

YU ISSN 0350-0071

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

R A D O V I

KNJIGA LXXXI

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

Knjiga 23

Redakcioni odbor
JAKOB GAON, DŽEMAL REZAKOVIĆ i GRUJICA ŽARKOVIĆ

Urednik
GRUJICA ŽARKOVIĆ,
redovni član Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine



SARAJEVO

1986.

BLAGORODNA LAZAREVSKA, VANGEL DIMITROVSKI, MARIJA NAKOVA,
METODI SIMONOVSKI, ZLATANKA NIKOLOVSKA

REZULTATI NAŠIH ISTRAŽIVANJA PATOGENEZE PARODONTOPATIJA

APSTRAKT. Na Klinici za bolesti usta Stomatološkog fakulteta u Skoplju više godina se nastoji da se sagledaju neki osnovni mehanizmi u patogenezi parodontalne bolesti. U tom smislu koncipirana su istraživanja u kojima je ispitano više parametara: imunološki odgovor gingive, encimatska aktivnost salive, promene vezivnog kompleksa, uloga oligoelemenata u celularnom metabolizmu i sl.

Ispitivanja su pokazala izrazito povećanje koncentracije IgA u parotidnoj salivi i odsustvo IgG i IgM. Primenom direktne imuno-fluorescentne metode Saint-Marie na bioptički materijal gingive, nađeno je prisustvo IgG, IgA i IgE u limfoplazmocitarnim ćelijama, bazalnoj membrani i ćelijskim membranama, najviše u terminalnom stadijumu bolesti.

Određivanje salivarnih aktivnosti kisele i alkalne fosfataze, glutamat piruvat transaminaze, glutamat oksalat transaminaze i laktat dehidrogenaze pokazalo je njihovo signifikantno povećanje u zavisnosti od stepena kliničke manifestacije parodontopatije.

Korištenjem markiranih aminokiselina: hidrokisprolin, prolin, glicin, serin alanin, arginin, lizin, metionin i histidin, došlo se do zaključka da je opadanje inkorporacije svih aminokiselina, posebno prolina, hidrokisprolina, glicina i serina, uvek u korelaciji sa kliničkom evolucijom parodontopatije.

Eksperimentalna parodontopatija izazvana kod belih pacova korišćenjem submukozne aplikacije 0,1 ml rastvora hijaluronidaze, dala je slične rezultate.

Biološka uloga oligoelemenata je inicirala određivanje koncentracije kalcijuma, magnezijuma, gvožđa, bakra, cinka i mangana u serumu, salivi, gingivi, alveoli i urini bolesnika sa parodontopatijom. Dobivene vrednosti su pokazale nesignifikantnu razliku serumske koncentracije svih oligoelemenata; u salivi su samo kalcijum i gvožđe imali veće vrednosti, u gingivi su bili signifikantno uvećani, u alveolarnoj kosti su samo kalcijum i cink imali nisko signifikantno uvećanje a u urini, sa izuzetkom bakra, elevacija svih ostalih oligoelemenata je bila signifikantno izražena.

Dosadašnja istraživanja dozvoljavaju sumaran zaključak da su primarne metabolične promene vezivnog kompleksa veoma važne u patogenezi parodontalne bolesti.

Parodontopatija, bolest savremene civilizacije, još uvek predstavlja nerešiv problem u stomatološkoj kazuistici, te zbog toga i perma-

nentni izazov za istraživače koji nastoje da sagledaju kompleksni mehanizam njenih patogenetskih promena.

Savremeni čovek vodi dinamični život pun psihogene napregnutosi i konfliktnih situacija. Njegova bioceneza obiluje agensima koji na ovaj ili onaj način imaju štetni uticaj na ravnotežu tokova metabolizma u parodontu, jer on predstavlja snažnu neuroreflektornu zonu inerviranu najdinamičnijim nervom — n. trigeminusom.

Patološki procesi u parodontu odvijaju se po šemi važećih principa humane patologije, ali ipak oni pokazuju i neke specifičnosti koje potiču iz filogenetske mladosti zubnopotpornog kompleksa i njegove slabe biohemijske memorije.

Etiologija progresivne parodontopatije je veoma složena i nedejstva od patogeneze. Ipak, smatramo da su primarne promene izraz izmenjene reaktivnosti organizma, u kojoj parodontocijum gubi sposobnost adaptacije i patološki reaguje na delovanje spoljašnjih noxi, od kojih se lokalni iritirajući faktori i okluzalni traumatizam nameću po svom prioritetu (Lazarevska, 1972; Lazarevska i sar. 1979; Simonovski i sar. 1982; Simova i sar. 1982).

Na Klinici za bolesti usta Stomatološkog fakulteta u Skoplju više godina nastojimo da sagledamo neke osnovne mehanizme u patogenezi parodontalne bolesti. U tom smislu koncipirana su istraživanja u kojima je ispitivano više parametara: imunološki odgovor gingive, encimska aktivnost salive, promene vezivnog kompleksa, uloga oligoelemenata u celularnom metabolizmu i sl.

Polazeći od činjenice da su salivarni imunoglobulini značajni faktori mehanizma oralne mukoze, još 1970. godine (Lazarevska i sar., 1970), ispitivali smo njihovu koncentraciju u pljuvački bolesnika sa parodontopatijom. Pri tome smo koristili pločice sa poliakrilamidnim gelom. Međutim, nismo došli do nekih signifikantnih razlika u rezultatima. Na žalost, korišćena metoda nam je omogućila samo kvalitativno dokazivanje imunoglobulina sa vizuelnom, a time i subjektivnom ocenom njihove kvantifikacije (Lazarevska, 1971; Lazarevska i sar., 1971).

Zbog toga smo kasnije, upotrebom partigen ploča i primenom Mancinijevog metoda, bili u mogućnosti da izvršimo ne samo kvalitativno već i kvantitativno određivanje imunoglobulina. Komparirajući njihove koncentracije u parotidnoj i mešanoj salivi, došli smo do konstatacije da je koncentracija IgA izrazito uvećana u parotidnoj pljuvački (sr. vr. 25,2 mgr%), a samo slabo u mešovitoj pljuvački (sr. vr. 7,8 mgr%). IgG nismo našli u parotidnoj salivi, dok je u mešovitoj bio 6,0 mgr%, dok IgM nismo mogli dokazati ni u jednoj pljuvački (tab. 1).

Na osnovu toga smo zaključili da je inflamatorni proces parodontopatija stimulirao aktivnost plazmocita i sekretornih ćelija u smislu uvećane produkcije salivarnog IgA. Slabiju koncentraciju IgA u mešovitoj pljuvački objasnili smo stepenom dilucije i delimičnim povezivanjem imunoglobulina sa površinskim ćelijama oralnog epitela (Lazarevska i sar., 1972).

Naš dalji rad na ovoj problematici, korišćenjem radioimunodifuzione metode (Lazarevska i sar., 1975, 1979), kao i dublja istra-

Tab. 1
PROTEINSKI STATUS KRVNE PLAZME I PAROTIDNE I MESANE SALIVE
KOD PACIJENATA SA PROGRESIVNOM PARODONTOPATIJOM I KONTROLA

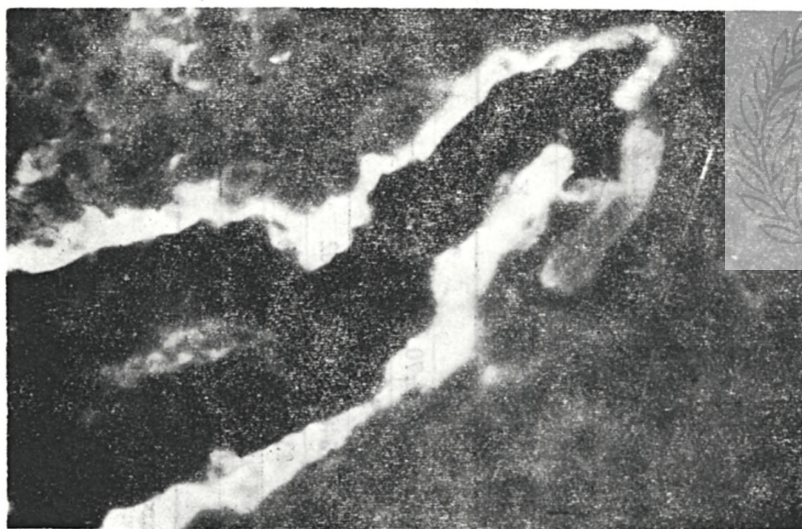
Proteini MG%	KRVNA PLAZMA			PAROTIDNA SALIVA			MESANA SALIVA		
	Kontrola	Progresivna parodontop.	p	Kontrola	Progresivna parodontop.	p	Kontrola	Progresivna parodontop.	p
Totalni proteini	n 26 6825±100	81 7125±70	0.02	—	—	—	25 156±20	73 577±104	0.002
Imuno- globulini IgA	n 15 224±21.3	30 340±160	0.002	15 13±1.36	30 25.2±3.60	0.005	15 7.2±0.35	30 7.8±0.24	0.2
IgG	2278±202	1321±33	0.002	0	0	0	3.8±0.72	6.0±0.6	0.025
IgM	212±27.2	321±7.2	0.002	0	0	0	0	0	0
Albumin	**4111±258	5130±182	0.005	3.5±0.53	4.7±0.82	0.2	10.2±1.15	27.0±0.54	0.002

** Srednja vrednost ± standardna greška



živanja u vezi sa proteïnskim, lipidnim i polisaharidnim statusom salive kod pacijenata sa parodontopatijom, koja su poslužila kao tematski sadržaj jednog magistarskog rada (N a k o v a: »Prilog kon poznavanje-to na proteinite, jaglenite hidrati i lipidite vo plunkata i plazmata od pacienti so progresivna parodontopatija«, 1976), pokazali su slične rezultate.

Animirani prethodnim saznanjem i u želji da proverimo gingivalnu produkciju imunoglobulina, 1983. godine smo primenili direktni imunofluorescentni metod Saint-Marie za obradu bioptičkog materijala uzetog iz gingive bolesnika sa parodontopatijom. Pri tome smo koristili ovčije antihumane imunoglobuline, konjugirane sa FITC i našli da su IgG, IgA i IgE prisutni u limfoplazmacitarnim ćelijama, bazalnoj membrani i u ćelijskim membranama (sl. 1 i 2), manje u početnom stadijumu bolesti, više u klinički manifestnom, a najviše u terminalnom. U kontrolnoj grupi nisu evidentirani, ili su viđene retke ćelije sa imunoglobulinima. Komparirajući kvantifikaciju pojedinih imunoglobulina, našli smo daleko više IgG, ređe IgA i veoma retko IgE. Naši rezultati su još jedna potvrda da imunološki događaji imaju evidentnu ulogu u pato-

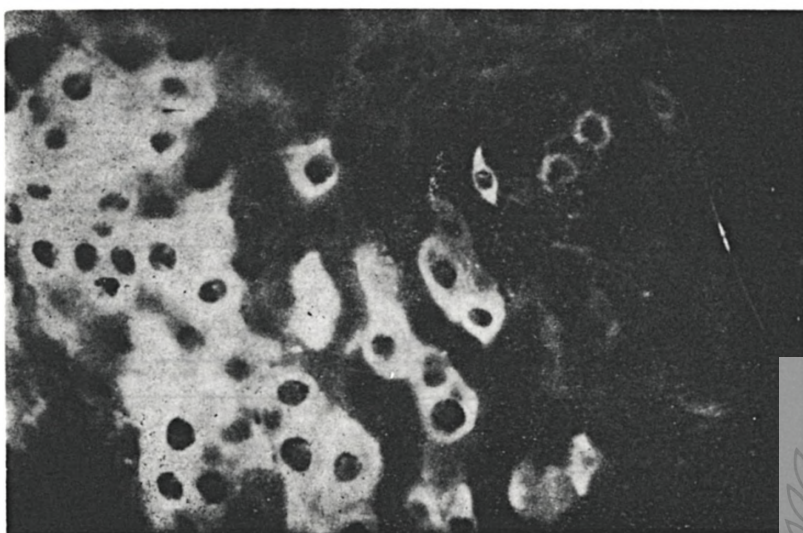


Sl. 1

genezi parodontalne bolesti. Pri tome se dobija utisak da je evolucija inflamatorno destruktivnog procesa u korelaciji sa humoralnim imunitetom. Participacija i patogenetski značaj ćelijskog specifičnog imuniteta biće predmet naših daljih istraživanja (L a z a r e v s k a i sar., 1983).

Nepobitna važnost encimskih aktivnosti u metabolizmu ćelija podstakla nas je da izvršimo određena istraživanja u tom smislu. Početna

saznanja (Lazarevska i sar., 1975) bila su povod realizaciji jednog magistarskog rada u kome je ispitivana distribucija salivarne i plazmine alkalne i kisele fosfataze, glutamat piruvat transaminaze, glutamat oksalat transaminaze i laktat dehidrogenaze kod pacijenata sa parodontopatijom (Nikolovska: »Aktivnost na alkalnata fosfataza, glutamat piruvat transaminazata, glutamat oksalat transaminataza i laktat dehidrogenazata kaj pacienti so progresivna parodontopatija«, 1980).



Sl. 2



Dobijeni rezultati su pokazali da je aktivnost alkalne fosfataze u mešovitoj pljuvački signifikantno veća (18,80 m JE/ml) u odnosu na kontrolnu grupu (2,16 m JE/ml), sa statističkom progresijom u korelaciji sa kliničkim razvitkom bolesti. Slična zavisnost postoji i za kiselu fosfatazu (28,90 m JE/ml, a 15,20 m JE/ml za kontrolnu grupu).

Aktivnost glutamat piruvat transaminaze u salivi ima najveće vrednosti u terminalnom stadijumu parodontopatije (sr. vr. 5,64 m JE/ml; sr. vr. 3,6 m JE/ml u kontrolnoj; 6,7 m JE/ml p. 0,01 u trećem stadijumu).

Glutamat oksalat transaminaza progresivno povećava svoju aktivnost u zavisnosti od kliničke evolucije bolesti (sr. vr. 12,78 m JE/ml, kod kontrolnih sr. vr. 5,83 m JE/ml p. 0,001).

Salivarna aktivnost laktat dehidrogenaze pokazala je gotovo istu tendenciju povećanja kao i prethodni encimi (sr. vr. 221,3 m JE/ml, kontrolna — sr. vr. 218,1 m JE/ml p. 0,001).

Koncentracija ispitivanih encima u plazmi bila je u granici normalnih vrednosti, zbog čega isključujemo mogućnost proste perfuzije plazminih encima u oralnom kavitetu (tab. 2 i 3).

Tabela 2.

KONCENTRACIJA ENCI MA U SALIVI I KRVNOJ PLAZMI KOD BOLESNIKA
SA PROGRESIVNOM PARODONTOPATIJOM I KONTROLNIH LICA

ENCIM mIE/ml		MESANA SALIVA		KRVNA PLAZMA	
		Kontrola	Parodont. progres.	Kontrola	Parodont. progres.
Alkalna fosfataza	Srednja vrednost	2.16	18.80	24.03	27.33
	Standardna devijacija	1.75	13.05	12.38	13.26
	Standardna greška	0.38	1.65	2.77	1.89
	P	—	0.001	—	0.80
Kisel fosfataza	Srednja vrednost	15.20	28.90	6.08	6.13
	Standardna devijacija	5.99	7.39	1.85	2.05
	Standardna greška	1.33	1.10	0.45	0.33
	P	—	0.001	—	0.50
GPT	Srednja vrednost	3.00	5.64	4.50	5.60
	Standardna devijacija	1.50	3.40	1.35	3.74
	Standardna greška	0.40	0.53	0.41	0.61
	P	—	0.001	—	0.10
GOT	Srednja vrednost	5.80	12.78	8.10	8.60
	Standardna devijacija	2.88	5.90	1.75	2.26
	Standardna greška	0.83	0.12	0.50	0.37
	P	—	0.001	—	0.40
LDH	Srednja vrednost	218.1	421.3	148.8	143.3
	Standardna devijacija	91.32	136.33	31.67	28.76
	Standardna greška	21.53	19.28	7.68	4.37
	P	—	0.001	—	0.60

Ova ispitivanja su pokazala da postoji povezanost između encimskih aktivnosti u salivi i opsegu inflamatorno-destruktivnih promena u parodontijumu. Smatramo da je uvećana aktivnost enzima u biološkom fluidnom medijumu rezultat dubokih metaboličnih promena u leđiranim ćelijama. Prema našoj skromnoj oceni, povećana aktivnost ispitivanih enzima u I kliničkom stadijumu parodontopatija je posledica metabolične disharmonije ćelija. Pri tome ne smemo zanemariti ni parcijalno učešće oralne flore u produkciji enzima. U daljem razvojnem toku bolesti oni se uključuju kao etiopatogenetski faktori, bilo putem formiranja organskog matriksa kalkulusa i inkorporacijom kalcijuma, magnezijuma i fosfata u njima bilo putem svog rušilačkog delovanja na nukleinske kiseline, proteine, glikogen i mukopolisaharide.

