

Vpliv parodontitisa na celotno antioksidantno zmogljivost gingivalne tekočine in seruma pri psih

Z. Pavlica, M. Petelin, A. Nemeč, D. Eržen, U. Skalerič

Izvleček

Izhodišče: Antioksidantna zmogljivost gingivalne tekočine in seruma je povezana s količino reaktivnih kisikovih zvrsti, ki se sproščajo med vnetjem obzobnih tkiv iz aktiviranih fagocitov in fibroblastov. **Material in metode:** Študija vključuje 41 psov pasme pritlikavi pudelj. Pri vsakem psu smo določili količino mehkih zobnih oblog, stopnjo vnetja dlesne, globino sondiranja in izgubo čeljustne kosti. Antioksidantno zmogljivost gingivalne tekočine smo primerjali s parodontalnimi parametri na mestu njenega odvzema, antioksidantno zmogljivost v serumu pa s parodontalnimi parametri celotne ustne votline. **Rezultati:** Psi z gingivitisom so imeli značilno višjo celotno antioksidantno zmogljivost v gingivalni tekočini kot psi z napredovalim parodontitisom. Celotna antioksidantna zmogljivost seruma pa se je značilno znižala z napredovanjem vnetja dlesni. **Zaključek:** Vnetje obzobnih tkiv vpliva na sistemsko antioksidantno zmogljivost pri psih. Rezultati študije nakazujejo možnost dodatnega zdravljenja parodontitisa z lokalnim dovajanjem antioksidantov v obzobne žeppe.

Glavne besede: celotna antioksidantna zmogljivost, gingivalna tekočina, parodontitis, pes, serum

The influence of periodontitis on total antioxidant capacity in gingival crevicular fluid and serum in dogs

Abstract

Background: Antioxidant capacity in gingival crevicular fluid and blood serum is correlated to the amount of reactive oxygen species released from activated phagocytes and fibroblasts in inflamed periodontal tissues. **Material and methods:** The study included 41 miniature poodles. The amount of plaque, degree of gingival inflammation, probing depth and bone loss were assessed in each dog. The antioxidant capacity of gingival fluid was compared to periodontal parameters at the site of gingival fluid sampling, and the antioxidant capacity of serum was compared to periodontal parameters assessed for the whole mouth. **Results:** Dogs with gingivitis had significantly higher total antioxidant capacity in gingival crevicular fluid, compared to dogs with advanced periodontitis. Total antioxidant capacity in serum was significantly negatively correlated with the degree of gingival inflammation. **Conclusion:** Inflammation of periodontal tissues affects the antioxidant capacity of serum in dogs. The results of our study suggest that the local delivery of antioxidants may be a useful adjunctive treatment for periodontitis in dogs.

Key words: dog, gingival crevicular fluid, periodontitis, serum, total antioxidant capacity

Uvod

Škodljiva vloga reaktivnih kisikovih zvrsti je bila ugotovljena pri več kot 100 boleznih ljudi in živali vključno s parodontitisom (Moore in sod., 1994; Halliwell, 1996; Lantos in sod., 1997; Pinzani in sod., 1998). Vnetni in imunski odziv na patogene bakterije v obzornih tkivih lahko sprožita nastanek reaktivnih kisikovih zvrsti. Rezultati študij Asmana s sodelavci (1984) in Shapira s sodelavci (1991) nakazujejo, da se v zgodnjih fazah parodontitisa poveča nastanek reaktivnih kisikovih zvrsti v aktiviranih polimorfonuklearnih levkocitih. Če so te celice pod vplivom dejavnikov, ki sprožijo fagocitozo, se v njih poveča redukcija molekularnega kisika v proste radikale (Bragt in sod., 1980). Iz fagocitov se sproščajo tudi druge reaktivne kisikove zvrsti, ki lahko prav tako škodljivo vplivajo na okolno tkivo (Weiss in LoBuglio, 1982).

Na dodatno sproščanje superoksidnega aniona iz fibroblastov dlesni vplivajo tudi sestavine bakterijske celične stene in citokini, kar tudi prispeva k nastanku patoloških sprememb, značilnih za parodontitis (Skalerič in sod., 2000). Oksidacija encimov z reaktivnimi kisikovimi zvrstmi in stimulacija monocitov ter makrofagov privede do še večjega izločanja citokinov (Chapple, 1997), ki pospešijo nastanek parodontitisa.

