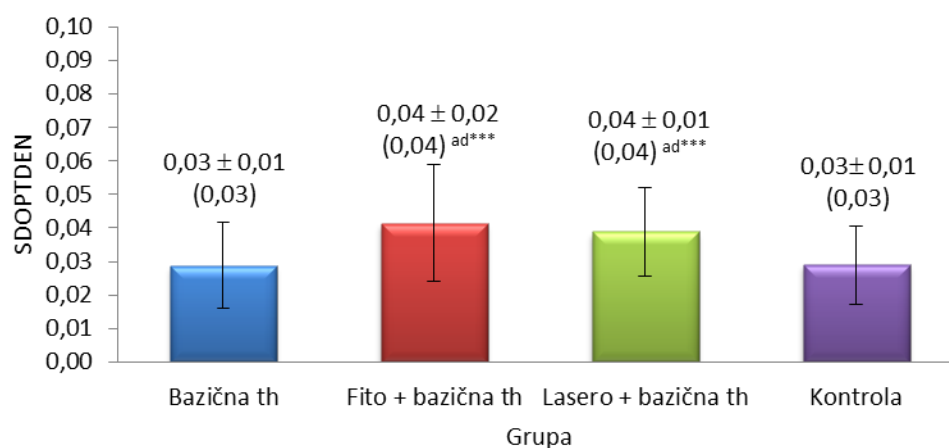
\*\*\* –  $p < 0,001$  (Man-Vitnijev test)



**Grafikon 30.** Kretanje srednjih vrednosti *optičke gustine jedra* u ispitivanim grupama pre i posle terapije

### Standardna devijacija optičke gustine jedra (SDOPTDEN)

Deskriptivni parametar *standardna devijacija optičke gustine jedra* u ispitivanim grupama pre terapije dat je na grafikonu 31. *Standardna devijacija optičke gustine jedra* pre terapije u grupama na fito i bazičnoj, kao i lasero i bazičnoj terapiji statistički je značajno većih vrednosti no u grupama na bazičnoj terapiji i kontroli ponaosob ( $p < 0,001$ ).



**Grafikon 31.** *Standardna devijacija optičke gustine jedra* ispitanika u terapijskim grupama i kontroli pre početka terapije

(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

a – vs bazična terapija, d – vs kontrola

\*\*\* –  $p < 0,001$  (Man-Vitnijev test)

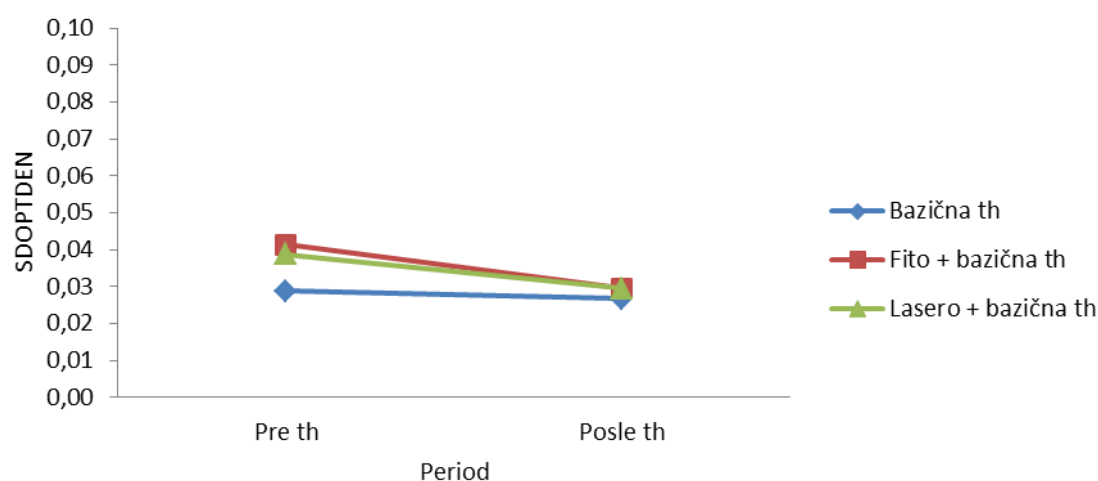
Posle završetka terapije nije bilo statistički značajnih razlika vrednosti *standardne devijacije optičke gustine jedara* između terapijskih grupa (tabela 32, grafikon 27). Takođe je utvrđeno je da su vrednosti posle terapije statistički značajno manje no pre terapije u grupama sa kombinovanom terapijom – fito i bazičnom, kao i lasero i bazičnom ( $p < 0,001$ ).

**Tabela 25.** Vrednosti *standardne devijacije optičke gustine jedara* pre i posle sprovedene terapije u terapijskim grupama  
(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija		Fito + bazična terapija		Lasero + bazična terapija	
Pre terapije	0,03 ± 0,01	(0,03)	0,04 ± 0,02 <sup>C***</sup>	(0,04)	0,04 ± 0,01 <sup>C***</sup>	(0,04)
Posle terapije	0,03 ± 0,01	(0,03)	0,03 ± 0,01	(0,03)	0,03 ± 0,01	(0,03)

C – vs posle terapije (Vilkoksonov test ranga, Studentov t-test uparenih uzoraka)

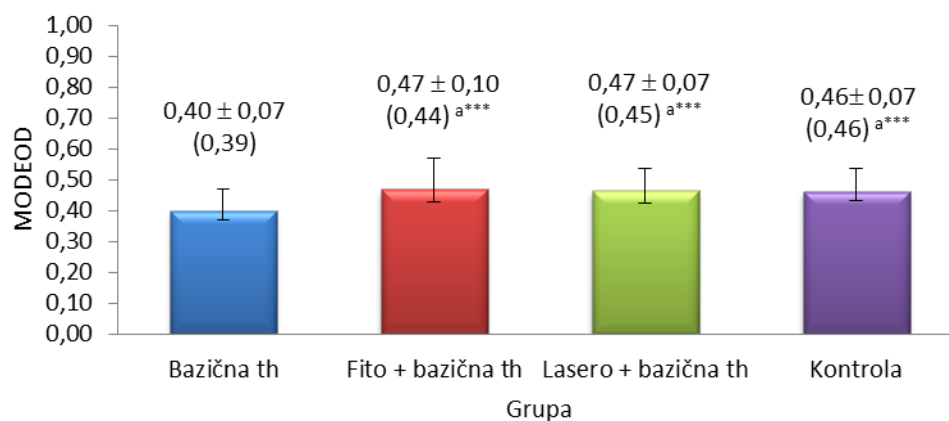
\*\*\* –  $p < 0,001$



**Grafikon 32.** Kretanje srednjih vrednosti *standardne devijacije optičke gustine jedara* ispitanika u terapijskim grupama pre i posle terapije

### Modna vrednost optičke gustine jedra - Mod (MODEOD)

Vrednosti osnovnog deskriptivnog parametara *mod* u ispitivanim grupama pre terapije date su na grafikonu 33. *Mod* pre terapije bio je statistički značajno niži u grupi na bazičnoj terapiji u odnosu na sve ostale grupe ponaosob ( $p < 0,001$ ).



**Grafikon 33.** *Mod* ispitanika u terapijskim grupama i kontroli pre početka terapije (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

a – vs bazična terapija

\*\*\* –  $p < 0,001$  (Man - Vitnjev test, Studentov t - test nezavisnih uzoraka)

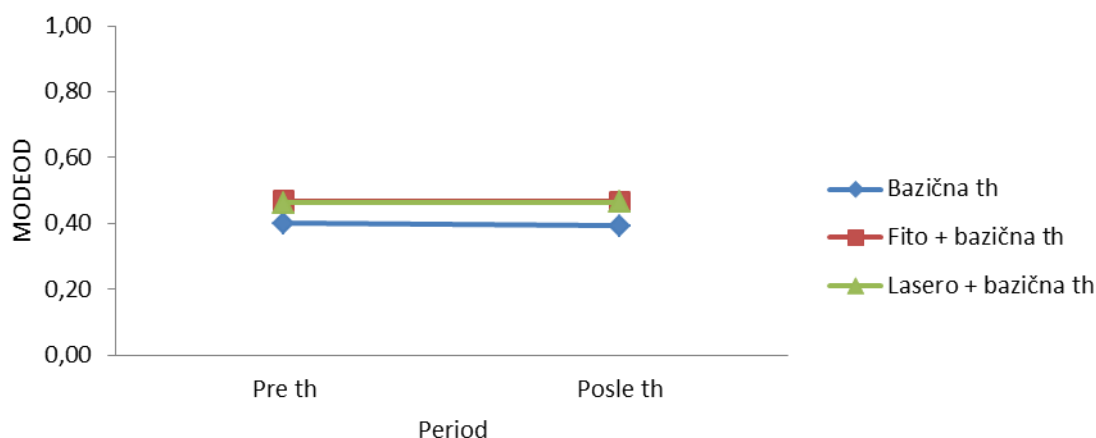
Nisu se bitnije razlikovale vrednosti *mod* posle terapije u poređenju sa vrednostima pre terapije. Posle terapije, kao što je bio slučaj i pre nje, vrednosti *mod* su bile statistički značajno veće u grupama na kombinovanim no u grupi koja je bila samo na bazičnoj terapiji ( $p < 0,001$ ) – (tabela 26, grafikon 34).

**Tabela 26.** Vrednosti *mod* pre i posle sprovedene terapije u terapijskim grupama (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija		Fito + bazična terapija		Lasero + bazična terapija	
Pre terapije	0,40 ± 0,07	(0,39)	0,47 ± 0,10	(0,44)	0,47 ± 0,07	(0,45)
Posle terapije	0,39 ± 0,08	(0,37)	0,47 ± 0,08 <sup>a***</sup>	(0,46)	0,47 ± 0,07 <sup>a***</sup>	(0,45)

a – vs bazična terapije (Man - Vitnjev test)

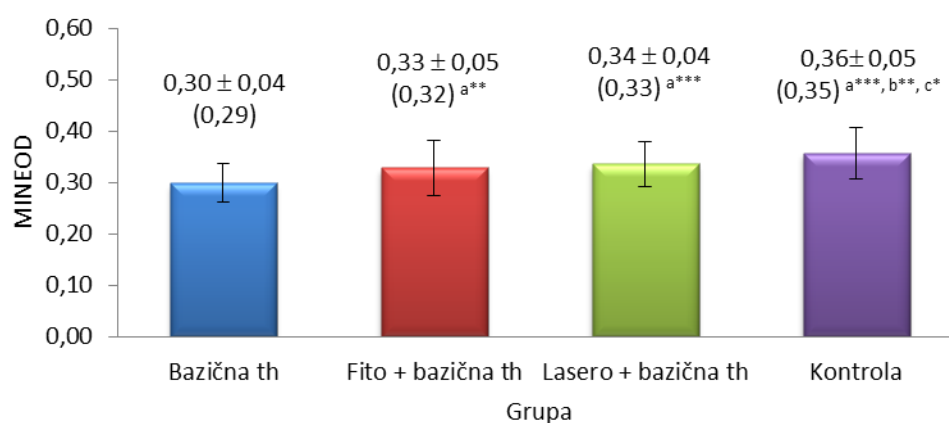
\*\*\* –  $p < 0,001$



**Grafikon 34.** Kretanje srednjih vrednosti *mod* ispitanika u terapijskim grupama pre i posle terapije

### Minimalna optička gustina jedra (MINEOD)

Osnovni deskriptivni parametar *minimalna optička gustina jedra* u ispitivanim grupama pre početka terapije dat su na grafikonu 35. *Minimalna optička gustina jedra* pre terapije je bila je statistički značajno niža u grupi na bazičnoj terapiji u odnosu na sve ostale grupe ponaosob  $p < 0,01$  u odnosu na fito + bazičnu, a  $p < 0,001$  u odnosu na lasero + bazičnu i u odnosu na kontrolnu grupu). Vrednost u kontrolnoj grupi bila je statistički veća i u odnosu na obe kombinovane terapije, bazičnu + fitoterapiju ( $p < 0,01$ ), te bazičnu + laseroterapiju ( $p < 0,05$ ).



**Grafikon 35.** MINEOD ispitanika u terapijskim grupama i kontroli pre početka terapije (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

a – vs bazična, b – vs fito + bazična terapije, c – vs lasero + bazična terapija

\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  (Student - ov test nezavisnih uzoraka, Man - Vitnjev test)

Dok je vrednost *minimalna optička gustina jedra* posle terapije u kontrolnoj grupi ostala ista kao i pre terapije, vrednosti su u odnosu na period pre terapije statistički više pri fito + bazičnoj terapiji ( $p < 0,01$ ), kao i pri lasero + bazičnoj terapiji ( $p < 0,05$ ). Posle terapije, vrednosti *minimalne optičke gustine jedara* bile su značajno veće u grupama sa kombinovanom terapijom no u grupi koja je bila samo na bazičnoj terapiji na nivou značajnosti od  $p < 0,001$  (tabela 27, grafikon 36).

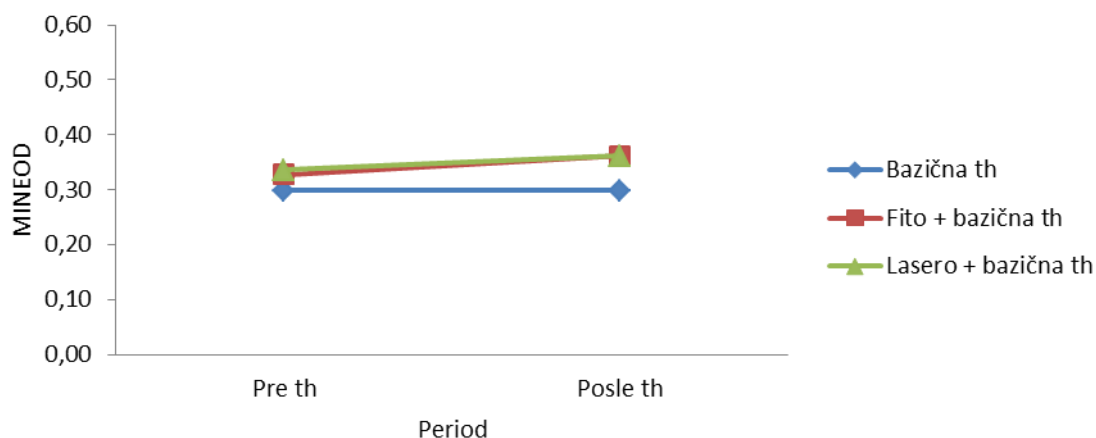
**Tabela 27.** Vrednosti *minimalne optičke gustine jedara* pre i posle sprovedene terapije u terapijskim grupama  
(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija		Fito + bazična terapija		Lasero + bazična terapija	
Pre terapije	$0,30 \pm 0,04$	(0,29)	$0,33 \pm 0,05$	(0,32)	$0,34 \pm 0,04$	(0,33)
Posle terapije	$0,30 \pm 0,05$	(0,29)	$0,36 \pm 0,05^{aC^{***}}$	(0,35)	$0,36 \pm 0,05^{a^{***} C^*}$	(0,35)

C – vs posle terapije

a– vs bazična terapija

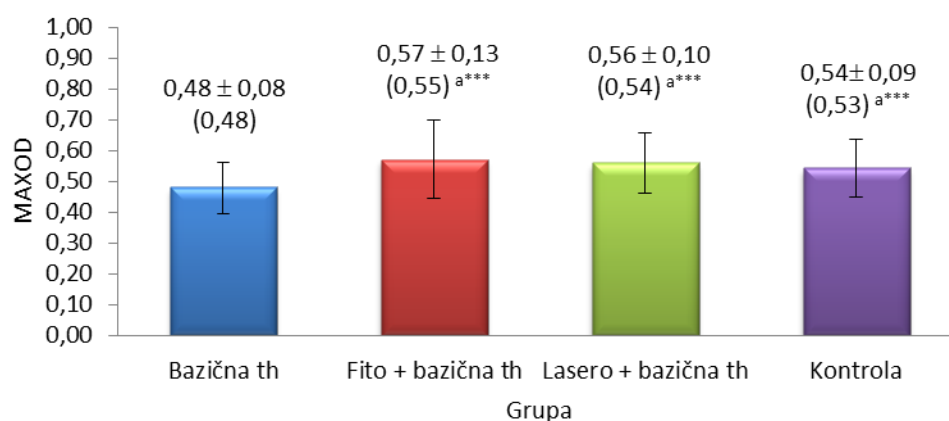
\* –  $p < 0,05$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  (Man - Vitnjev test)



**Grafikon 36.** Kretanje srednjih vrednosti *minimalne optičke gustine jedara* u ispitivanim grupama pre i posle terapije

### Maksimalna optička gustina jedra (MAXOD)

Na grafikonu 37 prikazani su osnovni deskriptivni parametri *maksimalne optičke gustine jedara* u ispitivanim grupama pre početka terapije. *Maksimalna optička gustina jedara* pre terapije bila je statistički značajno niža u grupi na bazičnoj terapiji u odnosu na sve ostale grupe ponaosob ( $p < 0,001$ ).



**Grafikon 37.** *Maksimalna optička gustina jedara* u ispitivanim grupama i kontroli pre početka terapije

(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

a – vs bazična terapija

\*\*\* –  $p < 0,001$  (Man - Vitnjev test)

U sve tri terapijske grupe posle terapije došlo je do smanjenja vrednosti u odnosu na vrednosti pre terapije, ali poređenjem vrednosti pre i posle terapije nisu utvrđene statistički značajne razlike (tabela 28, grafikon 38). Vrednosti *maksimalne optičke gustine jedara* posle terapije bile su statistički veće u obe grupe sa kombinovanom terapijom u odnosu na vrednost u grupi na bazičnoj terapiji ( $p < 0,001$ ).



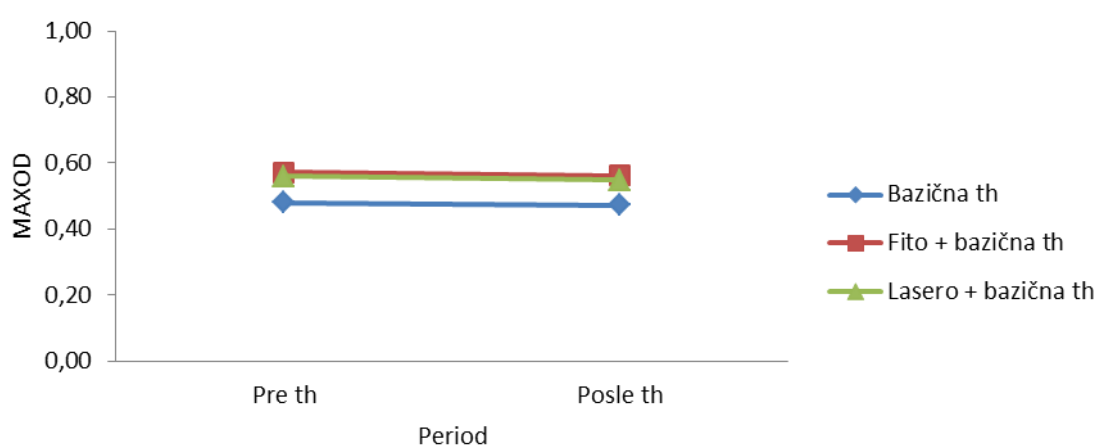
**Tabela 28.** Vrednosti *maksimalne optičke gustine jedara* pre i posle sprovedene terapije u terapijskim grupama

(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija		Fito + bazična terapija		Lasero + bazična terapija	
Pre terapije	$0,48 \pm 0,08$	(0,48)	$0,57 \pm 0,13$	(0,55)	$0,56 \pm 0,10$	(0,54)
Posle terapije	$0,47 \pm 0,08$	(0,46)	$0,56 \pm 0,10^{a***}$	(0,55)	$0,55 \pm 0,09^{a***}$	(0,52)

a – vs bazična terapija

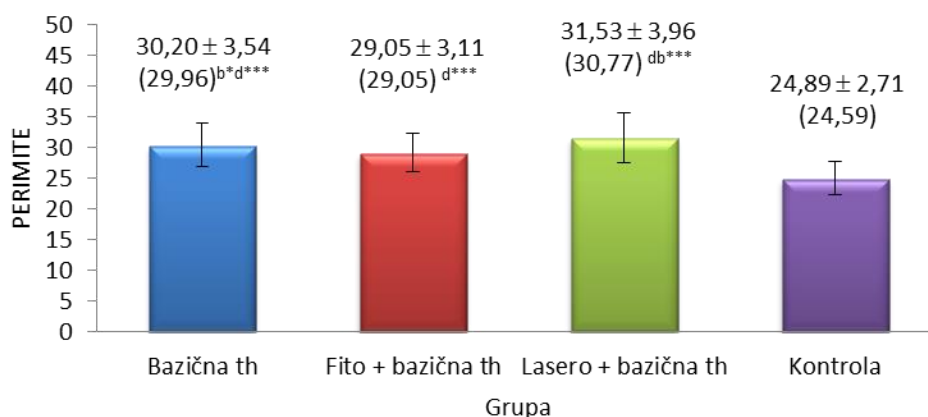
\*\*\* –  $p < 0,001$  (Man - Vitnijev test)



**Grafikon 38.** Kretanje srednjih vrednosti *maksimalne optičke gustine jedara* u ispitivanim grupama pre i posle terapije

### Obim jedra (perimeter) (PERIMITE)

Osnovni deskriptivni parametar *obim jedra (perimeter)*, izražava se u  $\mu\text{m}$ . U ispitivanim grupama pre početka terapije prikazan je na grafikonu 39. *Obim jedara* pre terapije je statistički značajno viši u svim terapijskim grupama ponaosob u odnosu na kontrolu, kao i u grupi na lasero + bazičnoj terapiji u odnosu na grupu na bazičnoj + fito terapiji ( $p < 0,001$ ). Takođe je i vrednost u grupi na bazičnoj terapiji statistički značajno viša u odnosu na grupu na fito + bazičnoj terapiji ( $p < 0,05$ ).



