

Универзитет "Св. Кирил и Методиј"
Стоматолошки факултет
Клиника за болести на усната и пародонтои
Скопје

Соња Миндова

**ПУШЕЊЕТО: МОДИФИЦИРАЧКИ РИЗИК ФАКТОР ВО
ЕТИО-ПАТОГЕНЕТСКИТЕ СЛУЧУВАЊА НА
ПАРОДОНТАЛНАТА БОЛЕСТ**

докторска дисертација
Скопје, 2011 година

Мениџор:

Проф. д-р Марија Накова

Членови на комисија:

Проф. д-р Злајџанка Белазелкоска

Проф. д-р Киро Ивановски

Проф. д-р Ицко Ѓорѓоски

Проф. д-р Мирјана Појовска

Проф. д-р Марија Накова

Датум на одбрана:

Датум на промоција:

Научна област: Сџомајџолошки науки - џародонџолоџија

Во изработката на оваа докторска дисертација свој придонес дадоа повеќе институции и поединци, за кои чувствувам задоволство да ги споменам и да им се заблагодарам. Благодарност должам кон:

Мојот ментор Проф. д-р Марија Накова за нејзината отвореност и подготвеност за соработка и постојаниот поттик и поддршка во текот на изработката на овој труд.

Проф. д-р Ицко Ѓоргоски за помошта во изработката и реализацијата на испитаниот материјал.

На вработените на Клиниката за Орална хирургија за помошта при собирањето на материјалот.

АПСТРАКТ

Пушењето: модифицирачки ризик фактор во етиопатогенезата на пародонталната болест

АПСТРАКТ:

Целта на овој труд беше да се утврдат ефектите на пушењето врз прогресијата на пародонталната болест, преку проследување на: ткивната и серумската динамика на инфламаторните медијатори (ТНФ- α , ИЛ-1 β), васкуларните промени во гингивалното ткиво, како и да се проследи серумската динамика на липидните параметри (триглицериди, вкупен холестерол, ЛДЛ-холестерол, ХДЛ-холестерол. Реализација на поставената цел беше спроведена на Клиниката за болести на устата и пародонтот каде беше формирана испитувана група (45) сочинета од пациенти пушачи со дијагностицирана хронична пародонтална болест и контролна група (45) непушачи со пародонтопатија (класифицирана според ААП од 1999 година). на возраст од 40 до 60 години. Според бројот на испушени цигари пациентите од испитуваната група беа поделени во три подгрупи од 15 испитаници:Првата подгрупа ја сочинуваа пациенти кои пушат до 10 цигари на ден, (лесни пушачи). Втората подгрупа ја сочинуваа пациенти кои пушат од 10 до 20 цигари на ден (умерени пушачи). Третата подгрупа ја сочинуваа пациенти кои пушат над 20 цигари на ден (страсни пушачи).Кај двете групи на испитаници беа нотирали индексите вредности на дентален плак по Silness-Loe (ИДП), гингивална инфламација по Loe Silnes (ИГИ), гингивално крвавење по Cowell (ИГК) како и степенот на губиток на атачмент (Ramfjord). По извршениот клинички преглед кај двете групи на испитаници по пат на венепункција беа земани 5 мл крв од v cubitalis како и биоптичен материјал од гингивата.Кај двете групи (контролна и испитувана) во биоптичниот материјал и во серумските примероци беше верификувано квантитативното присуство на интерлеукин еден бета (ИЛ-1 β), тумор некрозен фактор алфа (ТНФ- α), липидниот статус, како патохистолошка верификација на васкуларните промени во гингивалното ткиво.Од добиените резултати може да се констатира дека вредностите на ТНФ- α во гингивалното ткиво детектираа разлика на просечните вредности кај трите испитувани подгрупи која е статистички сигнификантна. Анализата на серумските вредности на ИЛ-1 β детектираа разликата на просечните вредности кај трите испитувани подгрупи(пушачи) која е статистички сигнификантна.Позитивна сигнификантна корелација помеѓу пародонталниот индекс на Ramfjord со ТНФа во гингивалното ткиво и серум во испитуваните групи. Анализата на вкупниот холестерол и ХДЛ холестеролот регистрираат разлика на просечните вредности кај трите испитувани подгрупи која е статистички сигнификантна, но просечните вредности на ХДЛ. кај втората и третата подгрупа и контролната група се во граница на референтните, додека просечната вредност на првата подгрупа е повисока од референтните вредности.Проценката на индексот на дентален плак (ИДП) регистрира статистички сигнификантност помеѓу првата, втората во однос на третата, помеѓу првата втората во однос на контролната група. Јасна процентуална разлика помеѓу контролната група во однос на втората и третата подгрупа која е статистички сигнификантна нотира индексот на гингивална инфламација(ИГИ) и помеѓу контролната во однос на третата подгрупа.Анализата на

индексот на гингивално крвање (ИГК) укажува на статистички сигнификантност помеѓу контролната група во однос на првата втората и третата подгрупа. Губитокот на атачмент кај испитуваната група е зголемен при што степенот на губиток зависи од дозата на никотинот кој се внесува со пушењето (бројот на испишени цигари дневно) и покажување на ефект по многу години. Патохистолошката анализа на гингивалните примероци верификуваат присуство на хроничен инфилтрат со лимфоцити, редуциран број на артериоли и венули со задебелени ѕидови. Литературните податоци индицираат дека пушењето е аларм, предупредувачки сигнал за појава на пародонтална болест. На стоматолозите клиничари им останува обврската за сериозен точен пристап во дијагностицирањето, идентификација на ризик факторите и третирањето на пародонталната болест.

Клучни зборови: пародонтопатија, ТНФ- α , IL-1 β , липиден статус, пародонтални индекси

Smoking: modifying risk factor in etiopathogenesis of periodontal disease

ABSTRACT

The aim of the study was to determine effects of smoking on progression of periodontal disease verified through: tissue and serum dynamic of inflammatory mediators (TNF- α , IL-1 β), vascular changes in gingival tissue, and verification of serum changes of lipid parameters (triglycerides, total cholesterol, LDL- cholesterol, HDL- cholesterol). Experimental group consisted 45 patients-smokers with periodontal disease and control group 45 patients non- smokers with periodontal disease (AAP classification, 1999), at age 40-60.

According the number of cigarettes per day patients in experimental group were divided in three subgroups (each consisted 15 persons): I group: light smokers- up to 10 cigarettes per day, II group: moderate smokers- up to 10-20 cigarettes per day and III group: heavy smokers-above 20 cigarettes per day. In both groups were evidenced clinical indices: (IDP- index of dental plaque Silness-Loe; IGI- index of gingival inflammation Loe – Silness; index of gingival bleeding Cowell and level of attachment loss Ramfjord). After clinical examination in both groups was taken 5ml blood by venepunction from v. cubitalis, and gingival biopsy was performed. In bioptic material and serum specimens (of both groups) quantitative verification of IL-1 β , TNF- α , and lipid status and pathohistologic evaluation of vascular changes in bioptic material was done. Our results pointed that the levels of TNF- α , detected differences of mean values in three subgroups that were statistically significant. Analysis of the serum level of IL-1 β , detected differences of mean values in three subgroups that were statistically significant. Positive significant correlation between Ramfjord index and TNF- α in gingival tissue and serum was noted. Analysis of the total cholesterol and HDL-cholesterol, detected differences of mean values in three subgroups that were statistically significant, but mean level of HDL-cholesterol in second, third subgroup and control group were in normal range. Evaluation of dental plaque index detected statistical significance between first, second and third subgroup, and between first, second subgroup and control group. Clear percentage difference between control group and second and third subgroup, that is statistically significant was noted for index of gingival inflammation, and between control and third subgroup. Our results pointed that scores for index of gingival bleeding detected differences of mean values in three subgroups that were statistically significant between control group and first, second and third subgroup. The attachment loss in experimental group is elevated and the level of attachment loss depends of nicotine dose (number of cigarettes per day) and its effect is evident after many years. Patohystologic analysis of gingival specimen's verified chronic infiltrate with lymphocytes, reduced number of arterioles and venules that are narrowed. Literature indicates that smoking is alarm, warning signal for periodontal disease. Dentists – clinicians have an obligation of serious, through diagnostic protocol, identification of risk factors and treatment of periodontal disease.

Key words: periodontal disease, TNF- α , IL-1 β , lipid status, periodontal indices

Содржина

1.0 Вовед.....	1
2.0 Литературен преглед.....	9
3.0 Цел на трудот.....	16
4.0 Материјал и метод.....	18
5.0 Резултати.....	33
6.0 Дискусија.....	68
7.0 Заклучоци.....	84
8.0 Литература.....	91

1.0.ВОВЕД

Ризикот за појава на пародонталната болест и прогнозата на пациентите е поврзана со мноштво на ризик фактори како возраста стресот, присуството на специфични микро организми, генетиката дијабетот, пушењето. Историски се верувало дека сите индивидуи се униформно чувствителни за развој на пародонтална болест и дека акумулацијата на денталниот плак, лошата орална хигиена и веројатно оклузалната траума се доволни да иницираат пародонтална болест.

Во последните четири декади прифатено е дека пародонтопатијата е причинета од специфични бактериски инфекции и дека индивидуите се подеднакво чувствителни како кон овие инфекции така и кон оштетувањето предизвикано од нив. Со ваквото разбирање се концентрираа напорите кон развивање на маркери кои ќе дозволат идентификација на чувствителните индивидуи пред да се развие пародонтална болест, и ќе се идентификуваат ризик факторите кои може да бидат модифицирани со цел да се превенира или алтерира насоката на пародонталната болест.

Пушењето е најдобро потврден модифицирачки ризик фактор во развојот и прогресијата на пародонталната болест. (27) Иако механизмите на остварување на ваква врска не се целосно дефинирани, истражувачите посочуваат дека пушењето, како и периодичната и краткотрајна бактериемија, водат до инвазија на васкуларните клетки и до зголемени нивоа на циркулаторни цитокини кои го зголемуваат атерогениот процес.

Веројатна цел на циркулаторните цитокини и оралните патогени е васкуларниот ендотел кој има централна улога во регулацијата на васкуларната хемостаза. Пушењето може да се вклучи во етиопатогенезата на пародонталната болест и по пат на ослободување на проинфламаторните цитокини и инфламаторните медијатори кои можат да започнат каскада на биохемиски реакции, и да предизвикат пародонтално и ендотелно оштетување (64). Затоа пациентите кои пушат можат да се сметаат за системски засегнати и при отсуство на јасни клинички симптоми на заболувањето (41). Општо прифатено е дека голем дел од пародонтално ткивната деструкција забележана при пародонталната болест кај пушачите е посредувана преку ослободување на проинфламаторни цитокини од локалните ткива и имуните клетки во одговор на бактериската флора и нејзините метаболити особено липополисахаридите. Комбинацијата на никотинот и бактерискиот липополисахарид како системски иницијатор може да активира импресивна каскада на инфламаторни цитокини кои се способни да предизвикуваат васкуларни и коагулациски компликации поврзани со пародонталната болест (80).

Неколку проинфламаторни цитокини партиципираат во имунопатогенезата на пародонталната болест, но најубедливи докази за оваа вклученоста во литературата има за ИЛ-1 β и ТНФ- α (41). Нивното појавување во плазмата кај пушачи има добро дефинирана временска поврзаност, индикативна за цитокинската каскада. Кај пушачи со напредната пародонтална болест нивоата на ИЛ-1 β и ТНФ- α во гингивалниот флуид се доволно високи за да бидат во детектибилниот опсег на биолошките серумски анализи (41). Бостром и сор известуваат за зголемено ниво на ТНФ- α во гингивалниот флуид кај активни и поранешни пушачи, во споредба со не пушачи. Пушачи со пародонтална болест имаат сигнификантно повисоки плазмени нивоа на ТНФ- α и ИЛ-6 во споредба од непушачи (91). Во ин витро исражувањата на капацитетот за прајмингот на неутрофилните

полиморфонуклеари за $\text{TNF-}\alpha$, мерен како создавање на кислородни радикали кај пушачи и непушачи, пушачите покажале посилен ефект. Се претпоставува дека овој ефект на пораст може да биде важен во засилувањето на ткивното оштетување (46,36). Во насока на ткивно деструктивните ефекти се смета дека ИЛ-1 β регрутира инфламаторни клетки, го олеснува полиморфонуклеарното иницирање, ја зголемува синтезата на инфламаторните медијатори (простагландините, матриксните металопротеинази) ја инхибира колгенската синтеза и ги активира Б-лимфоцитите. (41). $\text{TNF-}\alpha$ е главен сигнал за клеточна апоптоза, коскена ресорпција, продукција на матриксните металопротеинази (ММП), експресија на интерцелуларната адхезивна молекула (ICAM) и продукцијата на ИЛ-6 (83,25).

Пушењето делува имуносупресивно, доведувајќи до пореметување на одбрамбената способност која се манифестира со намалена активност на полиморфонуклеарните леукоцити, хемотаксата, фагоцитозата, (52,58,46), намалена продукција на имуноглобулини кои се важни за опсонизација на бактериите(19) дејствувајќи на тој начин на домакиновата контрола на бактериите. Оваа контрола ги вклучува ефектите на јаглеродниот моноксид, засилувањето на растот на бактериите што за возврат може да обезбедат услови погодни за анаеробите и оштетување на клетките вклучени во заштитата на пародонталната околина како неутрофилите кои може да бидат засегнати од формирањето на повеќе гликациски крајни продукти од чадот. Неутрофилите се прва линија на одбрана против бактериската инфекција, и иако пушачите имаат сигнификантно повисок број на неутрофили во периферната циркулација (70) нивната функција е нарушена. Ин витро испитувањата укажуваат дека никотинот може да ја инхибира продукцијата на насцетен кислород, или хидрогенот пероксид од стимулираните неутрофили (73,85), што може да ги инхибира механизмите на микробно убивање и на тој начин ја нарушува домакиновата способност да се бори со

пародонтопатогените. Неутрофилните леукоцити кај пушачи го зголемуваат оксидативниот товар (85) што може да ја засили ткивната деструкција преку директни и индиректни токсични ефекти. Ефектот на пушењето е подеднаков кај двата пола, дури посилен кај жените, бидејќи кај жените пушењето влијае на метаболизмот на естрогениот хормон (75), при што дефицитот на овој хормон е поврзан со зголемена продукција на ИЛ-1 α ИЛ6 и ТНФ- α (55,68) што може да влијае врз алвеоларниот и системскиот коскен статус. Иако никотинот ја зголемува продукцијата на ИЛ-1 α и ИЛ-1 β од кератиноцитите (42) тоа сепак не влијае врз ИЛ-1 β продукцијата од периферните моноцити или од гингивалните мононуклеарни клетки (77). Комбинација на никотин и липополисахарид ја намалува ИЛ-1 β секрецијата (73). Овие наоди укажуваат дека различни клеточни типови одговараат различно на никотинската изложеност. Никотинот е најшироко испитувана компонента на тутунот, но тутунските продукти содржат илјадници хемикалии кои имаат потенцијално влијание на домаќиновиот одговор, па затоа дополнителни клинички испитувања се потребни за расветлување на ефектите од пушењето на цитокинската продукција.

Пушењето како и должината на пушењето водат до зголемување на концентрацијата на серумскиот вкупен холестерол, триглицеридите, ЛДЛ холестеролот, а пад на антиатерогенскиот ХДЛ-холестерол (97,15,69) што игра клучна улога во атеросклеротичниот процес (101). Различни механизми кои водат до липидна алтерација поради пушењето го вклучуваат дејството на никотинот кој го стимулира симпатичниот адренален систем водејќи до зголемена секреција на катехоламини, резултирајќи во зголемена липаза и зголемена концентрација на плазмените масни киселини, што предизвикува зголемена секреција на масни киселини и триглицериди заедно со ЛДЛ холестеролот во крвотокот (69,100). Комбинација на никотин и липополисахарид (Лпс) може да

резултира во ослободување на инфламаторни цитокини ИЛ-1 β ТНФ- α кои влијаат на метаболизмот на мастите и ја промовираат хиперлипидемијата (41). Во однос на потенцијалната врска помеѓу пушењето хиперлипидемијата пародонталната болест денес се смета, дека е можно пушењето да индуцира измени во имуноклеточната функција кои причинуваат метаболна дисрегулација на липидниот метаболизам преку механизмите кои ги инволвираат проинфламаторните цитокини (69,100). Овие наоди сугерираат дека пушењето влијае на липидниот профил причинувајќи дислипидемија кај пушачите, а промените стануваат позначајни со зголемувањето на бројот на дневно испушени цигари.

Системското никотинско дејствување предизвикува штетни реакции на крвните садови, влијае на микроциркулацијата на пародонциумот и срцевиот мускул по пат на вазоконстрикција, причинува пораст на крвниот притисок, зголемена срцева акција (43) ја зголемува адхезивноста на моноцитите за ендотелните клетки и условува измени во соодносот на малите и големите крвни садови во гингивата. Хистолошките наоди покажуваат дека постои помал број на крвни садови во гингивата кај пушачите во споредба со непушачите. Mirbrod и сор известуваат дека пародонталната васкулатура кај пушачи е составена од помал број на големи крвни садови а поголем број на мали крвни садови, во споредба со непушачите.

Литературните докази (5,11), укажуваат дека пушењето го намалува гингивалното крвавење. Редуцираниот одговор на крвавење кај пушачите е препишано на гингивалната вазоконстрикција на никотински стимулираниот адреналин и норадреналин преку α 1-адренергичните рецептори (5,19,80), а е резултат на нарушувањето на имуниот одговор. Наодите на намалена инфламација (43,58) и редуциран волумен на гингивалниот флуид кај пушачите во споредба со непушачите (12) сугерира дека пушењето влијае на гингивалниот крвен проток, но истражувањата кои ги проценуваат ефектите на никотинот или пушењето врз гингивалниот крвен проток покажуваат

контрадикторни резултати (9). Различните резултати се поврзани со дозата на тутунските компоненти, времето на мерење и методологијата која се применува за проценка на крвниот проток но исто така можат да ги одразуваат алтерациите во калибарот на крвните садови кои го перфузираат гингивалното ткиво (66).

Клиничките и ретгенолошките испитувања на состојбата на пародонциумот укажуваат дека состојбата на пародонциумот кај пушачите е полоша во споредба со непушачите а клиничката слика се манифестира со присуство на подлабоки пародонтални цепови, поголем губиток на атачмент и изразена редесија на гингивата (87,54,14). Ефектот на пушењето на пародонциумот е кумулативен, односно негативните ефекти од пушењето врз потпорниот апарат зависат од должината на пушењето и бројот на дневно испушени цигари. Применувајќи категоризиран приод во однос на должината на пушењето. Бергстром и сор известува дека пушењето во текот на средината на адолесцентниот период и во тек на период на зрелост ќе ја удвои веројатноста за појава на пародонтално заболување во тек на наредните 20 години. Епидемиолошките и лонгитудиналните испитувања (7,84) даваат силна поткрепа на ставот дека ризикот за развој на пародонтална болест мерен со клиничкиот губиток на атачмент и алвеоларниот коскен губиток расте со засиленото пушење, во споредба со поранешните пушачи кои имаат помал губиток на атачмент од сегашните пушачи, но сепак повеќе од непушачите. Стапката на ризик за развој на пародонтална болест како резултат на пушењето се движи од 2,5 (7) 3,97 за сегашните пушачи и 1,68 за поранешните пушачи (90) и 3,25 за лесните пушачи до 7,28 за оние кои се страсни пушачи (27). Следејќи го нагласениот научен тренд на превенција на пародонталната болест, во последните години се фокусира вниманието кон развивање на маркери кои ќе дозволат идентификација на чувствителните индивидуи пред да се развие пародонтална болест. Вистински научен предизвик ќе биде да се докаже дали елиминацијата на пушењето ќе го

редуцира зголемениот ризик за пародонтална болест, односно дали превенцијата, пародонталниот третман, едукацијата како и примената на програми за откажување од пушењето ќе водат до намалување на ризикот за пародонталната болест. Охрабрувачки е да се забележат клиничките податоци кои укажуваат на успорување на прогресијата на пародонталната болест кај пациенти, кои се откажале од пушењето. Овие докази се моќни мотивирачки фактори за пародонтолозите да го промовираат откажувањето на пушењето во заедницата по пат на советување и мотивирање на процесот на откажување од пушењето кај нивните пациенти, за да на тој начин и пародонталната медицина се вклучи во медицинскиот систем на превенција на системското односно коронарно здравје. Сето тоа е во согласност со препораките на СЗО за користење на глобална стратегија на заеднички ризик фактори во превенција на поголем број на заболувања, како општи, така и орални заболувања.

2.0.ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД

Постојат голем број на докази, кои се оправдани емпириски и теоретски за прифаќање на мислењето дека многу заболувања имаат повеќе од еден причинител односно дека тие се резултат на мултифакторна етиологија (5). Ризик фактор за пародонтално заболување е фактор на околината, однесувањето или биолошки фактор потврден најчесто од лонгитудинални студии. Некои ризик фактори се прилагодливи, додека други не можат да се прилагодат. Факторите кои не може да се прилагодат се означуваат како детерминанти (главен фактор) или централни фактори (93). Терминот ризик индикатор се користи за да се опише веројатната корелација на идентификуваното заболување во вкрстените истражувања или контролните студии, додека ризик факторите се употребуваат во корелации кои се потврдени од лонгитудиналните студии. Ризик индикаторите не секогаш се потврдени како ризик фактори во лонгитудиналните студии (93). Терминот ризик маркер се користи повеќе во предвидувачки смисол и обично се однесува на ризик фактор. Тој се поврзува со зголемување на веројатноста на заболувањето во иднина (92). Идентификацијата на ризик факторите се од големо значење како за превенција така и за терапија на заболувањата.

Мултипните белези на ризик на пародонталната болест се испитувани во поголем број на литературни трудови (5,7). Заедничка карактеристика на сите литературни истражувања е барање поврзаност помеѓу факторите и резултатите во поглед на процентуалната застапеност и интензитетот на

пародонталната болест. Зголемен процент на докази се документирани за некои позадински фактори како што се машкиот пол, постарата возраст, низок општествен и економски статус, некои системски болести како дијабетес мелитус, коронарната болест. Pindborg (79) е еден од првите научници кои го испитале односот помеѓу пушењето и пародонталната болест. Поврзаноста на пушењето и заболувањата на пародонциумот, гингивалната а особено пародонталната болест била предмет на истражувања во последните две децении. Резултатите укажуваат дека преваленцата и тежината на пародонталната болест е сигнификантно поголема кај пушачи за разлика од непушачи. Потврдена е сигнификантна позитивна корелација помеѓу преваленцијата на пародонталната болест и должината на пушењето како и бројот на испушени цигари дневно.(40) Ризикот за појава на потешки општетувања на пародонциумот е пет до седум пати поголем кај долгогодишните пушачи во споредба со лица кои никогаш не пушеле (56, 24). Пушачите имаат околу четири пати поголема веројатност за пародонтална болест од непушачи (95) по прилагодувањето на возраста, полот, расата и едукацијата. Стапката на ризик за поголем губиток на атачмент кај пушачите споредено со непушачи се движи од 2,05 кај оние кои не се страсни пушачи па до 4.75 кај страсните пушачи. Разликите помеѓу пушачите (сегашните) и оние кои никогаш не пушеле во поглед на просечното ниво на атачмент беше високо сигнификантно и се движеле од 0.37 мм кај 35 годишни, до 1.33 кај 75 годишни лица. Ризикот за коскен губиток кај пушачи е поголем во споредба со губитокот на атачмент, при што кај пушачите стапката на инциденца се рангира од 3,25 кај нестрасните пушачи до 7,28 кај страсните пушачи. Силен одговор кој е зависен од дозата бил забележан помеѓу пушењето и коскениот губиток (28). Од овие истражувања се појавува генерална шема дека пушачите имаат поголем губиток на атачмент и коска, поголем број на длабоки пародонтални џепови и зголемено присуство на забен камен, но варијабилни нивоа на плак и

инфламација иако податоците се во насока на намалени знаци на клиничка инфламација. Во зависност од критериумите кои се употребени за дефинирање на пародонталната болест пушачите се со 2.6 до 6 пати поголема веројатност да покажат пародонтална деструкција од непушачите (27,30). Регересионата анализа покажала дека релативниот ризик за губиток на атачмент кај лица од 25-74 години со историја за умерено пушење (15-30 години) изнесувал 2,77 додека за сегашните страсни пушачи (повеќе од 30 години) губитокот на атачмент изнесувал 4,75 (27). Јачината на губитокот на атачмент била зголемена за 0,5% со пушење една цигара дневно додека пушењето 10 до 20 цигари дневно го зголемува губитокот на атачмент 5 % односно 10% соодветно (57). Силна позитивна асоцираност постои помеѓу коскениот губиток и просечните години на пушење, односно испитаниците со поголем коскен губиток имаат историја на долготрајно пушење која била приближно 5 пати поголема кај лицата со нормално коскено ниво (28). Литературни податоци (24,6) покажуваат дека постојат мали разлики во нивото на плак акумулацијата кај пушачи и непушачи. Дополнително во истражувања каде плакот е одржуван на минимално ниво, кај пушачи и непушач нивото на алволарна коскена поткрепа е помала кај пушачите (6,19). Асоцираноста помеѓу пародонталната болест и пушењето останува и по проценувањето на оралната хигиена и другите варијабли. Во истражувањата во кои плак акумулацијата била одржувана на минимум, пушачите имаа повеќе места со подлабоки пародонтални цепови (8,52) и поголем губиток на атачмент (8.27). Докази со слични вредности на плак акумулација кај пушачи и не пушачи презентирале(10) но клинички, пушачите имале помала гингивална инфламација за разлика од не пушачи. Доказите добиени од поголем број на лонгитудинални истражувања укажуваат на причинската улога на пушењето во започнувањето и напредувањето на пародонталната болест. Јака (силна) асоцираност помеѓу возраста и губитокот на атачмент била забележана(7) со стапка на ризик за лицата од 35 - 44 години 1,72 - 9,01 и

5,76 -13,89 за лицата на возраст од 55 - 74 години. Резултатите укажуваат дека возраста и пушењето се индикатори на ризик за губитокот на атачмент. Поврзаноста помеѓу пушењето и губитокот на атачмент останува значајна и по контролирањето на дополнителните фактори како што се возраста, расата, образованието, социо-економскиот статус, приходите, супрагингивалниот плак и субгингивалниот калкулус.

Пушењето може да се вклучи во патолошкиот синџир на пародонталната болест преку нарушување на нормалниот одговор на домаќинот кон инфекција како и преку намалување на многу одбрамбени функции. Пушењето тутун може да ја измени продукцијата на проинфламаторните цитокини ИЛ1 β и ТНФ- α кои се сметаат за клучни регулатори на одговорот на домаќинот кон пародонтопатогените (51). ИЛ 1 β и ТНФ- α се структурно и имунолошки различни молекули кои делат голем број на сличности во својата активност. Двете молекули делуваат како рани медијатори на инфламацијата кои ја стимулираат ПГЕ2 продукцијата. ТНФ- α индуцира бројни случувања при пародонталната болест, како продукцијата на адхезивните молекули и други медијатори кои го олеснуваат инфламаторниот одговор. Тој е главен посредник на ендотелната активација, хемотаксијата на макрофагите и неутрофилите. За зголемената концентрација на овој маркер во гингивалното ткиво кај пушачи со пародонтална болест известува (20) укажувајќи на неговата вклученост во ткивната деградација поради фактот дека неговата концентрација е сигнификантно помала во клинички здрава гингива (20,50). Проинфламаторните цитокини ТНФ- α и ИЛ-1 β достигнуваат високо ниво на концентрација кај пушачи со пародонтална болест. Инфламираниот пародонциум може да послужи како перманентно обновувачки резервоар за исфрлање на овие медијатори, во крвната циркулација. Овие цитокини имаат ефекти на липидниот метаболизам (34,53) Се смета дека било која состојба

која условира зголемување на серумските ТНФ- α и ИЛ-1 β има потенцијал да причини хиперлипидемија.

Пушењето доведува до промени во васкуларниот систем и микроциркулаторните функции на пародонталниот комплекс (58) а истовремено влијае на имунолошкиот систем и на воспалителната реакција на гингивата. Забележани се значително помал број на крвни садови во инфламираното гингивално ткиво кај пушачи, во споредба со непушачи. Континуираното пушење има долгорочен ефект во промените на крвните садови. Акутната изложеност на чадот од цигарите ја поттикнува хиперемичката на гингивата, која е предизвикана од придружното зголемување на крвниот притисок. Пушењето на една цигара, може да предизвика намалување на протокот на крв во гингивата.(66). Применувајќи Laser Doppler flowmetry за постојано мерење на акутните алтерации на гингивалниот крвен проток пред, во тек и за 10 минути по пушењето(58) бил забележан умерен хиперемичен одговор е (сочинет) од зголемен крвен притисок и мал, но значаен вазоконстрикторен ефект. Повторените вазоконстрикции овозможуваат гингивална васкуларна дисфункција и пародонтална болест. Гингивалната вазоконстрикција која се појавува е многу помала од онаа која типично се јавува на периферната кожа (палец) (58). Овие податоци сугерираат дека гингивалната вазоконстрикција во одговор на тутунскиот чад е лимитирана во споредба со другите делови на телото кај луѓето. Литературни податоци (33,58) не ги земаат во предвид можните хронични алтерации на гингивалната васкулатура, како што се измените во големината и бројот на ново формираните крвни садови. Потврдувачки докази за акутна тутунска индуцирана вазоконстрикција во пародонталната микроваскулатура кај луѓето и нема тогаш валидна алтернативна хипотеза би била дека компонентите на тутунскиот чад или метаболитите, ја ограничуваат

пародонталната ангиогенична респонзивност кон плаковите бактерии. Иако бројот на испитаници е екстремно ограничен (66) забележал дека пародонталната васкулатура била составена од помал број на големи крвни садови, но поголем број на мали крвни садови, додека просечната васкуларна густина на се разликувала помеѓу пушачите и непушачите.(86). Кога инфламираните и неинфламираните предели на пародонциумот се разгледуваат одделно постојат докази или сугерираат дека пушењето навистина ја намалува ангиогеничната респонзивност на пародонталните ткива. Кај непушачи сигнификантно поголем број на капилари и посткапиларни веноули во споредба со пушачи (33).

Факт е дека пародонтопатијата и пушењето тутун се со извонредно висок степен на застапеност во популацијата, па затоа проценувањето на нивната поврзаност е од огромна важност за општото здравје на популацијата. Желбата за добро пародонтално здравје и добар тераписки ефект на пародонтолозите им ја наметнува обврската, за намалалување на ризик факторите кои партиципираат во етиопатогенетските случувања кај пародонталната болест. Пушењето цигари е еден од тие ризик фактори.

3.0.ЦЕЛ НА ТРУДОТ

Респектирајќи ги литературните податоци за партиципацијата на пушењето врз системското здравје, како и известувањата за влијанието во патогенетските збиднувања при пародонталната болест, особено актуелизирани во последната декада, ја поставивме и целта на трудот: да се утврдат ефектите на пушењето врз прогресијата на пародонталната болест, преку проследување на: ткивната и серумската динамика на инфламаторните медијатори (ТНФ- α , ИЛ-1 β), васкуларните промени во гингивалното ткиво, како и да се проследи серумската динамика на липидните параметри (триглицериди, вкупен холестерол, ЛДЛ-холестерол, ХДЛ-холестерол).

4.0. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

За реализација на поставената цел на Клиниката за болести на устата и пародонтот беше формирана испитувана група (45) сочинета од пациенти пушачи со дијагностицирана хронична пародонтална болест и контролна група (45) непушачи со пародонтопатија (класифицирана според ААП од 1999 година), на возраст од 40 до 60 години. Дијагнозата беше дефинирана врз база на анамнестичките сознанија, клиничкиот преглед и РТГ наодот. Особено внимание на анамнестичкото проследување беше посветено за добивање на темелни податоци за верификација на отсуство на било какво системско заболување, како и потпишување на согласност од пациентите за нивно одобрување дека земениот материјал ќе биде користен за научно истражувачко испитување. Според бројот на испушени цигари пациентите од испитуваната група беа поделени во три подгрупи од 15 испитаници:

- првата подгрупа ја сочинуваа пациенти кои пушат до 10 цигари на ден, (лесни пушачи),
- втората подгрупа ја сочинуваа пациенти кои пушат од 10 до 20 цигари на ден (умерени пушачи),
- третата подгрупа ја сочинуваа пациенти кои пушат над 20 цигари на ден (страсни пушачи),

Кај двете групи на испитаници по извршениот клинички преглед, беа нотирани индексните вредности на дентален плак по Silness-Loe (ИДП),

гингивална инфламација по Loe Silnes (ИГИ), гингивално крвање по Cowell (ИГК) како и степенот на губиток на атачмент (Ramfjord),

Клинички беа нотирани следните параметри:

I Индекс на дентален плак по Silness Loe (1963) според кој присуството на дентален плак на забните површини се вреднува од 0-3 при што:

0- нема дентален плак на гингивалната третина од коронката

1- плак има во тенок слој само покрај рабовите на гингивата и може да се детектира само со сонда, но не и со голо око.

2- умерена количина на дентален плак која зафаќа повеќе од една третина од забната коронка, но е присутен во гингивалниот сулкус или пародонталниот џеп.

3- голема количина на дентален плак по целата забна површина како и во сулкусот, џепот и интерденталниот простор.

II. Индекс на гингивална инфламација од Loe-Silness (1964)

0-не постои воспаление на гингивата, таа е со бледо розова боја цврста конзистенција и со ситно зрнеста структура.

1-блага до умерена инфламација која не ја зафаќа гингивата во целост

2- умерена инфламација која ја зафаќа гингивата во целост, таа е со црвена боја, и посилено изразен едем.

3- јака инфламација на гингивата во целост таа е со изразена црвена боја, многу зголемена

III Индекс на гингивални крварење по Cowell

0-Нема крвавење после сондирање

1-Појава на крвавење после 30 секунди од сондирањето

2-Крвавење непосредно после сондирање

3-Спонтано крвавење

IV-Пародонтален индекс по Ramfjord (79) според кој се одредува степенот на губиток на атачмент. Се утврдува со мерење на растојанието од емајлово-цементната граница до местото на миграција на припојниот епител и се изразува од 0 до 3.

0- нема губиток на атачмент.

1- губиток на атачмент до 3мм.

2-губиток на атачмент од 3 до 6мм.

3-губиток на атачмент над 6мм.

По извршениот клинички преглед и нотирање на индексните вредности (ИДП, ИГИ, ИГК, и степенот на губиток на атачмент) кај двете групи на испитаници по пат на венепункција беа земани 5 мл крв од *v subitalis* како и биоптичен материјал од гингивата. Крвта беше земена во стерилни епрувети и дистрибуирана на Институтот за физиологија при Медицинскиот факултет во Скопје. По приемот на крвта истата беше оставена да отстои 2 часа на собна температура. По ретракција на коагулумот серумот се центрифугираше со Вестал центрифуга на 5000 вртежи. Биоптичните исечоци од гингивалното ткиво (интердентална папила) беа земани во

асептични услови под инфилтрациона анестезија. Земениот материјал заедно со серумските примероци беше веднаш ставан во стерилни кивети, веднаш замрзнуван во течен азот на -70°C . На местото на извршената биопсија беше направена хемостаза и аплициран протективен завој а пациентите утредента беа контролирани. Кај двете групи (контролна и испитувана) во биоптичниот материјал и во серумските примероци беше верификувано квантитативното присуство на интерлеукин еден бета (ИЛ-1 β), тумор некрозен фактор алфа (ТНФ- α) на Институтот за биологија при Природно-математичкиот факултет во Скопје.

Параклинички испитувања:

Во серум:

- Вредностите на липидниот статус (вкупни триглицериди, вкупен холестерол, ЛДЛ-холестерол, ХДЛ-холестерол).

- Патохистолошка верификација на васкуларните промени во гингивалното ткиво

Патохистолошкото проследување на биоптичниот материјал беше анализиран на Институтот за патологија при Медицинскиот факултет во Скопје. За патохистолошката верификација на биоптичните исечоци се користеше хематоксилин-еозин (ХЕ), хистохемиски и имунохистохемиски техники (Van Gieson elastic)

Анализата на липидниот статус (ТГ, вкупен холестерол, ЛДЛ, ХДЛ) беше направена со колориметриска метода (Merck-dijagnostica).

Одредување на концентрацијата на триглицериди со ензиматско колориметриски метод

Триглицеридите во серум се одредуваат со ензиматско колориметриски тест преку глицерол фосфатна оксидаза овозможена со реакција која е катализирана со пероксидаза.

липаза

Триглицериди $\longrightarrow$ глицерол+масни киселини

глицерол

Глицерол +ATP $\longrightarrow$ глицерол- 3 - p +ADP
киназа

Глицерол фосфат

глицерол- 3 - p + O₂ $\xrightarrow{\text{оксидаза}}$ дехидроксиацетон фосфат +H₂O

2H₂O₂ + фенол + 4 аминокантипирин $\xrightarrow{\text{пероксидаза}}$ кинон амин + 4H₂O

Во присуство на пероксидаза, ослободениот водороден пероксид предизвикува оксидатско поврзување на 4-хлорфенол и 4-амино антипирин што дава дериват со црвена боја инон имин. Интезитетот на бојата е

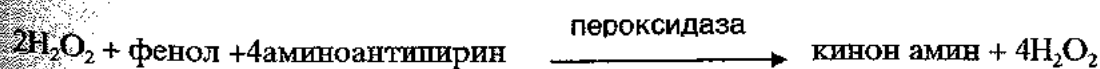
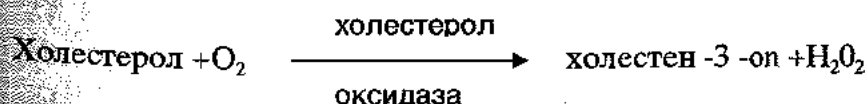
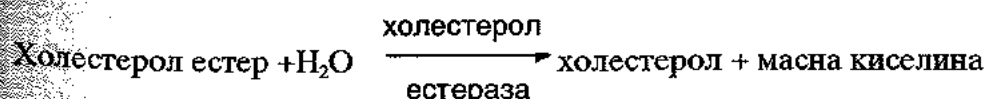
директно пропорционален со концентрацијата на триглицеридите и се мери фотометриски.

Епруветите добро се промешуваат и инкубираат 20 минути на 20°C или 5 минути на 37°C. Се мери абсорпцијата на анализата и стандардот во однос на слепа проба во тек на 30 минути.

Референтни вредности: 0,1-2,2ммол/л

Одредување на концентрацијата на вкупниот холестерол во серум со ензиматско колориметриска метода

Холестеролот се одредува после ензиматска хидролиза и оксидација. Индикаторот киномин се формира од водороден пероксид и 4-аминоантипирин во присуство на фенол и пероксидаза. Интензитетот на настанатата боја е пропорционален со концентрацијата на холестеролот во примерокот за анализа.



Епруветките добро се мешаат и инкубираат 10 минути на 20 °C или 5 минути на 37 °C. Се мери апсорпцијата на анализата и стандардот во однос на слепа проба во тек на 60 минути.

Референтни вредности: 3,1- 5,5 ммол/л

Одредување на концентрацијата на ХДЛ-холестеролот со фотометриска chod-pap метода

Одредувањето на директниот ХДЛ холестерол се одвива во две фази: Синтетски полиањонони кои се присутни во реагенсот ги апсорбираат ЛДЛ и ВЛДЛ липопротеините, и ги трансформираат во една стабилна и нерастворена форма. Слободните липопротеини од класата ХДЛ се раствараат со помош на соодветен детергент кој се содржи во реагенсот овозможувајќи му на холестеролот кој потекнува само од ХДЛ фракцијата да биде одреден фотометриски со ензиматска CHOD-PAP метода во присуство на холестерол естераза и холестерол оксидаза. Содржината на епруветките се премешува убаво и после 5 минути се одчитува апсорбенција.

Референтни вредности: 0,9-2,0 ммол/л

Одредување на концентрацијата на ЛДЛ-холестеролот

ЛДЛ холестеролот се пресметува со Friedwald-овата формула, од податоците за вкупниот холестерол, триглицеридите и ХДЛ холестеролот.

$$\text{ЛДЛ холестерол} = \text{тотален холестерол} - \frac{\text{триглицериди}}{2.2} \rightarrow \text{ХДЛ холестерол}$$

Референтни вредности: 2,2-3,5 ммол/л

Хомогенизација на ткивните исечоци

Ткивните исечоци беа мерени, потоа сечкани на мали парченца и солубилизирани во ладен фосфатен пуферски физиолошки раствор (ПБС) до финална концентрација од 100 мг ткиво/мл. По екстракција на Vortex миксер во тек на 10 минути, секој примерок беше центрифугиран на 370× г во тек на 5 минути, а потоа супернатантот беше колекциониран, поделен во мали делови и замрзнат на -70°Ц сè до употребата за натамошно анализирање.



Метода за детекција на ТНФ- α

Принцип на методата

Применетиот ТНФ- α метод е 3,5-4,5 hour solid phase ELISA, дизајниран за мерење на ТНФ- α во супернатанти од клеточни култури, серум и плазма. Тој содржи рекомбинантен хуман ТНФ- α , добиен од Е. цолли и антители добиени против овој протеин. Покажано е дека прецизно го одредува квантитетот на рекомбинантниот хуман ТНФ- α . Оваа метода за одредување на ТНФ- α може да биде применета за одредување на релативни вредности на количина на натуралниот ТНФ- α , при што ова мерење ја детектира вкупната количина на ТНФ- α во примероците, т.е. вкупната количина на слободен ТНФ- α плус количеството на ТНФ- α врзано за солубилните рецептори.

Оваа метода претставува техника на квантитативна сендвич ензим имунометода. Беа користени микрокивети кои се обложени со моноклонални антители специфични за ТНФ- α . Стандардите и примероците беа пипетирани во киветите, а имобилизираните антители се врзуваа за присутниот ТНФ- α .

По промивањето на било кои неврзани супстанции, ензимски врзаното поликлонално антители специфично за ТНФ- α се додаваше во киветите. По миењето за да се отстрани неврзаниот антители-ензим реагенс, супстратниот раствор се додаваше во киветите и се јавуваше обојување пропорционално на количеството на ТНФ- α врзан во иницијалниот чекор. Обојувањето се запираше и се мереше интензитетот на бојата.

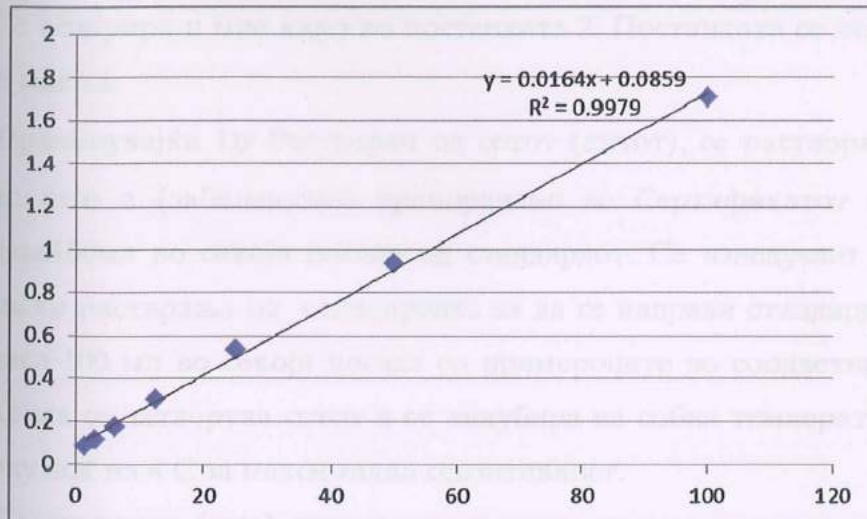
Начин на работа:

Сите реагенси и примероци се ставаа на собна температура пред употребата, а сите примероци и стандарди беа мерени во дупликат.

1. Се подготвуваа сите реагенси и работни стандарди како што е наведено во упатството на производителот.
2. Се додаваа 50 μ л од растворувачот 1 F во секоја кивета. Растворувачот F преципитираше. Добро се протресуваше пред и во тек на употребата.
3. Се додаваше 200 μ л од Стандардот или примерокот во секоја кивета. Се покриваше со адхезивната трака, а потоа се инкубираше на собна температура во тек на 2 часа. Основата на плочата беше таква да овозможуваше да се измерат стандардите и примероците кои беа анализирани.
4. Се аспирираше секоја кивета и се промиваше, повторувајќи го процесот двапати за вкупно 3 промивања. Се промиваше со пополнување на секоја кивета со Пуферот за промивање (400 μ л) применувајќи мултиканална пипета диспензер или автопромивач. Потполното отстранување на течноста во секоја постапка беше неопходно. По последното промивање се отстрануваше и најмалото количество преостанат Пуфер за промивање со аспирирање или декантирање. Се превртуваше плочата на чист лигнин.
5. Се додаваше 200 μ л конјугат во секоја кивета и се покриваше со нова адхезивна трака. Примероците на супернатанти на клаточни култури се инкубираа 1 час на собна температура.

6. Се повторуваше постапката на аспирирање/промивање како во чекорот 4.
7. Се додаваше 200мл Супстрат раствор во секоја кивета и се инкубираше 20 минути на собна температура.
8. Се додаваше 50мл Стоп раствор во секоја кивета. Доколку промената на боја не беше униформна, плочата нежно се удираше за да се обезбеди потполно мешање.

Се одредуваше оптичката трансмисија на светлината на секоја кивета во тек на 30 минути со примена на читач на микроплочи наместен на 450 нм. Корекцијата на брановата должина се местеше на 540 нм или стандардни криви беа направени за секој сет од примероци кои се анализираат.



Сл. 1 Проценка на линеарноста на методата за детекција на ТНФ- α

Сензитивност 4 pg/ml

Метода за детекција на ИЛ-1 β

1. Тест сетот Coaf Corning Costar 9018 Elisa со 100 мл во секоја означена на посада од сетот од антителото во Yoafing Buffen (распореден како што е напишано во упатството вклучено во сетот). Се отвараат сите отвори и се инкубира преку ноќ на 4* C.
2. Се аспирираат сите делчина од сетот и се мијат 5 пати со >250 мл во секоја посада со Wash Buffer. Дозволеното време за потопување (приближно една минута) во тек на секоја постапка на миење ја зголемува ефикасноста на миењето. Се превртува тест сетот на апсорбирана хартија за да се отстрани преостанатиот пуфер.
3. Разреде те еден дел 5 Ц концентриран растворач од сетот со 4 делови Diboga. Затворете ги посадите со 200 мл (во секоја од 1Ц Растворачот од сетот (китот). Се инкубира на собна температура 1 час.
4. Се аспирира и мие како во постапката 2. Постапката се повторува вкупно со 5 миења.
5. Применувајќи 1Ц Растворач од сетот (китот), се раствораат стандардите како што е (забележено) препорачано во Сертификатот за анализа. Се додава 100мл во секоја посада од стандардот. Се изведуваат две полиња на сериски растварања од стандардите за да се направи стандардната крива. Се додава 100 мл во секоја посада од примероците во соодветните посадки. Се покрива се затворува сетот и се инкубира на собна температура 2 часа (или преку ноќ на 4 C за максимална сензитивност.
6. Се аспирира (мие) како во постапката два, и се повторува за вкупно 5 миења.
7. Се додава 100 мл во посадата од детектираното антитела разреден во 1Ц Растворач од сетот (растворено како што е посочено во упатството). Се затвора тест китот и се инкубира на собна температура 1 час.
8. Се аспирира (мие како во постапката 2. Се повторува за вкупно 5 миења.

9. Се додава 100 мл во секоја посада Avidih-HRP растворен со 1ц Растворувач од сетот (растворете како што е посочено во упатството). Затворере го тест китот и инкубирајте на собна температура 30 минути.

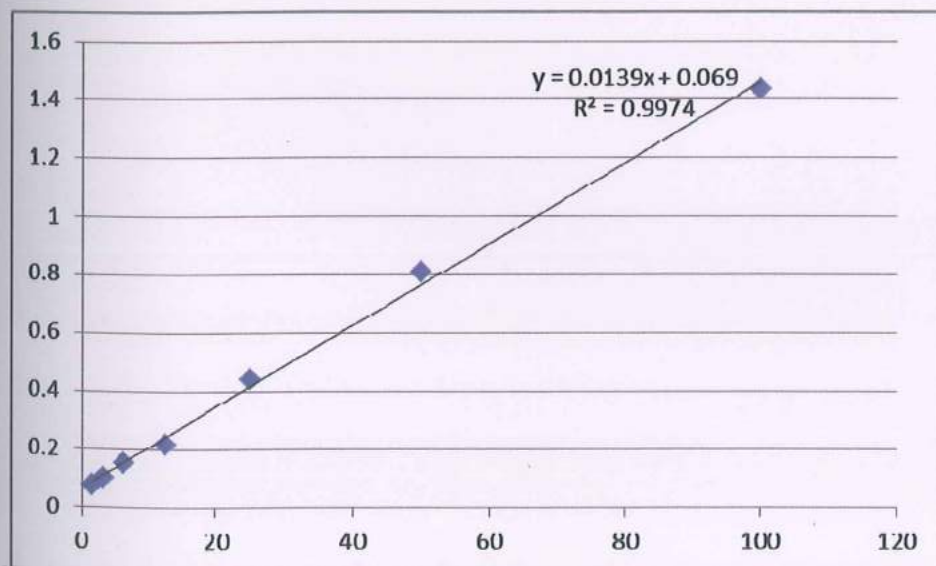
10. Аспирирајте и измијте како што е посочено во постапката 2. Во овој чекор на миее посатките се потопуваат со Wash Buffer 1-2 минути пред аспирирањето. Повторете во вкупно 7 миеења.

11. Додадете 100мл во секоја посатка од Substratot Rastvorot. Инкубирајте го тест сетот на собна температура 15 минути.

12. Додадете 50 мл од од Растворот во секоја посатка.

13. Прочитајте го сетот на 450nm (нано метри). Ако е можно раздвојување на брановите должини, раздвојте ги вредностите од 570 nm со оное од 450 nm и анализирајте ги податоците.

Забелешка: Бидете сигурни дека нема присутен содиум во растворите кои се употребени во ова истражување бидејќи ја инхибира ХРП ензимската активност



Сл.2 Проценка на линеарноста на методата за детекција на ИЛ-1 β
Сензитивност 4 pg/ml.

Статистичка обработка на податоците

Добиените резултати од испитувањата беа компарирани помеѓу контролната и испитуваната група како и подгрупите помеѓу себе. Статистичката обработка на индексните вредности, беше направена со помош на Студентовиот t тест, а за останатите параметри беше користена компјутерската програма Статистика (Analysis of Variance, Post test-Turkey honest significance (HSD), Spearman-ов коефициент на корелација, Analysis of Variance- Anova

5.0.РЕЗУЛТАТИ

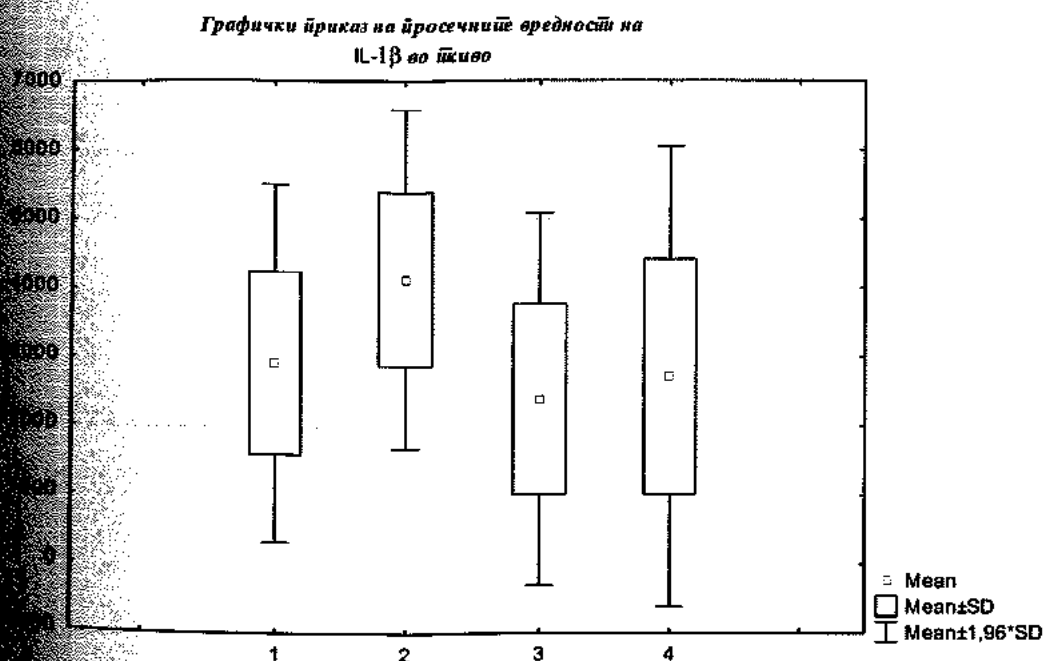
Резултатите од спроведените методолошки зацртани параметри, како и од статистичката обработка на податоците се презентирани на табеларните и графичките прикази кои следуваат.

Табела бр. 1 Приказ на просечните вредности на ИЛ-1 β во гингивално ткиво кај испитуваната група со подгрупите и контролната група

група	просек	Број	$\pm$ Ст.Дев	минимум	максимум
I	2909,918	15	1322,808	1784,375	5177,306
II	4128,530	15	1255,524	2130,685	5388,415
III	2385,094	15	1374,848	330,606	6265,041
IV	2712,071	45	1699,383	653,302	8198,699

I група- пушачи до 10 цигари
 II група- пушачи од 10 до 20 цигари
 III група- пушачи над 20 цигари
 IV група-контролна

Графикон бр 1. Грфички приказ на просечните вредности на ИЛ- β во гингивално ткиво кај испитуваната група со подгрупите и контролната група



Табела број 1 и графикон број 1 даден е приказ на просечните вредности на ИЛ- β во гингивално ткиво во испитуваната група со подгрупите и контролната група, при што вредностите се повисоки од референтните вредности.

Табела бр. 2 Приказ на Analysis of Variance –Анализа на варијанса на просечните вредности на ИЛ-1В во ткиво во испитуваната група со подгрупи

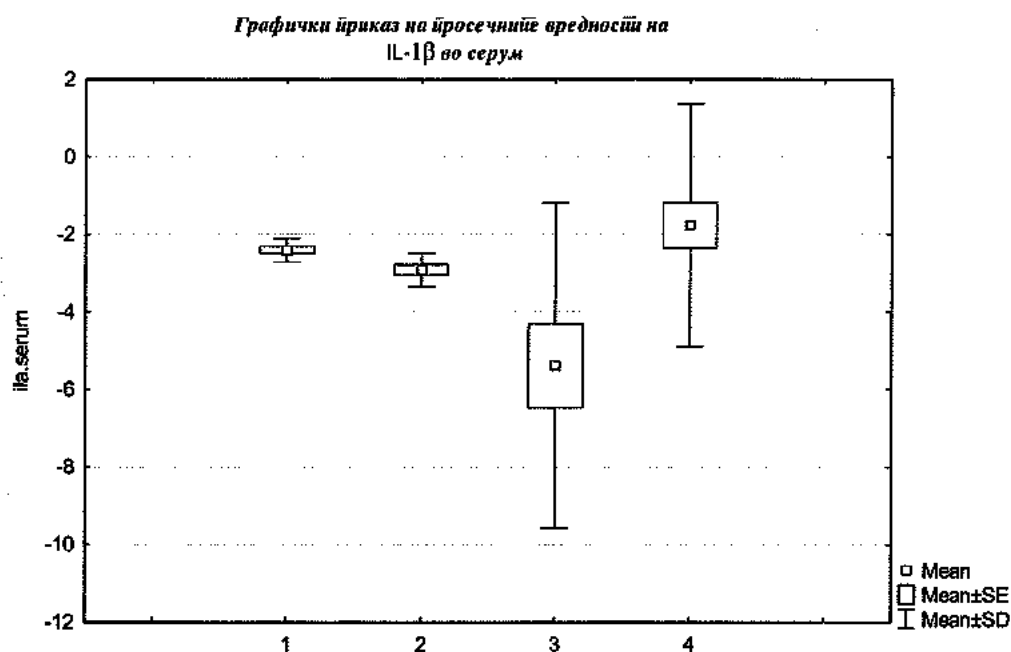
SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
18106143	3	6035381	116465643	52	2239724	2,694699	0,055417

На табела број 2 дадени се просечните вредности на ИЛ-1 β во гингивалното ткиво при што разликата која се регистрира помеѓу просечните вредности во испитуваната група со подгрупите е статистички несигнификантна за $p > 0,05$ $P = 0,055417$

Табела бр. 3 Приказ на просечните вредности на ИЛ-1 β во серум кај испитуваната група со подгрупите и контролната група

група	просек	Број	$\pm$ Ст.Дев	минимум	максимум
I	-2,40678	15	0,307620	-2,73381	-1,99874
II	-2,91755	15	0,431588	-3,59712	-2,44604
III	-5,38975	15	4,192136	-9,92806	3,45323
IV	-1,77290	45	3,126507	-3,74201	12,51799

Графикон број 2 Графички приказ на просечните вредност на ИЛ- 1 β во серум во испитуваната група со подгрупите и контролната група



На табела број 3 и графикон број 2 даден е приказ на просечните вредности на ИЛ-1 β во серум во испитуваната група со подгрупите и контролната група, при што вредностите се повисоки од референтните вредности

Табела бр. 4 Приказ на Analysis of Variance на просечните вредности на ИЛ-1 β во серум во испитуваната група со подгрупите

SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
131,2274	3	43,74245	512,7712	61	8,406085	5,203665	0,002890

На табела број 4 дадени се просечните вредности на ИЛ-1 β во серум при што разликата помеѓу просечните вредности на испитуваната група со подгрупите е статистички сигнификантна за $p = 0,002890$

Табела бр. 5 Приказ на post- hoc Tukey HSD тест

група	I	II	III	IV
I		0,976066	0,056437	0,927190
II	0,976066		0,149832	0,685193
III	0,056437	0,149832		0,001469
IV	0,927190	0,685193	0,001469	

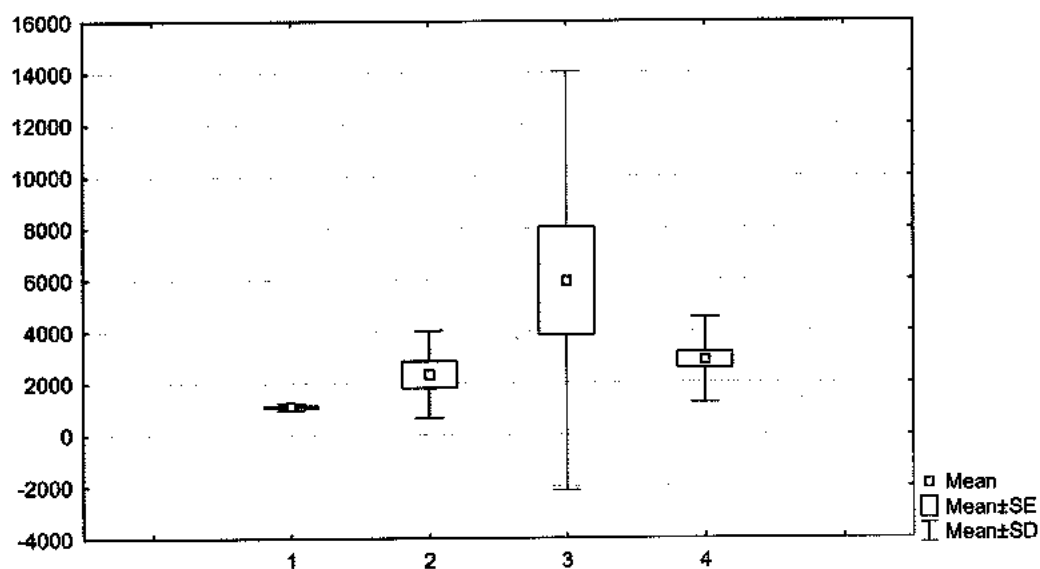
Табела број 5 Приказ на post- hoc Tukey HSD тест за ИЛ-1 β во серум ја потврдува сигнификантноста на измените за ИЛ-1 β во серумот воглавно помеѓу третата подгрупа и контролната група

Табела бр. 6 Приказ на просечните вредности на ТНФ- α во ткиво кај испитуваната група со подгрупите и контролната група

група	просек	Број	$\pm$ Ст.Дев	минимум	максимум
I	1108,576	15	140,352	917,2414	1341,05
II	2333,856	15	1683,677	286,0060	6460,87
III	5939,490	15	8108,875	286,1538	33377,27
IV	2868,512	45	1637,625	101,0	8198,70

Графикон број 3 Графички приказ на просечните вредност на ТНФ- α во ткиво во испитуваната група со подгрупите и контролната група

Графички приказ на просечните вредности на ТНФ- α во ткиво



На табела број 6 и графикон број 3 даден е приказ на просечните вредности на ТНФ- α во ткиво кај испитуваната група со подгрупите (пушачи) и контролната група (не пушачи), при што вредностите се повисоки од референтните вредности.

Табела бр. 7 Приказ на Analysis of Variance - Анализа на варијанса на просечните вредности на ТНФ- α во ткиво во испитуваната група со подгрупите

SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
172206772	3	57402257	1,026871E+09	63	16299542	3,521710	0,019946

На табела број 7 дадени се просечните вредности на ТНФ- α во ткиво при што разликата која се регистрира помеѓу просечните вредности на испитуваната група со подгрупите е статистички сигнификантна за $p = 0,019946$

Табела бр. 8 Приказ на post- hoc Tukey HSD тест

група	I	II	III	IV
I		0,892155	0,019035	0,606196
II	0,892155		0,121257	0,981825
III	0,019035	0,121257		0,086497
IV	0,606196	0,981825	0,086497	

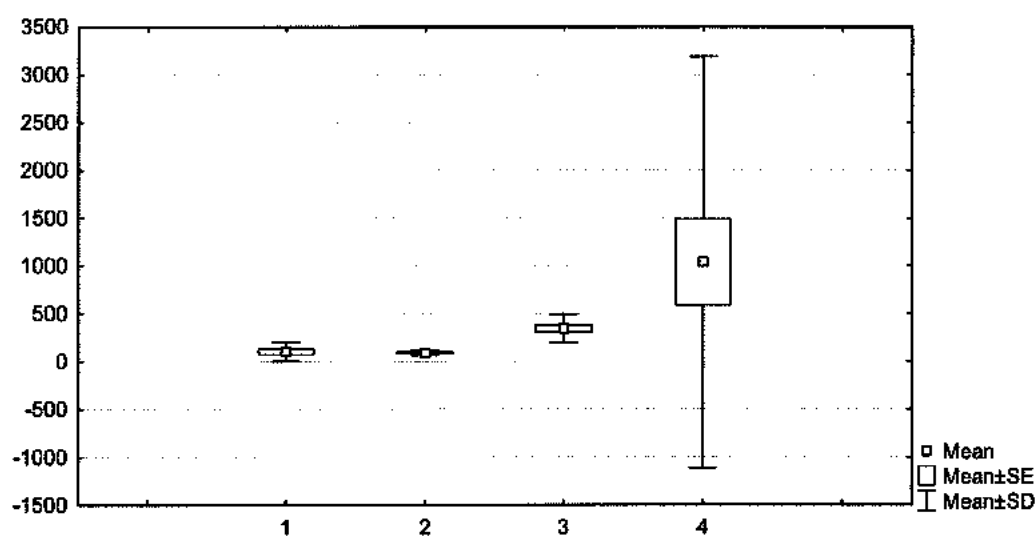
Табела број 8 преставуваа приказ на post- hoc Tukey HSD тест за ТНФ- α во ткиво ја потврдува сигнификантноста на измените за ТНФ- α во ткиво воглавно помеѓу третата подгрупа и првата подгрупа

Табела бр. 9 Приказ на просечните вредности на ТНФ- α во серум кај испитуваната група со подгрупите и контролната група

група	просек	Број	$\pm$ Ст.Дев	минимум	максимум
I	101,840	15	100,202	8,3	376,500
II	92,070	15	25,961	56,5	119,500
III	342,869	15	150,812	31,5	741,500
IV	1037,022	45	2152,110	76,5	8641,500

**Графикон бр 4 Графички приказ на просечните вредност на
ТНФ- α во серум во испитуваната група со подгрупите и
контролната група**

*Графички приказ на просечните вредности на
ТНФ- α во серум*



На табела број 9 и графикон број 4 даден е приказ на просечните вредности на ТНФ- α во серум кај испитуваната група со подгрупите (пушачи) и контролната група (не пушачи), при што вредностите се повисоки од референтните вредности.

Табела бр. 10 Приказ на Analysis of Variance – Анализа на варијанса на просечните вредности на ТНФ- α во серум во испитуваната група со подгрупите

SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
10223960	3	3407987	102332252	55	1860586	1,831673	0,152117

На табела бр 10 дадени се просечните вредности на ТНФ- α во серум при што разликата која се регистрира помеѓу просечните вредности на испитуваната група со подгрупите е статистички не сигнификантна за $p = 0,152117$

Табела број 11. Приказ на корелација помеѓу индексот на гингивална инфламација (ИГИ) и ИЛ-1 β во ткиво и серум, и ТНФ- α во ткиво и серум

ИГИ	Spearman Rank Correlations
ИЛ-1 β во ткиво	0,040712 $p > 0,05$
ИЛ-1 β во серум	0,069382 $p > 0,05$
ТНФ α во ткиво	-0,038940 $p > 0,05$
ТНФ α во серум	-0,107279 $p > 0,05$

На табела број 11 даден е приказ на Spearman Rank Correlations при што се регистрира статистички несигнификантна позитивна корелација помеѓу ИГИ со ИЛ-1 β во ткиво и серум, статистичка несигнификантна негативна корелација помеѓу ТНФ- α во ткиво и серум за $p > 0,05$ (таб 11).

Табела број 12. Приказ на корелација на индексот на губиток на атачмент (Ramfjord) со ИЛ-1 β во ткиво и серум, и ТНФ- α во ткиво и серум

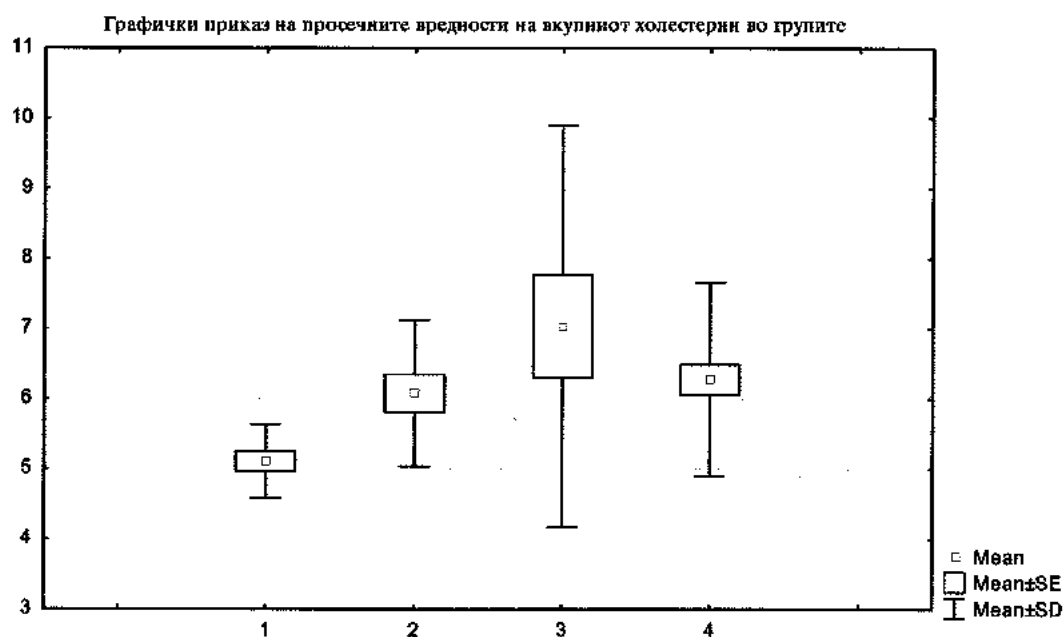
пародонтален индекс по Ramfjord	Spearman Rank Correlations
ИЛ-1 β во ткиво	-0,189332 $p > 0,05$
ИЛ-1 β во серум	-0,293635 $p < 0,05$
ТНФ α во ткиво	0,385496 $p < 0,05$
ТНФ α во серум	0,440052 $p < 0,05$

На табела 12 даден е Spearman Rank Correlations тест при што се регистрира статистички сигнификантна позитивна корелација помеѓу пародонталниот индекс по Ramfjord со ТНФ- α во ткиво и серум, статистички несигнификантна негативна корелација помеѓу пародонталниот индекс по Ramfjord и ИЛ-1 β во ткиво и $P > 0,05$, а статистички сигнификантна негативна корелација со ИЛ-1 β во серум.

Табела бр. 13 Приказ на просечните вредности на вкупниот холестерол кај испитуваната група со подгрупите и контролната група

група	просек	Број	$\pm$ Ст.Дев	минимум	максимум
I	5,107143	15	0,523985	4,6	6,7
II	6,080000	15	1,044851	4,9	8,4
III	7,033333	15	2,859987	4,0	13,5
IV	6,270732	45	1,379718	3,5	9,0

Графикон број. 5 Графички приказ на просечните вредности на вкупниот холестерол кај испитуваната група со подгрупите и контролната група



На табела број 13 и графикон број 5 дадени се просечните вредности на вкупниот холестерол кои се во граници на референтни вредности (3,1 - 5,5 ммол/л) кај првата подгрупа, додека просечните вредности на останатите две подгрупи и контролната група се повисоки од референтните вредности

Табела бр. 14 Приказ на Analysis of Variance – Анализа на варијанса на просечните вредности на вкупниот холестерол во испитуваната група со подгрупите

SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
27,52450	3	9,174834	209,5115	81	2,586562	3,547116	0,018072

На табела број 14 даден е приказ на разликата на просечните вредности за вкупниот холестерол во испитуваната група со подгрупите кои се статистички сигнификантни за $P = 0,018072$

Табела број 15 Prikaz na post- hoc Tukey HSD тест

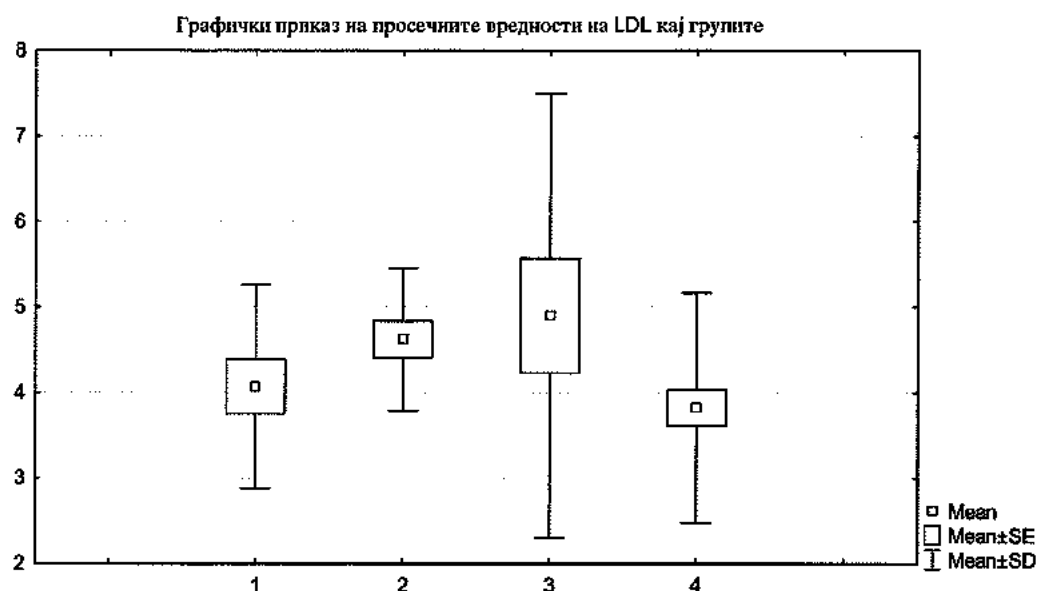
група	I	II	III	IV
I		0,369058	0,009796	0,098171
II	0,369058		0,371497	0,979334
III	0,009796	0,371497		0,400672
IV	0,098171	0,979334	0,400672	

Табела 15 Приказ на post- hoc Tukey HSD тестот за вкупниот холестерол и ја потврдува сигнификантноста за вкупниот холестерол воглавно помеѓу третата подгрупа и останатите групи

Табела број 16. Приказ на просечните вредности на ЛДЛ - холестеролот кај испитуваната група со подгрупите и контролната група

група	просек	Број	$\pm$ Ст.Дев	минимум	максимум
I	4,071429	15	1,188036	1,7	5,2
II	4,620000	15	0,829113	2,4	5,7
III	4,900000	15	2,592572	0,7	9,6
IV	3,821951	45	1,343040	1,3	6,1

Графикон број. 6. Графички приказ на просечните вредности на ЛДЛ холестеролот кај испитуваната група со подгрупите и контролната група



На табела број 16 и графикон број 6 дадени се просечните вредности на ЛДЛ-холестерол кај испитуваната група со подгрупите и контролната група кои се повисоки од референтните вредности (2,2 - 3,5 ммол/л)

Табела број 17. Приказ на Analysis of Variance – Анализа на варијанса на просечните вредности на ЛДЛ холестерол во испитуваната група со подгрупите

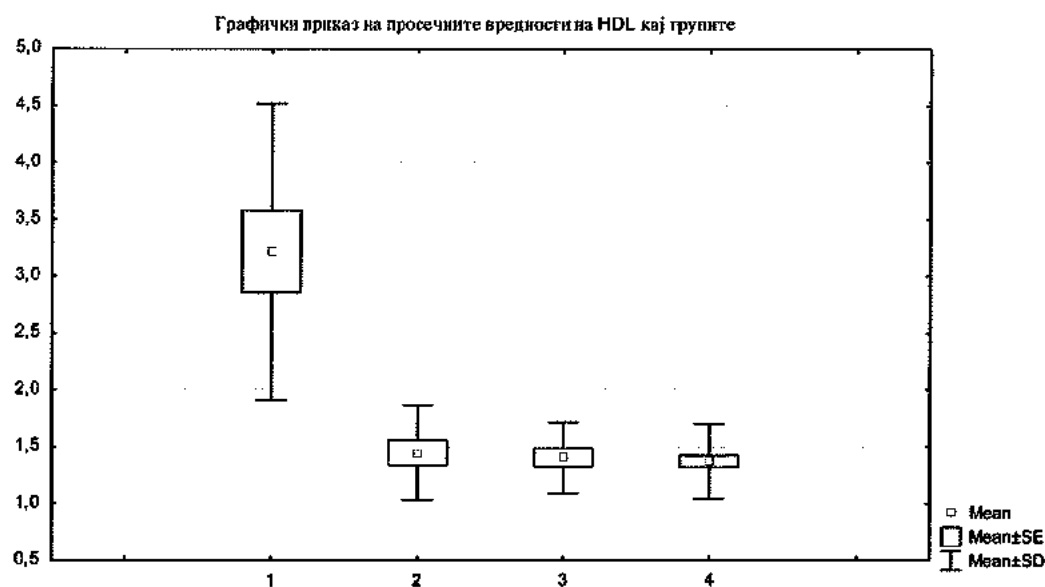
SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
16,08424	3	5,361414	194,2228	81	2,397813	2,235961	0,090300

На табела број 17 даден е приказ на разликата на просечните вредности на испитуваните групи која е статистички не сигнификантни за P -0,090300

Табела број 18 Приказ на просечните вредности на ХДЛ холестеролот кај испитуваната група со подгрупите и контролната група

група	просек	Број	± Ст.Дев	минимум	максимум
I	3,215385	15	1,302463	1,1	4,9
II	1,446667	15	0,417247	0,5	2,0
III	1,400000	15	0,311677	0,8	1,9
IV	1,368293	45	0,329726	0,7	1,9

Графикон број. 7 Графички приказ на просечните вредности на ХДЛ холестеролот кај испитуваната група со подгрупите и контролната група



На табела број 18 и графикон број 7 дадени се просечните вредности на ХДЛ холестеролот кај испитуваната група со подгрупите и контролната група кои се во граница на референтните вредности (2,2 - 3,5 ммол/л) кај втората и третата подгрупа и контролната група, додека просечната вредност на првата подгрупа е повисока од референтните вредности

Табела број. 19 Приказ на Analysis of Variance – Анализа на варијанса на просечните вредности на ХДЛ холестерол во испитуваната група со подгрупите

SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
36,61934	3	12,20645	28,50304	80	0,356288	34,26006	0,000000

На Табела број 19 даден е приказ на разликата на просечните вредности на ХДЛ холестеролот кај испитуваните групи и контролната која е статистички сигнификантни $p = 0,000000$

Табела бр. 20 Приказ на post- hoc Tukey HSD тест

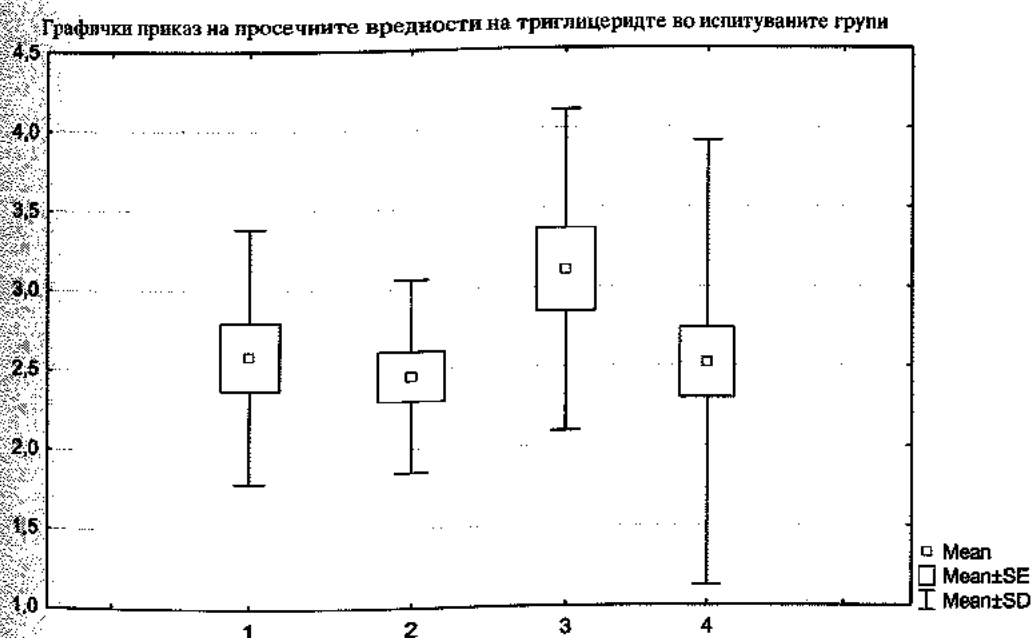
група	I	II	III	IV
I		0,000147	0,000147	0,000147
II	0,000147		0,996576	0,972293
III	0,000147	0,996576		0,998116
IV	0,000147	0,972293	0,998116	

На табела број 20 даден е приказ на post- hoc Tukey HSD тест ја потврдува сигнификантноста која е воглавно помеѓу првата подгрупа и останатите групи

Табела број 21. Приказ на просечните вредности на триглицериди кај испитуваната група со подгрупите и контролната група

група	просек	Број	$\pm$ Ст.Дев	минимум	максимум
I	2,585714	14	0,799863	1,9	4,5
II	2,453333	15	0,604586	1,2	3,2
III	3,106667	15	1,007448	1,6	5,0
IV	2,521951	41	1,393828	0,9	4,7

Графикон број. 8 Графички приказ на просечните вредности на триглицериди кај испитуваната група со подгрупите и контролната група



На табела број 21 и графикон број 8 дадени се просечните вредности на триглицеридите кај испитуваната група со подгрупите и контролната група кои се повисоки од референтните вредности(0,1 - 2,2 ммол).

Табела број 22 Приказ на Analysis of Variance - Анализа на варијанса на просечните вредности на триглицеридите во испитуваната група со подгрупите

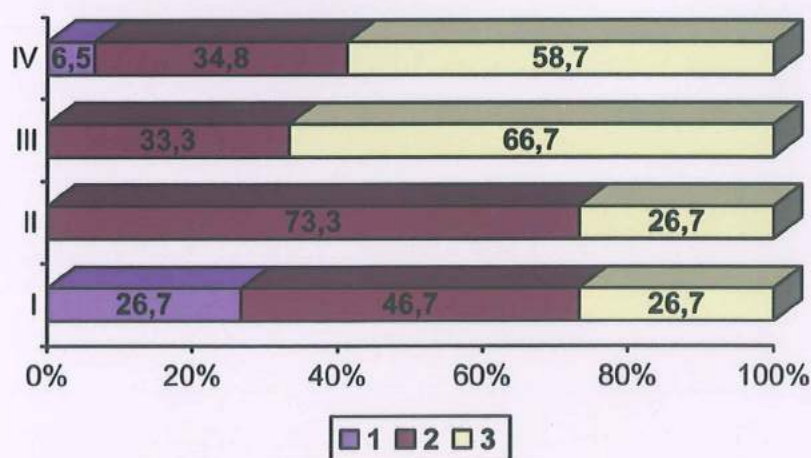
SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
4,378888	3	1,459629	105,3541	81	1,300667	1,122216	0,345041

На табела број 22 даден е приказ на разликата на просечните вредности на триглицеридите кај испитуваните групи и контролната која е статистички не сигнификантни P- 0,3450

Табела број 23 Дистрибуција на индексот на дентален плак по Silness-Loe кај испитуваната група со подгрупите и контролната група

група	I		II		III		IV	
ИДП	број	%	број	%	број	%	број	%
1	4	26,66667					3	6,52174
2	7	46,66667	11	73,33333	5	33,33333	16	34,78261
3	4	26,66667	4	26,66667	10	66,66667	27	58,69565

Графикон број 9 Графички приказ на дистрибуцијата на индексот на дентале плак по Silness-Loe кај испитуваната група со подгрупите и контролната група



На табела 23 и графикон број 9 дадена е дистрибуцијата индексот на дентален плак (ИДП) кај испитуваната група со подгрупите и контролната група при што е регистрирано:

1- плак има во тенок слој само покрај рабовите на гингивата и може да се детектира само со сонда, но не и си голо око. Се регистрира во првата под група кај 26,7% и кај 6,5% во контролната група, процентуалната разлика е статистички сигнификантна за $p=0,0372$ (таб 23 и граф 9)

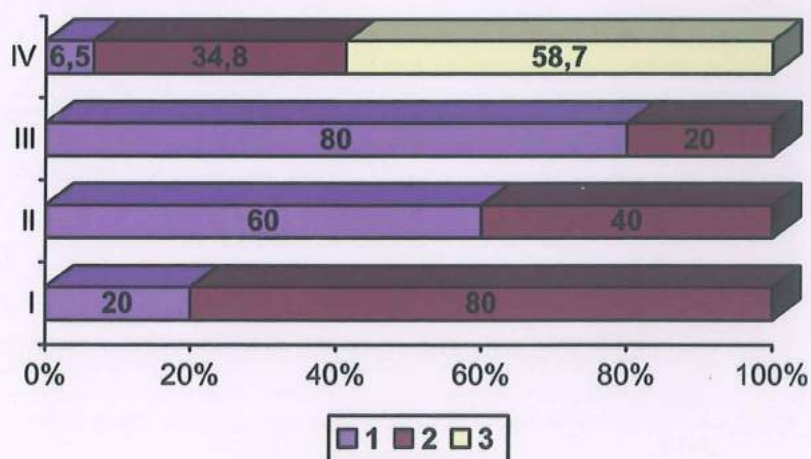
2- умерена количина на дентален плак која зафаќа повеќе од една третина од забната коронка, но е присутен во гингивалниот сулкус или пародонталниот џеп, се регистрира кај 46,7% во првата, 73,3% во втората, 33,3% во третата подгрупа и 34,8% во контролната група. Процентуалната разлика која се регистрира е статистички несигнификантна за $p > 0,05$ (таб 23. и граф 9)

3- голема количина на дентален плак по целата забна површина како и во сулкусот, џепот и интерденталниот простор, се регистрира кај 26,7% во првата и втората, 66,7% во третата подгрупа и 58,7% во контролната група. Процентуалната разлика која се регистрира помеѓу првата/втората во однос на третата подгрупа е статистички сигнификантна за $p = 0,0353$ (таб.23). Процентуалната разлика која се регистрира помеѓу првата/втората во однос на контролната група е статистички сигнификантна за $p = 0,0354$ (таб.23 и граф 9)

Табела број 24. Дистрибуција на индексот на гингивална инфламација по Silness-Loe кај испитуваната група со подгрупите и контролната група

група	I		II		III		IV	
ИГИ	број	%	број	%	број	%	број	%
1	3	20,0	9	60,0	12	80,	3	6,52174
2	12	80,0	6	40,0	3	20,00	16	34,78261
3							27	58,69565

Графикон број 10 Графички приказ на дистрибуцијата на индексот на гингивална инфламација на по Silness-Loe кај испитуваната група со подгрупите и контролната група



На табела 24 и графикон број 10 дадена е дистрибуцијата индексот на гингивална инфламација (ИГИ) кај испитуваната група со подгрупите и контролната група при што е регистрирано:

1-блага до умерена инфламација која не ја зафаќа гингивата во целост, се регистрира кај 20% во првата, 60% втората, 80% во третата подгрупа и 6,5% во контролната група. Процентуалната разлика која се регистрира помеѓу контролната група во однос на втората и третата подгрупа е статистички сигнификантна за $p = 0,0000$

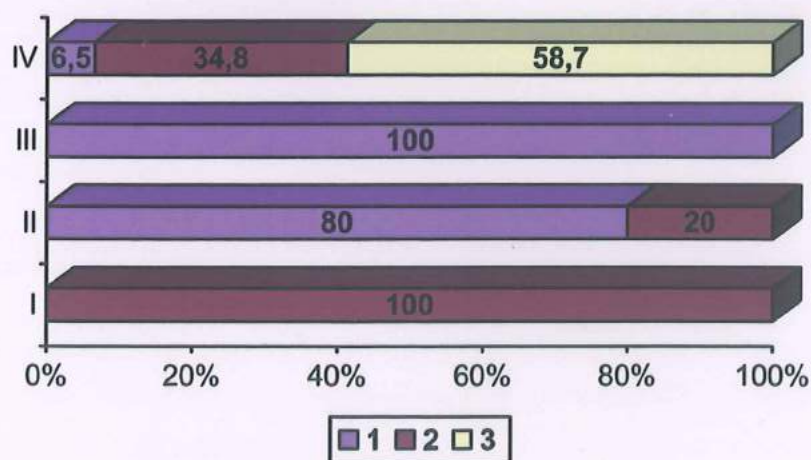
2- умерена инфламација која ја зафаќа гингивата во целост, таа е со црвена боја, и посилено изразен едем, се регистрира кај 80% во првата, 40 во втората и 20% во третата подгрупа, 34,8% во контролната група. Процентуалната разлика која се регистрира помеѓу контролната група во однос на третата подгрупа е статистички сигнификантна за $p = 0,0036$ (таб 24 и граф 10)

3- јака инфламација на гингивата во целост таа е со изразена црвена боја, многу зголемена, се регистрира само во контролната група со 58,7% (таб 24 и граф 10)

Табела број 25. Дистрибуција на индексот на гингивално крвање по Cowell кај испитуваната група со подгруите и контролната група

група	I		II		III		IV	
ИГК	број	%	број	%	број	%	број	%
1			15	80,0	15	100,0	3	6,52174
2	15	100,0	3	20,0			16	34,78261
3							27	58,69565

Графикон број 11 Графички приказ на дистрибуцијата на индексот на гингивална крвање по Cowell кај испитуваната група со подгрупите и контролната група



На табела 25 и графикон број 11 даден е приказ на дистрибуцијата на индексот на гингивална крвање по Cowell (ИГК) кај испитуваната група со подгрупите и контролната група при што регистриравме:

1-Појава на крвање после 30 секунди од сондирањето, се регистрира кај 80% во втората, а 100% во третата подгрупа, во контролната група се регистрира со 6,5%. Процентуалната разлика која се регистрира помеѓу контролната група во однос на втората и третата подгрупа е статистички сигнификантна за $P = 0,0000$ (таб 25 и граф 11)

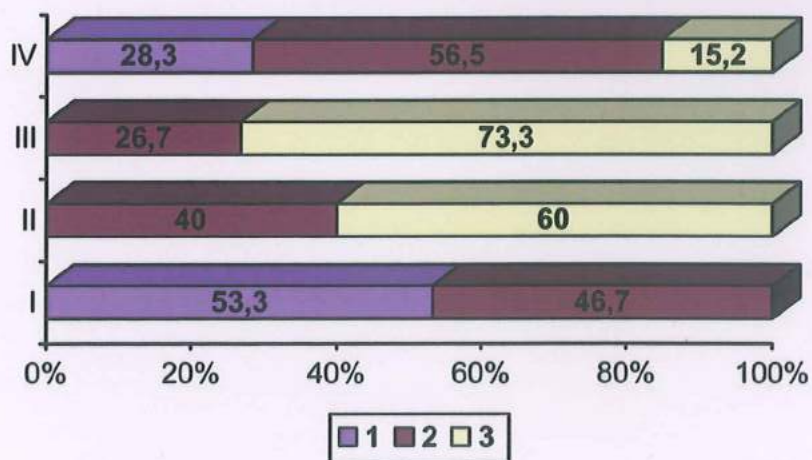
2-Крвање непосредно после сондирање, се регистрира кај 100% во првата, а 20% во втората подгрупа, во контролната група се регистрира со 34,8%. Процентуалната разлика која се регистрира помеѓу контролната група во однос на првата подгрупа е статистички сигнификантна за $P = 0,000$ (таб 25 и граф 11)

3-Спонтано крвање, се регистрира само во контролната група со 58,7% (таб 25 и граф 11)

Табела број 26. Дистрибуција на парадонтален индекс по Ramfjord кај испитуваната група со подгрупите и контролната група

група	I		II		III		IV	
ИГА	број	%	број	%	број	%	број	%
1	8	53,33333					13	28,26087
2	7	46,66667	6	40,0	4	26,66667	26	56,52174
3			9	60,0	11	73,33333	7	15,21739

Графикон број 12 Графички приказ на дистрибуцијата на индексот на губиток на атачмен по Ramfjord кај испитуваната група со подгрупите и контролната група



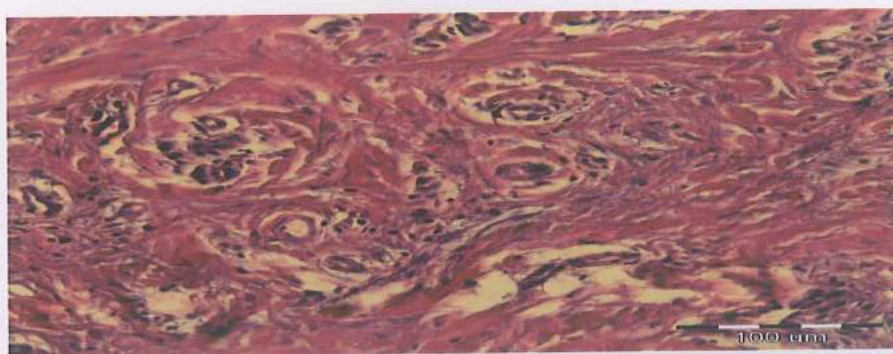
На табела 24 и графикон број 11 даден е приказ на дистрибуцијата на индексот на губиток на атачмент по Ramfjord кај испитуваната група со подгрупите и контролната група при што регистриравме:

1- губиток на атачмент до 3 мм., се регистрира со 53,3% во првата подгрупа и во контролната група со 28,3%. Процентуалната разлика е статистички несигнификантна за $P = 0,082$ (таб 26 и граф 12)

2-губиток на атачмент од 3 до 6 мм., се регистрира кај 46,7% во првата, 40% во втората и 26,7% во третата подгрупа и во контролната група со 56,5%. Процентуалната разлика е статистички сигнификантна само помеѓу контролната и третата подгрупа за $P = 0,0496$ (таб 26 и граф 12)

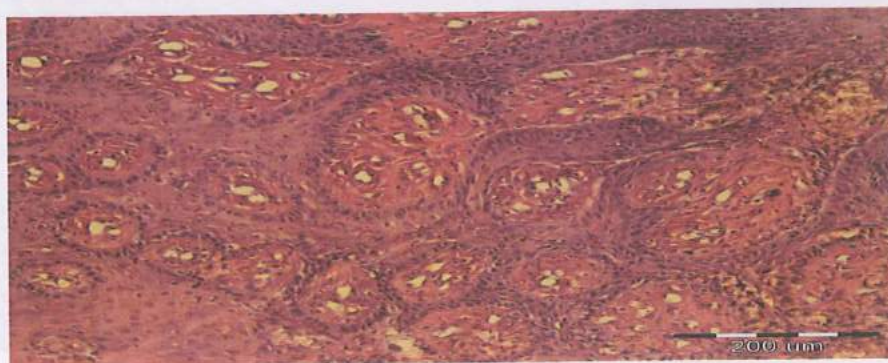
3-губиток на атачмент над 6мм., се регистрира кај 60% во втората и 73,3% во третата подгрупа и во контролната група со 15,2%. Процентуалната разлика е статистички сигнификантна помеѓу контролната и втората и третата подгрупа за $P = 0,00$ (таб 26 и граф 12)

Слика 1 Патохистолошка анализа на гингивалното ткиво во првата испитувана група (пушачи до 10 цигари)



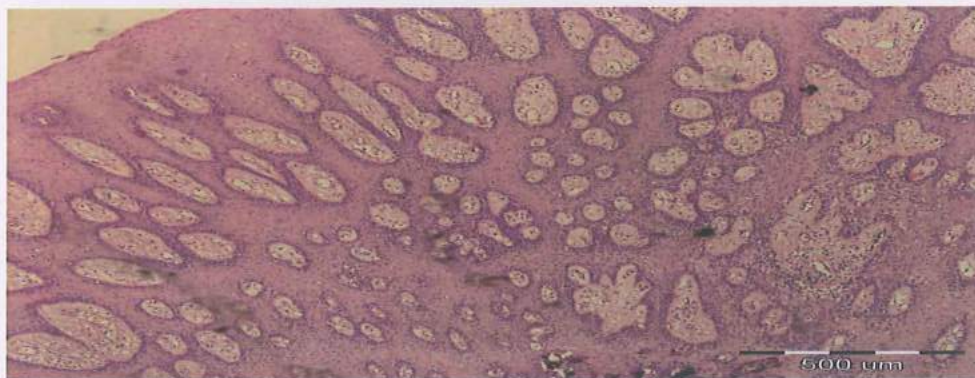
Примерок од гингивален ткивен исечок на кој е прикажан хроничен инфилтрат со лимфоцитни клетки, присутен груб колаген, редуцирани артериоли со хипертрофирани зидови

Слика 2 Патохистолошка анализа на гингивалното ткиво во првата испитувана група (пушачи до 10 цигари)



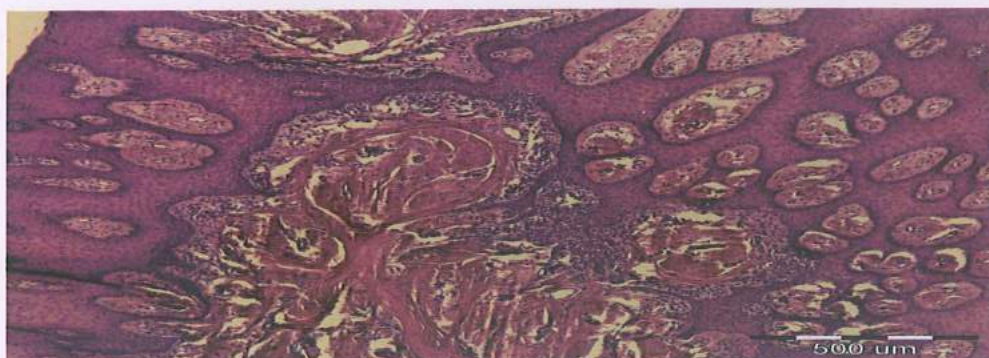
Примерок од гингивален ткивен исечок на кој е прикажан хроничен инфилтрат со лимфоцитни, папиломатозно разраснување, присутен колаген

Слика 3 Патохистолошка анализа на гингивалното ткиво во втората испитувана подгрупа (пушачи до 20 цигари)



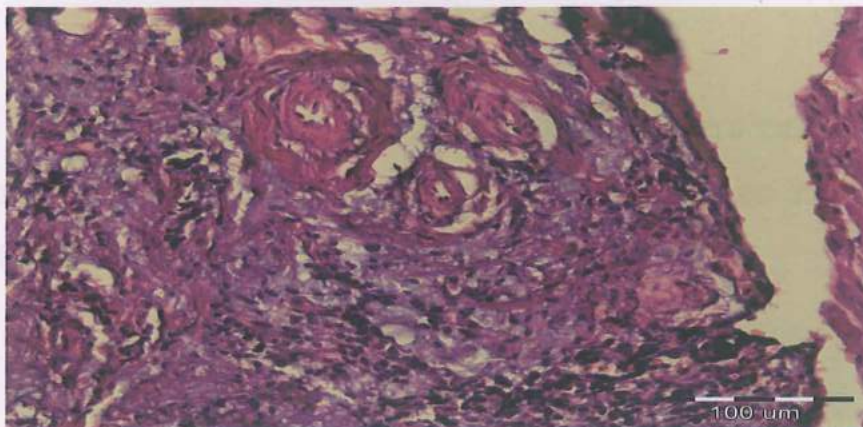
Примерок од гингивален ткивен исечок на кој е прикажан епителот, хроничен инфилтрат со лимфоцитни, папиломатозно разраснување

Слика 4 Патохистолошка анализа на гингивалното ткиво во втората испитувана подгрупа (пушачи до 20 цигари)



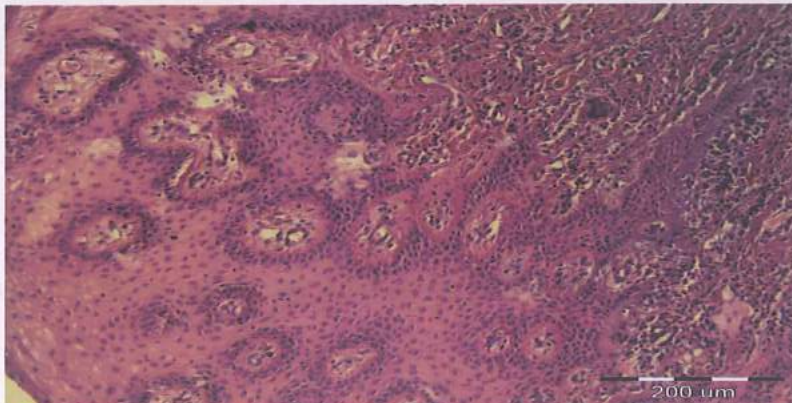
Примерок од гингивален ткивен исечок на кој е прикажан хроничен инфилтрат со лимфоцитни клетки, папиломатозно разраснување присутен груб колаген, редуцирани артериоли

Слика 5 Патохистолошка анализа на гингивалното ткиво во втората испитувана подгрупа (пушачи >20 цигари)



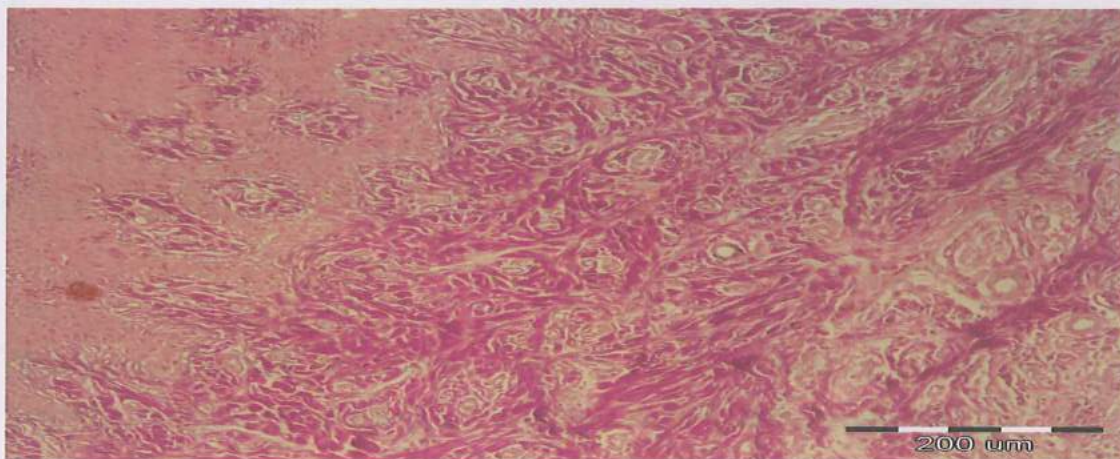
Примерок од гингивален ткивен исечок на кој е прикажан хроничен инфилтрат со лимфоцитни клетки, присутен груб колаген, редуцирани артериоли со хијанилизирани сидови

Слика 6 Патохистолошка анализа на гингивалното ткиво во втората испитувана подгрупа (пушачи >20 цигари)



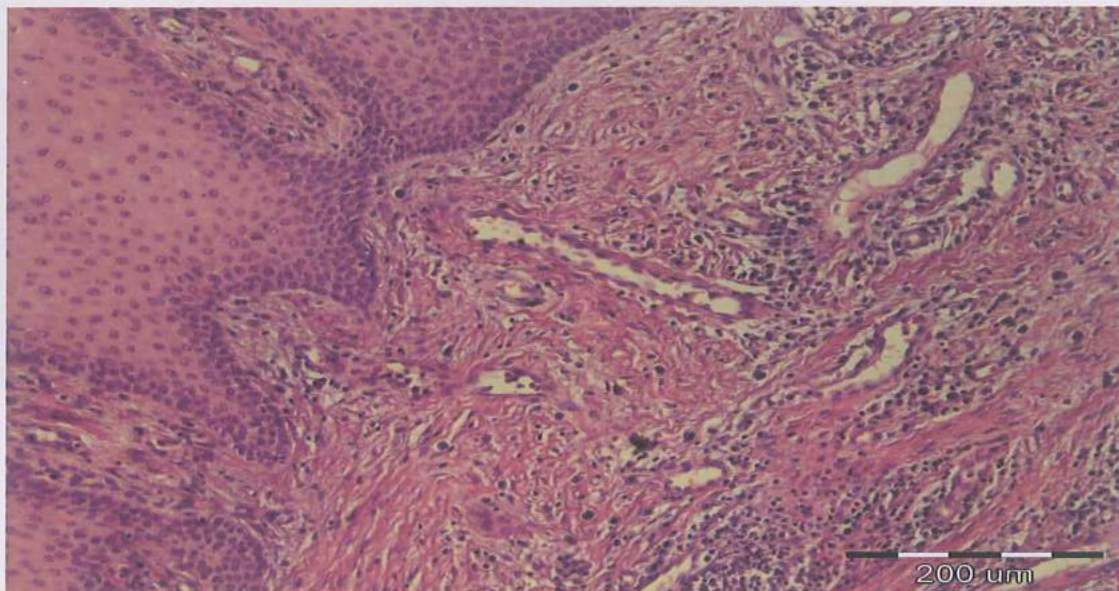
Примерок од гингивален ткивен исечок на кој е прикажан дел од епителот задебелен, хроничен инфилтрат со лимфоцитни клетки, папиломатозно разраснување

Слика 7 Патохистолошка анализа на гингивалното ткиво в
Хистохемиско боење за докажување на колаген во испитуваната
група (Van Gieson Elastic)



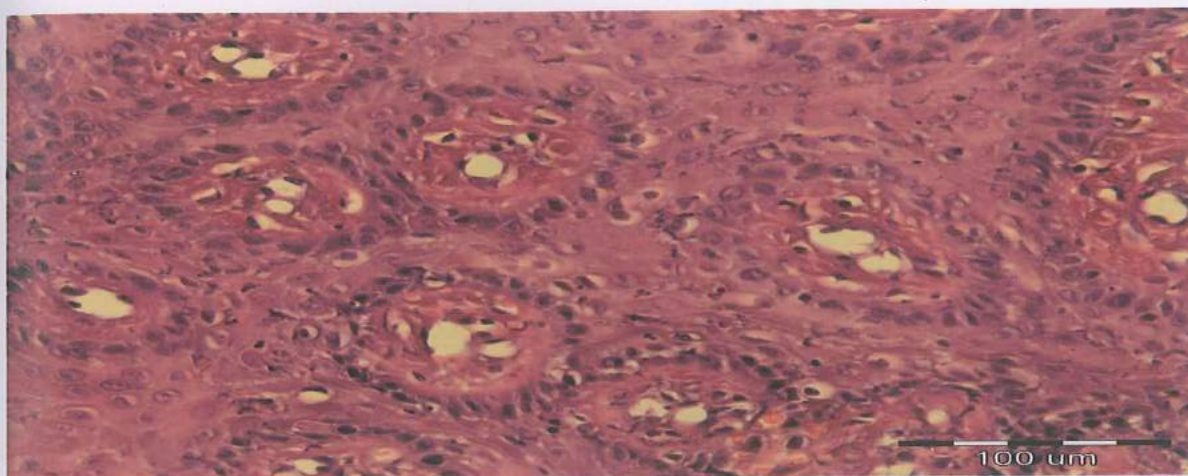
Примерок од гингивален ткивен исечок на кој е прикажан присуство на хроничен инфилтрат и присуство на присуство на обилен колаген

**Слика 8 Патохистолошка анализа на гингивалното ткиво со
хистохемиско бојење за докажување на колаген
(Van Gieson Elastic) во испитуваната група**



Примерок од гингивален ткивен исечок на кој е прикажан присуство на
хроничен инфилтрат и присуство на обилен колаген

Слика 9 Патохистолошка анализа на гингивалното ткиво во контролната група (не пушачи)



Примерок од гингивален ткивен исечок на кој е прикажан дел од хроничен инфилтрат со лимфоцитни клетки, папиломатозно разраснување крвни садови со тенки зидови

6.0. ДИСКУСИЈА

6.0.ДИСКУСИЈА

Ризикот за појава на пародонталната болест и прогнозата на пациентите е поврзана со мноштво на ризик фактори како возраста стресот, присуството на специфични микроорганизми, генетиката, дијабетот, пушењето. Пушењето е еден од најзначајните фактори на околината поврзани со напредувањето на пародонталната болест (7,30). Пушењето може да влијае на патогенезата на болеста кај индивидуата, да ја измени шемата на пародонталната болест во популацијата, како и да влијае на исходот од пародонталната терапија (7,47) Бројни истражувања (7,47,30) ги потврдиле негативните ефекти од пушењето врз пародонталното здравје. Механизмот со кој пушењето влијае врз оралното здравје се уште не е разбран ниту објаснет по пат на експерименти, а уште повеќе временската секвенца на процесот и влијанието на истите е секогаш екстремно тешко да се испита. Тежината и погресијата на пародонталната болест зависат од комплексните интеракции меѓу повеќето фактори на ризик, како што се микробиолошките, имунолошките, генетските како и возраста, полот и расата. Пушењето ја модулира деструкцијата на пародонциумот преку микроциркулацијата, имуниот систем, промените во сврзното ткиво и во метаболизмот на алвеоларната коска. Хистолошките студии на пародонталните структури докажуваат присуство на различни популации на инфламаторни клетки во пародонциумот. Литературни податоци (37), укажуваат дека цитокините се примарно одговорни за текот на болеста пред се поради нивната улога како

медијатори кои ја насочуваат и ја регулираат инфламацијата. Цитокините се продуцираат локално во самото ткиво, дејствуваат и се разложуваат во ткивото, но во одредени состојби, како што е хронично перзистирање на дразбата, може да настане системско разлевање на цитокините. Цитокините се моќни хормони кои дејствуваат во многу мали концентрации изразени во нанометри. Еден од првите откриени и досега најмногу проучуван е цитокинет ИЛ-1 β . Тој се синтетизира главно од мононуклеарните клетки, претежно од моноцитните фагоцити, по стимулацијата од продуктите на инфламацијата или директно од бактериите. Поголеми вредности на ИЛ-1 β се откриени во пародонталното ткиво (26), што се поврзува со значајната улога на ИЛ-1 β во патогенетските механизми на пародонталната болест, по пат на стимулација на коскената ресорпција, секреција на протеинази, како и миграцијата на припојниот епител (54). Се смета дека во пародонталното ткиво ИЛ-1 β потекнува од моноцитите, а неговата секреција е предизвикана од липополисахаридите на пародонтопатогените бактерии. Стимулираните клетки на периодонталниот лигамент се способни да го препознаат липополисахаридот (72) од бактериите и да предизвикаат цитотоксични ефекти.

ИЛ-1 β претставува стимулатор на сврзно-ткивниот катаболизам поттикнувајќи ја коскената ресорпција преку ослободувањето на големи количини на ПГЕ2 од фибробластите и моноцитите. За време на инфламаторните процеси во гингивата иако нивото на ИЛ-1 β и ТНФ- α е ниско, сепак е доволно да предизвика промени на клетките и да учествува директно во имунолошките процеси.

Во реализираните испитувања на нашиот материјал, за нивото на ИЛ-1 β во гингивалното ткиво кај трите подгрупи (пушачи) и контролната група не пушачи забележавме зголемување на вредностите на ИЛ-1 β во однос на референтните вредности (таб 1, граф 1). Сметаме дека ова зголемување на нивото на ИЛ-1 β во гингивалното ткиво во испитуваните групи, иако

несигнификантно (таб 2), го потврдува учеството на овој цитокин во патогенетските механизми на пародонталната болест. Според (88,37) докажано е дека нивото на ИЛ-1 β се зголемува со напредувањето на инфламацијата како и со напредувањето на пародонталната деструкција. ИЛ-1 β учествува во регулацијата на експресијата на адхезивните молекули на фибробластите. Овие адхезивни молекули овозможуваат хемотакса на местото на инфламацијата со што им овозможува на лимфоцитите и моноцитите да се припојат на клетките од сврзното ткиво (90) Овие наоди укажуваат дека различни клеточни типови одговараат различно на никотинската изложеност. ИЛ-1 β со својата зголемена концентрација индиректно влијае на активација на моноцитно макрофагниот систем вогингивалното ткиво со што се подржува локалната продукција на овој цитокин. Никотинот ја зголемува ИЛ1- α и ИЛ1- β продукцијата од кератиноцитите но не влијае на ИЛ1- β секрецијата, односно комбинација на никотин и ЛПС ја намалува секрецијата на ИЛ-1 β (78, 94

Нашите резултати се во согласност со наодите на (78,94) спротивни на ((77,9,74)

Податоциот на (51,59,63)ја покажуваат улогата на полиморфизмот на ИЛ-1 групата, во однос на зголеменит ризик за пародонтална болест. Meisel (62) укажува на можната поврзаност меѓу ИЛ-1генотипот, пародонталната болест и пушењето. Пациентите со позитивен генотип споредени со пациенти со негативен фенотип покажуваат повисок ризик на напредна пародонтална болест (59). Овие податоци укажуваат на можната интеракција на двата ризик фактори, пушењето и генотипот. Фенотипски разлики постојат во нивото на интерлеукините кои кореспондираат со генотипот, и овие разлики влијат на пародонталната болест. ИЛ-1 групи на генотипот резултираат со зголемени вредности на проинфламаторни цитокини, а покачените вредности на интерлеукините кои се предизвикани од никотинот

или од липополисахаридите претставуваат предиспонирачки фактори на пародонталната болест.

ИЛ-1 β регрутира инфламаторни клетки, го олеснува полиморфонуклеарното иницирање, ја зголемува синтезата на инфламаторните медијатори (простагландините, матриксните металопротеинази) ја инхибира колгенската синтеза и ги активира Б-лимфоцитите.(17). Нашите резултати за серумското ниво на ИЛ-1 β покажуваат зголемени вредности кај трите подгрупи и контролната група, при што разликата на просечните вредности се статистички сигнификантни (таб 4). Добиените резултати на покачените вредности на ИЛ-1 β во испитуваната група укажува на улогата на овој цитокин во патогенетските случувања на пародонталната болест како моќен индуктор на активната реакција на имунолошкиот систем кај пушачите, предизвикана од бактериската стимулација. Зголемувањето на бројот на испушени цигари, односно зголеменото дејствување на никотинот условува засилена реакција кај пушачите евидентирано на (табела 5). Нашите резултати кои се однесуваат за нивоата на ИЛ-1 β во серум се во согласност со наодите на (42) а спротивни на (29,73,77,)

Еден од главните извори на ТНФ- α во инфламираните ткива се ткивните моноцити и макрофаги. Овој цитокин игра главна улога во имуните инфламаторните одговори. ТНФ- α и ИЛ-1 β се вклучени во патогенетските механизми на пародонталната болест и се моќни индуктори на продукцијата на простагландините во многу клетки вклучувајќи ги гингивални фибробласти. (71). Ова го потврдуваат и нашите резултати за зголемено присуство на ТНФ- α во гингивалното ткиво, над референтните кај испитуваните групи и контролната група (табела 6, графикон 3), при што разликата на просечните вредности помеѓу испитуваните подгрупи е статистички сигнификантна за $p = 0,19946$ (табела 7).

Нашите резултати кои се однесуваат на нивото на ТНФ- α во гингивалното ткиво кај пациенти со пародонтална болест (пушачи и непушачи) се во согласност (92) не најдовме податоци кои се однесуваат на присуството на ТНФ- α во гингивално ткиво кај пушачи за да ги конфротираме нашите резултати.

Со зголемувањето на бројот на испушени цигари се зголемува концентрацијата на инфламаторниот медијатор ТНФ- α кој уште повеќе ги продлабочува патолошките случувања на пародонталната болест, што е евидентно на (табела 8), каде тест разликата е воглавно меѓу третата подгрупа и првата подгрупа.

ТНФ- α го регулира реструктурирањето на коската преку клетките на периодонталниот лигамент, го модулира дејствувањето на остеобластите преку влијанието на колагенската синтеза, колагеназата, протеогликаните и простагландините (78,87).

Во текот на нашите испитувања резултатите што ги добивме за ТНФ- α во серум покажуваат повисоки вредности во однос на референтните кај трите подгрупи и контролната група (таб 9 и граф 4) но разликата на просечните вредности за ТНФ- α во серум помеѓу испитуваните групи се статистички несигнификантни за $p = 0,019946$ (таб 10). Нашите резултати кои се однесуваат на нивото на ТНФ- α во серум кај пародонтално болни (пушачи и непушачи) се во согласност (92,29) не најдовме податоци кои се однесуваат на присуството на ТНФ- α во серум за да ги конфротираме нашите резултати.

Иако резултатите во испитуваната група со подгрупите не покажаа сигнификантност сепак сметаме дека периферните крвни моноцити одговараат кон липополисахаридите со зголемена продукција на ТНФ- α

укажувајќи на активен одговор на имуниот систем кај пушачите, веројатно причинет од интензивираната бактериска стимулација, која води до зголемена колагеназа од фибробластите коскена ресорпција со што се обезбедува додатен доказ за активација на клетките *ин vivo*. (4,6.) Никотинот ги зголемува интерклеточните адхезивни молекули (ИКАМ-1) и адхезијата на ендотелните леукоцитни молекули со што се зголемува количеството на солубилни ИКАМ-1 во серумот на пушачите. Оваа адхезија на молекулите може да влијае врз поврзувањето на леукоцитите за ендотелните клетки, обложувајќи ги капиларите посткапиларните венули и ова може да го попречи вклучувањето на важните одбрамбени клетки на местото на инфламацијата.

Пародонталниот статус детектиран со индексот на гингивална инфламација (ИГИ) не е поврзан со ткивните и серумските вредности на $\text{TNF-}\alpha$ и $\text{IL-1}\beta$, што е евидентно од (табела 11) каде е регистрирана статистичка несигнификантна позитива корелација помеѓу ИГИ со $\text{TNF-}\alpha$ и $\text{IL-1}\beta$ во ткиво и серум.

Позитивна корелација регистрирана е помеѓу губитокот на атачмент со серумските и ткивните вредности на $\text{TNF-}\alpha$ прикажано. (табела 12) додека негативна корелација помеѓу $\text{IL-1}\beta$ во серум и ткиво со пародонталниот индекс по Ramfjord. (таб 12)

Сметаме дека ова се должи на недоволната сензитивност на клиничките индекси во детекција на промените кои се случуваат во текот на пародонталната болест. Клиничките параметри може да бидат земено предвид при дефинирање на типот на пародонталната деструкција (активна/неактивна), но се немоќни за детерминирање на разликите во чувствителноста на организмот и имуноинфламаторниот одговор.

При прегледување на литературните податоци за поврзаноста помеѓу ткивните и серумските нивоа на ТНФ- α , ИЛ-1 β и индексот на гингивална инфламација (ИГИ) и степенот на губиток на атачмент не најдовме податоци кои се однесуваат на оваа корелација за да ги конфротираме нашите резултати.

Пародонталната болест е хронично заболување кое минува низ периоди на егзацербација и спонтана ремисија, можно е од местата каде што беа земени примероците да отсутствувала активноста на заболувањето. па затоа сметаме дека верификацијата на ткивните маркери во примероците покажа големи варијации во сите примероци. Секако треба да нагласиме дека варијациите во испитуваните подгрупи можно е да се резултат на необјективноста на испитаниците во поглед на добиените податоци за бројот на испушени цигари на ден.

Липидниот метаболизам може да се промени под дејство на некои хронични инфекции кои влијаат врз концентрацијата на цитокините или хормоните во плазмата, или како резултат од пушењето. Голем број на цитокини како ТНФ- α и ИЛ-1 β се продуцираат како одговор на пародонтопатогените грам негативни бактерии (17,18). Овие цитокини имаат големо влијание врз липидниот метаболизам (23) поттикнувајќи ја продукцијата на други цитокините, изменувајќи го хемодинамизмот (аминокиселинската утилизација) од страна на различните ткива кои учествуваат во липидниот метаболизам, или пак модифицирајќи ја хипоталамо-хипофизно-адреналната оска со зголемување на концентрацијата на аденокортикотропните хормони, кортизол, адреналин, норадреналин и глюкагон во плазмата.(41) На овој начин со помош на активноста на ТНФ- α и ИЛ-1 β и изложувањето на микроорганизмите и дејството на никотинот доаѓа до покачување на нивото на слободните масни киселини, холестеролот и триглицеридите. (45).

Во текот на нашите испитување резултатите што ги добивме за вкупниот холестерол покажуваат разликата на просечните вредности на испитуваните групи кои се статистички сигнификантни за $p = 0,018072$ (таб.14). но просечните вредности се повисоки во втората и третата подгрупа (таб.13 и графикон 5) Според post-hoc Tukey HSD test разликата е воглавно помеѓу третата подгрупа и останатите групи (таб.15), што го потврдува влијанието на зголемениот број на испушени цигари дневно врз системското и пародонталното здравје. Нашите резултати, кои се однесуваат на нивото на вкупниот холестерол кај пушачи и непушачи со пародонтална болест се во согласност со (17,45) а спротивни на (13,39,35).

Покачувањето на серумските липиди е резултат на зголемената хепатална липогенеза, зголемување на ткивната липолиза, зголемена синтеза или редуцирано отстранување на триглицеридите и холестеролот поради намалување на активноста на липопротеинската липаза.

Пушењето, неправилната исхрана како и високо масните оброци резултираат во пролонгирано нарушување на антибактериската функција на полиморфонуклеарните леукоцити односно хиперреактивност со зголемена продукција на кислородни радикали која е поврзана со прогресија на пародонталната болест кај возрасни.

Проинфламаторните цитокини ТНФ- α , ИЛ1- β простагландинот Е2 (ПГЕ2) достигнуваат високо ниво на концентрација кај пародонталната болест.(41) Инфламираниот пародонциум може да послужи како перманентно обновувачки резервоар за исфрлање на ТНФ- α , ИЛ1- β , ПГЕ2, во крвната циркулација и да условат продолжени системски ефекти, како и да влијаат на липидниот метаболизам.(21) Зголемувањето на серумските липиди се појавува поради зголемената синтеза или намаленото разградување на триглицеридите (23) и редуцираното отстранување на ЛДЛ холестеролот

Резултатите од нашите испитувања за ЛДЛ холестеролот покажуваат повисоки вредности во однос на референтните вредности кај трите подгрупи и контролната група (таб.16 и граф 6) но разликата на просечните вредности на испитуваните групи е статистички не сигнификантни $p = 0,090300$ (таб.17). Овие резултати, кои се однесуваат на нивото на ЛДЛ холестерол кај пушачи и непушачи со пародонтална болест се во согласност со (17,45,53) а спротивни на (13,39,35). Исхраната може да влијае на инфламаторниот одговор на домаќинот односно исхраната може да учествува во активацијата на инфламаторните цитокини кои ја афектираа имуната функција, и веројатно влијаат на пародонталното здравје и состојбата на оделни системи во организмот.(38,40) Исхраната со зголемен внес на заситени масти, намален внес на целулоза и овошје може да доведе до промени на липидниот статус.

Просечните вредности на ХДЛ холестеролот се во граници на референтни вредности кај втората и третата подгрупа и контролната група, додека просечната вредност на првата подгрупа е повисока од референтните вредности (таб.18 и граф 7) Разликата која се регистрира помеѓу просечните вредности на испитуваните групи се статистички сигнификантни за $p = 0,000000$ Според post- hoc Tukey HSD тест разликата е воглавно помеѓу првата подгрупа и останатите групи (таб.20). Зголемените вредности на ХДЛ холестеролот има антиинфламаторни дејство, и ја намалува адхезивноста на ендотелните клетки со што го намалува ризикот за кардиоваскуларни болести

Нашите резултати, кои се однесуваат на нивото на ХДЛ холестерол кај пушачи и не пушачи со пародонтална болест се во согласност со (39,35) а спротивни на (13).

Различни механизми кои водат до липидна алтерација поради пушењето го вклучуваат дејството на никотинот кој го стимулира симпатичниот адренален систем водејќи до зголемена секреција на катехоламини, резултирајќи во зголемена липаза и зголемена концентрација на плазмените

масни киселини, што условува зголемена секреција на хепаталните масни киселини и триглицериди(25) Просечните вредности на триглицеридите кај трите подгрупи и контролната група се повисоки од референтните вредности (таб.21 и граф 8) но разликата која се регистрира помеѓу просечните вредности на испитуваните групи (пушачи) се статистички не сигнификантни $p = 0,345041$ (таб. 22). Биолошките сигнални молекули од локалното инфламирано ткиво имаат физиолошки ефекти врз поттикнувањето на липогенезата, покачување на липолизата и намалување на липидната чистота, при што резултира до хиперлипидемија или акумулација на слободни масни киселини (ФФА) и триглицериди со што е потврдено со нашите резултати.

Нашите резултати, кои се однесуваат на нивото на триглицериди кај пушачи и не пушачи со пародонтална болест се во согласност со (13,45) а спротивни на (38,35).

Анализата на липидниот статус кај двете испитувани групи покажуваат повисоки вредности во двете испитувани групи со што ги потврдуваме сопствените резултати (65) на зависност помеѓу хиперлипидемијата и пародонталната болест.

Клиничките и ретгенолошките испитувања на состојбата на пародонциумот укажуваат дека состојбата на пародонциумот кај пушачи е полоша во споредба со непушачи, а клиничката слика се манифестира со присуство на подлабоки пародонтални џепови, поголем губиток на атачмент изразена рецесија на гингивата, вклученоста на фуркацијата, зголемен алвеоларен коскен губиток, како и зголемено ниво на дејтален плак и забен камен (30,44,27,28). Ефектот на пушењето на пародонциумот е кумулативен, односно негативните ефекти од пушењето врз потпорниот апарат зависат од должината на пушењето и бројот на дневно испушени цигари (31). Лошиот пародонтален статус кај пушачи не може да се припише на слабата контрола на плакот во однос на пародонталната деструкција (2, 24,97).

Во текот на нашите испитувања од анализата на индексот на дентален плак (ИДП) регистриравме процентуална разлика помеѓу првата, втората во однос на третата подгрупа која е статистички сигнификантна за $p=0,0353$ (таб.25), помеѓу првата, втората во однос на контролната група регистрирана е статистички сигнификантна за $p =0,0354$ (таб 25. и граф 9). Сметаме дека поголемата количина на дентален плак кај пушачи е резултат на лошата орална хигиена како и на создавањето на никотинските пигментации кои ја зголемуваат плак акумулацијата (24,97).

Нашите резултати кои се однесуваат на вредностите на индексот на дентален плак (ИДП) се во согласност со (3,24,98), а спротивни (2)

Несомнено пушењето влијае на составот на субгингивалната бактериска флора, а со тоа се зголемува субгингивалната инфекција. Пушењето влијае на оксидо-редуктивниот потенцијал на денталниот биофилм, создавајќи анаеробни услови и преминација на грам негативните анаеробни бактерии. Намалената одбрамбена и репараторна способност на пародонциумот, и присуството на агресивни бактерии во денталниот плак доведува до поголемо оштетување на пародонциумот кај пушачи во споредба со не пушачи (5,44,3,99).

Инфламаторниот одговор индуциран од акумулацијата на денталниот плак може да биде модифициран од споредните продукти на тутунот како котинот спореден продукт на никотинот кој има периферно вазоконстрикторно дејство, и ги редуцира гингивалните клинички знаци на инфламацијата (10) црвенило и едем (10). Анализата на индексот на гингивална инфламација (ИГИ) укажува на јасна процентуална разлика помеѓу контролната група во однос на втората и третата подгрупа која е статистички сигнификантна за $p - 0,0000$, и помеѓу контролната во однос на третата подгрупа каде детектиравме статистичка сигнификантност за $p - 0,0036$ (табе 26 и граф 10) што го потврдува периферното вазоконстрикторно

дејство на никотинот кое се рефлектира со намалени клинички знаци на инфламација кај пушачите.

Нашите резултати кои се однесуваат на вредностите на индексот на гингивална инфламација (ИГИ) се во согласност со (10,1) но не наидовме на литературни податоци кои не го потврдуваат овај наод.

Сметаме дека редуцираниот интензитет на гингивалниот одговор веројатно е во насока на васкуларните измени, и дебелината на маргиналниот гингивален епител оштетен од пушењето (слика5). Локалниот вазоконстрикторен ефект на никотинот доведува до намален проток на крв во гингивалното ткиво, хипоксија и намалена способност во отстранувањето на материите од метаболизмот на ткивото. Сите овие случувања влијаат на намалување на репараторната способност на пародонциумот, клинички манифестирано и со успорено заздравување на ткивото.

Кај пациенти со пародонтална болест пушачи индексот на гингивално крвавење (ИГК) е значајно намален, и е зависен од дозата на изложеност на никотинот во споредба со непушачи со слични нивоа на плак акумулација (84, 5,22,19).

Анализата на индексот на гингивално крвавење (ИГК) укажува на јасна процентуална разлика помеѓу контролната група во однос на првата втората и третата подгрупа која е статистички сигнификантна за $p = 0,0000$ (таб 27 граф11)

Нашите резултати кои се однесуваат на индексот на гингивално крвавење (ИГК) се во согласност со (10,1,7) но не наидовме на литературни податоци кои не го потврдуваат овај наод.

Сметаме дека редуцираниот одговор на крвавење кај пушачи е препишано на гингивалната вазоконстрикција на никотински стимулираниот адреналин и норадреналин преку α_1 -адренергичните рецептори, како и на нарушувањето на имуниот одговор.

Алвеоларниот коскен губиток и губитокот на атачментот кај пушачите се зголемени при што поврзаноста (31) зависи од дозата на никотинот кој се внесува со пушењето и покажување на ефектот по многу години.

Цитотоксичните супстанции како што е никотинот главна компонента на тутунскиот чад и котинот негов главен метаболит (4), се наоѓаат во плунката, гингивалнат течност и серумот. (22). Тие лесно продираат низ епителот и (16). делуваат на фибробластите, пореметувајќи ја синтезата на колаген и секрецијата на протеините. Никотинот ин витро неспецифично се врзува за клеточната мембрана на фибробластите од сврзното ткиво на гингивата, брзо продира во клетките, и многу споро се излачува екстрацелуларно. Фибробластите изложени на никотин продуцираат помалку фибронектин и колаген, додека колагеназната продукција е зголемена (94). со што адаптивната поддршка на гингивалното ткиво ќе биде намалена Дали пореметувањето на синтезата на колаген и секрецијата на протеините на фибробластите е последица на дејството на никотинот на ниво на клеточната мембрана или последица на пореметување на метаболизмот внатре во клетката, како и механизмот на дејството се уште не е објаснето.

Во текот на нашите испитувања од анализата на губиток на атачмент од 3 до 6 мм регистриравме процентуална разлика помеѓу контролната и третата подгрупа која е статистички сигнификантна за $p=0,0496$, статистички сигнификантност за губиток на атачмент над 6 мм помеѓу контролната, втората и третата подгрупа за $p=0,00$ (таб 29 и граф 12) Процентуалната разлика единствено е статистички неси́гнификантна за $p=0,082$ (таб 29 и граф 12) во првата подгрупа и контролната група со губиток на атачмент до 3 мм. Нашите резултати кои се однесуваат на индексот на губиток на атачмент се во согласност (27,7) а спротивни (28).

Сметаме дека никотинот ја стимулира остеокласната диференцијација а со тоа ресорпцијата на калциумфосфатот главна состојка на коските. Поголеми концентрации на никотин доведуваат до зголемен број на

остеокласти, клетки кои се одговорни за ресорпцијата и ремоделацијата во текот на пародонталната болест.

Пушењето доведува до хронична алтерација на гингивалната микроциркулација што е евидентно во патохистолошката анализа на нашите ткивни примероци на групите (слика (2, 4,6) како што се измените во големината на бројот на новоформираните крвни садови (33, 66) Овие наоди сугерираат дека пушењето доведува до функционална нарушена гингивална микроциркулација (33,66). Микроскопските анализи на нашите ткивни примероци упатуваат на заклучок дека пародонталната микроциркулација кај пушачите е составена од зголемен број на мали крвни садови (слика 1, 3, 5.) кои се со задебелени хипертрофирани ѕидови и присуство на колаген. Пародонталната микроциркулација е составена од помал број на големи крвни садови, (слика 1) но застапеноста на малите крвни садови е поголема. Просечната густина на васкуларното ткиво во пародонтот не се разликува помеѓу пушачите и непушачите(66). а исто така и бројот на крвните садови не се разликува во инфламираните и неинфламираните ткива кај пушачите, што е спротивно со нашите резултати. Литературните податоци говорат дека никотинот доведува до вазоконстрикција на крвните садови кај човекот, но докази за индуцирана тутунска вазоконстрикција во пародонталната микроциркулација кај луѓето нема. Валидна алтеративна хипотеза е дека компонентите на тутунскиот чад или метаболитите, ја ограничуваат пародонталниот ангиогеничен одговор кон плаковите бактерии. Капиларите и посткапиларните венули се оние крвни садови асоцирани со васкуларна пермеабилност и клеточна миграција, затоа инфламаторниот одговор кај пушачите со пародонтална болест може да не е придружен со соодветен пораст во васкуларноста(33), што е спротивно со нашите добиени резултати(слика7) Пушачите покажуваат пониска заситеност со O_2 во гингивата (33) споредено со не пушачите, т.с кислородната сатурација на хемоглобинот во гингивата не се разликува помеѓу здрава и инфламирана

гингива кај пушачи (33). Промените во микроциркулацијата можат да го компромитираат одбрамбениот одговор, вазодилатацијата и вазопропусливоста, да причинат одбрамбените механизми да реагираат не адекватно. Овие промени ќе ги направат пушачите посензитивни на егзогените нокси, но и не ефективни во одговорот. Ова може да објасни зошто пушењето претставува ризик фактор на различни болести особено пародонталната болест.

Секако дека има мало разбирање за ефектите од пушењето врз имунолошкиот систем, и како овие интеракции влијаат на пародонталното здравје. Директната корелација помеѓу промените условени од пушењето во функционирањето на имуниот систем и нарушеното пародонтално здравје останува да бидат потврдени во иднина. Во овие насоки интересно е да се идентификуваат гените или продуктите од гените кои се директно афектирани од пушењето. Литературните податоци индицираат дека пушењето е аларм, предупредувачки сигнал за појава на пародонтална болест. На стоматолозите клиничари им останува обврската за сериозен точен пристап во дијагностицирањето, идентификација на ризик факторите и третирањето на пародонталната болест. Во таа насока, секако особен акцент треба да се стави на здравствено едукативните програми кои ќе се насочат кон откажување од пушењето, правилна орална хигиена, исхраната и навиките на живеење, како дел од мерките неопходни за превенција на пародонталното здравје како интегрален дел од системското здравје.

7.0. ЗАКЛУЧОЦИ

Испитувањето на улогата на пушењето како ризик фактор во етиопатогенетските случувања кај пародонталната болест, овозможена со верификација на инфламаторните маркери ТНФ-А, ИЛ-1 β , липидниот статус и клиничките параметри не упатуваат на следните заклучоци.

1. Анализата на ткивната динамика на ИЛ-1 β во гингивалното ткиво детектира разлика на просечните вредности на овој маркер кај трите испитувани подгрупи (пушачи) која е статистички не сигнификантна за $p < 0,05$, при што просечните вредности кај трите подгрупи и контролната група се повисоки од референтните вредности. Сметаме дека ова зголемување на нивото на ИЛ-1 β во гингивалното ткиво во испитуваните групи, иако несигнификантно го потврдува учеството на овој цитокин во патогенетските механизми на пародонталната болест. Зголемувањето на бројот на испушени цигари, односно зголеменото дејствување на никотинот условува засилена реакција кај пушачите.

2. Резултатите од анализата на серумските вредности на ИЛ-1 β регистрира разликата на просечните вредности кај трите испитувани подгрупи (пушачи)

која е статистички сигнификантна за $p=0,002890$, но просечните вредности на ИЛ-1 β во серум се повисоки од референтните вредности кај трите подгрупи и контролната група. Покачените вредности на ИЛ1-В во испитуваната група укажува на улогата на овој цитокин во патогенетските случувања на пародонталната болест како и влијанието, односно зголеменото дејствување на никотинот условува засилена реакција кај пушачите.

3. Детектираната разлика на просечните вредности на ТНФ- α во гингивалното ткиво кај трите испитувани подгрупи е статистички сигнификантна за $p=0,019946$, но просечните вредности се повисоки од референтните во трите подгрупи и контролната група. Со зголемувањето на бројот на испушени цигари се зголемува концентрацијата на инфламаторниот медијатор ТНФ- α кој уште повеќе ги продлабочува патолошките случувања на пародонталната болест,

4. Резултатите на серумските вредност за ТНФ- α детектираат разлика на просечните вредности кај трите испитувани подгрупи која е статистички не сигнификантна за $p=0,152117$ но просечните вредности на ТНФ- α во серумот кај трите подгрупи и контролната група се повисоки од референтните вредности Иако резултатите во испитуваната група со подгрупите не покажаа сигнификантност сепак сметаме дека периферните крвни моноцити одговараат кон липополисахаридите со зголемена продукција на ТНФ- α укажувајќи на активен одговор на имуниот систем кај пушачите.

5. Статистички сигнификантна позитивна корелација помеѓу пародонталниот индекс на Ramfjord со $\text{TNF}\alpha$ во гингивалното ткиво и серум во испитуваните групи укажува на валидноста на мерењето на ткивните и серумските концентрации на $\text{TNF}\alpha$, како индуктор на активноста на заболувањето.

6. Параметрите на липидниот статус детектираат разлика на просечните вредности на ЛДЛ холестерол во испитуваните групи која е статистички не сигнификантна за $p=0,090300$ и триглицериди $p=0,345041$, при што просечните вредности се повисоки од референтните во испитуваните подгрупи и контролната група, со исклучок за вредностите на триглицеридите од првата подгрупа кои се во граница на референтните. Пушењето, неправилната исхрана како и високо масните оброци резултираат во пролонгирано нарушување на антибактериската функција на полиморфонуклеарните леукоцити односно хиперреактивност со зголемена продукција на кислородни радикали која е поврзана со прогресија на пародонталната болест кај возрасни.

7. Анализата на вкупниот холестерол и ХДЛ холестеролот регистрираат разлика на просечните вредности за ХДЛ кај трите испитувани подгрупи која е статистички сигнификантна за $p=0,018072$ за вкупниот холестерол исто така е статистички сигнификантна за $p=0,000000$, а просечните вредности на ХДЛ кај втората и третата подгрупа и контролната група, се во граница на референтните додека просечната вредност на првата подгрупа е повисока од референтните вредности. Никотинот може да го стимулира симпатичниот адренален систем водејќи до зголемена секреција на катехоламини,

резултирајќи во зголемена липаза и зголемена концентрација на плазмените масни киселини, што условува зголемена секреција на ЛДЛ холестерол триглицериди и ХДЛ.

8. Резултатите од анализата на индексот на дентален плак (ИДП) регистрираат процентуална разлика помеѓу првата, втората во однос на третата подгрупа која е статистички сигнификантна за $p=0,0353$ помеѓу првата, втората во однос на контролната група која е статистички сигнификантна за $p=0,0354$. Сметаме дека поголемата количина на дентален плак кај пушачи е резултат на лошата орална хигиена како и на создавањето на никотинските пигментации кои ја зголемуваат плак акумулацијата.

9. Анализата на индексот на гингивална инфламација (ИГИ) укажува на јасна процентуална разлика помеѓу контролната група во однос на втората и третата подгрупа која е статистички сигнификантна за $p=0,0000$, и помеѓу контролната во однос на третата подгрупа детектиравме статистичка сигнификантност за $p=0,0036$. Сметаме дека редуцираниот интензитет на гингивалниот одговор веројатно е во насока на васкуларните измени, и дебелината на маргиналниот гингивален епител оштетен од пушењето.

10. Анализата на индексот на гингивално крвање (ИГК) укажува на јасна процентуална разлика помеѓу контролната група во однос на првата втората и третата подгрупа која е статистички сигнификантна за $p=0,0000$. Сметаме дека редуцираниот одговор на крвање кај пушачи е препишано на гингивалната вазоконстрикција на никотински стимулираниот адреналин и

норадреналин преку $\alpha 1$ -адренергичните рецептори, како и на нарушувањето на имуниот одговор.

11. Губитокот на атачмент кај пушачите е зголемен, при што степенот на губиток зависи од дозата на никотинот кој се внесува со пушењето (бројот на испушени цигари дневно) и покажување на ефектот по многу години.

12. Анализата на васкуларните промени во гингивалното ткиво детектираме редуциран број на крвни садови во испитуваната група. Сметаме дека ваквите промени се должат на присуството на големото количество на колаген кој ги редуцира крвните садови кај пушачите.

13. Од претходно изнесеното може да се заклучи дека е неопходен многу сериозен пристап во третманот на пародонталната болест, кој би вклучувал почести контролни прегледи и посеопфатни инструкции за одржување на оралната хигиена во услови на постоење на предиспонирачки фактор.

14. Охрабрувачки е да се забележат клиничките податоци кои укажуваат на успорување на прогресијата на пародонталната болест кај лицата, кои се откажале од пушењето. Овие докази се моќни мотивирачки фактори за пародонтолозите да го промовираат откажувањето на пушењето во заедницата по пат на советување и мотивирање на процесот на откажување од пушењето кај нивните пациенти, за да на тој начин и пародонталната медицина се вклучи во системот на превенција на системското здравје. Сето тоа е во согласност со препораките на СЗО за користење на глобална

стратегија на заеднички ризик фактори во превенција на поголем број на заболувања, како општи, така и орални заболувања.

8.0.ЛИТЕРАТУРА

1. Baab DA, Qberg PA.

The effect of cigarette smoking on gingival blood flow in humans.

J Clin Periodontol 1987;14:418-424.

2. Baab DA, Oberg T. Therapy.

The effect of cigarette smoking on periodontal healing following surgical therapy.

J Clin Periodontol 1990;17:324-8.

3. Bastian R, Walte I.

Effect of tobacco smoking on plaque development and gingivitis.

J Periodontol 1978;;49:480-5.

4. Benowitz NL.

Pharmacology of nicotine: addiction and therapeutics.

Annu Rev Pharmacol Toxicol 1996;36:597-613.

5. Bergstrom J, Bostrom L.

Tobacco smoking and periodontal hemoragic responsiveness.

J Clin Periodontol 2001;28:680-685.

6. Bergstrom J, Eliassen S.
Noxious effect of cigarette smoking periodontal health.
J Periodont Res 1987;22:513-7
7. Bergstrom J, Perber H
Tobacco use as risk fask factor.
J Periodontol, 1994;65:545-550.
8. Bergstrom J, Preber H.
The influence of cigarette smoking on the devepopunent of experimental gingivitis.
J Periodontol Res 1986;21:668-76.
9. Bernzweig E, Payne JB, Reinhardt RA, Dyer JK, Patil KD.
Nikotine and smokeless tobacco effects on gingival and peripheral blood mononuclear cells.
J Clin Periodontol 1998;25:246-52.
10. Bostrom L, Linder LE, Bergstrom J
Clinical expression of TNF-alfa in smoking-associated periodontal disease.
J Clin Periodontol 1998;25:767-73.
11. Bostrom L, Linder LE, Bergstrom J
Smoking and GCF levels of IL-beta and IL-1ra in periodontal disease.
J Clin Periodontol 2000;27:250-5.
12. Buhlin K., Gustafsson A., Pockley AG., Frostegard J., Klinge B.
Risk factors for cardiovascular disease in patients with periodontitis
Eur Heart J 2003;24:2099-107

13.Calsina G, Ramon J-M, Echeverria JJ.

Effects of smoking on periodontal tissues.

J Clin Periodontol, 2002;29:771-776.

14.Carison LA, Bottiger LE, Ahfeldt PE.

Risk factors for myocardial infarction in the Stockholm prospective study: A 14 year followup on focusing on the role plasma triglycerides and cholesterol.

Acta Med Scand 1979;206:315-60.

15.Cataneo V, Cetta G, Rota C, Vezzoni F, Rota MT, Gallanti A, Borrato R, Poggi P,
Volatile components of cigarette smoke: effect of acrolein and acetaldehyde on human gingival fibroblasts in vitro,

J Periodontol 2000;71:425-432

16.Cutler CW., Shinedling EA., Nunn M., et al.

Association between periodontitis and hyperlipidemia: cause of effect?

J Periodontol 1999;70:1429-1434

17.Cutler CW., Machen RL., Jotwani R., Iacopino AM.

Heightened gingival inflammation and attachment loss in type 2 diabetics with hyperlipidemia.

J Periodontol 1999;70:1313-1321

18.Danielsen B, Manji F, Nagelkerke N, Fejerskov O, Baelum V.

Effect of cigarette smoking on the transition dynamics in experimental gingivitis.

J Clin Periodontol 1990;17:159-64.

19. Elias JA, Gustilo K, Baeder W, Freundlich B.
Synergistic stimulation of fibroblast prostaglandin production by recombinant interleukin-1 and tumor necrosis factor
J Immunol 1987; 138:3812-3816.
20. Emingil G., Buduneli E., Aliyev A., et al.
Association between periodontal disease and acute myocardial infarction.
Periodontol. 2000;71:1182-1186
21. Erdemir Eo, Duran i, Haliloglu S.
Effects of smoking on clinical parameters and the gingival crevicular fluid levels of IL-6 and TNF-alpha in patients with chronic periodontitis.
J Clin Periodontol 2004;31:99-104.
22. Feingold KR., Grunfeld C.
Tumor necrosis factor alpha stimulates hepatic lipogenesis in the rat in vivo
J Clin Invest 1987;80:184-190
23. Feldman RS, Bravacos JS, Rose CL.
Association between smoking diferent tobacco and periodontal disease indexes.
J Periodontol 1983;54:481-8.
24. Fukushima R, Saito H, Taniwaka K.
Different roles of IL-1 and TNF on hemodynamics, amino acid metabolism in dogs.
Am J Physiol 1992;262:275-281.

25. Gemmel E, Marshall R, I, Seymour G. I

Cytokines and prostaglandines in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease.

Periodontology 2000 1997;14:112-43.

26. Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, et al.

Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss.

J Periodontol 1994;65:260-7.

27. Gorska R, Kowalski J, Gregorek H, Madalinski K.

The influence of selected risk factors on the clinical condition of patients with periodontal disease-an evaluation of cytokine level in peripheral blood

Dent Med Probl 2002;39:183-188

28. Haber J, Waters J, Crowley M, Mandell R, Joshipuro K, Kent RL.

Evidence for cigarette smoking as a major risk factor for periodontitis.

J Periodontol 1993;64:16-23.

29. Haffajee AD, Socransky SS.

Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles.

J Clin Periodontol 2000;28:283-295

30. Hanes P, Scbuster G.

Bleeding and release of nicotine by human gingival fibroblasts.

J Periodontol 1991;62:147-52.

31. Hanioka T, Tanaka M, Ojima M, Takaya K, Matsumori Y.

Oxygen sufficiency in the gingiva of smokers and non-smokers with periodontal disease.

J Periodontol 2000;71:1846-1851.

32. Hauner H., Petruschke T., Russ M., Rohring K., Eckel J.
Effects of tumor necrosis factor alpha on glucose transport and lipid metabolism of human fat cells in culture.
Diabetologia 1995;38:764-771
33. Haynes WG., Stanford C.
Periodontal disease and atherosclerosis from dental to arterial plaque.
Arterioscler. Thromb Vasc Biol 2003;23:1309-1311
34. Hesse DG, Tracey KJ, Fong Y.
Cytokine appearance in human endotoxemia and primate bacteremija.
Surg Gyneco Obstet 1988;166:147-153.
35. Hillmann G, Hilmann B, Gartsen W. Immunohistological determination IL1beta in inflamed human gingival epithelium.
Arch Oral Biol 1995;40:353-9.
36. Howell TH., Ridker PM., Ajani UA., Hennekens CH., Cristen WG.
Periodontal disease and risk of subsequent cardiovascular disease in US male physicians.
J Am Coll Cardiol 2001;37:445-450
37. Hujoel PP., Drangshot M., Spiekerman O., DeRouen TA.
Periodontal disease and coronary heart disease risk,
Jama 2000;284:1406-1410
38. Hyman JJ, Winn MD, Reid CB.
The role of cigarette smoking in the association between periodontal disease and coronary heart disease.
J Periodontol, 2002;73:988-994.

39. Iacopino AM, Cutler CW.

Pathophysiological relationships between periodontitis and systemic disease. Recent concepts involving serum lipids

J Periodontol 2000;71:1375-84

40. Johnson GK, Organ CC.

Prostaglandin E2 interleukin 1 concentrations in nicotine-exposed oral keratinocyte cultures.

J Periodontal Res 1997;32:447-54.

41. Johnson GK, Todd GL, Johnson WT, Fung YK, Dubois LM.

Effects of topical and systemic nicotine in gingival blood flow in dogs.

J Dent Res 1991;70:906-909.

42. Jolcson N.

Tobacco and oral disease.

Br Dent J 2000;189:200-6.

43. Katz JM., Flugelman Y., Goldberg A., Heft M.

Association between periodontal pockets and elevated cholesterol and low density lipoprotein cholesterol levels.

J Periodontol 2002;73:494-500

44. Kenney EB, Kraal JH, Saxe SR, Jones J.

The effect of cigarette smoke on human oral polymorphonuclear leukocytes.

J Periodontal Res 1977;12:227-34.

45.Kibaysahi M, Tanaka M, Nishida N, Kuboniwa M.

Longitudinal study of the association between smoking as a periodontitis risk and salivary biomarkers related to periodontitis.

J Periodontol 2007;78: 859-67.

46.Kinane CF, Radvar M.

The effects of smoking on mechanical and antimicrobial therapy

J Periodontol 1997;68:467-472.

47.Kjeldsen M, Holmstrup P, Bendtzen K.

Marfina periodontitis and cytokines; A review of the literature.

Journal of Periodontology 1993;nov: 1013-1022.

48.Koopmans R, Hoek FJ

Model for whole body production of tumor necrosis factor in experimental endotoxemia in healthy subjects.

Clin Sci 1994;87:459-465.

49.Kornman KS.

Genetic variations in cytokine expression. A risk factor for severity of adult periodontitis.

Ann Periodontol 1998; 3:327-338.

50.Kraal JH, Kenney EB.

The response of polymorpho-nuclear leucocytes to chemotactic stimulation for smokers and non-smokers.

J Periodontal Res 1979;14:383-9

51. Loesche W., Karapetov F., Pohl C.

Plasma lipid and blood glucose levels in patients with destructive periodontal disease

J Clin Periodontol 2000;27:537-541

52. MacFarlane GD, Herzberg MC, Wolff LF, Hardie NA.

Refractory periodontitis associated with abnormal polymorphonuclear leukocyte phagocytosis and cigarette smoking.

J Periodontol 1992;63:908-37.

53. Machuca G, Rosales I, Localle JR et al.

Effects of cigarette smoking on periodontal status of healthy young adults.

J Periodontol 2000;71:73-78.

54. Martinez-Canut P, Lotca A, Morgan R.

Smoking and periodontal disease severity.

J Clin Periodontol 1996;22:743-9.

55. Mavropoulos A, Aars H, Brodin P.

Hyperemic response to cigarette smoking in healthy gingival.

J Clin Periodontol 2003;30:214-221.

56. McGuire MK, Nuun ME.

Prognosis versus actual outcome 4. The effectiveness of clinical parameters and IL-1 genotype in accurately predicting prognoses and tooth survival.

J Periodontol 1999;70:49-56.

57. McGure J, McQuade M, Rossmans J.

Cotinine in saliva and gingival cervical fluid of smokers with periodontal disease.

J Periodontol 1989;60:176-8.

58. Meisel P, Timm R, Sawaf H, Siegemund A, Fenghaenel J, Kocher T.

Polymorphisms of the N-acetyltransferase (NAT2), smoking and the potential risk of periodontal disease.

Arch Toxicol 2000; 74:343-348.

59. Meisel P, Siegemund A, Dombrova S et al.

Smoking and polymorphisms of the interleukin-1 cluster (IL-1alpha, IL-1beta and IL-1RN) in patients with periodontal disease.

J Periodontol 2002;73:27-32.

60. Meisel P, Siegemund A, Dombrova S, Sawaf H, Fenghaenel J, Kocher T.

Smoking and polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster (IL-1alpha, IL-1beta, and IL-1RN) in patients with periodontal disease.

J Periodontol 2000; 78:27-32.

61. Meurman J, Sanz M, Janket SJ.

Oral health, atherosclerosis, and cardiovascular disease.

Crit Rev Oral Med 2004;15:403-413.

62. Mindova S.

Parodontopatijata i koronarnata srceva bolest, pri-insko-posledicna vrska ili asocijacija.

Magisterski trud, Skopje, 2007.

63.Mirbod SM, Ahing SI, Pruthi VK.

Immunohistochemical study of vestibular gingival blood vessel density and internal circumference in smokers and non-smokers.

J Periodontol 2001;72:1318-1323.

64.Mooneu I, Hodge PI, Kinane DF.

Humoral immune response in early-onset perodontitis; influence of smoking.

J Periodontal Res 2001; 36: 227-232.

65.Morishita M, Miyagi M, Iwamoto Y.

Effects of sex hormones on production of interleukin-1 by peripheral monocytes.

J Periodontol 1999;70:757-60.

66.Muscat JE, Hariss RE et al.

Cigarette smoking and plasma cholesterol.

Am Heart J 1991;121:141-7.

67.Noble RC, Penny BB.

Comparison of leukocyte count and function in smoking and nonsmoking young men.

Infect Immun 1975;12:550-5.

68.Noguchi K, Endo H, Kondo H, Yotsumoto Y, Nitta H et al.

Involvement of cyclooxygenase 2 in serum-induced prostaglandin production by human oral gingival epithelial cells

J Periodont Res 2001;36:124-130.

69.Ozaki K.S, Hanazava A, Takeshita Y, Chen A et al.

Interleukin 1 beta and tumor necrosis factor-stimulate synergistically the expression of monocyte chemoattractant protein-1 in fibroblastic cells derived from human periodontal ligament.

Oral Microbiol Immunol 1996;11:109-114.

70.Pabst MJ, Pabst KM, Collier Ja et al.

Inhibition of neutrophil and monocyte defensive functions by nicotine.

J Periodontol,1995;66:1047-1055.

71.Pabst MJ, Pabst KM, Collier JA, et al.

Inhibition of neutrophil oxidative burst by in vivo smoke exposure: implications for oral and systemic diseases.

An Periodontol 1998;3:76-

72.Pacifici R,

Estrogen, cytokines, and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis.

J Bone Miner Res 1996;11:1043-51.

73.Palmer RM, Scott DA, Meekin TN, Poston RN, Odell EW, Wilson RF.

Potential mechanisms of susceptibility to periodontitis in tobacco smokers.

J Periodontal Res 1999;34:363-369.

74.Payne JB,Johnson GK, Reinhardt RA, Dyer JK, Maze CA, Dunning DG.

Nicotine effects on PGE2 and IL-1b release by LPS-treated human monocytes.

J Periodontal Res 1996;31:99-104.

75. Payne JB, Johnson GK, Reinhardt RA, Maze CR, Dyer JK, Patil KD
Smokeless tobacco effects on monocyte secretion of PGE2 and IL-1 beta.
J Periodontol 1994;65:937-41
76. Pindborg J.
Statistical examination of the significance of tobacco in the development of
ulceromembranous gingivitis and in the formation of calculus.
J Dent Res 1947;26:261-4.
77. Powell JT.
Vascular damage from smoking: disease mechanisms at the arterial wall.
Vasc Med 1998;3:21-28.
78. Preber H, Bergstrom J.
Effect of cigarette smoking on periodontal healing following surgical therapy.
J Clin Periodonto 1990; 17:324-328.
79. Ramfjord SP.
Indices for prevalence and indices for periodontal disease
J Periodontal 1959;30:51
80. Rezavandi K, Palmer RM, Odell EW, Scott DA, Wilson RF.
Expression of ICAM-1 and E-selectin in gingival tissues of smokers and non-smokers
with periodontitis.
J Oral Pathol Med 2002;31:59-64.
81. Rivera-Hidalgo F.
Smoking and periodontal disease.
Periodontol 2000, 2003;50-58.

82. Ryder MI, Fujitaki R, Johnson G, Hyan W.
Alterations of neutrophil oxidative burst bu in vivo smoke exposure: implications for oral and systemic disease.
Ann Periodontol 1998;3:76-87.
83. Scott DA, Palmer RM, Stapleton JA.
Validation of smoking status in clinical research into inflammatory periodontal disease.
J Clin Periodontol 2001; 28:715-22.
84. Seow WK, Thong YH, Nelson RD, MacFarlane GD, Herzberg MC.
Nicotine-induced release of elastase and eicosanoids by human neutrophils.
Inflammation 1994;18:119-127
85. Stashenko P, Fujiyoshi P, Obernesser MS.
Tissue levels IL-1beta in tissue from sites of active periodontal disease.
J Clin Periodontol 1991; 18:548-554.
86. Takahashi H, Takigawa M, Takashita S.
Role of cytokine in the induction of adhesion molecules on cultured human gingival fibroblasts
J Periodontol 1994; 65:230-5.
87. Tanur E, McQuade MJ, McPherson JC, Al-Hashimi IH, Rivera-Hidalgo F.
Effects of nicotine on the strength of attachment of gingival fibroblast to glass and non-diseased human root surfaces.
J Periodontol 2000;71:717-22.

88. Tappia PS, Troughnon KI, Langley-Evans SC,
Cigarette smoking influences cytokine production and antioxidant defences.
Clin Sci (Colch) 1995;88:485-9.
89. Timmerman MF, van der Wiejden GA.
Risk factors for periodontitis
In J Dent Hyg 2006;4:2-7
90. Tipton DA, Dabbous MK
Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival
fibroblasts in vitro.
J Periodontol 1995;577-97
91. Tonetti MS, Pini-Prato G, Cortellini P.
Effect of cigarette smoking on periodontal health following GTR in infrabony defects. A
preliminary retrospective study.
J Clin Periodontol 1995;22:229-234.
92. Wihelmsen L
Coronary heart disease. Epidemiology of smoking intervention studies of smoking.
Am Heart J 1998;115:242-7.
93. Wilson T.
Effects of smoking on the periodontium.
Quintessence internacional 1998;29:265-6.
94. Wynder EL, Haris et al.
Population screening for plasma cholesterol. Community based results from Connecticut.
Am Heart J 1989;117:649-56.

95. Zambon J, Grossi S, Machte E.

Cigarette smoking increases the risk for subgingival infection with periodontal pathogens.

J Periodontol 1996;67:1050-4.

96. Zimmerman M, Mc Geachie J.

The effect of nicotine on aortic endothelial cell turnover.

Atherosclerosis 1985;58:39-47.