Reaktivne kisikove zvrsti poškodujejo tkiva na različne načine: pojavijo se poškodbe DNA, lipidna peroksidacija ali poškodbe beljakovin. Aerobni organizmi so zato razvili kompleksne antioksidantne sisteme, ki ščitijo lastne celice pred poškodbo (Halliwell, 1996).

Tekočine, kot so serum, slina, cerebrospinalna tekočina, gingivalna tekočina, očesna vodica in sinovialna tekočina, vsebujejo antioksidante, ki so pomembni pri vzdrževanju lokalnega in sistemskega zdravja, saj tkiva ščitijo pred učinki reaktivnih kisikovih zvrsti. Antioksidanti v teh tekočinah so askorbinska kislina, α -tokoferol, β -karoten, sečna kislina, bilirubin, transferin in albumin. Gingivalna tekočina vsebuje tudi tiol, ki ima prav tako antioksidantne lastnosti (Chapple, 1997).

Veliko število različnih antioksidantov v bioloških tekočinah otežuje meritve posameznega antioksidanta. Različni antioksidanti delujejo tudi sinergistično; meritve enega izoliranega antioksidanta torej ne bi prikazale dejanskih učinkov medsebojno prepletenega delovanja antioksidantov (Whitehead in sod., 1992; Rice - Evans in Miller, 1994). Meritev celotne antioksidantne zmogljivosti v bioloških tekočinah je zato primernejša metoda, saj z njo ocenjujemo celotno koncentracijo antioksidantov, tako vnešenih kot tam nastalih, zmanjšano za koncentracijo v telesu porabljenih antioksidantov (Cao in sod., 1993; Cao in Prior, 1998).

Namen naše študije je bil izmeriti celotno antioksidantno zmogljivost gingivalne tekočine in seruma izbrane populacije psov ter ju primerjati s stopnjo parodontitisa in oceniti vpliv starosti živali na celotno antioksidantno zmogljivost.

Material in metode

Preiskovane živali

V študijo je bilo vključenih 41 psov pasme pritlikavi pudelj (21 moškega in 20 ženskega spola), starih od 3 do 13 let, s povprečno telesno težo 6,7 kg (SD = \pm 2,8),

ki so bili pripeljani na Kliniko za kirurgijo in male živali Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani zaradi zdravljenja parodontitisa. Lastniki so bili s posegi seznanjeni in so se z njimi strinjali. Študijo je odobril VURS (licenčna številka 323-02-76/01).

Hrana je bila živalim odvzeta 12 ur, voda pa 2 uri pred posegom. Po uvodu v anestezijo z intravenskim vnosom propofola (10 mg/kg telesne teže) smo pse intubirali in anestezijo vzdrževali s hlapnim anestetikom izofluranom v koncentraciji 1,1 do 1,5 vol %.

Parodontalni parametri

Količino mehkih zobnih oblog smo ocenili z indeksom plaka (PI I) (Silness in Løe, 1963): 0 – površina zoba brez plaka; 1 – plak prisoten le ob robu dlesni in ga s prostim očesom ne vidimo ter ga dokažemo šele s potegom sonde po površini zoba; 2 – ob robu dlesni že s prostim očesom viden plak; 3 – obilen plak po celi ploskvi zoba. Vnetje dlesni smo določali na vseh štirih ploskvah zoba z gingivalnim indeksom (GI) (Løe in Silness, 1964): 0 – zdrava dlesen; 1 – vnetja dlesen, ki ne krvavi na dotik; 2 – vnetja dlesen, ki krvavi na dotik; 3 – vnetja dlesen s spontanimi krvavitvami in razjedami. Globino sondiranja (GS) smo izmerili z Williamsovo parodontalno sondo v milimetrih.

Izgubo čeljustne kosti (IČK) smo izmerili z rentgenskih slik. Uporabili smo intraoralne filme velikosti 2 (31 x 41 mm) ali 4 (57 x 76 mm) (Agfa Dentus, M2, Mortsel, Belgija). Pod povečavo smo z milimetrsko mrežico izmerili razdaljo od skleninsko-cementne meje do roba čeljustne kosti. Razdalja večja od 0,5mm je pomenila izgubo čeljustne kosti.

Vzorci gingivalne tekočine in seruma

Gingivalno tekočino smo zbirali na distobukalni strani obeh zgornjih četrlih ličnikov. Zbranih je bilo 82 vzorcev. Z mest vzorčenja smo s sterilno gazo odstranili supragingivalni plak in mesto osušili. V dlesnin žleb smo previdno vstavili konico mikrokapilarne cevke (Euroglass, Ljubljana, Slovenija) s prostornino 6 µl in jo napolnili z gingivalno tekočino, ki smo jo nato razredčili s 100 µl hladne raztopine fosfatnega pufra (PBS). Vensko kri smo odvzeli pred anestezijo, jo takoj ohladili na 4 °C in pustili, da koagulira.