**Grafikon 39.** *Obim jedara* ispitanika u terapijskim grupama i kontroli pre početka terapije (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

a – vs bazična, b – vs bazična + fito terapije

\* –  $p < 0,05$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  (Student test nezavisnih uzoraka, Man - Vitnijev test)

U poređenju sa vrednostima pre terapije, vrednosti *obima jedara* posle terapije bile su statistički niže u obe grupe sa kombinovanom terapijom ( $p < 0,001$ ), ali i u grupi na bazičnoj terapiji, ali sa nižim nivoom statističke značajnosti ( $p < 0,05$ ) – tabela 29.

Najveća vrednost posle terapije bila je u grupi na bazičnoj terapiji, statistički značajno veća u odnosu na obe grupe na kombinovanoj terapiji ponaosob ( $p < 0,001$ ), dok je vrednost u grupi na lasero + bazičnoj terapiji statistički značajno viša no u grupi na fito + bazičnoj terapiji ( $p < 0,01$ ) - (tabela 29, grafikon 40).

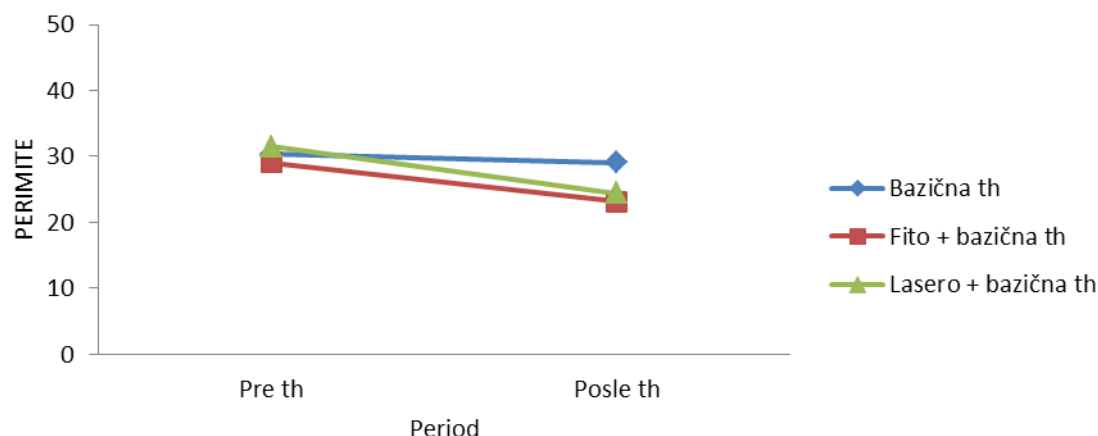
**Tabela 29.** Vrednosti *obima jedara* pre i posle sprovedene terapije u terapijskim grupama (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija		Fito + bazična terapija		Lasero + bazična terapija	
Pre terapije	30,20 ± 3,54 <sup>C*</sup>	(29,96)	29,05 ± 3,11 <sup>C***</sup>	(29,05)	31,53 ± 3,96 <sup>C***</sup>	(30,77)
Posle terapije	29,03 ± 3,94 <sup>bc***</sup>	(28,39)	23,14 ± 2,70	(22,92)	24,44 ± 2,71 <sup>b**</sup>	(24,17)

C – vs posle terapije (Vilkoksonov test ranga, Studentov t - test uparenih uzoraka)

b – vs fito + bazična terapija, c – vs lasero + bazična terapija (Man - Vitnijev test, Studentov t - test nezavisnih uzoraka)

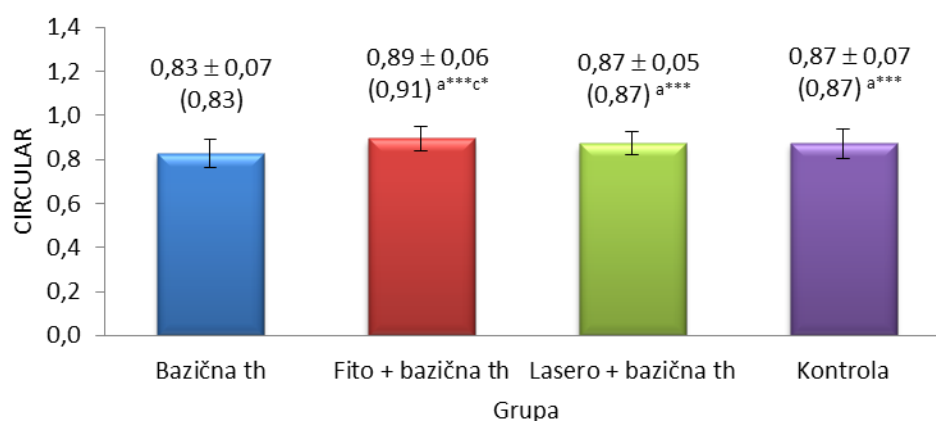
\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$



**Grafikon 40.** Kretanje srednjih vrednosti *obima jedara* ispitanika u terapijskim grupama pre i posle terapije

### Cirkularnost jedra (CIRCULAR)

Vrednosti osnovnog deskriptivnog parametara *cirkularnosti jedra* u ispitivanim grupama pre početka terapije date su na grafikonu 41. *Cirkularnost jedra* ima vrednost 1 za krug, dok je za ostale oblike manja od 1. *Cirkularnost jedra* pre terapije je statistički značajno niža u grupi na bazičnoj terapiji u odnosu na sve ostale grupe ponaosob ( $p < 0,001$ ). *Cirkularnost jedra* ima najviše vrednosti u grupi na fito + bazičnoj terapiji, statistički je značajno viša i u odnosu na grupu na lasero + bazičnoj terapiji ( $p < 0,05$ ).



**Grafikon 41.** *Cirkularnost jedra* ispitanika u terapijskim grupama i kontroli pre početka terapije (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

a – vs bazična, c– vs lasero + bazična terapija

\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  (Student test nezavisnih uzoraka, Man - Vitnijev test)

U poređenju sa vrednostima pre terapije, vrednost *cirkularnosti jedara*, posle terapije, statistički je značajno viša jedino u grupi na fito + bazičnoj terapiji ( $p < 0,05$ ).

Najveća vrednost posle terapije ostala je u grupi na fito + bazičnoj terapiji, statistički značajno je veća u odnosu na grupu na bazičnoj terapiji, kao i lasero + bazičnoj terapiji ( $p < 0,05$ ). Vrednost *cirkularnosti jedara* u grupi na lasero + bazičnoj terapiji takođe je statistički značajno viša no u grupi na bazičnoj terapiji ( $p < 0,001$ ) – tabela 30, grafikon 42.

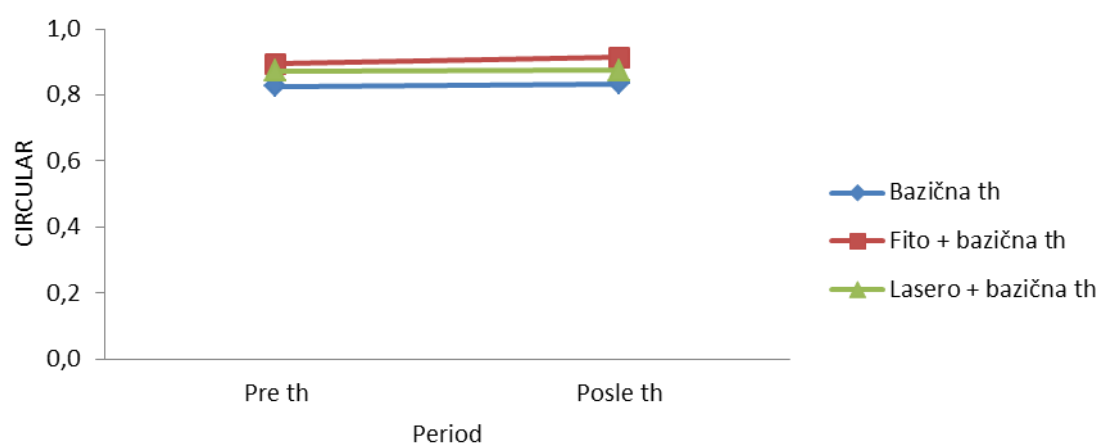
**Tabela 30.** Vrednosti *cirkularnosti jedara* pre i posle sprovedene terapije u terapijskim grupama (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija		Fito + bazična terapija		Lasero + bazična terapija	
Pre terapije	$0,83 \pm 0,07$	(0,83)	$0,89 \pm 0,06$	(0,91)	$0,87 \pm 0,07$	(0,87)
Posle terapije	$0,83 \pm 0,07$	(0,84)	$0,91 \pm 0,05^{C*ac***}$	(0,93)	$0,88 \pm 0,06^{a***}$	(0,89)

C – vs posle terapije (Vilkoksonov test ranga),

a – vs bazična, c – vs lasero + bazična terapija (Man - Vitnjev test, Studentov t - test nezavisnih uzoraka)

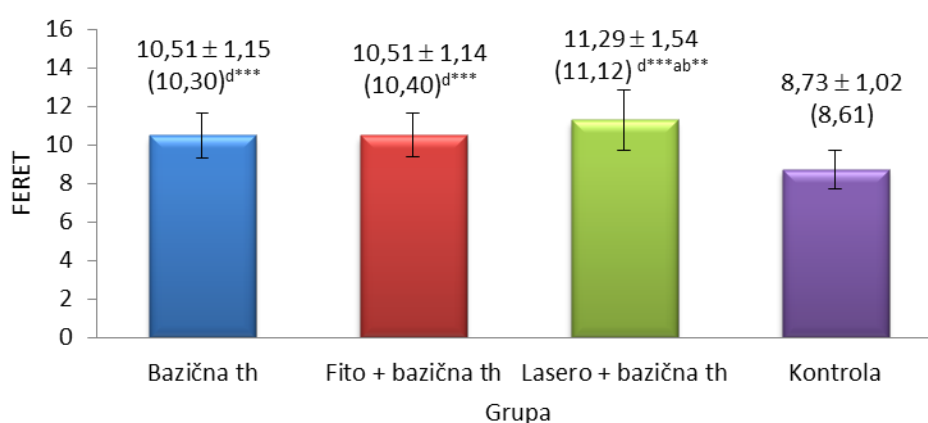
\* –  $p < 0,05$ , \*\*\* –  $p < 0,001$



**Grafikon 42.** Kretanje srednjih vrednosti *cirkularnosti jedara* ispitanika u terapijskim grupama pre i posle terapije

### Feret-ov dijametar (FERET)

Osnovni deskriptivni parametar *Feret-ov dijametar* u ispitivanim grupama pre početka terapije dat je na grafikonu 43. *Feret-ov dijametar* je maksimalno rastojanje između bilo koje dve tačke na konturi jedra, izražava se u  $\mu\text{m}$ . Najniža vrednost *Feret-ovog dijametra* pre terapije je u kontrolnoj grupi i statistički je niža no u svim grupama terapije ponaosob ( $p < 0,001$ ). *Feret-ov dijametar* je najviše vrednosti u grupi na lasero + bazičnoj terapiji koja je statistički značajno viša u odnosu na grupu na fito + bazičnoj terapiji ( $p < 0,01$ ) i u odnosu na grupu na bazičnoj terapiji ( $p < 0,001$ ).



**Grafikon 43.** *Feret-ov dijametar* ispitanika u terapijskim grupama i kontroli pre početka terapije (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

a – vs bazična, b– vs fito + bazična terapija, d – vs kontrola

\*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  (Student test nezavisnih uzoraka)

Poredeći sa vrednostima pre terapije, vrednosti *Feret-ovog dijametra* posle terapije statistički su značajno niže u svim terapijskim grupama, pri čemu je statistička značajnost znatno viša u grupama sa kombinovanom terapijom ( $p < 0,001$ ), no u grupi na bazičnoj terapiji ( $p < 0,05$ ). Najveće smanjenje srednje vrednosti je u grupi na lasero + bazičnoj terapiji.

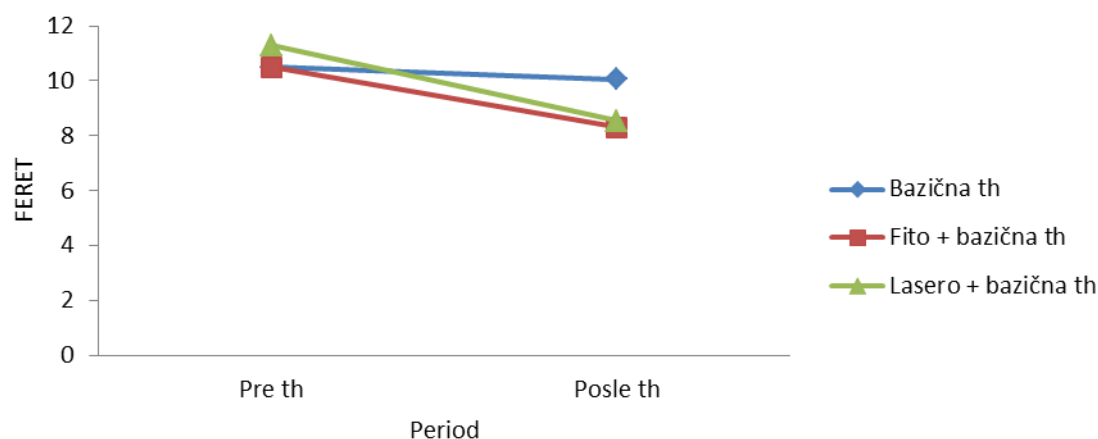
Najveća vrednost posle terapije je u grupi na bazičnoj terapije i ona je statistički značajno viša no u ostale dve grupe na kombinovanim terapijama ponaosob ( $p < 0,001$ ) – tabela 31, grafikon 44.

**Tabela 31.** Vrednosti *Feret-ovog dijametra* pre i posle sprovedene terapije u terapijskim grupama

(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija	Fito + bazična terapija	Lasero + bazična terapija
Pre terapije	$10,51 \pm 1,16^{C*}$ (10,30)	$10,51 \pm 1,14^{C***}$ (10,40)	$11,19 \pm 1,54^{C***}$ (11,12)
Posle terapije	$10,07 \pm 1,36^{bc***}$ (9,83)	$8,30 \pm 0,98$ (8,21)	$8,54 \pm 0,88$ (8,28)

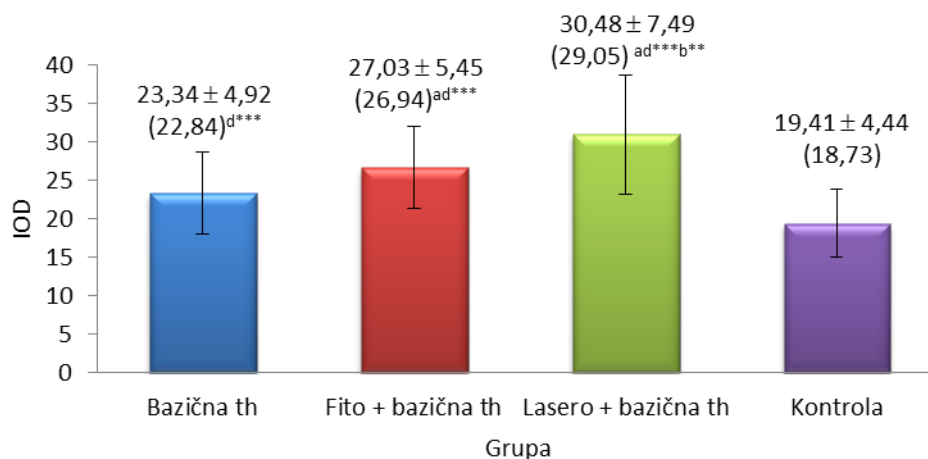
C – vs posle terapije (Vilkoksonov test ranga)  
 b – vs fito + bazična terapija, c – vs lasero + bazična terapija (Man - Vitnjev test)  
 \* –  $p < 0,05$ , \*\*\* –  $p < 0,001$



**Grafikon 44.** Kretanje srednjih vrednosti *Feret-ovog dijametra* ispitanika u terapijskim grupama pre i posle terapije

### Integrirana optička gustina jedra (IOD)

*Integrirana optička gustina jedra* je suma individualnih optičkih gustina OD svakog piksela u arealu koji se meri i izražava u arbitrarnim jedinicama (au). Na osnovu deskriptivnih parametara datim na grafikonu 45, pre terapije, najviše vrednosti *integrirane optičke gustine jedara* su nađene u grupi na lasero + bazičnoj terapiji, pri čemu je statistički značajno viša u odnosu na grupu na fito + bazičnoj terapiji ( $p < 0,01$ ), kao i u odnosu na grupu na bazičnoj terapiji i kontrolnu grupu ( $p < 0,001$ ). U kontrolnoj grupi je vrednost *integrirane optičke gustine jedara* najniža, statistički značajno niža u odnosu na sve terapijske grupe ( $p < 0,001$ ). Vrednost ovog parametra pre terapije statistički je značajno viša i u grupi na fito + bazičnoj terapiji u odnosu na grupu koja je isključivo na bazičnoj terapiji ( $p < 0,001$ ).



**Grafikon 45.** *Integrisana optička gustina jedara* u ispitivanim grupama i kontroli pre početka terapije

(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

a – vs bazična, b – vs fito + bazična terapija, d – vs kontrola

\*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  (Student test nezavisnih uzoraka, Man - Vitnjev test)

Posle terapije, u poređenju sa vrednostima pre terapije, u svim terapijskim grupama vrednosti *integrisane optičke gustine jedara* su statistički značajno niže, a veći nivoi statističke značajnosti ostvareni su u grupama sa kombinovanom terapijom ( $p < 0,001$ ) no u grupi na bazičnoj terapiji ( $p < 0,05$ ). Najznačajnije smanjenje ostvareno je u grupi na lasero + bazičnoj terapiji.

Vrednost *integrisane optičke gustine jedara* u ispitivanim grupama posle terapije najveća je u grupi na bazičnoj terapiji i statistički značajno viša u odnosu na grupu na lasero + bazičnoj terapiji ( $p < 0,05$ ), kao i grupu na fito + bazičnoj terapiji ( $p < 0,001$ ), koja je i najniža u ovom poređenju – tabela 32, grafikon 46.

