

Универзитет "Св. Кирил и Методиј"
Стоматолошки факултет
Клиника за болести на устата и пародонтот
Скопје

Снежана Пешевска

ПРИМЕНА НА ЛАСЕР-ТЕРАПИЈАТА
ВО ТРЕТМАНОТ НА
ПАРОДОНТАЛНАТА БОЛЕСТ

докторска дисертација

Скопје, 2007 година

Ментор:

Проф. д-р Марија Накова

Членови на комисија:

Проф. д-р Вангел Димитровски

Проф. д-р Златанка Белазелкоска

Проф. д-р Ана Миновска

Проф. д-р Ицко Ѓоргоски

Проф. д-р Марија Накова

Дата на одбрана:

Дата на промоција:

СТОМАТОЛОШКИ НАУКИ - БОЛЕСТИ НА УСТАТА И ПАРОДОНТОТ

Искрена благодарнос̄ӣ

на менѣорой̄ ѿроф. д-р Марија Накова
ѿроф. д-р Ицко Ѓорѓоски

АПСТРАКТ

СНЕЖАНА ПЕШЕВСКА

ПРИМЕНА НА ЛАСЕР-ТЕРАПИЈАТА ВО ТРЕТМАНОТ НА ПАРОДОНТАЛНАТА БОЛЕСТ

АПСТРАКТ

Современата клиничка пародонтологија како базична цел ја детерминира профилаксата и лекувањето на заболувањата на пародонталниот комплекс. Респектирајќи го доктринарниот став за партиципацијата на инфламаторните медијатори (ПГЕ2, ТНФ- α и СОХ-2) во патогенетските збиднувања при пародонталната болест, едновременно имајќи го во предвид доминантното влијание на ласерската монохроматска кохерентна светлина врз инфламацијата, ја поставивме целта на истражувањето: да се проследи ткивната динамика на индикативните инфламаторни маркери ПГЕ2, ТНФ- α и СОХ-2 при пародонталната болест, да се детектира ефикасноста на применетите терапевски процедури и преку следење на клиничките индекси (ИДП, ИГИ, ИГК), да се верифицира антиинфламаторното влијание на ласерското светло во патогенетските збиднувања во пародонтот и да се детектира ефикасноста на применетата ласер терапија. Реализацијата на оваа цел беше извршена со проследување на 20 здрави испитаници во контролната и испитуваната група од 60 пациенти со дијагностицирана хронична генерализирана пародонтопатија (класифицирана според ААП од 1999 година), со губиток на атачмент од 3-4 mm, кај кои беа проследени пред и посттерапевските вредности на зацртаните параметри.

Динамичните измени во нивото на ПГЕ2 и ТНФ- α во гингивалното ткиво во посттерапевскиот период во испитуваните групи нотираат статистичка сигнификантност за $p=0,000000$, верификувајќи ја успешноста на применетите терапевски постапки кои резултираат со намалување на активноста на деструктивната фаза на сврзоткивното моделирање.

Доминантната ефикасност на класичната терапија дополнета со 10 ласерски постапки евидентирана со пад на нивото на ПГЕ2 и ТНФ- α до вредности блиски до оние кај контролната група се должи на мултипното ласерско дејство во пародонталниот комплекс, но пред сè на инхибицијата на ПГЕ2 продукцијата, што се реперкуира во стабилизирањето на ткивата во вака кус временски период. Значајната елевација на нивото на просечна вредност на генската експресија на СОХ-2 во групата пред терапија сугерира дека еден од механизмите на хроничната пародонтална инфламација *in vivo* може да биде синтезата на СОХ-2 од резидентните клетки во одговор на бактерискиот предизвик. Посттерапевското намалување на нивото на генската експресија на СОХ-2 во испитуваните групи е статистички сигнификантно за $p=0,001651$, при што во групата каде класичната терапија е надополнета со 10 ласерски постапки, просечната вредност на СОХ-2 генската експресија е извонредно блиска до вредноста на контролната група, а е рефлексивна на ласерското делување на целуларно ниво. Ефикасноста на применетите терапевски постапки преку нотирање на клиничките индекси за детекција на кондицијата на пародонталните ткива, евидентира статистичка

сигнификантност $p=0,000000$ за ИДП, статистичка сигнификантност $p=0,072$ за ИГИ, како и статистичка сигнификантност $p=0,0371$ за ИГК во групите третирани дополнително со ласер (5 и 10 постапки) во однос на групата пред терапија и онаа третирана со класична постапка. Сепак, доминантната супресија на инфламаторната реакција, активацијата на сите позитивни контролни механизми, акцелерираната регенерација и репарација и имуномодулаторното дејство се причини класичниот протокол надополнет со 10 континуирани ласер-тераписки постапки, со кои се започнува веднаш по отстранувањето на меките и цврсти наслаги да го сметаме за терапија на избор која ќе овозможи извонредно клиничко кондиционирање и стабилизирање на пародонталниот комплекс што ќе причини пролонгирано одржување на вака постигнатите резултати.

КЛУЧНИ ЗБОРОВИ: пародонтопатија, ПГЕ2, TNF- α , COX-2, ласер-терапија

SNEZANA PESEVSKA

LASER THERAPY IN THE TREATMENT OF PERIODONTAL DISEASE

ABSTRACT

At the present time clinical periodontology determine as basic goal prophylaxis and therapy of diseases of periodontal complex. Respecting doctrinaire knowledge about participation of inflammatory mediators (PGE2, TNF- α and COX-2) in pathogenesis of periodontal disease, at the same time being awareness about dominant influence of laser monochromatic, coherent light we determine the aim of our study: to verify tissue dynamic of indicative inflammatory markers PGE2, TNF- α and COX-2 in periodontal disease, to detect efficiency of therapeutic procedures following values of clinical indices (IDP, IGI, IGB), to verify anti-inflammatory effect of laser light in pathogenetic events in periodontal complex and to detect low level laser therapy effects. For this purpose we examined 20 healthy persons in control and 60 patients with chronic generalized periodontitis (classified according AAP from 1999 year), with loss of attachment 3-4 mm, and measured initial and post therapeutic values of determined parameters in gingival tissue specimens. Dynamic post-therapeutic changes in the PGE2 and TNF- α level noted statistical significance for $p=0,000000$ and verify the efficiency of used therapeutic modalities that resulted in decrease of destructive phase activity in connective tissue modeling.

Dominant positive effect of classic therapy supplemented with 10 laser procedures, evidenced by depression of PGE2 and TNF- α level to values near the values in control group is result of multiple laser effects in periodontal complex, but dominantly due to inhibition of PGE2 production that is reflected in stabilization of tissues at this short time period. Significant elevation in mean level of COX-2 gene expression in the group before therapy suggested that one of the chronic periodontal inflammation mechanisms in vivo might be the synthesis of COX-2 from resident cells in answer of bacterial challenge. Post therapeutic decrease in level of COX-2 gene expression in examined groups is statistically significant, $p=0,001651$ and in the group where classic therapy was combined with 10 laser procedures, mean level of COX-2 gene expression is very close to the level in control group and represents reflection of laser effects on cellular level. Evaluation of the various therapeutic modalities efficiency by noting clinical indices for detection of periodontal tissue condition, evident statistical significance $p=0,000000$ for IDP, statistical significance $p=0,072$ for IGI, and statistical significance $p=0,0371$ for IGB in the groups treated with laser (5 and 10 procedures) compared to group before therapy and the group treated only with classical therapy. Dominant suppression of inflammatory reaction, activation of all positive control mechanisms, accelerated regeneration and reparation and immunomodulation are reasons classical therapy supplemented with 10 laser procedures that started immediately after elimination of plaque and calculus to define as therapy of choice that will allow best clinical conditioning and stabilization of periodontal complex that will be the reason for prolonged maintaining of the therapy results.

KEY WORDS: periodontitis, PGE2, TNF- α , COX-2, low level laser therapy

СОДРЖИНА

1.0. ВОВЕД	1
2.0. ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД.....	7
3.0. ЦЕЛ НА ТРУДОТ	18
4.0. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД.....	20
5.0. РЕЗУЛТАТИ	34
6.0. ДИСКУСИЈА.....	62
7.0. ЗАКЛУЧОЦИ	85
8.0. ЛИТЕРАТУРА	90

1.0. ВОВЕД

Пародонталната болест е мултифакторна по својата природа, во однос на потенцијалните етиолошки фактори и модификатори на ефектот, при што инволвира комплексност од меѓусебно условени случувања кои го индуцираат инфламаторниот и имунолошкиот реактивитет. Промената на домаќиновиот одговор во согласност со постојаниот бактериски предизвик, ги прекинува хомеостатските механизми. Разградбата на гингивалниот екстрацелуларен матрикс во тек на пародонталната болест, укажува на *in situ* продукцијата на ензими, активатори и регулаторни молекули како што се цитокините од резидентните и од инфламаторните клетки.

Простагландините се силни регулатори на коскената структурираност и динамика во одговор на механичките барања и хуморалните медијатори и тие се регулирани со механичките сили, хормоните, цитокините, факторите на раст, меѓу другото и преку измени во циклооксигеназите (COX). Истражувањата на фармакодинамиката на метаболитите на арахидонската киселина, го потврдуваат нивното присуство во здравите пародонтални ткива и зголемувањето на овие медијатори во заболените пародонтални ткива и во гингивалниот флуид (66, 21, 63, 27). Зголемените нивоа на ПГЕ2 продуцирани од гингивалните фибробласти или макрофаги партиципираат во имунорегулаторната улога

со алтерирање на профилот на цитокинските и профилот на имуноглобулинските изотипови во инфламираното пародонтално ткиво. Притоа, улогата на ПГЕ2 е окаректиризирана како плејотропна бидејќи има стимулаторни и инхибиторни можности.

Детекцијата на нивоата на простагландините во ткивниот супстрат е индикативен маркер на пародонталното заболување, но и на неговата активност, како и на терапискиот успех (50, 62).

Слободната арахидонска киселина добиена од плазмено мембранските фосфолипиди со ензимот фосфолипаза- α 2 може да биде метаболирана преку циклооксигеназниот или липооксигеназниот ензимски пат. Циклооксигеназните метаболити (простагландини, простациклини и тромобоксан) се посочени како главни катаболични медијатори во пародонталните заболувања

COX-2 е индуктивен ензим одговорен за ПГЕ2 синтезата во инфламираните предели. Таа е инволвирана во инфламацијата, клеточната диференцијација и митогенеза. *In vitro* и *in vivo* студиите докажуваат дека фибробластите, ендотелните клетки и моноцитите продуцираат простагландини преку COX-2 во одговор на инфламаторните цитокински и бактериски конституенси, при што COX-2 е детектирана во инфламираното гингивално ткиво при пародонтопатија (56).

Секрецијата на цитокини инволвирани во клеточно посредувани инфламаторни реакции е есенцијална за отстранување на патогените од домаќинот, но доколку цитокините не се регулирани во соодветен момент на инфекцијата доаѓа до патолошки случувања. Хуманите гингивални фибробласти може да бидат вклучени во цитокинската мрежа и овие клетки може да партиципираат во оркестрација на домаќиновите одбрамбени клетки во инфламираната гингива.

Проинфламаторниот цитокин TNF- α се одделува од активираните макрофаги, но и од други клетки и има широк спектар на биолошки

дејства врз различни имуни и неимуни таргетни клетки. Тој е важен воспалителен медијатор кој ја засилува леукоцитната хемотактична респонсивност, дегранулацијата, способноста за убивање и атерентноста на леукоцитите кон површините на ендотелните клетки.

Оралните мукозни маст клетки содржат ТНФ- α во гранулите, кој перманентно синтетизиран и либериран од овие клетки може да биде важен фактор во одржувањето на хроничитетот на инфламацијата.

Овој ран медијатор на инфламацијата и имуноста е и стимулатор на ослободувањето на ПГЕ2 и колагеназата, како и коскената ресорпција, а е детектиран во зголемен квантум во гингивата при пародонталната болест, со динамична флукуација во посттерапевскиот период (94).

Базирајќи се на познавањето на патогенетските случувања кои го условуваат и овозможуваат пародонтално деструктивниот процес, применувањето на соодветни терапевски постапки во лекувањето на ова заболување има за цел запирање на инфламаторно деструктивните измени во пародонтот, реставрирање на функционалниот интегритет, па донекаде и анатомско реконтурирање на потпорниот комплекс.

Основна терапевска детерминанта на конвенционалната терапевска постапка е максимално елиминирање или супресија на пародонтопатогените микроорганизми, контрола на нивната експанзија и оневозможување на рапиден плаков раст, како и редефинирање на коренските површини, ослободувајќи ги од субгингивалното некротично ткиво и минерализираните депозити, овозможувајќи побрза ремоделација на пародонталниот комплекс. Нехируршкиот механички пародонтален третман е камен темелник на пародонталната терапија и прв препорачан пристап на контрола на пародонталната болест(8).

Сепак, тенденцијата за унапредување на терапевскиот протокол овозможи дополнување на класичната терапевска постапка со нови приоди, како и

физикални постапки, особено акцентирајќи ја примената на ласерската технологија во пародонтологијата.

Апликацијата на монохроматското кохерентно ласерско светло при третманот на пародонталната болест е бенефит поради неговото комплексно, антиинфламаторно и имуномодулаторно влијание. Нискоинтензивната ласер-терапија има комплексен сет од физиолошки интеракции на клеточно ниво со кои го остварува своето поливалентно дејство. Механизмот на фотобиомодулацијата со светло блиско до црвениот или инфрацрвениот спектрален опсег на клеточно ниво е припишан на активацијата на митохондријалните респираторно верижни компоненти, резултирајќи во иницијација на сигналната каскада која ја започнува клеточната пролиферација и комплексната цитопротекција.

Во *in vitro* и *in vivo* студии е детектирана зголемената пролиферативна фибробластна активност, но и забрзано коскено формирање (90).

Едновремено е забележана акцентирана пролиферативна активност на клетките на коскено образувачкиот мезенхим, колагените и еластични влакна, како и на другите ткива кои учествуваат во регенерацијата (71). Ласерската терапија елиминира многу мултифакторни патогени ефекти, елиминирајќи ја инфламацијата во пародонтално ткивниот комплекс, нормализирајќи ја микроциркулацијата во истиот, фаворизирајќи го оздравувањето, но и намалувајќи ја можноста за егзацербација (48).

Антиинфламаторниот ефект во еден дел се должи на простагландинската инхибиција (9, 86).

Sakurai et al.(77), наоѓаат дека количеството ПГЕ2 е сигнификантно намалено по ласер-терапијата. Ласерот редуцирајќи го и нивото на COX-2 mRNA, ја инхибира и ПГЕ2 синтезата.

Активната вазодилатација, засилената фибринолиза и циркулаторна динамика предизвикуваат порана и посовршена

диференцијација на ткивата преку акцелерирање на сите процеси што придонесува за покомплексна и поуспешна консолидација.

Вака широкиот спектар на позитивни рефлексии во пародонталниот комплекс, остварени со ласер-терапијата, претставува предизвик за апликација на овој модалитет во современата терапија на пародонталната болест.

2.0. ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД

Патогенетските случувања во тек на пародонталната болест во интегралниот систем на пародонтот ја нарушуваат неговата адаптивност, условуваат след од сложени биохемиски процеси кои ја менуваат неговата метаболна активност, репараторно регенерациска моќ и протективната улога на имуниот систем.

Доктринарен научен став е дека инфламацијата е доминантен патогенетски механизам при пародонтопатијата, па оттука проучувањето на ткивната динамика на индикативните инфламаторни маркери ПГЕ2, TNF- α и COX-2, е од интерес за верификување на активноста на заболувањето, но и на тераписката успешност.

Бактериското липополисахаридно продирање во гингивалното ткиво во комбинација со хроничниот инфламаторен одговор може да ја потенцира простагландинската секреција од гингивалните фибробласти, на тој начин условувајќи ткивна деструкција поврзана со адултна пародонтопатија. Овој инфламаторен медијатор при пародонтална болест верификуван од многумина (52, 80), причинува вазодилатација, ја зголемува васкуларната пермеабилност, ја акцентира продукцијата на болката со помош на брадикинин и хистамин, влијае на сврзоткивниот метаболизам и ја засилува остеокластната коскена ресорпција. Мононуклеарните клетки, фибробластите, остеобластите може да бидат

стимулирани од интерлеукин-1 и ТНФ- α и да условат ослободување на ПГЕ2. Така Offenbacher et al.(60) потврдуваат дека сопствено продуцираниот ПГЕ2 посредува во ткивната деструкција на пародонталната болест.

При пародонталната болест одговорот на коската кон продуцираните од воспалителниот процес локални фактори, води до промена на балансот на коскено то ремоделирање со последична коскена ресорпција и загуба на атачментот.

Простагландините се бавно дејствувачки, но силни медијатори на коскена ресорпција и влијаат на активните зрели остеокласти, но и на диференцираните остеокластни прекурсори.

Најверојатно најважната улога на ПГЕ2 во пародонталната ткивна деструкција не е само неговата улога во коскена ресорпција, туку во неговиот капацитет да влијае на ИЛ-1 и ТНФ- α , но и на матриксните металлопротеинази, па така да го контролира редот на процесите кои ги иницираат и овозможуваат тие. Јасно е дека ткивните нивоа на ПГЕ2 се зголемени при пародонталната болест во споредба со здрав пародонтален комплекс (65), а има докази дека активната загуба на атачментот е следена со повисоки нивоа на овој маркер. Уште повеќе различните форми на пародонтопатијата имаат различни нивоа на ПГЕ2 кои се паралелни со клиничката јачина на болеста (60, 81).

Новите видувања за механизмите кои ја регулираат ПГЕ2 синтезата даваат поинаков поглед на пародонталната болест, при што се нагласува домаќиновиот одговор повеќе од бактериската етиологија како основна детерминанта на експресија на болеста. Всушност простагландините имаат важна улога како негативен регулатор во метаболизмот на гингивата со супресија на функциите на фибробластите. Посттераписката флукуација во нивоата на овој медијатор, која

корелира со пародонталниот статус верификуван со клиничките индекси е детектирана во студиите на многумина (41, 87).

Создавањето на простагландини од арахидонската киселина е доминантно катаболизирано од циклооксигеназа-2 на местото на инфламацијата. Инфламаторните цитокини и бактериските конституенси се одговорни за засилена COX-2 експресија и простагландинска синтеза *in vivo*. COX-2 е изоформа инволвирана во инфламација и болка, а во склад со *in vivo* и *in vitro* испитувањата, заклучено е дека мирните гингивални фибробласти и здравото гингивално ткиво немаат или имаат многу мали нивоа на COX-2 (18), додека стимулираните гингивални фибробласти и инфламирани гингивални ткива имаат зголемени нивоа на овој ензим (81). Затоа еден од патогенетските механизми на хроничната пародонтална инфламација *in vivo* може да е синтеза на COX-2 од постојаните клетки во одговор на бактерискиот предизвик.

Хуманите моноцити, ендотелните клетки индуцираат појава на COX-2 во одговор на липополисахаридите. Елевирани нивоа на COX-2 во инфламирано пародонтално ткиво, играат значајна улога во создавањето на повисоки нивоа ПГЕ2 локално, што резултира во пародонтално ткивна деструкција (47, 56). Овој ензим е инволвиран во остеокластното формирање од ИЛ-1 β , што се реперкуира со коскена ресорпција. Рефлексијата на успешната пародонтална терапија се огледа и во депресирањето на нивото на овој значаен чинител како што верифицира литературата (91).

Веројатно е дека COX-2 игра стожерна улога во ПГЕ2 продукцијата во пародонталните лезии, па оттука стратегиите кои ја експлоатираат можноста за примена на терапевските опции на селективната COX-2 инхибиција се извонреден потенцијал за третман на пародонталната болест.

Активацијата на неутрофилната гранулоцитна популација го детерминира ослободувањето на проинфламаторните цитокини ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ТНФ- α , ИЛ-6 и хемоатрактантните цитокини ИЛ-8, МИП-1.

ИЛ-1 α и ТНФ- α се структурно и имунолошки различни молекули кои делат сличности во репертоарот на биолошките активности. Тие делуваат како рани медијатори на инфламацијата и имуноста, обата ја стимулираат ПГЕ2 и продукцијата на колагеназата од фибробластите, како и коскената и ресорпција (42).

Всушност цитокините ослободени во акутната фаза на инфламаторниот процес од пародонталната болест дејствуваат прогресивно и ефектите стануваат кумулативни. Проинфламаторните цитокини ги активираат ефекторните функции на фагоцитите од инфламаторниот инфилтрат и така се одговорни за деструктивните пародонтални лезии (64).