Gingivalno tekočino smo centrifugirali pri 13000 x g 20 minut na 4 °C, kri pa pri 1100 x g 10 minut na 4 °C (Chapple in sod., 1997). Supernatant gingivalne tekočine in seruma smo do določitve celotne antioksidantne zmogljivosti hranili pri –80 °C. Preiskave smo opravili v dveh tednih po odvzemu tekočin (Cervato in sod., 1999).

Določanje antioksidantne zmogljivosti

Celotno antioksidantno zmogljivost v gingivalni tekočini in serumu smo določili s pomočjo avtomatskega biokemijskega analizatorja (Hitachi 917, Boehring, Mannheim, Nemčija) in komercialnega kita (Total Antioxidant Status – TAS, Randox, Crumlin, Anglija) za uporabo pri psih (Nemec in sod., 2000). Med reakcijo je bila količina prostih radikalov (ABTS^{o+}-2,2'-azinobis [3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat]) zmanjšana zaradi delovanja antioksidantov; merili smo zmanjšanje absorbnosti svetlobe pri 600 nm po 3 minutah.

Radikalni kation ABTS^{o+} nastaja ob reakciji ABTS s ferilmoglobinom radikalno vrsto, ki nastaja v reakciji med metmioglobinom in vodikovim peroksidom.

Zmanjšanje absorbnosti zaradi delovanja antioksidantov iz gingivalne tekočine ali seruma smo primerjali z zmanjšanjem absorbnosti s kontrolo v kitu – Trolox (6-hidroksil-2,5,7-tetra-metilkroman-2-karboksilna kislina). Rezultate smo ovrednotili v milimolih na liter ekvivalenta Troloxa.

Statistična obdelava podatkov

Za statistično obdelavo podatkov smo pse razdelili v 3 skupine glede na stopnjo prizadetosti obzobnih tkiv. V prvo skupino so bili uvrščeni psi z gingivitisom (GS = 2 do 3 mm, rob čeljustne kosti je bil do 0,5 mm oddaljen od skleninsko-cementne meje); v drugo skupino so bili uvrščeni psi z zmernim parodontitisom (GS = 3 do 4 mm, IČK = 1 do 2 mm); v tretjo skupino so bili uvrščeni psi z napredovalim parodontitisom (GS > 5 mm, IČK > 4mm ali > 50 % dolžine korenine).

Glede na starost smo pse prav tako razdelili v tri skupine (1. skupina: 3 do 5 let; 2. skupina: 6 do 9 let; 3. skupina: 10 do 13 let).

Podatke smo analizirali s statističnim računalniškim programom (SAS 8.02, SAS PROC GLM in REG). Z analizo variance smo določali razliko med celotno antioksidantno zmogljivostjo gingivalne tekočine ali seruma in parodontalnimi parametri med različnimi skupinami psov glede na stopnjo prizadetosti obzobnih tkiv (Tabela 1) in glede na starostno skupino (Tabela 2). Pri značilnih testih ANOVA smo določili statistično značilne razlike med podskupinami po metodi najmanjše kvadratne razlike. Kot statistično značilno smo upoštevali vrednost $p < 0,05$.

Z bivariantno regresijsko analizo smo nato primerjali celotno antioksidantno zmogljivost gingivalne tekočine in seruma s posameznimi parodontalnimi parametri ter tudi s starostjo živali kot zvezno spremenljivko. Oceno regresijskih koeficientov (β) smo testirali s testom-t. Rezultate testov, pri katerih je bila vrednost $p < 0,05$, smo upoštevali kot statistično značilne pokazatelje bivariantne povezanosti.

Rezultati

Primerjava celotne antioksidantne zmogljivosti v gingivalni tekočini s parodontalnimi parametri in starostjo

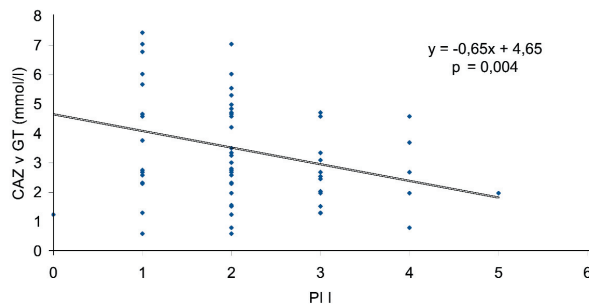
Celotna antioksidantna zmogljivost gingivalne tekočine je bila značilno manjša pri bolj napredovalem vnetju obzobnih tkiv. Vrednosti parodontalnih parametrov pa so se glede na stopnjo prizadetosti obzobnih tkiv povečevale (Tabela 1).