**Tabela 32.** Vrednosti *integrisane optičke gustine jedara* pre i posle sprovedene terapije u ispitivanim grupama

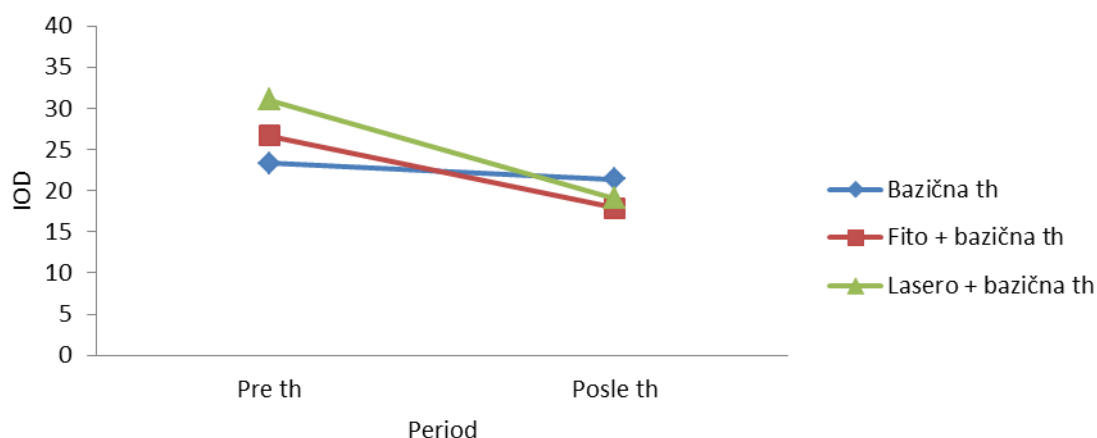
(vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija	Fito + bazična terapija	Lasero + bazična terapija
Pre terapije	$23,32 \pm 5,30^C*$ (22,44)	$26,68 \pm 5,29^{C***}$ (26,02)	$31,00 \pm 7,74^{C***}$ (29,26)
Posle terapije	$21,40 \pm 5,58^{b***c*}$ (20,55)	$17,86 \pm 4,01$ (17,25)	$19,06 \pm 4,30$ (18,71)

C – vs posle terapije (Vilkoksonov test ranga)

b – vs fito + bazična terapija, c – vs lasero + bazična terapija (Man - Vitnjev test)

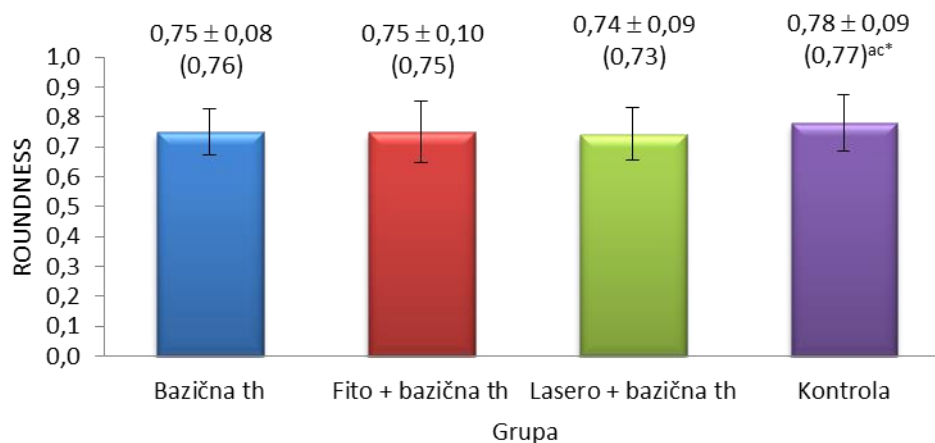
\* –  $p < 0,05$ , \*\*\* –  $p < 0,001$



**Grafikon 46.** Kretanje srednjih vrednosti *integrisane optičke gustine jedara* u ispitivanim grupama pre i posle terapije

### Zaobljenost jedra (ROUNDNESS)

Na osnovu deskriptivnih parametara datim na grafikonu 47 evidentno je da su vrednosti *zaobljenosti jedara* slične u terapijskim grupama, a da je vrednost u kontrolnoj grupi statistički značajno viša u odnosu na grupu na bazičnoj i lasero + bazičnoj terapiji ponaosob ( $p < 0,05$ ).



**Grafikon 47.** *Zaobljenost jedara* ispitanika u terapijskim grupama i kontroli pre početka terapije (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

c– vs lasero terapije

\* –  $p < 0,05$  (Student test nezavisnih uzoraka)



Vrednosti *zaobljenosti jedara* nakon terapije (tabela 33, grafikon 48) ukazuju da su u porastu u odnosu na vrednosti pre terapije. Statistički značajno veće su vrednosti posle no pre terapije u grupi na fito + bazičnoj ( $p < 0,01$ ) i lasero + bazičnoj terapiji ( $p < 0,05$ ).

Posle terapije u terapijskim grupama je vrednost *zaobljenosti jedara* najniža u grupi na bazičnoj terapiji, statistički značajno niža u odnosu na grupu na fito + bazičnoj terapiji u kojoj je vrednost ovog parametra i najviša ( $p < 0,01$ ).

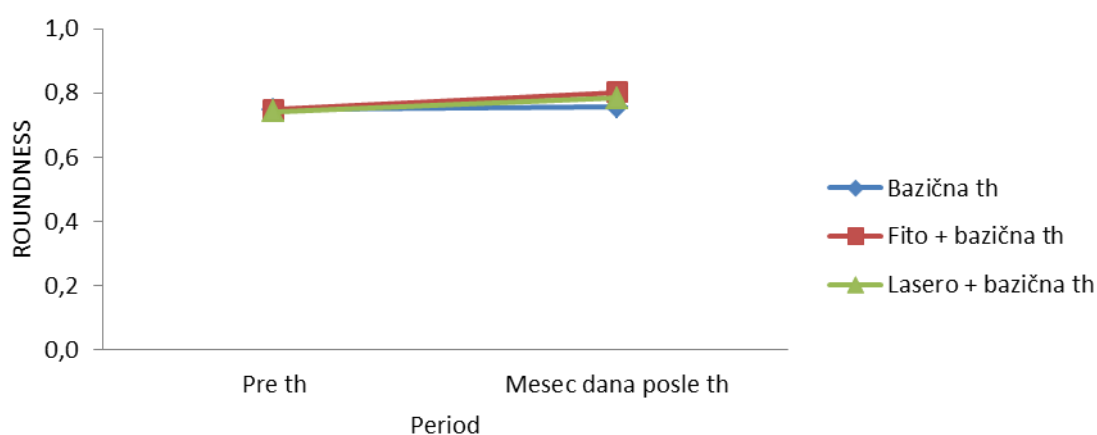
**Tabela 33.** Vrednosti *zaobljenosti jedara* pre i posle sprovedene terapije u terapijskim grupama (vrednosti su date u obliku  $X \pm SD$  (Me))

Period	Bazična terapija		Fito + bazična terapija		Lasero + bazična terapija	
Pre terapije	$0,75 \pm 0,08$	(0,76)	$0,75 \pm 0,10$	(0,75)	$0,74 \pm 0,09$	(0,77)
Posle terapije	$0,76 \pm 0,09$	(0,76)	$0,80 \pm 0,09^{aC**}$	(0,81)	$0,79 \pm 0,10^{C*}$	(0,78)

C – vs pre terapije (Student test zavisnih uzoraka)

a– vs bazična terapija (Student test nezavisnih uzoraka)

\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$



**Grafikon 48.** Kretanje srednjih vrednosti *zaobljenosti jedara* ispitanika u terapijskim grupama pre i posle terapije

## 6. DISKUSIJA

---

Pravilno indikovana i obavljena terapija parodontopatije je od izuzetnog značaja za čitavu ljudsku populaciju, zbog toga što ovo oboljenje zahvata preko 90% svetskog stanovništva (258). Decenijama unazad, parodontopatija predstavlja najveći izazov oralnom zdravlju i kvalitetu života čitavoj populaciji (259). Poznato je da bazična (kauzalna) terapija parodontopatije, predstavlja najefikasniji pristup lečenju, metodom eliminacije glavnog etiološkog faktora - dentalnog plaka sa anaerobnim bakterijama (260). Međutim, invazivni pristup, konvencionalna terapija koja obradom parodontalnog džepa pravi ranu u već inflamiranom tkivu, pa brzina zarastanja (restauracije) nakon ove terapije, zavisi od imunog odgovora domaćina na ćelijskom i molekularnom nivou (261, 262). Obzirom da je rezistentnost bakterijskih sojeva u porastu zbog preteranog korišćenja antibiotske terapije u različite svrhe (263), potrebno je ispitati različite terapijske modalitete koji bi doprineli boljim rezultatima u lečenju. Laseroterapija je jedna od dodatnih metoda u bazičnoj terapiji parodontopatije (264) zbog svojih antiinflamatornih i antiedematoznih osobina, ali i biljni preparati poseduju antiseptična i antibakterijska svojstva koja mogu značajno poboljšati bazičnu terapiju parodontalnog oboljenja.

Za razliku od termalnih efekata koje proizvode laseri velike snage (hard laseri), terapija laserima male snage (LLLT - low level laser therapy) preporučuje se zbog njihove fotohemijske uloge kod antinflatornih, biostimulatornih i analgetskih efekata obzirom na njihovu nisku izlaznu snagu (u mW), niskoenergetsko doziranje ( $10^{-2}$  -  $10^2$  J/cm<sup>2</sup>) i primenjenu talasnu dužinu (600 - 1000 nm) (265 - 268). Za razliku od njih visokoenergetski laseri, mogu izazvati oštećenje tkiva tokom obrade parodontalnih džepova (269), dok pri upotrebi lasera male snage nisu zabeleženi neželjeni efekti. Niskoenergetski laseri su poznati kao soft i terapijski laseri, koji se koriste u terapiji oboljenja mekih tkiva i ne prouzrokuju oscilacije temperature kao visokoenergetski laseri (266 - 268). Najčešće korišćeni tip niskoenergetskog lasera jeste He - Ne laser i sve popularniji diodni laseri (GaAlAs laser, InGaAlP laser i drugi) (266).

Lekovito bilje se vekovima unazad primenjuje u profilaksi i terapiji mnogih oboljenja. Zahvaljujući dejstvu svojih aktivnih principa, ali i zbog svoje blagotvornosti i efikasnosti, preparati na bazi lekovitog bilja su sve zastupljeniji u savremenoj terapiji (270). Razvojem eksperimentalne farmakognozije, ovi preparati dobijaju i naučnu potvrdu o svojoj delotvornosti, pa danas postoji sve veći interes za njihovu primenu zbog njihovog terapijskog

dejstva zasnovanog na prirodnoj osnovi (271). Korišćenje biljnih preparata je novi trend u prevenciji i terapiji parodontopatije. Prilikom primene biljnih preparata treba biti obazriv, jer neki od lekova koji se primenjuju u terapiji parodontopatije, mogu dovesti do poremećaja oralne mikrobne flore, ali i uzrokovati prebojavanje zuba (64, 272, 273).

Zbog toga je sve intenzivnija potraga za prirodnim produktima ili fitohemikalijama koje mogu da se koriste kao terapeutici i koji mogu da saniraju inflamaciju, kao i da pariraju lekovima koji su dostupni, a imaju neželjne efekte (270). Bioaktivne supstance u biljnim vrstama kao što su fenolne kiseline, flavonoidi, tanini, terpeni, alkaloidi i druge su pokazale svoju antimikrobnu i antiinflamatornu efikasnost (199). Biljne vrste roda *Salvia L.*, porodice Lamiaceae, naročito *Salvia officinalis* su dobro poznate zbog svojih aktivnih jedinjenja i učestvuju u redukciji inflamacije i inhibiciji rasta dentalnog plaka, kao i profilaksi karijesnih lezija (274 - 276). U ovom istraživanju kombinovana je bazična terapija sa fitoterapijom, obzirom na brojne benefite biljnih lekovitih vrsta na terapiju parodontopatije. Korišćena je Tinktura paradontoica® koja sadrži: *Tinct. Calendulae*, *Tinct. Millefolii*, *Tinct. Origani*, *Tinct. Polygoni*, *Tinct. Salviae*, *Tinct. Tormentillae* i *Aetheroleum Menthae x pipervitae*.

Ispitivane grupe u ovom istraživanju se nisu razlikovale po polu, ali je nađena statistički značajna razlika u godinama starosti između kontrolne grupe i ispitivanih grupa ( $p < 0,001$ , Mann - Vitnjev test), zbog toga što je kontrolna grupa limitirana na mlade ispitanike zbog činjenice da su parodontalno zdravi ispitanici uglavnom pripadnici mlađe populacije.

Da bi se procenilo stanje potpornog aparata zuba pre i posle bazične i kombinovanih (fito- i lasero-) terapija parodontopatije, korišćeni su indeksi oralne higijene, gingivalni i parodontalni indeksi.

Pre terapije vrednosti plak indeksa bile su visoke i to  $1,92 \pm 0,56$  (I grupa = bazična th),  $1,93 \pm 0,68$  (II grupa = bazična + fito) i  $1,93 \pm 0,58$  (III grupa = bazična + lasero), a nakon terapije u sve tri grupe Pli je bio 0. Treba zapaziti da je mesec dana posle sprovedene terapije najveća vrednost Pli kod ispitanika sa bazičnom terapijom, nešto niža pri kombinaciji fito i bazične terapije, a najniža pri kombinaciji lasero i bazične terapije. Poređenjem vrednosti mesec dana posle sprovedene terapije Man - Vitnjev testom, utvrđeno je da je vrednost Pli statistički značajno viša u grupi sa bazičnom u odnosu na grupu sa kombinacijom lasero i bazične terapije ( $p < 0,05$ ). Što se tiče indeksa zubnog kamenca i indeksa konkremenata nakon 5. terapijske procedure, u svim terapijskim grupama vrednosti ovog parametra su svedene na nulu, a na tom nivou su ostale i mesec dana posle terapije.

Ovaj nalaz sugerira na veliki značaj parodontalne terapije, kao i motivaciju pacijenata i ukazuje na značaj edukacije o pravilnom načinu održavanja oralne higijene (277). Evidentno je da je došlo do značajnog poboljšanja indeksa oralne higijene nakon svih terapijskih procedura, ali su najbolji rezultati bili kod kombinovane lasero + bazične terapije. Smatra se da primenom laseroterapije dolazi i do smanjenja akumulacije oralnog biofilma (254, 278). Nije razjašnjeno da li se ovo javlja usled smanjenja stepena inflamacije ili usled samostalnog dejstva lasera, ali se ne isključuje mogućnost da su ovi pacijenti dodatno motivisani da bolje održavaju oralnu higijenu, što i jeste osnova dobrog parodontalnog zdravlja.

Indeks krvarenja i gingivalni indeks koreliraju, tako da ih možemo nazvati jednim imenom-gingivalni indeksi. U ovom istraživanju posle 5. terapijske procedure evidentno je statistički značajno smanjenje njihovih vrednosti u svim terapijskim grupama u odnosu na rezultat pre terapije ( $p < 0,001$ ). Mesec dana posle terapije došlo je do porasta vrednosti ovog parametra u svim terapijskim grupama u odnosu na period posle 5. terapijske procedure, ali su one i dalje statistički značajno niže nego one pre terapije ( $p < 0,001$ ). Poređenjem vrednosti gingivalnih indeksa između grupa utvrđeno je da su vrednosti ovog parametra statistički značajno niže u grupi sa kombinovanom bazičnom i laseroterapijom nego u grupi koja je imala samo bazičnu terapiju, posle 5. terapije ( $p < 0,01$ ), ali i mesec dana posle terapije ( $p < 0,05$ ). Nameće se konstatacija da su sve tri terapijske procedure nakon 5. terapije dovele do statistički značajnog poboljšanja gingivalnih indeksa, da su vrednosti mesec dana posle terapije takođe statistički značajno niže no pre terapije, kao i da su najbolji rezultati postignuti kombinacijom bazične i laseroterapije.

Slično ovom istraživanju, Quadri i sar. (2005), kao i Pejčić i sar. (2010) ističu da dodatna terapija laserom male snage nakon primene bazične terapije redukuje gingivalnu inflamaciju (278, 279). Uočeno je da dodatno zračenje laserom male snage daje bolje terapeutske rezultate nego samostalno uklanjanje kamenca i konkremenata uz kiretažu parodontalnih džepova (278). Istraživači su istakli da je efekat laseroterapije bio najveći na nivou smanjenja gingivalnog indeksa i smanjenja dubine sondiranja (280, 281). Obradović i sar. (254) su potvrdili da je došlo do znatnog smanjenja stepena inflamacije, kod pacijenata kod kojih je nakon bazične primenjena i terapija laserom male snage merenjem gingivalnog indeksa. Kod ovih ispitanika desna strana vilice podvrgnuta je laserskom zračenju, a leva je služila kao kontrola, te su praćene vrednosti indeksa u toku terapije. I kod lasirane i nelasirane strane nakon svih perioda terapije u odnosu na vrednost pre terapije došlo je do statistički značajnih smanjenja srednjih vrednosti gingivalnog indeksa ( $p < 0,001$ ). Vrednosti t - testa

pri poređenju nakon prve, treće i pete terapije ukazuju na značajnije smanjenje srednjih vrednosti na lasiranoj strani vilice u ispitanika.

U ovom istraživanju poređenjem vrednosti PDI između grupa mesec dana posle terapije, utvrđeno je da su vrednosti ovog parametra statistički značajno niže u grupi sa kombinovanom bazičnom i laseroterapijom, nego u grupi koja je imala samo bazičnu terapiju ( $p < 0,05$ ). Utvrđeno je da su CPITN vrednosti u grupi sa kombinovanom bazičnom i fito terapijom ( $p < 0,01$ ), kao i samo bazičnom terapijom ( $p < 0,001$ ) statistički značajno više u odnosu na grupu koja je imala kombinovanu bazičnu i laseroterapiju. Obradović i sar. (254) su određivali vrednosti PDI indeksa pre terapije i mesec dana nakon poslednje laseroterapije. Utvrđena je statistički značajno manja vrednost ispitivanog parametra mesec dana nakon poslednje laseroterapije u odnosu na vrednosti pre početka terapije ( $p < 0,001$ ) sa manjim vrednostima na lasiranoj strani ( $p = 0,0655$ ). Ove vrednosti ukazuju na blagotvorno dejstvo LLLT koja dopunjuje konvencionalnu terapiju parodontopatije i omogućava brže ozdravljenje parodonticijuma koje se vidi u smanjenju vrednosti parodontalnog indeksa.

Neke studije (278, 282 - 285) su pokazale da laseri male snage utiču na procese kao što je inflamacija, regeneracija mekih i koštanih tkiva i neželjeni efekti, kao što su postoperativni bol i hipersenzitivni dentin.

Za razumevanje mehanizma antiinflamacijskog efekta lečenja laserom male snage, mnogi autori ispitivali su kompleks medijatora koji izaziva inflamacijski odgovor (citokini, hemokini, prostaglandini, faktori rasta, tumor nekroza faktor) (286, 287). Efekti ovih medijatora mereni su preko edema inflamacijskog jastučeta. Klinički, dolazi do značajnog smanjenja edema što je slično antiinflamatornom odgovoru u gingivi i periodoncijumu.

Klinička ispitivanja inflamirane gingive jasno su ukazala da lečenje laserom male snage ispoljava antiinflamatorni efekat, što se jasno vidi pri upoređivanju rezultata gingivalnog indeksa (Gi) i indeksa krvarenja (Ikrv) pre i posle terapije. Oba indeksa pokazala su smanjenje vrednosti kao znak redukcije inflamatorne reakcije. Nalazi su pokazali da lečenje laserom utiče na održavanje postignutih rezultata duži vremenski period (duže od šest meseci), nego u slučajevima kada je primenjena samo konzervativna terapija (241).

Antiinflamatorni i antiedematozni efekat mogu se delimično objasniti dejstvom laseroterapije na krvne sudove. Neposredno posle terapijske primene lasera male snage dolazi do povećanja cirkulacije. Ovo povećanje cirkulacije nije rezultat toplotnog efekta već povećanja tkivnog metabolizma i normalizacije hemostaze (288, 289). Postoji pretpostavka da dolazi do povećanja formiranja endotelnog faktora rasta od strane endotelnih ćelija koji smanjuje

postojeću vazodilataciju u kasnim stadijuma inflamacije i stabilizuje zidove krvnih sudova (290), a kasnije dovodi do vazokonstrikcije i normalizacije propustljivosti krvnih sudova.

Za objašnjenje antiinflamatornog delovanja lasera male snage uzimaju se u obzir i biohemijski posrednici zapaljenja kakvi su prostaglandini koji učestvuju u patogenezi inflamacije gingive. Stvaranje prostaglandina vrši se oslobađanjem njihovih prethodnika, ali ova sinteza može se obaviti samo putem enzima ciklooksigenaze. Antiinflamatorni lekovi deluju na nivou ovog enzima i blokiraju sintezu prostaglandina.

Izgleda da se baš na nivou blokade prostaglandina zasniva i delovanje lasera male snage (291). Kliničke opservacije navode na zaključak da primena lasera male snage deluje na faktore rasta i citokine u smislu ubrzavanja faze prolaska kroz zapaljensku reakcije (292, 293).

U ovom istraživanju, kod druge grupe ispitanika (bazična + fitoterapija), gde je posle bazične terapije aplikovana Tinctura paradentica<sup>®</sup>, dobijeno je statistički značajno smanjenje Gi ( $p < 0,001$ ). Pistorius i sar. (190) su opisali značajno smanjenje gingivalnog indeksa kod pacijenata koji su svakodnevno koristili vodicu za ispiranje usta, koja je u svom sastavu imala ekstrakte sledećih biljnih vrsta: *Salvia officinalis*, *Mentha x piperita*, *Matricaria chamomilla*, *Commiphora myrrha*, *Carum carvi*, *Eugenia caryophyllus* i *Ehinacea purpurea*. Zaključili su da je njeno svakodnevno korišćenje kao pomoćne terapije parodontopatije redukovalo gingivalnu inflamaciju (190). Vodica za ispiranje usne duplje, koja sadrži u svom sastavu biljnu vrstu *Aloe vera*, redukuje inflamaciju gingive i indeks krvarenja (194), a efikasnija je od *Listerina*<sup>®</sup> u redukciji aerobnih, mikroaerobnih i anaerobnih bakterija (294).

Soukoulis and Hirsch (295) su u svojoj studiji zabeležili dobru efikasnost gela sa etarskim uljem čajnog drveta (*Melaleuca alternifolia*) u kontroli dentalnog plaka, kao i značajno smanjenje gingivalnog indeksa krvarenja kod pacijenata sa hroničnim gingivitisom. Makarem i sar. su zabeležili efikasnost paste za zube koja je sadržala tri biljna ekstrakta na značajno smanjenje plak indeksa i gingivalnog indeksa u poređenju sa placebo grupom, kod dečaka starosti 12 do 13 godina sa prisutnom inflamacijom gingive (296).

Smatra se da u patogenezi većine, ako ne svih vrsta parodontopatija, bakterije igraju jednu od najznačajnijih etioloških uloga (297). Zubni kamenac, subgingivalni konkrementi, oralni biofilm i parodontalni džepovi smatraju se generalno najznačajnijim mestom za razvoj periodontopatogenih bakterija, a mehanička eliminacija predstavlja važnu terapijsku meru. U terapiji zuba zahvaćenih parodontopatijom, dosadašnji koncepti terapije obuhvatali su uklanjanje mekih naslaga (oralnog biofilma i ostataka hrane), konkremenata, kamenca, i kiretažu granulacionog tkiva u cilju eliminacije bakterijskih depozita i endotoksina. Tradicionalno se u

terapijske svrhe koristi konvencionalna mehanička obrada površine korena zuba uz pomoć ručnih skalera, kireta i srpastih instrumenata (298).

Poslednjih godina prisutan je sve veći interes za istraživanje novih terapijskih pristupa koji bi unapredili i pojednostavili mehaničku obradu korena zuba, a istovremeno bi delovali i antibakterijski (299). Sa ovim ciljem, istraživači su pokrenuli ispitivanje mogućnosti primene laserskog zračenja različitih snaga i talasnih dužina, uključujući Neodymium:YAG (Nd:YAG), Helium-Neon (HeNe), Gallium-Arsenid (GaAs), Gallium-Aluminum-Arsenid (GaAlAs) i argon laser. Uočeno je da ukoliko se lasersko zračenje uvede u parodontalne džepove, dolazi do smanjenja broja bakterija na površini korena (298).

Pretpostavlja se da laseroterapija smanjuje bol, ubrzava zarastanje rana i ima pozitivan uticaj na inflamatorne procese. Usled nedostatka adekvatnih istraživanja nije uvek moguće odrediti optimalnu vrstu lasera i parametre za laseroterapiju (278). Veliki broj autora koristi doze u rasponu od 0,001 - 0,01J/cm<sup>2</sup>, iako je još 1971. godine Mester sugerisao da je neophodna doza od 1 - 2 J/cm<sup>2</sup> za zarastanje rana (254, 279, 300, 301). U ovom istraživanju korišćene su doze koje su jače u odnosu na terapijske doze Mestera, a to je 6 J/cm<sup>2</sup>. Primenjeni laser je imao izlaznu snagu od 0,2 W, talasna dužine od 980 nm u kontinuiranom režimu rada, a ekspozicija 7 minuta po tretiranom kvadrantu (povšina gingive oko zuba 17 do 11 i 21 do 27 u gornjoj vilici, kao i 37 do 31 i 41 do 47 u donjoj vilici).

Veliki broj kliničkih ispitivanja se bavi procenom parodontalnog statusa ispitanika i dijagnozom parodontopatije obzirom na njenu široku rasprostranjenost (302). Međutim, različiti protokoli uzorkovanja, dizajn studija i metode detekcije i identifikacije bakterija, kao i veliki broj serotipova iste vrste bakterija otežava komparaciju dobijenih rezultata. Dodatne poteškoće pravi to što laseri nemaju definisane i prihvaćene protokole za njihovo korišćenje u svakodnevnoj praksi. Različiti parametri produkuju različite nivoe energetske gustine laserskog zraka za različite vremenske intervale, što je rezultat različitih promena u lasiranim tkivima. Tako da je komparacija rezultata skoro nemoguća sa ovakvim problemom i nesumljivo utiče na to da je objavljeno puno kliničkih studija sa kontradiktornim rezultatima.

Eliminacija bakterija iz parodontalnih džepova se dugo smatrala ciljem parodontalne terapije i povezivana je sa stabilnim ishodom lečenja. Ukoliko je nivo periodontopatogena povećan smatra se da je to marker rizika progresije parodontalnog oboljenja. Rezultati ovog istraživanja ukazuju na to da različite etničke grupe poseduju prvenstveno različite serotipove periodontopatogena, a veza između njih i parodontalnog statusa ostaje nejasna, samim tim potrebno je dalje istraživati svaku populaciju, a zatim usaglasiti protokole i utvrditi vezu između periodontopatogena i populacije (303). Od svih bakterija prisutnih u dentalnom plaku

izdvaja se *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, kao jedan od najmoćnijih periodontopatogena (304).

Svaka od ovih vrsta bakterija raspolaže velikim brojem faktora virulencije (delovi ćelijske građe, agresivni enzimi, egzotoksini i endotoksini), pomoću kojih doprinosi nastanku i razvoju oboljenja potpornog aparata zuba. Prilikom poremećaja homeostaze parodontnog tkiva ove vrste ispoljavaju svoj patogeni potencijal izazivajući oboljenje. Bakterije i njihovi proizvodi stimulišu zapaljenje, što dovodi do povećanog oslobađanja proinflammatoryh medijatora, kao što su citokini i prostaglandini, koji deluju štetno na parodontno tkivo (304–306). Ovaj etiološki koncept parodontalne bolesti obuhvatio je tri grupe faktora koji određuju da li će se aktivirati parodontopatija: osetljivi domaćin, prisustvo patogenih vrsta i odsustvo takozvanih "korisnih bakterija" (307, 308). Marsh i sar. i Diaz su definisali parodontopatiju kao ekološki poremećaj prouzrokovan promenama u ekosistemu subgingivalnih mikroorganizmima (309, 310).

U ovoj studiji PCR tehnikom vršeno je otkrivanje sledećih vrsta bakterija pre i posle terapije hronične parodontopatije: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Tannerella forsythensis* (*T. forsythensis*) i *Treponema denticola* (*T. denticola*).

*A. actinomycetemcomitans* je bila zastupljenija u sve tri grupe ponaosob u odnosu na kontrolnu grupu ( $p < 0,01$ ). *A. actinomycetemcomitans* je izolovan kod 43,33% do 46,67% ispitanika pre terapije, uprkos činjenici da se ova bakterija uglavnom vezuje za agresivni oblik parodontopatije, dok se kod osoba s hroničnom parodontopatijom javlja u 25–30% slučajeva (311). Nakon terapije statistički značajna redukcija ( $p < 0,05$ ) postignuta je samo u grupi sa laseroterapijom (od 46,67% na 23,33%). Kod parodontalno zdravih ispitanika procenat zastupljenosti je iznosio 4,76%. Ovaj mikroorganizam stvara mnoge virulentne faktore: leukotoksin kao najvažniji, bakteriocin, inhibišući faktor hemotakse, citotoksični faktori, Fc vezujući proteini, imunosupresivni faktori, lipopolisaharidne kolagenaze, fibroblast inhibitorni faktor, antibiotik rezistentne determinante, adhezive, invazive i faktor inhibicije funkcije polimorfonuklearnih leukocita (304). Predin i sar. su zabeležili statistički signifikantno smanjenje procenta ove bakterije nakon bazične terapije parodontopatije (312). Kornman i sar. i Mombelli i sar. su prošli da bazična terapija nije efektivna u redukciji periodontopatogena *A. actinomycetemcomitans* (311, 313). Giannelli i sar. su demonstrirali da periodontopatogeni mikroorganizmi mogu da opstanu u epitelnim ćelijama van parodontalnog džepa kod pacijenata lečenih samo bazičnom terapijom, dok laseroterapija deluje baktericidno na intra- i ekstraćelijske bakterije (314).



Procenat zastupljenosti bakterije *P. intermedia* pre terapije kretao se u intervalu od 63,33% do 73,33%, ali nije bilo statistički značajne razlike u zastupljenosti između grupa. Jedino je statistički signifikantno smanjenje ( $p < 0,05$ ) procenta nakon terapije zabeleženo u grupi sa kombinovanom bazičnom i laseroterapijom (50,00%). Istraživanja (312, 315 - 317) su pokazala da *P. intermedia* reaguje dobro na parodontalnu terapiju, što je u skladu sa nalazima u ovoj studiji.

Izvanredno prisustvo bakterije *P. gingivalis* je zabeleženo u obe grupe pacijenata, sa hroničnom parodontopatijom i parodontalno zdravim ispitanicima, ali *P. gingivalis* je pre terapije statistički daleko niže zastupljena u grupi na bazičnoj terapiji u odnosu na sve ostale grupe ponaosob ( $p < 0,001$ ). Amano i sar. (318, 319) su objasnili u svojim istraživanjima da *P. gingivalis* sadrži JimA gen koji dekodira fimbrilin, subjedinicu fimbria. On je klasifikovan u 5 genotipova (od I do V), na osnovu njihovih sekvenci nukleotida. Među zdravim ispitanicima najučestaliji je film A genotip tip I (76,1%).

Watson i sar. (320) su u svojoj studiji izolovali *P. gingivalis* u 80% kod zdrave dece u toku i nakon puberteta, što korelira sa rezultatima ove studije gde studenti starosti  $22,14 \pm 1,62$  godina imaju 95,24% ove bakterije identifikovane u subgingivalnom dentalnom plaku, dok se procenat koj pacijenata sa hroničnom parodontopatijom kreće od 50,00% - 93,33%. To je u skladu sa ispitivanjima Predin i sar. (312) gde je nađeno 80% pozitivnih na ovu bakteriju pre terapije parodontopatije, kao i kod Lau i sar. (321) 81,3% i Cruza i sar. (322) 80%.

Posle sprovedene terapije nije bilo statistički značajnih razlika između terapijskih grupa, izuzev u slučaju *P. gingivalis*-a gde je procentualna zastupljenost u fito + bazičnoj terapiji statistički značajno viša nego u odnosu na bazičnu terapiju, na nivou kao i pre terapije ( $p < 0,001$ ), ali i u odnosu na lasero + bazičnu terapiju ( $p < 0,05$ ), kod koje je ostvareno statistički značajno smanjenje prisustva ove bakterije u odnosu na period pre terapije ( $p < 0,01$ ). Haffajee i sar. (323) su takođe našli značajno smanjenje sledećih periodontopatogena: *P. gingivalis* i *T. forsythensis*.

U ovoj studiji, *T. forsythensis* je statistički zastupljenija u grupama na kombinovanoj terapiji nego u grupi na bazičnoj ili u kontrolnoj grupi ponaosob, dok su sve bakterijske vrste nakon terapijskih procedura nađene u manjem procentu nego pre terapije, osim *T. forsythensis* u grupi u kojoj je primenjena samo bazična terapija. To je u skladu sa istraživanjima (312, 315-317) koja ukazuju na to da je iskorenjivanje ove bakterije manje uspešno u poređenju sa ostalim periodontopatogenima.

*T. denticola* je pre terapije statistički bila zastupljenija u grupama sa kombinovanom terapijom u odnosu na kontrolu ( $p < 0,001$ ), a sličan je slučaj i u grupi samo na bazičnoj terapiji,

ali sa manjim nivoom značajnosti ( $p < 0,05$ ). U grupi sa kombinovanom fito i bazičnom terapijom došlo je do statistički značajnog smanjenja prisustva *T. forsitensis* i *T. denticola*, što je slučaj i u grupi koja je bila na kombinovanoj lasero i bazičnoj terapiji ( $p < 0,001$ ).

Ovi nalazi, koji ukazuju na stopu prevalencije periodontopatogenih mikroorganizama u dentalnom plaku pre i posle terapije parodontopatije su često kontradiktorni, zato što su prisutne varijacije u distribuciji genotipa, zahvaljujući etničkom i geografskom poreklu ispitanika, kao i promene zavisne od načina održavanja oralne higijene, specifičnosti životnih navika prilikom ishrane, konzumiranja alkohola, duvana i dr. (314, 324).

Za razliku od mikrobiološkog ispitivanja, rezultati kliničkih studija se međusobno značajno ne razlikuju. Različite studije koriste različite metode za uzorkovanje bakterija (pljuvačka, dentalni plak, sluzokoža usne duplje, subgingivalna regija) i različite metode analiziranja (kultura ćelija, mikroskopija tamnog polja, *PCR*), što znatno otežava poređenje dobijenih rezultata (312, 325, 326).

Treba ukazati na činjenicu da primenjena tehnika *PCR* u ovom istraživanju nije vršila kvantitativnu, već samo kvalitativnu analizu periodontopatogena, te stoga nije moguće zaključiti u kojoj meri je zapravo smanjen broj mikroorganizama. Kvantitativna analiza bi svakako pomogla u utvrđivanju stvarnog uticaja terapije na broj bakterija. Ovakva analiza mogla bi pokazati da je i kod pacijenata kod kojih pojedina bakterijska vrsta nije iskorenjena ipak došlo do značajnog smanjenja broja bakterija.

Oralna mukoza podleže kontinuiranoj i brzom promeni superficijalnog sloja, a to je rezultat ekfolijacije ćelija. Ove ćelije igraju glavnu ulogu u predijagnostičkim testovima, zbog toga što mogu da prikažu sistemsko oboljenje, koje indukuje citomorfološke i nukleomorfološke promene u ćeliji (327, 328).

Prva citomorfološka ispitivanja epitelnih ćelija usne duplje vršio je Miller krajem XIX veka. Od tog vremena merenje ćelija i njihovih sastavnih delova je izazov za brojne istraživače. Citološka ispitivanja su veoma značajna za određivanje inflamatornih procesa u usnoj duplji (329). Višeslojni pločasti epitel gingive podvrgnut je neprestanom procesu deskvamacije. Ovaj proces zavisi od mitotičke aktivnosti bazalnog sloja epitelnih ćelija, od enzimskih procesa u epitelnim ćelijama i od delovanja mehaničkih iritacija (330).

Weinmann je 1940. godine vršio prva citološka ispitivanja gingive. Eksfolijativna citologija je neinvazivna tehnika, koja omogućuje jednostavno i bezbolno uzimanje ćelija koje se zatim mikroskopski posmatraju. Deskvamirane ćelije gingive pripadaju superficijalnom sloju epitela. Ove ćelije su nepravilne, poligonalne i transparentne (329). Zahvaljujući činjenici da se eksfolijativna citologija smatra modernom i neinvazivnom tehnikom, u ovom istraživanju, ista je

primenjena u cilju bolje interpretacije promena prisutnih u parodontijumu pacijenata pre i posle primenjene bazične, kao i kombinovanih: bazična + fitoterapija i bazična + laseroterapija.

Citomorfološkim ispitivanjima pruža se mogućnost uočavanja povezanosti građe i funkcije pojedinih vrsta tkiva. Tako povezujući morfološka i fiziološka zapažanja mogu se uočiti reakcije organizma, koje se ispoljavaju na površinskom epitelu gingive. Poznato je da tokom zapaljenskih reakcija u gingivi dolazi do uvećanja jedara ćelija pločasto - slojevitog epitela (329, 331).

Vrednosti koje su dobijene pokazuju razliku u veličini jedara pre i posle terapije. Kod prve grupe ispitanika, gde je kao terapija hronične parodontopatije korišćena samo bazična terapija, nakon terapije je došlo do smanjenja veličine jedara od  $61,17 \pm 13,51 \mu\text{m}^2$  na  $56,98 \pm 16,68 \mu\text{m}^2$  sa najnižom statističkom značajnošću od  $p < 0,05$ . Kod druge grupe ispitanika, gde je kao terapija hronične parodontopatije korišćena pored bazične i fitoterapija, nakon terapije je došlo do smanjenja veličine jedara od  $60,82 \pm 12,59 \mu\text{m}^2$  na  $39,43 \pm 9,11 \mu\text{m}^2$  sa statističkom značajnošću od  $p < 0,001$ . Kod treće grupe ispitanika, gde je kao terapija hronične parodontopatije korišćena pored bazične i laseroterapija, nakon terapije je došlo do smanjenja veličine jedara od  $68,25 \pm 18,03 \mu\text{m}^2$  na  $41,87 \pm 8,93 \mu\text{m}^2$  sa statističkom značajnošću od  $p < 0,001$ . Veličina jedara nakon kombinovanih bazične sa fito- i laseroterapijom je manja od prosečne veličine jedara zdrave gingive ( $43,41 \pm 9,12$ ), što govori u prilog efikasnosti dodatnih terapijskih metoda. Poredeći veličinu jedara u svakoj grupi ponaosob pre i posle terapije, uočava se statistički značajno smanjenje veličine jedara nakon terapije u svakoj ispitivanoj grupi.

Ovaj nalaz je u skladu sa velikim brojem navoda iz literature koji ističu veliki značaj parodontološke terapije u unapređenju i održanju parodontalnog zdravlja (1, 331–333). Igić i sar. (329) su u svom istraživanju vršili uporednu analizu terapije kataralnih gingivitisa bazičnom terapijom i dodatnom terapijom laserima male snage i hijaluronskom kiselinom. Kao dijagnostička metoda korišćena je eksfolijativna citologija gingive dece. Rezultati dobijeni u ovom istraživanju pokazuju razliku u veličini jedara inflamirane gingive pre terapije i zdrave gingive nakon terapije. Dobijeni rezultati ukazuju na pozitivno dejstvo lasera male snage i hijaluronske kiseline (329).

Poznato je da jedra iz skvamoznog sloja epitela, tokom inflamatornih procesa, postaju veća. Igić i sar. (334) su utvrdili da je veličina jedra nakon bazične terapije redukovana u odnosu na stanje pre terapije, ali su bolji rezultati dobijeni kod kombinovane lasero i bazične terapije, što je u skladu sa rezultatima u ovom istraživanju. Obzirom da dostupni podaci sugerišu uvećanje veličine jedra tokom starenja (335), rezultati ovog istraživanja dobijaju na značaju, obzirom da je kontrolna grupa limitirana na mlade ispitanike zbog činjenice da su parodontalno zdravi ispitanici uglavnom pripadnici mlađe populacije.

## 7. ZAKLJUČAK

---

Na osnovu postavljenih ciljeva, primenjene metodologije i dobijenih rezultata može se zaključiti sledeće:

1. Nakon sanacije hronične parodontopatije bazičnom terapijom, kombinovanom bazičnom i fito, kao i bazičnom i lasero terapijom indeksi oralne higijene (plak indeks, indeks zubnog kamenca i indeks konkremenata) su bili 0, dok je rezultat plak indeksa na kontrolnom pregledu nakon mesec dana bio najbolji u grupi sa kombinovanom bazičnom i laseroterapijom ( $0,68 \pm 0,31$ ).
2. Vrednosti gingivalnih indeksa (indeks krvarenja = gingivalni indeks) nakon sanacije hronične parodontopatije bazičnom terapijom su  $0,52 \pm 0,50$ , kombinacijom bazične i fito terapije su  $0,33 \pm 0,50$ , ali su najbolji rezultati postignuti kombinacijom bazične i lasero terapije  $0,14 \pm 0,29$ .
3. Parodontalni indeksi (PDI i CPITN) su mesec dana nakon primenjene terapije, na kontrolnom pregledu, imali statistički značajno niže vrednosti, ali je jasno da su najbolji rezultati postignuti kombinacijom bazične i lasero terapije.
4. Utvrđeno je smanjenje prisustva sledećih tipova bakterija (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* i *Treponema denticola*) u svim terapijskim grupama posle terapije u odnosu na stanje pre terapije, izuzev bakterije *Tannerella forsythensis*, čije je prisustvo neznatno povećano u grupi na bazičnoj terapiji. U grupi sa kombinovanom bazičnom i fito terapijom došlo je do statistički značajnog smanjenja prisustva *Tannerella forsythensis* i *Treponema denticola*, što je slučaj i u grupi koja je bila na kombinovanoj bazičnoj i lasero terapiji ( $p < 0,001$ ). Međutim, u ovoj grupi sa laseroterapijom došlo je do statističkog smanjenja i svih ostalih bakterija: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* i *Prevotella intermedia* ( $p < 0,05$ ), kao i *Porphyromonas gingivalis* ( $p < 0,01$ ). Na osnovu iznetog se može reći da je kombinovana bazična i lasero terapija dala najbolje rezultate u pogledu smanjenja zastupljenosti pozitivnih bakterioloških nalaza.
5. Poređenjem areala jedra nakon terapije hronične parodontopatije, Man - Witnijevim testom je utvrđeno da je vrednost areala najviša u grupi na bazičnoj terapiji, statistički

značajno viša u odnosu na grupe sa kombinovanom terapijom ponaosob ( $p < 0,001$ ), ali je najveća redukcija njegove vrednosti postignuta u grupi sa bazičnom i laseroterapijom i to na  $41,85 \mu\text{m}^2$ , što je bolji rezultat nego kod zdravih ispitanika  $42,96 \mu\text{m}^2$ .

Na osnovu svega navedenog, uočeno je značajnije smanjenje aktivnosti parodontopatije i unapređenje parodontalnog zdravlja primenom kombinovane terapije, bazične i laserima male snage, u odnosu na primenu kombinovane - bazične i fitoterapije ili samo bazične terapije. Laseri male snage su efikasni u eliminaciji inflamacije gingive i u unapređenju parodontalnog zdravlja, a utiču na duže održavanje postignutih terapijskih rezultata, pa se preporučuje njihova primena kao dodatak bazičnoj terapiji parodontopatije. Kombinacija sa bazične terapije i fitopreparata, takođe daje odlične rezultate u poređenju sa klasičnom kazalnom terapijom, koja je „zlatni standard“ u terapiji hronične parodontopatije. Od izuzetnog značaja za parodontalno zdravlje čitave populacije jeste edukacija pacijenata o pravilnom održavanju oralne higijene, kao i stalna motivacija, remotivacija i dodatna edukacija zdravstvenog kadra o širokoj rasprostranjenosti parodontalnog oboljenja i mogućnostima savremene terapije.

## 8. LITERATURA

---

1. Đajić D, Đukanović D. Parodontologija. Beograd: Draslar Partner; 2006.
2. Burt B. Research, Science and Therapy Committee of the American Academy of Periodontology. Position paper: Epidemiology of periodontal diseases. J Periodontol 2005;76:1406-1419.
3. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. Lancet 2005; 366(9499):1809-1820.
4. Cobb CM, Low SB, Coluzzi DJ. Lasers and the treatment of chronic periodontitis. Dent Clin North Am 2010;54(1):35-53.
5. Pandita V, Patthi B, Singla A, Singh S, Malhi R, Vashishtha V. Dentistry meets nature- role of herbs in periodontal care: A systematic review. J Indian Assoc Public Health Dent 2014;12(3):148-156.
6. Dimitrijević B, Leković V, Janković Lj, Ursu-Magdu I, Čakić S, Đukanović D, Janković S, Aleksić Z. Klinička parodontologija. Beograd: Zavod za izdavanje udžbenika; 2011.
7. Razzouk S. Regulatory elements and genetic variations in periodontal diseases. Arch Oral Biol 2016;(72):106-115.
8. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Ann Periodontol 1999;4(1):1- 6.
9. Genco RJ, Goldman HM, Cohen DW. Classification and clinical and radiographic features of periodontal disease. ed. Contemporary periodontics. St. Louis, MO: CV Mosby; 1990:63-81.
10. Zelić O, Đukanović D. Klasifikacija i dijagnoza oboljenja parodontijuma. Klasifikacija i dijagnoza oboljenja parodontijuma. Stomatol Glas Srb 1996;43(2):111-116.
11. American Academy of Periodontology Task Force Report on the update to the 1999 classification of periodontal diseases and conditions. J Periodontol 2015;(86):835-838.
12. Newman MG, Takei HH, Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology 10 [sup] th ed. St. Louis, Mo: Saunders Elsevier; 2006.
13. Đajić D, Đukanović D, Kojović D. Oralna medicina i parodontologija. Beograd: Elit-medica; 2008.
14. Zelić O. Osnovi kliničke parodontologije. 3<sup>th</sup> dopunjeno i izmenjeno izdanje. Beograd: Atlas; 2006.

15. Novak MJ. Necrotizing ulcerative periodontitis. *Ann Periodontol* 1999;4(1):74-77.
16. Meng, HX. Periodontic-endodontic lesions. *Ann Periodontol* 1999;4(1):84-89.
17. Prato GPP. Mucogingival deformities. *Ann Periodontol* 1999;4(1):98-100.
18. Aldred MJ, Bartold PM. Genetic disorders of the gingivae and periodontium. *Periodontol 2000* 1998;18(1):7-20.
19. Rowland, Randal W. Necrotizing ulcerative gingivitis. *Ann Periodontol* 1999;4(1):65-73.
20. Lindhe J, Karring T, Lang NP. *Clinical periodontology and implant dentistry*. Vol. 4. Copenhagen: Blackwell Munksgaard; 2003.
21. Tonetti, MS, Mombelli A. Early-onset periodontitis. *Ann Periodontol* 1999;4(1):39-52.
22. Fleming TF. Periodontitis. *Ann Periodontol* 1999;4:32-38.
23. Niemiec BA. Periodontal Disease. *Top Companion Anim Med* 2008;23(2):72-80.
24. Persson GR. Perspectives on periodontal risk factors. *J Int Acad Periodontol* 2008;10(3):71-80.
25. Feres M, Figueiredo LC. Current concepts in the microbial etiology and treatment of chronic periodontitis. *J Int Acad Periodontol* 2009;11(4):234-49.
26. Slots J. Herpesviral-bacterial synergy in the pathogenesis of human periodontitis. *Curr Opin Infectious Dis* 2007;20(3):278-283.
27. Offenbacher S, Barros SP, Singer RE, Moss K, Njilliams RC, Beck JD. Periodontal disease at the biofilm-gingival interface. *J Periodontol* 2007;78(10):1911-1925 .
28. Amano A, Murakami J, Akiyama S, Morisaki I. Etiologic factors of early-onset periodontal disease in Down syndrome. *Japanese Dent Sci Rev* 2008;44(2):118-127.
29. Fritschi BZ, Albert-Kiszely A, Persson GR. Staphylococcus aureus and other bacteria in untreated periodontitis. *J Dent Res* 2008;87(6):589-593.
30. Tanner ACR, Paster BJ, Lu SC, Kanasi E, Kent R, Van Dyke TJr et al. Subgingival and tongue microbiota during early periodontitis. *J Dent Res* 2006;85:318-323.
31. Paster BJ, Olsen I, Aas JA, Dewhirst FE. The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontol 2000* 2006;42:80-87.
32. Slots J. Systemic antibiotics in periodontics. *J Periodontol* 2004;75:1553-1565.
33. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000* 2005;38:135-187.
34. Wolff L, Dahlen G, Aepli D. Bacteria as risk markers for periodontitis. *J Periodontol* 1994;65:498-510.
35. Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1979;6:351-382.

36. Cronin AJ, Claffey N, Stassen LF. Who is at risk? Periodontal disease risk analysis made accessible for the general dental practitioner. *Br Dent J* 2008;205(3):131-137.
37. Irwin C, Mullally B, Ziada H, Allen E, Byrne PJ. Periodontics: 2. Risk factors and susceptibility in periodontitis. *Dent Update* 2007;34(5):270-276.
38. Gera I. Risk factors for destructive periodontitis I. Behavioral and acquired factors. *Fogorv Sz* 2004;97(1):11-21.
39. Arowojolu MO, Dosumu EB, Onyeaso CO, Lawoyin JO. Effects of some risk factors and immunodeficiencies on the periodontium-a review. *Afr J Med Med Sci* 2002;31(3):195-199.
40. Amaral CSF, Vettore MV, Leão A. The relationship of alcohol dependence and alcohol consumption with periodontitis: A systematic review. *J Dent* 2009;37(9):643-651.
41. Kim J, Amar S. Periodontal disease and systemic conditions: a bidirectional relationship. *Odontology* 2006;94:10-21.
42. Amaral CSF, Luiz RR, Leão ATT. The Relationship between alcohol dependence and periodontal disease. *J Periodontol* 2008;79(6):993-998.
43. Wilson TG. Not all patients are the same: systemic risk factors for adult periodontitis. *Gen Dent* 1999;47(6):580-588.
44. Kojović D, Pejčić A, Obradović R, Marjanović D. *Parodontologija. Galaksija: Niš*; 2014.
45. Lang NP, Lindhe J, eds. *Clinical periodontology and implant dentistry. 2 Volume Set. Copenhagen: John Wiley & Sons*; 2015.
46. George J, John J. The Significance of Brushing Time In Removing Dental Plaque. *Int J Dentistry Oral Sci* 2016;3(8):315-317.
47. Rosan B, Lamont RJ. Dental plaque formation. *Microbes Infect* 2000;2(13):1599-1607.
48. Marsh PD. Dental plaque as a biofilm and a microbial community—implications for health and disease. *BMC Oral health* 2006;6(1):S14. doi:10.1186/1472-6831-6-S1-S14
49. Zijngje V, van Leeuwen MBM, Degener JE, Abbas F, Thurnheer T, Gmür R, Harmsen HJ. Oral biofilm architecture on natural teeth. *PloS one* 2010;5(2):e9321. doi.org/10.1371/journal.pone.0009321
50. Noack B, Hoffmann T. Aggressive Periodontitis. *Perio* 2004;1(4):335-344.
51. Zaura E, Nicu EA, Krom BP, Keijser BJ. Acquiring and maintaining a normal oral microbiome: current perspective. *Front cell infect microbiol* 2014;4:85. doi:10.3389/fcimb.2014.00085.
52. Thomas F. Flemming. Periodontitis. *Ann Periodontol* 1999;4(1):32-37.



53. Armitage GC, Cullinan MP. Comparison of the clinical features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000* 2010;53:12-27.
54. Szkaradkiewicz AK, Karpinski TM. Microbiology of periodontitis. *J Biol Earth Sci* 2013;3(1):14-20.
55. Koh SL. A special theory of microelasticity. *Int J Eng Sci.* 1970;8(7):583-593.
56. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal infections. In: *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 5<sup>th</sup> edition. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2008:207-267.
57. Jain A, Batista EL, Serhan C, Stahl GL, Van Dyke TE. Role for periodontitis in the progression of lipid deposition in an animal model. *Infect Immun* 2003;71(10):6012-6018.
58. Feng Z, Weinberg A. Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues. *Periodontol 2000* 2006;40:50-76.
59. Su J, Liu LC, Mao YL, Li N, Pan LF, Wen XJ. Establishment of experimental animal model of periodontitis in SD rats. *Chin J Cons Dent* 2006;11:004.
60. Suzuki N, Yoneda M, Hirofuji T. Mixed red-complex bacterial infection in periodontitis. *Int J Dent* 2013. doi:10.1155/2013/587279.
61. Darveau RP. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nat Rev Microbiol* 2010;8:481-90.
62. Roberts FA, Darveau RP. Microbial protection and virulence in periodontal tissue as a function of polymicrobial communities: symbiosis and dysbiosis. *Periodontol 2000* 2015;69(1):18-27.
63. Nishihara T, Koseki T. Microbial etiology of periodontitis. *Periodontol 2000* 2004;36:14-26.
64. Feres M, Figueiredo LC, Soares GMS, Faveri M. Systemic antibiotics in the treatment of periodontitis. *Periodontol 2000* 2015;67(1):131-186.
65. Ardila CM, Granada MI, Guzmán IC. Antibiotic resistance of subgingival species in chronic periodontitis patients. *J Periodontal Res* 2010;45(4):557-563.
66. Hajishengallis G, Moutsopoulos N M. Role of bacteria in leukocyte adhesion deficiency-associated periodontitis. *Microb Pathog* 2016;94:21-26.
67. Ji S, Choi Y. Innate immune response to oral bacteria and the immune evasive characteristics of periodontal pathogens. *J Periodontal Implant Sci* 2013;43:3-11.
68. Ebersole JL, Graves CL, Gonzalez OA, Dawson D, Morford, LA, Huja PE et al. Aging, inflammation, immunity and periodontal disease. *Periodontol 2000* 2016;72(1):54-75.
69. Kolenbrander PE, Andersen RN, Blehert DS, Egland PG, Foster JS, Palmer RJ Jr. Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 2002;66:486-505.

70. Klinger R. Untersuchungen uber menschliche Aktinomykose. Zentralbl Bakteriol 1912;62:191-200.
71. Topley WWC, Wilson GS. The principles of bacteriology and immunity. London, UK: Edward Arnold and Co; 1929.
72. Potts TV, Zambon JJ, Genco RJ. Reassignment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to the Genus *Haemophilus* as *Haemophilus actinomycetemcomitans* comb. nov. Int J Syst Evol Microbiol 1985;35(3):337-341.
73. Nørskov-Lauritsen N, Kilian M. Reclassification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus paraphrophilus* and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gen. nov., comb. nov., *Aggregatibacter aphrophilus* comb. nov. and *Aggregatibacter segnis* comb. nov., and emended description of *Aggregatibacter aphrophilus* to include V factor-dependent and V factor-independent isolates. Int J Syst Evol Microbiol 2006;56(9):2135-2146.
74. Nørskov-Lauritsen N. Classification, identification, and clinical significance of *Haemophilus* and *Aggregatibacter* species with host specificity for humans. Clin Microbiol Rev 2014;27(2):214-240.
75. Kinane D, Bouchard P. Group E of the European workshop on periodontology, periodontal diseases and health: Consensus report of the sixth European workshop on periodontology. J Clin Periodontol 2008;35:333-337.
76. Haubek D. The highly leukotoxic JP2 clone of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: evolutionary aspects, epidemiology and etiological role in aggressive periodontitis. APMIS 2010;118:1-53.
77. Fine DH, Kaplan JB, Kachlany SC, Schreiner HC. How we got attached to *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: a model for infectious diseases. Periodontol 2000 2006;42:114-157.
78. Johansson A, Buhlin, K, Sorsa T, Pussinen PJ. Systemic *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Leukotoxin-Neutralizing Antibodies in Periodontitis. J Periodontol 2017;88(1):122-129.
79. Berezow AB, Darveau RP. Microbial shift and periodontitis. Periodontol 2000 2011;55: 36-47.
80. Belibasakis GN, Mattsson A, Wang Y, Chen C, Johansson A. Cell cycle arrest of human gingival fibroblasts and periodontal ligament cells by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: involvement of the cytolethal distending toxin. Acta Physiologica Microbiol Immunol Scand 2004;112:674-685.

81. Lally ET, Hill RB, Kieba IR, Korostoff J. The interaction between RTX toxins and target cells. *Trends Microbiol* 1999;7:356-361.
82. Chung HJ, Chung CP, Son SH, Nisengard RJ. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes and leukotoxicity in Korean localized juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1989; 60(9):506-511.
83. Johansson A. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* leukotoxin: a powerful tool with capacity to cause imbalance in the host inflammatory response. *Toxins* 2011;3(3):242-259.
84. Arirachakaran P, Apinhasmit W, Paungmalit P, Jeramethakul P, Rerkyen P, Mahanonda R. Infection of human gingival fibroblasts with *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: an in vitro study. *Arch Oral Biol* 2012;57(7):964-972.
85. Ohara M, Miyauchi M, Tsuruda K, Takata T, Sugai M. Topical application of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* cytolethal distending toxin induces cell cycle arrest in the rat gingival epithelium in vivo. *J Periodontal Res* 2011;46(3):389-395.
86. Kang J, de Brito Bezerra B, Pacios S, Andriankaja O, Li Y, Tsiagbe V, et al. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* infection enhances apoptosis in vivo through a caspase-3-dependent mechanism in experimental periodontitis. *Infect Immun* 2012; 80(6):2247-2256.
87. Timmerman MF, Van der Weijden GA, Arief EM, Armand S, Abbas, F, Winkel EG, van Winkelhoff AJ Van, dV. Untreated periodontal disease in Indonesian adolescents. Subgingival microbiota in relation to experienced progression of periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001;28:617-627.
88. Lang NP, Lindhe J. *Klinička parodontologija i dentalna implantologija*. Zagreb: Nakladni zavod Globus; 2010.
89. Henderson B, Ward JM, Ready D. *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*: a triple A\* periodontopathogen? *Periodontol 2000* 2010;54: 78-105.
90. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000* 2002;28(1):12-55.
91. Fukushima H, Yamamoto K, Hirohata K, Sagawa H, Leung KP, Walker CB. Localization and identification of root canal bacteria in clinically asymptomatic periapical pathosis. *J Endod* 1990;16:534-538.
92. Baumgartner JC, Watkins BJ, Bae, KS, Xia T. Association of black-pigmented bacteria with endodontic infections. *J Endod* 1999;25:413-415.

93. Raber-Durlacher, JE, van Steenberghe TJ, Van der Velden U, de Graaff J, Abraham-Inpijn L. Experimental gingivitis during pregnancy and post-partum: clinical, endocrinological, and microbiological aspects. *J Clin Periodontol* 1994;21:549-558.
94. Loesche WJ, Syed SA, Laughon BE, Stoll J. The bacteriology of acute necrotizing ulcerative gingivitis, *J Periodontol* 1982;53:223-230.
95. Scannapieco FA, Bush RB, Paju S. Associations between periodontal disease and risk for atherosclerosis, cardiovascular disease, and stroke. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:38-53.
96. Offenbacher S, Lief S, Boggess KA et al. Maternal periodontitis and prematurity. Part I: obstetric outcome of prematurity and growth restriction. *Ann Periodontol* 2001;6:164-174.
97. Haraszthy VI, Zambon JJ, Trevisan M, Zeid M, Genco RJ. Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *J Periodontol* 2000;71:1554-1560.
98. Madianos PN, Lief S, Murtha AP et al. Maternal periodontitis and prematurity. Part II: maternal infection and fetal exposure. *Ann Periodontol* 2001;6:175-182.
99. Iyer D, Anaya-Bergman C, Jones K et al. AdpC is a *Prevotella intermedia* 17 leucine-rich repeat internalin-like protein. *Infect Immun* 2010;78:2385-2396.
100. Sengupta D, Kang DJ, Anaya-Bergman C et al. Interaction of *Prevotella intermedia* strain 17 leucine-rich repeat domain protein AdpF with eukaryotic cells promotes bacterial internalization. *Infect Immun* 2014;82:2637-2648.
101. Mallorqui-Fernandez N, Manandhar SP, Mallorqui-Fernandez G et al. A new autocatalytic activation mechanism for cysteine proteases revealed by *Prevotella intermedia* interpain. *J Biol Chem* 2008;283:2871-2882
102. Hashimoto M, Asai Y, Tamai R, Jinno T, Umatani K, Ogawa T. Chemical structure and immunobiological activity of lipid A from *Prevotella intermedia* ATCC 25611 lipopolysaccharide, *FEBS Lett* 2003;543:98-102.
103. Dorn, Brian R, K-P Leung, Ann Progulsk-Fox. Invasion of human oral epithelial cells by *Prevotella intermedia*. *Infect Immun* 1998;66(12):6054-6057.
104. Holt SC, Kesavalu L, Walker S, Genco CA. Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol* 2000 1999;20(1):168-238.
105. Kesić Lj, Milašin J, Igić M, Obradović R. Microbial etiology of periodontal disease—mini review. *Med Biol* 2008;15(1):1-6.
106. Holt SC, Kesavalu L, Walker S, Genco CA. Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol* 2000 1999;20:168- 238.

107. Slots J, Genco RJ. Black-pigments *Bacteroides* species, *Capnocytophaga* species, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: Virulence factors in colonization, survival, and tissue destruction. *J Dent Res* 1984;63:412-421.
108. Mayrand D, Holt SC. Biology of asaccharolytic black-pigmented *Bacteroides* species. *Microbiol rev* 1988;52:134-152.
109. Sundquist G. Pathogenicity and virulence of black-pigmented Gram-negative anaerobes. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1993;6:125-138.
110. Lantz MS. New insights into mechanisms of bacterial pathogenesis in periodontitis. *Curr Opin Periodontol* 1996;3:10-18.
111. Isogai H, Isogai E, Yoshimura F, Suzuki T, Kagota W, Takano K. Specific inhibition of adherence of an oral strain of *Bacteroides gingivalis* to epithelial cells by monoclonal antibodies against the bacterial fimbriae. *Arch Oral Biol* 1988;37:479-485.
112. Isogai E, Hirose K, Fujii N, Isogai H. Three types of binding by *Porphyromonas gingivalis* and oral bacteria to fibronectin, buccal epithelial cells and erythrocytes. *Arch Oral Biol* 1992;37:667-67.
113. Watanabe K, Yamaji Y, Umemoto T. Correlation between celladherent activity and surface structure in *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol* 1992;7:357-363.
114. Papaioannou W, van Steenberghe D, Cassiman J-J, van Eldere J, Quirynen M. Comparison of fluorescence microscopy and culture assays to quantitative adhesion of *Porphyromonas gingivalis* to mono- and multi-layered pocket epithelium cultures. *J Periodontol* 1999;70:618-625.
115. Duncan MJ, Nakao S, Skobe Z, Xie H. Interactions of *Porphyromonas gingivalis* with epithelial cells. *Infect Immun* 1993;61:2260-2265.
116. Sandros J, Papapanou PN, Dahlen G. *Porphyromonas gingivalis* invades oral epithelial cells in vitro. *J Periodont Res* 1993;28:219-226.
117. Sandros J, Papapanou PN, Nannmark U, Dahlen G. *Porphyromonas gingivalis* invades human pocket epithelium in vitro. *J Periodont Res* 1994;29:62-69.
118. Lamont RJ, Chan A, Belton CM, Izutsu KT, Vasel D, Weinberg A. *Porphyromonas gingivalis* invasion of gingival epithelial cells. *Infect Immunol* 1995;63:3878-3885.
119. Du L, Pellen-Mussi P, Chandad F, Mouton C, Bonnaure-Mallet M. Fimbriae and the hemagglutinating adhesin HA-Ag2 mediate adhesion of *Porphyromonas gingivalis* to epithelial cells. *Infect Immunol* 1997;65:3875-388.

120. Njoroge T, Genco RJ, Sojar HT, Namada N, Genco CA. A role for fimbriae in *Porphyromonas gingivalis* invasion of oral epithelial cells. *Infect Immunol* 1997;65:1980-1984.
121. Weinberg A, Belton CM, Park Y, Lamont RJ. Role of fimbriae in *Porphyromonas gingivalis* invasion of gingival epithelial cells. *Infect Immunol* 1997;65:313-316.
122. Ogawa T. Immunobiological properties of chemically defined lipid A from lipopolysaccharide of *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis*. *Eur J Immunol* 1994;219:737-742.
123. Bankur PK, Nayak A, Bhat K, Bankur R, Naik R, Rajpoot N. Comparison of culture and polymerase chain reaction techniques in the identification of *Tannerella forsythia* in periodontal health and disease, an in vitro study. *J Indian Soc Periodontol* 2014;18(2):155-160.
124. Lanza E, Magan- Fernandez A, Bermejo B, Rojas J, Marfil- Alvarez R, Mesa F. Complementary clinical effects of red complex bacteria on generalized periodontitis in a caucasian population. *Oral Dis* 2016;22(5):430-437.
125. Kasuga Y, Ishihara K, Okuda K. Significance of detection of *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* and *Treponema denticola* in periodontal pockets. *The Bulletin of Tokyo Dental College* 2000;41(3):109-117.
126. Tanner AC, Strzempko MN, Belsky CA, McKinley GA. API ZYM and API an-ident reactions of fastidious oral Gram – negative species. *J Clin Periodontol* 1985;22:333-335.
127. Moncla BJ, Braham P, Rabe LK, Hillier SL. Rapid presumptive identification of black-pigmented Gram negative anaerobic bacteria by using 4-methylumbelliferyl derivatives. *J Clin Periodontol* 1991;29:1955-1958.
128. Arakawa S, Nakajima T, Ishikura H, Ichinose S, Ishikawa I, Tsuchida N. Novel apoptosis-inducing activity in *Bacteroides forsythus*: a comparative study with three serotypes of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect Immun* 2000;68:4611-4615.
129. Honma K, Mishima E, Sharma A. Role of *Tannerella forsythia* NanH sialidase in epithelial cell attachment. *Infect Immun* 2011;79(1):393-401.
130. Bodet C, Chandad F, Grenier D. Pathogenic potential of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* and *Tannerella forsythia*, the red bacterial complex associated with periodontitis. *Pathol Biol* 2006;55(3-4):154-162.
131. Caimano MJ, Bourell KW, Bannister TD, Cox DL, Radolf JD. The *Treponema denticola* major sheath protein is predominantly periplasmic and has only limited surface exposure. Fischetti VA, ed. *Infect Immun* 1999;67(8):4072-4083.

132. Listgarten MA, Hellden L. Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. *J Clin Periodontol* 1978;5:115-132.
133. Loesche WJ. The role of spirochetes in periodontal disease. *Adv Dent Res* 1988;2:275-283.
134. Riviere GR, Elliot KS, Adams DF et al. Relative proportions of pathogen-related oral spirochetes (PROS) and *Treponema denticola* in supragingival and subgingival plaque from patients with periodontitis. *J Periodontol* 1992;63:131-136.
135. Simonson LG, Goodman CH, Bial JJ, Morton HE. Quantitative relationship of *Treponema denticola* to severity of periodontal disease. *Infect Immunol* 1988;56:726-728.
136. Ding Y, Uitto VJ, Haapasalo M et al. Membrane components of *Treponema denticola* trigger proteinase release from human polymorphonuclear leukocytes. *J Dent Res* 1996; 75:1986-1993.
137. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent R Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin periodontal* 1998;25:134-144.
138. Ishihara K, Okuda K. Molecular pathogenesis of the cell surface proteins and lipids from *Treponema denticola*. *FEMS Microbiol lett* 1999;181:199-204.
139. Fenno J, McBride B. Virulence factors of oral treponemes. *Anaerobe* 1998;4:1-17.
140. Chan ECS, McLaughlin R. Taxonomy and virulence of oral spirochetes. *Oral Microbiol Immunol* 2000;15:1-9.
141. Dashper SG, Seers CA, Tan KH, Reynolds EC. Virulence factors of the oral spirochete *Treponema denticola*. *J Dent Res* 2011;90(6):691-703.
142. Sorsa T, Suomalainen K, Helenius J, Lindy S, Saari H, Kontinen YT et al. Periodontal disease. *N Engl J Med* 1990;323:133-134.
143. Kornman KS. Mapping the pathogenesis of periodontitis: A New Look. *J Periodontol* 2008;79(8):1560-1568.
144. Ohlrich EJ, Cullinan MP, Seymour GJ. The immunopathogenesis of periodontal disease. *Australian Dent J* 2009;54(1):2-10.
145. Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology. Philadelphia: Elsevier health sciences; 2011.
146. Dennison DK, Dyke TE. The acute inflammatory response and the role of phagocytic cells in periodontal health and disease. *Periodontol* 2000 1997;14(1):54-78.
147. Salvi, GE, Lawrence, HP, Offenbacher S, Beck, J D. Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* 2000 1997;14(1):173-201.
148. 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.

149. Milward M, Matthews J, Ower P, Eaton K. The pathogenesis of periodontal diseases. *Practical Periodontics*. Philadelphia: Elsevier health sciences; 2015.
150. Meyle J, Chapple I. Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* 2000 2015;69(1):7-17.
151. Sapna G, Gokul, S, Bagri- Manjrekar K. Matrix metalloproteinases and periodontal diseases. *Oral Dis* 2014;20(6):538-550.
152. Zeidán-Chuliá F, Gürsoy M, de Oliveira B H N, Özdemir V, Könönen E, Gürsoy UK. A systems biology approach to reveal putative host-derived biomarkers of periodontitis by network topology characterization of MMP-REDOX/NO and apoptosis integrated pathways. *Front Cell Infect Microbiol* 2015;5:102. doi:10.3389/fcimb.2015.00102
153. Hajishengallis, G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nat Rev Immunol* 2015;15(1):30-44.
154. Hernandez M, Dutzan N, García-Sesnich J, Abusleme, L, Dezerega A, Silva N, Gamonal J. Host-pathogen interactions in progressive chronic periodontitis. *J Dent Res* 2011;90(10): 1164-1170.
155. Gupta N, Gupta ND, Gupta A, Khan, S, Bansal N. Role of salivary matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in chronic periodontitis diagnosis. *Front Med* 2015;9(1): 72-76.
156. Craig RG. Pathogenesis of Periodontal Diseases. In *a Clinician's guide to systemic effects of periodontal diseases*. Berlin: Springer Heidelberg; 2016:5-18.
157. Stefanovska, E, Zabokova-Bilbilova, E, Ivanovski K, Pandilova M, Georgieva S, Ristoska S. Mediators detected in gingival fluid and saliva as biomarkers of periodontal disease. *Acta Stomatol Naissi* 2015;31(71):1473-1485.
158. Marjanović D, Anđelković Z, Šehalić M, Đorđević N, Stamatović D, Arsić Z. Kvantitativna analiza makrofaga u gingivitisu i parodontopatiji. *Praxis medica* 2015; 44(1):7-12.
159. Johnson RB, Wood N, Serio FG. Interleukin-11 and IL-17 and the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol* 2004;75(1):37-43.
160. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol* 2003;74(3):391-401.
161. Lamster IB, Ahlo JK. Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1098:216-229.
162. D Ercole S, Catamo G, Piccolomini R. Diagnosis in periodontology: a further aid through microbiological tests. *Crit Rev Microbiol* 2008;34:33-41.



163. Morita M, Wang HL. Relationship of sulcular sulfide level to severity of periodontal disease and BANA test. *J Periodontol* 2001;72:74-78.
164. Loesche WJ, Bretz WA, Kerschensteiner D et al. Development of a diagnostic test for anaerobic periodontal infections based on plaque hydrolysis of benzoyl-DL-arginine-naphthylamide. *J Clin Microbiol* 1990;28:1551-1559.
165. Munjal SK, Prescher N, Struck F, Sorsa T, Maier K, Netuschil L. Evaluation of immunoassay-based MMP-8 detection in gingival crevicular fluid on a point-of-care platform. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1098:490-492.
166. Bowers MR, Fisher LW, Termine JD, Somerman MJ. Connective tissue-associated proteins in crevicular fluid: potential markers for periodontal diseases. *J Periodontol* 1989;60:448-451.
167. Huynh QN, Wang S, Tafolla E et al. Specific fibronectin fragments as markers of periodontal disease status. *J Periodontol* 2002;73:1101-1110.
168. Kelk P, Claesson R, Hånström L, Lerner UH, Kalfas S, Johansson A. Abundant secretion of bioactive interleukin-1beta by human macrophages induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin. *Infect Immun* 2005;73(1):453-458.
169. Kinane DF, Hart TC. Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003;14:430-449.
170. Kinane DF, Mark Bartold P. Clinical relevance of the host responses of periodontitis. *Periodontol 2000* 2007;43:278-293.
171. Schwartz ZVI, Goultschin J, Dean DD, Boyan BD. Mechanisms of alveolar bone destruction in periodontitis. *Periodontol 2000* 1997;14(1):158-172.
172. Algate K, Haynes DR, Bartold PM, Crotti TN, Cantley MD. The effects of tumour necrosis factor- $\alpha$  on bone cells involved in periodontal alveolar bone loss; osteoclasts, osteoblasts and osteocytes. *J Periodontal Res* 2016;51(5):549-566.
173. Hajishengallis G. Immuno-microbial pathogenesis of periodontitis: Keystones, pathobionts, and the host response. *Trends Immunol* 2014;35(1):3-11.
174. Van der Weijden GA, Timmerman MF. A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002;29:55-71.
175. Darby I, Mooney J, Kinane D. Changes in subgingival microflora and humoral immune response following periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 2001;28:796-805.

176. Renvert S, Wikstrom M, Dahlen G, Slots J, Egelberg J. Effect of root debridement on the elimination of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides gingivalis* from periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 1990;17:345-50.
177. Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL Jr, Socransky SS. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1997;24:324-34.
178. Ganss C, Schlueter N, Preiss S, Klimek J. Tooth brushing habits in uninstructed adults-frequency, technique, duration and force. *Clin Oral Investig* 2009;13(2):203-203.
179. Taheri JB, Azimi S, Rafieian N, Akhavan ZH. Herbs in dentistry. *Int Dent J* 2011;61(6):287-296.
180. Petrovic MS, Kesic LG, Kitic DV, Milašin JM, Obradovic RR, Bojovic MD, Simonovic AA. Periodontal disease and phytotherapy. *Org Hyg Health* 2015;3:1-4.
181. Socransky SS, Haffajee AD. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontol* 2000 1994;5:7-25.
182. Tierra L. *The Herbs of Life. Health and healing using western and chinese techniques.* California: Crossing Press; 1992.
183. Kumar G, Jalaluddin M, Rout P, Mohanty R, Dileep C L. Emerging trends of herbal care in dentistry. *J Clin Diagn Res* 2013;7(8):1827-1829.
184. George D, Bhat SS, Antony B. Comparative evaluation of the antimicrobial efficacy of aloe vera tooth gel and two popular commercial toothpastes: An in vitro study. *Gen Dent* 2009;57(3):238-241.
185. Almas K. The antimicrobial effects of seven different types of Asian chewing sticks. *Odontostomatol Tro* 2001;24(96):17-20.
186. Duke JA. *CRC Handbook of medicinal herbs.* Boca Raton, FL: CRC Press; 1985:424-425.
187. Rotblatt M, Ziment I. *Evidence based Herbal Medicine.* 1st edition. Philadelphia, PA: Hanley & Belfus; 2002:1-5.
188. ESCOP 1996. *Salviae folium (Sage leaf). Monographs on the Medicinal Use of Plant Drugs.* Exeter, UK: European Scientific Cooperative on Phytotherapy; 1997.
189. Blumenthal M, Busse NJR, Goldberg A (editors). *The complete german commission e monographs: therapeutic guide to herbal medicines.* Austin: American Botanical Council and Boston: Integrative Medicine Communications 1998:198-201.

190. Pistorius A, Willershausen B, Steinmeier EM, Kreisler, M. Efficacy of subgingival irrigation using herbal extracts on gingival inflammation. *J Periodontol* 2003;74(5): 616-622.
191. Danhof IE, McAnally BH. Stabilized aloe vera: effect on human skin cells. *Drug Cosmet Ind* 1983;133:52-106.
192. Winters WD, Benavides R, Clouse WJ. Effects of aloe extracts on human normal and tumor cells in vitro. *Eco Bot* 1981;35:89-95.
193. Ulbricht C, Armstrong J, Basch E et al. An evidence-based systematic review of Aloe vera by the natural standard research collaboration. *J Herb Pharmacother* 2007;7:279-323.
194. Scherer NJ, Gultz J, Lee SS, Kaim J. The ability of an herbal mouthrinse to reduce gingival bleeding. *J Clin Dent* 1998;9:97-100.
195. McKay DL, Blumberg JB. A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytother Res* 2006;20:519-530.
196. Brown DJ. Herbal prescriptions for better health. Rocklin, CA: Prima Publishing; 1996: 49-56.
197. Foti C, Nettis E, Panebianco R et al. Contact urticaria from *Matricaria chemomilla*. *Contact Derm* 2000;42:360-361.
198. Blumenthal M, Busse NJR, Goldberg A et al. (editors). The complete commission monographs: therapeutic guide to herbal medicines. Boston, MA: Integrative Medicine Communications 1998:180-182.
199. Kumar P, Ansari, SH, Ali J. Herbal remedies for the treatment of periodontal disease-a patent review. *Recent Pat Drug Deliv Formul* 2009;3(3):221-228.
200. Wichtl M. Herbal drugs and phytopharmaceuticals. Boca Raton, FL: CRC Press; 1994:336-338.
201. Haffajee AD, Yaskell T, Socransky SS. Antimicrobial effectiveness of an herbal mouthrinse compared with an essential oil and a Chlorhexidine mouthrinse. *J Am Dent Assoc* 2008;139:606-611.
202. Soukoulis S, Hirsch R. The effects of a tea tree oil-containing gel on plaque and chronic gingivitis. *Aust Dent J* 2004;49:78-83.
203. Santamaria J, M, Petermann KD, Vedovello SAS, Degan V, Lucato A, Franzini CM. Antimicrobial effect of *Melaleuca alternifolia* dental gel in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2014;145(2):198-202.

204. Modarai M, Silva E, Suter A et al. Safety of herbal medicinal products: Echinacea and selected alkylamides do not induce CYP3A4 mRNA expression. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011. doi:10.1093/ecam/nep174
205. Carabin IG, Flamm NJG. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. *Regul Toxicol Pharmacol* 1999;30:268-282.
206. Coussement PA. Inulin and oligo fructose: safe intakes and legal status. *J Nutr* 1999;129:1412-1417.
207. Gay-Crosier F, Schreiber G, Hauser C. Anaphylaxis from inulin in vegetables and processed food. *N Engl J Med* 2000;342:1372-1372.
208. Huhtanen C. Inhibition of *Clostridium botulinum* by spice extract and aliphatic alcohols. *J Food Protect* 1980;43:195-196.
209. Rakover Y, Ben-Arye E, Goldstein LH. The treatment of respiratory ailments with essential oils of some aromatic medicinal plants. *Harefuah* 2008;147:783-788.
210. Newall CA, Anderson LA, Phillipson JD. *Herbal Medicine: A guide for health-care professionals*. London: Pharmaceutical Press; 1996;229-230.
211. Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Jovin E. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. *J Agric Food Chem* 2007;55:7879-7885.
212. Santoyo S, Cavero S, Jaime L, Ibanez E, Senorans FJ, Reglero G. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *J Food Prot* 2005;68(4):790-795.
213. Ramos GP, Apel MA, Morais CBD, Ceolato PC, Schapoval, EE, Dall'Agnol, M, Zuanazzi JA. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of red clover *Trifolium pratense* dry extract. *Rev Bras Farmacogn* 2012;22(1):176-180.
214. Nikolić M, Marković T, Mojović M, Pejin B, Savić A, Perić T, Marković D, Stević T, Soković M. Chemical composition and biological activity of *Gaultheria procumbens* L. essential oil. *Ind Crops Prod* 2013;49:561-567.
215. Taghavi AM, Shabzendedar M, Parissay I, Makarem A, Orafaei H, Hosseinneshad M. Effect of berberine gel on periodontal inflammation: clinical and histological. *J Periodontol* 2012;4(1):7-11.
216. Makarem A, Khalili N, Asodeh R. Efficacy of barberry aqueous extracts dental gel on control of plaque and gingivitis. *Acta Med Iran* 2007;45(2):91-94.
217. Javadzadeh SM, Fallah SR. Therapeutic application of different parts *Berberis vulgaris*. *Intl J Agri Crop Sci* 2012;4(7):404-408.

218. Enzo A, Palombo E. Traditional medicinal plant extracts and natural products njih activity against oral bacteria: potential application in the prevention and treatment of oral diseases. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011;1-15.
219. Makerm A, Khalili N. Efficacy of Barberry aqueous extracts dental gel on control of plaque and gingivitis. *Acta Med Iran* 2006;44:398-402.
220. Maiman TH. Stimulated optical radiation in ruby. *Nature* 1960;187:493-494.
221. Goldman L, Hornby P, Meyer R, Goldman B. Impact of the laser on dental caries. *Nature* 1964;203:417-417.
222. Stern RH, Sognaes RF. Laser inhibition of dental caries suggested by first tests in vivo. *J Am Dent Assoc* 1972;85:1087-1090.
223. Midda M, Renton-Harper P. Lasers in dentistry. *Br Dent J* 1991;170:343-346.
224. White JM, Gekelman D, Shin K-B, et al. Lasers and dental soft tissues: Reflections on our years of research. In: Ishikawa I, Frame JW, Aoki A, eds. *Lasers in Dentistry*. Amsterdam: Elsevier Science; 2003:13-19.
225. Frentzen M, Koort HJ. Lasers in dentistry: new possibilities with advancing laser technology? *Int Dent J* 1990;40(6):323-332.
226. Convissar RA. *Principles and practice of laser dentistry*. Philadelphia : Elsevier Health Sciences; 2015.
227. Živković S, Blažić L, Kolar M. Primena lasera u stomatologiji. *Stom Glas S* 2004;51: 146-152.
228. Obradović R. Značaj lasera male snage u terapiji parodontopatije dijabetesnih bolesnika. Doktorska disertacija, Medicinski fakultet, Niš; 2010.
229. Research, Science and Therapy Committee of the American Academy of Periodontology. Lasers in periodontics. *J Periodontol* 2002;73(10):1231-1239.
230. Sakihama H. Effect of a helium-neon laser on cutaneous inflammation. *Kurume Med J* 1995;42(4):299-305.
231. Kopchok G, Croudfest WS, White R, Donayre C, Fujitani R, Litvack F et al. Argon laser vascular welding: the thermal component. *Proceedings of the Conference SPIE Lasers in Medicine*. Cambridge: Cambridge Press; 1986:15-17.
232. Jovanović G, Burić N, Kesić Lj. Osnovi laserske fizike. U: Burić N, Jovanović G, Kesić Lj, Krunic N, Marković A, eds *Primena lasera u orofacijalnoj regiji*. Prosveta, Niš; 2004:15- 32.
233. Jovanović G, Burić N, Krunic N. Biophysics od lasers - part II. *Acta stomatologica Naissi* 2007;23(55):679-684.

234. Abt E. Biostimulation and Photodynamic Therapy. In: Miserendino L, Pick R. (ed.): Lasers in Dentistry. Chicago-Berlin, London- Tokyo, Sao Paulo-Moscow-Warsaw: Quintessence Publishing Co; 1995:247-257.
235. Miserendino L, Levy G, Miserendino C. Laser Interaction with Biologic Tissues. In: Miserendino L, Pick R. (ed.): Lasers in Dentistry. Chicago-Berlin, London-Tokyo, Sao Paulo-Moscow-Warsaw: Quintessence Publishing Co; 1995:39-55.
236. Schimizu N, Yamaguchi M, Goseki T, Shibata Y, Takiguchi H, Iwasawa T, Abiko Y. Inhibition of Prostaglandin E2 and Interleukin 1-beta Production by low power laser irradiation in stretched human periodontal ligament cells. *J Dent Res* 1995;74:1382-1388.
237. Lazović M. Laseroterapija. Niš: Prosveta; 1997.
238. Jovanović G, Burić N, Kesić Lj. Effects of soft laser in pain therapy after root resection. *J Oral Laser Applications* 2003;3:83-86.
239. Jovanović G. Uticaj lasera male snage na zarastanje ekstrakcionih hirurških rana usne duplje. Doktorska disertacija, Medicinski fakultet, Niš, 1998.
240. Lim H, Lew K, Tey D. A clinical investigation of the efficacy of low level laser therapy in reducing orthodontic post adjustment pain. *Am J Orthod Orthop* 1995;108:614-622.
241. Pejčić A, Grujičić D. Low-power laser therapy in the treatment of parodontopathy. *Vojnosanit Pregl* 2007;64(12):845-850.
242. Janev J, Peeva M. Primena na laserot vo oralnata hirurgija. *Maked Stom Pregl* 1996; 20(1-4):71-76.
243. Maričić B, Mady L, Hraste J, Žuža B. Analgetički učinak lasera u stomatološkoj terapiji. *Acta Stom Croat* 1987;21:291-301.
244. Jovanović G. Uticaj lasera male snage na postoperativni edem. *Acta Stom Naissi* 2002: 37-38:26-28.
245. Jovanović G, Burić N, Kesić Lj. Effect of low power laser on postoperative trismus. *Facta Universitatis* 2004;11(3):136-138.
246. Wan-Bec K. Comparison of wet and dry bone ablation by Er:YAG laser in rabbits. *Oral biology research* 2003;27(2):311-321.
247. Bader H. Use of lasers in periodontics. *Dent Clin North Am* 2000;44:779-792.
248. Konstantinović Lj, Cernak I, Prokić V, Antičić M. Low frequency lasers cause oxidative stress. *Acta Fac Med Naiss* 1999;16(4):194-6.
249. Aykol G, Baser U, Maden I et al. The effect of low-level laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment. *J Periodontol* 2011;82(3):481-488.

250. Obradović R, Kesić Lj, Mihailović D, et al. A histological evaluation of a low-level laser therapy as an adjunct to periodontal therapy in patients with diabetes mellitus. *Lasers Med Sci* 2013;28(1):19-24.
251. Kreisler M, Christoffers AB, Willershausen B, d'Hoedt B. Effect of low level GaAlAs laser irradiation on the proliferation rate of human periodontal ligament fibroblasts: an in vitro study. *J Clin Periodontol* 2003;30(4):353-358.
252. Aoki A, Sasaki KM, Watanabe H, Ishikawa I. Lasers in nonsurgical periodontal therapy. *Periodontol 2000* 2004;36(1):59-97.
253. Schwarz F, Aoki A, Becker J, Sculean A. Laser application in non surgical periodontal therapy: a systematic review. *J Clin Periodontol* 2008;35(8):29-44.
254. Obradović R, Kesić L, Pejčić A, Igić M, Bojović M, Petrović M. Efikasnost lasera male snage u terapiji parodontopatije. *Acta Stomatol Naissi* 2015;31(72):1504-1513.
255. Bjordal JM. Low level laser therapy (LLLT) and World Association for Laser Therapy (WALT) dosage recommendations. *Photomed Laser Surg* 2012;30(2):61-62.
256. Passanezi E, Damante CA, Rezende MLR, Greggi SLA. Lasers in periodontal therapy. *Periodontol 2000* 2015;67(1):268-291.
257. Löe H. The gingival index, the plaque index and the Retention Index System. *J Periodontol* 1967;38(6):610-616.
258. Baelum V, López R. Periodontal disease epidemiology—learned and unlearned? *Periodontology 2000* 2013;62(1):37-58.
259. Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bull World Health Organ* 2005;83:661-669.
260. Van der Weijden GA, Timmerman MF. A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002; 29(3):55-71.
261. Adriaens PA, Adriaens LM. Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. *Periodontol 2000* 2004:121-145.
262. Aukhil I. Biology of wound healing. *Periodontol 2000* 2000;22:44-50.
263. Feres M, Figueiredo LC, Soares GMS, Faveri M. Systemic antibiotics in the treatment of periodontitis. *Periodontol 2000* 2015;67(1): 131-186.
264. Ren C, McGrath C, Jin L, Zhang C, Yang Y. The effectiveness of low level laser therapy as an adjunct to non surgical periodontal treatment: a meta analysis. *J Periodontal Res* 2017;52(1): 8-20.

265. Posten W, Wrone DA, Dover JS, Arndt KA, Silapunt S, Alam M. Low-level laser therapy for wound healing: mechanism and efficacy. *Dermatol Surg* 2005;31:334-340.
266. Sun G, Tuner J. Low-level laser therapy in dentistry. *Dent Clin North Am* 2004; 48:1061-1076.
267. Walsh LJ. The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications. *Aust Dent J* 1997;42:247-254.
268. Walsh LJ. The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 2. Hard tissue applications. *Aust Dent J* 1997;42:302-306.
269. Cobb CM, Blue MS, Beaini NE, Umaki MR, Satheesh KM. Diode laser offers minimal benefit for periodontal therapy. *Compend Contin Educ Dent* 2012;33:67-73.
270. Mirković S. Active substances in medicinal plants with application in stomatology. *Stomatol Glas Srb* 2002;49(3-4):101-105.
271. Marković D, Mirković B, Jovanović T, Knežević A, Nastovski T. The application of tea tree essential oil in dentistry. *Stomatol Glas Srb* 2007 54;(2):106-114.
272. Palombo EA. Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: potential application in the prevention and treatment of oral diseases. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011. doi: 10.1093/ecam/nep067
273. Sweetman SC. *Martindale: The Complete Drug Reference* 35<sup>th</sup> ed. London: Pharmaceutical Press; 2007.
274. Kostić M, Kitić D, Petrović, MB, Jevtović-Stoimenov T, Jović M, Petrović A, Živanović S. Anti-inflammatory effect of the *Salvia sclarea* L. ethanolic extract on lipopolysaccharide-induced periodontitis in rats. *J Ethnopharmacol.* 2017;199:52-59.
275. Ehrnhöfer-Ressler MM, Fricke K, Pignitter M, Walker JM, Walker J, Rychlik M, Somoza V. Identification of 1,8-cineole, borneol, camphor and thujone as anti-inflammatory compounds in a *Salvia officinalis* L. infusion using human gingival fibroblasts. *J Agric Food Chem* 2013;61:3451-3459.
276. Willershausen B, Gruber I, Hamm G. The influence of herbal ingredients on the plaque index and bleeding tendency of the gingiva. *J Clin Dent* 1991;3:75-78.
277. Newton TJ, Asimakopoulou K. Managing oral hygiene as a risk factor for periodontal disease: a systematic review of psychological approaches to behaviour change for improved plaque control in periodontal management. *J Clin Periodontol* 2015;42(16): 36-46.



278. Quadri T, Miranda L, Tuner J, Gustafsson A. The short-term effects of low-level lasers as adjunct therapy in the treatment of periodontal inflammation. *J Clin Periodontol* 2005;2:714-719.
279. Pejcic A, Kojovic D, Kesic L, Obradovic R. The effects of low level laser irradiation on gingival inflammation. *Photomedicine and laser surgery* 2010;28(1):69-74.
280. Lui J, Corbet EF, Jin L. Combined photodynamic and low-level laser therapies as an adjunct to nonsurgical treatment of chronic periodontitis. *J Periodont Res* 2011;46(1):89-96.
281. Makhlof M, Dahaba MM, Tunér J, Eissa SA, Harhash TAH. Effect of adjunctive low level laser therapy (LLLT) on nonsurgical treatment of chronic periodontitis. *Photom Las Surg* 2012;30(3):160-166.
282. Jain PR, Naik GD, Uppor SA, Kamath DG. Diode laser and fluoride varnish in the management of dentin hypersensitivity. *J Interdiscip Dentistry* 2015;5:71-74.
283. Kimura Y, Wilder-Smith P, Yonaga K, Matsumoto K. Treatment of dentine hypersensitivity by lasers: a review. *J Clin Periodontol* 2000;27(10):715-721.
284. Kreisler M, Christoffers AB, Willershausen B, d'Hoedt B. Effect of low-level GaAlAs laser irradiation on the proliferation rate of human periodontal ligament fibroblasts: an in vitro study. *J Clin Periodontol* 2003;30(4):353-358.
285. Weber JB, Pinheiro AL, de Oliveira MG, Oliveira FA, Ramalho LM. Laser therapy improves healing of bone defects submitted to autologous bone graft. *Photomed Laser Surg* 2006;24(1):38-44.
286. Hope JC, Campbell F, Hopkins SJ. Deficiency of IL-2 or IL-6 reduces lymphocyte proliferation, but only IL-6 deficiency decreases the contact hypersensitivity response. *Eur J Immunol* 2000;30(1):197-203.
287. Albertini R, Aimbire FS, Correa FI, Ribeiro W, Cogo JC, Antunes E, et al. Effects of different protocol doses of low power galliumaluminum- arsenate (Ga-Al-As) laser radiation (650 nm) on carrageenan induced rat paw oedema. *J Photochem Photobiol B* 2004;74(2-3):101-107.
288. Schindl A, Schindl M, Schon H, Knobler R, Havelec L, Schindl L. Low-intensity laser irradiation improves skin circulation in patients with diabetic microangiopathy. *Diabetes Care* 1998;21(4):580-584.
289. Gerschman JA, Ruben J, Gebart-Eaglemont J. Low level laser therapy for dentinal tooth hypersensitivity. *Aust Dent J* 1994;39(6):353-7.

290. Schaffer M, Bonel H, Sroka R, Schaffer PM, Busch M, Reiser M, et al. Effects of 780 nm diode laser irradiation on blood microcirculation: preliminary findings on time-dependent T1- weighted contrast-enhanced magnetic resonance imaging (MRI). *J Photochem Photobiol B* 2000;54(1):55-60.
291. Sakurai Y, Yamaguchi M, Abiko Y. Inhibitory effect of low-level laser irradiation on LPS-stimulated prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 in human gingival fibroblasts. *Eur J Oral Sci* 2000;108(1):29-34.
292. Wan-Bec K. Comparison of wet and dry bone ablation by Er:YAG laser in rabbits. *Oral Biol Res* 2003;27(2):311-321.
293. Sader R. Bone sparing laserosteotomy by a new carbondioxid laser results of in vitro investigation. *Int J Oral Maxillafac Surg* 2002;32(1):535-536.
294. Kaim JM, Gultz J, Do L, Scherer W. An in vitro investigation of the antimicrobial activity of an herbal mouthrinse.. *J Clin Dent* 1998;9(2):46-48.
295. Soukoulis S, Hirsch R. The effects of a tea tree oil-containing gel on plaque and chronic gingivitis. *Aust Dent J* 2004;49:78-83.
296. Makarem A, Pooreslami HR, khordimood M, Ajami B. Efficacy of dentifrice containing herbal extracts on control of the plaque and gingivitis in 12-13 years old boys. *J Res Med Sci* 2002;7(3):246-259.
297. Heaton B, Dietrich T. Causal theory and the etiology of periodontal diseases. *Periodontol* 2000 2011;58(1):26-36.
298. Colombo APV, Bennet S, Cotton SL, et al. Impact of periodontal therapy on the subgingival microbiota of severe periodontitis: Comparison between good responders and individuals with refractory periodontitis using the human oral microbe identification microarray. *J Periodontol* 2012;83(10):1279-1287.
299. Tonetti MS, Chapple ILC. Biological approaches to the development of novel periodontal therapies – Consensus of the Seventh European workshop on periodontology. *J Clin Periodontol* 2011;38(11):114-118.
300. Genc G, Kocadereli I, Tasar F, Kilinc K, El S, Sarkarati B. Effect of low-level laser therapy (LLLT) on orthodontic tooth movement. *Lasers Med Sci* 2013;28(1):41-47.
301. Sousa MVS, Scanavini MA, Sannomiya EK, Velasco LG, Angelieri F. Influence of low-level laser on the speed of orthodontic movement. *Photomed Las Surg* 2011;29(3):191-196.
302. Coffey J, Choudhry M, Shlossman M, Makin IRS, Singh, VK. Multiplex real- time PCR detection and relative quantification of periodontal pathogens. *Clin Exp Dent Res* 2016; 2(3):185-192.

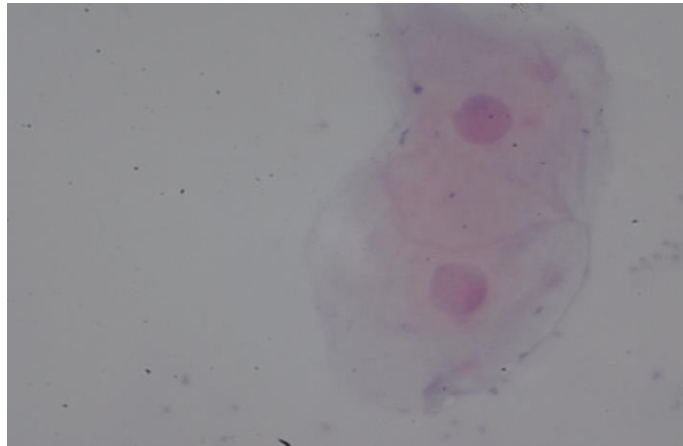
303. Nogueira NAP, Brígido JA, Silveira VRSD, Rego RO. Serotypes of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in relation to periodontal status and geographic origin of individuals: a review of the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2014;19(2):184-191.
304. Kesic L, Petrovic M, Obradovic R, Pejcic A. The importance of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in etiology of periodontal disease—mini review. *Acta med Median* 2009;48(3):35-37.
305. Gomes BP, Pinheiro ET, Gade-Neto CR, et al. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol and Immunol* 2004;19(2):71-76.
306. Jacinto RC, Gomes BP, Ferraz CC, Zaia AA, Filho FJ. Microbiological analysis of infected root canals from symptomatic teeth with periapical periodontitis and the antimicrobial susceptibility of some isolated anaerobic bacteria. *Oral Microbiol and Immunol* 2003;18(5):285-292.
307. Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol* 1992;63(4):322-331.
308. Pussinen PJ, Paju S, Mäntylä P, Sorsa T. Serum microbial-and host-derived markers of periodontal diseases: a review. *Curr Med Chem* 2007;14(22):2402-2412.
309. Diaz PI. Microbial diversity and interactions in subgingival biofilm communities. *Front Oral Biol* 2012;(15):17-40.
310. Marsh PD, Moter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontol* 2000 2011;55(1):16-35.
311. Kornman, KS, Robertson PB. Clinical and microbiological evaluation of therapy for juvenile periodontitis. *J Periodontol*. 1985;56(8):443-446.
312. Predin T, Đurić M, Mirnić J, Gušić I, Nikolić N, Marković D, Milašin, J. Klinički i mikrobiološki efekti kauzalne terapije parodontopatije. *Srp Arh Celok Lek* 2014;142(1-2):10-16.
313. Mombelli A, Gmür R, Gobbi C, Lang NP. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis. II. Characterization of isolated strains and effect of mechanical periodontal treatment. *J Periodontol* 1994;65:827-834.
314. Giannelli M, Bani D, Viti C, Tani A, Lorenzini L, Zecchi-Orlandini S, Formigli L. Comparative evaluation of the effects of different photoablative laser irradiation protocols on the gingiva of periodontopathic patients. *Photomed Laser Surg* 2012;30(4):222-230.
315. Darby I, Mooney J, Kinane D. Changes in subgingival microflora and humoral immune response following periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 2001;28:796-805.

316. Renvert S, Wikstrom M, Dahlen G, Slots J, Egelberg J. Effect of root debridement on the elimination of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides gingivalis* from periodontal pockets. *J Clin Periodontol.* 1990;17:345-350.
317. Mombelli A, Nyman S, Bragger U, Wennstrom JL, Lang NP. Clinical and microbiological changes associated with an altered subgingival environment induced by periodontal pocket reduction. *J Clin Periodontol.* 1995;22:780-787.
318. Amano A, Kuboniwa AM, Nakagawa I, Akiyama S, Morisaki I, Hamada S. Prevalence of specific genotypes of *Porphyromonas gingivalis* fimA and periodontal health status. *J Dent Res* 2000;79(9):1664-1668.
319. Amano A, Nakagawa I, Kataoka K, Morisaki I, Hamada S. Distribution of *Porphyromonas gingivalis* strains with fimA genotypes in periodontitis patients. *J Clin Microbiol* 1999;37:1426-1430.
320. Watson MR, Lopatin DE, Bretz WA, Ertel IJ, Loesche W J. Detection of two anaerobic periodontopathogens in children by means of the BANA and ELISA assays. *J Dent Res* 1991;70(7):1052-1056.
321. Lau L, Sanz M, Herrera D, Morillo JM, Martin C, Silva A. Quantitative real-time polymerase chain reaction versus culture: a comparison between two methods for the detection and quantification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol.* 2004;31:1061-1069.
322. Cruz GA, Toledo S, Sallum EA, Sallum AW, Ambrosano GMB, Sardi JCO, et al. Clinical and laboratory evaluations of non-surgical periodontal treatment in subjects with diabetes mellitus. *J Periodontol.* 2008;79:1150-1157.
323. Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL Jr, Socransky SS. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1997;24(5):324-334.
324. Milićević R, Brajović G, Nikolić-Jakoba N, Popović B, Pavlica D, Leković V, Milašin J. Identification of periodontopathogen microorganisms by PCR technique. *Srp Arh Celok Lek* 2008;136(9-10):476-480.
325. Swierkot K, Nonnenmacher CL, Mutters R, Flores-de-Jacoby L, Mengel R. One-stage full-mouth disinfection versus quadrant and full-mouth root planing. *J Clin Periodontol.* 2009;36:240-249.

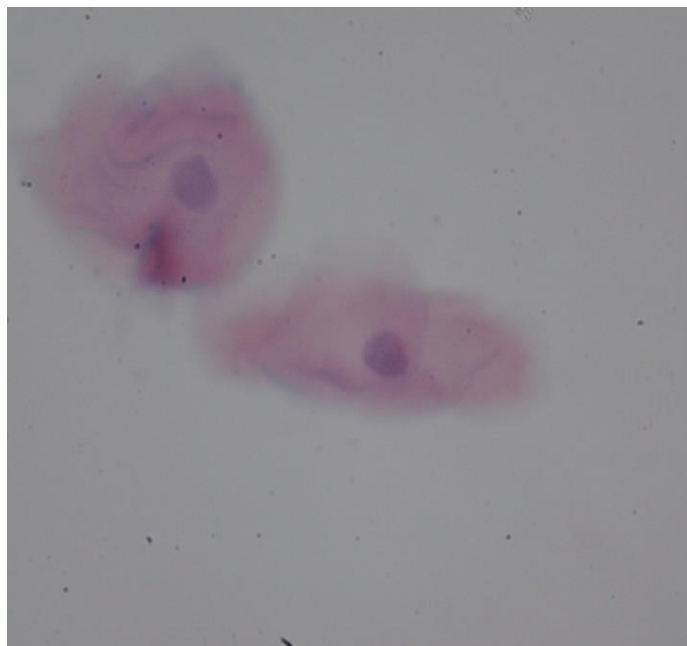
326. Predin T, Djuric M, Nikolic N, Mirnic, J, Gusic I, Petrovic, D, Milasin, J. Clinical and microbiological effects of quadrant versus full-mouth root planning-a randomized study. *J Dent Sci* 2014;9(4):400-406.
327. Kumaresan, GD, Jagannathan NITHYA. Exfoliative cytology-a predictive diagnostic tool. *Int J Pharm Pharm Sci* 2014;6(5):1-3.
328. Perez-Sayans M, Somoza-Martin JM, Barros-Angueira F, Reboiras-Lopez MD, Gandara-Vila P, Gándara-Rey JM. Exfoliative cytology for diagnosing oral cancer. *Biotech Histochem* 2009;25:1-1.
329. Igić M. Evaluacija rezultata lečenja hroničnih kataralnih gingivita hijaluronskom kiselinom, bazičnom i laseroterapijom kod dece. Doktorska disertacija, Medicinski fakultet, Niš; 2008.
330. Lin JC, Siu LK, Fung, C P, Tsou HH, Wang JJ, Chen, CT, Chang FY. Impaired phagocytosis of capsular serotypes K1 or K2 *Klebsiella pneumoniae* in type 2 diabetes mellitus patients with poor glycemic control. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(8):3084-3087.
331. Petrovic M, Kesic L, Obradovic R, Savic Z, Mihailovic D, Obradovic I, Janjic M. Comparative analysis of smoking influence on periodontal tissue in subjects with periodontal disease. *Mater Sociomed* 2013;25(3):196-198.
332. Boehm TK, Scannapieco FA. The epidemiology, consequences and management of periodontal disease in older adults. *J Am Dent Assoc* 2007;138:26-33.
333. Tonetti MS, D'aiuto F, Nibali L, Donald A, Storry C, Parkar M, Deanfield J. Treatment of periodontitis and endothelial function. *N Engl J Med* 2007;356(9):911-920.
334. Igić M, Mihailovic D, Kesic L, Milasin J, Apostolovic M, Kostadinovic L, Janjic OT. Cytomorphometric and clinical investigation of the gingiva before and after low-level laser therapy of gingivitis in children. *Lasers Med Sci* 2012;27(4):843-848.
335. Nayar AK, Sivapathasundharam B. Cytomorphometric analysis of exfoliated normal buccal mucosa cells. *Indian J Dent Res* 2003;14(2):87-93.

## PRILOG

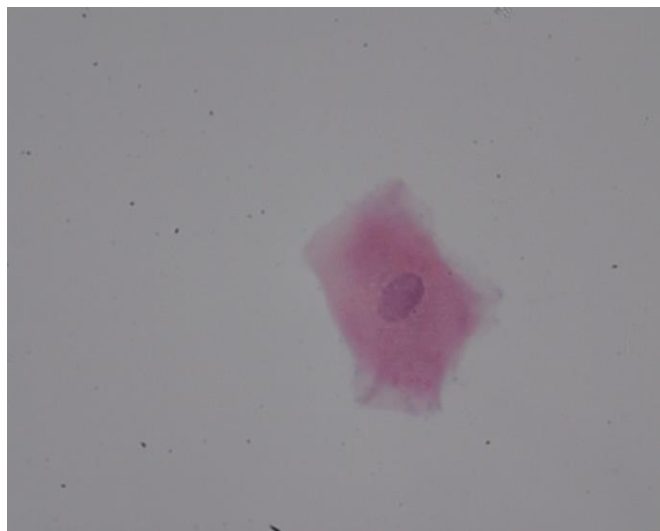
---



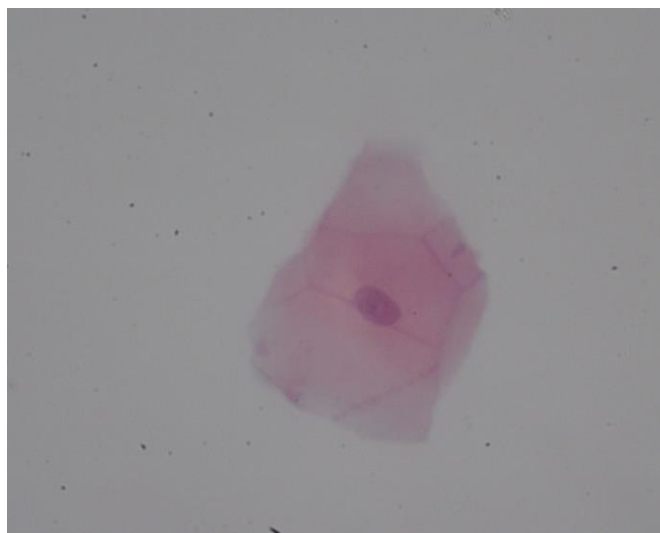
**Slika P1.** Citološki nalaz pre bazične terapije



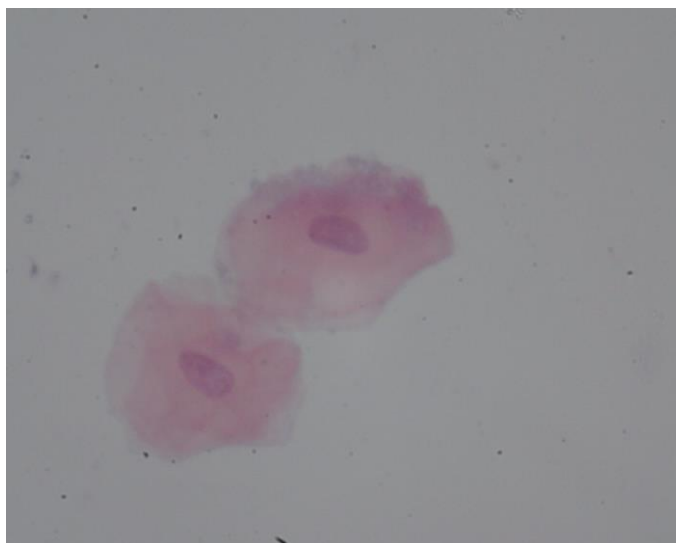
**Slika P2.** Citološki nalaz posle bazične terapije



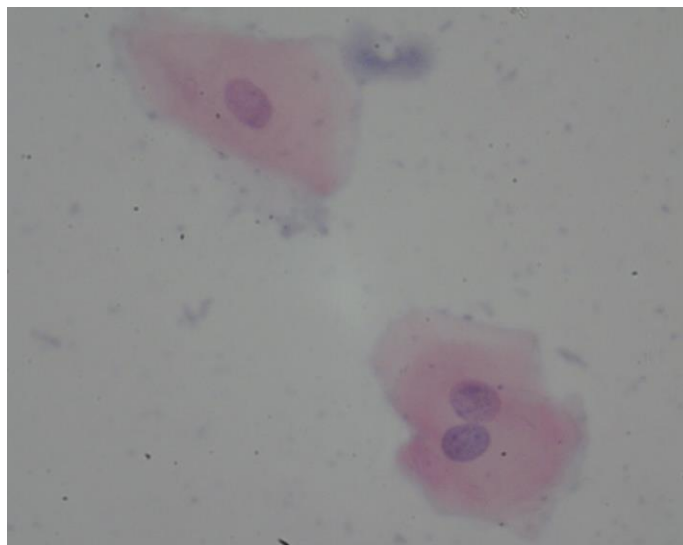
**Slika P3.** Citološki nalaz pre bazične+fitoterapije



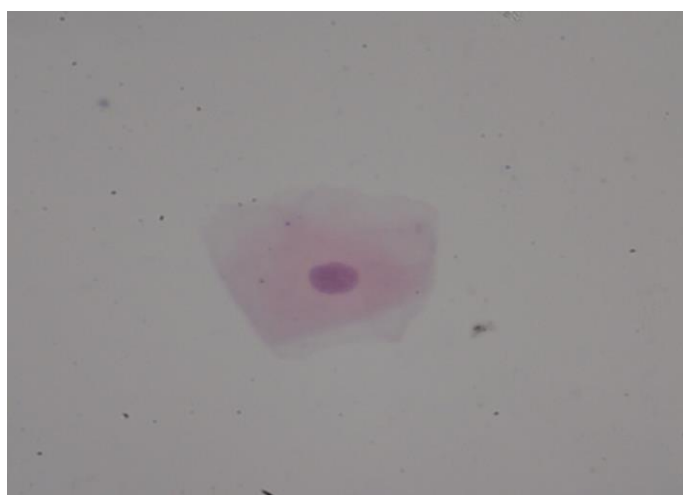
**Slika P4.** Citološki nalaz posle bazične+fitoterapije



**Slika P5.** Citološki nalaz pre bazične+laseroterapije



**Slika P6.** Citološki nalaz posle bazične+laseroterapije



**Slika P7.** Citološki nalaz kontrolne grupe



## Biografija

Milica S. Petrović, devojčako Živković, rođena 18. 09.1981. godine u Nišu. Udata je, majka jednog deteta, sa stalnim boravkom u Nišu, ulica Cara Dušana 28/7.

Završila je osnovnu školu „Filip Filipović“ u Nišu kao učenik generacije i nosilac Vukove diplome, a zatim gimnaziju „Stevan Sremac“, matematički smer sa odličnim uspehom. Medicinski fakultet u Nišu, odsek stomatologija, završila je sa prosečnom ocenom 8.78 i odbranom diplomskog rada sa ocenom 10. Akademske doktorske studije (ADS), smer „Bazična istraživanja u stomatologiji“ na Medicinskom fakultetu u Nišu je upisala školske 2008/2009. godine, gde je u toku studiranja ostvarila prosečnu ocenu 10.00. Specijalistički ispit iz Parodontologije i oralne medicine položila je sa ocenom odličan dana 20.5.2015. (broj diplome 4952, datum izdavanja 22.6.2015.) i time stekla stručni naziv specijalista za parodontologiju i oralnu medicinu. Nakon upisane specijalizacije, Nastavno-naučno veće je odobrilo odluku o prelasku na ADS – „Klinička i epidemiološka istraživanja u stomatologiji“, gde je položila sve ispite predviđene planom i programom sa prosečnom ocenom 10.00.

Radila je najpre kao volonter (od 2.9.2009.), a zatim kao saradnik u nastavi, uža naučna oblast Oralna medicina i parodontologija na Medicinskom fakultetu, Univerziteta u Nišu od 01.02.2011. do 01.02 2015. godine. Odlukom Nastavno - naučnog veća (broj: 10-9447-6) izabrana je u istraživačko zvanje - istraživač saradnik.

Učešće na projektima:

1. Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije, broj projekta:

41018, „Preventivni, terapijski i etički pristup u prekliničkim i kliničkim istražavanjima gena i modulatora redoks ćelijske signalizacije u imunskom, inflamatornom i proliferativnom odgovoru ćelije“

46013, „Tradicionalni i novi proizvodi od plodova gajenih i samoniklih vrsta voćaka i vinove loze i nus - produkata u preradi, sa posebnim osvrtom na autohtone sorte: hemijska karakterizacija i biološki profil“

2. Interni projekat Medicinskog fakuteta, Univerziteta u Nišu, broj projekta: 11, „Kliničko i eksperimentalno ispitivanje stomatognatog sistema i savremenih terapijskih procedura“

Milica S. Petrović ima ukupno 32 publikacije, objavljene u celini ili u izvodu, a od toga 4 rada u vrhunskim, istaknutim ili vodećim časopisima međunarodnog značaja (**M21**, **M22** i **M23**):

1. **Petrović MS**, Kannosh IY, Milašin JM, Mihailović DS, Obradović RR, Bubanj SR, Kesić LG. Clinical, microbiological and cytomorphometric evaluation of low-level laser therapy as an adjunct to periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. *Int J Dent Hyg* 2018; 00: 1-8. <https://doi.org/10.1111/idh.12328> (**M22**) IF: 1.358
2. Petrović D, Mihailović D, Petrović S, Živković N, Mijović Ž, Bjelaković B, Kostić M, Kesić L, Stanković A, **Petrović MS**, Vučković I. Asymptomatic flow of Rosai-Dorfman disease. *Vojnosanit Pregl* 2014; 71(8): 780-783. (**M23**) IF: 0.367
3. Denić M, Sunarić S, Kesić L, Minić I, Obradović R, Denić M, **Petrović MS**. RP-HPLC assay of doxycycline in human saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontal disease. *J Pharm Biomed Anal* 2013; 78: 170-175. (**M21**) IF: 2.829
4. Obradović R, Kesić L, Gašić J, **Petrović MS**, Živković N. Role of smoking in periodontal disease among diabetic patients. *West Indian Med J* 2012; 61(1): 99-102. (**M23**) IF: 0.319

Pored toga, publikovala je: 3 rada u časopisima međunarodnog značaja koji su verifikovani posebnom odlukom (**M24**), 3 rada *in extenso* u međunarodnim ili vodećim domaćim časopisima sa recenzijom i sekundarnom citiranošću-indeksacijom (**M51**), 9 radova u naučnim časopisima nacionalnog značaja (**M52**), 4 na internacionalnom kongresima (**M34**) i 9 radova na domaćim skupovima sa međunarodnim učešćem (**M64**) i:

1. Obradović R, Mitić A, Kesić Lj, Petrović A, Pejčić A, Todorović K, **Petrović M**, Gingival inflammation as a sign of diabetic systemic chronic complications. *Stoma Edu J* 2016; 3(2): 200-4. (M24)
2. **Petrović MS**, Kesić LG, Kitić DV, Milašin JM, Obradović RR, Bojović MD, Simonović AA. Periodontal Disease and Phytotherapy. *Org Hyg Health* 2015; 3: 172. (M24)
3. Nikolic D, Kesic Lj, **Petrovic M**, Gasic J, Petrovic S, Stankovic S, Zivkovic N, Minic I, Obradovic I, Periodontal health status and Oral health behavior among the 5th year dental students of Medical faculty University of Nis, *Healthmed* 2014; 8 (10): 1138-45. (M24)

4. Todorović K, Marija Bojović M, **Petrović M**, Obradović R, Bubanj S, Jovanović R, Minić I, Kesić L. Oral and periodontal health in chronic users of psychoactive substances. *Acta Medica Medianae* 2017; 56(2): 64-9. (M51)
5. Kesić L, Delić R, Mihailović D, **Petrović M**, Delić T. Morphologic and morphometric analysis of alternations in the oral cavity caused by *Candida albicans*: Experimental work. *Med Pregl* 2014; 67(5-6): 149-53. (M51)
6. **Petrović M**, Kesić L, Obradović R, Savić Z, Mihailović D, Obradović I, Avdić-Saracević M, Janjić-Tricković O, Janjić M. Comparative analysis of smoking influence on periodontal tissue in subjects with periodontal disease. *Mater Sociomed*, 2013; 25(3): 196-8. (M51)
7. Obradović R, Kesić Lj, Pejčić A, **Petrović M**, Igić M. Maxillary labial frenulum attachment level in adults, *Glasnik Antropološkog društva Srbije* 2015; 51: 57-62. (M52)
8. Obradović R, Kesić Lj, Pejčić A, Bojović M, Igić M, **Petrović M**. Low power laser efficacy in the therapy of periodontitis. *Acta stomatologica Naissi* 2015; 31(72): 1504-13. (M52)
9. Bojović M, Kesić L, Jovanović G, Burić N, Savić Z, Obradović R, **Petrović MS**. Application of soft laser in the treatment of herpes labialis- pilot study. *Acta Stomatologica Naissi* 2014; 30(69): 1342-7. (M52)
10. Obradović R, Kesić L, **Petrović M**, Stanković I. Differential diagnosis and therapeutic characteristics of oral candidiasis. *Acta Stomatologica Naissi* 2013; 29(68): 1315-23. (M52)
11. Pejčić AS, Kesić LjG, Živković VD, Obradović RR, **Petrović MS**, Mirković DS. Gingivalno uvećanje izazvano nifedipinom. *Acta Stomatologica Naissi* 2011; 27(64): 1104-9. (M52)
12. **Petrović MS**, Kesić LjG, Živković ND, Obradović IV, Obradović RR. Virusi i parodontopatija. *Acta Stomatologica Naissi* 2011; 27(64): 1110-8. (M52)
13. Obradović R, Kesić Lj, Pejčić A, **Petrović M**, Živković N, Živković D. Diabetes mellitus i oralna kandidoza. *Acta stomatologica Naissi* 2011; 27(63): 1025-34. (M52)
14. Kesić L, **Petrović M**, Obradović R, Pejčić A. Značaj *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*-a u etiologiji parodontalnih oboljenja - Mini review. *Acta Medica Medianae* 2009; 48(3): 35-7. (M52)

15. Pejčić A, Kesić L, Obradović R, **Petrović MS**, Mirković D. Oralno stanje kod pacijenata sa HIV infekcijom - Usna duplja i HIV. *Acta stomatologica Naissi* 2009; 25(60): 915-24. (M52)
16. Kesić L, Jovanović G, Obradović R, **Petrović MS**. Oral mucositis-prevention and tretmant of patients with antineoplastic therapy, Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research, June 8-12, 2015, Budva, Montenegro Abstract Book pp. 237. (M34)
17. Kesić L, Milašin J, Obradović R, Igić, M, Pejčić A, **Petrović MS**. The efficiency of low level laser therapy in the treatment of the mouth burning syndrome in diabetics, 13th World Congress for Laser Dentistry, April 26-28, 2012, Barcelona, Spain. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2012 May 1;17(Supplement1):S258.) (M34)
18. Ristić I, Mancić D, Ristić K, Aleksov L, Aničić Ristić B, Alkaliakis S, **Petrović MS**. Thermographic study of temperature distribution during ultra-speed tooth preparation, 1<sup>st</sup> Intercontinental Symposium on Contemporary Dentistry, June 3-4, 2010, Niš, Serbia Abstract Book pp. 53. (M34)
19. Ajduković Z, Ignjatović N, Stojanović Z, Kaličanin B, Savić V, **Petrović MS**, Petrović MB, Milićević J, Uskoković D. Treatment of osteoporosis alveolar bone with cobalt substitute hydroxyapatit, XI međunarodna konferencija „YUCOMAT 2009“, Herceg Novi, Programme and The Book of Abstracts pp. 48. (M34)
20. **Petrović MS**, Kesić Lj, Obradović R. Significance of identification *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in patients with chronic parodontopathy. Osmi kongres stomatologa Vojvodine, Društvo lekara Vojvodine Srpskog lekarskog društva, pp. 85-85, isbn: 978-86-81315-59-0, Novi Sad, Srbija, 13-14 May, 2017.(M64)
21. **Petrović M**, Kesić Lj, Obradović R, Pejčić A, Bojović M. Molecular - genetic analysis of the presence of *Treponema denticola* in periodontal health and disease, Međunarodni simpozijum, Savremeni aspekti dijagnostike i terapije oboljenja orofacijalne regije, Niš, Srbija, 30. oktobar 2017. (M64)
22. Obradović R, Kesić LJ, Pejčić A, Bojović M, **Petrović M**, Stanković I. Parodontalno zdravlje kod dijabetesnih bolesnika. Međunarodni simpozijum, Savremeni aspekti dijagnostike i terapije oboljenja orofacijalne regije, Niš, Srbija, 30. oktobar 2017 (M64)
23. Stanković I, Kesić Lj, Milašin J, Obradović R, **Petrović MS**, Bojović M. Antimikrobno dejstvo eteričnih ulja. Međunarodni simpozijum, Savremeni aspekti dijagnostike i terapije oboljenja orofacijalne regije, Niš, Srbija, 30. oktobar 2017 (M64)

- 24. Petrović SM,** Ajduković Z, Stanković S, Aleksov Lj, Ristić I, Milićević J, Petrović B.M. Iskustva u terapiji pacijenata sa disfunkcijom temporomandibularnog zgloba. XVI Simpozijum protetičara Srbije. Zbornik radova 2009: str. 94-5. (M64)
- 25. Milićević J, Petrović S. M,** Petrović B. M, Ajduković Z, Kitić D, Savić V. Primena preparata na bazi ekstrakta lista *Salviae folium* i *Quercus cortex* u terapiji dekubitalnih ulkusa kod gerontoloških pacijenata. XVI Simpozijum protetičara Srbije. Zbornik radova 2009: 96 str. 8. (M64)
- 26. Živković M,** Ninošević A. Da li žvakaća guma deluje na mikrobiološki sastav pljuvačke, 47. savezni kongres studenata medicinskih nauka Srbije i Crne Gore, 2006. Lepenski Vir. (M64)
- 27. Radonjić S., Živković M.** Veličina zuba kod malokluzija II klase 2. Odeljenja, 47. savezni kongres studenata medicinskih nauka Srbije i Crne Gore, 2006. Lepenski Vir. (M64)
- 28. Spasić M,** Janošević P, **Živković M,** Radonjić S, Božić M, Marinković M., Novićević A. Ispitivanje površinske korozije amalgama, 47. savezni kongres studenata medicinskih nauka Srbije i Crne Gore, 2006. Lepenski Vir. (M64)

## Изјава 1.

### ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

#### **Компаративно испитивање ефикасности базичне, ласеро- и фитотерапије код пацијената са хроничном пародонтопатијом**

која је одбрањена на Медицинском факултету Универзитета у Нишу:

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да ову дисертацију, ни у целини, нити у деловима, нисам пријављивао/ла на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, \_\_\_\_\_

Потпис аутора дисертације:



Милица С.Петровић

(Име, средње слово и презиме)

**Изјава 2.**

**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ЕЛЕКТРОНСКОГ И ШТАМПАНОГ ОБЛИКА  
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

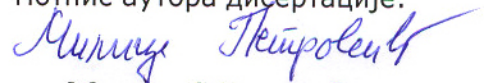
Наслов дисертације:

**Компаративно испитивање ефикасности базичне, ласеро- и фитотерапије код пацијената са хроничном пародонтопатијом**

Изјављујем да је електронски облик моје докторске дисертације, коју сам предао/ла за уношење у **Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу**, истоветан штампаном облику.

У Нишу, \_\_\_\_\_

Потпис аутора дисертације:



Милица С.Петровић

(Име, средње слово и презиме)

### Изјава 3:

#### ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

#### **Компаративно испитивање ефикасности базичне, ласеро- и фитотерапије код пацијената са хроничном пародонтопатијом**

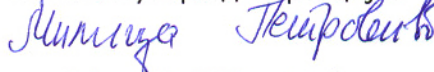
Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском облику, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство **(CC BY)**
2. Ауторство – некомерцијално **(CC BY-NC)**
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде **(CC BY-NC-ND)**
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима **(CC BY-NC-SA)**
5. Ауторство – без прераде **(CC BY-ND)**
6. Ауторство – делити под истим условима **(CC BY-SA)**<sup>1</sup>

У Нишу, \_\_\_\_\_

Потпис аутора дисертације:



Милица С.Петровић

(Име, средње слово и презиме)

---

<sup>1</sup> Аутор дисертације обавезан је да изабере и означи (заокружи) само једну од шест понуђених лиценци; опис лиценци дат је у наставку текста.