Diskusije u stomatološkim krugovima u vezi s diminacijom patogenetskih promena u određenim tkivnim sredinama (epitel — vezivni kompleks) zubopotpornog sistema, podstakla nas je da istražujemo i u tom pravcu (Lazarevska i sar., 1977, 1977; Dimitrovski i

sar., 1978). Dobijeni rezultati su zahtevali dalje proučavanje problema. To je bio razlog da se izradi habilitacioni rad pod nazivom »Prilog kon patogeneza na vospalitelne forme na progresivna parodontopatija« (Dimitrovski, 1978). U radu su prikazane morfološke i citološke promene gingive kod parodontopatija, korišćenjem histoloških, histo-hemijskih i citoloških metoda ispitivanja. Na bazi ovih analiza došli smo do saznanja da se u epitelu inflamirane gingive u početku javlja akantoza, parakeratoza i spongioza, a u kasnijoj fazi i disocijacija edematozno izmenjenih ćelija, kao izraz poremećenog integriteta epitela. Distribucija glikogena je u korelaciji sa kliničkim stadijumom. U inicijalnoj fazi on je lociran perinuklearno u ćelijama spongioznog sloja, a kasnije je glikogen bogato akumuliran i ispunjava celu ćeliju. U termi-

Tabela 3.

KONCENTRACIJA ENCIMA U SALIVI I KRVNOJ PLAZMI KOD BOLESNIKA
U RAZLIČITIM STADIJIMA PROGRESIVNE PORODONTOPATIJE I
KONTROLNIH LICA

ENCIM mIE/ml		MEŠANA SALIVA				KRVNA PLAZMA			
		K	Parodont. progres.			K	Parodont. progres.		
			I	II	III		I	II	III
Alkalna fosfataza	Srednja vrednost	2.16	5.50	8.63	20.24	24.03	27.14	24.87	30.40
	Standardna devijacija	1.75	1.51	1.92	4.03	12.38	11.80	14.46	12.25
	Standardna greška	0.38	0.32	0.37	1.08	2.77	3.13	2.95	3.70
	P	—	0.001	0.001	0.001	—	0.40	0.90	0.40
Kisela fosfataza	Srednja vrednost	15.20	26.20	28.50	31.90	6.08	5.02	6.39	7.03
	Standardna devijacija	5.99	6.13	6.69	7.89	1.85	1.44	2.56	1.79
	Standardna greška	1.33	1.58	1.49	2.49	0.46	0.38	0.58	0.51
	P	—	0.001	0.001	0.001	—	0.05	0.70	0.20
GPT	Srednja vrednost	3.00	4.05	6.39	6.70	4.50	7.03	6.38	4.90
	Standardna devijacija	1.50	2.07	3.99	3.60	1.35	5.02	3.28	2.32
	Standardna greška	0.40	0.54	1.05	0.97	0.41	1.45	0.80	0.73
	P	—	0.10	0.01	0.005	—	0.10	0.05	0.60
GOT	Srednja vrednost	5.80	9.72	11.37	18.90	8.10	8.75	8.70	8.40
	Standardna devijacija	2.88	5.68	5.98	6.02	1.75	1.99	1.84	2.99
	Standardna greška	0.83	1.46	1.37	1.73	0.50	0.57	0.48	0.94
	P	—	0.025	0.005	0.001	—	0.40	0.50	0.80
LDH	Srednja vrednost	218.1	305.4	443.2	567.9	148.8	122.9	152.0	153.0
	Standardna devijacija	91.32	103.38	131.48	187.09	31.67	31.78	17.57	41.12
	Standardna greška	21.53	25.09	27.44	59.20	7.68	8.21	3.74	13.01
	P	—	0.02	0.005	0.001	—	0.05	0.70	0.20

nalnom stadijumu mogu se videti i PAS pozitivna telašca — rezultat intenzivnijeg nagomilavanja glikogena, praćeni dezintegracijom superficijalnih ćelija. Nasuprot glikogenu, proces keratinizacije je u obrnuto proporcionalnom odnosu sa stepenom inflamacije.

Bazalna membrana u početku pokazuje znake delimičnog raslojavanja, kasnije dolazi do gubitka lamelarne građe i na kraju do njene kompletne dekompozicije.

U vezivnom kompleksu prisutna je redukcija kiselih mukopolisaharida u intenzitetu koji odgovara progresiji parodontalne bolesti.

U inflamiranom infiltratu, pored limfoplazmocitarnih ćelija — znak lokalnog imunološkog odgovora, viđene su i mast cells, perikapilarno, interepitelijalno i intersticijalno locirane. Sa napredovanjem inflamacije, njihova distribucija se reducira.

Citološke analize epitelijalnih ćelija uzetih sa parodontalnog džepa pokazale su da je proces diferencijacije ćelija znatno poremećen. U prvom kliničkom stadijumu prisutne su superficijalne i intermedijalne ćelije, u drugom intermedijalne ćelije sa perinuklearnim halom, dok u terminalnom stadijumu dominiraju ćelije iz donjih redova spongioznog i parabazalnog sloja, sa jasno naglašenim perinuklearnim halom, često u asocijaciji sa amorfnom masom, bakterijama i gljivicama.

Smatramo da su ovi nalazi rezultat suštinskog poremećaja u fiziološkoj diferencijaciji ćelija pripojnog epitela. Delimo mišljenje onih autora koji daju primat patogenetskim promenama u vezivnom kompleksu, iako našim metodama ispitivanja nismo to mogli u celosti dokazati.

Zato smo u daljim istraživanjima posvetili pažnju patologiji kolagena. Korišćenjem markiranih aminokiselina L-histidin ^3C i L-prolin-a H^3 i njihovim vezivanjem u gingivalno tkivo *in vitro* (Nakova i sar., 1976), našli smo da imaju manju inkorporaciju kod pacijenata sa parodontopatijom. Na osnovu toga smo pretpostavili da u fibroblastima, zbog inhibicije metaboličke aktivnosti, nije moguće da se histidin i prolin iskoriste kao materijal za građu u sintezi kolagena. Smatrali smo da ove početne informacije treba dalje proučiti, pa je zato 1979. g. izrađena doktorska disertacija na temu »Procena na metaboličke promeni vo gingivalno tkivo od pacienti so progresivna parodontopatija preku sledenje na vgraduvanjeto na markirani aminokiselini i hijaluronidaznata aktivnost« (Nakova, 1979). Cilj teze je bio da se odredi kvantitet ugrađivanja prolina, hidroksiprolina, glicina, serina, alanina, arginina, lizina, metionina i histidina, putem inkubacije gingivalnog tkiva zdravih osoba i pacijenata sa parodontopatijom u prisustvu spomenutih markiranih aminokiselina, da se odredi aktivnost hijaluronidaze u salivi, plazmi i gingivi, da se, zatim, izvrši egzaktna terapija parodontopatije i da se ista ispitivanja ponove, a rezultati kompariraju. Dalje je trebalo izazvati eksperimentalnu parodontopatiju kod belih pacova korišćenjem submukozne aplikacije 0,1 ml rastvora hijaluronidaze, svakog drugog dana u trajanju od 3 meseca, te šeme ispitivanja ponoviti za gingivalno tkivo tretiranih i netretiranih pacova. Dobijeni rezultati su pokazali opadanje inkorporacije svih aminokiselina u gingivalnom tkivu pacijenata sa parodontopatijom, najviše prolina, hidroksiprolina,

glicina i serina. To opadanje je u korelaciji sa kliničkom evolucijom bolesti, zatim je nađena pojačana aktivnost hijaluronidaze u salivi i gingivi. Nakon terapije vezivanje aminokiselina je veće, a hijaluronidazna aktivnost je manja. Slični nalazi dobijeni su i kod eksperimentalne parodontopatije pacova (tab. 4 i 5).

Tabela 4.

UGRAĐIVANJE (»UPTAKE«) MARKIRANIH AMINOKISELINA U GINGIVALNO TKIVO LJUDI, *in vitro*
(DPM/6 x 10⁵)

		PROGRESIVNA PARODONTOPATIJA*				
		Kontrola	P o s t a d i u m i			Ukupno
			I	II	III	
L-Prolin- ³ H	n	30	21	25	13	59
	Sr. Vr.	76.91	37.35	26.84	21.85	29.29
L-Hidroksi-Prolin- ³ H	n	39	16	18	18	52
	Sr. Vr.	51.07	48.12	29.79	17.73	31.14
Glicin-C ¹⁴	n	32	32	20	14	66
	Sr. Vr.	69.25	44.03	20.08	15.46	30.68
L-Serin-C ¹⁴	n	40	15	11	10	36
	Sr. Vr.	53.80	43.21	22.18	15.13	28.27
L-Lizin-C ¹⁴	n	40	25	35	25	85
	Sr. Vr.	47.48	29.21	22.31	15.63	22.14
L-Arginin-C ¹⁴	n	19	15	15	15	45
	Sr. Vr.	37.81	30.17	25.20	20.08	25.19
L-Alanin-C ¹⁴	n	12	12	12	8	32
	Sr. Vr.	40.66	27.23	25.68	18.63	23.18
L-Metionin-C ¹⁴	n	22	15	13	10	38
	Sr. Vr.	28.19	21.15	14.85	12.24	16.08
L-Histidin-C ¹⁴	n	16	17	18	15	40
	Sr. Vr.	7.00	5.96	5.12	4.24	5.11

n = broj slučajeva

Sr. Vr. = Srednja vrednost (izražena dezintegracijom u minuti na gram tkiva po 10⁵ = (DPM/6 x 10⁵))

* Upalno-destruktivna forma progresivne parodontopatije.

Analizom rezultata došlo se do zaključka da kod parodontopatije nije izmenjena samo molekula kolagena već i ostalih proteina. Hipoksigenacija tkiva dovodi do promene aktivnosti enzima odgovornih za sintezu proteina, kao i onih sa proteolitičnim dejstvom. Zbog toga se razvijaju dva paralelna patološka procesa — smanjena produkcija proteina, a time i kolagena i njihovo povećano razgrađivanje. Ispitivanja *in vivo* potvrdila su nalaze *in vitro*. Pri tome, svakako, u patogenezi

Tabela 5.
UGRAĐIVANJE (»UPTAKE«) MARKIRANIH AMINOKISELINA U GINGIVALNO
TKIVO PACIJENATA SA PROGRESIVNOM PARODONTOPATIJOM, *in vitro*
(DPM/6 x 10⁵)

Aminokiselina	$\frac{n}{\text{Sr. Vr.}}$	Pred terapija	Posle terapija
L-Prolin- ³ H	n	10	10
	Sr. Vr.	28.07	47.70
L-Hidroksi-Prolin- ³ H	n	10	10
	Sr. Vr.	22.64	33.80
Glicin-C ¹⁴	n	5	5
	Sr. Vr.	15.97	38.92
L-Serin-C ¹⁴	n	10	10
	Sr. Vr.	21.18	44.16
L-Lizin-C ¹⁴	n	10	10
	Sr. Vr.	17.21	34.30
L-Arginin-C ¹⁴	n	10	10
	Sr. Vr.	21.17	34.04
L-Alanin-C ¹⁴	n	10	10
	Sr. Vr.	21.95	37.53
L-Metionin-C ¹⁴	n	10	10
	Sr. Vr.	18.80	30.67
L-Histidin-C ¹⁴	n	10	10
	Sr. Vr.	4.16	6.10

n = broj slučajeva

Sr. Vr. = Srednja vrednost izražena dezintegracijom u minuti na gram tkiva po 10⁵ (DPM/G x 10⁵)

parodontalne bolesti participira i hijaluronidaza, dovodeći do dekompozicije osnovne supstance vezivnog kompleksa. Ovo se može smatrati inicijalnom fazom suštinskih metaboličnih poremećaja gingivalnog tkiva, pre svega formativnih ćelija, koje su odgovorne za sintezu proteina u parodontcijumu.

Biološka uloga oligoelemenata, prvenstveno njihovo specifično aktivirajuće dejstvo na fermentne sisteme koji katalizuju oksidativne procese u organizmu, poslednjih godina je predmet posebne pažnje istraživača i predstavlja novi kvalitet u kliničkoj biohemiji.

Polazeći od činjenice da kod parodontopatija nastaju značajne metabolične promene tkiva parodonta praćene smanjenim intenzitetom celularne respiracije, asocirane sa promenom aktivnosti različitih enzimskih reakcija, kao i ekstenđovana razgradnja kolagena, želeli smo da proverimo patogenetski značaj nekih mikroelemenata u nastanku parodontopatija. Za početak smo određivali koncentraciju cinka, bakra i gvožđa u salivi i plazmi, a kasnije i u gingivi (Simonovski i sar., 1979, 1980, 1983). Dobijeni rezultati su ukazali na neka odstupanja ovih

elemenata kod bolesnika sa parodontopatijom. U cilju da dublje razradimo ove informacije 1982. g. je realizovana doktorska disertacija pod naslovom »Promeni u mineralološki status kod bolni sa progresivna parodontopatija« (Simonovski, 1982). U radu je određivana koncentracija kalcijuma, magnezijuma, gvožđa, bakra, cinka i mangana u serumu, salivi, gingivi, alveoli i urini bolesnika sa parodontopatijom. Nakon terapije pacijenata, eksperiment je ponovljen (tab. 6, 6a, 7 i 7a).

Dobijeni rezultati su pokazali nesigifikantnu razliku serumskih vrednosti svih oligoelemenata. U salivi su samo kalcijum i gvožđe imali veće vrednosti, najverovatnije zbog pasivne perfuzije iz dilatiranih krvnih sudova inflamiranog tkiva.

U gingivi je koncentracija bakra, gvožđa, kalcijuma i cinka bila sigifikantno povećana u odnosu na kontrolnu grupu. Ova odstupanja od normalnih vrednosti su bila najizraženija u klinički manifestnom stadijumu, jer alterirani metabolizam kolagena, praćen negativnom »feed back« kontrolom dovodi do njihove tkivne redistribucije. Ovaj nalaz može se smatrati protektivnim odgovorom organizma usmerenim na stimulaciju ćelijskog adhezivnog fenomena u korekciji tkivne respiracije i sintezi kolagena.

U alveolarnoj kosti samo su kalcijum i cink imali nešto povišene koncentracije, niske sigifikantnosti, i to u inicijalnom stadijumu bolesti, verovatno zbog njihove selektivne akumulacije u lediranim areama kosti, sa ciljem stimulacije neoformacije kosti i reparacije alveolize.

Tabela 6.

KONCENTRACIJA OLIGOELEMANATA U BIOLOŠKOJ SREDINI I TKIVA KOD BOLESNIKA SA PROGRESIVNOM PARODOTOPATIJOM (mmol, μ mol/l, g, d)

Analizirani medijum	MAKROELEMENTI					
	Ca			Mg		
	k. gr.	p. pat.	P	k. gr.	p. pat.	P
Serum	2.47	2.45	0.80	0.87	0.87	0.90
Saliva	0.94	1.14	0.001	0.44	0.46	0.80
Gingiva	0.02	0.04	0.025	0.02	0.02	0.80
Alveola	0.16	0.22	0.05	0.01	0.02	0.50
Urin	1.94	3.15	0.001	2.85	3.22	0.10

Tabela 6a

Analizirani medijum	MIKROELEMENTI											
	Fe			Cu			Zn			Mn		
	k. gr.	p. pat.	P	k. gr.	p. pat.	P	k. gr.	p. pat.	P	k. gr.	p. pat.	P
Serum	20.71	19.41	0.30	20.93	20.66	0.80	15.28	16.26	0.10	0.33	0.33	0.90
Saliva	2.15	3.62	.001	2.69	2.43	0.20	6.07	6.26	0.70	0.20	0.19	0.80
Gingiva	0.69	1.05	.001	0.41	0.73	.005	1.09	1.93	.001	—	—	—
Alveola	0.64	0.83	0.05	0.29	0.33	0.60	1.33	1.50	0.20	—	—	—
Urin	0.71	0.96	0.05	1.04	0.93	0.50	48.61	73.08	.001	0.18	0.23	.001

Analiza urinarnih koncentracija, isključivanjem bakra, pokazala je signifikantnu elevaciju svih oligoelemenata, verovatno zbog naglašenijih destruktivnih promena i vezivno-tkivnih alteracija.

Tabela 7.

KONCENTRACIJA OLIGOELEMENATA U BIOLOŠKOJ SREDINI I TKIVU KOD BOLESNIKA OD PARODONTOPATIJE PRIJE I POSLE TERAPIJE
(mmol, μ mol / l, g, d)

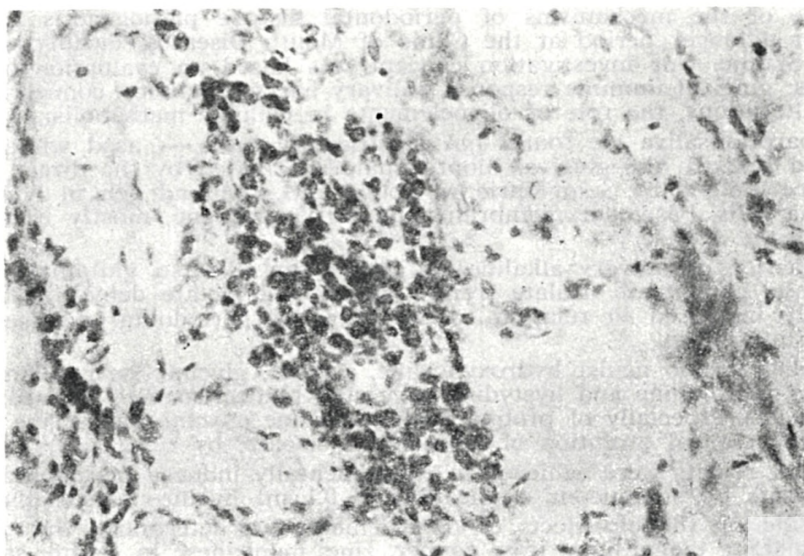
Analizirani medijum		MIKROELEMENTI					
		Ca			Mg		
		PI	po Th	pred Th	P	pred Th	po Th
Serum	4	2.40	2.56	0.05	0.88	0.83	0.025
	6	2.44	2.58	0.20	0.86	0.87	0.80
Saliva	4	1.21	1.03	0.20	0.43	0.64	0.005
	6	1.07	0.96	0.30	0.48	0.66	0.20
Gingiva	4	0.06	0.06	0.90	0.01	0.02	0.005
	6	0.03	0.05	0.50	0.02	0.02	0.90
Urin	4	2.93	2.39	0.40	3.53	3.35	0.80
	6	3.60	2.90	0.20	3.18	3.09	0.80