Bivariantna regresijska analiza je pokazala, da je bila celotna antioksidantna zmogljivost gingivalne tekočine statistično značilno negativno povezana z vsemi parodontalnimi parametri (PI I, GI, GS, IČK) na mestih vzorčenja (Grafikoni 1 do 4). Antioksidantna zmogljivost gingivalne tekočine se je izrazito zmanjšala predvsem v globokih obzobnih žepih ($p=0,001$). Prav tako tudi starost živali zelo zmanjša celotno antioksidantno zmogljivost gingivalne tekočine (Grafikon 5).

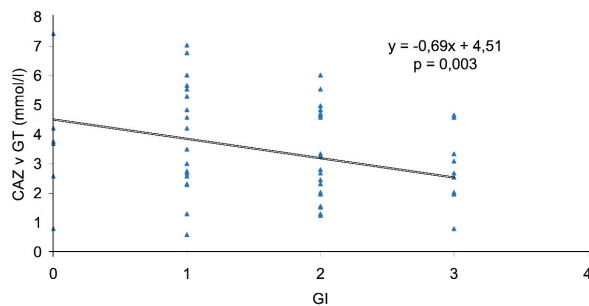
Tabela 1: Celotna antioksidantna zmogljivost (CAZ) gingivalne tekočine in parodontalni parametri (povprečje \pm SD) na 82 mestih odvzema pri psih z gingivitisom, zmernim in napredovalim parodontitisom

| CAZ in parodontalni parametri | Gingivitis (n = 20) | Zmerni parodontitis (n = 40) | Napredovali parodontitis (n = 22) |
|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| CAZ (mmol/l) | 4,39 \pm 1,77 ^a | 3,56 \pm 1,77 ^b | 2,39 \pm 1,03 ^c |
| PI I | 1,50 \pm 0,61 ^a | 2,07 \pm 0,74 ^b | 2,50 \pm 1,00 ^b |
| GI | 1,00 \pm 0,56 ^a | 1,54 \pm 0,69 ^b | 2,35 \pm 0,75 ^c |
| GS (mm) | 2,30 \pm 0,92 ^a | 3,33 \pm 0,47 ^b | 5,55 \pm 3,07 ^c |
| IČK (mm) | 0,33 \pm 0,15 ^a | 1,80 \pm 0,34 ^b | 4,98 \pm 1,20 ^c |

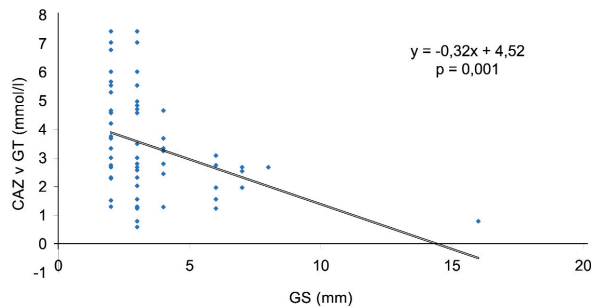
PI I – indeks plaka; GI – gingivalni indeks; GS – globina sondiranja; IČK – izguba čeljustne kosti; n – število vzorcev; ^{a,b,c} v vsaki vrsti so vrednosti statistično značilno različne ($p < 0,001$)



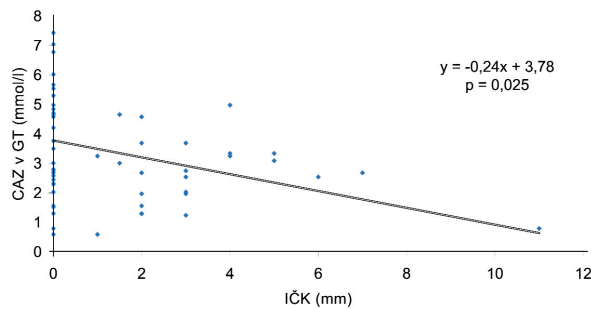
Grafikon 1: Nižanje vrednosti celotne antioksidantne zmogljivosti (CAZ) v gingivalni tekočini (GT) z večanjem stopnje indeksa plaka (PI I) pri psih z napredovanjem parodontitisa. Premica predstavlja regresijsko linijo.