ТНФ- α стимулира бројни случувања при пародонталната болест индуцирајќи адхезивни молекули и други медијатори кои го олеснуваат и зголемуваат инфламаторниот одговор, стимулирајќи ги матриксните металопроотеинази и коскената ресорпција. Тој е главен посредник на ендотелната активација, хемотаксијата на макрофагите и неутрофилите, активацијата на лангерханс клетките и инхибицијата на епителната клеточна пролиферација. Затоа хроничната синтеза и ослободување на ТНФ- α од маст клетките може да биде важен фактор во промовирање на хроничитетот на инфламацијата.

За зголемена експресија на овој маркер во гингивалното ткиво при пародонталната болест известуваат и Ejeil et al.(20), уште еднаш потврдувајќи ја партиципацијата на истиот во ткивната деградација, поради фактот дека неговата концентрација е сигнификантно помала во клинички здрава гингива (81). ТНФ- α со регулирање на клеточните функции на клетките од периодонталниот лигамент може да овозможи

овие клетки да партиципираат во процесот на заболувањето како акцесорни имуни клетки поради трошењето на нивните структурни можности (74).

Синергистичките интеракции меѓу цитокините играат важна улога во одржување на коскената клеточна активност во нормални и патолошки состојби на ткивата. Ова сознание се потврдува и со фактот дека и екстремно ниски концентрации на ИЛ-1 и ТНФ- α синергистички го зголемуваат остеокластното формирање во отсуство на други фактори.

Овие два медијатора го стимулираат создавањето на ПГЕ2 и тоа преку зголемување на COX-2mRNA нивото (100). Соодветното и ефикасно справување на инфламацијата по пародонталната терапија се рефлектира и со редуцирање на ТНФ- α нивото (29).

Темелното отстранување на бактериските депозити од супра и субгингивалната околина е главна цел на пародонталната терапија.

Пред било каков пародонтален третман есенцијално е терапевтите да ги земат во предвид сите фактори кои влијаат на терапевските цели и да го направат вистинскиот избор на терапевските постапки.

Класичната (нехируршка) пародонтална терапија напредна во тек на годините и сè уште се смета за "златен стандард" со кој другите терапевски методи се споредуваат.

Многу клинички истражувања направени во минатите неколку декади ја потврдиле ефикасноста на овој приод во третманот на пародонталните заболувања (5,6,7).

Базичната цел насочена кон реализација на оптимално пародонтално здравје и пролонгиран терапевски ефект кај ова хронично прогресивно заболување, на пародонтолозите секако дека им ја наметнува обврската за експлоатирање на новите можности кои ги пружа и современата ласерска технологија.

Пред една деценија ласер-терапијата беше апсолутен новитет во македонската стоматологија, помалку футуристички, секако ветувачки, но сеуште контроверзен. Денес таа е стандардна терапевска стоматолошка постапка, со јасно дефинирани индикации и контраиндикации, која повеќе нема епитет на експериментална медицинска процедура. Ова го потврдува и светскиот тренд на акцептирање на овој модалитет како рутинска постапка, па така Јапонија уште од 1987 год, Норвешка од 2001 и САД од 2002 год. го воведуваат во својата медицинска легислатива.

Причина за широкото применување не се само богатите и позитивни клинички искуства, туку уште повеќе научно верификуваните објективни измени причинети од ласерот во ткивниот еквилибриум и над сè расветлувањето на механизмите на дејство на ласер-терапијата.

Сублимираните суптилни сознанија за механизмите на дејство на ласер-терапијата ни овозможуваат да ги поделиме на примарни и секундарни механизми на дејство.

Примарните механизми се поврзани со интеракцијата помеѓу фотоните и молекулите во ткивото, додека секундарните механизми се однесуваат на ефектите од хемиските измени условени од примарните ефекти (89). По дифузното распростирање на ласерско светло во ткивото, доаѓа до апсорпција на поларизираното светло во цитохромните молекули-порфирини, до создавање на диполен момент на мембранските липиди и конечно, до создавање на температурни и притисочни градиенти низ клеточната мембрана.

Создадениот насцентен кислород е "слободен радикал" кој сам по себе влијае на создавањето на АТФ, кој го чини клеточното гориво и енергетско депо. Едновремено, афектираната пермеабилност на клеточната мембрана влијае на Са, На, К, како и на протонскиот градиент во мембраната на митохондриите.

Токму ова дејство врз оксидативните процеси условува бројни секундарни одговори, па како резултат од ова мултипно и меѓусебно условено дејствување на биостимулирачкиот ласер се забрзува епителизацијата, се акцелерира инфламаторниот процес, но и се рефлектира на перцепирањето на болката доминантно редуцирајќи ја.

Клиничко експерименталните искуства потврдуваат дека ласер-терапијата ги покажува најголемите ефекти врз клетките/ткивата/органите, афектирани со генерално нарушена состојба, со пониско рН од нормалното.

Фактот дека биостимулирачки дози, посочени во литературата се од 0.001 J/cm^2 до 10 J/cm^2 , а цитотооксичните ефекти се појавуваат над 240 J/cm^2 , како и верификуваната сигурност дека нема макроскопски и микроскопски оштетувања на ткивото, при примена на препорачаните дози, говори за безбедноста на биостимулирачките ласери(89).

Стоматолошката ласер-терапија се применува над 30 години, при што повеќе од 90% од достапната литература известува за позитивни ефекти. Понекогаш таа ќе биде дел од терапијата, а понекогаш единствен применет метод. Генерално, 80% од пациентите реагираат позитивно на ласер-терапијата. Накова и сор.(49) констатираат видно редуцирање на гингивалната инфламација, што се должи на антиинфламаторниот, антиедематозниот ласерски ефект, како и на јакнењето на хуморалниот и целуларниот имунитет и забрзување на репараторно-регенераторната способност. Интересен е фактот дека дури и во терапијата на *Gingivitis desquamativa* (26), по примена на ласер се добиени извонредни резултати, при што доминантно е рапидното епителизирање како и ослободувањето од субјективната симптоматологија. Нашите (67) клинички испитувања за влијанието на ласер-терапијата кај иницијалната пародонтална афекција, укажуваат на далеку подобро клиничко кондиционирање, кое е објективизирано и со

засилување на локалните имунолошки реакции и намалување на нивото на саливарната еластаза.

Апликацијата на ласерската терапевска постапка ја супримира инфламацијата и ги коригира локалните одбрамбени фактори со акцелерирање на сите фази на инфламаторниот процес, како и со стимулирачките ефекти на макрофагоцитниот систем во циркулацијата. Istomin et all.(31) нотираат редукција на инфламаторната реакција за 20-30%, при експериментално продуцирана инфламација и редукција на едемот. Додека Iwase et all.(32) го верифицираат инхибиторното дејство на ласерот на плак акумулацијата во експериментални услови, други истражувачи (4, 95) тврдат дека тој има нагласено антиминобно дејство со што не се согласува Zimmerman (102).

Фаворизираната циркулаторна динамика причинета од ласерската терапија на гингивитот е во насока на намалување на едемот, подобро создавање коагулум, побрза коскена регенерација, засилена ангиогенеза како што известува литературата (92). Оправданоста на апликацијата на ласерот во третманот на пародонталната болест е и поради сознанијата дека при ласер-терапија на пародонталната болест е намалена епителната пролиферација и инфламацијата, остеокластната активност, а е засилена колагенската синтеза и пролиферацијата на капиларите. Активирајќи ги и неспецифичните хуморални протективни механизми, засилувајќи ја фагоцитната моќ на микро и макрофагоцитите, стимулирајќи ја Б лозата, ласерот ги фаворизира адаптациско заштитните реакции, кои го ограничуваат и елиминираат воспалителниот процес во далеку пократок временски период.

Клиничко експерименталните студии го акцентираат стимулирачкото дејство на монохроматското кохерентно ласерско светло во процесите на коскена регенерација како и регенерацијата на сврзното, епителното и нервното ткиво. Активната вазодилатација, засилената

фибринолиза и циркулација причинети од дејството на ласерот се и хистолошки верификувани, а тие услови создаваат побрзо создавање на коскено ткиво со густа мрежа трабекули (85).

Лабораториските експерименти докажуваат дека тој има нагласени ефекти на пролиферацијата, диференцијацијата на остеобластните клетки, што *in vivo* се рефлектира во зголемено коскено формирање (90), што ќе услови коскена ремоделација (25). Ласер-терапијата се реперкуира во акцентирана фибробластна пролиферација (68). Конечно, антиинфламаторниот ефект на ласерот во дел се должи и на инхибицијата на ПГЕ2 синтезата (86).

Наодите на Mester (44) сугерираат дека инхибиторниот ефект на ласерот врз ПГЕ2 продукцијата е антиинфламаторното дејство кое се случува *in vivo*.

Ласерот сигнификантно го инхибира ПГЕ2 продуцирањето кое е стимулирано со липополисахаридите во фибробластните клетки, преку редукција на COX-2 генската експресија. Shimizu et al.(79) детектираат сигнификантно инхибирање на порастот на ПГЕ2 со ласерот, кое е зависно од дозата. Ласерот ги блокира цикло и липооксигензите и влијае на синтезата на простагландините и простаглицлините. Акцентираното создавање на липидни пероксиди поради ласерското дејство е причина за инхибиција на синтезата на простагландините. За инхибиторен ефект на ласерот врз нивото на IL-1 β mRNA нивото, но не и на нивото на конвертирачкиот ензим известуваат Nomura et al.(59), а DeCarvalho et al.(15) укажуваат на ласерски индуцираната инхибиција на COX-2 во анимален модел.

Walsh (93) потврдува дека по ласер-терапијата доаѓа до пад на вредностите на сите мерени пародонтални клинички индексни вредности, што е следено и со објективни измени.

Желбата за добро пародонтално здравје и пролонгиран тераписки ефект кај ова хронично прогресивно заболување на пародонтолозите им ја наметнува обврската за експлоатирање на новите можности кои ги пружа современата ласерска технологија.

3.0. ЦЕЛ НА ТРУДОТ

Респектирајќи го доктринарниот став за партиципацијата на инфламаторните медијатори (ПГЕ2, ТНФ- α и СОХ-2) во патогенетските збиднувања при пародонталната болест, едновремено имајќи го во предвид доминантното влијание на ласерската монохроматска кохерентна светлина врз инфламацијата, преку фаворизираната циркулаторна динамика и акцелерирањето на сите фази на инфламаторниот процес, како и активацијата на регенераторно репараторните процеси во ткивниот супстрат ја поставивме и целта на овој труд:

да се проследи ткивната динамика на индикативните инфламаторни маркери ПГЕ2, ТНФ- α и СОХ-2, при пародонталната болест, да се детектира ефикасноста на тераписките процедури во третманот на пародонталната болест преку следење на ткивните концентрации на посочените маркери, пред и посттераписки, да се верифицира антиинфламаторното влијание на ласерското светло во патогенетските збиднувања во интегралниот систем на пародонтот и да се детектира ефикасноста на применетата ласер-терапија.

4.0. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

За реализација на поставената цел на Клиниката за болести на устата и пародонтот беше формирана испитувана група (60) сочинета од пациенти со дијагностицирана хронична генерализирана пародонтопатија (класифицирана според ААП од 1999 година), со губиток на атачмент од 3-4 mm и возрасна граница од 20 до 40 години. Дијагнозата беше дефинирана врз база на анамнестичките сознанија, клиничкиот преглед и РТГ наодот. Особено внимание во анамнестичкото проследување беше посветено за добивање темелни податоци за верификација на отсуство на било какво системско заболување.

Контролната група ја сочинуваа здрави испитаници без пародонтална болест.

Кај испитаниците од испитуваната група по извршениот клинички преглед, беа нотирани индексните вредности на дентален плак по Silness-Loe (ИДП), гингивална инфламација по Loe-Silness (ИГИ) и на гингивално крвање по Cowell (ИГК). Во исто време беше земен и биоптичен исечок од гингивата.

Биоптичните исечоци од гингивалното ткиво (интердентална папила) беа земани во асептични услови со инфилтративна анестезија. Земениот материјал веднаш беше ставан во стерилни кивети, а потоа веднаш замрзнуван во течен азот на -70°C . На местото на извршената биопсија

беше направена хемостаза и аплициран протективен завој во наредните 2 часа, а пациентите утредента беа контролирани.

Кај сите испитаници од испитуваната група беше направен класичен пародонтален третман, кој се состоеше од чистење на меки и тврди забни наслаги, киретажа на пародонтални џебови сè до максимално елиминирање на патолошката содржина и смирување на инфламацијата до комплетна санација.

Оваа група беше поделена на 3 подгрупи.

Првата подгрупа беше сочинета од 20 испитаници кај кои класичната терапевска постапка не беше дополнета со друг терапевски модалитет.

Кај втората подгрупа од 20 испитаници класичниот терапевски модалитет беше надополнет со ласер-терапија во времетраење од 5 континуирани терапевски процедури, а започнуваше по отстранувањето на меките и цврстите забни наслаги.

Еквивалентната класична терапевска постапка беше надополнета со континуирана ласер-терапија, со која се отпочнуваше по елиминацијата на меките и цврстите наслаги, во времетраење од 10 континуирани терапевски процедури, кај третата подгрупа од 20 испитаници.

Ласер терапијата беше изведувана со Скорпион-СМ на Оптико ласер - Софија, во континуирани терапевски постапки на пародонталното ткиво. Ласерското светло, генерирано од овој апарат е со бранова должина 630 до 650 nm, со моќност од 25 mW. Експонираноста беше со густина на енергијата од 30 до 100 mW/cm², во времетраење од 2 минути по поле, кое беше детерминирано со еден виличен квадрант од вестибуларна/орална страна, со вкупно времетраење од 16 минути.

По завршената терапија кај сите испитаници беа следени ИДП, ИГИ, ИГК, а беа земани и гингивално биоптични исечоци непосредно по завршувањето на терапијата, за верифицирање на ефикасноста на терапевските модалитети сочинети од класична постапка, како и класична

терапија надополнета со современа физикална процедура - ласерско монохроматско кохерентно светло.

Контролната група беше сочинета од здрави испитаници без пародонтална болест, кај кои беа верификувани истите индекси. Гингивалното ткиво кај овие испитаници беше земено во тек на постапката на екстракција индицирана од ортодонтска кауза.

Кај двете групи (контролна и испитувана) во биоптичниот материјал беше верификувано квантитативното присуство на простагландин E2 (ПГЕ2), тумор некротичен фактор α (ТНФ- α), а беше одредувано и нивото на експресијата на генот за циклооксигеназа-2 (COX-2) определен со релативна реверзно-транскриптазна полимеразна верижна реакција (RT-PCR) во ткивните примероци, на Институтот за биологија при Природно-математичкиот факултет во Скопје.

Хомогенизација на ткивните исечоци

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



Сл. 1 Хомогенизатор

Метода за детекција на ПГЕ2

ПГЕ2 EIA е 4 часовна компетитивна ензимска имунометода за квантитативно одредување на ПГЕ2 концентрациите во супернатанти на клеточните култури, салива, урина, серум и плазма.

ПГЕ2 кој беше присутен во примероците или стандардите се натпреваруваше со фиксната количина на ПГЕ2 коњугиран за алкална фосфатаза за ограничен број на врзувачки места на моноклоналното анти-ПГЕ2 антитело.

Во тек на првата инкубација, антиген-антитело комплексот се врзуваше за анти-гљувчешко ИгГ антитело-со кое беше прекриена мултивел плочата. Прекумерниот коњугат и неврзаниот примерок беа промивани и се додаваше супстрат.

Во тек на втората инкубација врзаниот ензим реагираше со супстратот.

Ензимската реакција се стопираше и се читаше абсорбентноста на 405 nm. Интензитетот на жолтата боја беше обратно пропорционален на концентрацијата на ПГЕ2 во стандардите или примероците. Концентрацијата се пресметуваше врз база на оптичкото читање на стандардните раствори.

Посийајка

1. Сите реагенси беа оставаани на собна температура (15-30°C) најмалку 30 минути пред отворањето на китот.
2. Беа користени само пресвличени 96 мултивел плочи кои одат заедно со китот.
3. Мултивел траките за прекривање беа адаптирани на собна температура во запечатената прекривка.
4. Се отстрануваше саканиот број на ленти, се затвораше повторно и се ставаа на ладење неупотребените кивети на 2-8°C за да се сочува интегритетот на плочата.

5. Сите стандарди, контроли и примероци беа анализирани во дупликат.
6. Беше направена стандардна крива.
7. Се внимаваше да не дојде до било каква каква варијација во постапувањето, техниката на пипетирање, техниката на промивање, времето на инкубација или температурата кои можеа да причинат варијации во врзувањето.
8. Абсорбансите се читаа во тек на 2 часа од изведувањето на мерењето.

Протокол за екстракција на примерок

1. Се закиселуваше примерокот до pH 3,5 со 2N HCl ($\approx 50 \mu\text{L}$ HCl за 1 mL плазма)
2. Следуваше еквилибрирање на 2-8 °C во тек на 15 минути.
3. Се центрифугираа примероците во микроцентрифуга во тек на 2 минути за да се отстрани преципитатот.
4. Се подготвуваше C 18 реверзно фазниот ред со миеење со 10 mL на етанол, а потоа со 10 mL дејонизирана вода.
5. Примерокот се ставаше под лесно позитивен притисок за да се добие проток од околу 0,5 mL/минута.
6. Се измиваше редот со 10 mL вода, потоа со 10 mL на 15% етанол и на крај со 10 mL хексан.
7. Се разредуваше примерокот од редот со додавање на 10 mL етил ацетат.
8. Кога анализата се правеше веднаш, се проветруваа примероците под млаз на азот.
9. Се додаваше 50 μL етанол за да се исушат примероците и да се реконституираат примероците со најмалку 200 μL Assay Пуфер или клеточно културен медиум.

10. Ако анализата се работеше одложено примероците се чуваа како елуирани етилацетат раствори на $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ сè до изведбата на анализата, при што се продолжуваше со 8-от и 9-от претходно опишан чекор.

Посийајка на изведба

Прва инкубација

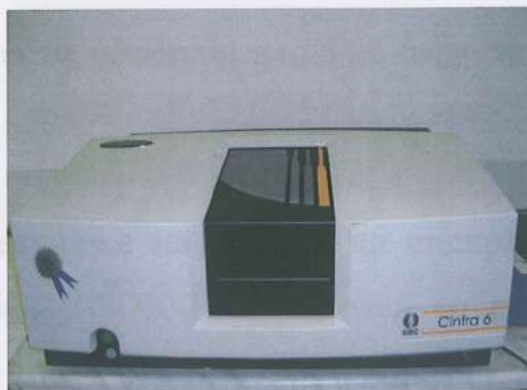
1. Се отстрануваа соодветен број на ленти и се додаваа $100\mu\text{L}$ од стандардниот дилуент (Assay Пуфер или ткивен културен медиум) во NSB киветите и во B0 (0 pg/mL) киветите.
2. Се додаваа $100\mu\text{L}$ од стандардите #1-7 во соодветните кивети.
3. Се додаваа $100\mu\text{L}$ од примероците во соодветните кивети
4. Се додаваа $50\mu\text{L}$ од Assay Пуфер во NSB киветите
5. Се додаваа $50\mu\text{L}$ од ПГЕ2-alkaline phosphatase коњугатот во сите кивети освен во TA (Total Activity) и Blank киветите.
6. Се додаваа $50\mu\text{L}$ од Моноклонален анти-ПГЕ2 во сите кивети освен во TA (Total Activity), Blank киветите и NSB киветите.
7. Сите употребени кивети беа зелени, освен NSB киветите кои беа сини. TA и Blank киветите во ова време беа празни и немаа обојување.
8. Потоа се покриваа со прекривката за плочата и се инкубираа 2 часа на собна температура на орбитален мешач на 500 rpm.
9. Киветите се промиваа вкупно 3 пати следејќи ги инструкциите за промивање.
10. По финалното миење, се сушеа на лигнин за да се отстрани преостанатиот пуфер.

Инкубација на суиспиратои

1. Се додаваа $5\mu\text{L}$ од ПГЕ2 коњугатот (1:10 разредување) во TA киветите.
2. Се додаваа $200\mu\text{L}$ од pNPP супстратот во сите кивети. Се прекриваа.
3. Се инкубираа 45 минути на собна температура без протресување.

Стой реакција

1. Се додаваа 50 μ L од Стоп растворот на секоја кивета.
2. Жолтата боја се развиваше веднаш и можеше да биде читана во читачот на мултивел плочата на 405 nm со корекции на 570 или 590 nm.



Сл. 2 Спектрофотометар

3. Се одвојуваа читањата на 590 nm од читањата на 405 nm, за да се коригираат оптичките несовершености на плочата.

Резултати

1. Се одредуваше средната вредност на дуплите читања за секој стандард и примерок и се одвојуваше NSB оптичката густина.
2. Следуваше правење на стандардна крива со редукција на податоците со примена на компјутерски софтвер способен да создаде 4 параметар логистичка (4-PL) крива.
3. Како алтернатива, се конструираше стандардна крива со означување на просечната абсорбентност за секој стандард на линеарната у-оска наспроти концентрацијата (pg/mL) врз логаритмичката x-оска и потоа се црташе крива низ точките на графикот.
4. % V/V₀ се пресметуваше со делење на коригираната OD за секој стандард или примерок со коригираниот V₀ OD и множење со 100.
5. Се пресметуваше концентрацијата на ПГЕ2 според просечната абсорбентност или % V/V₀ од стандардната крива.

- б. Доколку примероците беа разредувани, концентрацијата читана од стандардната крива мораше да биде помножена со факторот на растворање.

Сензитивносii

Чувствителноста на анализата на ПГЕ2 беше типично помала од 13,4 pg/ml.

Метода за одредување на нивото на експресијата на генот за циклооксигеназа-2 (COX-2) определен со релативна реверзно-транскриптазна полимеразна верижна реакција (RT-PCR) во ткивни примероци

Вкупната клеточна RNA беше изолирана од примероците со методот на екстракција со гуанидин изотиоцијанат-кисел фенол-хлороформ (Chomczynski и Sacchi, 1987). Накусо, ткивните фрагменти (чувани во течен азот) беа хомогенизирани во раствор на гуанидин изотиоцијанат со свежо додаден 2-меркаптоетанол, по што беше додадена смеса на кисел фенол и хлороформ. По раздвојувањето на фазите преку центрифугирање, присутната RNA во водената фаза беше преципитирана со изопропанол претходно изладен на -20°C , а потоа беше испирана со 70% етанол и ресуспендирана во вода без RN-ази.

За отстранување на контаминирачката DNA, изолираната RNA беше третирана со деоксирибонуклеаза I без RN-ази (DNase I, Sigma-Aldrich) на 37°C во текот на 30 минути.

По термичката инактивација на ензимот на 95°C во текот на 10 минути, беше извршена репреципитација и ресуспенирање на изолираната RNA. На секој изолат беа додавани по 20 единици RN-азен инхибитор (Sigma-Aldrich), а потоа замрзнати и чувани на -75 до -80°C .

RT-PCR беше вршена со системот за реверзна транскрипција со засилена реверзна транскриптаза од птичјиот вирус на миелобластоza (AMV) (Sigma-Aldrich). Накусо, за синтеза на првата верига од cDNA се асемблираше следнава реакциска смеса: 0,5 µg RNA изолат, 0,5 µg Oligo(dT)₂₃ прајмер, 4 единици на засилена AMV реверзна транскриптаза, 8 mM магнезиум хлорид и по 10 mM од секој dNTP.

Епруветите беа инкубирани на 42 °C во текот на 50 минути.

Беа користени следниве прајмерски парови (Noguchi et al. 2001):

за COX-2

5'- TTC AAA TGA GAT TGT GGG AAA ATT GCT-3' и

5'- AGA TCA TCT CTG CCT GAG TAT CTT T-3'

за β- актин

5'- GTG GGC ATG GGT CAT CAG AAG GAT-3' и

5'- CTC CTT AAT GTC ACG CAC GAT TTC-3'

PCR амплификациите на синтетизираната cDNA беа вршени на Perkin- Elmer GeneAmp PCR System 2400 термосјклер со следниов програм:

- иницијална денатурација на 94°C во текот на 2 минути,
- по што следеа 35 циклуси, секој составен од по 3 чекора:
 - денатурација на 94°C во текот на 15 секунди
 - анилирање на 55°C во текот на 30 секунди и
 - екстензија на 68°C во текот на 1 минута
- финална екстензија на 68°C во текот на 5 минути

PCR продуктите беа раздвоени со хоризонтална електрофореза во 2% агароза. Геловите беа обоени со етидиум бромид, визуелизирани на UV-

транслуминатор (305 nm) и дигитално фотографирани (Canon Power Shot A70).



Сл. 3 Perkin- Elmer GeneAmp PCR System 2400 термосјклер

Интензитетот на флуоресценција на COX-2 специфичната амплифицирана електрофоретска лента (band) и на контролниот β -актински band од секој примерок беа квантифицирани со функцијата за денситометриска анализа на гелови на Image J софтверот, верзија 1,33u (Rasband, W.S., Image J, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 1997-2004).

Забелешка: Добиените вредности се изразени како семиквантитативен релативен однос меѓу интензитетот на флуоресценција на COX-2 специфичниот и контролниот β - актински band

1. Chomczynski P, Sacchi N.
Single step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction
Anal Biochem. 1987; 162 (1):156-59
2. Noguchi K, Shitashige M, Endo H, Kondo H, Yotsumoto Y, Izumi Y, Nitta H, Ishikawa I
Involvement of cyclooxygenase-2 in serum -induced prostaglandin production by human oral gingival epithelial cells
J.Periodontal. Res. 2001; 36(2):124-30

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 E. coli и антитела 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 природниот 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 антитела специфични за ТНФ- α . Стандардите и примероците беа пипетирани во киветите, а имобилизираните антитела се врзуваа за присутниот ТНФ- α .

По промивањето на било кои неврзани супстанции, ензимски врзаното поликлонално антитело специфично за ТНФ- α се додаваше во киветите. По миењето за да се отстрани неврзаниот антитело-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:

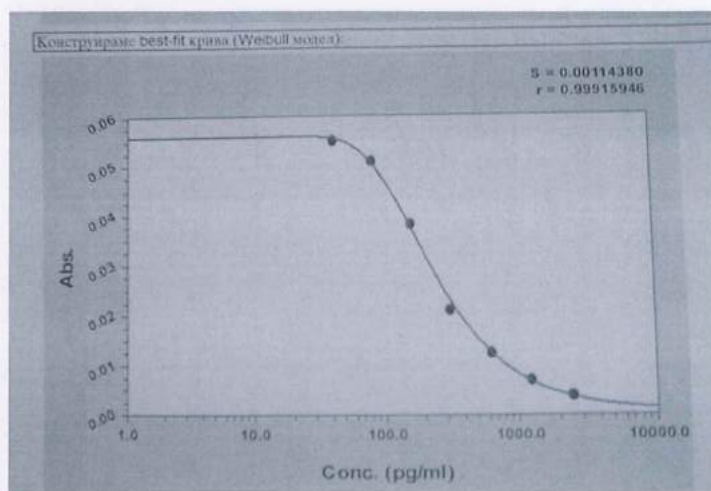
Сите реагенси и примероци се ставаа на собна температура пред употребата, а сите примероци и стандарди беа мерени во дупликат.

1. Се подготвуваа сите реагенси и работни стандарди како што е наведено во упатството на производителот.

2. Се додаваа 50 μ l од растворувачот 1 F во секоја кивета. Растворувачот 1 F преципитираше. Добро се протресуваше пред и во тек на употребата.
3. Се додаваше 200 μ l 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 l) 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 l 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 200 μ l Супстрат раствор во секоја кивета и се инкубираше 20 минути на собна температура.
8. Се додаваше 50 μ l 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 nm.

Корекцијата на брановата должина се местеше на 540 nm или стандардни криви беа направени за секој сет од примероци кои се анализираат.



Сл. 4 Конструирана best-fit крива (Weibull модел)

Линеарноси

За да се процени линеарноста на методата, пет примероци со највисоки концентрации на ТНФ- α во различните матрици беа дилуирани со соодветен Калибратор растворувач и се добиваа примероци со динамичен опсег на мерењето.

Сензитивноси

Минимум детектибилната доза на ТНФ- α типично беше помала од 4,4 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 податоците за индексните вредности, беше направена со помош на Студентовиот "t"-тест, а за останатите параметри беше користена компјутерската програма Статистика (Analysis of Variance, Posthoc test- Tukey honest significant difference (HSD), Spearman -ов коефициент на корелација).

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.

На табела број 1, даден е приказ на просечните вредности на ПГЕ2 во контролната и испитуваната група со подгрупите. Евидентно е дека најголема просечна вредност на ПГЕ2 се регистрира во групата пред терапија од $237,1029 \pm 153,5629$, додека најниска просечна вредност во групата со класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии од $62,8095 \pm 11,3770$, која и најмногу се доближува до просечната вредност кај контролната група - $52,2400 \pm 3,8536$.

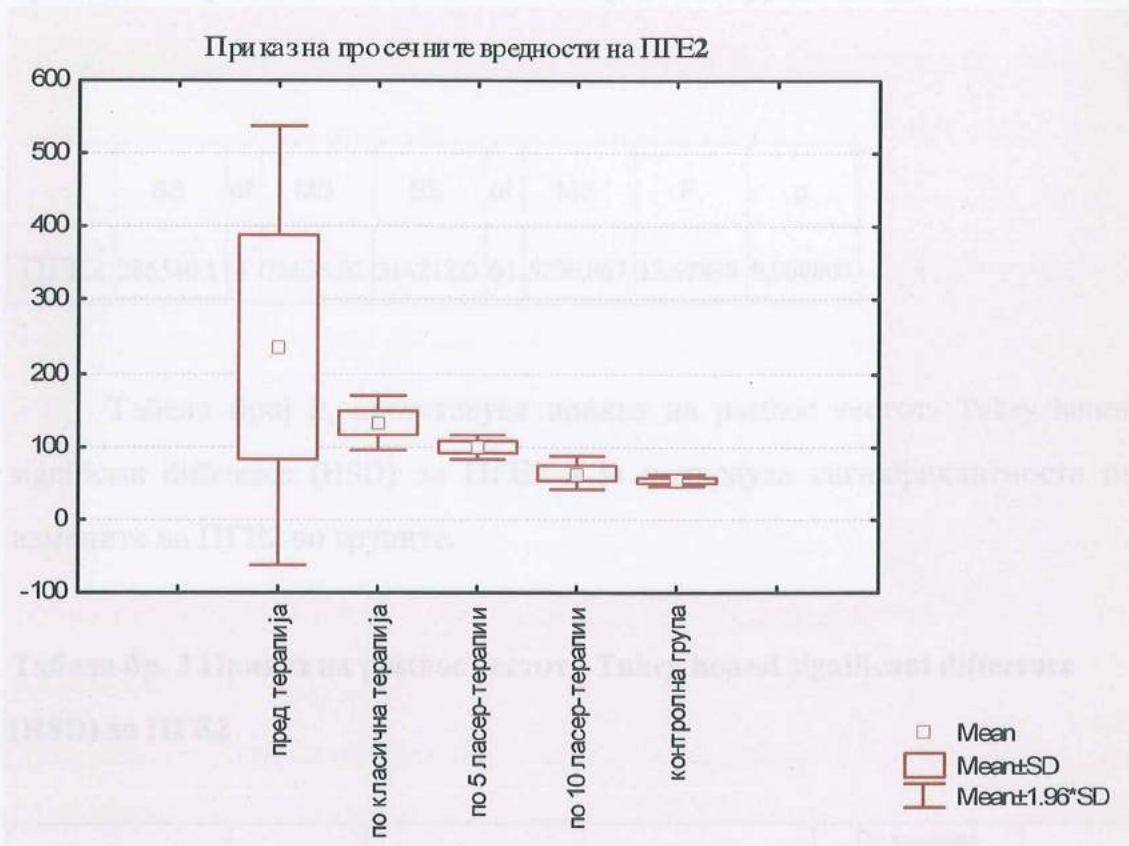
Од табеларниот приказ евидентираме дека од вкупниот број на испитувани примероци во контролната ($n=20$) и испитуваните подгрупи ($n=20$), ПГЕ2 е детектиран во мерливи количини кај 9 испитани примероци во контролната, односно 14 во групата пред терапија, како и 15 во групата по класична терапија, односно 13 во групата по класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии и 14 испитани примероци во групата по класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии.

Табела бр. 1 Приказ на просечните вредности на ПГЕ2 во контролната и испитуваната група со подгрупите

ПГЕ2 pg/mg	Број	Просек	Минимум	Максимум	Стд.Дев.
Контролна група					
	9	52,2400	45,9910	57,0340	3,8536
Испитувана група					
	Број	Просек	Минимум	Максимум	Стд.Дев.
Пред терапија	14	237,1029	180,9070	769,5000	153,5629
По класична терапија	15	132,1749	109,3240	183,2030	18,6065
По класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии	13	99,3642	76,4820	111,0980	9,1436
По класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии	14	62,8095	46,1210	94,3490	11,3770

Графичкиот приказ на просечните вредности на ПГЕ2 во контролната и испитуваната група со подгрупите даден на графикон број 1, укажува на трендот на опаѓање на просечните вредности од групата пред терапија сè до вредностите блиски до контролната група кои се карактеристични за групата третирана со класична терапија надополнета со 10 континуирани ласер постапки.

Табела бр. 1 Приказ на Analysis of Variance - Анализ на варијанса на просечните вредности на ПГЕ2 во испитуваните групи



Графикон бр. 1 Приказ на просечните вредности на ПГЕ2 во контролната и испитуваната група со подгрупите

Анализата на варијанса на просечните вредности на ПГЕ2 во испитуваните групи прикажана на табела број 2, покажува дека разликата кој се регистрира помеѓу просечните вредности на ПГЕ2 во испитуваните групи е статистички сигнификантна за $p=0,000000$.

Табела бр. 2 Приказ на Analysis of Variance- Анализа на варијанса на просечните вредности на ПГЕ2 во испитуваните групи

	SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
ПГЕ2	286540,1	4	71635,02	314212,0	60	5236,867	13,67898	0,000000

Табела број 3, претставува приказ на posthoc тестот- Tukey honest significant difference (HSD) за ПГЕ2 и ја потврдува сигнификантноста на измените на ПГЕ2 во групите.

Табела бр. 3 Приказ на posthoc тестот - Tukey honest significant difference (HSD) за ПГЕ2

ПГЕ2	Пред терапија	По класична терапија	По класична терапија дополнета со 5 ласер-терапии	По класична терапија дополнета со 10 ласер-терапии	Контрола
Пред терапија		0,002325	0,000186	0,000133	0,000134
По класична терапија	0,002325		0,753381	0,087283	0,079537
По класична терапија дополнета со 5 ласер-терапии	0,000186	0,753381		0,685274	0,565503
По класична терапија дополнета со 10 ласер-терапии	0,000133	0,087283	0,685274		0,997044
Контрола	0,000134	0,079537	0,565503	0,997044	

На табела број 4, даден е приказ на просечните вредности на нивото на експресија на генот за COX-2 во контролната и испитуваната група со подгрупите. Напоменуваме дека вредностите се изразени како семиквантитативен релативен однос меѓу интензитетот на флуоресценција на COX-2 -специфичниот и контролниот β -актински band. Верификувано е дека најголема просечна вредност на нивото на експресија на генот за COX-2 се регистрира во групата пред терапијата од $0,161143 \pm 0,186695$, додека најниска просечна вредност е регистрирана во групата со класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии од $0,035143 \pm 0,013615$, која и најмногу се доближува до просечната вредност кај контролната група - $0,028222 \pm 0,014342$.

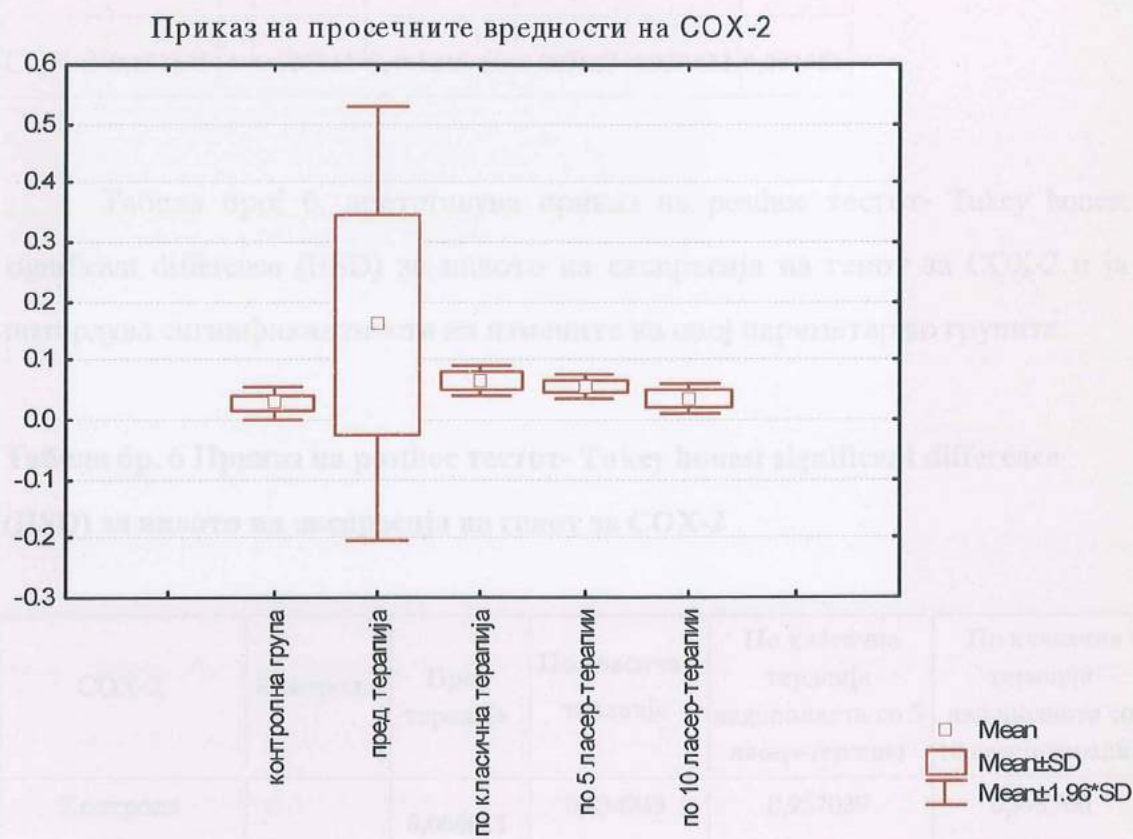
Од табеларниот приказ евидентираме дека од вкупниот број на испитувани примероци во контролната ($n=20$) и испитуваните подгрупи ($n=20$), нивото на експресија на генот за COX-2 е детектирано во мерливи количини кај 9 испитани примероци во контролната, односно 14 во групата пред терапија, како и 15 во групата по класична терапија, односно 13 во групата по класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии и 14 испитани примероци во групата по класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии.

Табела бр. 4 Приказ на просечните вредности на нивото на експресија на генот за COX-2 во контролната и испитуваната група со подгрупите

COX-2	Број	Просек	Минимум	Максимум	Стд.Дев.
Контролна група					
	9	0,028222	0,011000	0,057000	0,014342
Испитувана група					
Пред терапија	14	0,161143	0,073000	0,803000	0,186695
По класична терапија	15	0,066733	0,042000	0,091000	0,013936
По класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии	13	0,054615	0,038000	0,073000	0,010516
По класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии	14	0,035143	0,013000	0,062000	0,013615

Графичкиот приказ број 2, укажува дека просечните вредности на нивото на експресија на генот за COX-2 во групите по различните терапевски модалитети се депресирани во однос на групата пред терапија, при што групата третирана со класична терапија надополнета со 10 континуирани ласер постапки најмногу се доближува до просечната вредност кај контролната група.

Графикон бр. 2 Приказ на просечните вредности на нивото на експресија на генот за COX-2 во контролната и испитуваната група со подгрупите



Анализата на варијансата на просечните вредности на нивото на експресија на генот за COX-2 во испитуваните групи прикажана на табела број 5, покажува дека разликата кој се регистрира помеѓу просечните вредности на нивото на експресија на генот за COX-2 во испитуваните групи е статистички сигнификантна за $p=0,001651$.

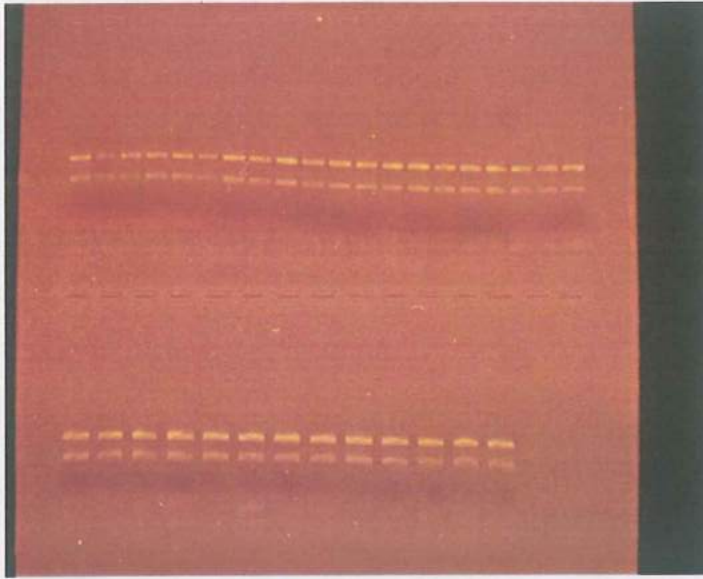
Табела бр. 5 Приказ на Analysis of Variance- Анализа на варијанса на просечните вредности на нивото на експресија на генот за COX-2 во испитуваните групи

	SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
COX-2	0,151845	4	0,037961	0,461215	60	0,007687	4,938432	0,001651

Табела број 6, претставува приказ на posthoc тестот- Tukey honest significant difference (HSD) за нивото на експресија на генот за COX-2 и ја потврдува сигнификантноста на измените на овој параметар во групите.

Табела бр. 6 Приказ на posthoc тестот- Tukey honest significant difference (HSD) за нивото на експресија на генот за COX-2

COX-2	Контрола	Пред терапија	По класична терапија	По класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии	По класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии
Контрола		0,006685	0,834945	0,957039	0,999760
Пред терапија	0,006685		0,040441	0,020514	0,003132
По класична терапија	0,834945	0,040441		0,996190	0,867780
По класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии	0,957039	0,020514	0,996190		0,978065
По класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии	0,999760	0,003132	0,867780	0,978065	



Сл. 1 Слика од резултат од анализата за експресија на COX-2 генот детектиран преку RT-PCR

Слика од резултат од анализата за експресија на COX-2 генот детектиран преку RT-PCR е дадена на сликата бр.1. На табела број 7, даден е приказ на просечните вредности на ТНФ- α во контролната и испитуваната група со подгрупите. Најголема просечна вредност на ТНФ- α се регистрира во групата пред терапија од $46,01069 \pm 16,69237$, додека најниска просечна вредност во групата со класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии од $12,07564 \pm 4,43276$, која и најмногу се доближува до просечната вредност кај контролната група $5,20 \pm 3,21305$.

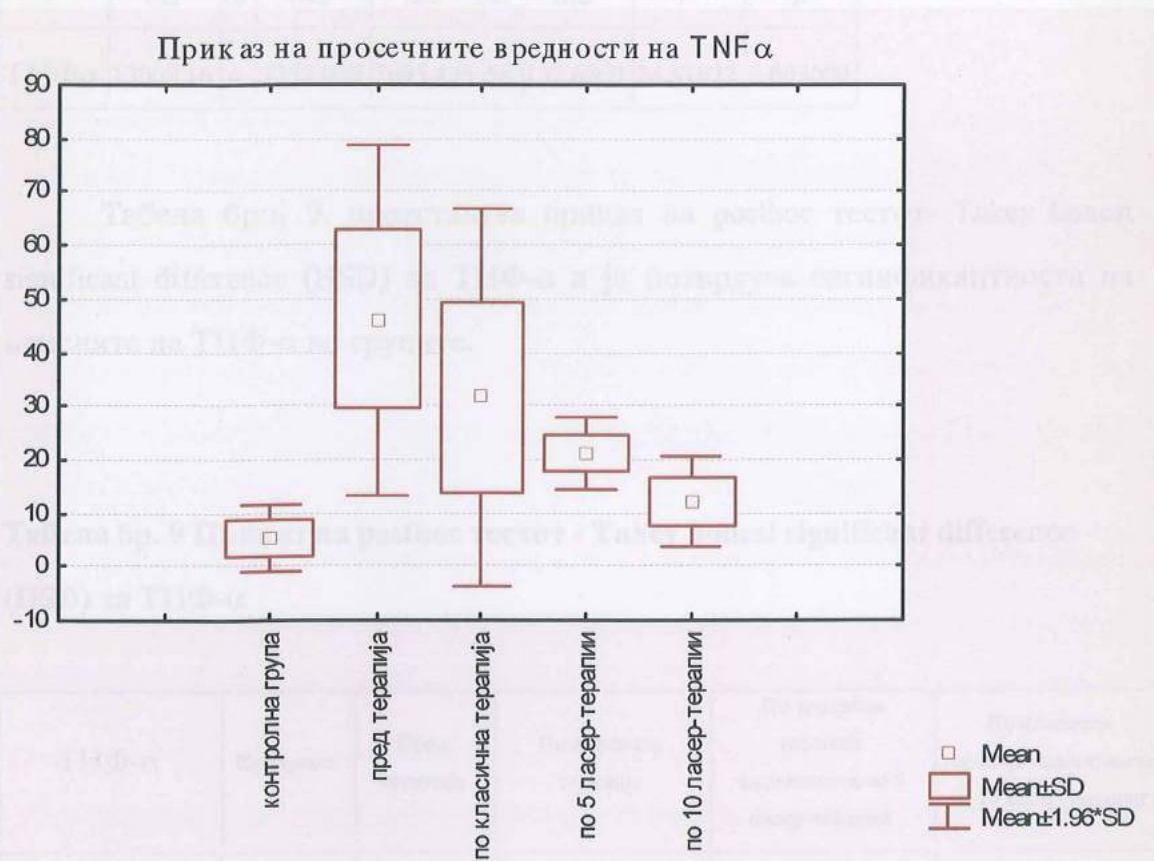
Од табеларниот приказ евидентираме дека од вкупниот број на испитувани примероци во контролната ($n=20$) и испитуваните подгрупи ($n=20$), ТНФ- α е детектиран во мерливи количини кај 11 испитани примероци во контролната, односно 13 во групата пред терапија, како и 13 во групата по класична терапија, односно 12 во групата по класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии и 14 испитани примероци во групата по класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии.

Табела бр. 7 Приказ на просечните вредности на ТНФ- α во контролната и испитуваната група со подгрупите

ТНФ- α pg/mg	Број	Просек	Минимум	Максимум	Стд.Дев.
Контролна група					
	11	5,20127	0,00000	9,46100	3,21305
Испитувана група					
Пред терапија	13	46,01069	34,48100	98,91200	16,69237
По класична терапија	13	31,59438	8,89200	87,56100	17,93797
По класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии	12	21,26517	15,78100	26,32100	3,46339
По класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии	14	12,07564	0,00000	17,34000	4,43276

Приказот на просечните вредности на ТНФ- α во контролната и испитуваната група со подгрупите даден на графиконот број 3, евидентира дека просечните вредности на ТНФ- α во групите каде класичната терапија е надополнета со континуирани ласерски постапки (5 и 10) се блиски едни на други, а значително помали од онаа регистрирана во групата по класична терапија.

Графикон бр. 3 Приказ на просечните вредности на ТНФ- α во контролната и испитуваната група со подгрупите



Анализата на варијанса на просечните вредности на ТНФ- α , дадена на табела број 8, во испитуваните групи евидентира дека разликата кој се регистрира помеѓу просечните вредности на ТНФ- α во испитуваните групи е статистички сигнификантна за $p=0,000000$.

Табела бр. 8 Приказ на Analysis of Variance- Анализа на варијанса на просечните вредности на ТНФ- α во испитуваната група со подгрупите

	SS	df	MS	SS	df	MS	F	p
ТНФ α	13008,16	4	3252,039	7695,495	58	132,6809	24,51022	0,000000

Табела број 9, претставува приказ на posthoc тестот- Tukey honest significant difference (HSD) за ТНФ- α и ја потврдува сигнификантноста на измените на ТНФ- α во групите.

Табела бр. 9 Приказ на posthoc тестот - Tukey honest significant difference (HSD) за ТНФ- α

ТНФ- α	Контрола	Пред терапија	По класична терапија	По класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии	По класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии
Контрола		0,000134	0,000138	0,012378	0,578685
Пред терапија	0,000134		0,018802	0,000145	0,000134
По класична терапија	0,000138	0,018802		0,179915	0,000547
По класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии	0,012378	0,000145	0,179915		0,265988
По класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии	0,578685	0,000134	0,000547	0,265988	

Приказот на индексот на дентален плак по Silness-Loe во контролната и испитуваната група со подгрупите, даден на табела број 10, укажува дека кај контролната група нема дентален плак на гингивалната третина од коронката (0) кај 100% од испитаниците.

Кај испитуваната група пред терапија кај 50,0% од испитаниците евидентирана е голема количина на дентален плак по целата забна површина како и во сулкусот, џебот и интерденталниот простор (3) и 14,28% застапеност на плак во тенок слој само покрај рабовите на гингивата и може да се детектира само со сонда, но не и си голо око (1).

Во групата по класична терапија забележана е застапеност на плак во тенок слој само покрај рабовите на гингивата кој може да се детектира само со сонда, но не и си голо око (1), кај 80,0% од испитаниците.

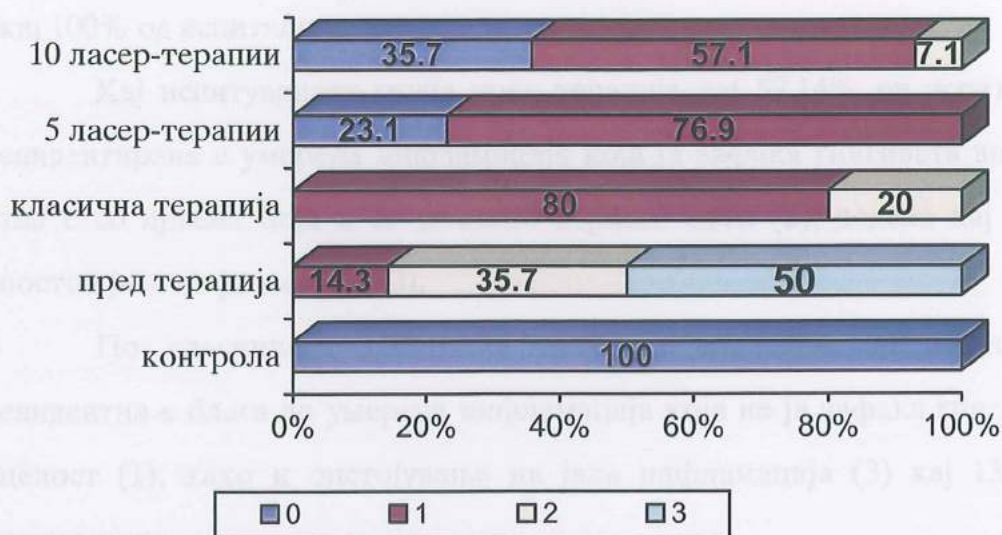
Кај групата по класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии, евидентно е отсуство на плак (0) кај 23,07% и застапеноста на плак во тенок слој само покрај рабовите на гингивата кој може да се детектира само со сонда, но не и си голо око (1) кај 76,92% од испитаниците.

Конечно во групата по класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии, евидентно е отсуство на плак (0) кај 35,71% и присуство на умерена количина на дентален плак која зафаќа повеќе од една третина од забната коронка, но е присутен во гингивалниот сулкус или пародонталниот џеб, кај 7,14% од испитаниците.

Табела бр. 10 Приказ на индексот на дентален плак по Silness-Loe во контролната и испитуваната група со подгрупите

ИНДЕКС НА ДЕНТАЛЕН ПЛАК	број	%
Контролна група		
0- Нема дентален плак на гингивалната третина од коронката	14	100,0
Испитувана група		
Индекс на дентален плак пред терапија		
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	2	14,28571
2-умерена количина на дентален плак која зафаќа повеќе од една третина од забната коронка, но е присутен во гингивалниот сулкус или пародонталниот џеб	5	35,71428
3-голема количина на дентален плак по целата забна површина како и во сулкусот, џебот и интерденталниот простор.	7	50,0
Индекс на дентален плак по класична терапија		
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	12	80,00000
2-умерена количина на дентален плак која зафаќа повеќе од една третина од забната коронка, но е присутен во гингивалниот сулкус или пародонталниот џеб	3	20,00000
Индекс на дентален плак по класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии		
0-Нема дентален плак на гингивалната третина од коронката	3	23,07692
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	10	76,92307
Индекс на дентален плак по класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии		
0-Нема дентален плак на гингивалната третина од коронката	5	35,71428
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	8	57,14285
2-умерена количина на дентален плак која зафаќа повеќе од една третина од забната коронка, но е присутен во гингивалниот сулкус или пародонталниот џеб	1	7,14285

Графикон бр. 4 Приказ на индексот на дентален плак по Silness-Loe во контролната и испитуваната група со подгрупите



Од графичкиот приказ на индексот на дентален плак по Silness-Loe во контролната и испитуваната група со подгрупите, даден на графикон број 4, евидентно е дека најголем процент на немањето на дентален плак на гингивалната третина од коронката (0) се регистрира кај испитаниците во групите со класична терапија надополнета со 5 и 10 ласер-терапии (23% и 35,7%), а процентуалната разлика е статистички сигнификантна во однос на групата пред терапија и групата третирана со класичната терапија - $p=0,0000$.

Приказот на индексот на гингивална инфламација по Loe-Silness во контролната и испитуваната група со подгрупите, на табела број 10, укажува дека кај контролната група нема воспаление на гингивата која е со бледо розова боја и цврста конзистенција и со ситно зрнеста структура (0) кај 100% од испитаниците.

Кај испитуваната група пред терапија кај 57,14% од испитаниците евидентирана е умерена инфламација која ја зафаќа гингивата во целост, таа е со црвена боја и со посилено изразен едем (2), додека кај 42,85 % постои јака инфламација (3).

По класичната терапевска постапка кај 80% од испитаниците евидентна е блага до умерена инфламација која не ја зафаќа гингивата во целост (1), како и опстојување на јака инфламација (3) кај 13,33% од испитаниците.

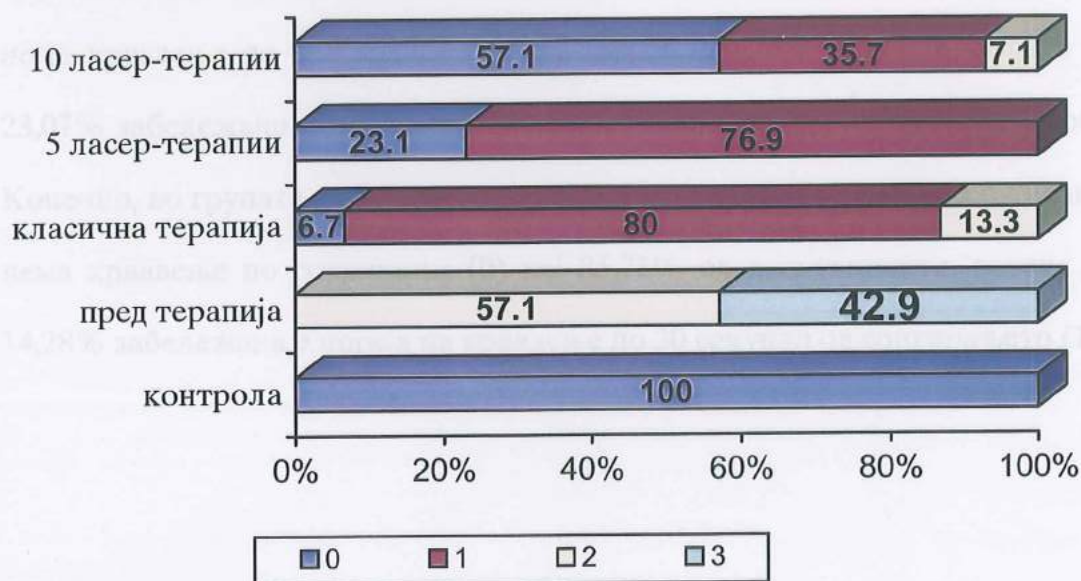
Во групата третирана со класична терапија дополнета со 5 ласер-терапии забележително е непостоење на гингивална инфламација (0) кај 23,07% од испитаниците, а во групата на испитаници третирани со класична терапија дополнета со 10 ласер-терапии, не постои гингивална инфламација кај 57,14% од нив, но едновременно евидентирана е умерена инфламација која ја зафаќа гингивата во целост, која е со црвена боја, и посилено изразен едем (2), кај 7,14 %, односно кај еден испитаник.

Табела бр. 11 Приказ на индексот на гингивална инфламација по Loe-Silness во контролната и испитуваната група со подгрупите

ИНДЕКС НА ГИНГИВАЛНА ИНФЛАМАЦИЈА	број	%
Контролна група		
0-не постои воспаление на гингивата, таа е со бледо розова боја цврста конзистенција и со ситно зрнеста структура	14	100,0
Испитувана група		
Индекс на гингивална инфламација пред терапија		
2-умерена инфламација која ја зафаќа гингивата во целост, таа е со црвена боја, и посилено изразен едем	8	57,14285
3-јака инфламација на гингивата во целост таа е со изразена црвена боја, многу зголемена	6	42,85714
Индекс на гингивална инфламација по класична терапија		
0-не постои воспаление на гингивата, таа е со бледо розова боја цврста конзистенција и со ситно зрнеста структура.	1	6,66667
1-блага до умерена инфламација која не ја зафаќа гингивата во целост	12	80,00000
2-умерена инфламација која ја зафаќа гингивата во целост, таа е со црвена боја, и посилено изразен едем	2	13,33333
Индекс на гингивална инфламација по класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии		
0-не постои воспаление на гингивата, таа е со бледо розова боја цврста конзистенција и со ситно зрнеста структура	3	23,07692
1-блага до умерена инфламација која не ја зафаќа гингивата во целост	10	76,92307
Индекс на гингивална инфламација по класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии		
0-не постои воспаление на гингивата, таа е со бледо розова боја цврста конзистенција и со ситно зрнеста структура.	8	57,14285
1-блага до умерена инфламација која не ја зафаќа гингивата во целост	5	35,71428
2-умерена инфламација која ја зафаќа гингивата во целост, таа е со црвена боја, и посилено изразен едем	1	7,14285

Од графичкиот приказ на индексот на гингивална инфламација по Loe-Silness во контролната и испитуваната група со подгрупите, даден на графиконот број 5, јасно е не постоењето на воспаление на гингивата, која е со бледо розова боја, цврста конзистенција и со ситно зрнеста структура, кое се регистрира во групите со класична терапија надополнета со 5 и 10 ласер-терапии (23,1% и 57,1%), а процентуалната разлика која се јавува во однос на групите пред терапијата и по класичната терапија е статистички сигнификантна за $p=0,072$.

Графикон бр. 5 Приказ на индексот на гингивална инфламација по Loe-Silness во контролната и испитуваната група со подгрупите



На табела број 12, даден е приказ на индексот на гингивално крвање по Cowell во контролната и испитуваната група со подгрупите, при што кај контролната група нема крвање по сондирање (0) кај 100% од испитаниците.

Кај испитуваната група пред терапија непосредно по сондирање евидентно е крвање (2) кај 78,57% од испитаниците, односно спонтано крвање(3) кај 21, 42%.

По класичната терапија непосредно по сондирање евидентно е крвање (2) кај 13,33% од испитаниците, односно нема крвање по сондирање (0) кај 46,66% од испитаниците.

Во групата по класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии нема крвање по сондирање (0) кај 76,92% од испитаниците, додека кај 23,07% забележана е појава на крвање по 30 секунди од сондирањето(1). Конечно, во групата по класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии нема крвање по сондирање (0) кај 85,71% од испитаниците, додека кај 14,28% забележана е појава на крвање по 30 секунди од сондирањето (1).

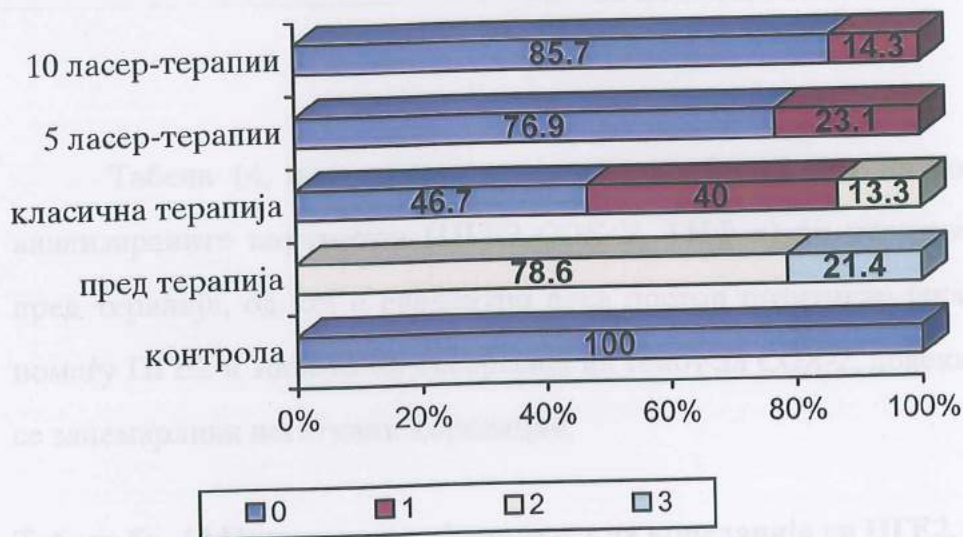
Табела бр. 12 Приказ на индексот на гингивално крвање по Cowell во контролната и испитуваната група со подгрупите

ИНДЕКС НА ГИНГИВАЛНО КРВАВЕЊЕ	број	%
Контролна група		
0-Нема крвање по сондирање	14	100,0
Испитувана група		
Индекс на гингивално крвање пред терапија		
2-Крвање непосредно по сондирање	11	78,57142
3-Спонтано крвање	3	21,42857
Индекс на гингивално крвање по класична терапија		
0-Нема крвање по сондирање	7	46,66667
1-Појава на крвање по 30 секунди од сондирањето	6	40,00000
2-Крвање непосредно по сондирање	2	13,33333
Индекс на гингивално крвање по класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии		
0-Нема крвање по сондирање	10	76,92307
1-Појава на крвање по 30 секунди од сондирањето	3	23,07692
Индекс на гингивално крвање по класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии		
0-Нема крвање по сондирање	12	85,71428
1-Појава на крвање по 30 секунди од сондирањето	2	14,28571

Од графичкиот приказ на индексот на гингивално крвање по Cowell во контролната и испитуваната група со подгрупите, даден на графиконот број 6, јасна е процентуалната разлика која се регистрира помеѓу немањето на крвање по сондирање (0) и појавата на крвање по 30 секунди од сондирањето (1) помеѓу групите со класична терапија и групите третирани со класична и надополнети со 5 и 10 ласер-терапии

(76,9% и 23,1%; 85,7% и 14,3%) од една страна и групата со класична терапија и групата пред терапија од друга страна што е статистички сигнификантно за $p=0,0371$.

Графикон бр. 6 Приказ на индексот на гингивално крвавење по Cowell во контролната и испитуваната група со подгрупите



На табела број 13, даден е приказ на коефициентот на корелација на испитуваните параметри (ПГЕ2, СОХ-2 и ТНФ- α) во контролната група од кој е јасно дека постои јака негативна корелација помеѓу СОХ-2 и ТНФ α , додека останатите се слаби позитивни корелации.

Табела бр. 13 Приказ на коефициентот на корелација на испитуваните параметри (ПГЕ2, СОХ-2 и ТНФ- α) во контролната група

Контролна група	ПГЕ2	СОХ-2	ТНФ- α
ПГЕ2	1,00	0,37	0,26
СОХ-2	0,37	1,00	-0,58
ТНФ- α	0,26	-0,58	1,00

Табела 14, претставува приказ на коефициентот на корелација на анализираните параметри (ПГЕ2, СОХ-2, ТНФ- α) во испитуваната група пред терапија, од кој е евидентно дека постои позитивна јака корелација помеѓу ПГЕ2 и нивото на експресија на генот за СОХ-2, додека останатите се занемарливи негативни корелации.

Табела бр. 14 Приказ на коефициентот на корелација на ПГЕ2, СОХ-2 и ТНФ- α во испитуваната група пред терапија

Пред терапија	ПГЕ2	СОХ-2	ТНФ- α
ПГЕ2	1,00	0,99	-0,19
СОХ-2	0,99	1,00	-0,21
ТНФ- α	-0,19	-0,21	1,00

Од табела број 15, на која е даден приказ на коефициентот на корелација на ПГЕ2, СОХ-2 и ТНФ- α во испитуваната група по класичната терапија, јасно е воочливо дека постои занемарлива корелација помеѓу ПГЕ2 и нивото на експресија на генот за СОХ-2, додека останатите со ТНФ- α , се негативни слаби корелации.

Табела бр. 15 Приказ на коефициентот на корелација на ПГЕ2, СОХ-2 и ТНФ- α во испитуваната група по класична терапија

По класична терапија	ПГЕ2	СОХ-2	ТН-Ф α
ПГЕ2	1,00	0,03	-0,32
СОХ-2	0,03	1,00	-0,05
ТНФ- α	-0,32	-0,05	1,00

Табеларниот приказ број 16, на кој е претставен коефициентот на корелација на ПГЕ2, СОХ-2 и ТНФ- α во испитуваната група по класична терапија дополнета со 5 ласер-терапии, верификува дека постои јака позитивна корелација помеѓу ПГЕ2 и ТНФ- α , додека останатите се занемарливи негативни корелации.

Табела бр. 16 Приказ на коефициентот на корелација на ПГЕ2, СОХ-2 и ТНФ- α во испитуваната група по класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии

По класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии	ПГЕ2	СОХ-2	ТНФ- α
ПГЕ2	1,00	-0,12	0,62
СОХ-2	-0,12	1,00	-0,23
ТНФ- α	0,62	-0,23	1,00

Приказот на коефициентот на корелација на ПГЕ2, СОХ-2 и ТНФ- α во испитуваната група по класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии, даден на табела број 17, потврдува дека постои јака негативна корелација помеѓу ПГЕ2 и ТНФ- α , додека останатите се занемарливи позитивни корелации.

Табела бр. 17 Приказ на коефициентот на корелација на ПГЕ2, СОХ-2 и ТНФ- α во испитуваната група по класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии

По класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии	ПГЕ2	СОХ-2	ТНФ- α
ПГЕ2	1,00	0,07	-0,55
СОХ-2	0,07	1,00	0,06
ТНФ- α	-0,55	0,06	1,00

На табела број 18, даден е приказ на Spearman-овиот коефициент на корелација помеѓу ПГЕ2 и ИДП, ИГИ и ИГК во испитуваната група со подгрупите од кој е евидентна статистичка сигнификантна ранг-корелација помеѓу ПГЕ2 и ИДП, ИГИ и ИГК во сите испитувани групи.

Табела бр. 18 Приказ на Spearman-овиот коефициент на корелација помеѓу ПГЕ2 и ИДП, ИГИ и ИГК во испитуваната група со подгрупите

Пред терапија	број	Spearman	t(N-2)	p-level
ПГЕ2 & ИДП	14	0,617289	2,718001	0,018677
ПГЕ2& ИГИ	14	0,859338	5,820855	0,000082
ПГЕ2 & ИГК	14	0,626159	2,781953	0,016590
По класична терапија				
ПГЕ2& ИДП	15	0,655789	3,131996	0,007942
ПГЕ2& ИГИ	15	0,664964	3,210121	0,006833
ПГЕ2& ИГК	15	0,660237	3,169555	0,007388
По класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии				
ПГЕ2& ИДП	13	0,585540	2,395648	0,035505
ПГЕ2 & ИГИ	13	0,439155	1,621209	0,133260
ПГЕ2 & ИГК	13	0,536745	2,109859	0,058591
По класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии				
ПГЕ2 & ИДП	14	0,878310	6,363961	0,000036
ПГЕ2 & ИГИ	14	0,618070	2,723565	0,018485
ПГЕ2 & ИГК	14	0,607644	2,650357	0,021165

Приказот на Spearman-овиот коефициент на корелација помеѓу нивото на експресија на генот за СОХ-2 и ИДП, ИГИ и ИГК, даден на табела број 19, укажува дека не постои статистичка сигнификантна ранг-корелација помеѓу нивото на експресија на генот за СОХ-2 и ИДП, ИГИ и ИГК во сите испитувани групи.

Табела бр.19 Приказ на Spearman-овиот коефициент на корелација помеѓу нивото на експресија на генот за СОХ-2 и ИДП, ИГИ и ИГК во испитуваната група со подгрупите

Пред терапија	број	Spearman	t(N-2)	p-level
СОХ-2& ИДП	14	0,028999	0,100498	0,921608
СОХ-2 & ИГИ	14	0,179423	0,631794	0,539371
СОХ-2 & ИГК	14	0,216393	0,767799	0,457450
По класична терапија				
СОХ-2 & ИДП	15	0,00	0,00	1,000000
СОХ-2 & ИГИ	15	0,330515	1,262649	0,228895
СОХ-2 & ИГК	15	0,251457	0,936739	0,365970
По класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии				
СОХ-2& ИДП	13	-0,122155	-0,408201	0,690959
СОХ-2& ИГИ	13	0,122155	0,408201	0,690959
СОХ-2 & ИГК	13	-0,293173	-1,01703	0,330985
По класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии				
СОХ-2 & ИДП	14	0,121496	0,424014	0,679057
СОХ-2 & ИГИ	14	0,086425	0,300508	0,768932
СОХ-2 & ИГК	14	-0,152078	-0,533014	0,603755

На табела број 20, претставен е приказ на Spearman-овиот коефициент на корелација помеѓу ТНФ- α и ИДП, ИГИ и ИГК кој покажува дека не постои статистичка сигнификантна ранг корелација помеѓу ТНФ- α и ИДП, ИГИ и ИГК во сите испитувани групи.

Табела бр. 20 Приказ на Spearman-овиот коефициент на корелација помеѓу ТНФ- α и ИДП, ИГИ и ИГК во испитуваната група со подгрупите

Пред терапија	Valid	Spearman	t(N-2)	p-level
ТНФ- α & ИДП	13	0,101544	0,338532	0,741336
ТНФ- α & ИГИ	13	-0,084515	-0,281312	0,783692
ТНФ- α & ИГК	13	-0,455842	-1,69860	0,117466
По класична терапија				
ТНФ- α & ИДП	13	-0,146385	-0,490791	0,633218
ТНФ- α & ИГИ	13	-0,227921	-0,776363	0,453905
ТНФ- α & ИГК	13	-0,161275	-0,541984	0,598636
По класична терапија надополнета со 5 ласер-терапии				
ТНФ- α & ИДП	12	0,259100	0,848316	0,416106
ТНФ- α & ИГИ	12	-0,388650	-1,33388	0,211824
ТНФ- α & ИГК	12	0,195123	0,629126	0,543370
По класична терапија надополнета со 10 ласер-терапии				
ТНФ- α & ИДП	14	-0,130120	-0,454614	0,657501
ТНФ- α & ИГИ	14	-0,325300	-1,19169	0,256420
ТНФ- α & ИГК	14	-0,151911	-0,532414	0,604158

6.0. ДИСКУСИЈА

Современата клиничка пародонтологија како базична цел ја детерминира профилаксата и лекувањето на заболувањата на пародонталниот комплекс и е насочена кон детекција на иницијацијата, прогресијата и рецидивите, за да го сочува овој високоспецијализиран систем во оптимална функција во тек на целиот живот. Пародонтално ткивната деструкција се појавува како резултат на интеракциите помеѓу бактериите од денталниот плак и имуноинфламаторниот одговор индуциран од медијаторите како што се домакиновите ензими, цитокините и метаболитите на арахидонската киселина - простагландините. Индивидуалната насока на пародонталните заболувања и варијабилноста на клиничките параметри за детекција на активноста на заболувањата кои може да доведат до губиток на забите во отсуство на ран и соодветен третман се причина за комплексно истражување на клучните медијатори одговорни за започнување, прогресија и/или супресија на инфламаторниот одговор.

Прецизирањето на ткивната динамика на инфламаторните параметри (ПГЕ2, ТНФ- α и СОХ-2) може да биде маркер на дијагностицирањето на пародонталната болест, но и маркер на тераписката успешност, тргнувајќи од доктринарниот став дека инфламацијата е доминантен патогнетски механизам при пародонталната болест

Рамнотежата помеѓу локалните нивоа на клучните медијатори стимулирани во одговор на пародонтопатогените бактерии и нивните продукти е важна во одредувањето на имуниот одговор кон патогените.

Оттука не изненадува верификацијата на присуството на ПГЕ2 во гингивално-ткивните биоптични примероци во контролната група на здрави испитаници, каде во 9-те примероци беше детектирана просечна вредност од $52,240 \text{ pg/mg} \pm 3,85$, на истиот. Сметаме дека овој наод го одразува балансот на имуниот реактивитет кон минималните перманентни предизвици, имајќи во предвид дека клиничките индекси кај оваа група го одразуваат отсуството на инфламаторна реакција. Овој наш наод е во склад со наодите на Leibur et al. (41), при што сметаме дека претставува потврда на фактот дека имунорегулаторните механизми, како и зголемената продукција на инфламаторните медијатори се имплицирани механизми во ткивната деструкција асоцирана со пародонтална болест.

Лонгитудиналните истражувања потврдуваат дека зголемени нивоа на ПГЕ2 го идентификуваат нарушувањето на пародонталното здравје, како и зголемениот ризик за активно пародонтално заболување. Значајно зголеменото просечно ниво на ПГЕ2 во ткивните примероци кај групата пред терапија од $237,102 \text{ pg/mg} \pm 153,56$, сметаме дека претставува рефлексивна на бактериската липидна пенетрација во гингивалните ткива и хроничниот инфламаторен одговор кој значајно ја потенцира простагландин секрецијата од гингивалните фибробласти, макрофагите и неутрофилите, така овозможувајќи го ткивно деструктивниот процес на пародонталниот комплекс. Имајќи го во предвид фактот дека ПГЕ2 има редица регулаторни ефекти како што е намалувањето на прикрепувањето и миграцијата на макрофагите и стимулацијата на ослободувањето на колагеназата, фагоцитозата и коскената ресорпција, сметаме дека ваквиот наш наод е одраз на патогенетските случувања во ткивниот супстрат, а со овој наод сме во согласност со многу автори (65, 50, 96, 21, 22, 23, 27) кои

исто така регистрираат елевирани нивоа на овој маркер во пародонталните ткива при пародонтопатија. Присуството на овој метаболит на арахидонско киселинската каскада во гингивалните ткива и неговата зголемена просечна присутност според многумина (61, 81) е добар дијагностички индикатор за места кои имаат активна пародонтална деструкција.

ПГЕ2 има мултипни и истовремено спротивни функционални ефекти кои денес се објаснуваат со доказите за постоење на мултипни ПГЕ2 рецептори (четири ЕП рецептори) на плазмените мембрани. Разликата во експресијата и функциите на ЕП рецепторите може да биде вклучена во регулацијата на домаќиновите одговори.

ПГЕ2 индуцира Т-клеточна пролиферација, причинува апоптоза на Т-клетките во зависност од степенот на матурациската сосотојба на клетките, а се смета дека го менува балансот во корист на Th 2 одговорот, во еден дел со помош на ЕП-4 рецепторно посредуваната инхибиција на ИЛ-12 продукцијата од моноцитите/макрофагите како и со директно дејствување врз Т-клетките да ја супресираат продукцијата на ИЛ-12 и интерферон γ (33).

Дали Th1 или Th2 одговорот е доминантен во пародонталните лезии сеуште е предмет на контроверзи.

Литературата потврдува дека ПГЕ2 ги down-регулира ИЛ-1 β , TNF- α и липополисахаридно индуцираната експресија на интерклеточна адхезиона молекула-1 преку ЕП-2/ЕП-4 рецепторите во хуманите гингивални фибробласти (53, 54, 55).

Комбинацијата на ИЛ-4 и ниски нивоа на ПГЕ2 синергистички ја потенцира ИгГ продукцијата во гингивалното ткиво (30). ПГЕ2 покажува двоен ефект врз ИгГ продукцијата, при што високи дози го намалуваат, а ниски дози го зголемуваат ИгГ нивото. Нашите наоди на намалување на просечното присуство на ПГЕ2, а зголемување на присуството на ИгГ во гингивалното ткиво (67) по терапија ја поткрепуваат теоријата дека

локалните нивоа на ПГЕ2 може да ја регулираат ИгГ продукцијата и да го потенцираат цитокин индуцираното менување на Иг класите во гингивалното ткиво

Веројатно е дека при одредени услови, ПГЕ2 не само што функционира како проинфламаторен медијатор, туку исто така поседува и антиинфламаторни можности на автокрин и паракрин начин во пародонталните лезии. Останува неразјането како двојните ефекти на ПГЕ2 се регулирани.

Простагландините имаат бимкомплексни бимодални ефекти врз ресорпцијата и формирањето на коската кои можат да бидат многу зависни од локалната концентрација на метаболитите на арахидонската киселина (14, 17, 98).

Ефектот на ПГЕ2 врз коскениот метаболизам е комплексен и може на некој начин да е и контрадикторен. Генерално ПГЕ2 се смета дека е моќен стимулатор на коскената ресорпција. Последните студии (82) со клеточни и органски култури укажуваат дека ПГЕ2 игра улога во коскената ресорпција и коскеноото формирање, а ЕП-4 рецепторите веројатно се одговорни за ПГЕ2 регулацијата на коскениот метаболизам.

Нашите резултатити верификуваат извонредна ткивна динамика на ПГЕ2 нивото при хронична пародонтална болест, проследена во пред и посттерапевскиот период.

Детектираното намалување на просечната вредност на ПГЕ2 во ткивните примероци во групата третирана со класичен терапевски модалитет ($132,174\text{pg/mg} \pm 18,60$) претставува потврда на клинички верификуваното подобрување рефлектирано со пад на мерените индексни вредности, што едновремено укажува на намалување на активноста на деструктивната фаза на сврзоткивното моделирање во овој непосреден посттерапевски период. Со овој наод на депресирање на ПГЕ2 нивото во

посттерапевскиот период кај вака третираната група на испитаници сме во согласност со литературните известувања (16, 41, 81).

Позитивната корелација на клиничките индексни вредности со ПГЕ2, забележана на табела бр.18, е во согласност со многу автори (70, 87) при што заклучуваме дека конвенционалните клинички индекси се солидни верификатори на динамиката на деструктивните случувања, односно на активноста на пародонталната болест. Едновремено, сметаме дека сепак релативно високото опстојување на просечното присуство на овој маркер во ткивото говори за сè уште присутна инфламаторна реакција, која во еден дел можеби е надополнета со дополнителна инфламаторна реакција условена од инвазивноста на самата терапевска постапка.

Анализата на варијанса на просечните вредности на ПГЕ2 во испитуваните групи дадена на табела бр.2, укажува на статистичка сигнификантност за $p=0,000000$, со што се верификува успешноста на применетите терапевски постапки. Конечно, нашите резултати укажуваат на трендот на опаѓање на просечната концентрација на ПГЕ2 во сите групи посттерапевски, но сепак фактот што вредноста на овој маркер во групата со класична терапевска постапка која е надополнета со 10 континуирани ласерски постапки ($62,809\text{pg/mg} \pm 11,377$) е извонредно блиска до просечната вредност во контролната група, сметаме дека е потврда на домиќантната ефикасност и преферабилност на овој терапевски модалитет.

Сметаме дека вака добиените резултати се должат на мултипното ласерско дејство врз пародонталниот комплекс, пред сè антиинфламаторното дејствување, стабилизирањето на циркулаторната динамика и над сè на инхибицијата на ПГЕ2 продукцијата, што ќе се реперкуира во стабилизирањето на ткивниот комплекс во вака кус временски период. Со ваквиот став сме во согласност со Тројачанец (86), Tuner&Node (89), кои го нагласуваат инхибиторното дејство на нискоинтензивниот ласер на нивото на ПГЕ2.

Сепак имајќи во предвид дека, ПГЕ2 има проинфламаторни и антиинфламаторни ефекти во зависност од рецепторите кои се вклучени, прецизната улога на истиот во физиолошките и патолошките состојби треба да биде детерминирана со разјаснувањето на сетот на лиганд-рецепторските интеракции кои зависат од мултипни фактори.

Иако денес е несомнено дефинирано зголеменото ткивно присуство на ПГЕ2 при пародонталната болест механизмот на простагландинска синтеза во пародонталните лезии е сè уште недоволно разјаснет. Претпоставено е дека СОХ-2 може да е есенцијален ензим за простагландинската продукција во пародонталните лезии. Неодамнешните известувања покажале дека СОХ-2 протеинот е прикажан во мононуклеарните инфламаторни клетки, ендотелните клетки, гингивалните фибробласти и епителните клетки во хуманата инфламирана гингива. Генерално, додека СОХ-1 е конститутивно прикажан во многуте ткива и ја поткрепува простагландинската биосинтеза неопходна за одржување на хомеостазата на ткивата и органите, СОХ-2 е индуциран по стимулација со проинфламаторните молекули, вклучувајќи ги ИЛ-1, ТНФ- α и липополисахаридот од бактериите и е *up*-регулиран во текот на инфламацијата. Токму затоа од особен интерес е разјаснувањето како СОХ-2 и ПГЕ2 експресијата се регулирани и кои улоги ги имаат во пародонталната болест.

Литературните известувања (11), говорат дека СОХ-2 е со ниско или недектибилно ниво во здрави ткива, а со што сме во согласност со нашиот наод на ниска просечна вредност на генската експресија на СОХ-2 ($0,028 \pm 0,014$) во контролната група. Сметаме дека ова се должи на нестимулираноста на гингивалните фибробласти во здравите ткива. Истоветното нотирање на нивото на СОХ-2 генската експресија во испитуваните примероци кај контролната група, кај само 9 примероци ја потврдува веќе изречената констатација дека во услови на здравје овој

параметар е присутен во минимално количество, како и ПГЕ2, што е и логично имајќи ја во предвид нивната меѓусебна условеност.

Кај контролната група нивото на генската експресија на COX-2 во ткивните примероци има јака негативна корелација со нивото на TNF- α во ткивото, сугерирајќи дека со пораст на нивото на генската експресија на COX-2 ќе дојде до намалување на нивото на TNF- α . Веројатно при пораст на нивото на COX-2 генската експресија поради предизвик од бактериските липополисахариди или цитокините, кои се и во услови на здравје присутни во мал квантум во гингивалното ткиво, доаѓа до промптно вклучување на веќе постоечкиот TNF- α во имунорегулаторните збиднувања. Ваквиот сооднос го одразува релативниот баланс во пародонталниот комплекс при здравје. Ова е во согласност и со податоците дека веројатно COX-2 игра круцијална улога во продукцијата на простагландините во пародонталните лезии.

Значајната елевација на нивото на просечна вредност на генската експресија на COX-2 во испитуваната група пред тераписки ($0,1611 \pm 0,186$), прикажана на табела бр.4, сметаме дека сугерира дека еден од патогените механизми на хроничната пародонтална инфламација *in vivo* може да биде синтезата на COX-2 од резидентните клетки во одговор на бактерискиот предизвик. Потврда на ова се и известувањата на многу автори (56, 58) кои сметаат дека гингивалните фибробласти и оралните мукозни клетки продуцираат ПГЕ2 доминантно преку COX-2. Сметаме дека нашите резултати го потврдуваат наодот на Noguchi et al.(57) дека COX-2 е индуцирана во мноцитите кои се стимулирани со липополисахаридот од *Actinomyces actinomycetemcomitans* и *P.gingivalis*.

Кај групата пред терапија јасна е јаката позитивна корелација помеѓу ПГЕ2 и COX-2, која е одраз на инфламаторните случувања во пародонталниот комплекс, поточно во гингивалното ткиво. Со овој наод се

потврдува и доминантното користење на COX-2 патот при простагландинската синтеза локално *in vivo*.

Секако елевираниите клинички индекси во испитуваната група пред терапија едновремено говорат за засилен бактериски предизвик кој е причина за нагласената инфламација која и ја причинува оваа елевација, при што зголемените нивоа на COX-2 генската експресија кај испитуваните ткива со пародонтална болест пред тераписки се во согласност со наодите на Morton&Dongari-Bagtzoglou(47).

Динамичните измени во нивото на генската експресија на овој маркер во групата третирана со класична терапија укажува на рапидно намалување на просечната вредност ($0,667 \pm 0,013$), кое сметаме дека се должи на намалениот бактериски предизвик и супресираниот инфламаторна реакција. Овој наод е во согласност и со едновременото намалување на просечното ниво на ПГЕ2 во оваа група, што укажува дека циклооксигеназниот пат е активно вклучен во простагландинската синтеза *in situ*.

По терапијата во групата третирана со класична терапија опстојува занемарлива позитивна корелација помеѓу COX-2 генската експресија и ПГЕ2 која претставува потврда за нестабилизираноста во пародонталниот ткивен комплекс, како и на сè уште присутната инфламаторна реакција, во непосредниот посттераписки период. Ова време е очигледно недоволно за стабилизирање и потполно урамнотежување на комплексните имуни механизми и враќање на состојба со карактеристики на здраво ткиво.

Во хуманите периодонтални лигаментни клетки известно е дека ИЛ-1 α и ИЛ-1 β моќно ја индуцираат ПГЕ2 синтезата преку индукција на COX-2, но и механичкиот стрес исто така ја индуцира COX-2(78). Вака севкупно условениот пораст на COX-2 укажува на круцијалната улога на овој маркер при пародонталната болест.

Сметаме дека посттерапевското намалување на овој маркер кое е следено со едновремено депресирање и на клиничките индекси сугерира дека нивото на експресија на COX-2 во гингивата ги одразува клиничките индекси при пародонтална болест и гингивалната инфламација што е во согласност и со Zhang et all. (101).

Веројатно е дека во пародонталните лезии постојат инхибиторни системи за регулација на простагландинската синтеза. Претпоставено е дека може да има стимулаторни и инхибиторни системи за регулација на простагландинската продукција во клетка-клетка интеракцијата во пародонталните лезии. Knudsen et all.(37) и Kunkel et all.(38) сметаат дека простагландините, вклучувајќи го и ПГЕ2 ја регулираат ИЛ-1 продукцијата со негативен фидбек механизам. Овие наоди едновремено сугерираат дека ПГЕ2 исто така може да има антиинфламаторни можности. Сметаме дека нагласеното намалување на нивото на овој маркер во посттерапевскиот период во сите групи го потврдува фактот дека постојат ендогени инхибитори за супресија на простагландинската продукција *in vivo*. Гликокортикоидите може да ја down- регулираат COX-2 експресијата и да ја редуцираат простагландинската продукција, но и Ил-4, ИЛ-10 и ИЛ-13 познати како антиинфламаторни цитокини може да ја инхибираат продукцијата на проинфламаторните цитокини како ИЛ-1, Ил-6, Ил-8 и TNF- α од моноцитите(12) и да ја супресираат коскената ресорпција.

Ил-4, ИЛ-10 и ИЛ-13 може да ја инхибираат простагландинската продукција преку down- регулација на COX-2 експресијата во хуманите моноците и неутрофили (51) Raffaella Teloni et all. (75)докажуваат дека ИЛ-4 ја инхибра COX-2 генската експресија и последично ја превенира и секрецијата на ПГЕ2 од хуманите дендритични клетки. Тие сугерираат дека ИЛ-4 може да користи независен од ИЛ-12 регулаторен механизам на Th 1/Th 2 системот преку ПГЕ2 инхибицијата.

Анализата на варијансата на просечните вредности на генската експресија на COX-2 во испитуваните групи, на табела бр.5 покажува дека разликата која се верифицира помеѓу просечните вредности е статистички сигнификантна за $p=0,001651$.

Во групата каде што класичната пародонтална терапија беше надополнета со 5 континуирани ласер-терапии, евидентираната јака позитивна корелација помеѓу ПГЕ2 и ТНФ- α , сметаме дека се должи на позитивните ласерски ефекти кои условуваат акцелерирање на фазите на инфламаторната реакција и дополнителната инфламаторна реакција поради трауматизацијата причинета од конзервативната терапија, што говори за акцентираното дејство на сите имуни механизми во гингивалното ткиво и пародонталниот комплекс. Ова е во согласност и со TülayYücel-Lindberg et all.(88) кои докажуваат дека инфламаторните медијатори ИЛ-1 и ТНФ- α ја засилуваат продукцијата на ПГЕ2 во хуманите гингивални фибробласти, а сметаат дека клетка-клетка контактот помеѓу гингивалните фибробласти и лимфоцитите силно ја стимулираат ПГЕ2 продукцијата поради засилената COX-2 генска експресија во фибробластите. Затоа клетка-клетка контактот треба да се смета за важен регулаторен аспект за засилување на ПГЕ2 при пародонталната болест.

Конечно, во групата каде што класичната пародонтална терапија беше надополнета со 10 континуирани ласер-терапии, просечната вредност на COX-2 генската експресија($0,035 \pm 0,013$) е извонредно блиска до онаа вредност која е забележана кај контролната група. Се забележува јака негативна корелација помеѓу ПГЕ2 и ТНФ- α , на табела бр.17, која на извесен начин го потврдува стабилизирањето на збиднувањата во пародонталниот комплекс поради доминантното дејствување на ласерот. Споредувајќи го овој наод со наодот на корелираност кај контролната група, на табела бр.13, забележуваме дека постои негативна корелација на нивото на COX-2 генската експресија и ТНФ- α . Веројатно овој наод говори

дека во оваа испитувана група ткивата се во кондиција слична на онаа кај контролната група, но за разлика од нив каде корелација постоеше со COX-2 mRNA како чинител кој е подготвен за активирање и создавање на ПГЕ2, во ласерски третираната група оваа истоветна негативна корелација е со ПГЕ2. Ова сметаме дека се должи веројатно на прекилот на синтетизирање на COX-2 mRNA во клетките од гингивалното ткиво, како одговор на стабилизирање на пародонталниот комплекс во еден дел, но секако најверојатното објаснување е инхибиторното дејство на нискоинтензивниот ласер токму врз COX-2 mRNA експресијата, што е верификувано и од Sakurai et al. (77).

Неодамна беше покажано дека Er:YAG ласерот индуцира COX-2 експресијата да продуцира ПГЕ2 на начин зависен од ласерската енергија, сугерирајќи дека COX-2 зависната ПГЕ2 синтеза од Er:YAG ласерската ирадијација може да игра важна улога во забрзувањето на гингивалната фибробластна пролиферација (69). За инхибиторен ефект на ласерот врз нивото на ИЛ-1 β mRNA нивото, но не и на нивото на конвертирачкиот ензим известуваат и Nomura et al. (59).

Не смее секако да се исклучи и можноста дека ПГЕ2 ја супресира активноста на TNF- α (16,43), а која е потенцирана со ласерското дејство. DeCarvalho et al. (15) укажуваат на ласерски индуцираната инхибиција на COX-2 во анимален модел.

Сметаме дека вака добиените резултати се последица на доминантната ласерска инхибиција на генската експресија на COX-2 во ткивото. Ваквиот наш наод е во согласност со Sakurai et al. (77) според кои, Ga-Al-As диодна нискоенергетска ласерска ирадијација го инхибира *Campylobacter rectus* липополисахаридно индуцираниот ПГЕ2 во хуманите гингивални фибробласти преку редукција на COX-2 mRNA нивоата.

Со добиените резултати од нашето истражување, покрај докажувањето на зголемено присуство на ПГЕ2 во инфламираното

гингивално ткиво се укажува и на тоа дека зголемените нивоа на овој медијатор можат да бидат причинети од локална up- регулација на COX-2 експресијата. Структурата на COX-2 генот е во согласност со онаа на "immediate-early" генски продукт која може рапидно да биде up- регулирана во време кога тоа е потребно. Веројатно е дека COX-2 игра круцијална улога во продукцијата на простагландините во пародонталните лезии.

Цитокините, мали полипептиди со широк спектар на инфламаторни, хемотактични, метаболни и имуномодулаторни можности, заедно со нивните рецептори формираат мрежа со висока комплексност која е под цврста, но комплексна биолошка контрола вклучувајќи позитивен и негативен фидбек од самите цитокини. TNF- α и ИЛ-1 α/β функционираат како циркулирачки медијатори со долгорочни биолошки активности при екстремно ниски концентрации дејствувајќи преку специфични рецептори врз целните клетки, а се инволвирани во Th 1 имуните одговори и индуцираат главно клеточно посредувана имуност.

Нашите наоди верификуваат присуство на TNF- α во гингивално ткивните примероци во контролната група ($5,201 \text{ pg/mg} \pm 3,213$) кое сметаме дека не е неочекувано, бидејќи мал број на инфламаторни клетки се обично присутни во клинички здрави гингивални ткива, како што потврдуваат и литературните податоци (84). Сепак постојат и известувања (83) за потполно отсуство на овој медијатор во здрави ткивни примероци.

Имајќи го предвид фактот дека TNF- α и ИЛ-1 α/β се вклучени во патогенезата на пародонталната болест и се моќни индуктори на простагландинската продукција во мноштво клетки вклучувајќи ги и хуманите гингивални фибробласти (56), елевираното ниво на просечната вредност од $46,010 \text{ pg/mg} \pm 1 6,69$, детектирано во ткивата во групата пред терапија не изненадува и соодветствува со едновремено зголеменото присуство на ПГЕ2.

Сметаме дека капацитетот на хуманите гингивални ткива да продуцираат ПГЕ2 во одговор на ТНФ- α , сугерира дека веројатно фибробластните клетки дополнително придонесуваат во оркестрацијата на имунопартиципирачките клетки во домаќиновата одбрамбена мрежа при пародонталната болест. Овој наш наод е во согласност со многумина (24, 35, 60, 76, 84) кои сметаат дека ТНФ- α добиен од моноцитите има слични проинфламаторни ефекти како ИЛ-1 предизвиканата активација на полиморфонуклеарите, продукција на колагеназа и ПГЕ2 од фибробластите.

ТНФ- α предизвикува активација на Т клеточната пролиферација, НК клеточната пролиферација, стимулација на протеазите и ПГЕ2 кои се продуцирани од фибробластите, како и засилување на ИЛ-1 продукцијата. (24,36), па оттука не изненадува фактот за иако депресирано, сепак сè уште релативно високо просечно ниво на овој цитокин ($31,594 \text{ pg/mg} \pm 17,937$) во ткивата во групата третирана со класична терапија. Опстојувањето на сè уште голем број инфективни и инфламаторни стимули предизвикуваат биосинтеза на ТНФ.

Следењето на измените на клиничките индекси во посттерапевскиот период говори дека тие регистрираат подобрување на клиничката кондиција на пародонталните ткива кое е во согласност и со измените на просечните вредности на овој маркер, со што сме во согласност со Yakovlev et al (97), наспроти ставот на Kjeldsen et all. (35) кои сметаат дека не е утврдена поврзаноста на овој маркер со индексот на дентален плак.

Nishikawa et all. (52) сугерираат дека ТНФ- α партиципира во периодонтално лигаментната деструкција со стимулирање на продукцијата на матрикснитеметалопротеинази-ММП (ММП-1, ММП-3 ММП-13), додека ендогениот ПГЕ2 има негативна фидбек улога во ТНФ- α засилената ММП-13 продукција.

Сметаме дека не така нагласеното опаѓање на нивото на ТНФ- α во ткивата во групата третирана со класична терапија надополнета со 5 ласерски постапки ($21,26\text{pg/mg} \pm 3,46$) го потврдува сè уште присутното стимулирање на моноцитно/макрофагниот систем и Th1 клетките, во резултат од ласерското дејствување. Корелацијата која ја детектираат Gorska et all. (28) помеѓу високиот сооднос на ИЛ-1 β кон ИЛ-10 и на ТНФ- α кон ИЛ-4 најдени во инфламираните ткива и високите ИГК, ИДП и губиток на атачмент го потврдува активирањето на регулаторните механизми во пародонталните ткива. ИЛ-4 ја супресира синтезата на проинфламаторните цитокини, вклучувајќи ги ИЛ-1 и ТНФ- α , кои дејствуваат на инфламацијата, ткивната деструкција, коскената ресорпција и продукцијата на матриксните металопроотеинази и ПГЕ2 (100), па затоа сметаме дека нашите резултати го потврдуваат ласерското позитивно дејство во акцентирање токму на регулаторните пародонтални механизми, имајќи во предвид дека нивото на ТНФ- α во групата третирана со класична терапија надополнета со 10 ласерски постапки е со просечна вредност од $12,075\text{pg/mg} \pm 4,43$ кое е доста блиско со нивото регистрирано кај контролната група.

Уште повеќе графиконот бр.3, евидентира дека просечните вредности на ТНФ- α во групите каде класичната терапија е надополнета со континуирани ласерски постапки (5 и 10) се блиски едни на други, а значително помали од онаа регистрирана кај групата со класична терапија. Регистрираната разлика помеѓу просечните вредности на нивото на ТНФ- α во испитуваните групи, прикажана на табела бр.8 е статистички сигнификантна за $p=0,000000$ и е потврда за динамичноста на измените и секако за ефикасноста на преземените терапевтски постапки.

Како деструктивен фактор ТНФ- α е директно цитотоксичен за ендотелните и некои други клетки, а ја индуцира биосинтезата на колагеназите, протеазите, реактивните кислородни продукти и метаболитите на арахидонската киселина. Можна е и неговата улога во

ограничувањето на инфекцијата што се верификува со нашите резултати добиени во посттерапевскиот период во сите испитувани групи, но најакцентирано во групата третирана едновременно и со 10 ласер-терапии.

Динамичните измени во просечното ниво на ТНФ- α од пред терапевскиот период од $46,010\text{pg/mg} \pm 1\ 6,692$, се до $12,075\text{pg/mg} \pm 4,432$ во групата третирана дополнително и со 10 ласер постапки, укажува на сензитивноста на овој маркер како валиден параметар за детекција на инфламаторните збиднувања, но и на ефикасноста на терапевските постапки.

Не постои корелација помеѓу ТНФ- α и клиничките индекси, како што потврдуваат и нашите резултати на табела бр. 20, а што е во согласност со Kjeldsen et al.(35) кои укажуваат дека не постои корелација помеѓу ТНФ- α и гингивалната инфламација или длабочината на пародонталниот џеб, а сугерираат и дека ТНФ- α во гингивалниот флуид е обратно поврзан со ткивната инфламација.

Нашите добиени резултати на непостоење на корелација помеѓу ТНФ- α и СОХ-2 ткивните нивоа од една страна и клиничките индекси од друга страна, сугерираат дека овие два параметра (ТНФ- α и СОХ-2 генската експресија) може да бидат извонредно сензитивни маркери на раната инфламаторна активност поради недостаток на корелација на клиничката инфламација и нивото на ТНФ- α и СОХ-2 генската експресија.

Фактот дека пародонталната болест минува низ периоди на егзацербација и спонтана ремисија сугерира дека е можно да сите места од кои примероците беа земани немале активност во времето на земање, па оттука можеби и верификацијата на присуството на ткивните маркери во нашите примероци беше регистрирана во различен број на примероци во испитуваната група со подгрупите. Веројатно објаснување е дека различни форми на заболувањето може да се појават при кои овие медијатори се различно инволвирани.

Базирајќи се на познавањето на етиопатогенетските случувања кои го условуваат и овозможуваат пародонтално деструктивниот процес, применување на соодветни терапевтски постапки во лекувањето на пародонталната болест има за цел запирање на инфламаторно деструктивните измени во пародонциумот, реставрирање на функционалниот интегритет, па до некаде и реконтурирање на потпорниот комплекс. Терапевтскиот приод е насочен кон максимална елиминација или супресија на пародонтопатогените микроорганизми, во контролирање на нивната експанзија и оневозможување на рапидниот плаков раст.

Конвенционалната терапевтска стратегија примарно е базирана на механичката обработка, бидејќи субгингивалниот плак и плак ретинирачките фактори во пародонталните џебови, како конкрементите или ирегуларностите и ендотоксин депозитите на цементот се поврзани со деструктивниот тек на заболувањето и може да имаат улога во реколонизацијата со патогени микроорганизми, со што ќе се оневозможи реатачмент на мекоткивните структури за забните површини. Намалување на бројот на бактериите и нарушување на екологијата во самиот биофилм по механичката обработка резултира во намалување на инфламаторните измени, така да домаќинот ќе може да се справи со преостанатите бактерии.

Нашите резултати ја потврдуваат ефикасноста на терапевтските постапки преку нотирање на клиничките индекси за детекција на кондицијата на пародонталните ткива. При тоа евидентна е тенденцијата за опаѓање на вредноста на индексот на дентален плак (ИДП) во групите по терапијата во однос на пред терапевтските вредности, од табеларниот приказ бр.10, при што најголема присутност на ИДП=0 има кај испитаниците во групите кои се третирани со класична терапија надополонета со 5 (23%) и 10 (35,7%) лазер постапки, а процентуалната разлика е статистички сигнификантна ($p=0,000000$) во однос на групата пред терапија, како и групата третирана со класична терапија. Овој наод е потврда не само на

ефикасноста на тераписките постапки, туку ваквиот наод се должи и на дополнителното позитивно антиплак дејствување на ласерот. Ваквиот наод е во согласност со многумина(4, 32, 95), а спротивен на Zimmerman (102).

Нашите резултати на графикон бр. 4, забележуваат тренд на опаѓање на вредноста на индексот на гингивална инфламација(ИГИ) во испитуваната група со подгрупите, при што непостоење на воспаление на гингивата се регистрира само во групите третирани со класична терапија надополнета со 5 (23,1%) и 10 (57,1%) ласерски постапки, а процентуалната разлика која се јавува во однос на групите пред и по класичната терапија е статистички сигнификантна за $p=0,072$.

Овој наод е потврда за ласерското акцесорно дејствување кое условува стабилизирање на микроциркулаторната динамика, со фаворизирање на циркулацијата и со тоа и на лимфната дренажа, со што условува далеку побрзо справување со едемот и либерирање на ткивото од непожелните метаболни продукти на инфламаторните случувања, со што ткивото се кондиционира до состојба на здравје.

Анализата на индексот на гингивално крвање (ИГК) во испитуваната група со подгрупите, на табела бр.12 и графикон бр.5, укажува на јасна процентуална разлика која се регистрира помеѓу немањето на крвање по сондирање (ИГК=0) и појавата на крвање по 30 сек.(1) помеѓу групите со класична терапија и групите третирани со класична терапија надополнета со 5 (76,9% и 23,1%) и 10 (85,7% и 14,3%) ласер постапки, од една страна и групата со класична терапија и групата пред терапија, од друга страна, што е статистички сигнификантно за $p=0,0371$. Ова е уште една потврда за интензивните позитивни случувања предизвикани од ласерот во пародонталниот комплекс.

Нашите резултати (табела бр.8) забележуваат дека постои статистичка сигнификантна ранг-корелација помеѓу ПГЕ2 и ИДП, ИГК и ИГК во сите испитувани групи.

Сметаме дека овој наод укажува на валидноста на мерењето на ткивните концентрации на ПГЕ2, како индикатор на активноста на заболувањето, но уште повеќе како маркер на ефикасноста на тераписките постапки. Едновремено се потврдува и успешноста на сите нотирани клинички индекси во проценувањето на здравјето на пародонталниот комплекс.

Нашите добиени резултати на непостоење на корелација помеѓу ТНФ- α и COX-2 mRNA нивоата од една страна и клиничките индекси од друга страна, дадени на табела бр.19 и табела бр.20, сугерираат дека овие два параметра (ТНФ- α и COX-2 mRNA) може да бидат маркери на раната инфламаторна активност, токму поради недостаток на корелација на клиничката инфламација и ТНФ- α и COX-2 mRNA експресијата.

Недоволната сензитивност на клиничките индекси во детектирањето на корелираноста на суптилните измени во тек на пародонталната болест, посочува на потребата од извонредно внимателен дијагностичко-терписки приод. Сметаме дека клиничките параметри може да бидат земени во предвид при дефинирање на типот на пародонталната деструкција (активна /неактивна), но се немоќни за детерминирање на разликите во чувствителноста на организмот и имуноинфламаторниот одговор и со овој став сме во согласност со Kuru et al (39).

Натамошни истражувања за физиолошката улога на гингивалните ткива во тек на хроничната пародонтална бактериска инфекција во пародонциумот може да бидат од корист за развој на нови терапии кои ја регулираат мрежата на цитокини во гингивалното сврзно ткиво во напор да се превенира развојот на несаканите пародонтални заболувања.

Фармаколошките насоки оформени за третман на пародонталната коскена деструкција, генерално се насочени кон бактериите во лезиите или кон домаќиновиот одговор кон бактериите. Искористувањето на антиинфламаторните агенси како антагонистите на ИЛ-1 и ТНФ- α , COX-2

исто така може да бидат земени во предвид, бидејќи резултатите од анималните и хумани истражувања сугерираат дека може да ветуваат нова перспектива во третманот на пародонталните заболувања.

Нестероидните анти-инфламаторни лекови (НСАИД) како што се аспирирот и циклооксигеназните инхибитори (обата COX-1 и COX-2) се применуваат за блокирање на простагландинската синтеза (3), но литературните известувања за нивната ефикасност се контроверзни, а сепак ја нагласуваат можноста од бројни несакани ефекти на истите.

Физикална процедура која ќе го комплетира и акцентира терапискиот успех при третманот на пародонталната болест е ласер-терапијата, која ќе ги потенцира сите позитивни контролни механизми кои водат до санација на пародонталните лезии.

Екстензивните литературни податоци сублимирани од научните и клиничките истражувања, кои честопати се неунифицирани, понекогаш контрадикторни, сепак апострофираат дека ласерското светло дејствува поволно на хипоксијата и нарушената трофика, на инфламаторните и дистрофичните процеси, соодветствувајќи со зголемување на протективните сили и активација на репараторните ткивни механизми.

Сметаме дека поливалентното ласерско дејствување, со кое рапидно се ограничува инфламаторниот процес, нормализирањето на микроциркулаторната мрежа, локалното имуно модулирање и акцентираниот епителизација се причини за далеку подобро клиничко кондиционирање на пародонталниот комплекс во групите третирани дополнително со ласер, како што верификуваат и нашите резултати на графиконите бр.4, 5 и 6, а се во склад со Qadri et all. (73) кои забележуваат редукција на испитуваните клинички индекси по ласер-терапијата на пародонталната инфламација.

Статистичката значајност ($p < 0,0000$) добиена за плак инхибирачкото ласерско дејствување кореспондира со Lee et al.(40), Wilson (95), а е опортуна на Iwasse et al.(32).

Нашите наоди за извонредна ефикасност на комбинираните модалитети со 5 и 10 ласер-терапии, се во согласност со многумина (1, 49, 66) кои го потврдуваат позитивното ласерско дејство во терапијата на гингивитите и пародонтопатијата.

Оваа терапевска постапка ја супримира инфламацијата и ги коригира локалните одбрамбени фактори со акцелерирање на сите фази на инфламаторниот процес, како и со стимулирачките ефекти на микрофагоцитниот систем во циркулацијата (31).

Клетките кои се во состојба на ниска кислородна кондиција, ацидно рН или недостаток на нутриенци се многу почувствителни и пореспонсивни на дејството на ласерот од оние со оптимални услови што сметаме се огледа во нашите резултати за ефикасноста на оваа терапија при пародонталната болест која ја потврдуваат и литературните податоци (13, 34, 46).

Супресијата на инфламаторната реакција во добар дел се должи и на ласерски условената инхибиција на ПГЕ2 синтезата, која е евидентирана во нашето истражување, а е во согласност со Mizutani et al. (45), Shimizu et al. (79) кои детектираат сигнификантно инхибирање на порастот на ПГЕ2 со ласер-терапијата кое е зависно од дозата.

Ласерот ги блокира цикло и липооксигензите и влијае на синтезата на простагландините и простациклините. Акцентираното создавање на липидни пероксиди поради ласерското дејство е причина за инхибиција на синтезата на простагландините. Ласерот има инхибиторен ефект врз нивото на $IL-1\beta$ mRNA нивото, но не и на нивото на конвертирачкиот ензим (59).

Нашите резултати за нагласена депресија на просечната присутност на генската експресија на COX-2 во ласерски третирани групи укажува

дека редуцирајќи го и нивото на COX-2 генската експресија, ласерот ја инхибира и ПГЕ2 синтезата со што сме во согласност со Sakurai et al.(77), како и со DeCarvalho et al. (15) кои укажуваат на ласерски индуцираната инхибиција на COX-2 во анимален модел. Qadri et al. (72) заклучуваат дека ласерот има позитивен ефект врз пародонталната инфламација детектирајќи пад на MMP-8, а Campana & Gavotto (10) евидентираат дека ласерот ги нормализира плазматските вредности на ПГЕ2 и фибриногенот при експериментално индуцирана инфламација

Иако базичните механизми на ласерската нискоенергетска трансдукција во биолошка активност не е разјаснета, Allendorf (2) претпоставува дека феноменот на биостимулацијата се одвива на целуларно ниво преку порастот на проколаген mRNA продукцијата, зголемено вкрстено врзување на постоечките колагени молекули, забрзување на епителното репарирање и порастот на гранулационо ткиво.

Според Efanov (19) биомикроскопските истражувања и реографијата на пародонталниот комплекс по ласер-терапијата покажуваат нормализација на циркулацијата, намалување на капиларната пермеабилност и конгестија на вените и засилена оксигенација. Ласерот ја засилува фибринолизата, протеолитичната активност на ткивото и ја намалува ексудативната инфламација во пародонтот што се потврдува и во нашите добиени резултати на извонредна ефикасност токму на комбинираните постапки.

Согледувајќи ги севкупно нашите резултати за клиничкото кондиционирање како резултат на применетите терапевски модалитети, а објективизирано не само со динамичните измени на применетите клинички индексни вредности, туку уште повеќе со нивоата на маркерите во гингивалното ткиво, може да заклучиме дека конвенционалната (нехируршка) терапија е база за позитивното ласерско дејство.

Сметаме дека комбинираната терапија (класична надополнета со ласер-терапија) е преферабилен тераписки модалитет.

Сепак, доминантната супресија на инфламаторната реакција, активацијата на сите позитивни контролни механизми и секако акцелерираната регенерација и репарација, како и имуномодулаторното дејство се причина класичниот протокол надополнет со 10 континуирани ласер-тераписки постапки, со кои се започнува веднаш по отстранувањето на меките и цврсти наслаги го сметаме за терапија на избор која ќе овозможи не само извонредно клиничко кондиционирање, туку и стабилизирање на пародонталниот комплекс што ќе причини пролонгирано одржување на вака постигнатите резултати.

Нашите резултати ја потврдуваат оправданоста на инкорпорирањето на ласерската тераписка постапка во третманот на пародонталната болест, но ја апострофираме ултимативната потреба од солидна конвенционална терапија, која ќе биде база за остварување на бенефитите на ласерското дејствување во пародонтално ткивниот комплекс. Апсолутно неоправдано е аплицирањето на ласер-терапијата без отстранување на забните наслаги, како и без солиден класичен тераписки протокол на лекување на пародонталната болест.

Конечно, имајќи го во предвид фактот дека ласерот не е револуционерно откритие кое е универзално решение за се, а придржувајќи се до хуманиот бихејвиорален концепт за стоматолошката терапија, трудејќи се да го минимизираме дискомфортот при нашите интервенции како и анксиозноста на пациентите го препорачуваме применувањето на биостимулирачкиот ласер како безбедна, неинвазивна физикална тераписка постапка која нуди извонредни ефекти во терапијата на пародонталната болест.

7.0. ЗАКЛУЧОЦИ

Компаративната анализа на ефектите од применетите терапевски модалитети (конвенционална и комбинирана терапија), кај пародонталната болест овозможена со верификација на инфламаторните маркери ПГЕ2, TNF- α и COX-2 и клиничките параметри, како и детектирањето на дејството на ласерското светло во патогенетските збиднувања во интегралниот систем на пародонтот не упатува на следните заклучоци:

- Динамичните измени во нивото на ПГЕ2 во гингивалното ткиво во посттерапевскиот период во испитуваните групи нотираат статистичка сигнификантност за $p=0,000000$, верификувајќи ја успешноста на применетите терапевски постапки кои резултираат со намалување на активноста на деструктивната фаза на сврзоткивното моделирање. Вредноста на овој маркер во групата со класична терапија надолполнета со 10 ласерски постапки е извонредно блиска до просечната вредност во контролната група и е потврда на доминантната ефикасност на овој терапевски модалитет која се должи на мултипното ласерско дејство во пародонталниот комплекс, но пред сè на инхибицијата на ПГЕ2 продукцијата, што се реперкуира во стабилизирањето на ткивата во вака кус временски период.
- Значајната елевација на нивото на просечна вредност на генската експресија на COX-2 во групата пред терапија сугерира дека еден од механизмите на хроничната пародонтална инфламација *in vivo* може да биде синтезата на COX-2 од резидентните клетки во одговор на бактерискиот предизвик. Јаката позитивна корелација помеѓу ПГЕ2 и COX-2, во оваа група е одраз на инфламаторните случувања во

гингивалното ткиво и е потврда дека зголемените нивоа на ПГЕ2 можат да бидат причинети од локална up- регулација на COX-2 експресијата. Посттерапевското намалување на нивото на генската експресија на COX-2 во испитуваните групи е статистички сигнификантно за $p=0,001651$, при што во групата каде класичната терапија беше дополнета со 10 ласерски постапки, просечната вредност на COX-2 генската експресија е извонредно блиска до вредноста на контролната група, а е рефлексija на ласерското делување на целуларно ниво.

- Елевираното ниво на просечната вредност на ТНФ- α во групата пред терапија соодветствува со зголеменото присуство на ПГЕ2 потврдувајќи го фактот дека ТНФ- α е силен индуктор на простагландинската продукција при пародонталната болест. Динамичните измени на просечното ниво на ТНФ- α во посттерапевскиот период детектираат статистичка сигнификантност за $p=0,000000$, а нивото на ТНФ- α во групата третирана со класична терапија дополнета со 10 ласерски постапки е блиско со нивото регистрирано кај контролната група, што укажува на антиинфламаторната ефикасност на ласер-терапијата.
- Јаката негативна корелација помеѓу ПГЕ2 и ТНФ- α , во групата третирана и со 10 ласерски постапки, го потврдува стабилизирањето на збиднувањата во пародонталниот комплекс поради доминантното дејствување на ласерот. Сметаме дека во оваа група ткивата се во кондиција слична на онаа кај контролната група, но за разлика од нив каде јака негативна корелација постои со COX-2 mRNA како чинител кој е подготвен за активирање и создавање на ПГЕ2, во оваа ласерски третирана група истоветната негативна корелација со ПГЕ2 веројатно се должи на прекилот на синтетизирање на COX-2 mRNA во клетките од гингивалното ткиво, како одговор на стабилизирање на пародонталниот комплекс во еден дел, но секако најверојатното објаснување е инхибиторното дејство на нискоинтензивниот ласер токму врз COX-2 mRNA експресијата.
- Ефикасноста на применетите терапевски постапки преку нотирање на клиничките индекси за детекција на кондицијата на пародонталните ткива, евидентира статистички сигнификантност за $p=0,000000$ за ИДП,

статистичка сигнификантност за $p=0,072$ за ИГИ, како и статистичка сигнификантност за $p=0,0371$ за ИГК во групите третирани дополнително со ласер (5 и 10 постапки) во однос на групата пред терапија и онаа третирана со класична постапка, со што се потврдува суфициентното дејствување на ласерот врз динамичниот дентален плак, како и врз стабилизирањето на микроциркулаторната динамика, фаворизираната циркулација, а со тоа и лимфната дренажа, со што доаѓа до далеку побрзо справување со едемот и либерирање на ткивото од непожелните метаболни продукти на инфламаторните случувања, а ткивата се кондиционираат до состојба на здравје.

- Статистичката сигнификантна ранг-корелација помеѓу ПГЕ2 и ИДП, ИГК и ИГК во сите испитувани групи укажува на валидноста на мерењето на ткивните концентрации на ПГЕ2, како индикатор на активноста на заболувањето, но уште повеќе како маркер на ефикасноста на терапевските постапки.
- Непостоењето на корелација помеѓу ТНФ- α и COX-2 mRNA нивоата и клиничките индекси, сугерира дека овие два параметра може да бидат маркери на раната ткивна инфламаторна активност поради недостаток на корелација на клиничката инфламација и ТНФ- α и COX-2 mRNA експресијата. Недоволната сензитивност на клиничките индекси во детектирањето на корелираноста на суптилните ткивни измени во тек на пародонталната болест, посочува на потребата од извонредно внимателен дијагностичко-терапевски приод.
- Согледувајќи ги севкупно нашите резултати за ефикасноста на применетите терапевски модалитети, објективизирани со измените на клиничките индекси и нивоата на маркерите во гингивалното ткиво, заклучуваме дека конвенционалната терапија е солидна база за дополнителното ласерско дејство. Сметаме дека комбинираната терапија (класична надополнета со ласер-терапија) е преферабилен терапевски модалитет поради акцесорното поливалентно ласерско дејствување, со кое рапидно се ограничува инфламаторниот процес, се нормализира микроциркулаторната мрежа, како и локалното имуно

дејствување што причинува подобра клиничка состојба на пародонталниот комплекс.

- Сепак, доминантната супресија на инфламаторната реакција, активацијата на сите позитивни контролни механизми, акцелерираната регенерација и репарација и имуномодулаторното дејство се причини класичниот протокол надополнет со 10 континуирани ласер-тераписки постапки, со кои се започнува веднаш по отстранувањето на меките и цврсти наслаги го сметаме за терапија на избор која ќе овозможи извонредно клиничко кондиционирање и стабилизирање на пародонталниот комплекс што ќе причини пролонгирано одржување на вака постигнатите резултати.
- Конечно, имајќи го во предвид фактот дека ласерот не е револуционерно откритие кое е универзално решение за се, а придржувајќи се до хуманиот бихејвиорален концепт за стоматолошката терапија, трудејќи се да го минимизираме дискомфортот при нашите интервенции како и анксиозноста на пациентите го препорачуваме применувањето на биостимулирачкиот ласер како безбедна, неинвазивна физикална тераписка постапка која нуди извонредни ефекти во терапијата на пародонталната болест.

8.0. ЛИТЕРАТУРА

1. Abolmasov NG., Abolmasov NN., Shashmurina VR.
Results and prospects for combined treatment of periodontal diseases
(clinico-experimental study)
Stomatologija (Mosk) 2001;80(1):83-7
2. Allendorf JDF
HE NE laser irradiation at fluences of 1,2,and 4 J/cm² failed to accelerate
wound healing as assessed by both wound contracture rate and tensile
strength
Lasers in Surgery and Medicine, 1997; 20:340-345
3. Alpdogan Kantarci & Thomas E. Van Dyke
Resolution of inflammation in periodontitis
J. Periodontol. 2005 November; 76(11 Suppl): 2168-2174
4. Atanasova E., Nakova M., Pesevska S., Angelov N.
The use of soft laser in the treatment of pericoronitis
2 nd-Congress of the Balkan Stomatological Society (Book of abstracts).
Belgrade: Balkan Stomatological Society, 1997:115
5. Badersten A., Nilveus R., Egelberg J.
Effect of non- surgical periodontal therapy. I. Moderately advanced
periodontitis
J. Clin. Periodontol. 1981; 8: 57-72

6. Badersten A., Nilveus R., Egelberg J.
Effect of non-surgical periodontal therapy. II. Severely advanced periodontitis
J. Clin. Periodontol. 1984; 11: 63-76
7. Badersten A., Nilveus R., Egelberg J.
Effect of non-surgical periodontal therapy. III. Single versus repeated instrumentation
J. Clin. Periodontol. 1984; 11: 114-120
8. Badersten A., Nilveus R., Egelberg J.
Four-year observations of basic periodontal therapy
J. Clin. Periodontol. 1987; 14:438-444
9. Богдановски И., Накова М. и сор.
За стоматолошката болка
Стоматолошки клинички центар, Скопје 1998
10. Campana VR., Gavotto A.
The relative effects of He-Ne laser and meloxicam on experimentally induced inflammation
Laser Therapy 1999; Vol. 11. No 1, 36-42
11. Cavanaugh PF Jr., McDonald JS., Pavelic L., Limardi RJ., Gluckman JL., Pavelic ZP.
Immunohistochemical localization of prostaglandin H synthase isoenzyme proteins in the gingival tissue of patients with periodontitis
Inflammopharmacology 1995;3:109-119
12. Chomarat P., Banchereau J.
An update on interleukin -4 and its receptor
Eur. Cytokine Network 1997;8:333-344

13. Chomette G. et all.
Effet du soft laser sur le tissu conjuctif gingival. II-Effet sur la cicatrsation.Etude en microscopie optique,histoenzymologie et microscopie electronique.
J. Biol. Buccale. 1987;15-57
14. Chyun YS., Raisz LG.
Stimulation of bone formation by prostaglandin E2
Prostaglandins 1984;27:97-103
15. De Carvalho FAS., Albertine R., Cavantes MC., Zangaro RA., Neto HCCF., Pacheco MTT.
Effect of Low Level Laser Therapy (LLLТ) on cyclooxygenase- 2 (COX2) metabolites after LPS intra-tracheal instillation in rats
Photomedicine and Laser Surgery. 2005; 23 (1).
Selected abstracts from the 5th WALT Congress, São Paulo, Brazil, November 2005
16. Dewhirst F., Moss DE., Offenbacher S., Goodson M.
Levels of Pge2, thromboxane and prostacyclin in periodontal tissues
Journal of Periodontal Research 1983; 18:156-163
17. Dietrich JW., Goodson JM., Raisz LG.
Stimulation of bone resorption by various prostaglandins in organ culture
Prostaglandins 1975;10:231-238
18. Dubois RN.,Abramson SB.,Crofford L. et all.
Cyclooxygenase in biology and disease
FASEB1998;12:1063-1073
19. Efanov O.I.
Laser therapy for periodontitis
Proceedings of SPIE -Volume 4422 Low-Level Laser Therapy, Tatiana I. Solovieva, Editor, April 2001, pp. 26-29

20. Ejeil AL., Gaultier F., Igondjo-Tchen S., Senni K., Pellat B., Godeau G., Gogly B.
Are cytokines linked to collagen breakdown during periodontal disease progression?
J. of Periodontol. 2003Feb;74(2):196-201
21. ElAttar T
PGE2 in human gingiva in health and disease and its stimulation by female sex steroids
Prostaglandins, 1976; 11:331,
22. ElAttar T., Lin H.
Biosynthesis of prostaglandins E2 and F2 in gingiva of patients with chronic periodontitis
J. Dent. Res. 1981; 60:748-750
23. ElAttar T., Lin H.
Relative conversion of arachidonic acid through lipoxygenase and cyclooxygenase pathways by homogenates of diseased periodontal tissues
J. Oral. Pathol. 1983;12:7-11
24. 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
25. Enwemeka CS., Parker JC., Dowdy DS., Harkness EE., Sanford LE., Woodruff LD.
The efficacy of low-power lasers in tissue repair and pain control: a meta-analysis study.
Photomed. Laser. Surg. 2004 Aug; 22(4): 323-9

26. Георгиева С., Белазелкоска З., Перковска М., Ристоска С., Поповски Јь.
Прилог кон терапијата на хроничниот десквамативен гингивитис :
приказ на случај
Макед. Стоматол. Прегл. 2002; 1-4:77-83
27. Goodson JM., Dewhirst FE., Brunetti A.
Prostaglandin E2 levels and human periodontal disease
Prostaglandins 1974;6:81-85
28. Gorska R., Gregorek H., Kowalski J., Laskus-Perendyk A., Syczewska M., Madalinski K.
Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis
J. Clin. Periodontol. 2003; 30:1046-1052
29. Haffaje AD., Cugin MA., Dibart S. et all.
Clinical and microbiological features of subjects with adult periodontitis who responded poorly to scaling and root planing
J. Clin. Periodontol. 1997; 24: 767-771
30. Harrell JC.&Stein SH.
Prostaglandin E2 regulates gingival mononuclear cell immunoglobulin production
J. Periodontol.1995;66: 222-227
31. Istomin NP., Nosov AA., Ratov VG., Khorobrykh VV., Kosmacheva VP., Korepanova OB., Kniazeva ES., Iashina TV.
Neutrophil and macrophage functional activity during the irradiation of an intestinal anastomosis with a low-intensity laser in the infrared spectral range
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1995 May-Jun;(3):102-5
32. Iwase T., Saito T., Nara Y., Morioka T.
Inhibitory effect of He-Ne laser on dental plaque deposition in hamsters
J. Periodont. Res., 1989; 24:282-283

33. Kabashima K., Sakata D., Nagamachi M., Miiyachi Y., Inaba K., Narumiya S.
Prostaglandin E2-EP 4 signaling initiates skin immune responses by promoting migration and maturation of Langerhans cells
Nat. Med. 2003;9:744-749
34. Kiernicka M., Owczarek B., Galkowska E., Wysokinska-Miszczuk J.
Comparison of the effectiveness of the conservative treatment of the periodontal pockets with or without the use of laser biostimulation
Ann. Univ. Mariae Curie Sklodowska [Med]. 2004;59(1):488-94
35. Kjeldsen M., Holmstrup P., Bendtzen K.
Marginal periodontitis and cytokines: A review of the literature
Journal of Periodontology, 1993; Nov:1013-1022
36. Klebanoff SJ., Vadas MA., Harlan JM. et al.
Stimulation of neutrophils by tumor necrosis factor
J. Immunol. 1986; 136:4220-4225
37. Knudsen PJ., Dinarello CA., Strom TB.
Prostaglandins posttranscriptionally inhibit monocyte expression of interleukin 1 activity by increasing intracellular cyclic adenosine monophosphate
J. Immunol. 1986;137: 3189-3194
38. Kunkel SL., Chensue SW., Phan SH.
Prostaglandins as endogenous mediators of interleukin 1 production
J. Immunol. 1986;136:186-192
39. Kuru B et al.
Diagnostic studies on juvenile ,rapidly progressive and adult periodontitis before and after periodontal therapy
J. Marmona.Univ. Dent. Fac.,1992Sep;1(3):191-7

40. Lee P., Kibeom K., Kiscicuk K.
Effects of low incident energy levels of infrared laser irradiation on healing of infected open skin wounds in rats
Laser Therapy, 1993; 5(2):59
41. Leibur E., Tuhkanen A., Pintson U., Soder PO.
Prostaglandin E2 levels in blood plasma and in crevicular fluid of advanced periodontitis patients before and after surgical therapy
Oral. Dis. 1999 Jul; 5(3): 223-8
42. Mc Farlane CG., Reynolds JJ., Meikle MC.
The release of IL-1 α , TNF- α and IFN- γ by cultured peripheral blood mononuclear cells from patients with periodontitis
J. Periodont. Res. 1990; 25:207-214
43. Meja KK., Barnes PJ., Giembycz MA.
Characterization of the prostanoid receptor(s) on human blood monocytes at which prostaglandin E2 inhibits lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor- α generation
Br. J. Pharmacol. 1997;122:149-157
44. Mester A.
Open wound healing (bed sores, ulcus cruris, burns) with systemic effects of LLLT
Selected abstracts from the 7-th International Congress of European Medical Laser Association 2000 Jun pp.66, Dubrovnik, Croatia
45. Mizutani K., Musya Y., Wakae K., Kobayashi T., Tobe M., Taira K., Harada T.
A clinical study on serum prostaglandin E2 with low-level laser therapy.
Photomed. Laser. Surg. 2004 Dec;22(6): 537-9

46. Moritz A., Schoop U., Goharkhay K., Schauer P., Doertbudak O., Wernisch J., Sperr W.
Treatment of periodontal pockets with a diode laser.
Lasers. Surg. Med. 1998;22(5):302-11
47. Morton RS., Dongari-Bagtzoglou AI.
Cyclooxygenase-2 is upregulated in inflamed gingival tissues
Periodontol. 2001 Apr;72(4): 461-9
48. Mozgovaia LA., Fokina NK.
Combined therapy of chronic catarrhal gingivitis using low intensity laser light
Stomatologiia (Mosk). 2001;80(1):61-3.
49. Накова М., Симоновски М., Поповска М., Ивановски К.,
Пешевска С.
Ласерот во терапијата на гингивитите и пародонталната болест
Макед. Стоматол. Прегл., 1995; 19: 27-31
50. Nichols FC., Levinbook H., Shnaydman M., Goldschmidt J.
Prostaglandin E2 secretion from gingival fibroblasts treated with interleukin-1b: effects of lipid extracts from Porphyromonas gingivalis or calculus
J. Periodont. Res. 2001;36: 142-152
51. Niiro H., Otsuka T., Izuhara K., Yamaoka K., Ohshima K., Tanabe T., Hara S., Nemoto Y., Tanaka Y., Nakashima H., Niho Y.
Regulation by interleukin-10 and interleukin-4 of cyclooxygenase-2 expression in human neutrophils
Blood 1997;89:1621-1628
52. Nishikawa M., Yamaguchi Y., Yoshitake K., Saeki Y.
Effects of TNF α and prostaglandin E2 on the expression of MMPs in human periodontal ligament fibroblasts
J. Periodont. Res. 2002; 37:167-176

53. Noguchi K., Iwasaki K., Shitashige M., Endo H., Kondo H., Ishikawa I.
Cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin E2 down-regulates intercellular adhesion molecule-1 expression via EP2/EP4 receptors in interleukin -1 α -stimulated human gingival fibroblasts
J. Dent. Res.2000;79:1955-1961
54. Noguchi K., Iwasaki K., Shitashige M., Ishikawa I.
Prostaglandin E2 receptors of the EP2 and EP4 subtypes down-regulate tumor necrosis factor α -induced intercellular adhesion molecule-1 expression in human gingival fibroblasts
J. Periodontal. Res. 1999; 34:478-485
55. Noguchi K., Iwasaki K., Shitashige M., Umeda M., Izumi Y., Murota S., Ishikawa I.
Downregulation of lipopolysaccharide-induced intercellular adhesion molecule-1- expression via EP2/EP4receptors by prostaglandin E2 in human fibroblasts
Inflammation 2001; 25:75-81
56. Noguchi K., Shitashige M., Endo H., Kondo H., Yotsumoto Y., Izumi Y., Nitta H., Ishikawa J.
Involevement of cyclooxygenase 2 in serum- induced prostaglandin production by human oral gingival epithelial cells
J. Periodont. Res. 2001;36:124-130
57. Noguchi K., Yanai M., Shitashige M., Nishihara T., Ishikawa I.
Cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin production by peripheral blood monocytes stimulated with lipopolysaccharides isolated from periodontopathogenic bacteria
J. Periodontol. 2000: 71: 1568-1575.

58. Noguchi K., Yanai M., Shitashige M., Nishihara T., Morita I., Murots S., Ishikawa I.
Prostaglandin production via induction of cyclooxygenase-2 by human gingival fibroblasts stimulated with lipopolysaccharides
Inflammation 1996;20:555-568
59. Nomura K., Yamaguchi M., Abiko Y.
Inhibition of interleukin-1beta production and gene expression in human gingival fibroblasts by low-energy laser irradiation
Lasers Med. Sci. 2001; 16(3): 218-23
60. Offenbacher S., Heasman PA., Collins JG.
Modulation of host PGE2 secretion as a determinant of periodontal disease expression.
J. Periodontol. 1993 May;64(5 Suppl):432-44
61. Offenbacher S., Odle BM., Van Dyke TE.
The use of crevicular fluid prostaglandin E2 levels as a predictor of periodontal attachment loss
J. Periodontal. Res. 1986: 21:101-112
62. Offenbacher S., Odle BM., Gray RC., Van Dyke TE.
Crevicular fluid prostaglandin E levels as a measure of the periodontal disease status of adult and juvenile periodontitis patients
J. Periodontol. Res. 1984;19: 1-13
63. Ohm K., Alberts HK., Lisboa BP.
Measurement of eight prostaglandins in human gingival and periodontal disease using high pressure liquid chromatography and radioimmunoassay
J. Periodontal. Res. 1984; 19: 501-511

64. Onisei D., Drugarin M., Korek A., Negru S., Drugarin D., Onisei D., Popescu MG.
Markers of inflammation in periodontal disease
Balk. J. Stom. 1999; 3:118-121
65. Paquette DW., Williams RC.
Modulation of host inflammatory mediators as a treatment strategy for periodontal diseases.
Periodontol. 2000. Oct; 24: 239-52
66. Pasevich I.A., Shargorodsky AG.
Low-intensity infrared laser exposure in the diagnosis and multiple-modality treatment of acute nonspecific lymphadenitis of the face and neck in children
Stomatologii M. 1999; 2: 25-30
67. Пешевска Снежана
Евалуација на ефектите од комбинираниот конвенционално - физикален третман на иницијалната пародонтална афекција
Магистерски труд, Скопје, 2002
68. Pereira AN., Eduardo Cde P., Matson E., Marques L.
Effect of low-power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts
Lasers. Surg. Med. 2002; 31(4): 263-7
69. Pourzarandian A., Watanabe H., Ruwanpura SM., Aoki A., Noguchi K., Ishikawa I.
Er:YAG laser irradiation increases prostaglandin E production via the induction of cyclooxygenase-2 mRNA in human gingival fibroblasts
J. Periodontal.Res. 2005; 40:182-186
70. Preshaw PM., Lauffart B., Zak E., Jeffcoat MK., Barton I., Heasman PA.
Progression and treatment of chronic adult periodontitis
J. Periodontol. 1999, Oct; 70(10):1209-20

71. Pugliese LS., Medrado AP., Reis SR., Andrade Zde A.
The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers
Pesqui. Odontol. Bras. 2003 Oct-Dec;17(4):307-13
72. Qadri T., Miranda L., Tunér J., Gustafsson A.
The effects of therapeutic lasers in periodontal inflammation
Swed. Dent. J. Abstract issue, 2003.
Journal of Oral Laser Applications 2000 Volume Issue 3 : 135 - 140
73. Qadri T., Miranda L., Tuner J., Gustafsson A.
The short-term effects of Low Level Lasers as adjunct therapy in the treatment of periodontal inflammation
Photomedicine and Laser Surgery. 2005; 23 (1).
Selected abstracts from the 5th WALT Congress, São Paulo, Brazil, November 2005
74. Quintero JC., Piesco NP., Langkamp HH., Bowen L., Agarwal S.
LPS responsiveness in periodontal ligament cells is regulated by tumor necrosis factor-alpha
J. Dent. Res. 1995 Nov; 74(11): 1802-11
75. Raffaella Teloni, Federico Giannoni, Paolo Rossi, Roberto Nisini, Maria Cristina Gagliardi
Interleukin-4 inhibits cyclo-oxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production by human mature dendritic cells
Immunology, January 2007 ; 120 (1), 83-89
76. Saito S., Ngan P., Saito M., Lanese R., Shanfeld J., Davidovitch Z.
Interactive effects between cytokines on PGE production by human periodontal ligament fibroblasts in vitro
J. Dent. Res. 1990; 69:1456-1462

77. Sakurai Y., Yamaguchi M., Abiko Y.
Inhibitory effect of low-level laser irradiation on LPS-stimulated prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 in human gingival fibroblasts
Eur. J. Oral. Sci. 2000 Feb; 108(1): 29-34
78. Shimizu N., Ozawa Y., Yamaguchi M., Goseki T., Ohezeki K., Abiko Y.
Induction of COX-2 expression by mechanical tension force in human periodontal ligament cells
J. Periodontol. 1998; 69:670-677
79. Shimizu N., Yamaguchi M., Goseni T., Shibata Y., Taniguchi H., Iwasawa T., Abiko Y.
Inhibition of Prostaglandin E2 and Interleukin-1 β production by low power laser irradiation in stretched human periodontal ligament cells
J. Dent. Res. 1995 July; 74(7);1382-1388
80. Sidhagen, B., Hamberg M., Fredholm BB.
Formation of 12 L-hydroxyeicosatetraenoic acid (12-HETE) by gingival tissue
J. Dent. Res. 1982; 61: 761-6
81. Stashenko P., Jandinski JJ., Fujiyoshi P., Rynar J., Socransky SS.
Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease
J. Periodontol. 1991;62: 504-509
82. Suzawa T., Miyaura C., Inada M., Maruyama T., Sugimoto Y., Ushikubi F., Ichikawa A., Narumiya S., Suda T.
The role of prostaglandin E receptor subtypes (EP1,EP2,EP3,EP4) in bone resorption :an analysis using specific agonists for the respective EPs
Endocrinology 2000;141:1554-1559
83. Takahashi K., Takashiba S., Nagai A. et all.
Assessment of interleukin-6 in the pathogenesis of periodontal disease
J. Periodontol. 1994;65:147-153

84. Takigawa Masayuki, Shogo Takashiba, Keiso Takahashi, Hideo Arai, Hidemi Kurihara, Yoji Murayam.
Prostaglandin E2 Inhibits Interleukin-6 Release But Not Its Transcription in Human Gingival Fibroblasts Stimulated With Interleukin-1 α or Tumor Necrosis Factor- α
J. Periodontol. 1994; 65: 1122-1127
85. Trelles M.
Bone fracture consolidates faster with low power laser
Lasers Surg. Med. 1987; 7-36
86. Тројачанец З.
Примена на биостимулирачки ласери во стоматологијата
Херакли Комерц, Битола 2002
87. Tsai CC., Hong YY., Chen CC., Wu YM.
Measurement of prostaglandin E2 and leukotriene B4 in the gingival crevicular fluid
Journal of Dentistry 1998, Vol. 26, No2:97-103
88. Tülay Yucel-Lindberg, Gustaf Brunius, Biniyam Wondimu, Ngegerd Andurén, Thomas Modéer
Enhanced cyclooxygenase-2 mRNA expression in human gingival fibroblasts induced by cell contact with human lymphocytes
European Journal of Oral Sciences 2001 Jun; 109 (3), 187-192.
89. Tuner Jan & Lars Hode
Laser therapy, clinical practice and scientific background
Prima Books, Sweden, 2002
90. Ueda Y., Shimizu N.
Effects of pulse frequency of low-level laser therapy (LLLT) on bone nodule formation in rat calvarial cells
J. Clin. Laser. Med. Surg. 2003 Oct; 21(5): 271-7

91. Vardar S., Baylas H., Huseyinov A.
Effects of selective cyclooxygenase-2 inhibition on gingival tissue levels of prostaglandin E2 and prostaglandin F2alpha and clinical parameters of chronic periodontitis
J. Periodontol. 2003 Jan;74(1):57-63
92. Vladimirov IuA., Klebanov GI., Borisenko GG., Osipov AN.
Molecular and cellular mechanisms of the low intensity laser radiation effect
Biofizika. 2004 Mar-Apr;49(2):339-50
93. Walsh LJ.
The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications
Australian Denatl Journal 1997;42:247-54
94. Walsh LJ., Davis MF., Xu LJ., Savage NW.
Relationship between mast cell degranulation and inflammation in the oral cavity
J.Oral. Pathol.Med. 1995;24:266-272
95. Wilson M.
Bactericidal effect of laser light and its potential use in the treatment of plaque-related diseases.
Int. Dent. J. 1994 Apr;44(2):181-9
96. Wong P., Ross J., Sticht F.
Metabolism of arachidonic acid in inflamed human gingiva. I. Formation of 6-keto-prostaglandin F1, alpha
J. Dent. Res. 1980; 59:670-4
97. Yakovlev Elena, Ina Kalichman, Sara Pisanti, Shmuel Shoshan, Vivian Barak
Levels of Cytokines and Collagen Type I and Type III as a Function of Age in Human Gingivitis
J. Periodontol. 1996;67:788-793

98. Yamaguchi DT., Green J., Merritt BS., Kleeman CR., Muallem S.
Modulation of osteoblast function by prostaglandins
Am. J. Physiol. 1989;257:755-761
99. Yucel-Lindberg T., Ahola H., Nilsson S., Carlstedt-Duke J., Modeer T.
Interleukin-1 β induces expression of cyclooxygenase-2 mRNA in human
gingival fibroblasts
Inflammation 1995; 19: 549-560
100. Yucel-Lindberg T., Nilsson S., Modeer T.
Signal transduction pathways involved in the synergistic stimulation of
prostaglandin production by interleukin-1beta and tumor necrosis factor
alpha in human gingival fibroblasts
J. Dent. Res. 1999 Jan; 78(1): 61-8
101. Zhang F., Engbretson SP., Morton RS., Cavanaugh PFJr., Subbaramaiah
K., Dannenberg AJ.
The overexpression of cyclo-oxygenase-2 in chronic periodontitis
J. Am. Dent. Assoc. 2003 Jul; 134(7): 861-7
102. Zimmerman M.
Wirksamkeit eines Helium – Neon lasers auf mikroorganismen
Stomatol. DDR, 40(1990); 9-11