Tabela 7a

Analizirani medijum		MIKROELEMENTI											
		Fe			Cu			Zn			Mn		
		PI	pred Th	po Th	P	pred Th	po Th	P	pred Th	po Th	P	pred Th	po Th
Serum	4	19.20	19.01	0.90	19.32	22.48	0.05	16.65	17.31	0.60	0.32	0.31	0.70
	6	19.58	19.64	0.90	21.10	19.99	0.50	15.69	15.73	0.90	0.33	0.27	0.20
Saliva	4	3.40	2.58	0.05	2.46	2.41	0.90	6.36	6.40	0.90	0.19	0.18	0.20
	6	3.57	2.40	0.05	2.54	2.61	0.80	6.12	5.27	0.25	0.20	0.18	0.10
Gingiva	4	1.16	0.89	0.25	0.87	0.54	0.20	1.67	1.59	0.80	—	—	—
	6	1.03	0.50	.001	0.85	0.36	0.01	2.62	1.19	.005	—	—	—
Urin	4	0.83	1.04	0.50	0.99	0.61	.025	70.82	51.61	0.25	0.21	0.17	0.10
	6	1.17	1.06	0.70	0.92	1.48	0.25	72.12	71.20	0.90	0.25	0.21	0.20

Komparacija vrednosti oligoelemenata pre i posle sprovedenog terapijskog tretmana pokazala je normalizaciju koncentracije u I kliničkom stadijumu i depresiju gingivalnih vrednosti koncentracije gvožđa, bakra i cinka nakon završetka terapije u II kliničkom stadijumu bolesti, možda zbog metaboličke utilizacije tokom obavljanja reparativnih procesa. Ova saznanja su bila razlog dopune terapijske primene gvožđa i cinka u obliku elektroforetske aplikacije 1-postotnog rastvora ferosulfata, odnosno cinksulfata, u toku 10 seansi. Za objektivnu procenu rezultata korišćena su histološka i histohemijska ispitivanja gingi-

valnog bioptičnog materijala. Ona su pokazala redukciju inflamatornog infiltrata, izraženiju proliferaciju vezivnog tkiva, prisustvo mukopolisaharida, naglašenu neokapilarizaciju i prisustvo RNA i DNA (sl. 3).



Sl. 3

Njihova kvantifikacija je bila veća sa primenom cinkulfata. Može se zaključiti da cink ispoljava svoj uticaj na sintezu nukleinskih kiselina, proteina i kolagena, a time i stimulaciju limitiranog, ali još uvek prisutnog reparatornog kapaciteta parodonta.

Kao sumarni zaključak naših dosadašnjih ispitivanja možemo reći da su u patogenezi parodontopatija veoma važne metabolične primarne promene vezivnog kompleksa. Strukturalno alteriran i fiziološki insuficijentan, vezivni kompleks inhibira barijerne mehanizme gingive. Epitelni pripoj, lišen sekretorne produkcije mukopolisaharida ćelija pripojnog epitela, nije u mogućnosti da odražava biološku dinamiku dento-gingivalnog pripoja. Put mikrobne invazije je slobodan, a time i bakteriotoksično i alergološko dejstvo pojedinih predstavnika oralne flore.

Tabela 8.
PRIKAZ HISTOLOŠKIH I HISTOHEMIJSKIH NALAZA

Grupa	n	Ly. plas infiltr.	Mucopo lysch.	Fibroza	Neocapi larizac	RNA	DNA
Parodontopatija	8	++++	+—	+—	—	—	—
Panirana p. patija	8	+	+	+	++	+—	—
Th sol 1% FeSO ₄	8	++	++	++	+	+	+—
Th sol 1% ZnSO ₄	8	+	++	++	++	+	+

Legenda: odsutan supstrat (—), minimalan supstrat (+—), prisutan supstrat u zavisnosti od kvantitativne zastupljenosti (+, ++, +++, +++++).

SUMMARY

RESULTS FROM OUR STUDY OF PERIODONTAL DISEASE PATHOGENESIS

Some of the mechanisms of periodontal disease pathogenesis have been studied for a longer period at the Clinic of Mouth Diseases, Faculty of Stomatology in Skopje. Our investigation concept was based on evaluation of several parameters: gingival immune response, salivary enzyme activity, connective tissue complex alterations, the role of oligoelements in cellular metabolism.

In parotid saliva we found IgA significantly increased — as well as absence of IgG and IgM. In the gingival biopsies of patients treated by the direct immunofluorescence method by Saint-Marie we found IgG, IgA and IgE in lymphocytes and plasma cells, basement membrane and cell membrane, mostly in the terminal stage of the disease.

Evaluation of salivary alkaline and acidic phosphatase, glutamate pyruvate transaminase, glutamate oxalate transaminase and lactate dehydrogenase were significantly increased in relation to the stage of periodontal disease and its clinical manifestation.

Labelled amino acids: hydroxyproline, proline, glycine, serine, alanine, arginine, lysine, methionine and histidine suggested a decrease of incorporation of amino acids, especially of proline, hydroxyproline, glycine and serine in correlation to the clinical evolution of periodontal disease, by rule.

Similar results were achieved in experimentally induced periodontal disease in Wistar rats by submucous application of 0.1 ml hyaluronidase solution.

Considering the bio-effects of oligoelements we determined the concentrations of calcium, magnesium, iron, copper, zinc, manganese in serum, saliva, gingiva, alveolar bone and urine in patients with periodontal disease. Serum concentrations of all oligoelements did not reveal significant differences; in saliva, only calcium and iron had higher values, in gingiva they were significantly high, in alveolar bone only calcium and zinc revealed lower significant increase, while in urine, iron — increase was significantly emphasised, except for copper.

Our investigation supports the summarised conclusion that primary metabolic disorders of the connective tissue complex play a very important role in the pathogenesis of periodontal disease.

LITERATURA

- (1) Dimitrovski V., Lazarevski B., Simonovski M. (1978): *Distribucija na masocitite vo zavisnost od klinickiot stadium na inflamatorno-destruktivnite promeni na progresivnata parodontopatija*, MSP, 1—2, 16.
- (2) Dimitrovski V., Lazarevska B., Simonovski M. (1980): *Kvalitativna zastapenost na kiselite mukopolisaharidi vo gingivata kaj bolni od progresivna parodontopatija*, MSP, 3—4, 127.
- (3) Dimitrovski V. (1977): *Prilog kon patogenezata na Vospalitelnite formi na progresivnata parodontopatija*, Habilitacionen trud, Skopje.
- (4) Lazarevska B., Dejanov N., Milošeska L. (1970): *Nivoto na imunoglobulinite pri progresivnata parodontopatija*, Zbor na trud od II-ot sobir na stomat na SRM, 146.
- (5) Lazarevska B. (1971): *Imunoglobulini pljuvacke i krvi kod stomatitis aphtosa chronica Recidivans*, SGS, 212.
- (6) Lazarevska B., Miloševska L., Nedelkovski J., Stojčevski T., Jovanovski M. (1970): *Ulogata na humoralnite i salivarnite imunoglobulini vo etiopatogenezata na progresivnata parodontopatija*, Zbor na trud na Med. fak., Skopje, 345.
- (7) Lazarevska B., Hrisoho R., Nečeva Lj. (1972): *Vrednosti proteina pljuvacke kod progresivne parodontopatije i ulcoronekroznog gingivitisa*, Zbor III simp. za imunologiju, 86.

- (8) Lazarevska B., Cumbelik N., Trajkovski S., Nikolovski Z., Nakova M., Dimitrovski V. (1975): *Salivarne vrednosti alkalne i kisele fosfataze kod bolesnika od progresivne parodontopatije*, SGS, vanred br.
- (9) Lazarevska B., Nakova M. (1975): *Salivarne i serumske vrednosti imunoglobulina kod bolesnika sa progresivnom parodontopatijom i stomatitis chronica recidivans*, Zbor radova I-ih slovenskih stomat dnevi.
- (10) Lazarevska B., Urumova E., Dimitrovski V., Nikolovska Z., Nakova M., Simonovski M. (1977): *Nekoi morfološki i histološki promeni vo gingivata kaj pacienti so progresivna parodontopatija*, MSP, 1—2, 33.
- (11) Lazarevska B., Dimitrovski V., Urumova E., Grnčaroska S. (1977): *Histološke i citološke karakteristike gingivarnog epitela kod inflamatorno destruktivnih formi progresivne parodontopatije*, SGS, vanred broj 226.
- (12) Lazarevska B., Dimitrovski V., Nakova M., Nikolovska Z. (1979): *Našite soznanija za epitopatogeneza na progresivna parodontopatija* MSP, 4, 189.
- (13) Lazarevska B., Jovanovski M., Simonovski M., Dimitrovski V. (1983): *Imunološki aspekti na parodontalno Bolest*, Apstrakti, I kong. spec. bol. usta, zuba i parodonta Jugosl., Ohrid, 21.
- (14) Lazarevska B. (1972): *Ulogata na lokalnite faktori vo etiologijata na progresivna parodontopatija*, Habilitacionen trud, Skopje.
- (15) Nakova M., Lazarevska B., Spiroski M., Kovačev V. (1976): *»Up-take« L-histidina i L-prolina u Gingivalnom tkivu in vitro*, Zbor na trud od VI kong. na stomat. na Jug., 471.
- (16) Nakova M. (1976) *Prilog kon poznavanje na proteinite, jaglenite hidrati i lipidite vo plunkata i plazmata od pacienti so progresivna parodontopatija*, Magisterski trud, Skopje.
- (17) Nakova M. (1979): *Procena na metabolnite promeni vo gingivalno tkivo od pacienti so progresivna parodontopatija preku sledenje na vgraduvanje na markirani aminokiseline i hijaluronidazna aktivnost*, Doktorska disertacija, Skopje.
- (18) Nikolovska Z. (1980): *Oktivnosta na alkalna fosfataza, glutamat piruvat transaminazata, glutamat oksalat transaminazata i laktat dehidrogenazata kaj pacienti so progresivna parodontopatija*, Magisterski trud, Skopje.
- (19) Simonovski M., Hrisoho R., Lazarevska B., Bogdanova M., Dimitrovski V. (1979): *Serumski vrednosti na koncentracijata na bakar vo zavisnost od klinickiot stadijum na progresivna parodontopatija*, MSP, III, 3, 133.
- (20) Simonovski M., Lazarevska B., Hrisoho R., Bogdanova M. (1980): *Salivarni i serumski vrednosti na koncentracijata na cink kaj pacienti so progresivna parodontopatija*, Zbor apstrakta rad VII-og kong. stomatol. Jug., 101.
- (21) Simonovski M., Dimitrovski V., Lazarevska B. (1982): *Slobodniot gingivalen graft — prominenten metod vo mukogingivalna hirurgija*, MSP, VI, 2, 223.
- (22) Simonovski M., Lazarevski B., Bogdanova M., Dimitrovski V. (1983): *Serumska i alveolarna vrednost na koncentracijata na cink kaj bolni od progresivna parodontopatija*, Apstrakti I-og kong. spec. za bol. usta, zuba i parod. Jug., Ohrid, 40.
- (23) Simonovski M. (1982): *Promeni vo mineraloškiot status kaj bolni od progresivna parodontopatija*, Doktorska disertacija, Skopje.
- (24) Simova N., Lazarevska B., Simonovski M. (1982): *Scintigrafske promene alveolarne kosti kod oboljenja parodonta*, Cardiol. Jugosl., 16, 471.