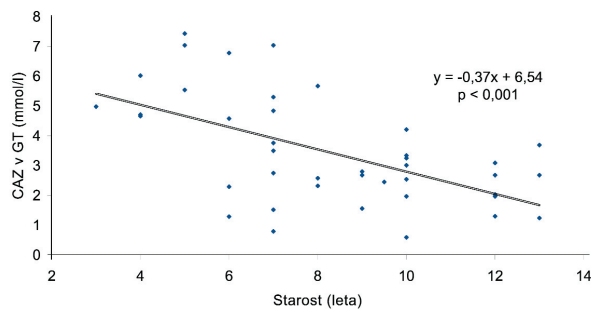
Grafikon 2: Nižanje vrednosti celotne antioksidantne zmogljivosti (CAZ) v gingivalni tekočini (GT) z večanjem gingivalnega indeksa (GI) pri psih z napredovanjem parodontitisa. Premica predstavlja regresijsko linijo.



Grafikon 3: Nižanje vrednosti celotne antioksidantne zmogljivosti (CAZ) v gingivalni tekočini (GT) z večanjem globine sondiranja (GS) pri psih z napredovanjem parodontitisa. Premica predstavlja regresijsko linijo.



Grafikon 4: Nižanje vrednosti celotne antioksidantne zmogljivosti (CAZ) v gingivalni tekočini (GT) z večanjem izgube čeljustne kosti (IČK) pri psih z napredovanjem parodontitisa. Premica predstavlja regresijsko linijo.



Grafikon 5: Nižanje vrednosti celotne antioksidantne zmogljivosti (CAZ) v gingivalni tekočini (GT) z večanjem starosti psov in napredovanjem parodontitisa. Premica predstavlja regresijsko linijo.

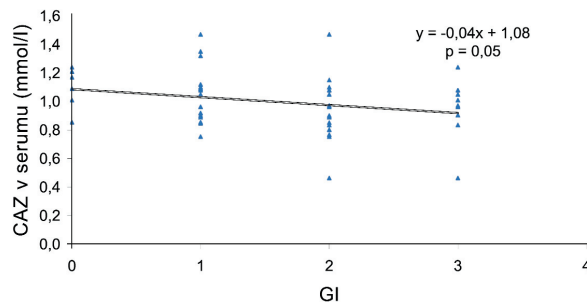
Primerjava celotne antioksidantne zmogljivosti v serumu s parodontalnimi parametri in starostjo

Tudi v serumu živali se je celotna antioksidantna zmogljivost s starostjo zniževala. Statistično značilno manjšo celotno antioksidantno zmogljivost seruma smo ugotovili pri psih, starih od 10 do 13 let v primerjavi s psi, starimi od 3 do 5 let (Tabela 2). Primerjava parodontalnih parametrov psov treh starostnih skupin je pokazala višje vrednosti pri najstarejši skupini.

Tabela 2: Celotna antioksidantna zmogljivost (CAZ) in parodontalni parametri (povprečje \pm SD) v serumu pri 41 psih različne starosti

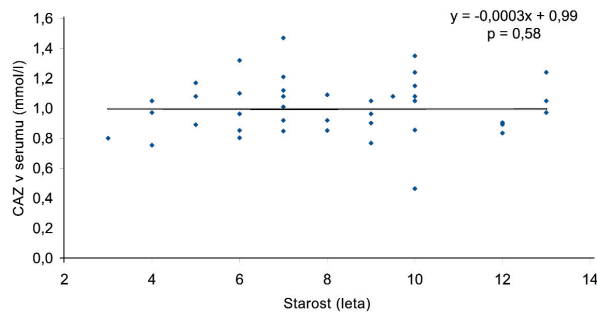
| CAZ in parodontalni parametri | Starost (leta) | | |
|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| | 3–5 (n = 10) | 6–9 (n = 20) | 10–13 (n = 11) |
| CAZ (mmol/l) | 1,04 \pm 0,16 ^{a*} | 1,00 \pm 0,18 | 0,96 \pm 0,19 ^{c*} |
| PI I | 1,22 \pm 0,79 ^a | 1,45 \pm 1,05 ^b | 1,66 \pm 1,04 ^c |
| GI | 1,14 \pm 0,84 ^a | 1,10 \pm 0,98 ^a | 1,33 \pm 1,05 ^c |
| GS (mm) | 2,36 \pm 1,47 ^a | 2,72 \pm 2,33 ^a | 3,43 \pm 2,80 ^c |
| IČK (mm) | 1,83 \pm 3,38 ^a | 1,37 \pm 3,37 ^b | 2,42 \pm 3,84 ^c |

PI I – indeks plaka; GI – gingivalni indeks; GS – globina sondiranja; IČK – izguba čeljustne kosti
n – število psov; a,b,c v vsaki vrsti so vrednosti statistično značilno različne ($p < 0,001$);
*vrednosti so statistično značilno različne ($p = 0,021$)



Grafikon 6: Nižanje vrednosti celotne antioksidantne zmogljivosti (CAZ) v serumu z večanjem gingivalnega indeksa (GI) pri psih z napredovanjem parodontitisa. Premica predstavlja regresijsko linijo.

Bivariantna regresijska analiza je pokazala, da je bila celotna antioksidantna zmogljivost seruma statistično značilno negativno povezana samo s stopnjo vnetja dlesni (GI) celotne ustne votline (Grafikon 6). Značilne povezave pa nismo ugotovili med celotno antioksidantno zmogljivostjo seruma in ostalimi parodontalnimi parametri in starostjo živali (Grafikon 7).



Grafikon 7: Primerjava med celotno antioksidantno zmogljivostjo (CAZ) v serumu in starostjo psov z različno stopnjo parodontitisa ne pokaže povezanosti. Premica predstavlja regresijsko linijo.

Razprava

V predstavljeni raziskavi smo merili lokalno in sistemsko celotno antioksidantno zmogljivost pri psih pasme pritlikavi pudelj, prizadetih z različno stopnjo naravno potekajočega parodontitisa. Gingivalno tekočino smo zbirali ob četrnih zgornjih ličnikih. Ti zobje so nagnjeni k večjemu kopičenju mehkih zobnih oblog in hitrejši razgradnji obzobnih tkiv. Ker imajo tri korenine, izpadejo šele, ko je bolezen že zelo napredovala.

V razvoju parodontitisa so reaktivne kisikove zvrsti dobro poznane (Chapple, 1997). Lokalno obrambo proti tem kemičnim substratom, ki se na mestu vnetja v veliki meri sproščajo iz polimorfonuklearnih levkocitov in makrofagov, predstavljajo antioksidanti, ki izdatno zavrejo ali preprečijo oksidacijo substratov (Halliwell, 1995). Antioksidanti se običajno nahajajo v koncentracijah, nižjih od koncentracije substratov. Celotna antioksidantna zmogljivost gingivalne tekočine je zato koristen podatek o lokalni antioksidantni dejavnosti. Znižanje antioksidantne zmogljivosti gingivalne tekočine lahko pomeni povečano tveganje za razvoj parodontitisa pri posamezni živali (Pavlica in sod., 2004). V naši študiji je bila celotna antioksidantna zmogljivost gingivalne tekočine manjša ob večji prizadetosti obzobnih tkiv. Parodontitis je podoben ostalim vnetnim procesom v organizmu, kot sta revmatoidni artritis ali kronična obstruktivna bolezen pljuč, kjer reaktivne kisikove zvrsti poškodujejo tkiva (Chapple, 1997). Rezultati študij kažejo, da se eksperimentalno povzročeni revmatoidni artritis podgan ali eksperimentalno povzročeni parodontitis psov lahko ublažita z lokalnim dovajanjem lovilcev prostih radikalov (Skalerič in sod., 1991; Petelin in sod., 2000).

V naši študiji smo celotno antioksidantno zmogljivost gingivalne tekočine in seruma merili s pomočjo komercialnega kita, ki daje natančne in ponovljive rezultate meritev pri psih (Nemec in sod., 2000). Rezultati meritev so za razliko od ugotovitev Guarnerija in sodelavcev (1991) pokazali značilno manjšo celotno antioksidantno zmogljivost gingivalne tekočine glede na stopnjo napredovanja parodontitisa. Kljub temu da se je v gingivalni tekočini povečala količina superoksidnega aniona, avtorji niso ugotovili razlik v antioksidantni zmogljivosti med zdravimi in ljudmi s parodontitisom. Chapple s sodelavci (1996) je ugotovil zmanjšano antioksidantno zmogljivost slin pri ljudeh s parodontitisom v primerjavi z zdravo populacijo ljudi. Meni pa, da slina ni najbolj primerna za ocenjevanje

lokalne antioksidantne zmogljivosti. Za razliko od slin je sestava gingivalne tekočine, ki izteka iz parodontalnih žepov, bolj podobna serumu in je vnetni eksudat. V zdravem dlesninem žlebu je gingivalne tekočine malo, pri vnetju pa se njeno izločanje poveča (Griffiths in sod., 1992). S povečanim izločanjem gingivalne tekočine pri gingivitisu in parodontitisu organizem verjetno skuša povečati lokalno antioksidantno zmogljivost.

Staranje je pri ljudeh in živalih povezano s povečanim nastajanjem prostih radikalov in zmanjšanim nastajanjem antioksidantov, kar pomeni večjo verjetnost oksidativnih poškodb in nastanka bolezni (Ames in sod., 1993; Aejmelaeus in sod., 1998; Beckman in Ames, 1998; Mendoza-Nunez in sod., 2001). Znano je, da je tudi pri psih napredovanje parodontitisa povezano z njihovim staranjem (Harvey in sod., 1994). Parodontitis v manjši meri vpliva na antioksidantno zmogljivost seruma. Značilno nižje vrednosti celotne antioksidantne zmogljivosti seruma smo našli pri psih, starih med 10 in 13 let, v primerjavi s psi, starimi od 3 do 5 let. Kljub značilni razliki med omenjenima dvema skupinama psov pa bivarantna regresijska analiza ni pokazala statistično značilne povezave med celotno antioksidantno zmogljivostjo seruma in njihovo starostjo. Podobne rezultate navajajo nekateri avtorji v študijah pri ljudeh (Betti in sod., 1994; King in sod., 1997). Ugotovili pa smo značilno negativno povezavo med celotno antioksidantno zmogljivostjo seruma in vnetjem dlesni. To pomeni, da lokalno vnetje v ustni votlini, kjer nastajajo reaktivne kisikove zvrsti, vpliva tudi na celotno antioksidantno zmogljivost seruma. V nasprotju s tem smo v gingivalni tekočini ugotovili značilno negativno povezavo celotne antioksidantne zmogljivosti psov tudi z njihovo starostjo, kar najverjetneje ni le odraz staranja živali, ampak napredovanja parodontalne bolezni.

Zaključki

Ugotovili smo, da so imeli psi z gingivitisom značilno višjo celotno antioksidantno zmogljivost gingivalne tekočine kot psi z napredovalim parodontitisom, ki je kronična vnetna bolezen obzobnih tkiv. Hkrati vnetje obzobnih tkiv vpliva tudi na sistemsko antioksidantno zmogljivost pri psih. Rezultati študije nakazujejo možnost dodatnega zdravljenja parodontitisa z lokalnim dovajanjem antioksidantov v obzobne žepe. Smiselno bi bilo torej vzdrževati visoke lokalne vrednosti celotne antioksidantne zmogljivosti v tkivih, prizadetih zaradi reaktivnih kisikovih zvrsti, ker bi ta ščitila tkiva pred nadaljnjimi poškodbami in pripomogla k obnovi tkiv.

Reference

- Aejmelaeus RT, Holm P, Kaukinen U, Metsa-Ketela TJ, Laippala P, Harvonen AL et al. Age-related changes in the peroxy radical scavenging capacity of human plasma. *Free Radic Biol Med* 1997; 23: 69–75.
- Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7915–22.
- Asman B, Engstrom PE, Olsson T, Bergstrom K. Increased luminol enhanced chemiluminescence from peripheral granulocytes in juvenile periodontitis. *Scan J Dent Res* 1984; 92: 218–23.
- Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 1998; 778: 547–81.
- Betti C, Davini T, Giannesi L, Loprieno N, Barale R. Microgel electrophoresis assay (comet test) and SCE analysis in human lymphocytes from 100 normal subjects. *Mutat Res* 1994; 307: 323–33.
- Bragt PC, Bansbury JI, Bonta IL. Anti-inflammatory effects of free radical scavengers and antioxidants. *Inflammation* 1980; 4: 280–90.
- Cao G, Alessio HM, Cutler RG. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radic Biol Med* 1993; 14: 303–11.
- Cao G, Prior RL. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin Chem* 1998; 44: 1309–15.
- Cervato G, Viani P, Cazzola R, Cestaro B. A fluorescence method for the determination of plasma susceptibility to lipid peroxidation. *Clin Biochem* 1999; 32: 171–7.

- Chapple ILC. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 287–96.
- Chapple ILC, Mason GI, Garner I, Matthews JB, Thorpe GH, Maxwell SR, Whitehead TP. Enhanced chemiluminescent assay for measuring the total antioxidant capacity of serum, saliva, and crevicular fluid. *Ann Clin Biochem* 1997; 34: 412–21.
- Chapple IL, Thorpe GHG, Mason GI. Low molecular weight thiol antioxidants activity in oral fluids. In: *Bioluminescence and chemiluminescence 9th International symposium*. Woods Hole, Mass 1996; 485–8.
- Griffiths GS, Sterne JAC, Wilton JMA, Eaton KA, Johnson NW. Associations between volume and flow of gingival crevicular fluid and clinical assessments of gingival inflammation in a population of British male adolescents. *J Clin Periodontol* 1992; 19: 464–70.
- Guarnieri C, Zucchelli G, Bernardi F, Scheda M, Valentini AF, Calandriello M. Enhanced superoxide production with no change of the antioxidant activity in gingival fluid of patients with adult periodontitis. *Free Radic Res Commun* 1991; 15: 11–6.
- Halliwell B. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med* 1995; 18: 125–6.
- Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr* 1996; 16: 33–50.
- Harvey CE, Shofer FS, Laster L. Association of age and body weight with periodontal disease in North American dogs. *J Vet Dent* 1994; 11: 94–105.
- King CM, Bristow-Craig HE, Gillespie ES, Barnett YA. In vivo antioxidant status, DNA damage, mutation and DNA repair capacity in cultured lymphocytes from healthy 75-to 80-year-old humans. *Mutat Res* 1997; 377: 137–47.
- Lantos J, Czopf L, Nemes J, Gal I. Monitoring of plasma total antioxidant status in different diseases. *Acta Chir Hung* 1997; 36: 188–9.
- Löe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964; 24: 747–59.
- Mendoza-Nunez VM, Sanchez-Rodriguez MA, Retana-Ugalde R, Vargas-Guadarrama LA, Altamirano-Lozano MA. Total antioxidant levels, gender, and age as risk factors for DNA damage in lymphocytes of the elderly. *Mech Aging Dev* 2001; 122: 835–47.
- Moore S, Calder KA, Miller NJ, Rice-Evans CA. Antioxidant activity of saliva and periodontal disease. *Free Radic Res* 1994; 21: 417–25.
- Nemec A, Drobnič-Košorok M, Skitek M, Pavlica Z, Galac S, Butinar J. Total antioxidant capacity (TAC) values and their correlation with individual antioxidants in serum of healthy beagles. *Acta Vet Brno* 2000; 69: 297–303.
- Pavlica Z, Petelin M, Nemec A, Eržen D, Skalerič U. Measurement of total antioxidant capacity in gingival crevicular fluid and serum in dogs with periodontal disease. *Am J Vet Res* 2004; 65: 1584–8.
- Petelin M, Pavlica Z, Ivanuša T, Šentjurs M, Skalerič U. Local delivery of liposome-encapsulated superoxide dismutase and catalase suppress periodontal inflammation in beagles. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 918–25.
- Pinzani P, Petrucci E, Orlando C, Gallai R, Serio M, Pazzagli M. Serum antioxidant capacity in healthy and diabetic subjects as determined by enhanced chemiluminescence. *J Biolumin Chemilumin* 1998; 13: 321–5.
- Rice-Evans CA, Miller NJ. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Meth Enzymol* 1994; 234: 279–93.
- Shapira L, Borinski R, Sela MN, Soskolne A. Superoxide formation and chemiluminescence of peripheral polymorphonuclear leukocytes in rapidly progressive periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1991; 18: 44–8.
- Silness J, Löe H. Periodontal disease in pregnancy I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* 1963; 21: 533–51.
- Skalerič U, Allen JB, Smith P, Mergenhagen SE, Wahl SM. Inhibitors of reactive oxygen intermediates suppress bacterial cell wall-induced arthritis. *J Immunol* 1991; 147: 2559–64.
- Skalerič U, Manthey CM, Mergenhagen SE, Gasperc B, Wahl SM. Superoxide release and superoxide dismutase expression by human gingival fibroblasts. *Eur J Oral Sci* 2000; 108: 130–5.
- Weiss SJ, LoBuglio AF. Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab Invest* 1982; 47: 5–18.
- Whitehead TP, Thorpe GHG, Maxwell SRJ. Enhanced chemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids. *Analyt Chim Acta* 1992; 266: 265–77.

Prof. dr. Zlatko Pavlica, dr. vet. med.; dr. Alenka Nemec, dipl. ing. kem., Klinika za kirurgijo in male živali, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani; asist. Damjan Eržen, dr. med., Bolnišnica Golnik, Klinični oddelek za pljučne bolezni in alergijo; prof. dr. Milan Petelin, dr. stom.; prof. dr. Uroš Skalerič, dr. stom., Katedra za ustne bolezni in parodontologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani