



UNIVERZITET U NIŠU
MEDICINSKI FAKULTET



Marko A. Igić

**Ispitivanje inflamatornog efekta hemijsko -
mehaničke metode retrakcije gingive pri izradi
fiksnih protetičkih nadoknada**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Niš, 2020.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF MEDICINE



Marko A. Igić

**The Study of the Inflammatory Effect of the
Chemical - Mechanical Method of Gingival
Retraction in Making of Fixed Dental Prosthesis**

DOCTORAL DISSERTATION

Niš, 2020.

Podaci o doktorskoj disertaciji

Mentor:

Doc. dr Milena Kostić, docent, Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet

Naslov:

Ispitivanje inflamatornog efekta hemijsko - mehaničke metode retrakcije gingive pri izradi fiksnih protetičkih nadoknada

Rezime:

U istraživanju se pošlo od pretpostavke da hemijsko - mehanička retrakciona procedura, često korišćena prilikom izrade fiksnih protetičkih nadoknada, može dovesti do oštećenja tkiva parodonta, pre svega do zapaljenja gingive. Hemijsko - mehanička metoda podrazumeva korišćenje retrakcionog konca natopljenog tečnošću, najčešće adstrigensom. Kombinacijom mehaničkog pritiska i hemijskog delovanja na tkivo desni dobija se optimalno proširenje gingivalnog sulkusa i bolja kontrola sekrecije tečnosti u njemu, što omogućava precizno uzimanje otiska. Cilj istraživanja bio je ispitivanje kliničkih parametara (gingivalni indeks i indeks krvarenja) i salivarne koncentracije proinflamatornih citokina (faktor nekroze tumora α , monocitni hemotaktični protein 1, interleukin 6 i imunoglobulin A), kao i citomorfometrijska analiza epitelnih ćelija gingive (površina jedra, obim jedra, cirkularnost jedra, Feret-ov dijametar jedra, optička gustina jedra, zaobljenost jedra, i čvrstoća jedra) pre i posle hemijsko - mehaničke retrakcione procedure. Korišćena retrakciona sredstva bili su rastvori aluminijum hlorida i ferisulfata, a ispitanici su podeljeni u dve grupe u zavisnosti od toga da li se procedura izvodila na brušenim ili nebrušenim zubima. Rezultati istraživanja pokazali su da hemijsko mehanička retrakciona metoda dovodi do statistički značajnog porasta vrednosti gingivalnog indeksa i indeksa krvarenja i salivarne koncentracije proinflamatornih citokina, što ukazuje na njen inflamatorni potencijal. Ispitivane vrednosti su se vremenom smanjivale, što je dokaz reverzibilnosti nastalih zapaljenskih promena. Dobijene vrednosti zavisile su od upotrebljenog retrakcionog sredstva, sa jačim zapaljenskim efektom rastvora ferisulfata. Grupa ispitanika sa brušenim zubima imala je veće vrednosti ispitivanih parametara. Hemijsko - mehanička retrakciona metoda uzrokovala je promene u

svim ispitivanim citomorfometrijskim parametrima epitelnih ćelija gingive. Površina i obim jedara epitelnih ćelija gingive bili su veći nakon retrakcije, što se može smatrati znakom inflamacije gingive. Kombinacijom kliničke studije i laboratorijskih ispitivanja potencijalnog inflamatornog dejstva sredstava za retrakciju gingive dobijeni su relevantni zaključci primenljivi u stomatološkoj praksi u cilju optimizacije terapijskih efekata uz minimalni rizik od jatrogenih oštećenja.

Naučna oblast:

Stomatologija

Naučna
disciplina:

Stomatološka protetika, parodontologija, biohemija

Ključne reči:

retrakcija gingive, gingivalni indeksi, proinflamatorni citokini, citomorfometrija epitelnih ćelija gingive

UDK:

616.311.2:616.314-76(043.3)

CERIF
klasifikacija:

B 730

Tip licence
Kreativne
zajednice:

CC BY-NC-ND

Data on Doctoral Dissertation

Doctoral
Supervisor:

Assist. Prof., Milena Kostić, DDS, PhD, University of Nis, Medical faculty

Title:

The Study of the Inflammatory Effect of the Chemical-Mechanical Method of Gingival Retraction in Making of Fixed Dental Prosthesis

Abstract:

The research started from the assumption that the chemical - mechanical retraction procedure, widely used for making of fixed prosthetic restorations, can lead to damage to the periodontal tissue, primarily to the inflammation of the gingiva. The chemical - mechanical method involves the use a retraction cord soaked in fluid - usually an astringent. The combination of mechanical pressure and chemical action on the gum tissue results in optimal expansion of the gingival sulcus and better control of the secretion of fluid in it, which enables accurate imprinting. The aim of the study was to investigate clinical parameters (gingival index and bleeding index) and salivary concentrations of proinflammatory cytokines (Tumor necrosis factor α , Monocyte Chemoattractant Protein 1, Interleukin 6 and Immunoglobulin A), as well as cytomorphometric analysis of gingival epithelial cells (nucleus surface, circumference of the nucleus, circularity, Feret's diameter, optical density, roundness, and solidity) before and after the chemical-mechanical retraction procedure. The retraction agents used were solutions of aluminum chloride and ferisulfate, and the subjects were divided into two groups depending on whether the procedure was performed on brushed or non-brushed teeth. The results of the study showed that the chemical - mechanical retraction method leads to a statistically significant increase in the values of the gingival index, the bleeding index and salivary concentration of proinflammatory cytokines, which indicates its inflammatory potential. The test values decreased over time, which is evidence of the reversibility of the inflammatory changes that have occurred. The obtained values depended on the retraction agent used, with a stronger inflammatory effect of the ferrisulfate solution. The group of the subjects with prepared teeth had higher values of the

examined parameters. The chemical - mechanical retraction procedure caused changes in all cytomorphometric parameters of gingival epithelial cells. The surface area and circumference of the gingival epithelial cell nuclei were larger after retraction, which could be considered as a sign of gingival inflammation. A combination of clinical study and laboratory testing of the potential inflammatory effect of gingival retraction agents has yielded relevant findings applicable in dental practice in order to optimize therapeutic effects with minimal risk of iatrogenic damage.

Scientific
Field:

Dentistry

Scientific
Discipline:

Prosthodontics, periodontology, biochemistry

Key Words:

Gingival retraction, Gingival indices, Proinflammatory cytokines, Cytomorphometry of the epithelial cells

UDC:

616.311.2:616.314-76(043.3)

CERIF
Classification:

B 730

Creative
Commons
License Type:

CC BY-NC-ND

ZAHVALNICA

Smatram za svoju prijatnu dužnost da se ovde posebno zahvalim onim ljudima koji su mi svojim stručnim savetima, dobronamernim odnosom i aktivnostima pomogli da postavim i predstavim osnovne zamisli dugogodišnjeg rada.

Pre svih, neizmerno sam zahvalan mojoj mentorki, doc. dr Mileni Kostić, koja je uvek bila tu za mene i svojom upornošću, ogromnom energijom, iskustvom, neprocenjivim savetima, ali i kritikama i pohvalama, a pre svega podrškom i strpljenjem tokom niza godina zajedničkog rada i u toku izrade ove disertacije, rečju i delom, doprinela da ova disertacija bude realizovana na najispravniji način.

Prof. dr Ani Pejčić i Prof. dr Jeleni Bašić što su uvek i bezrezervno svojim znanjem, sugestijama i savetima pomogle u izradi i realizaciji ove disertacije.

Doc. dr Ivanu Ristiću koji je svojim savetima dao doprinos rešavanju problema koji su se pojavljivali tokom rada.

Prof. dr Draganu Mihailoviću i Prof. dr Aleksandru Petroviću za dragocenu pomoć, usmeravanje i doprinos da patohistološki rezultati i morfometrijska analiza prikupljenih uzoraka bude u funkciji postavljenih zadataka.

Zahvaljujem se Prof. dr Aleksandri Milić Lemić koja nije žalila trud i vreme, od početka istraživanja pa do njegovog kraja, davala dragocene smernice, konstruktivne sugestije i doprinela uspešnom okončanju istraživanja.

Zahvaljujem se na podršci Prof. dr Gordani Kocić, kao i Svetlani Stojanović na svesrdnoj pomoći u laboratorijskom i eksperimentalnom radu.

Takođe, ne manju zahvalnost dugujem mojim profesorima Prof. dr. Nebojši Kruniću, Prof. dr. Saši Stankoviću kao i kolektivu odeljenja za Stomatološku protetiku za pomoć u toku izrade ovog rada.

Takođe sam zahvalan kolektivu odeljenja za oralnu medicinu i parodontologiju na pomoći i saradnji.

Posebnu zahvalnost dugujem kolegi i prijatelju dr Milošu Stamenkoviću na pomoći u prikupljanju uzoraka.

Ostalo je još dosta, za javnost ne pomenutih, ali ne i za mene anonimnih ljudi koji su na bilo koji način pomogli da ovaj rad ugleda svetlost dana u obliku u kome je prezentiran.

Hvala mojim roditeljima Vesni i Aleksandru, stricu Stevanu i sestri Aleksandri koji su u svakom trenutku bili tu da me ohrabre, posavetuju, kritikuju, ali iznad svega vole i svojom ogromnom ljubavlju doprinesu da prebrodim sve teškoće u izradi disertacije.

Doktorska disertacija deo je rezultata internog projekta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu „Kliničko i eksperimentalno ispitivanje stomatognatog sistema i savremenih terapijskih procedura“ br. 1114629-4/11.

SADRŽAJ

1. UVODNE NAPOMENE	1
2. PREGLED LITERATURE.....	3
2.1. Anatomske i histološke karakteristike gingive	3
2.2. Inflamacija gingive.....	7
2.3. Detekcija medijatora inflamacije u oralnoj sredini	9
Pljuvačka	10
Faktor nekroze tumora α (TNF α , engl. Tumor necrosis factor)	11
Interleukin 6 (IL-6).....	11
Monocitni hemotaktični protein 1 (MCP 1)	12
Imunoglobulin A.....	12
Značaj i metode retrakcije gingive	13
<i>Mehanička retrakciona procedura</i>	14
<i>Hemijsko - mehanička retrakciona procedura</i>	14
<i>Hemijska retrakciona procedura</i>	14
<i>Hirurška retrakciona procedura</i>	15
Sredstva za retrakciju gingive	15
<i>Vazokonstriktorna sredstva za retrakciju gingive</i>	16
<i>Adstrigensna sredstva za retrakciju gingive</i>	17
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	19
4. MATERIJAL I METODE.....	20
4.1. Ispitivana sredstva i ispitanici	20
4.1.1. Ispitivana sredstva za retrakciju gingive.....	20
4.1.2. Ispitanici.....	20
4.2. Metode istraživanja	22
4.2.1. Procena stanja parodonta i gingive	22
4.2.2. Biohemijske analize količine proinflamatornih citokina	24
4.2.3. Citološka i morfometrijska ispitivanja.....	25
4.3. Eksperimentalni dizajn.....	27
4.3.1. Klinička procedura	28

4.4.	Statistička analiza podataka	29
5.	REZULTATI	31
5.1.	REZULTATI PROCENE STANJA GINGIVE I SALIVARNE KONCENTRACIJE ISPITIVANIH PROINFLAMATORNIH CITOKINA NAKON HEMIJSKO - MEHANIČKE METODE RETRAKCIJE GINGIVE	31
5.1.1.	Vrednosti CPITN za procenu stanja parodonta u ispitivanim grupama u prvom opservacionom periodu.....	31
5.1.2.	Vrednosti indeksa za procenu stanja gingive u ispitivanim grupama u zavisnosti od vrste aplikovanog sredstva za retrakciju gingive tokom različitih opservacionih perioda....	32
5.1.3.	Salivarne koncentracije proinflamatornih citokina u ispitivanim grupama u zavisnosti od vrste aplikovanog sredstva za retrakciju gingive tokom različitih opservacionih perioda	34
5.2.	Uticaj primenjenog retrakcionog sredstva na vrednosti indeksa stanja gingive i salivarnu koncentraciju proinflamatornih citokina nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure	36
5.2.1.	Uticaj korišćenog retrakcionog sredstva na promenu vrednosti GI.....	36
5.2.2.	Uticaj korišćenog retrakcionog sredstva na promenu vrednosti Ikr	39
5.2.3.	Uticaj korišćenog retrakcionog sredstva na salivarnu koncentraciju IL-6.....	41
5.2.4.	Uticaj korišćenog retrakcionog sredstva na salivarnu koncentraciju TNF- α	43
5.2.5.	Uticaj korišćenog retrakcionog sredstva na salivarnu koncentraciju IgA	46
5.2.6.	Uticaj korišćenog retrakcionog sredstva na salivarnu koncentraciju MCP-1	49
5.3.	UTICAJ OPSERVACIONOG PERIODA NA VREDNOSTI INDEKSA ZA PROCENU STANJA GINGIVE I KONCENTRACIJU PROINFLAMATORNIH CITOKINA NAKON HEMIJSKO - MEHANIČKE RETRAKCIJE PROCEDURE	51
5.3.1.	Uticaj opservacionog perioda na vrednosti indeksa za procenu stanja gingive.....	51
5.4.	Uticaj brušenja zuba na vrednosti indeksa za procenu stanja gingive i salivarnu koncentraciju proinflamatornih citokina nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure	55
5.4.1.	Uticaj brušenja zuba na promenu vrednosti GI nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure	55
5.4.2.	Uticaj brušenja zuba na promenu vrednosti Ikr nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure	58
5.4.3.	Uticaj brušenja zuba na promenu salivarne koncentracije IL-6 nakon hemijsko - mekaničke retrakcione procedure	61
5.4.5.	Uticaj brušenja zuba na promenu salivarne koncentracije IgA nakon hemijsko - mekaničke retrakcione procedure	67

5.4.6. Uticaj brušenja zuba na promenu salivarne koncentracije MCP-1 nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure	70
5.5. REZULTATI MORFOMETRIJSKIH ISPITIVANJA U ISPITIVANIM GRUPAMA U ZAVISNOSTI OD VRSTE APLIKOVANOG SREDSTVA ZA RETRAKCIJU GINGIVE TOKOM RAZLIČITIH OPSERVACIONIH PERIODA	73
5.5.1. Površina jedra.....	73
5.5.2. Obim jedra	75
5.5.3. Cirkularnost jedra.....	77
5.5.4. Feretov dijametar	79
5.5.6. Zaobljenost jedra.....	83
5.5.7. Čvrstoća jedra	85
6. DISKUSIJA.....	87
6.1. PROMENE INDEKSA ZA PROCENU STANJA GINGIVE NAKON HEMIJSKO - MEHANIČKE RETRAKCIONE PROCEDURE.....	87
6.2. PROMENE PROINFLAMATORNIH CITOKINA NAKON HEMIJSKO - MEHANIČKE RETRAKCIONE PROCEDURE.....	94
6.3. CITOMORFOMETRIJSKE PROMENE NAKON HEMIJSKO - MEHANIČKE RETRAKCIONE PROCEDURE.....	104
7. ZAKLJUČCI	108
8. LITERATURA:.....	110

1. UVODNE NAPOMENE

Terapija fiksnim nadoknadama podrazumeva izradu jedne ili većeg broja pojedinačnih kruna ili mostova u cilju rehabilitacije dela ili punog zubnog niza nakon destrukcije, odnosno gubitka zuba. Fiksne nadoknade su, nesporno, potreba savremenog čoveka ali su, u isto vreme, u stalnoj koliziji sa vlastitim neželjenim dejstvom na zdravlje oralnih tkiva sa kojima su u kontaktu.

Eventualni problemi koji se mogu javiti u toku korišćenja fiksnih nadoknada rezultat su kumulativnog dejstva većeg broja faktora, te se ne mogu pripisati samo promenama koje nastaju na oralnim tkivima i samom materijalu tokom nošenja nadoknade već i postupku njene izrade. Dosadašnja istraživanja su pokazala da se integritet parodontalnog tkiva u toku izrade fiksnih nadoknada može narušiti. Iz navedenih razloga potrebno je maksimalno eliminisati sve faktore koji bi mogli oštetiti oralna tkiva u toku izrade fiksnih nadoknada i na taj način obezbediti njihov duži vek i zaštititi zube nosače.

U cilju prevencije oštećenja parodontalnih tkiva neophodno je da veštačka krunica ili kotva mosta precizno naleže na zubno tkivo u predelu granice preparacije (demarkacione linije). Postojanje marginalne pukotine, odnosno nedostatka intimnog kontakta između veštačke krunice i nebrušenog dela zuba, predilekciono je mesto za nakupljanje dentalnog plaka koji je uzrok karijesa i parodontalnih oboljenja.

Oblik demarkacije zavisi od tipa fiksne nadoknade i vrste materijala od koga se ona izrađuje. U skladu sa kliničkom indikacijom, demarkaciona zona se može pozicionirati ispod, iznad ili u nivou ruba gingive i od izuzetnog je značaja učiniti je dostupnom preciznom otiskivanju. Ta dostupnost se postiže različitim metodama retrakcije gingive.

Priprema gingivalnog sulkusa za otiskivanje, odnosno retrakcija gingive, neophodna je u slučajevima kada je demarkaciona linija lokalizovana u gingivalnom sulkusu ili paragingivalno i podrazumeva reverzubilno apikalno i lateralno pomeranje marginalne gingive kao i isušivanje predela gingivalnog sulkusa kako bi se otisni materijal intimno priljubio uz granicu preparacije maksimalno precizno je otiskujući. Metode retrakcije gingive mogu biti različite, a najčešće je primenjivana hemijsko - mehanička metoda. Ona podrazumeva korišćenje retrakcionog konca

natopljenog retrakcionom tečnošću, odnosno adstrigensom. Kombinacijom mehaničkog pritiska i hemijskog delovanja na tkivo desni dobija se optimalno proširenje gingivalnog sulkusa i bolja kontrola sekrecije tečnosti u njemu.

Literaturni podaci, sa druge strane, ukazuju na mogućnost da uobičajena hemijsko - mehanička retrakciona metoda može da dovede do oštećenja, do tada zdravog, tkiva gingive. Laboratorijska istraživanja su pokazala citotoksični i citostatični efekat adstrigensnih sredstava, a njihov inflamatorni efekat dokazan je i na eksperimentalnim životinjama.

Predmet istraživanja doktorske disertacije odnosi se na potencijalno inflamatorno dejstvo ispitivanih adstrigensnih sredstava u toku hemijsko - mehaničke metode retrakcije gingive.

Prvi znaci oštećenja parodonta javljaju se na tkivu gingive. Jatrogeni efekat sredstava za retrakciju gingive klinički se potvrđuje praćenjem gingivalnog indeksa i indeksa krvarenja, pre i nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure. Inflamacija gingive može dovesti do porasta koncentracije proinflamatornih citokina i imunoglobulina u pljuvački, kao i strukturalnih promena na samom tkivu. Kombinacijom kliničke studije i laboratorijskih ispitivanja potencijalnog inflamatornog dejstva sredstava za retrakciju gingive dobijaju se relevantni zaključci koji su primenljivi u stomatološkoj praksi, a u cilju optimizacije terapijskih efekata uz minimalni rizik po tkiva sa kojim dolaze u kontakt. Kumulativni efekat različitih metoda ispitivanja neželjenih dejstava hemijsko-mehaničke metode retrakcije gingive rezultuje relevantnim rezultatima koji će svrsishodno naći svoju kliničku primenu.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Anatomske i histološke karakteristike gingive

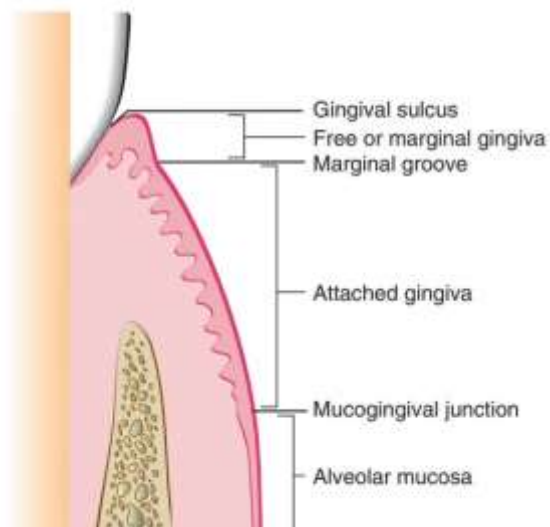
Gingiva (desni) je naziv za deo mastikatorne sluzokože koja prekriva alveolarne nastavke gornje i donje vilice. Kao najpovršnji deo parodonta štiti dublje slojeve potpornog aparata zuba od oštećenja i invazije bakterija oralne sredine. Jedini je klinički vidljivi deo parodonta. (Perry 1996).

Gingiva je talasasta, bledoružičasta, čvrsta, rezilijentna i sitnozrnaste je strukture. U odnosu na *anatomske karakteristike* može se podeliti na tri dela (Kojović 2015, Đajić 2015) (Slika 1):

- **Slobodna (marginalna) gingiva** - deo gingive koji nije fiksiran za zub. Široka je do 2 mm i pruža se od ivice gingive do gleđno – cementne granice i u vidu kragne obavija vrat zuba. U koronarno – apikalnom pravcu slobodna gingiva se pruža od ivice gingive do zamišljene horizontalne ravni koja prolazi kroz dno gingivalnog sulkusa, gde se nastavlja pripojnom gingivom. Mezijalno i distalno slobodna gingiva se nastavlja u interdentalnu papilu.

- **Interdentalna gingiva (papila)** – deo gingive trouglastog oblika koja ispunjava interdentalni prostor. Interdentalna papila nije pripojena za podlogu. Ima autora koji interdentalnu papilu izdvajaju kao poseban deo parodonta. Ona predstavlja spoj vestibularnog i oralnog dela slobodne gingive, bez jasnih granica, koji prati liniju alveolarnog septuma, kako bi se maksimalno popunio prostor između zuba. Ova jedinstvenost se najbolje vidi kod gubitka susednih zuba, kada se oko usamljenog zuba gingiva vidi kao jedinstven okovratnik. Veličina i oblik interdentalne papile varira u zavisnosti od veličine i oblika zuba koji su u kontaktu, ali i od redukcionih procesa koji mogu nastati.

- **Pripojna (fiksirana) gingiva** – deo je gingive čvrsto pripojen za podlogu (alveolarna kost i cement zuba). Prelaz slobodne u pripojnu gingivu je označen tzv. „gingivalnim žlebom“. Pripojna gingiva se vestibularno nastavlja sluzokožom usana i obraza, dok sa oralne strane prelazi u sluzokožu nepca i poda usne duplje.



Slika 1. Anatomske karakteristike gingive (Newman 2019).

Između unutrašnje površine slobodne gingive i krunice zuba nalazi se plitak kapilarni prostor poznat kao **gingivalni sulkus** (Lamster 2007). Dubina gingivalnog sulkusa kod zdrave gingive iznosi 0,1 do 2mm. Dubina gingivalnog sulkusa odgovara širini slobodne gingive (do 2mm). Unutrašnji (tvrđi) zid gingivalnog sulkusa čini gleđ zuba, dok spoljašnji (meki) zid gingivalnog sulkusa čini unutrašnja površina slobodne gingive. Gingivalni sulkus je prema usnoj duplji otvoren, a njegovo dno je u visini koronarnog kraja pripojenog epitela, odnosno gleđno – cementne granice. Iz gingivalnog tkiva se u gingivalni sulkus luči gingivalna tečnost (Griffiths 2003).

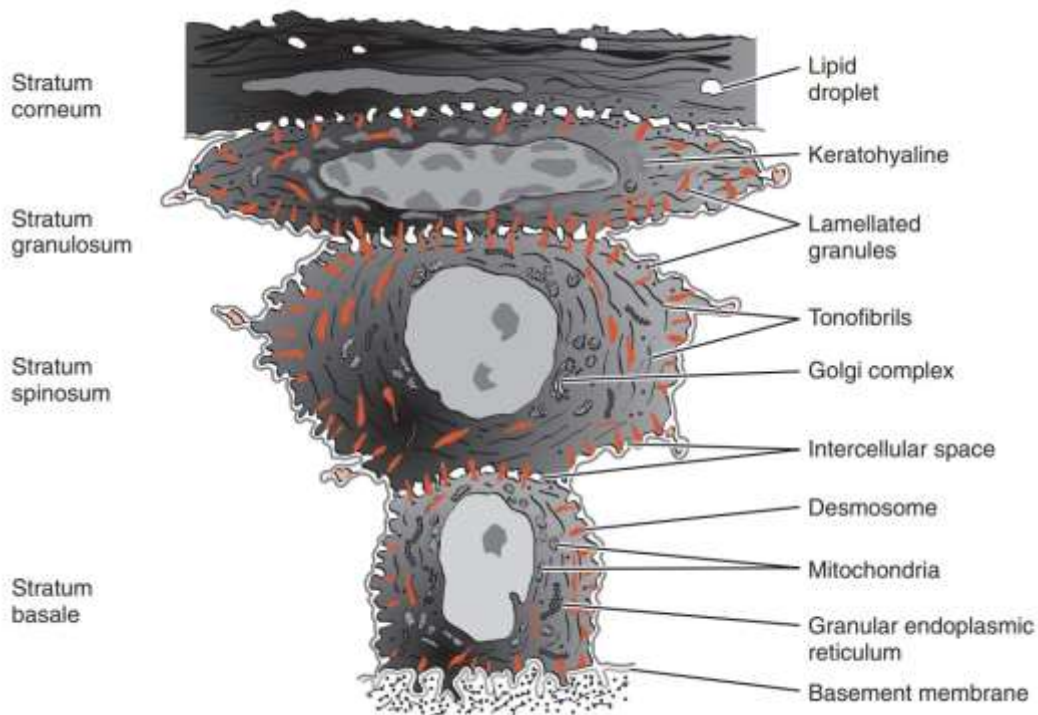
Gingivalna tečnost je transudat poreklom iz krvnih sudova gingive, te je slična krvnom serumu. Pripisuje joj se više uloga. Lučenje ove tečnosti može predstavljati i odbrambeni mehanizam: ona ispira gingivalni sulkus, odstranjuje mikroorganizme i strane materije, te ona mehanički čisti sulkus (Uitto 2003). Ona takođe učestvuje i u lokalnom imunskom odgovoru, obzirom da sadrži anititela, neke aminokiseline i proteine, među kojima su i proinflamatorni citokini. Lepljivi proteini omogućavaju vezivanje gingive za površinu zuba (Champagne 2003, Čakić 2009, Bostanci 2018).

Sa druge strane, neki autori su se osvrnuli na neželjene posledice lučenja gingivalne tečnosti, obzirom da se u njoj razmnožavaju mikroorganizmi i gomilaju neorganske soli koje mogu

kalifikovati meke naslage i uzrokovati stvaranje zubnog kamenca (Champagne 2003, Bostanci 2018).

S **histološkog aspekta** gingiva je izgrađena od vezivnog tkiva pokrivenog epitelom. Oralnu površinu slobodne i pripojne gingive prekriva *oralni epitel mastikatornog tipa*, odnosno pločasto slojeviti epitel sa orožavanjem. Sastoji se iz četiri sloja (Kojović 2015, Đajić 2015) (Slika 2):

- *Stratum basale* - kockaste ili kubične ćelije sa velikim brojem ćelijskih deoba
- *Stratum spinosum* - najdeblji sloj epitela koga čini do 20 redova poligonalnih ćelija sa manjim deobnim potencijalom
- *Stratum granulosum* - ćelije sa keratinskim granulama
- *Stratum corneum* - spljoštene ćelije sa velikom količinom keratina.



Slika 2. Histologija gingive (Newman 2019).

Orožavanje gingive odgovor je na pritisak i trenje koje permanentno trpi u funkciji žvakanja hrane.

Pored epitelnih ćelija u oralnom epitelu gingive nalaze se i neepitelne „svetle“ ćelije: melanociti, antigen prezentujuće Langerhansove ćelije, Merkelove senzorne ćelije i mali limfociti (T ćelije) (Bartold 2000).

Unutrašnju površinu slobodne gingive, koja je okrenuta ka površini zuba, prekriva *sulkusni epitel* koji po histološkoj građi odgovara pločasto slojevitom epitelu koji ne orožava (Schroeder 1997). Sastoji se iz dva sloja: *Stratum basale* i *Stratum suprabasale*.

Veza zuba i gingive obezbeđena je posredstvom *pripojnog epitela* gingive koji se pruža u vidu prstena oko vrata zuba, u visini od 0,25 do 1,35 mm. Sulkusni epitel ne orožava i sastoji se iz dva sloja: *Stratum basale* i *Stratum suprabasale*, a čini ga 20 do 30 redova ćelija. U smeru apeksa korena zuba broj redova ćelija se smanjuje (Kojović 2015, Schroeder 1997).

Pripojni epitel se za površinu zuba vezuje unutrašnjom bazalnom membranom i hemodezmozomima. Oralni epitel gingive i vezivno tkivo ispod njega odvojeni su talasastom bazalnom membranom, dok je krzno gingive od sulkusnog i pripojnog epitela odvojeno ravnom bazalnom membranom (Djajić) (Đajić 2015).

Krzno gingive je čvrsto fibrozno vezivno tkivo koje se sastoji od matriksa, ćelija, vezivno tkivnih vlakana, krvnih i limfnih sudova i nervnih vlakana. Gingivalno tkivo nema submukozu i sa periostom gradi mukoperiost. Vezivno tkivna vlakna gingive mogu se svrstati u grupu kolagenih, retikulinskih, elastičnih i oksitalanskih. Kolagen je glavni konstituent ekstracelularnog matriksa gingive koji presudno utiče na histoarhitektoniku gingivalnog veziva. Kolagena vlakna pružaju čvrstinu gingivi i pričvršćuju je za cement korena zuba i alveolarnu kost (Kojović 2015, Schroeder 1997, Bartold 2000).

Najvažnije gradivne ćelije gingive jesu fibroblasti (fibrociti). Fibroblasti su mezenhimalnog porekla i igraju veliku ulogu u razvoju, održavanju i reparaciji vezivnog tkiva gingive. Glavna funkcija fibroblasta je sinteza i održavanje komponenti vanćelijskog matriksa vezivnog tkiva. Ćelije krzna gingive su i mastociti, neutrofili, makrofagi, eozinofili, plazmociti i limfociti (Schroeder 1997).

Uloga gingivalnog vezivnog tkiva je, pre svega, zaštitna, a pomaže i u potpori i fiksaciji zuba unutar njihove alveolarne čašice i pruža adekvatnu podršku epitelnom tkivu (Schroeder 1997).

2.2. Inflamacija gingive

Oštećenje tkiva parodonta biološkim, mehaničkim i hemijskim faktorima u najvećem broju slučajeva rezultira zapaljenskim promenama na tkivu gingive (gingivitis). Nelečena inflamacija desni progredira u oboljenje dubljih tkiva parodonta praćenih eksudativno destruktivnim promenama periodontalnog ligamenta, cementa korena zuba i alveolarne kosti, kidanjem pripojnog epitela i formiranjem parodontalnih džepova, labavljenjem, migracijom i konačnim gubitkom zuba (parodontopatija) (Kojović 2015, Bosshardt 2018).

U etiologiji gingivitisa primarnu ulogu imaju loša oralna higijena i naslage na zubima (oralni biofilm i zubni kamenac). Sa druge strane, nikako se ne može zanemariti uloga lokalnih i sistemskih favorizujućih faktora koji omogućavaju ili bar pospešuju da uvek prisutna oralna mikrobna flora postane patogena i izazove promene na parodontu. Lokalni faktori koji mogu izazvati nastanak gingivitisa i parodontopatije su morfološke anomalije zuba i mekih tkiva, karijes zuba, malokluzije, krezubost, loše navike i parafunkcije, hemijska i jatrogena oštećenja (Kojović 2015, Đajić 2015).

U unutrašnjosti gingivalnog sulkusa se neprekidno odvijaju određeni procesi jer hrana pod pritiskom žvakanja može dospeti u sam sulkus, naročito ako je on mehanički oštećen, ili je došlo do promena na zubima i okolini (ispupčenja na zubu bivaju razorena karijesom ili se gubi kontaktna tačka, bilo zbog zubnog karijesa ili zbog migriranja zuba prema praznom prostoru nastalom posle gubitka pojedinih zuba). Raspadanje hrane stvara uslove za razvoj iz spoljašnje sredine dospelih patogenih mikroorganizama, ili oni koji su već prisutni u usnoj duplji budu zbog promene pH stimulisani.

Greške u radu stomatologa kao i loši konzervativni i protetički radovi mogu biti uzrok gingivitisa. Oštećenja gingive mogu nastati prilikom same intervencije mehaničkim (stomatološkim instrumentima, kleštima, retrakcionim ili hirurškim koncem itd.) ili hemijskim putem (upotreba različitih sredstava i materijala u stomatološkim procedurama) (Abduo 2017).

Gingivitis i parodontopatije mogu biti manifestacija brojnih sistemskih bolesti koje smanjuju lokalnu i opštu otpornost organizma ili kao akcesorni etiološki faktori omogućavaju da oboljenja parodonta nastanu lakše i brže. Oni su tako sastavni deo malnutricija, krvnih diskrazija, endokrinih poremećaja, infektivnih oboljenja, intoksikacija i psihosomatskih oboljenja (Kojović 2015). Pojedini lekovi, kao što su na primer ciklosporin, fenitoin i nifedipin, mogu takođe izazvati promene na gingivi. Gingivitis prate i lokalna oboljenja oralnih tkiva kao što su gljivični i virusni stomatitis, kožne bolesti lokalizovane u ustima (*Pemphigus*, *Lichen planus*, *Erythema exudativum multiforme* i dr.) i maligni i benigni tumori gingive (Kostadinović 2005).

Gingivitis zahvata slobodnu gingivu i interdentalnu papilu, kao i koronarni deo pripojne gingive. Karakterišu ga promene u tkivu i na krvnim sudovima, praćene eksudacijom i edemom obolelog dela gingive. Srazmerno sa povećanjem volumena ćelije, moguće su i promene na nivou ćelijskih organela i jedra (Chvatal 2007). Prisutna je i ćelijska infiltracija, što potencira edem.

Dilatacija kapilarne mreže gingive dovodi do porasta intravaskularnog pritiska i razdvajanja endotelih ćelija, čime se dozvoljava eksudacija proteina i seruma u međućelijske prostore. Veći je protok gingivalne tečnosti koja razblažuje štetne supstance u tkivu i gingivalnom sulkusu i svojim tokom ih prenosi u usnu šupljinu, odnosno pljuvačku (Pesce 2007). Proteini, koji su sastavni deo ovog transudata, su antitela i inflamatorni medijatori (Pesce 2007, Liu 2012).

Istovremeno sa povećanjem protoka tečnosti dolazi do nakupljanja većeg broja neutrofilnih granulocita, monocita i makrofaga koji su privučeni pozitivnim gradijentom hemotakse (Kornman 1997). Te ćelije, kao i strukturalne i endotelijalne ćelije nakon stimulacije sintetišu i sekretuju širok spektar inflamatornih i imunoloških medijatora nazvanih citokini (Gupta 2013). Inflamatorni medijatori karakteristični za gingivitis su uglavnom poreklom iz keratinocita i neutrofilnih granulocita. Osim neutrofilnih granulocita, ćelijski infiltrat čine i male količine T-limfocita, koji se zadržavaju u tkivu i ne napuštaju unutrašnju sredinu.

Nadalje dolazi do aktivacije monocitno - limfocitne populacije (Offenbacher 1996), aktivacije B-limfocita koji produkuju specifična antitela i povećanog lučenja inflamatornih medijatora i kataboličkih citokina, od kojih dominiraju prostaglandin E₂, interleukin-1, faktor tumorske nekroze- α i interleukin-6 (Lamster 2007, Graves 1998). Ovi inflamatorni medijatori

izazivaju kliničke znake zapaljenja, destrukciju vezivnog tkiva, kidanje epitelnog pripoja, gubitak kosti i produblјivanje nastalih parodontalnih džepova (Mirrielees 2010).

Sve ove promene uslovlјavaju morfološke promene gingive, te se menja boja, veličina, oblik, kao i konzistencija gingive, što je praćeno subjektivnim senzacijama i krvarenjem (Delima 2003).

Tesna anatomska povezanost gingive sa ostalim delovima parodoncijuma omogućava i brzo širenje inflamacije, te bezazleno oštećenje gingive, ukoliko se na vreme na sanira, može završiti hroničnim zapaljenjem i razvojem parodontopatije. Sa razvojem bolesti, parodontalni džepovi se produblјuju, što pospešuje rast parodontopatogenih mikroorganizama. Usled pomeranja pripoja gingive sa gleđi na cement korena zuba i redukcije alveolarne kosti menja se odnos dužine kliničke krune i korena, što pogoduje daljem produblјivanju patoloških promena. Drugim rećima, uspostavlja se *circulus vitiosus* čiji je krajnji rezultat ispadanje zahvaćenog zuba, čime se lokalna infekcija eliminiše i sprećava njeno širenje na ostatak organizma. Stoga je nesumnјiv znaćaj kako praćenja njihovih mogućih uzročnika tako i pravovremenog otkrivanja oštećenja desni.

Klinički se procena stanja gingive i celokupnog parodonta vrši **indeksima**: plak indeksi i gingivalni indeks po Silness i Løe, indeks krvarenja po Muhlemann-u za procenu stanja gingive, indeks labavljenja zuba i *Community parodontal index of treatment need* (CPITN) za procenu stanja parodonta. Indeksi omogućavaju numeričko izražavanje nastalih promena te objektivno ocenјivanje stanja parodonta, praćenje postignutih terapijskih rezultata i njihovo precizno poređenje u epidemiološkim i naućnim istraživanjima (Kojović 2015, Đajić 2015).

2.3. Detekcija medijatora inflamacije u oralnoj sredini

Gingivalna i parodontalna oštećenja uzrokovana hemijskim, mehanićkim i biološkim faktorima praćena su lokalnim imonološkim odgovorom, sintezom razlićitih biohemijskih medijatora i destruktivnim promenama na tkivu. Obzirom da su oralna tkiva u stalnom i neposrednom dodiru sa pljuvaćkom i gingivalnom tećnošću nesporna je sekrecija medijatora i oslobađanje tkivnih i destruktivnih derivata u ove tećnosti (Chiappin 2007).

Pljuvačka je multikonstitutivna oralna tečnost i ima značajan potencijal u detekciji i praćenju lokalnih i sistemskih oboljenja zbog aktivne razmene gradijenta sa krvnim serumom (Morimoto 2008). Tanki sloj epitelijalnih ćelija koji razdvaja pljuvačne kanale od sistemske cirkulacije omogućava prenos supstanci u pljuvačku aktivnim nosačem, difuzijom kroz ćelijsku membranu ili pasivnom difuzijom preko koncentracije gradijenata (Morimoto 2008). Sastav pljuvačke, sa druge strane, nije toliko složen kao sastav i interakcije u krvnom serumu, te bi trebalo da tačnije odražava stanje organizma u svakom trenutku. Prikupljanje pljuvačke je neinvazivna procedura, za razliku od prikupljanja krvi, a pruža mogućnost da se u njoj detektuju i lokalno izlučene supstance kao markeri oralnog oštećenja, ali i markeri koji bi ukazali na sistemske bolesti (Morimoto 2008, Pesce 2007).

U vodenoj fazi koja čini 99% sastava pljuvačke rastvoreni su čvrsti sastojci, čija se kompozicija razlikuje od osobe do osobe, a varira i kod iste jedinice u zavisnosti od stanja ili vremena detekcije. Neorganski deo kompozicije čine joni natrijuma, kalijuma, kalcijuma, hlora i dr. Organski deo pljuvačke sastoji se od izlučenih derivata organizma (urea, mokraćna kiselina i kreatinin), proizvoda truljenja (kadaverin), lipida (holesterol i masne kiseline) i više od 400 vrsta proteina (α amilaza, histatini, cistatini, laktoferini, lizocimi, mucini, albumini, sekretorni imunoglobulin A, transferin i dr.), koji su u pljuvački zastupljeni u koncentracijama koje se mere u mg/ml (α amilaza), odnosno pg/ml (citokini) (Chiappin 2007, St John 2004, Ilyin 2004).

Iz pregleda objavljene literature o citokinima iz pljuvačke kod raznih oralnih bolesti, došlo je do brojnih sugestija da bi oni mogli biti korisni dijagnostički i prognostički pokazatelji kod određenih oralnih bolesti (Boras 2006, Liu 2012, Kaczyński 2019).

Pljuvačka pored drugih funkcija vlaži i podmazuje gingivu smanjujući mogućnost za njeno mehaničko oštećenje, a delimično dospeva i u sulkus gde se meša sa sulkusnom tečnošću menjajući njen sastav, pH, koncentraciju i viskoznost. Minerali iz pljuvačke namenjeni remineralizaciji zubne gleđi pri tom mogu da se talože stvarajući čvrste strukture.

Gingivalna tečnost je kompleksna mešavina supstanci poreklom iz seruma, leukocita, strukturalnih ćelija parodonta i oralnih bakterija (Pradeep 2009). Kompozicija gingivalne tečnosti rezultat je interakcije bakterijskog biofilma adheriranog za površinu zuba i ćelija parodontalnog tkiva. Ispitivanja su dokazala da se nivoi enzima, produkata degradacije tkiva, inflamatornih

medijatora tipa citokina i hemokina u gingivalnoj tečnosti povećavaju srazmerno sa razvojem inflamacije (Biyikoğlu 2007, Alassiri 2018, Dutzan 2012, de Oliveira 2017, Toyman 2015)

Faktor nekroze tumora α (TNF α , engl. Tumor necrosis factor) (kaheksin ili kahektin) je ćelijski signalni protein (citokin) koji učestvuje u akutnoj fazi inflamatornog procesa (Yücel Ö 2015). Proizvodi se uglavnom u aktiviranim makrofagama, mada ga mogu proizvesti i mnogi drugi ćelijski tipovi, kao što su limfociti, neutrofili, mastociti, eozinofili, fibroblasti i neuroni (Maciej 2007). Primarna uloga TNF- α je u regulaciji odgovora imunih ćelija (Ikezawa 2005, Morimoto 2008).

Spektar bioloških uloga TNF- α je veoma širok, a jedna od prvih poznatih uloga bila je sposobnost izazivanja nekroze tumora po kojoj je i dobio ime. Svojim parakrinim efektom podstiče sekreciju interleukina 1 (IL-1), interleukina 6 (IL-6), interleukina 8 (IL-8) i faktora stimulacije rasta granulocitno-monocitnih kolonija (GM-CSF). Dejstvo TNF- α stimuliše proliferaciju makrofaga i T ćelija kao i njihovu produkciju citokina, kao i ekspresiju adhezionih molekula na endotelnim ćelijama (Maksimović Simović 2017).

TNF- α postoji u solubilnoj i membranski vezanoj formi. TNF α receptori (TNF-R1 i TNF-R2) su transmembranski proteini sa ekstra i intracelularnim domenima i nalaze se na skoro svim ćelijama sa jedrom. Uloga receptora je regulacija imunskog odgovora (Vasanthi 2007). Obe forme TNF α vezuju se za oba tipa receptora, mada se solubilna forma dominantno vezuje za TNF-R1. Stimulacija ćelija transmembranskom formom može se postići preko oba tipa receptora. TNF-R2 ima ulogu u stimulaciji proliferacije T-ćelija i supresiji TNF α posredovanog inflamatornog odgovora, dok je TNF-R1 odgovoran za odbranu domaćina i inflamatorni odgovor (Maksimović Simović 2017).

Interleukin 6 (IL-6) je protein sa proinflamatornim i antiinflamatornim učinkom. Luče ga T i B limfociti, makrofage, monociti, fibroblasti, osteoblasti, keratinociti, endotelne ćelije (Brailo 2006). Igra ulogu u akutnom inflamatornom odgovoru, odnosno stimulaciji T i B limfocita, indukciji sinteze proteina akutne faze i stimulaciji hematopoeze i trombocitopoeze (Oppenheim 1993, Mocellin 2005, Tanaka 2016). IL-6 podstiče proliferaciju endotelnih ćelija, a utiče i na njihovu propustljivost (Maksimović-Simović 2017).

IL-6 ostvaruje svoju biološku ulogu preko IL-6 receptora i signalnog molekula gp130. Njegova ekspresija regulisana je bakterijskim liposaharidima i citokinima, uključujući i TNF α (Ray 1988). Na ćelijama koje nemaju membranski IL-6 receptor stvara se kompleks sa solubilnim IL-6 receptorom, te opet nastaje signalna transdukcija (Srirangan 2010, Hashizume 2011).

Prekomerna ekspresija IL-6 deo je patogeneze uključujući multipli mijelom, reumatoidni artritis, Kastlemanovu bolest, psorijazu i osteoporozu u postmenopauzi. Stoga selektivni antagonisti IL-6 mogu imati terapijske koristi (Simpson 1997).

Uloga IL-6 kao antiinflamatornog citokina posredovana je putem njegovih inhibitornih efekata na TNF α i IL-1, i aktivacije IL-1Ra i IL-10.

Monocitni hemotaktični protein 1 (MCP 1) (hemokin (C-C motiv) ligand 2 (CCL2)), je mali citokin iz CC hemokin familije koji je takođe poznat kao i mali induktivni citokin A2. MCP1 je produkt različitih tipova ćelija uključujući fibroblaste, epitelne ćelije, endotelne ćelije i monocite, kao odgovor na različite signale (TNF α , IL-1, interferon γ , bakterijski lipopolisaharidi i lipoproteini male gustine) (Deshmane 2009, Colotta 1992, Van Damme 1994). MCP 1 spada u hemokine koji mogu da aktiviraju različite grupe leukocita kroz interakciju sa specifičnim receptorima i indukuju formiranje specifičnih inflamatornih infiltrata (Luther 2001, Garard 2001). MCP 1 poseduje sposobnost regrutacije monocita, T limfocita i dendritičkih ćelija na inflamatornim područjima (Ward 1998). Sa druge strane, MCP 1 je induktor ekspresije citokina u monocitima (Valente 1988, Jiang 1992). Celularnu aktivnost izaziva vezivanjem za dve vrste površinskih receptora, CCR2 (CC hemokin 2 receptor) (Rossi 2000).

MCP 1 učestvuje u patogenezi bolesti koje se karakterišu monocitnim infiltratima, poput psorijaze, reumatoidnog artritisa i ateroskleroze. MCP 1 pojačava antitumorsko delovanje monocita i od suštinskog je značaja za stvaranje granuloma (Baggiolini 2001).

Imunoglobulin A (IgA) je antitelo koje ima ključnu ulogu u imunološkoj funkciji sluzokože. IgA predstavlja do 15% ukupnih imunoglobulina proizvedenih u telu.

Postoje dva oblika ovog imunoglobulina: monomerni i dimerni oblik IgA, koji je rašireniji i poznat kao sekretorni IgA (sIgA). sIgA je glavni imunoglobulin mukoznih sekreta, uključujući suze, pljuvačku, znoj, kolostrum i sekrete iz genitourinarnog trakta, gastrointestinalnog trakta, prostate i respiratornog epitela (Kumar 2020, Bakianian Vaziri 2010, Diaz-Arnold 2002). Takođe

se nalazi u maloj količini u krvi. Sekretorna komponenta sIgA štiti imunoglobulin od razgradnje proteolitičkim enzimima pa sIgA može preživeti u gastrointestinalnom traktu i pružiti zaštitu protiv mikroba koji se razmnožavaju u telesnim sekretima. IgA štiti mukozne membrane od infekcija.

Značaj i metode retrakcije gingive

Postizanje neprimetnog prelaza veštačke krunice na nebrušen deo zuba veliki je izazov i ključ uspeha prilikom izrade fiksnih zubnih nadoknada. Ukoliko se između njih javi zjap, tzv. marginalna pukotina, ona postaje predilekciono mesto za nakupljanje ostataka hrane i oralnog biofilma, što posledično dovodi do razvoja karijesa i oboljenja potpornog aparata zuba. Postojanje marginalne pukotine vodi ka destruktiji i gubitku zuba nosača i smanjuje vek trajanja veštačke krunice (Al Ani 2010, Abduo 2017).

Da bi se izbegao nastanak marginalne pukotine neophodno je precizno otiskivanje, posebno ukoliko se granica preparacije tj. demarkaciona linija nalazi u gingivalnom sulkusu (Bennani 2008). Subgingivalna demarkacija preparacije indikovana je u slučaju karijesnih lezija pete klase ili klinastih erozija, hipersenzitivnog dentina u nivou gleđno-cementne granice ili ranijih subgingivalnih preparacija (Radlović 1998). Statistika, bez obzira na savremene trendove u brušenju zuba, pokazuje da je subgingivalna demarkacija preparacije neophodna u oko 50% slučajeva (Trifunović 1998).

Priprema gingivalnog sulkusa podrazumeva reverzibilno apikalno i lateralno pomeranje marginalne gingive i isušivanje predela gingivalnog sulkusa, kako bi otisni materijal prodro u ovaj prostor, intimno se priljubio uz zubno tkivo i precizno reprodukovao predeo demarkacione linije. Postupak pripreme gingivalnog sulkusa u literaturi se najčešće naziva retrakcija gingive (*Tabassum 2017, Wostmann 2008*).

Procedurom retrakcije gingive se obezbeđuje mesto za smeštaj elastičnog materijala u kapilarni prostor gingivalnog sulkusa, odnosno njegova optimalna debljina koja garantuje preciznost u otisku bez kidanja i deformacije pri vađenju iz podminiranih zona (Bowley 1998). Za preciznost silikonskih elastomera neophodna je horizontalna dilatacija gingivalnog sulkusa od 0,2 mm (Prasad 2011).

Konačno, upotreba retrakcionih sredstava opravdava se i hidrofobnošću kondenzacionih silikona, koji se najčešće i koriste. Da bi se osigurala preciznost ovih otisnih materijala potrebno je maksimalno ukloniti krv i gingivalnu tečnost iz predela gingivalnog sulkusa (Laufer 1997, Bowley 1998)

Postoji više metoda retrakcije gingive: mehanička, hemijsko - mehanička, hemijska i hirurška (Donovan 2004, Tabassum 2017).

Mehanička retrakciona procedura podrazumeva aplikaciju neimpregniranog retrakcionog konca odgovarajuće debljine u gingivalni sulkus. Konci mogu biti pleteni, namotani i heklani, različitih konfiguracija kako bi se osigurao odgovarajući promer i debljina (McCracken 2018). Debljina retrakcionog konca zavisi od dubine gingivalnog sulkusa, odnosno od zdravlja parodontalnog tkiva, te se na tržištu nalaze konci numerički obeleženi kao 000, 00, 0, 1, 2 (Abadzjev 2009). Retrakcioni konac se u vidu omče obmotava oko vrata zuba i atraumatski plasira u gingivalni sulkus celim obimom zuba pogodnim instrumentom (Dederichs 2019).

Prednost mehaničke retrakcione procedure je ekonomičnost i jednostavan postupak. Nedostaci su mu manja efikasnost, nemogućnost postizanja hemostaze, veća trauma prilikom vađenja iz gingivalnog sulkusa „na suvo“ i opasnost od nastanka infekcije (Beier 2009, Prasad 2011).

Hemijsko - mehanička retrakciona procedura je najčešće primenjivana metoda pripreme gingivalnog sulkusa (S S 2016). Retrakcioni konac vrši mehaničku kompresiju tkiva i obezbeđuje jednaku koncentraciju sredstva za retrakciju gingive u svim delovima gingivalnog sulkusa (Veitz-Keenan 2017). Funkcija hemijske komponente je privremena apikalna i lateralna recesija marginalne gingive i kontrola krvarenja i protoka gingivalne tečnosti u gingivalnom sulkusu. Retrakcioni konac impregniran hemijskim retrakcionim sredstvom aplikuje se u gingivalni sulkus u trajanju od tri do deset minuta (Nowakowska 2006). Izbor i klinička upotreba retrakcionog konca identična je kao kod mehaničke retrakcione procedure (Tabassum 2017).

Hemijska retrakciona procedura obezbeđuje reverzibilno prikazivanje demarkacione linije korišćenjem hemijskog dejstva retrakcione paste. Prednost ove metode je izbegavanje mehaničke traume fizičkim „otvaranjem“ gingivalnog sulkusa, već je potpora retrakcionom

sredstvu obezbeđena kaloinom kao nosačem hemijskog sredstva (Huang 2017, Wang 2019). Postupak je efikasan, što potvrđuje veći broj studija (Rayyan 2019).

Hirurška retrakciona procedura obuhvata kružnu kiretažu i elektro hirurško uklanjanje marginalne gingive. Hirurške metode su manje opravdane zbog invazivnog pristupa, te su opravdane jedino ukoliko se uklanja bolesno parodontalno tkivo, između ostalog, i u cilju ekspresije granice preparacije (Phatale 2010, Tosches 2009). Hirurške metode retrakcije gingive se retko koriste.

Danas se govori i o metodi „otvaranja“ gingivalnog sulkusa upotrebom **mekog lasera**. Pojedini autori navode prednosti upotrebe diodnog lasera u odnosu na konvencionalne metode retrakcije gingivalnog tkiva (Melilli 2018, Stuffken 2016).

Sredstva za retrakciju gingive

Uloga retrakcionog sredstva je reverzibilno pomeranje gingivalnog tkiva, zaustavljanje krvarenja i smanjenje protoka gingivalnog fluida, čiji je balans uvek poremećen nakon marginalne preparacije zuba (Bowles 1991, Polat 2007). Optimalno sredstvo za retrakciju gingive treba da poseduje nabrojane kvalitete: (Kumbuloglu 2007, Kostić 2012):

1. Obezbeđuje željeno vertikalno i lateralno pomeranje gingive uz kontrolu hemoragije kao i protoka gingivalne tečnosti.
2. Značajno i trajno ne oštećuje okolno gingivalno tkivo. Optimalno retrakciono sredstvo ima reverzibilni efekat uz minimalnu trajnu recesiju gingive ne veću od 0,1mm. Svaka manipulacija tkivom, rezultuje izvesnim oštećenjem tkiva, ali upotreba retrakcionog sredstva ne sme da značajno i trajno ošteti okolno tkivo.
3. Ne izaziva sistemske efekte. Količina resorbovanog sredstva za retrakciju gingive, pa samim tim i mogućnost pojave neželjenog dejstva, zavisi od njegove vrste, laceracije gingivalnog tkiva i broja brušenih zuba.

Idealna sredstva za retrakciju gingive posedovala bi i reparatorni potencijal, a neki autori su ispitivali i njihova antimikrobna svojstva (Hsu 2017).

Sredstva za retrakciju gingive se grubo mogu podeliti u dve grupe: vazokonstriktori i adstrigensna sredstva (Maischberger 2018).

Vazokonstriktorna sredstva za retrakciju gingive

Adrenalin je jedno od, do sada, najčešće korišćenih sredstava za retrakciju gingive (Donaldson 2013). Bez obzira na izuzetne hemostatske efekte, upotreba adrenalina je poslednjih godina izuzetno redukovana zbog sporednog neželjenog sistemskog delovanja (Maischberger 2018; Bader 2002). Lokalna vazokonstrikcija aktivacijom simpatomimetskih α_1 receptora na perifernim krvnim sudovima za posledicu ima intenzivnu ishemijsku reakciju tkiva i privremeno povlačenje gingive (Madrid 2003).

Maksimalno preporučena doza adrenalina iznosi 0,2 mg, dok je za kardiovaskularne bolesnike značajno niža i iznosi 0,04 mg. Ta količina se prosečno nalazi u 2 ampule lokalnog anestetika razblaženja 1:100000, pa kombinovana upotreba anestezije i hemijsko - mehaničke retrakcione procedure predstavlja rizik u izvornom obliku (Csillag 2007).

Vazokonstriktorna sredstva za retrakciju gingive se ne mogu samostalno koristiti, tako da se upotrebljavaju isključivo u okviru hemijsko - mehaničke procedure retrakcije gingive. Svaki konac impregniran adrenalinom sadrži 0,2 – 1 mg, u zavisnosti od dijametra i proizvođača. To je 2,5 puta veća doza adrenalina koja je preporučena za zdrave, a čak 12 puta veća od doze preporučene za kardiovaskularne bolesnike, te se prilikom upotrebe adrenalina javlja velika mogućnost predoziranja (Kebuschull 2010). Rizik je povećan dodatnim lučenjem endogenog adrenalina u stresogenoj situaciji kakva je stomatološka intervencija (Kebuschull 2010). Stepenn resorpcije adrenalina je veći ukoliko je gingiva macerirana prilikom brušenja (Felpel 1997).

Upotreba adrenalina ne preporučuje se za pacijente na terapiji beta-blokatorima i antihipertenzivima. Moguća je njegova sistemska apsorpcija i pojava neželjenih dejstava u vidu tahikardije, tahipneje, hipertenzije, nervoze, osećaja slabosti i depresija (Bader 2002).

Takođe, nije pogodan za pacijente sa hipertireoidizmom, kao ni za pacijente koji se leče od depresije inhibitorima monoamin oksidaze i tricikličnim antidepresivima. Kod obolelih od šećerne bolesti resorbovani adrenalin povećava nivo glukoze u krvi (Kumbuloglu 2007).

Kako su stomatolozi relativno slabo upoznati sa opštim zdravstvenim stanjem pacijenta, a ni sami pacijenti ponekad ne znaju svoj kardiovaskularni status, načelno treba izbegavati upotrebu adrenalina u svrhu retrakcije gingive (Kostic 2012). Njihov klinički efekat se bitno ne razlikuje od dejstva adstrigenasa na bazi soli aluminijuma (Jokstad 1999). Jedina prednost epinefrina u odnosu na preparate na bazi aluminijuma jeste bolja kontrola krvarenja, mada je nakon ishemijskog efekta moguće i obimnije krvarenje nakon intervencije (Csillag 2007).

Pored adrenalina moguće je korišćenje alternativnih simpatomimetičkih vazokonstriktora za koje se smatra da poseduju željenu efikasnost, bez neželjeni simptoma. U tu svrhu se mogu koristiti tetrahidrolizin-hidroksid i oksimetazolin-hidroksid koji su komercijalno dostupni kao dekongestivni nazalni i oftalmološki preparati (Kostić 2015). Čak se i pokazala njihova bolja učinkovitost kada su korišćeni kao 0,05 %-tni rastvori (Bowles 1991).

Adstrigensna sredstva za retrakciju gingive

Adstrigensi mogu da smanje sekreciju okolnog gingivalnog tkiva i olakšaju otiskivanje predela demarkacione linije. Danas su sredstva izbora u hemijskoj i hemijsko - mehaničkoj metodi retrakcije gingive (Gajbhiye 2019). Po sastavu su soli metala koje izazivaju gingivalnu retrakciju precipitacijom proteina i inhibicijom transkapilarnog kretanja plazma proteina. Adstrigensi smanjuju ćelijsku permeabilnost i isušuju okolno tkivo, dovodeći do njegovog povlačenja, odnosno recesije gingive. Precipitacija proteina u fiziološkim uslovima deluje antihemoragijski. Sa druge strane, denaturisani proteini mogu dovesti do oštećenja okolnog tkiva (Bowles 1991, Cowan 1992, Polat 2007).

Retrakciona sredstva na bazi aluminijuma (aluminijum hlorid, aluminijum sulfat i kalijum aluminijum sulfat ili aluminijum amonijum sulfat) dominiraju na tržištu jer se smatraju bezbednim i učinkovitim u potiskivanju gingivalnog tkiva (Einarsdottir 2018). Koncentracije jedinjenja različite su i zavise od proizvođača. Istraživanja pokazuju njegovu potencijalnu toksičnost u

koncentracijama većim od 10% (Kopač 2002). Sistemske neželjene efekte adstrigenasa nisu opisani (Polat 2007).

Aluminijum-sulfat pored retrakcije gingive i hemostatičkog učinka pokazuje i pojavu minimalne inflamatorne reakcije tkiva. Međutim, pri visokim koncentracijama javlja se jaka inflamacija tkiva i nekroza. Prati ga neprijatan ukus u ustima. Prednost mu je minimalno kolabiranje sulkusa nakon uklanjanja konca (Tarighi 2014).

Aluminijum-hlorid u odnosu na druga retrakciona sredstva pokazuje prednosti u vidu: optimalne hemostaze, malog kolapsa sulkusa nakon uklanjanja konca i slabog iritirajućeg dejstva na gingivalno tkivo. Najveći nedostatak je inhibicija otisnih materijala na bazi silikona i polietra zbog čega je izrazito važno odstraniti iz sulkusa ostatke aluminijum-hlorida pre aplikacije otisnog materijala (Maischberger 2018).

Ferisulfat je delotvoran u postizanju hemostaze, ali gvožđe može uzrokovati žuto-smeđe do crno prebojavanje tkiva, koje se povlači nakon nekoliko dana. Međutim, danas na tržištu postoje novi preparati koji ne izazivaju spomenutu diskoloraciju (Concard 2009). Ferisulfat koaguliše krv, ali se često hemoragija nakon uklanjanja konca ponovo javlja, stepen potiskivanja tkiva i produbljivanje sulkusa je manji u poređenju sa solima aluminijuma (Kostić 2012). Preparat je kisele reakcije te inhibira polimerizaciju otisnih materijala na bazi silikona i polietra, stoga ne sme zaostati nakon uklanjanja konca iz gingivalnog sulkusa (Wassell 2002, Chempesz 2003). Nije preporučljiva upotreba ovog sredstva u koncentraciji većoj od 20% (Cowan 1992). Akca i sar. navode da su oštećenja tkiva ferisulfatom značajno veća u poređenju sa aluminijum hloridom (Akca 2006). Zastupljenost ferisulfata u današnjoj stomatološkoj praksi nije velika (Nowakowska 2010).

Retko se kao sredstvo za retrakciju gingive koristi *cink-hlorid*. On je, takođe, kaustičan, tako da se njegova upotreba u koncentracijama većim od 20% ne preporučuje (Bowles 1991).

Dejstvo adstrigenskih retrakcionih sredstava traje nekoliko sati pa ponavljanje postupka nije dozvoljeno u istoj poseti (Del Rocío 2001, Fazekas 2002).

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

U istraživanju se polazi od pretpostavke da hemijsko - mehanička metoda retrakcije gingive može uzrokovati oštećenje okolnog parodontalnog tkiva.

U cilju dokazivanja inflamatornog efekta sredstava za retrakciju gingive postavljeni su ciljevi:

- Utvrditi kliničko stanje zdravlja gingive i dubljih tkiva parodonta ispitanika, kao i klinički nalaz stanja parodoncijuma na mestu uzimanja uzorka pre i nakon retrakcione procedure, kod ispitanika sa brušenim i nebrušenim zubima.
- Odrediti nivo proinflamatornih citokina: Faktor nekroze tumora α (TNF α), monocitni hemotaktični protein 1 (MCP-1), interleukin 6 i imunoglobulin A u uzorcima pljuvačke ispitanika pre i nakon retrakcione procedure, kod ispitanika sa brušenim i nebrušenim zubima.
- Izvršiti morfometrijska i citološka ispitivanja stepena oštećenja gingive analizom jedara epitelnih ćelija (površina jedra, obim jedra, cirkularnost jedra, Feret-ov dijametar jedra, optička gustina jedra, zaobljenost jedra, i čvrstoća jedra) pre i nakon retrakcione procedure.
- Utvrditi uticaj vrste sredstva za retrakciju gingive na inflamatorne promene gingive nakon hemijsko - mehaničke metode retrakcije gingive.
- Utvrditi uticaj brušenja zuba na inflamatorne promene gingive nakon hemijsko - mehaničke metode retrakcije gingive.

4. MATERIJAL I METODE

4.1. Ispitivana sredstva i ispitanici

4.1.1. Ispitivana sredstva za retrakciju gingive

U istraživanju su korišćena dva komercijalno dostupna sredstva za retrakciju gingive čije su karakteristike date u tabeli 1.

Tabela 1. Sredstva za retrakciju gingive korišćena u istraživanju

Naziv	Proizvođač	Hemijski sastav
Racestyptine	Septodont, Francuska	25% $AlCl_3$
Astringedent	Ultradent, SAD	15,5% $Fe_2(SO_4)_3$

4.1.2. Ispitanici

U istraživanje je bilo uključeno 60 ispitanika, oba pola, nepušača, uzrasta 20-40 godina. Pacijenti nisu bolovali od hroničnih i sistemskih oboljenja. Kliničkim pregledom nisu dijagnostifikovane patološke promene sluzokože usne duplje i nesanimirani karijesi.

Ispitanici su podeljeni u dve eksperimentalne (ispitivane) grupe. Svaka grupa je prema vrsti korišćenog sredstva za retrakciju gingive podeljena u dve podgrupe.

Grupa 1 (G1): 30 ispitanika kod kojih je bila indikovana izrada jedne veštačke krunice.

Polovini ispitanika (15) iz ove grupe je nakon brušenja zuba primenjen 25% retrakcioni rastvor $AlCl_3$ (aluminijum hlorid) – Racestyptine, Septodont, Francuska (**R1 podgrupa**), dok je ostalim ispitanicima nakon brušenja zuba primenjen 15,5% retrakcioni rastvor $Fe_2(SO_4)_3$ (gvožđe (III) sulfat, ferisulfat) – Astringedent, Ultradent, SAD (**R2 podgrupa**).

Grupa 2 (G2): 30 ispitanika kod kojih nije bila indikovana protetička terapija.

Cela grupa podeljena je na 15 ispitanika kod kojih je primenjen 25% retrakcioni rastvor AlCl_3 (**R1 podgrupa**), bez brušenja zuba i 15 ispitanika kod kojih je primenjen 15,5% retrakcioni rastvor $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (**R2 podgrupa**) bez brušenja zuba.

Kvalitativne varijable istraživanja predstavljene su kao apsolutni brojevi (n) i procentualno (%) u tabeli 2.

Tabela 2. Raspodela ispitanika u eksperimentalnim grupama i podgrupama

Eksperimentalna grupa	R1 podgrupa		R2 podgrupa	
	n	%	n	%
G1	15	25%	15	25%
G2	15	25%	15	25%
Ukupno	30	50%	30	50%

Istraživanje je sprovedeno u skladu sa odredbama Helsinške deklaracije i odobreno je od strane Etičkog Komiteta Klinike za stomatologiju u Nišu (20/3-2018-2EO) i Medicinskog Fakulteta Univerziteta u Nišu (12-1250/9).

Istraživanje je obavljeno na Klinici za stomatologiju u Nišu, Katedri za biohemiju Medicinskog fakulteta u Nišu i Institutu za patologiju Kliničkog centra u Nišu.

4.2. Metode istraživanja

4.2.1. Procena stanja parodonta i gingive

4.2.1.1. Indeks stanja parodontijuma u jednoj zajednici i potrebe lečenja - CPITN (*engl. Community Periodontal index of Treatment Needs*)

CPITN se koristi za utvrđivanje prisustva, odnosno rasprostranjenosti oboljenja parodontijuma (gingivitisa i parodontopatije) kod jedne osobe ili u nekoj populaciji, kao i njihova težina. Ovaj indeks se određuje podelom zubnih nizova u 6 segmenta, po 3 u svakoj vilici: 17 - 14, 13 - 23, 24 - 27, 47 - 44, 43 - 33, 34 - 37. U svakom sekstantu se pregledaju svi zubi, a oko svakog zuba vrši se četiri sondiranja, pri čemu se traži najteže oštećenje parodontijuma. Numeričke vrednosti dodeljene procenjenom kliničkom stanju parodonta prikazane su u tabeli 3. Svakom sekstantu se dodeljuje odgovarajuća vrednost. One se zatim sabere i podele sa brojem sekstanata, čime se dobija i konačna vrednost CPITN.

Tabela 3. Kriterijumi za određivanje CPITN (Đajić 2006)

Vrednost CPITN	Klinički kriterijum
0	Zdrav parodontijum
1	Krvarenje gingive nakon sondiranja
2	Prisutne čvrste naslage na zubima (kamenac ili subgingivalni konkrementi) ili prominentne ivice plombi ili protetskih radova.
3	Džepovi dubine 4-5 mm
4	Džepovi dubine 6 ili više mm

4.2.1.2. Gingivalni indeks – GI

Pomoću gingivalnog indeksa određuje se stanje gingive sa vestibularne, oralne i aproksimalnih strana zuba. Numeričke vrednosti gingivalnog indeksa u odnosu na kliničko stanje gingive predstavljene su u tabeli 4. Sabiranjem vrednosti indeksa sa svih strana zuba dobija se ukupni gingivalni indeks, a zatim se ta vrednost podeli sa 4 (Löe 1967).

Tabela 4. Klinički kriterijumi za određivanje gingivalnog indeksa

Vrednost GI	Klinički kriterijum
0	Gingiva je bledoružičaste boje, čvrsta, sitno - zrnaste površine. Kad se dobro osuši ona je bez sjaja. Papila je u interdentalnom prostoru.
1	Ivica gingive je nešto crvenije boje. Postoji blag edem. Povećano je izlučivanje gingivalnog eksudata iz sulkusa.
2	Gingiva je crvene boje. Izražen je edem i uvećanje slobodne gingive. Postoji krvarenje iz gingive na blag pritisak sondom.
3	Gingiva je jasno crvene ili crvenoplavičaste boje. Veoma je uvećana. Postoji tendencija ka spontanom krvarenju. Postoje ulceracije na gingivi.

4.2.1.3. Indeks krvarenja – Ikr

Određujući vreme i obim krvarenja, indeks krvarenja ukazuje na aktivnost inflamatornog procesa u gingivi. Testiranje se izvodi sondiranjem gingivalnog sulkusa parodontalnom sondom. Intenzitet nastalog krvarenja boduje se na osnovu ponašanja gingive nakon sondiranja i prikazan je u tabeli 5.

Tabela 5. Klinički kriterijumi za određivanje indeksa krvarenja

Vrednost Ikr	Klinički kriterijum
0	Gingiva ne krvari na provokaciju
1	Krvarenje 10-30 sekundi nakon sondiranja
2	Krvarenje u toku sondiranja gingive
3	Sklonost ka spontanom krvarenju gingive

4.2.2. Biohemijske analize količine proinflammatoryh citokina

Uzorci pljuvačke centrifugirani su na 10000 rpm, 5 minuta (Beckman Coulter, Allegra 64R centrifuga). Odvojeni supernatant zamrzavan je na -80°C do analize.

Nivo MCP-1 određen je pomoću ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) kita (Human CCL2/MCP-1 Immunoassay, R&D, Minneapolis, SAD), senzitivnosti 10 pg/mL, opsega detekcije 31.2 - 2,000 pg/mL.

Merenje nivoa IgA vršeno je pomoću Human IgA ELISA kita (Abcam, Cambridge, UK), senzitivnosti 0,25ng/ml, u rasponu detekcije od 0,78ng/ml-50ng/ml.

Nivo IL-6 određen je uz pomoć R&D System Human IL-6 Quantikine ELISA kita (Quantikine ELISA Human IL-6 Immunoassay, R&D, Minneapolis, SAD), senzitivnosti 0.7 pg/mL, raspon detekcije 3.1 - 300 pg/mL.

Nivo TNF- α određen je komercijalnim ELISA kitom (Quantikine ELISA, Human TNF- α Immunoassay, R&D, Minneapolis, SAD) senzitivnosti 6.23 pg/mL, raspon detekcije 15.6 - 1,000 pg/mL)

Testovi su izvođeni prema uputstvu prouzvođača.

4.2.3. Citološka i morfometrijska ispitivanja

U cilju citološke i morfometrijske analize kod svih ispitanika uzeti su brisevi pamučnim štapićem sa gingive. Pravljeni su direktni razmazi brisa gingivalnog tkiva na staklenoj pločici. Fiksacija uzoraka vršena je 96% etanolom. Korišćene su dve metode bojenja: Hemotoksilin eozin i Papanikolau.

4.2.3.1. Hematoksilin Eozin (HE) bojenje

Procedura bojenja razmaza HE metodom:

Staklene pločice potapane su u kadice za bojenje sa rastvorima:

1. 100% etanol – 1 minut
2. 96% etanol – 1 minut
3. 96% etanol – 1 minut
4. Hematoksilin – 5 minuta
5. Topla voda – 10 minuta
6. Eozin – 2 minuta
7. 96% etanol – 1minut
8. 96% etanol – 1minut
9. 100% etanol – 1minut

Nakon bojenja preparati su sušeni i pokriveni DPX medijumom i pokrovnim staklima.

4.2.3.2. Papanikolau bojenje.

Procedura bojenja razmaza *Papanikolau* metodom :

Staklene pločice potapane su u rastvore:

1. Etanol 95% - 5 sekundi
2. Etanol 70% - 5 sekundi

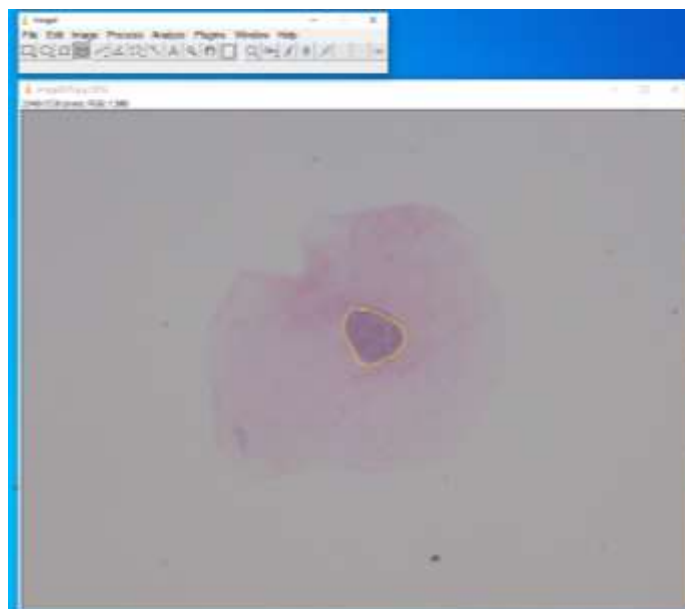
3. Destilovana voda - 5 sekundi
4. Hematoksilin – 5 minuta
5. Destilovana voda -1 minut
6. Etanol 70% - 5 sekundi
7. Kiseli alkohol – 5 sekundi
8. Etanol 70% - 5 sekundi
9. Amonijak (do plave boje) – 30 sekundi
10. Etanol 70% - 5 sekundi
11. Etanol 95% - 5 sekundi
12. Orange G – 2-3 minuta
13. Etanol 95% - 5 sekundi
14. EA-50 – 1 minut
15. Etanol 95% - 5 sekundi
16. Etanol 100% - 1 minut

Nakon bojenja preparati su sušeni i pokriveni DPX medijumom i pokrovnim staklima.

4.2.3.3. Svetlosna mikroskopija i morfometrijska analiza

Mikroskopiranje uzoraka u cilju citološke analize vršeno je na Olympus BX 50 mikroskopu, sa objektivom uvećanja 40 (NA 0.75).

Morfometrijska analiza rađena je pomoću programa ImageJ (ver. 1.52, public domain software, Wayne Rasband, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA) (Slika 3). Nakon kalibracije slike, na citološkom materijalu morfometrijskom analizom praćeni su sledeći jedarni parametri: površina jedra (AREA), obim (perimetar) jedra (PERIMITE), cirkularnost jedra (CIRCULAR), Feret-ov dijametar jedra (FERET), optička gustina jedra (OPTDENS), zaobljenost jedra (ROUNDNESS), i čvrstoća jedra (SOLIDITY).



Slika 3. Princip rada u softverskom paketu „ImageJ”.

4.3. Eksperimentalni dizajn

Ispitivan je efekat hemijsko - mehaničke retrakcione procedure na stanje gingive, koncentraciju proinflamatornih citokina u pljuvački i morfološke promene ćelija gingive. Istraživanje je obuhvatilo:

- određivanje indeksa stanja parodonta u prvom, odnosno indeksa za procenu stanja gingive u prvom, drugom i trećem opservacionom periodu
- određivanje koncentracije proinflamatornih citokina (IL-6, TNF- α , IgA i MCP-1) u pljuvački u prvom, drugom i trećem opservacionom periodu
- citološka i morfometrijska analiza brisa gingive u prvom, drugom i trećem opservacionom periodu

4.3.1. Klinička procedura

Dve nedelje pre početka istraživanja svim ispitanicima su uklonjene meke i čvrste naslage sa zuba. Ni jedan od ispitanika nije imao potrebu za opsežnijom parodontalnom terapijom.

Period ispitivanja obuhvatio je tri opservaciona perioda: pre aplikacije retrakcionog konca, 24 i 72 časa nakon aplikacije konca.

U prvom opservacionom periodu (T0) ispitanicima obe grupe urađen je klinički pregled i procena stanja zdravlja parodonta određivanjem CPITN indeksa.

U G1 grupi indeksi za procenu stanja gingive (gingivalni indeks, indeks krvarenja gingive) određivani su na zubu koji je indikovao za brušenje, odnosno izradu veštačke krunice. Kod ispitanika grupe G2 ovi indeksi određivani su na gornjem levom centralnom sekutiću.

Od ispitanika obe eksperimentalne grupe uzet je uzorak nestimulisane pljuvačke u sterilnu epruvetu.

U cilju citološke i morfometrijske analize kod svih ispitanika uzeti su brisevi pamučnim štapićem sa gingive i pravljani su direktni razmazi brisa gingivalnog tkiva na staklenoj pločici.

Nakon prikupljanja uzoraka ispitanicima iz grupe G1 vršeno je brušenje zuba. Preparacija zuba vršena je 0,25 - 0,5 mm ispod nivoa gingive sa linijskim oblikom demarkacione zone, uz maksimalno očuvanje integriteta gingivalnog tkiva.

Hemijsko - mehanička procedura retrakcije gingive obuhvatala je aplikaciju retrakcionog konca (Elite Cord, Zhermack SpA, Italija) promera 00 natopljenog jednim od dva ispitivana sredstva za retrakciju gingive (R1 i R2) u obe grupe ispitanika. Retrakcioni konac potiskivan je u gingivalni sulkus ispitanika celim obimom zuba pogodnim instrumentom (šesticom) bez primene sile. U grupi G1 konac je aplikovan u gingivalni sulkus brušenog zuba, a u grupi G2 u gingivalni sulkus gornjeg levog centralnog sekutića u trajanju od 5 minuta.

Drugi opservacioni period (T1) i treći opservacioni period (T2) obuhvatili su periode 24h, odnosno 72h nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure. U oba opservaciona perioda određivani su indeksi za procenu stanja gingive na referentnim zubima: brušenim zubima u grupi

G1 i gornjim levim centralnim sekutićima u grupi G2, uzimani su uzorci nestimulisane pljuvačke u sterilnu epruvetu i brisevi gingive.

Izrada veštačke krunice na brušenim zubima usledila je nakon završetka perioda ispitivanja.

4.4. Statistička analiza podataka

Dobijeni podaci su obrađeni u programu za statističku obradu podataka SPSS 15.0. (Statistical Package for the Social Sciences Program-version 15.0).

Ispitivanje normalnosti distribucije kontinualnih varijabli je testirano, shodno veličini uzorka, Šapiro-Vilk testom (Shapiro-Wilk test). Za ocenu značajnosti razlike (p) kontinualnih varijabli između dve nezavisne grupe ispitanika korišćen je Studentov t-test nezavisnih uzoraka (Student's t test for independent samples), u slučaju normalne distribucije podataka, ili Man-Vitnijev U (Mann-Whitney U) test (u slučaju da distribucija odstupa od normalne).

U zavisnosti od distribucije podataka za testiranje značajnosti razlike u okviru grupa, za ponovljena merenja, korišćen je Studentov t-test uparenih uzoraka (Paired-Samples Student t-test) u slučaju normalne distribucije podataka, odnosno Vilkoksonov test ranga (Wilcoxon Signed Ranks Test) kod varijabli čija je distribucija odstupala od normalne.

Statistička obrada podataka vršena je generalizovanim linearnim modelom za ponovljena merenja (GLM RM), odnosno analizom varijanse za ponovljena merenja (engl., Analyses of Variance for Repeated Measures, RM ANOVA) koja vrši procene na dva nivoa:

1. **Efekte između subjekata** (Between Subjects Effects), što je bilo potrebno za donošenje zaključka da li postoje značajne razlike vrednosti zavisne varijable između pojedinih grupa ispitanika u toku celokupnog perioda praćenja i

2. **Efekte unutar subjekata** (Within Subjects Effects), što je bilo potrebno za donošenje zaključka:

- o **uticaju vremena**, odnosno da li su promene vrednosti zavisno promenljive kod svih ispitanika tokom celokupnog perioda praćenja značajne i

- o **uticaju interakcije vremena i definisanog faktora**, odnosno da li se promene vrednosti zavisne varijable tokom celokupnog perioda praćenja dešavaju na značajno različit način kod pojedinih grupa ispitanika.

Efekti promena definisani su vrednostima parcijalnog eta kvadrata (η^2) pri čemu je efekat definisan kao mali za vrednosti ovog parametra veće od 0,01; srednji, za vrednosti veće od 0,06 i veliki za vrednosti veće od 0,14.

Kao statistički značajna ocenjivana je vrednost od $p < 0,05$.

5. REZULTATI

Istraživanje je obuhvatilo dve grupe ispitanika u zavisnosti od toga da li je pre aplikacije retrakcionog konca zub brušen (grupa 1 - G1) ili ne (grupa 2 - G2). Obe eksperimentalne grupe podeljene su u dve podgrupe. U prvoj podgrupi korišćen je rastvor na bazi aluminijum hlorida (R1), a u drugoj na bazi feri sulfata (R2). Merenje gingivalnih, parodontalnih, biohemijskih i morfometrijskih parametara vršeno je pre aplikacije sredstva za retrakciju gingive i 24 odnosno 72 časa nakon njegove upotrebe (tri opservaciona perioda). Kretanje promena je statistički analizirano tokom čitavog perioda ispitivanja.

Lista korišćenih skraćenica

G1 – grupa ispitanika sa brušenim zubima

G2 – grupa ispitanika sa nebrušenim zubima

R1- sredstvo za retrakciju gingive na bazi aluminijum hlorida ($AlCl_3$)

R2 – sredstvo za retrakciju gingive na bazi feri sulfata ($Fe_2(SO_4)_3$)

T₀ – prvi opservacioni period – pre aplikacije sredstva za retrakciju gingive

T₁ – drugi opservacioni period – 24h nakon aplikacije sredstva za retrakciju gingive

T₂ – treći opservacioni period – 72h nakon aplikacije sredstva za retrakciju gingive

X – srednja vrednost

SD – standardna devijacija

Ret. sr. – retrakciono sredstvo

5.1.REZULTATI PROCENE STANJA GINGIVE I SALIVARNE KONCENTRACIJE ISPITIVANIH PROINFLAMATORNIH CITOKINA NAKON HEMIJSKO - MEHANIČKE METODE RETRAKCIJE GINGIVE

5.1.1. Vrednosti CPITN za procenu stanja parodonta u ispitivanim grupama u prvom opservacionom periodu

Vrednosti CPITN merene su samo u prvom opservacionom periodu i pokazale su odsustvo inflamacije parodonta kod svih ispitanika. One su prikazane u tabeli 6.

Tabela 6. Vrednosti CPITN u toku prvog opservacionog perioda.

Grupa	Ret. sr.	T0	
G1	R1	1,60 ± 0,63	(2,00)
	R2	1,73 ± 0,70	(2,00)
G2	R1	1,40 ± 0,63	(1,00)
	R2	1,67 ± 0,72	(2,00)

Vrednosti kontinualnih varijabli date kao $X \pm SD$ (Me).

(Man-Vitnijev test)

Šapiro-Vilk testom (*Shapiro-Wilk test*) utvrđeno je da raspodele vrednosti CPITN u grupi brušenih i nebrušenih zuba i za R1 i R2 odstupaju od normalne. Stoga je primenjen Man-Vitnijev (*Mann-Whitney*) test radi poređenja vrednosti CPITN između primenjenih retrakcionih sredstava u okviru grupa brušenih i nebrušenih zuba. Utvrđeno je da nije bilo statistički značajnih razlika u vrednostima CPITN između podgrupa sa primenjenim sredstvima za retrakciju gingive, ni u grupi brušenih, ni u grupi nebrušenih zuba.

5.1.2. Vrednosti indeksa za procenu stanja gingive u ispitivanim grupama u zavisnosti od vrste aplikovanog sredstva za retrakciju gingive tokom različitih opservacionih perioda

Vrednosti indeksa za procenu stanja gingive (GI i Ikr) u obe eksperimentalne grupe tokom čitavog perioda ispitivanja, a u zavisnosti od vrste retrakcionog sredstva date su u tabelama 7 i 8.

Uočava se da je 24h od primene sredstva za retrakciju gingive u obe ispitivane grupe, poredeći sa vrednostima na početku ispitivanja, došlo do statistički značajnog povećavanja vrednosti oba gingivalna indeksa ($p < 0.001$). Posle 72h vrednosti su niže u odnosu na drugi opservacioni period, ali ipak i dalje statistički značajno više u odnosu na početak ispitivanja ($p < 0.001$).

Tabela 7. Vrednosti GI.

u zavisnosti od vrste sredstva za retrakciju gingive tokom različitih opservacionih perioda

Grupa	Ret. sr.	T0		T1		T2	
G1	R1	0,33 ± 0,41	(0,00)	2,37 ± 0,52***	(2,50)	1,27 ± 0,59***	(1,00)
	R2	0,73 ± 0,75	(1,00)	2,30 ± 0,65***	(2,50)	1,57 ± 0,56***	(1,50)
G2	R1	0,17 ± 0,24	(0,00)	1,13 ± 0,52***	(1,00)	0,43 ± 0,42***	(0,50)
	R2	0,23 ± 0,26	(0,00)	1,83 ± 0,49***	(2,00)	1,00 ± 0,38***	(1,00)

Vrednosti kontinualnih varijabli date kao X ± SD (Me). *** – p<0,001 vs T0

(Studentov t-test uparenih uzoraka / Vilkoksonov test ranga)

Tabela 8. Vrednosti Ikr.

u zavisnosti od vrste sredstva za retrakciju gingive tokom različitih opservacionih perioda

Grupa	Ret. sr.	T0		T1		T2		
G1	R1	0,13 ±	0,23	(0,00)	1,80 ± 0,56***	(2,00)	1,00 ± 0,38***	(1,00)
	R2	0,60 ±	0,60	(1,00)	2,33 ± 0,24***	(2,50)	1,57 ± 0,62***	(1,50)
G2	R1	0,30 ±	0,53	(0,00)	1,30 ± 0,37***	(1,00)	0,57 ± 0,53***	(0,50)
	R2	0,33 ±	0,59	(0,00)	1,63 ± 0,61***	(2,00)	0,77 ± 0,59***	(0,50)

Vrednosti kontinualnih varijabli date kao X ± SD (Me). *** – p<0,001 vs T0

(Studentov t-test uparenih uzoraka / Vilkoksonov test ranga)

5.1.3. Salivarne koncentracije proinflamatornih citokina u ispitivanim grupama u zavisnosti od vrste aplikovanog sredstva za retrakciju gingive tokom različitih opservacionih perioda

Koncentracije ispitivanih citokina (IL-6, TNF- α , IgA i MCP-1) obe eksperimentalne grupe tokom opservacionih perioda u zavisnosti od korišćenog sredstva za retrakciju gingive date su u tabelama 9-12.

Evidentno je da je 24h od retrakcione procedure u obe ispitivane grupe došlo do statistički značajnog povećavanja vrednosti sva četiri parametra ($p < 0,001$) u odnosu na vrednosti pre aplikacije retrakcionog sredstva. Nakon 72h, koncentracije ispitivanih citokina u pljuvački su se smanjile u odnosu na drugi opservacioni period, ali su one i dalje statistički značajno više nego pre aplikacije sredstva za retrakciju gingive ($p < 0,001$).

Tabela 9. Salivarna koncentracija IL-6 (pg/ml).

u zavisnosti od vrste sredstva za retrakciju gingive tokom različitih opservacionih perioda

Grupa	Ret. sr.	T0	T1	T2
G1	R1	6,26 \pm 0,85 (6,38)	12,96 \pm 1,99*** (12,79)	7,64 \pm 1,09*** (7,99)
	R2	7,34 \pm 1,38 (6,90)	12,50 \pm 1,84*** (12,64)	9,54 \pm 2,15*** (8,67)
G2	R1	4,03 \pm 0,61 (4,03)	5,12 \pm 0,56*** (5,04)	4,57 \pm 0,63*** (4,53)
	R2	4,12 \pm 0,68 (4,06)	4,84 \pm 0,77*** (4,66)	4,54 \pm 0,92*** (4,35)

Vrednosti kontinualnih varijabli date kao X \pm SD (Me). *** – $p < 0,001$ vs T0

(Studentov t-test uparenih uzoraka / Vilkoksonov test ranga)

Tabela 10. Salivarna koncentracija TNF- α (pg/ml).

u zavisnosti od vrste sredstva za retrakciju gingive tokom različitih opservacionih perioda

Grupa	Ret. sr.	T0	T1	T2
G1	R1	24,09 \pm 4,46 (22,05)	36,16 \pm 4,24*** (35,27)	32,04 \pm 7,91*** (30,18)
	R2	33,05 \pm 5,20 (33,98)	42,11 \pm 5,48*** (42,15)	38,12 \pm 5,27*** (38,18)
G2	R1	14,59 \pm 2,25 (13,78)	19,28 \pm 2,57*** (18,51)	16,12 \pm 3,21*** (15,54)
	R2	13,55 \pm 2,93 (13,98)	16,32 \pm 3,16*** (16,96)	14,21 \pm 2,66*** (15,17)

Vrednosti kontinualnih varijabli date kao X \pm SD (Me). *** – p<0,001 vs T0

(Studentov t-test nezavisnih uzoraka / Man-Vitnijev test)

Tabela 11. Salivarna koncentracija IgA (ng/ml).

u zavisnosti od vrste sredstva za retrakciju gingive tokom različitih opservacionih perioda

Grupa	Ret. sr.	T0	T1	T2
G1	R1	47,06 \pm 9,69 (45,34)	55,93 \pm 9,86*** (55,21)	50,27 \pm 8,71*** (47,82)
	R2	42,24 \pm 7,62 (41,94)	48,93 \pm 8,07*** (48,22)	46,13 \pm 8,26*** (45,70)
G2	R1	35,58 \pm 1,92 (35,46)	38,01 \pm 2,18*** (38,00)	36,13 \pm 1,71*** (36,18)
	R2	39,38 \pm 4,47 (38,37)	44,72 \pm 4,13*** (44,12)	41,42 \pm 4,70*** (41,18)

Vrednosti kontinualnih varijabli date kao X \pm SD (Me). *** – p<0,001 vs T0

(Studentov t-test uparenih uzoraka / Vilkoksonov test ranga)

Tabela 12. Salivarna koncentracija MCP-1(pg/ml).

u zavisnosti od vrste sredstva za retrakciju gingive tokom različitih opservacionih perioda

Group	Ret. sr.	T0	T1	T2
G1	R1	97,24 ± 9,32 (95,74)	105,81 ± 12,71*** (101,21)	100,58 ± 10,13*** (97,33)
	R2	93,52 ± 6,37 (94,21)	105,68 ± 8,24*** (103,51)	97,62 ± 5,66*** (96,83)
G2	R1	62,22 ± 1,48 (62,50)	77,14 ± 2,05*** (76,55)	67,31 ± 4,78*** (66,84)
	R2	66,25 ± 3,85 (67,78)	69,48 ± 4,89*** (70,25)	67,76 ± 4,16*** (68,29)

Vrednosti kontinualnih varijabli date kao X ± SD (Me). *** – p<0,001 vs T0

(Studentov t-test uparenih uzoraka / Vilkoksonov test ranga)

5.2. Uticaj primenjenog retrakcionog sredstva na vrednosti indeksa stanja gingive i salivarnu koncentraciju proinflamatornih citokina nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure

5.2.1. Uticaj korišćenog retrakcionog sredstva na promenu vrednosti GI

Efekat vrste sredstva za retrakciju gingive na vrednosti GI tokom perioda ispitivanja u ispitivanim grupama dati su u tabeli 13, a na grafikonu 1 je prikazano kretanje vrednosti GI tokom opservacionih perioda za obe ispitivane grupe.

Efekti unutar grupe pratili su da li postoji statistički značajna promena GI za datu grupu ispitanika (R1+R2), kao i u podgrupama kod kojih je primenjivano određeno retrakciono sredstvo (R1 ili R2). Ispitivana je statistička značajnost promene, kao i veličina efekta koja je numerički definisana. Unutar eksperimentalnih grupa G1 i G2 za oba upotrebljena retrakciona sredstva, kao i za sve ispitanike, utvrđen je statistički značajan porast vrednosti GI tokom perioda ispitivanja (p<0.001). Efekti primenjenih retrakcionih sredstava na vrednosti GI su veoma veliki: za R1 ($\eta^2 = 0.8554$ u G1, $\eta^2 = 0.7122$ u G2), a za R2 ($\eta^2 = 0.7900$ u G1 i $\eta^2 = 0.8732$ u G2). I u celim

grupama, bez obzira na vrstu aplikovanog retrakcionog sredstva, utvrđen je veliki efekat njihove primene na promene vrednosti GI ($\eta^2 = 0.8272$ u G1, odnosno $\eta^2 = 0.8115$ G2).

Efekat vrste upotrebljenog retrakcionog sredstva utvrdio je da li postoji statistička značajnost u promeni vrednosti GI u zavisnosti od vrste primenjenog sredstva. Testiranje uticaja između ispitivanih podgrupa pokazalo je da se one statistički značajno razlikuju po vrednostima GI tokom celog perioda ispitivanja ($p < 0.001$) sa relativno velikim uticajem vrste aplikovanog sredstva za retrakciju gingive samo u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima (G2) ($\eta^2 = 0.3735$).

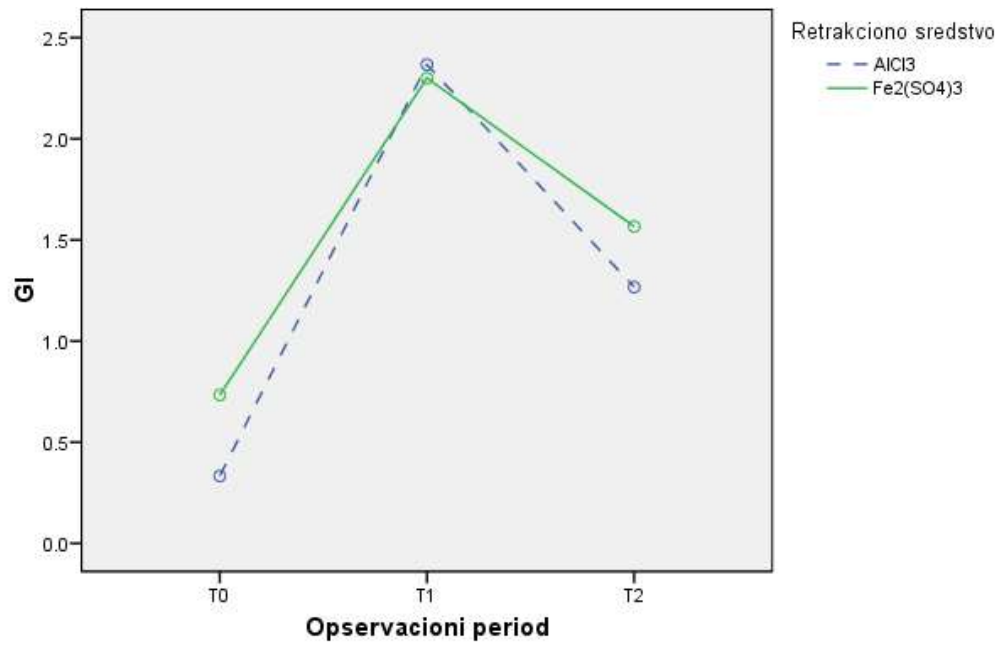
Analizom je determinisan i uticaj interakcije vremena i definisanog faktora odnosno retrakcionog sredstva. Promene vrednosti GI tokom ispitivanog perioda dešavaju se na statistički značajno različit način u zavisnosti od vrste retrakcionog sredstva samo u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima (G2) ($p < 0.01$), uz relativno veliki efekat upotrebljenog retrakcionog sredstava ($\eta^2 = 0.2234$). U grupi G1 promene vrednosti GI ne dešavaju se na statistički značajno različit način u podgrupama ispitanika, što je ilustrovano na grafikonu 1.

Tabela 13. Uticaj sredstava za retrakciju gingive na vrednosti GI u grupama G1 i G2 tokom perioda ispitivanja.

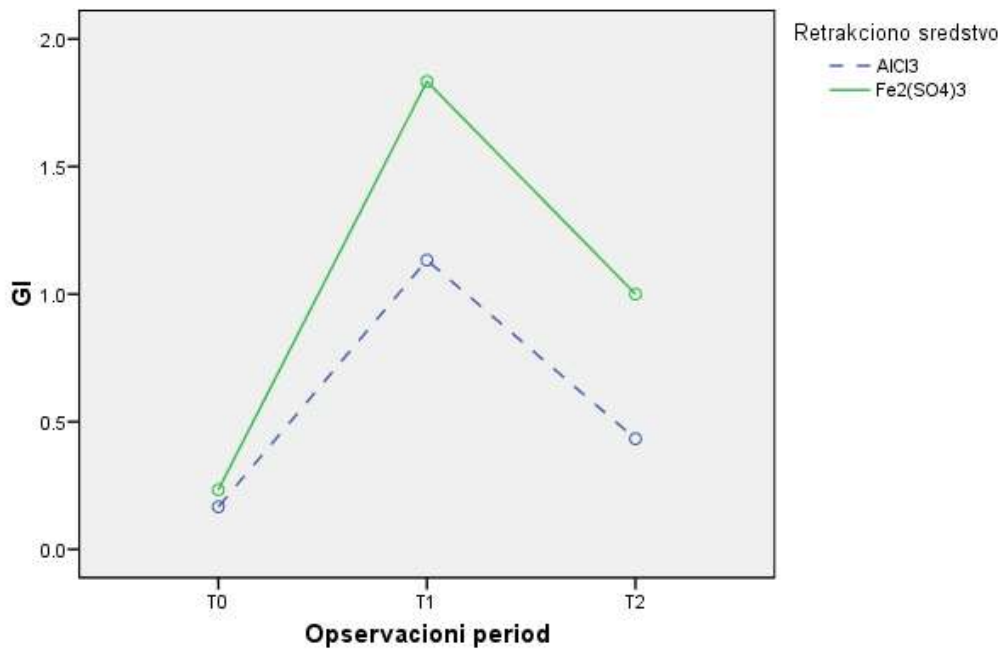
			Efekti unutar grupe			Efekat u odnosu na vrstu retrak. sredstva	Interakcija Retrak. sredstvo × vreme
			R1+R2	R1	R2		
GI	G1	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,2356	0,0938
		Veličina efekta [†]	0,8272	0,8554	0,7900	0,0498	0,0819
	G2	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,0003***	0,0024**
		Veličina efekta [†]	0,8115	0,7122	0,8732	0,3735	0,2234

[†]- Parcijalni eta kvadrat (η^2), ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$

RM ANOVA



(a)



(b)

Grafikon 1. Kretanje vrednosti GI tokom perioda ispitivanja u G1 (a) i G2 (b) grupi ispitanika, u odnosu na korišćeno sredstvo za retrakciju gingive.

5.2.2. Uticaj korišćenog retrakcionog sredstva na promenu vrednosti Ikr

Uticaj vrste sredstva za retrakciju gingive na vrednosti Ikr u toku perioda ispitivanja u eksperimentalnim grupama prikazan je u tabeli 14. Na grafikonu 2 je dato kretanje vrednosti Ikr tokom perioda ispitivanja za obe grupe ispitanika.

Unutar obe grupe, G1 i G2, za oba tipa testiranih retrakcionih sredstva, kao i za sve ispitanike utvrđen je statistički značajan porast vrednosti Ikr tokom celokupnog ispitivanog perioda ($p < 0.001$). Efekti aplikovanih sredstava za retrakciju gingive na vrednost Ikr su veoma veliki: za R1 ($\eta^2 = 0.8933$ u G1, $\eta^2 = 0.8322$ u G2), kao i R2 ($\eta^2 = 0.8383$ u G1 i $\eta^2 = 0.7657$ u G2). Takođe, u celim eksperimentalnim grupama (R1+R2), bez obzira na vrstu primenjenog retrakcionog sredstva, veliki je uticaj primene retrakcionih sredstava na promene vrednosti Ikr, $\eta^2 = 0.8637$ u grupi sa brušenim (G1), odnosno $\eta^2 = 0.7870$ u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima (G2). U obe grupe veličina efekta je veća kod primene sredstva za retrakciju gingive na bazi aluminijum hlorida (R1).

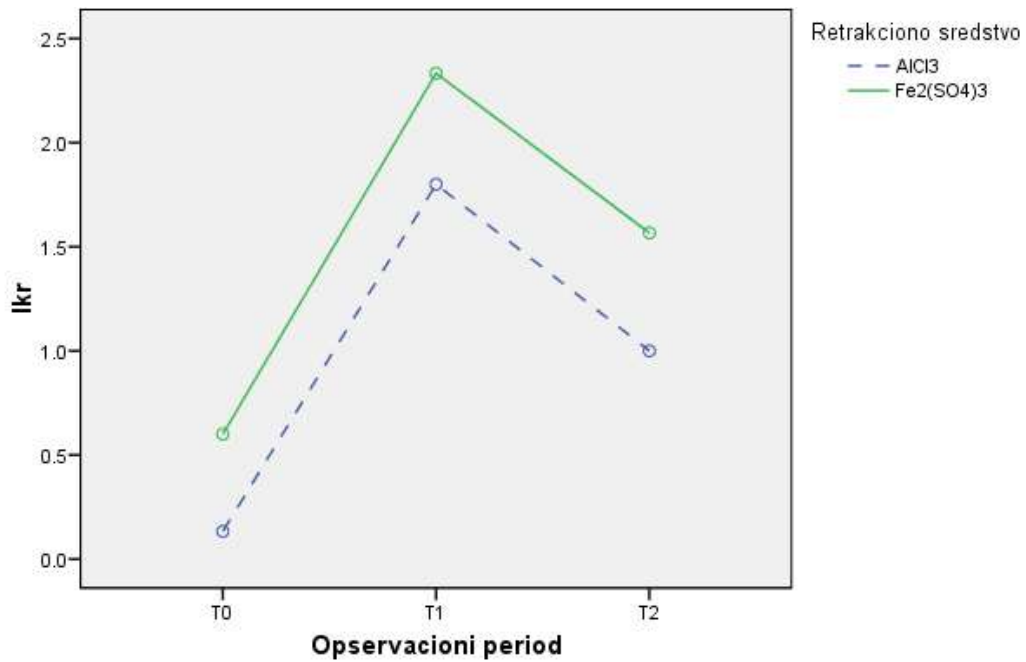
Testiranje efekata između podgrupa je pokazalo da se one statistički značajno ne razlikuju po vrednostima Ikr tokom celokupnog perioda praćenja.

I promene vrednosti Ikr tokom perioda ispitivanja dešavaju se na sličan način u obe grupe ispitanika. U grupi G1 je evidentno da se promene dešavaju na gotovo identičan način, što se vidi i na grafikonu 2a, a u prilog tome ide i izuzetno niska vrednost parcijalnog eta kvadrata od 0.00566.

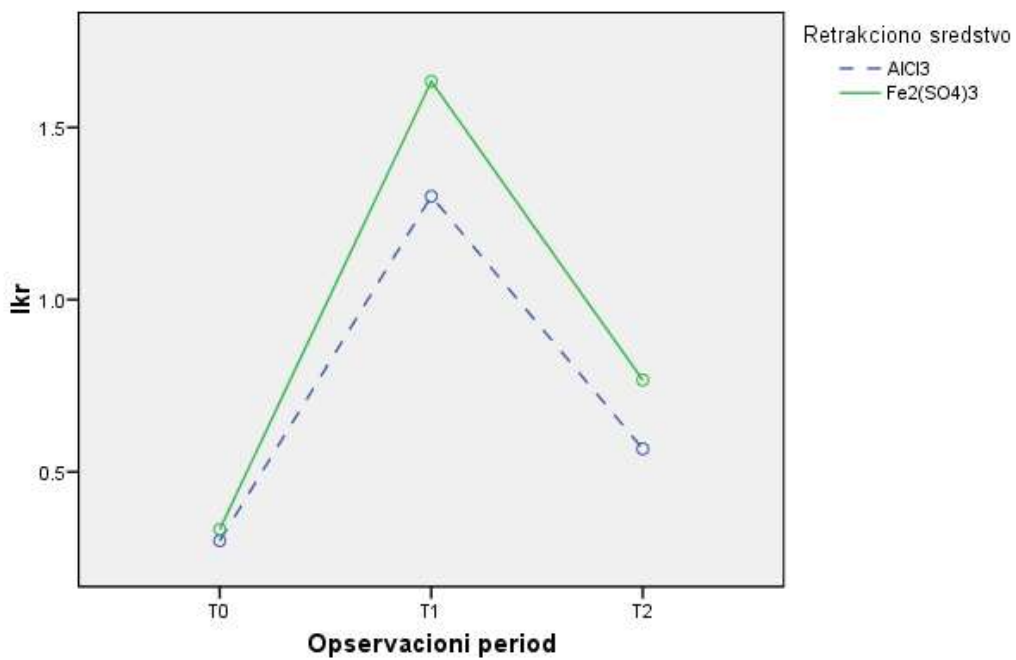
Tabela 14. Uticaj sredstava za retrakciju gingive na vrednosti Ikr u grupama G1 i G2 tokom perioda ispitivanja.

			Efekti unutar grupe,			Efekat u odnosu na vrstu retrak. sredstva	Interakcija retrak. sredstvo × vreme
			R1+R2	R1	R2		
Ikr	G1	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,8374	0,8374
		Veličina efekta [†]	0,8637	0,8933	0,8383	0,0056	0,0056
	G2	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,2871	0,1999
		Veličina efekta [†]	0,7870	0,8322	0,7657	0,0404	0,0566

[†]- Parcijalni eta kvadrat (η^2), *** – $p < 0,001$
RM ANOVA



(a)



(b)

Grafikon 2. Kretanje vrednosti GI tokom perioda ispitivanja u G1 (a) i G2 (b) grupi ispitanika, u odnosu na korišćeno sredstvo za retrakciju gingive.

5.2.3. Uticaj korišćenog retrakcionog sredstva na salivarnu koncentraciju IL-6

Uticaj vrste retrakcionog sredstva na salivarnu koncentraciju IL-6 tokom perioda ispitivanja kod obe grupe ispitanika prikazan je u tabeli 15. Na grafikonu 3 je dato kretanje vrednosti parametra IL-6 za grupe G1 i G2 tokom celokupnog perioda ispitivanja u funkciji vrste sredstva za retrakciju gingive.

Unutar grupa ispitanika G1 i G2 grupe evidentan je statistički značajan ($p < 0,001$) porast koncentracije IL-6 tokom ispitivanog perioda sa velikim efektom primenjenog retrakcionog sredstva, kako kod ispitanika u grupi, tako i unutar podgrupa formiranih u odnosu na vrstvu korišćenog preparata. Nešto niži nivo statističke značajnosti porasta koncentracije IL-6 evidentiran je u podgrupi sa nebrušenim zubima (G2) gde je primenjivano retrakciono sredstvo na bazi ferisulfata (R2) ($p < 0,01$). Dokazan je veliki efekat R1 ($\eta^2 = 0,8826$ u G1, $\eta^2 = 0,7564$ u G2), kao i R2 ($\eta^2 = 0,9116$ u G1 i $\eta^2 = 0,3037$ u G2). Generalno je veliki uticaj primene retrakcionih sredstava dokazan u obe ispitivane grupe ($\eta^2 = 0,8888$ u G1 i $\eta^2 = 0,5099$ u G2).

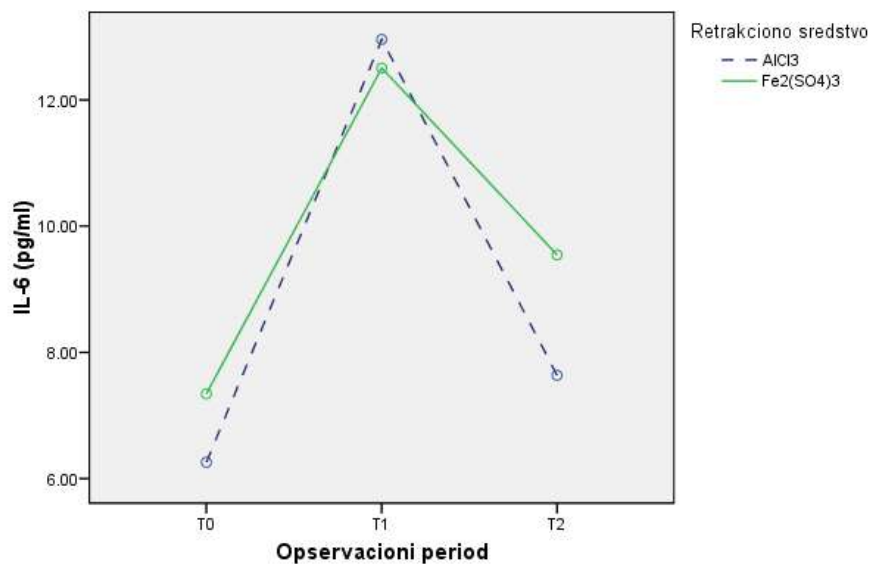
Tabela 15. Uticaj sredstava za retrakciju gingive na salivarnu koncentraciju IL-6 (pg/ml) u grupama G1 i G2 tokom perioda ispitivanja.

			Efekti unutar istog retrak, sred,			Efekat u odnosu na vrstu retrak. sredstva	Interakcija Retrak. sredstvo × vreme
			R1+R2	R1	R2		
IL-6	G1	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,0956	0,0012**
		Veličina efekta [†]	0,8888	0,8826	0,9116	0,0960	0,2367
	G2	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,01**	0,7299	0,2815
		Veličina efekta [†]	0,5099	0,7564	0,3037	0,0043	0,0439

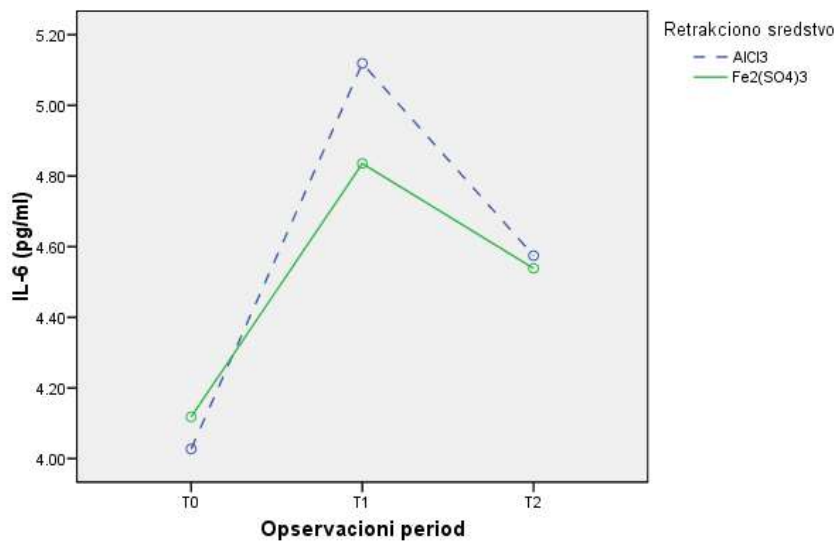
[†] - Parcijalni eta kvadrat (η^2), ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$
RM ANOVA

Testiranjem uticaja vrste retrakcionog sredstva na salivarnu koncentraciju IL-6 nije ustanovljeno da se podgrupe statistički značajno razlikuju tokom celog ispitivanog perioda. Efekat je mali u G2 ($\eta^2 = 0,0043$ u G2), odnosno srednji u G1 grupi ($\eta^2 = 0,0960$). Generalno se zapaža značajniji uticaj vrste retrakcionog sredstva na koncentraciju IL-6 u grupi sa brušenim (G1) nego u grupi sa nebrušenim zubima (G2).

Promene koncentracije IL-6 tokom ispitivanog perioda u podgrupama grupe ispitanika sa brušenim zubima (G1) dešavaju se na statistički značajno različit način u zavisnosti od vrste retrakcionog sredstva ($p < 0.01$) i uz veliki uticaj korišćenog retrakcionog sredstva ($\eta^2 = 0.2367$). Promene vrednosti ovog parametra tokom ispitivanog perioda u grupi sa nebrušenim zubima (G2) ne dešavaju se na statistički značajno različit način u zavisnosti od podgrupe ($p = 0.2815$) i sa zanemarljivim su uticajem tipa korišćenog retrakcionog sredstva ($\eta^2 = 0.0439$).



(a)



(b)

Grafikon 3. Kretanje koncentracije IL-6 (pg/ml) tokom perioda ispitivanja u G1 (a) i G2 (b) grupi ispitanika, u odnosu na korišćeno sredstvo za retrakciju gingive.

5.2.4. Uticaj korišćenog retrakcionog sredstva na salivarnu koncentraciju TNF- α

Uticaj vrste sredstva za retrakciju gingive na koncentraciju TNF- α tokom perioda ispitivanja u eksperimentalnim grupama prikazan je u tabeli 16. Na grafikonu 4 je dato kretanje vrednosti TNF- α u pljuvački za obe ispitivane grupe.

Unutar grupa G1 i G2 evidentan je statistički značajan porast salivarne koncentracije TNF- α tokom ispitivanog perioda ($p < 0.001$), izuzev u grupi sa nebrušenim zubima (G2) sa aplikovanim ferisulfatom (R2), gde je $p < 0.01$. Dokazan je veliki uticaj vrste primenjenog retrakcionog sredstva na koncentraciju TNF- α : R1 ($\eta^2 = 0.6923$ u G1, $\eta^2 = 0.8581$ u G2), kao i R2 ($\eta^2 = 0.7772$ u G1 i $\eta^2 = 0.4538$ u G2). Takođe je uočen i veliki efekat primene retrakcionih sredstava na promene vrednosti TNF- α u celim grupama, $\eta^2 = 0.7151$ u grupi sa brušenim (G1) i $\eta^2 = 0.6797$ u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima (G2).

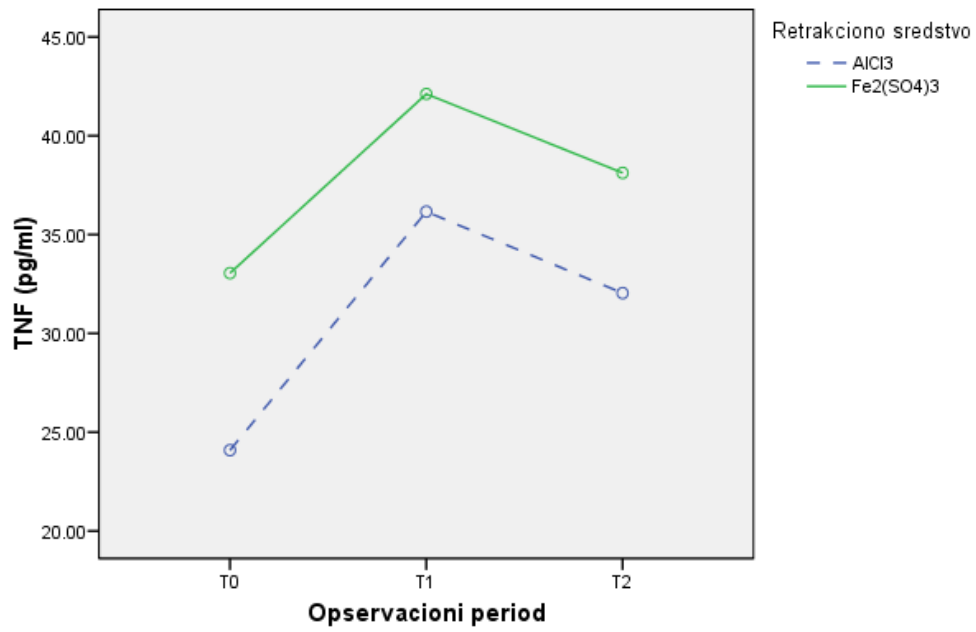
Podgrupe eksperimentalnih grupa su se statistički značajno razlikovale po vrednostima TNF- α tokom celog ispitivanog perioda, i to u G1 na nivou $p < 0.001$ uz veliki uticaj ($\eta^2 = 0.3651$), a u grupi G2 na nivou $p < 0.05$ uz srednji uticaj vrste retrakcionog sredstva ($\eta^2 = 0.1339$).

Promene vrednosti TNF- α tokom ispitivanog perioda dešavaju se na statistički značajno različit način u odnosu na tip retrakcionog sredstva samo u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima (G2), gde je uticaj vrste retrakcionog sredstva relativno veliki. To, sa druge strane, nije slučaj u grupi ispitanika sa brušenim zubima (G1) gde se promene koncentracije TNF- α tokom opservacionog perioda dešavaju na sličan način u obe podgrupe.

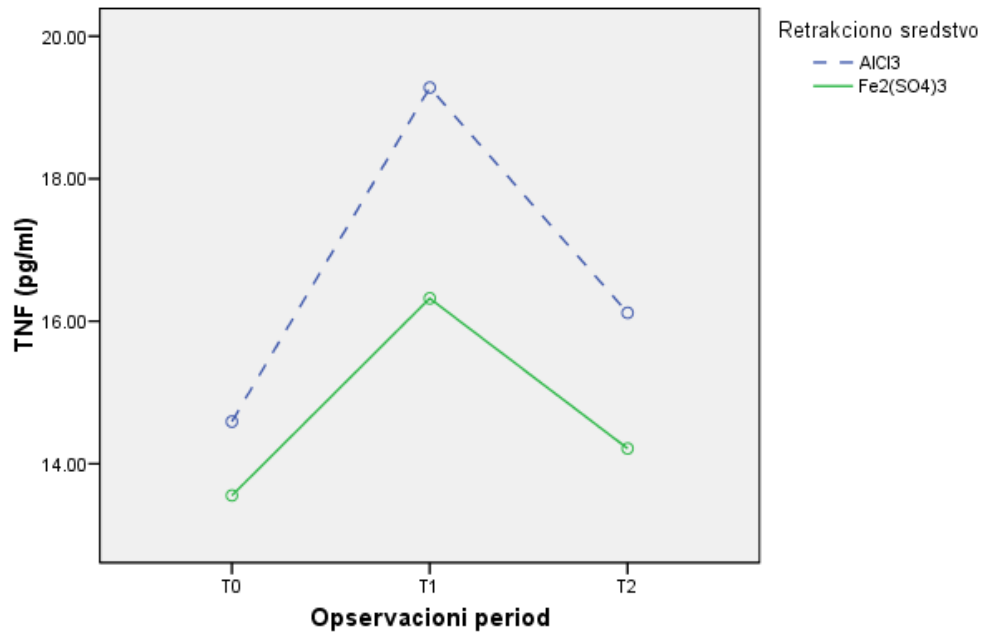
Tabela 16. Uticaj sredstava za retrakciju gingive na salivarnu koncentraciju TNF- α (pg/ml) u grupama G1 i G2 tokom perioda ispitivanja.

			Efekti unutar grupe			Efekat u odnosu na vrstu retrak. sredstva	Interakcija retrak. sredstvo \times vreme
			R1+R2	R1	R2		
TNF	G1	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,0004***	0,1828
		Veličina efekta [¶]	0,7151	0,6923	0,7772	0,3651	0,0599
	G2	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	0,0025**	0,0467*	0,0386*
		Veličina efekta [¶]	0,6797	0,8581	0,4538	0,1339	0,1179

[¶]- Parcijalni eta kvadrat (η^2), * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$
RM ANOVA



(1)



(b)

Grafikon 4. Kretanje koncentracije TNF- α (pg/ml) tokom perioda ispitivanja u G1 (a) i G2 (b) grupi ispitanika, u odnosu na korišćeno sredstvo za retrakciju gingive.

5.2.5. Uticaj korišćenog retrakcionog sredstva na salivarnu koncentraciju IgA

Uticaj primenjenog sredstva za retrakciju gingive na koncentraciju IgA u eksperimentalnim grupama tokom perioda ispitivanja prikazan je u tabeli 17. Na grafikonu 5 je dato kretanje vrednosti salivarne koncentracije IgA za obe ispitivane grupe.

Evidentan je statistički značajan porast koncentracije IgA tokom ispitivanog perioda kod ispitanika obe grupe ($p < 0.001$), uz dokazan veliki efekat primenjenih retrakcionih sredstava: na bazi aluminijum hlorida ($\eta^2 = 0.6458$ u G1, $\eta^2 = 0.7352$ u G2), kao i na bazi ferisulfata ($\eta^2 = 0.7038$ u G1 i $\eta^2 = 0.7171$ u G2). I u celim grupama, bez obzira na vrstu upotrebljenog retrakcionog sredstva, dokazan je veliki uticaj primene retrakcionih sredstava na promene koncentracije IgA ($\eta^2 = 0.6573$ u grupi sa brušenim i $\eta^2 = 0.6941$ u grupi sa nebrušenim zubima).

U G1 grupi upoređivanje podgrupa na osnovu uticaja vrste sredstva za retrakciju gingive pokazalo je da se podgrupe retrakcionih sredstava statistički značajno ne razlikuju po vrednostima koncentracija IgA tokom celog ispitivanog perioda, a tip retrakcionog sredstva imao je srednji efekat ($\eta^2 = 0.0967$). U grupi sa brušenim zubima (G2) podgrupe su se tokom celog perioda statistički značajno razlikovale po salivarnoj koncentraciji IgA uz veliki uticaj vrste retrakcionog sredstva ($p < 0.001$), ($\eta^2 = 0.4144$).

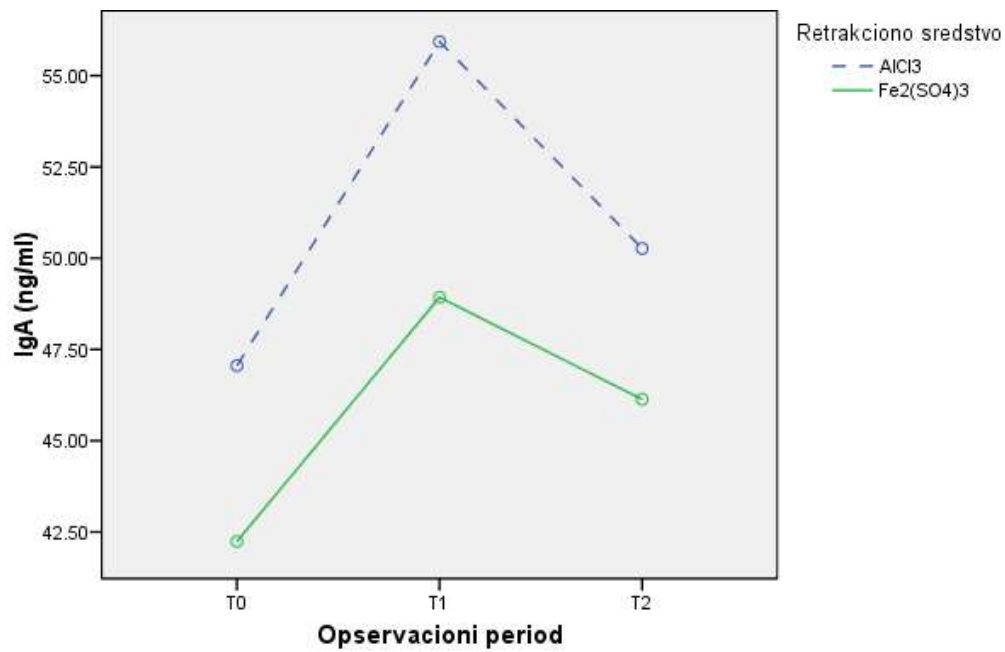
Tabela 17. Uticaj sredstava za retrakciju gingive na salivarnu koncentraciju IgA (ng/ml) u grupama G1 i G2 tokom perioda ispitivanja.

			Efekti unutar istog retrak, sred,			Efekat između različitih retrak. sredstava	Interakcija Retrak. sredstvo × vreme
			R1+R2	R1	R2		
IgA	G1	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,0940	0,1608
		Veličina efekta [¶]	0,6573	0,6458	0,7038	0,0967	0,0663
G2		<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,0028**
		Veličina efekta [¶]	0,6941	0,7352	0,7171	0,4144	0,2351

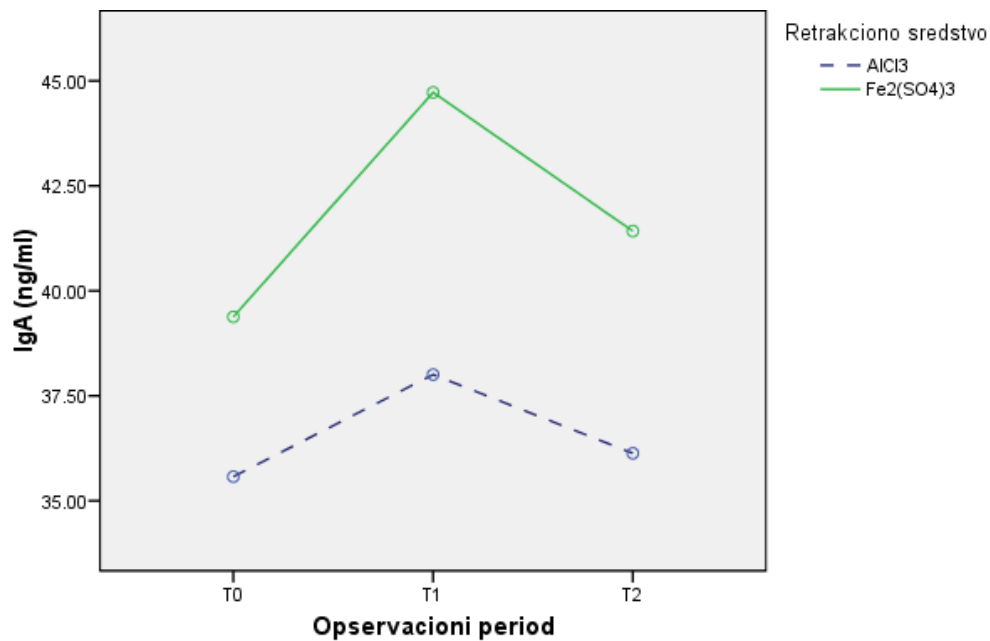
[¶] – Parcijalni eta kvadrat (η^2), ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$
RM ANOVA

Promene koncentracije IgA tokom ispitivanog perioda ne dešavaju se na statistički značajno različit način u odnosu na vrstu retrakcionog sredstva u grupi sa brušenim zubima (G1), uz srednji efekat retrakcionog sredstva. Način promena statistički je značajno različit u grupi sa nebrušenim zubima (G2) ($p < 0.01$) i sa velikim efektom vrste korišćenog sredstva ($\eta^2 = 0.2351$).

Na osnovu iznetih podataka može se reći da je efekat vrste sredstva za retrakciju na koncentraciju IgA generalno izraženiji u grupi sa nebrušenim zubima.



(a)



(b)

Grafikon 5. Kretanje koncentracije IgA (ng/ml) tokom perioda ispitivanja u G1 (a) i G2 (b) grupi ispitanika, u odnosu na korišćeno sredstvo za retrakciju gingive.

5.2.6. Uticaj korišćenog retrakcionog sredstva na salivarnu koncentraciju MCP-1

Efekat vrste sredstva za retrakciju gingive na salivarnu koncentraciju MCP-1 tokom perioda ispitivanja u G1 i G2 grupi prikazan je u tabeli 18, a na grafikonu 6 je prikazano kretanje količine MCP-1 tokom opservacionog perioda za obe ispitivane grupe.

Unutar grupa G1 i G2 evidentan je statistički značajan porast vrednosti MCP-1 tokom ispitivanog perioda ($p < 0.001$), kako za oba tipa retrakcionih sredstava tako i za sve ispitanike. Veliki je uticaj primenjenih retrakcionih sredstava na vrednosti MCP-1: R1 ($\eta^2 = 0.6782$ u G1, $\eta^2 = 0.8713$ u G2), kao i R2 ($\eta^2 = 0.7425$ u G1 i $\eta^2 = 0.6393$ u G2). I u celim grupama, bez obzira na vrstu upotrebljenog retrakcionog sredstva, dokazan je veliki uticaj primene retrakcionih sredstava na promene koncentracije MCP-1, $\eta^2 = 0.7140$ u grupi sa brušenim (G1) i $\eta^2 = 0.8089$ u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima (G2).

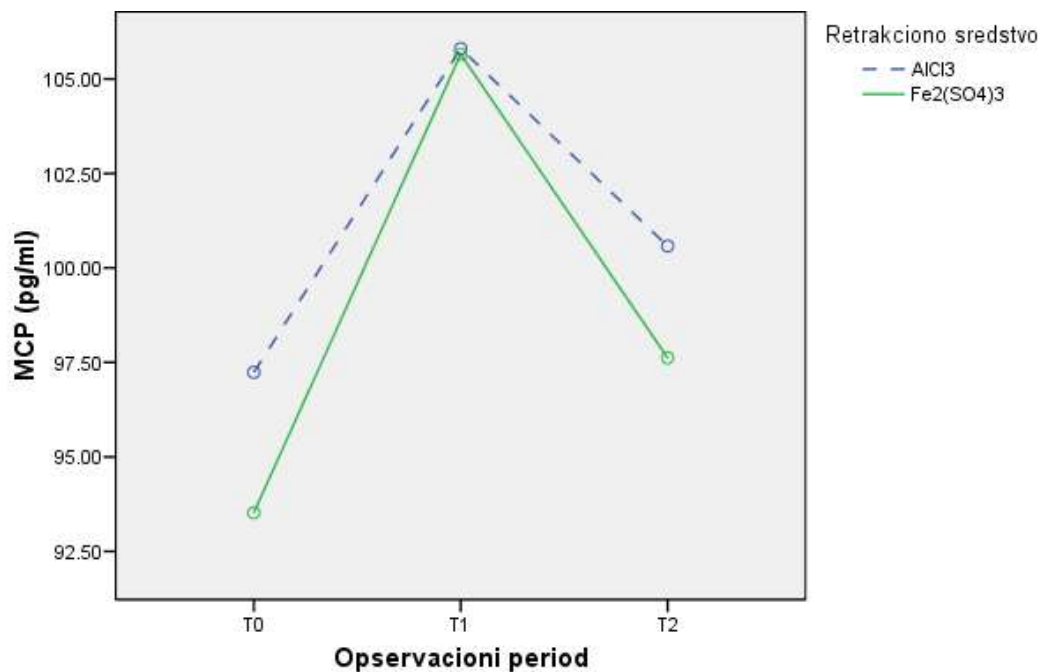
Testiranje uticaja vrste retrakcionog sredstva između podgrupa pokazalo je da se one statistički značajno ne razlikuju po koncentracijama MCP-1 tokom celog ispitivanog perioda sa veoma malim uticajem vrste aplikovanog sredstva za retrakciju gingive ($\eta^2 = 0.0184$ u G1, $\eta^2 = 0.0274$ u G2).

Promene koncentracije MCP-1 tokom ispitivanog perioda dešavaju se na statistički značajno različit način u zavisnosti od vrste retrakcionog sredstva samo u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima ($p < 0.001$), uz veliki efekat retrakcionog sredstva ($\eta^2 = 0.6427$). U grupi G1 promene koncentracije MCP-1 se ne dešavaju na statistički značajno različit način u podgrupama ispitanika.

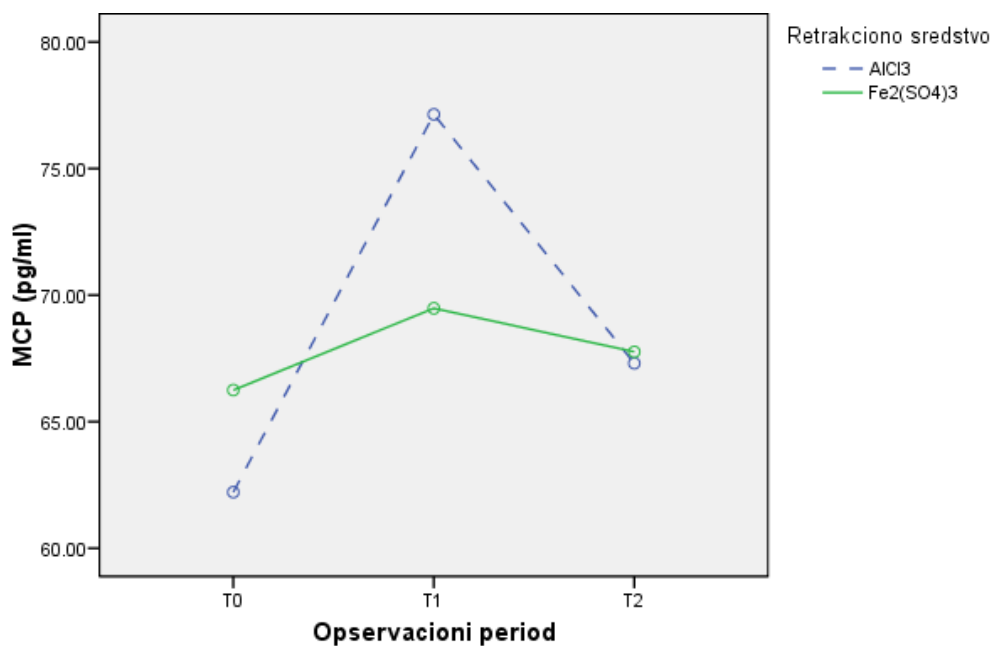
Tabela 18. Uticaj sredstava za retrakciju gingive na salivarnu koncentraciju MCP-1 (pg/ml) u grupama G1 i G2 tokom perioda ispitivanja.

			Efekti unutar istog retrak. sred.			Efekat između različitih retrak. sredstava	Interakcija retrak. sredstvo × vreme
			R1+R2	R1	R2		
MCP	G1	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,4750	0,1313
		Veličina efekta [†]	0,7140	0,6782	0,7425	0,0184	0,0740
G2	<i>p</i>		<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,3820	<0,001***
		Veličina efekta [†]	0,8089	0,8713	0,6393	0,0274	0,6427

[†]-Parcijalni eta kvadrat (η^2), *** – $p < 0,001$
RM ANOVA



(a)



(b)

Grafikon 6. Kretanje koncentracije MCP-1 (pg/ml) tokom perioda ispitivanja u G1 (a) i G2 (b) grupi ispitanika, u odnosu na korišćeno sredstvo za retrakciju gingive.

5.3. UTICAJ OPSERVACIONOG PERIODA NA VREDNOSTI INDEKSA ZA PROCENU STANJA GINGIVE I KONCENTRACIJU PROINFLAMATORNIH CITOKINA NAKON HEMIJSKO - MEHANIČKE RETRAKCIONE PROCEDURE

5.3.1. Uticaj opservacionog perioda na vrednosti indeksa za procenu stanja gingive

Značaj opservacionog perioda na vrednosti indeksa za procenu stanja gingive (GI i Ikr) u eksperimentalnim grupama date su u tabelama 19 i 20.

Iz tabelarnih podataka jasna je statistički signifikantna uloga dužine opservacionog perioda na vrednosti oba ispitivana indeksa procene stanja gingive. Jedan dan nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure u obe ispitivane grupe, u poređenju sa vrednostima na početku ispitivanja, došlo je do statistički značajnog povećavanja oba parametra ($p < 0.001$), dok je nakon 72h u odnosu na prvi opservacioni period došlo do njihovog smanjenja. Vrednosti u toku trećeg opservacionog perioda bile su i dalje statistički značajno više u odnosu na početak ispitivanja ($p < 0.001$).

Tabela 19. Promene vrednosti GI u eksperimentalnim grupama u zavisnosti od opservacionog perioda.

Retr. sr.	Grupa	T0		T1		T2	
R1	G1	0,33 ± 0,41	(0,00)	2,37 ± 0,52 ^{***}	(2,50)	1,27 ± 0,59 ^{***}	(1,00)
	G2	0,17 ± 0,24	(0,00)	1,13 ± 0,52 ^{***}	(1,00)	0,43 ± 0,42 ^{***}	(0,50)
R2	G1	0,73 ± 0,75	(1,00)	2,30 ± 0,65 ^{***}	(2,50)	1,57 ± 0,56 ^{***}	(1,50)
	G2	0,23 ± 0,26	(0,00)	1,83 ± 0,49 ^{***}	(2,00)	1,00 ± 0,38 ^{***}	(1,00)

Vrednosti kontinualnih varijabli date kao $X \pm SD$ (Me). *** – $p < 0,001$ vs T0 (Studentov t-test uparenih uzoraka / Viloksonov test ranga)

Tabela 20. Promene vrednosti Ikr u eksperimentalnim grupama u zavisnosti od opservacionog perioda.

Retr. sr.	Grupa	T0		T1		T2	
R1	G1	0,13 ± 0,23	(0,00)	1,80 ± 0,56***	(2,00)	1,00 ± 0,38***	(1,00)
	G2	0,30 ± 0,53	(0,00)	1,30 ± 0,37***	(1,00)	0,57 ± 0,53***	(0,50)
R2	G1	0,60 ± 0,60	(1,00)	2,33 ± 0,24***	(2,50)	1,57 ± 0,62***	(1,50)
	G2	0,33 ± 0,59	(0,00)	1,63 ± 0,61***	(2,00)	0,77 ± 0,59***	(0,50)

Vrednosti kontinualnih varijabli date kao $X \pm SD$ (Me). *** – $p < 0,001$ vs T0 (Studentov t-test uparenih uzoraka / Vilkoksonov test ranga)

5.3.2. Uticaj opservacionog perioda na salivarnu koncentraciju proinflamatornih citokina

Koncentracije ispitivanih citokina (IL-6, TNF- α , IgA i MCP-1) u grupama G1 i G2 i njihovim podgrupama determinisanim vrstom aplikovanog sredstva za retrakciju gingive u zavisnosti od opservacionog perioda date su u tabelama 21, 22, 23 i 24. Iz navedenih rezultata jasno se može videti statistički značajan uticaj opservacionog perioda na vrednosti koncentracije ispitivanih markera inflamacije, bez obzira na vrstu aplikovanog retrakcionog sredstva, odnosno brušenja zuba koje je prethodilo retrakcionoj proceduri. Evidentno je da je 24h od aplikacije sredstva za retrakciju gingive u obe ispitivane grupe došlo do statistički značajnog povećavanja vrednosti sva četiri parametra ($p < 0,001$) u odnosu na vrednosti pre aplikacije retrakcionog sredstva. Nakon 72h u odnosu na drugi opservacioni period došlo je do njihovog smanjenja, ali su te vrednosti i dalje statistički značajno više no one pre aplikacije sredstva za retrakciju gingive ($p < 0,001$).

Tabela 21. Promene koncentracije IL-6 (pg/ml) u eksperimentalnim grupama u zavisnosti od opservacionog perioda.

Retr. sr.	Grupa	T0		T1		T2	
R1	G1	6,26 ± 0,85	(6,38)	12,96 ± 1,99***	(12,79)	7,64 ± 1,09***	(7,99)
	G2	4,03 ± 0,61	(4,03)	5,12 ± 0,56***	(5,04)	4,57 ± 0,63***	(4,53)
R2	G1	7,34 ± 1,38	(6,90)	12,50 ± 1,84***	(12,64)	9,54 ± 2,15***	(8,67)
	G2	4,12 ± 0,68	(4,06)	4,84 ± 0,77***	(4,66)	4,54 ± 0,92***	(4,35)

Vrednosti kontinualnih varijabli date kao X ± SD (Me). . *** – p<0,001 vs T0
(Studentov t-test uparenih uzoraka / Vilkoksonov test ranga)

Tabela 22. Promene koncentracije TNF-α (pg/ml) u eksperimentalnim grupama u zavisnosti od opservacionog perioda.

Retr .sr.	Grupa	T0		T1		T2	
R1	G1	24,09 ± 4,46	(22,05)	36,16 ± 4,24***	(35,27)	32,04 ± 7,91***	(30,18)
	G2	14,59 ± 2,25	(13,78)	19,28 ± 2,57***	(18,51)	16,12 ± 3,21***	(15,54)
R2	G1	33,05 ± 5,20	(33,98)	42,11 ± 5,48***	(42,15)	38,12 ± 5,27***	(38,18)
	G2	13,55 ± 2,93	(13,98)	16,32 ± 3,16***	(16,96)	14,21 ± 2,66***	(15,17)

Vrednosti kontinualnih varijabli date kao X ± SD (Me). *** – p<0,001 vs T0
(Studentov t-test uparenih uzoraka / Vilkoksonov test ranga)

Tabela 23. Promene koncentracije IgA (ng/ml) u eksperimentalnim grupama u zavisnosti od opservacionog perioda.

Retr. sr.	Grupa	T0		T1		T2	
R1	G1	47,06 ± 9,69	(45,34)	55,93 ± 9,86***	(55,21)	50,27 ± 8,71***	(47,82)
	G2	35,58 ± 1,92	(35,46)	38,01 ± 2,18***	(38,00)	36,13 ± 1,71***	(36,18)
R2	G1	42,24 ± 7,62	(41,94)	48,93 ± 8,07***	(48,22)	46,13 ± 8,26***	(45,70)
	G2	39,38 ± 4,47	(38,37)	44,72 ± 4,13***	(44,12)	41,42 ± 4,70***	(41,18)

Vrednosti kontinualnih varijabli date kao X ± SD (Me). *** – p<0,001 vs T0
(Studentov t-test uparenih uzoraka / Vilkoksonov test ranga)

Tabela 24. Promene koncentracije MCP-1 (pg/ml) u eksperimentalnim grupama u zavisnosti od opservacionog perioda.

Retr. sr.	Grupa	T0		T1		T2	
R1	G1			(101,21			
		97,24 ± 9,32	(95,74)	105,81 ± 12,71***)	100,58 ± 10,13***	(97,33)
	G2	62,22 ± 1,48	(62,50)	77,14 ± 2,05***	(76,55)	67,31 ± 4,78***	(66,84)
R2	G1			(103,51			
		93,52 ± 6,37	(94,21)	105,68 ± 8,24***)	97,62 ± 5,66***	(96,83)
	G2	66,25 ± 3,85	(67,78)	69,48 ± 4,89***	(70,25)	67,76 ± 4,16***	(68,29)

Vrednosti kontinualnih varijabli date kao X ± SD (Me). *** – p<0,001 vs T0
(Studentov t-test uparenih uzoraka / Vilkoksonov test ranga)

5.4. Uticaj brušenja zuba na vrednosti indeksa za procenu stanja gingive i salivarnu koncentraciju proinflamatornih citokina nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure

Tehnika brušenja zuba svojom invazivnošću može biti potencijalni uzrok inflamacije gingivalnog tkiva parodonta, te i promene vrednosti ispitivanih gingivalnih indeksa i koncentracije proinflamatornih citokina u pljuvački. S tim u vezi, dizajn eksperimenta je predvideo ispitivanja u dve grupe na kojima je sprovedena hemijsko - mehanička procedura retrakcije gingive: sa brušenjem (G1) odnosno bez brušenja zuba (G2), u kojima su primenjena različita retrakciona sredstva (R1 i R2).

RM ANOVA je unutar efekata grupe objasnila kako je samo brušenje zuba uticalo na vrednost posmatranog parametra (vrednost indeksa procene stanja gingive i salivarna koncentracija proinflamatornih citokina) kod grupa ispitanika sa upotrebljenim retrakcionim sredstvom. Istom statističkom metodom ustanovljeno je da li se pri upotrebi istog retrakcionog sredstva vrednost ispitivanog parametra menjala u zavisnosti od toga da li su zubi brušeni ili ne. Praćeno je i kretanje testiranog parametra u periodu ispitivanja, odnosno da li se je on menjao na isti način u grupi ispitanika kod kojih je aplikovano identično retrakciono sredstvo.

5.4.1. Uticaj brušenja zuba na promenu vrednosti GI nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure

Uticaj brušenja zuba na vrednosti GI tokom perioda ispitivanja u grupama formiranim u odnosu na upotrebljeno retrakciono sredstvo dati su u tabeli 25, a na grafikonu 7 je prikazano kretanje vrednosti GI tokom istog perioda.

U okviru podgrupa sa korišćenim sredstvom R1 i R2 uočljiv je statistički značajan porast vrednosti GI tokom ispitivanog perioda ($p < 0.001$) i kod pacijenata sa brušenim (G1) odnosno nebrušenim zubima (G2). Veliki efekat na vrednost GI dokazan je u G1 ($\eta^2 = 0.8554$ u R1, $\eta^2 = 0.7900$ u R2), kao i u G2 ($\eta^2 = 0.7122$ u R1 i $\eta^2 = 0.8732$ u R2). Na osnovu vrednosti parcijalnog eta kvadrata može se reći da je u G1 veći uticaj na promene GI postojao pri primeni R1, a u G2 pri upotrebi R2. Bez obzira na prisustvo brušenja zuba, generalno je veliki efekat na porast vrednosti GI dokazan u obe ispitivane grupe, s tim da je on nešto veći pri primeni retrakcionih sredstava na bazi ferisulfata ($\eta^2 = 0.8051$ u R1 i $\eta^2 = 0.8302$ u R2).

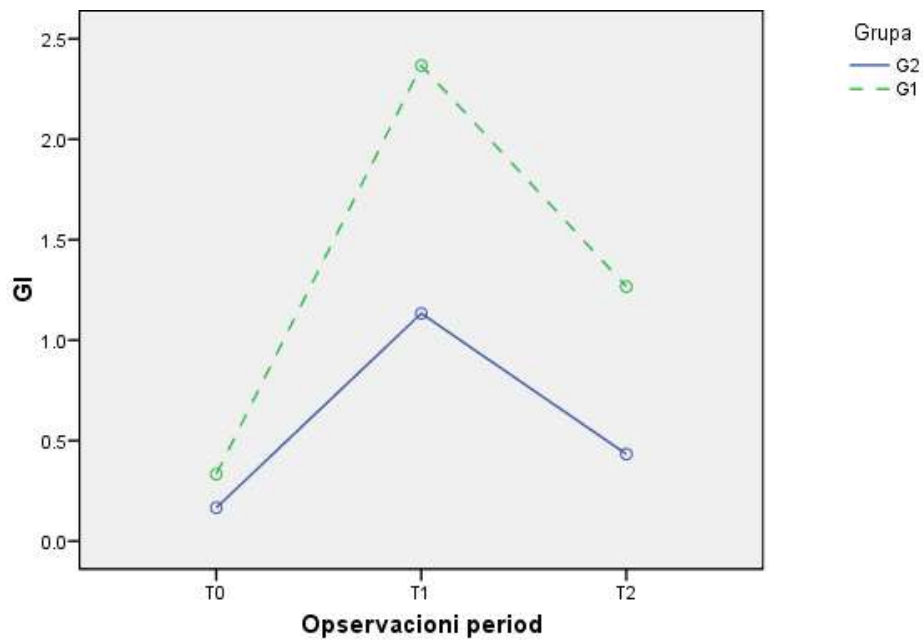
Tabela 25. Uticaj brušenja zuba na vrednost GI tokom perioda ispitivanja nakon aplikacije retrakcionih sredstava.

		Efekti unutar grupe			Efekat između	Interakcija
		G1+G2	G1	G2	G1 i G2 (efekat brušenja)	brušenje zuba × vreme
R1	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***
	Veličina efekta [¶]	0,8051	0,8554	0,7122	0,5619	0,3448
R2	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,0041**	0,8326
	Veličina efekta [¶]	0,8302	0,7900	0,8732	0,2587	0,0050

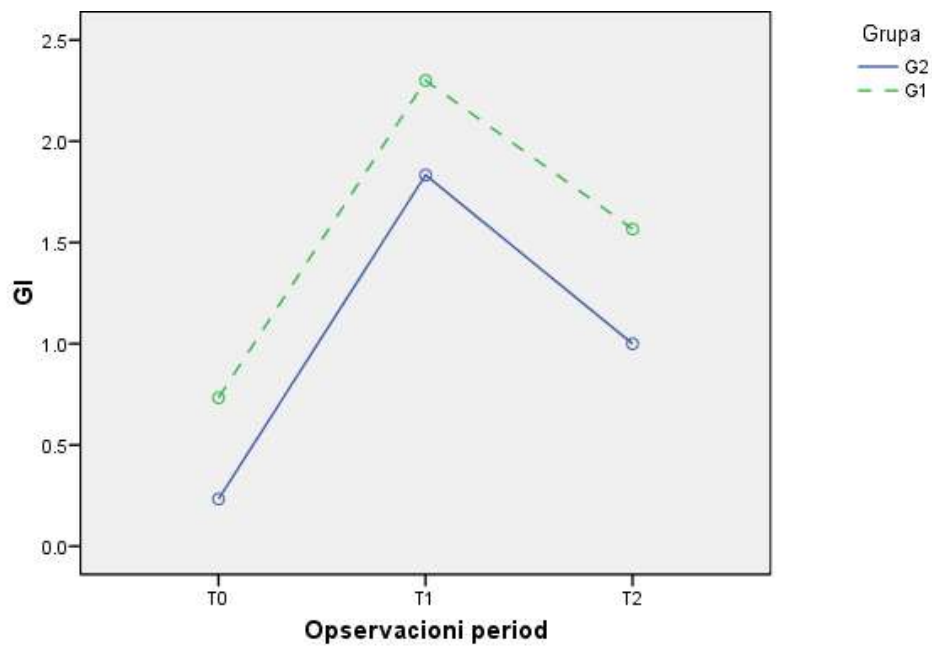
[¶]-Parcijalni eta kvadrat (ηp^2), ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$
RM ANOVA

Testiranjem efekata na vrednost GI između grupe brušenih i nebrušenih zuba ustanovljeno je da se one statistički značajno razlikuju po vrednostima ovog parametra tokom celog perioda ispitivanja ($p < 0.001$), sa velikim efektom i u R1 i R2 podgrupi, s tim da je efekat znatno veći u R1 ($\eta p^2 = 0.5619$) no u R2 podgrupi ($\eta p^2 = 0.2587$).

Promene vrednosti GI tokom ispitivanog perioda u grupama G1 i G2 dešavaju se na statistički značajno različit način ($p < 0.001$) u podgrupi R1 ($\eta p^2 = 0.3448$), dok ta razlika ne postoji u podgrupi R2, što je potpuno evidentno i poređenjem kretanja ovog parametara na grafikonima 7a i 7b.



(a)



(b)

Grafikon 7. Kretanje vrednosti GI tokom perioda ispitivanja u grupi brušenih (G1) i nebrušenih (G2) zuba nakon aplikovanja R1 (a) i R2 (b)

5.4.2. Uticaj brušenja zuba na promenu vrednosti Ikr nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure

Efekti brušenja zuba na vrednosti Ikr u periodu ispitivanja u grupama formiranim na osnovu aplikovanog sredstava za retrakciju gingive (R1 i R2) prikazani su u tabeli 26. Na grafikonu 8 je dato kretanje vrednosti parametra Ikr tokom perioda ispitivanja.

U okviru grupa R1 i R2, kao i okviru grupa G1 i G2, evidentan je statistički značajan porast vrednosti Ikr tokom ispitivanog perioda ($p < 0.001$). Efekti na vrednosti Ikr su veoma veliki i kod brušenih ($\eta^2 = 0.8933$ u R1, $\eta^2 = 0.8383$ u R2) i kod nebrušenih zuba ($\eta^2 = 0.8322$ u R1 i $\eta^2 = 0.7657$ u R2). Takođe, u celim grupama, bez obzira na to da li su zubi brušeni, postoji veliki efekat na vrednosti Ikr koji je sličan, ali ipak nešto veći, kod retrakcionih sredstava na bazi aluminijum hlorida, $\eta^2 = 0.8637$ u odnosu na sredstva na bazi ferisulfata, $\eta^2 = 0.8047$. Valja zapaziti da je i u R1 i u R2 grupi efekat na Ikr veći u grupi brušenih zuba.

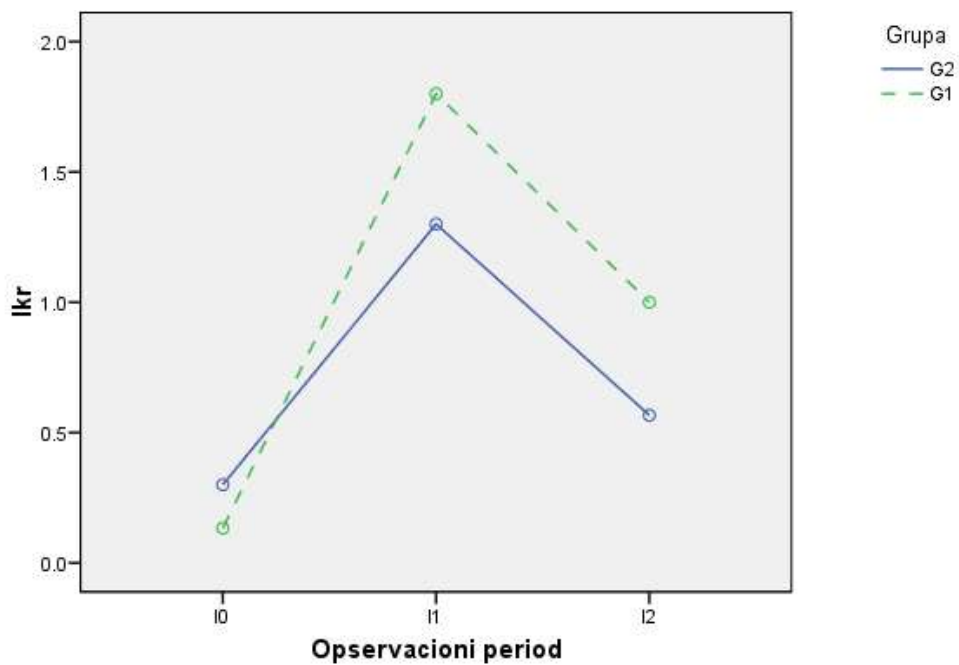
Tabela 26. Uticaj brušenja zuba na vrednost Ikr tokom perioda ispitivanja nakon aplikacije retrakcionih sredstava.

			Efekti unutar grupe			Efekat između	Interakcija
			G1+G2	G1	G2	G1 i G2 (efekat brušenja)	brušenje zuba × vreme
Ikr	R1	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,0833	<0,001***
		Veličina efekta [¶]	0,8673	0,8933	0,8322	0,1033	0,3297
	R2	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,0016*	0,0285*
		Veličina efekta [¶]	0,8047	0,8383	0,7657	0,3027	0,1256

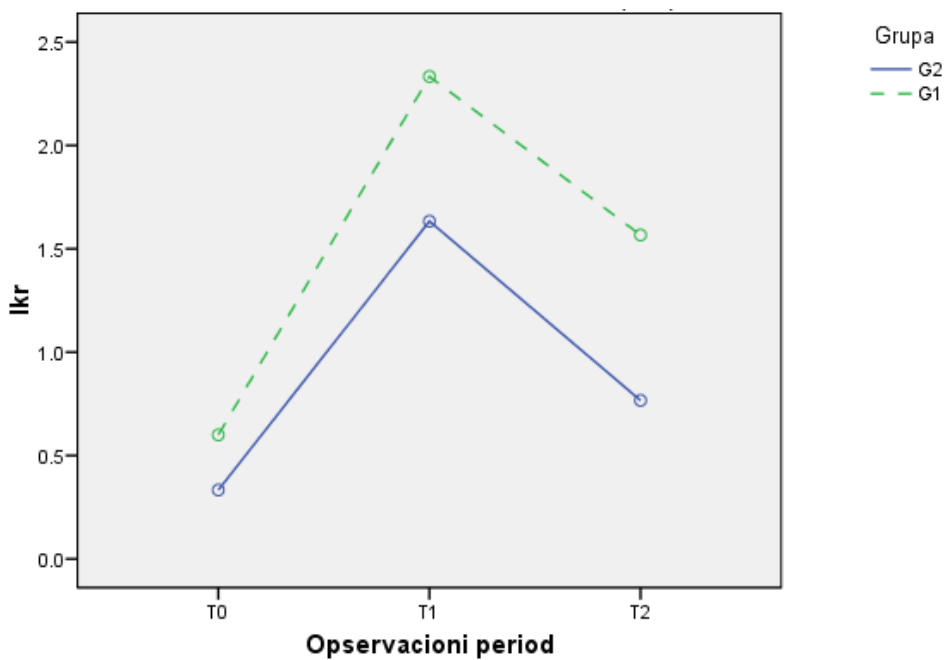
[¶] - Parcijalni eta kvadrat (η^2), * - $p < 0,05$, *** - $p < 0,001$
RM ANOVA

Testiranjem efekata između grupa brušenih i nebrušenih zuba ustanovljeno je da se one statistički značajno razlikuju po vrednostima Ikr ($p < 0.05$) tokom celog perioda ispitivanja samo pri korišćenju retrakcionih sredstava na bazi ferisulfata, sa velikim efektom brušenja zuba ($\eta^2 = 0.3027$), dok u grupi R1 statistički značajna razlika ne postoji.

Promene vrednosti I_{kr} tokom ispitivanog perioda u G1 i G2 dešavaju se na statistički značajno različit način i u R1 i R2 grupi, ali je ta razlika izraženija ($p < 0.001$, $\eta^2 = 0.3297$) pri primeni sredstava za retrakciju gingive na bazi aluminijum hlorida, no pri primeni sredstava na bazi ferisulfata ($p < 0.05$, $\eta^2 = 0.1256$), što se uočava i poređenjem grafikona 8a i 8b.



(a)



(b)

Grafikon 8. Kretanje vrednosti Ikr tokom perioda ispitivanja u grupi brušenih (G1) i nebrušenih (G2) zuba nakon aplikovanja R1 (a) i R2 (b)

5.4.3. Uticaj brušenja zuba na promenu salivarne koncentracije IL-6 nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure

Efekat brušenja zuba na koncentraciju IL-6 u pljuvački tokom perioda ispitivanja u grupama formiranim na osnovu aplikovanog sredstava za retrakciju gingive (R1 i R2), prikazan je u tabeli 27. Na grafikonu 9 je dato kretanje vrednosti parametra IL-6 tokom perioda ispitivanja.

Unutar grupa R1 i R2 evidentan je statistički značajan ($p < 0.001$) porast salivarne koncentracije IL-6 tokom ispitivanog perioda sa velikim efektom primenjenih sredstava za retrakciju, kako kod svih ispitanika u grupama, tako i unutar grupa formiranih prema brušenju zuba. Nešto niži nivo statističke značajnosti porasta koncentracije IL-6 evidentiran je u grupi sa nebrušenim zubima gde je primenjivano retrakciono sredstvo na bazi ferisulfata ($p < 0.01$). Dokazani su veliki efekti na koncentraciju IL-6 i kod brušenih ($\eta^2 = 0.8826$ u R1, $\eta^2 = 0.9116$ u R2), ali i kod nebrušenih zuba ($\eta^2 = 0.7564$ u R1 i $\eta^2 = 0.3037$ u R2). Na osnovu vrednosti parcijalnog eta kvadrata može se reći da je kod brušenih zuba veći efekat na količinu IL-6. Generalno gledano, bez obzira da li su zubi brušeni, veliki je, gotovo identičan efekat dokazan u obe ispitivane grupe ($\eta^2 = 0.8238$ u R1 i $\eta^2 = 0.8205$ u R2).

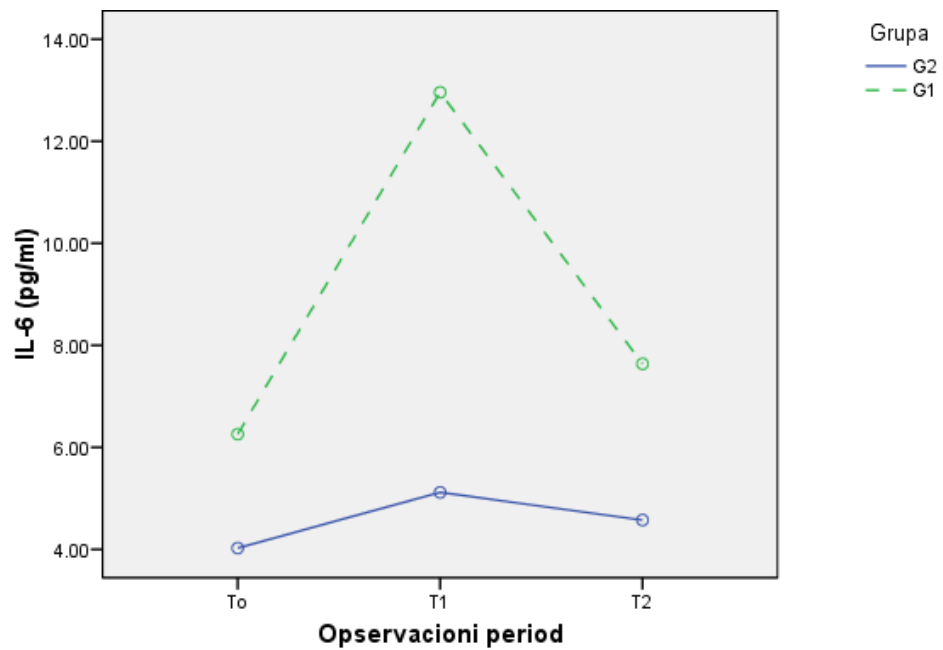
Tabela 27. Uticaj brušenja zuba na salivarnu koncentraciju IL-6 (pg/ml) tokom perioda ispitivanja nakon aplikacije retrakcionih sredstava.

			Efekti unutar grupe			Efekat između	Interakcija
			G1+G2	G1	G2	G1 i G2 (efekat brušenja)	brušenje zuba × vreme
IL-6	R1	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***
		Veličina efekta [¶]	0,8238	0,8826	0,7564	0,9060	0,7223
	R2	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,01**	<0,001***	<0,001***
		Veličina efekta [¶]	0,8205	0,9116	0,3037	0,8219	0,7250

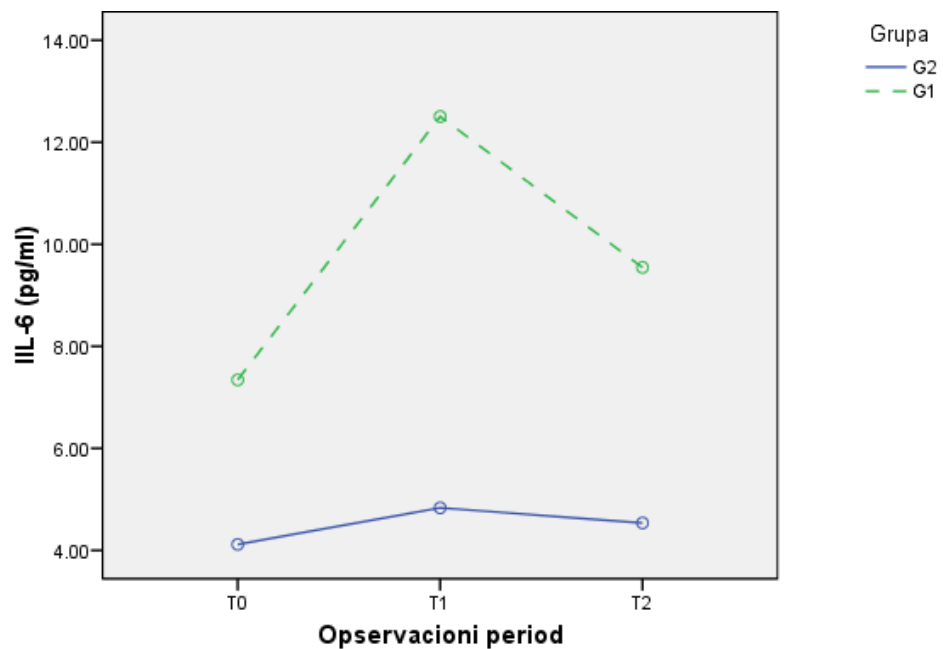
[¶] - Parcijalni eta kvadrat (η^2), *** – $p < 0,001$
RM ANOVA

Testiranjem efekata između G1 i G2 ustanovljeno je da se statistički značajno razlikuju po koncentraciji IL-6 ($p < 0.001$) tokom celog perioda ispitivanja, sa velikim efektom brušenja zuba u R1 ($\eta^2 = 0.9060$ u G2) i R2 grupi ($\eta^2 = 0.8219$).

Promene koncentracije IL-6 tokom ispitivanog perioda u grupama G1 i G2 dešavaju se na statistički značajno različit način ($p < 0.001$) uz veliki efekat brušenja ($\eta^2 = 0.7223$ u R1, odnosno $\eta^2 = 0.7250$ u R2) (grafikon 9).



(a)



(b)

Grafikon 9. Kretanje salivarne koncentracije IL-6 (pg/ml) tokom perioda ispitivanja u grupi brušenih (G1) i nebrušenih (G2) zuba nakon aplikovanja R1 (a) i R2 (b)

5.4.4. Uticaj brušenja zuba na promenu salivarne koncentracije TNF- α nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure

Efekat brušenja zuba na salivarnu koncentraciju TNF- α tokom perioda ispitivanja kod grupa koje su formirane po tipu primenjenog sredstva za retrakciju gingive prikazan je u tabeli 28, a na grafikonu 10 je dato kretanje koncentracije TNF- α za obe ispitivane grupe u celokupnom periodu istraživanja.

Unutar grupa R1 i R2 evidentan je statistički značajan porast koncentracije TNF- α tokom ispitivanog perioda ($p < 0.001$), izuzev u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima i primenjenim sredstvom za retrakciju na bazi ferisulfata gde je $p < 0.01$. Dokazani su veliki efekti na promene vrednosti TNF- α i kod brušenih ($\eta^2 = 0.6923$ u R1, $\eta^2 = 0.7772$ u R2), ali i kod nebrušenih zuba ($\eta^2 = 0.8581$ u R1 i $\eta^2 = 0.4538$ u R2). Na osnovu vrednosti parcijalnog eta kvadrata može se reći da je u grupi R2 veći efekat na koncentraciju TNF- α nakon brušenih zuba, dok je pri primeni R1 taj efekat veći kod nebrušenih zuba. U celim grupama R1 i R2, bez obzira da li su zubi brušeni ili ne, evidentan je veliki, statistički značajan efekat ($p < 0.001$) primene retrakcionih sredstava na promene vrednosti salivarne koncentracije TNF- α , gotovo identičnog intenziteta: $\eta^2 = 0.6664$ u grupi R1 i $\eta^2 = 0.6749$ u grupi R2.

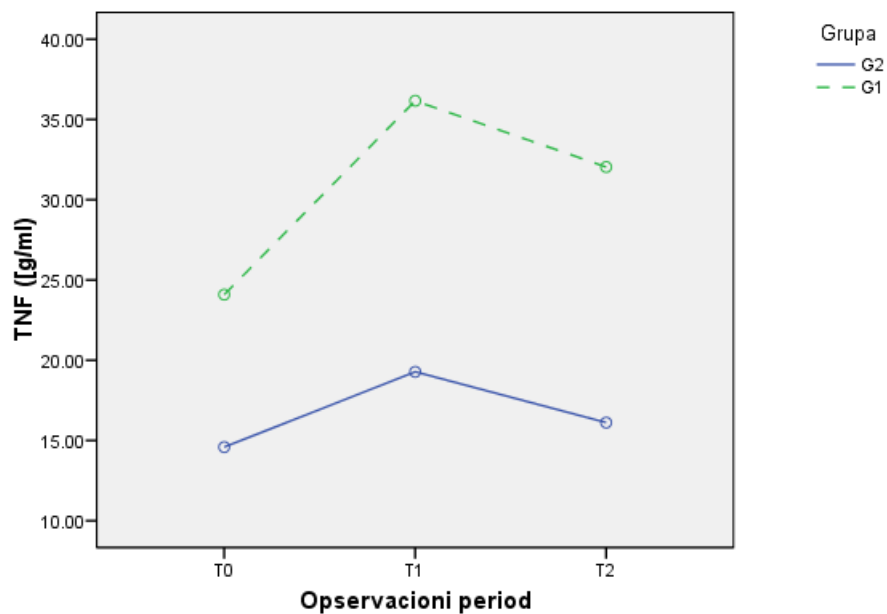
Testiranje efekata između grupa brušenih i nebrušenih zuba pokazalo je da se one statistički značajno razlikuju po koncentracijama TNF- α tokom celog ispitivanog perioda ($p < 0.001$), što govori o velikom uticaju brušenja zuba u R1 ($\eta^2 = 0.7908$), kao i u grupi R2 ($\eta^2 = 0.9023$), s tim da je u R1 grupi efekat na promene TNF- α manji.

Tabela 28. Uticaj brušenja zuba na salivarnu koncentraciju TNF- α (pg/ml) tokom perioda ispitivanja nakon aplikacije retrakcionih sredstava.

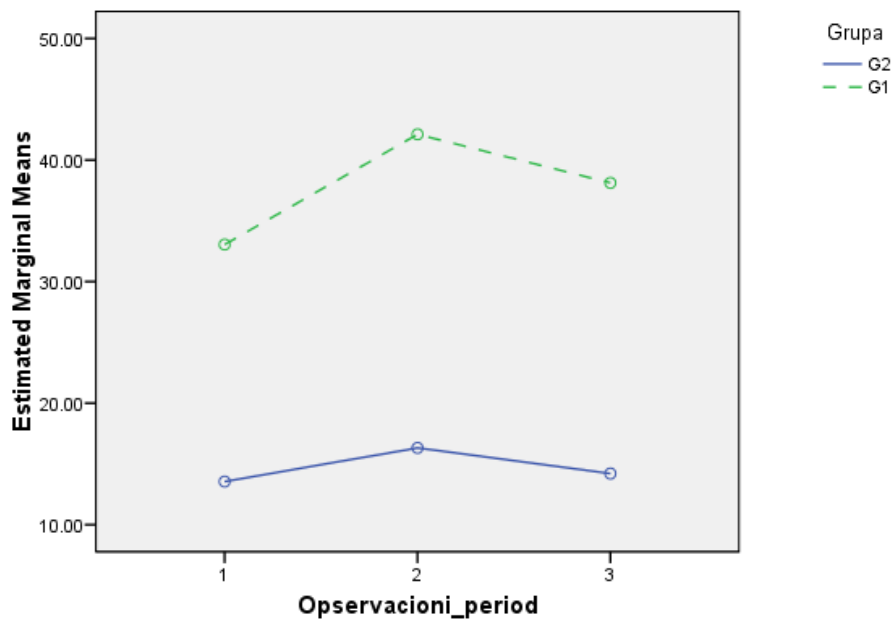
			Efekti unutar grupe			Efekat između	Interakcija
			G1+G2	G1	G2	G1 i G2 (efekat brušenja)	brušenje zuba × vreme
TNF	R1	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***
		Veličina efekta [¶]	0,6664	0,6923	0,8581	0,7908	0,3131
	R2	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	0,0025**	<0,001***	<0,001***
		Veličina efekta [¶]	0,6749	0,7772	0,4538	0,9023	0,3826

[¶] - Parcijalni eta kvadrat (η^2), ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$
RM ANOVA

Promene koncentracije TNF- α tokom celokupnog perioda ispitivanja dešavaju se na statistički značajno različit način kod brušenih i nebrušenih zuba ($p < 0,001$) uz veliki efekat brušenja ($\eta^2 = 0,3131$ u R1, odnosno $\eta^2 = 0,3826$ u R2).



(a)



(b)

Grafikon 10. Kretanje salivarne koncentracije TNF- α (pg/ml) tokom perioda ispitivanja u grupi brušenih (G1) i nebrušenih (G2) zuba nakon aplikovanja R1 (a) i R2 (b).

5.4.5. Uticaj brušenja zuba na promenu salivarne koncentracije IgA nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure

Efekat brušenja zuba na koncentraciju IgA u pljuvački tokom perioda ispitivanja kod grupa formiranih na osnovu vrste sredstva za retrakciju gingive prikazan je u tabeli 29. Na grafikonu 11 je dato kretanje vrednosti IgA za obe ispitivane grupe u celokupnom periodu ispitivanja.

Evidentan je statistički značajan porast koncentracije IgA tokom ispitivanog perioda kod ispitanika obe grupe ($p < 0.001$), uz dokazani veliki efekat i kod brušenih i nebrušenih zuba za oba primenjena sredstva za retrakciju gingive. Efekat je nešto veći u grupi sa nebrušenim zubima, kod primene obe vrste retrakcionih sredstava. Za brušene zube efekti su $\eta^2 = 0.6458$ u R1, a $\eta^2 = 0.7038$ u R2, dok su za nebrušene $\eta^2 = 0.7352$ u R1 i $\eta^2 = 0.7171$ u R2. Veliki efekat izražen je u obe grupe i u celim grupama, bez obzira da li su zubi brušeni ili ne. Efekat na koncentraciju IgA veći kod primene sredstava za retrakciju gingive na bazi ferisulfata ($\eta^2 = 0.5870$ u grupi R1, odnosno $\eta^2 = 0.7038$ u grupi R2).

Testiranje efekata između G1 i G2 na koncentraciju IgA pokazalo je da se grupe brušenih i nebrušenih zuba statistički značajno razlikuju tokom celog ispitivanog perioda u grupi aplikovanog sredstva za retrakciju gingive na bazi aluminijum hlorida, R1 ($p < 0.001$), sa velikim efektom ($\eta^2 = 0.3103$), dok ne postoji statistički značajna razlika koncentracije IgA tokom celog ispitivanog perioda između brušenih i nebrušenih zuba u R2 grupi. Ovo je evidentno i sa grafikona 11a.

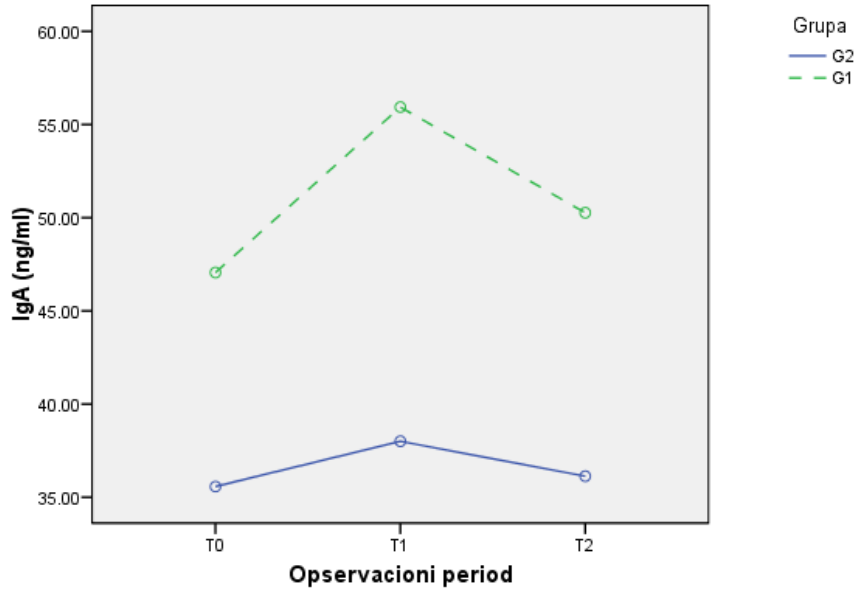
Tabela 29. Uticaj brušenja zuba na salivarnu koncentraciju IgA (ng/ml) tokom perioda ispitivanja nakon aplikacije retrakcionih sredstava.

			Efekti unutar grupe			Efekat između	Interakcija
			G1+G2	G1	G2	G1 i G2 (efekat	brušenje zuba
						brušenja)	× vreme
IgA	R1	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***
		Veličina efekta [¶]	0,5870	0,6458	0,7352	0,3103	0,5720
	R2	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,9814	0,1996
		Veličina efekta [¶]	0,7038	0,7038	0,7171	0,0956	0,0568

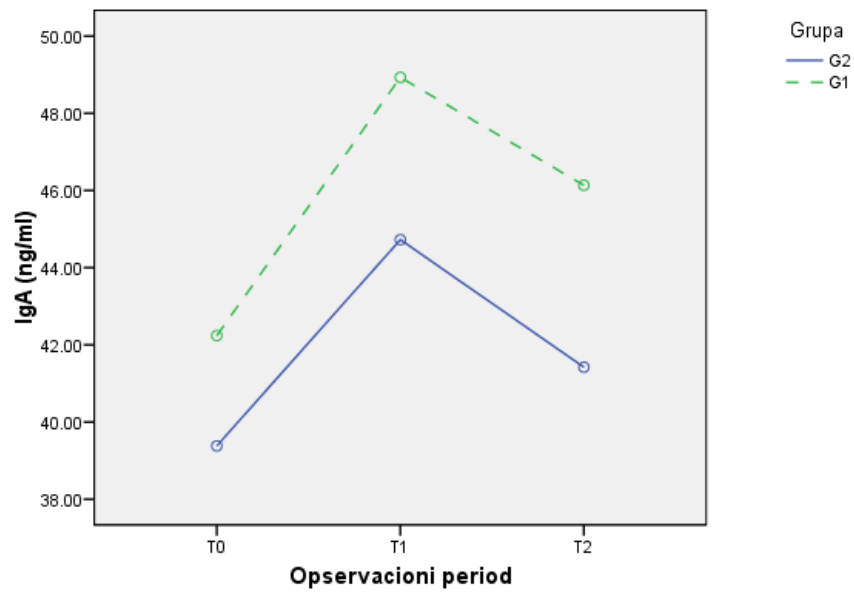
[¶] - Parcijalni eta kvadrat (η^2), *** – $p < 0,001$
RM ANOVA

Promene vrednosti IgA tokom ispitivanog perioda ne dešavaju se na statistički značajno različit način kod brušenih i nebrušenih zuba u grupi kod koje je primenjeno sredstvo za retrakciju gingive na bazi aluminijum hlorida ($p < 0.001$) sa velikim efektom brušenja ($\eta p^2 = 0.5720$), dok se u grupi sa retrakcionim sredstvom na bazi ferosulfata te promene odvijaju na veoma sličan nači i kod brušenih i nebrušenih zuba, što je uočljivo na grafikonu 11b.

Na osnovu podataka u tabeli 29 može se reći da je efekat sredstava za retrakciju na vrednosti IgA generalno izraženiji u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima.



(a)



(b)

Grafikon 11. Kretanje salivarne koncentracije IgA (ng/ml) tokom perioda ispitivanja u grupi brušenih (G1) i nebrušenih (G2) zuba nakon aplikovanja R1 (a) i R2 (b)

5.4.6. Uticaj brušenja zuba na promenu salivarne koncentracije MCP-1 nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure

Efekat brušenja zuba na salivarnu koncentraciju MCP-1 tokom perioda ispitivanja u R1 i R2 grupi, prema tipu aplikovanog sredstva za retrakciju gingive, prikazan je u tabeli 30, a na grafikonu 12 je prikazano kretanje koncentracije MCP-1 tokom celikupnog perioda ispitivanja.

Kod obe vrste retrakcionog sredstva, u okviru grupa R1 i R2, evidentan je statistički značajan porast koncentracije MCP-1 tokom ispitivanog perioda ($p < 0.001$) i za brušene (G1) i za nebrušene zube (G2). Statistički istog nivoa značajan je porast koncentracije MCP-1 u grupama R1 i R2 i generalno, bez obzira na prisustvo brušenja. Dokazani su veliki efekti na koncentraciju MCP-1 kod brušenih ($\eta^2 = 0.6782$ u R1, $\eta^2 = 0.7425$ u R2), ali i kod nebrušenih zuba ($\eta^2 = 0.8713$ u R1 i $\eta^2 = 0.6393$ u R2).

Na osnovu vrednosti parcijalnog eta kvadrata može se reći da je kod brušenih zuba veći efekat na promene koncentracije MCP-1 u grupi R2, a kod nebrušenih u grupi R1. Generalno gledano, bez obzira na prisustvo brušenja zuba, veliki je efekat na MCP-1 dokazan u R1 i R2 ($\eta^2 = 0.8032$ u R1 i $\eta^2 = 0.6730$ u R2).

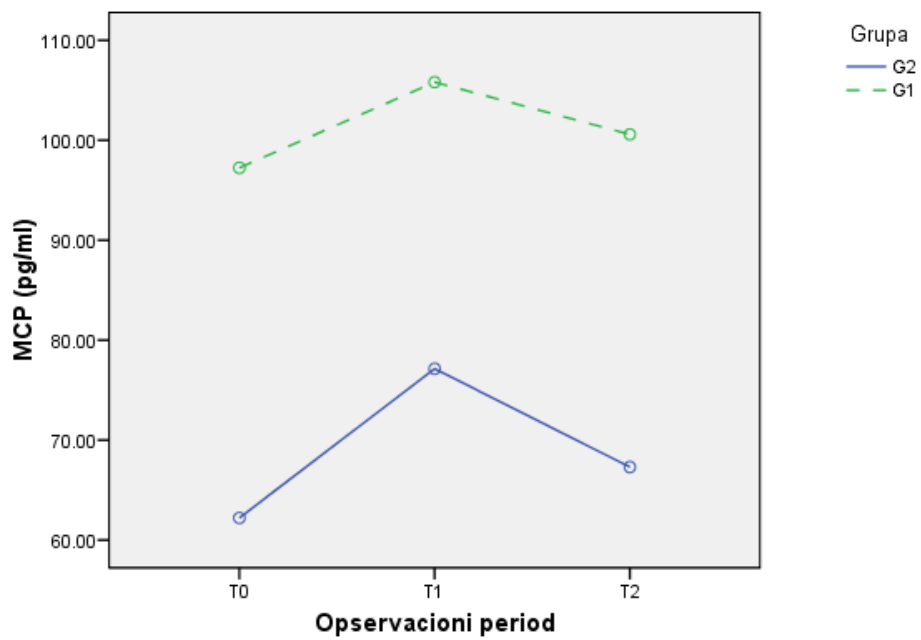
Tabela 30. Uticaj brušenja zuba na salivarnu koncentraciju MCP-1 (pg/ml) tokom perioda ispitivanja nakon aplikacije retrakcionih sredstava.

			Efekti unutar grupe			Efekat između	Interakcija
			G1+G2	G1	G2	G1 i G2 (efekat brušenja)	brušenje zuba × vreme
MCP	R1	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	0,0008***
		Veličina efekta [†]	0,8032	0,6782	0,8713	0,8302	0,2369
	R2	<i>p</i>	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***	<0,001***
		Veličina efekta [†]	0,6730	0,7425	0,6393	0,9040	0,4166

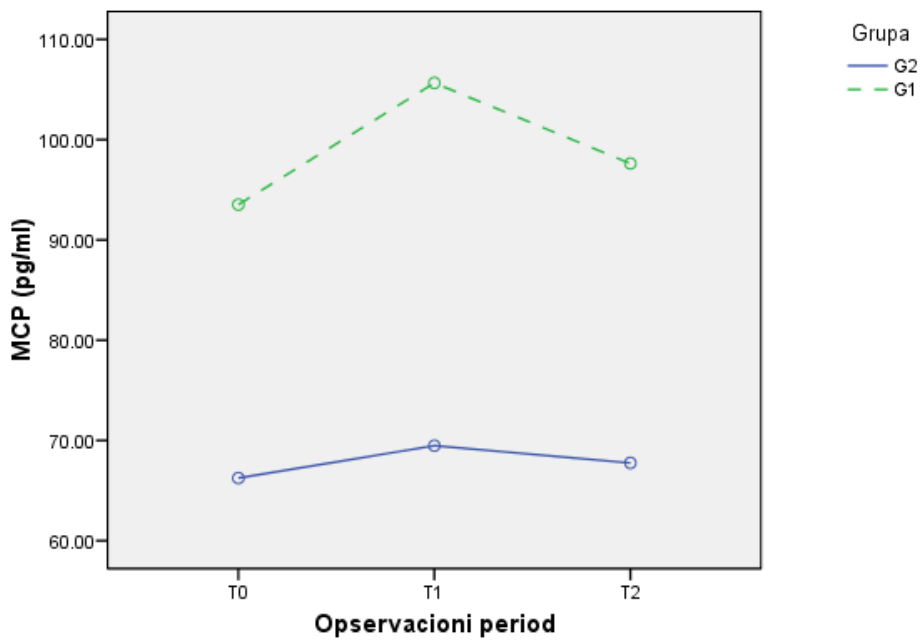
[†]-Parcijalni eta kvadrat (η^2), *** – $p < 0,001$
RM ANOVA

Testiranjem efekata između G1 i G2 (efekta brušenja) ustanovljeno je da se grupe statistički značajno razlikuju po vrednostima MCP-1 ($p < 0.001$) tokom celog perioda ispitivanja, sa velikim efektom brušenja zuba u R1 ($\eta^2 = 0.8302$) i još većim u R2 grupi ($\eta^2 = 0.9040$).

Promene vrednosti MCP-1 tokom ispitivanog perioda u G1 i G2 takođe se dešavaju na statistički značajno različit način ($p < 0.001$) uz veliki efekat brušenja ($\eta^2 = 0.2369$ u R1, odnosno $\eta^2 = 0.4166$ u R2 grupi). Ovo je takođe evidentno sa grafikona 12.



(a)



(b)

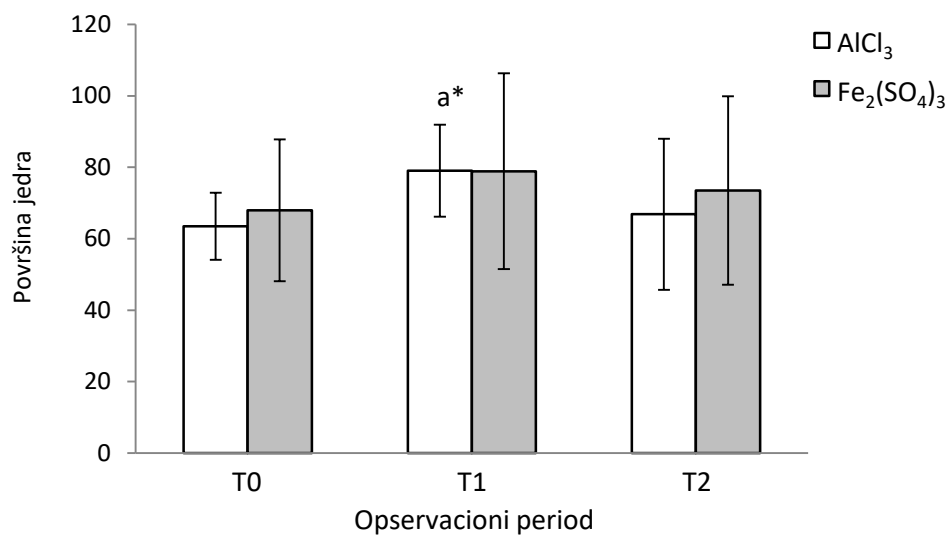
Grafikon 12. Kretanje salivarne koncentracije MCP-1 (pg/ml) tokom perioda ispitivanja u grupi brušenih (G1) i nebrušenih (G2) zuba nakon aplikovanja R1 (a) i R2 (b).

5.5.REZULTATI MORFOMETRIJSKIH ISPITIVANJA U ISPITIVANIM GRUPAMA U ZAVISNOSTI OD VRSTE APLIKOVANOG SREDSTVA ZA RETRAKCIJU GINGIVE TOKOM RAZLIČITIH OPSERVACIONIH PERIODA

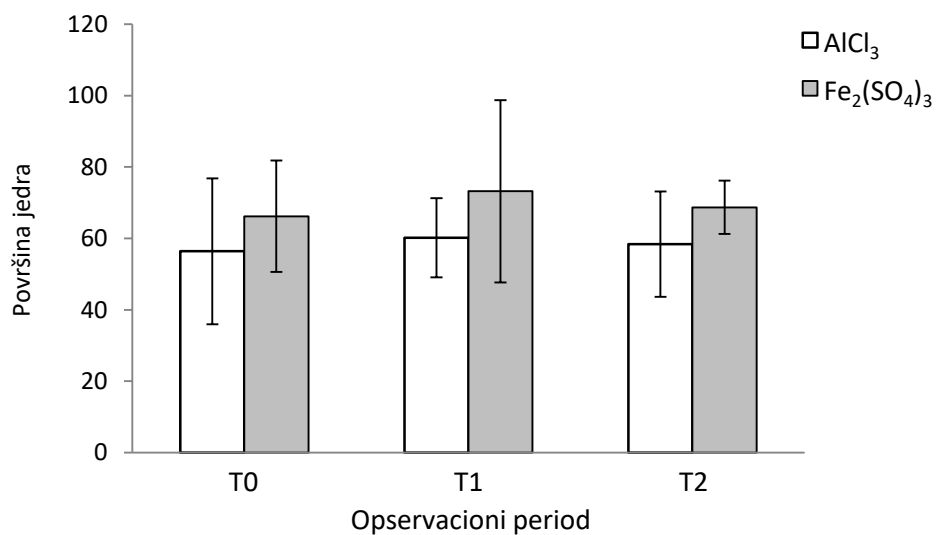
5.5.1. Površina jedra

Vrednosti površine jedra u obe eksperimentalne grupe tokom perioda ispitivanja, a u zavisnosti od vrste retrakcionog sredstva, date su na grafikonu 13. Uočava se da je 24h od primene sredstva za retrakciju gingive u obe ispitivane grupe, bez obzira na tip retrakcionog sredstva, poredeći sa vrednostima na početku ispitivanja, došlo do povećavanja površine jedra, da bi posle 72h došlo do smanjenja u odnosu na drugi opservacioni period. Studentovim *t*-testom uparenih uzoraka statistički značajna razlika utvrđena je samo u grupi sa brušenim zubima i retrakcionim sredstvom aluminijum hlorid između perioda T0 i T1 ($p < 0,05$).

Analizom varijanse za ponovljena merenja nisu ustanovljene razlike ovog parametra između grupa sa različitim retrakcionim sredstvima tokom celog perioda ispitivanja. Takođe, unutar grupa vrednosti ovog parametra nisu se značajno promenile, a promene se ne dešavaju na statistički značajno različit način u odnosu na primenjeno retrakciono sredstvo.



(a)



(b)

Grafikon 13. Kretanje vrednosti površine jedra tokom perioda ispitivanja u G1 (a) i G2 (b) grupi ispitanika, u odnosu na korišćeno sredstvo za retrakciju gingive.

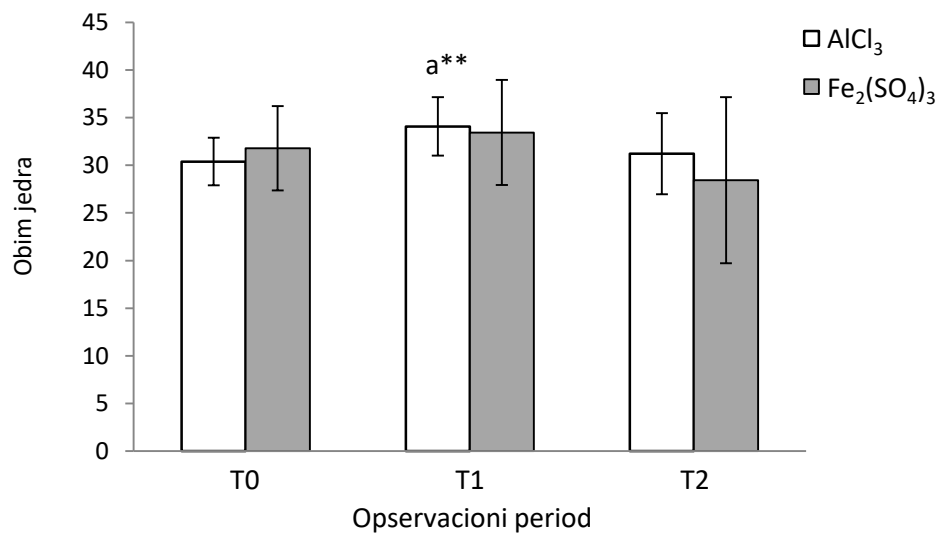
* – $p < 0.01$, a – vs T2 (Studentov t-test uparenih uzoraka).

5.5.2. Obim jedra

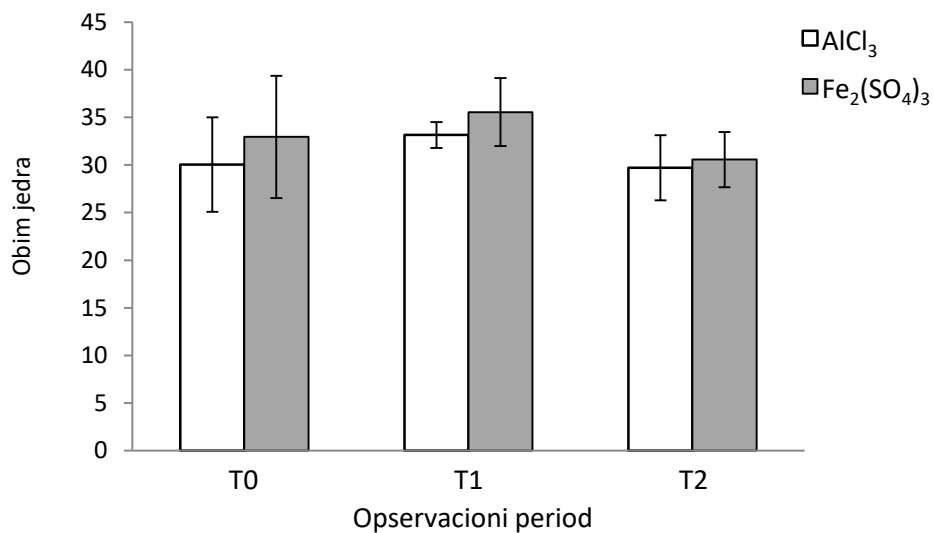
Jedan dan nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure u obe ispitivane grupe, bez obzira na tip retrakcionog sredstva, a u poređenju sa vrednostima na početku ispitivanja, došlo je do povećavanja obima jedra, koje je bilo statistički značajno veće u grupi sa brušenim zubima i pri korišćenju retrakcionog sredstva na bazi aluminijum hlorida ($p < 0,01$) (grafikon 14). Posle 72h došlo do smanjenja obima jedra u odnosu na drugi opservacioni period.

Analizom varijanse za ponovljena merenja nisu ustanovljene razlike ovog parametra između grupa sa različitim retrakcionim sredstvima tokom celog perioda ispitivanja. Takođe, unutar grupa vrednosti ovog parametra nisu se značajno promenile, a promene se ne dešavaju na statistički značajno različit način u odnosu na primenjeno retrakciono sredstvo.

Pri primeni rastvora aluminijum hlorida analizom varijanse za ponovljena merenja utvrđene su statistički značajne promene oblika jedra kod svih ispitanika tokom celokupnog perioda praćenja ($p < 0,05$).



(a)



(b)

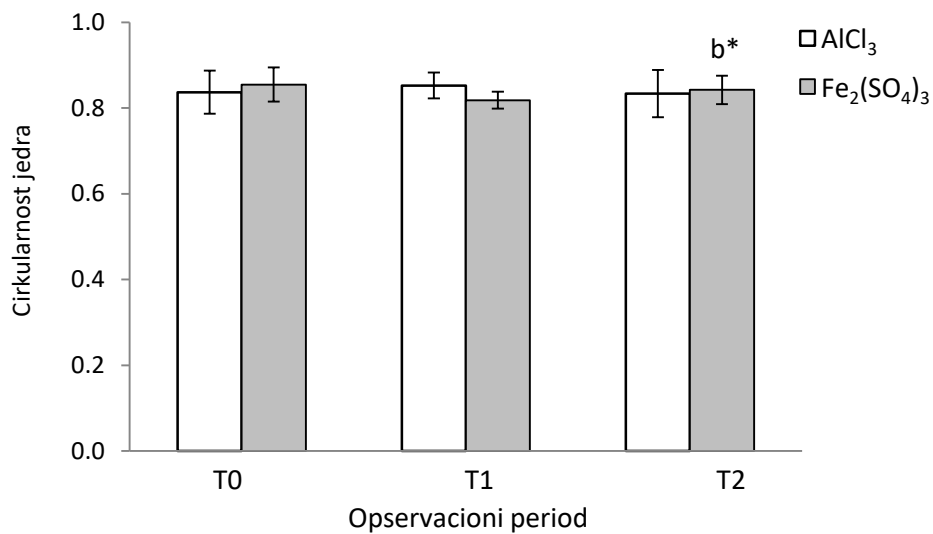
Grafikon 14. Kretanje vrednosti obima jedra tokom perioda ispitivanja u G1 (a) i G2 (b) grupi ispitanika, u odnosu na korišćeno sredstvo za retrakciju gingive.

** – $p < 0.01$, a – vs T0 (Studentov t-test uparenih uzoraka).

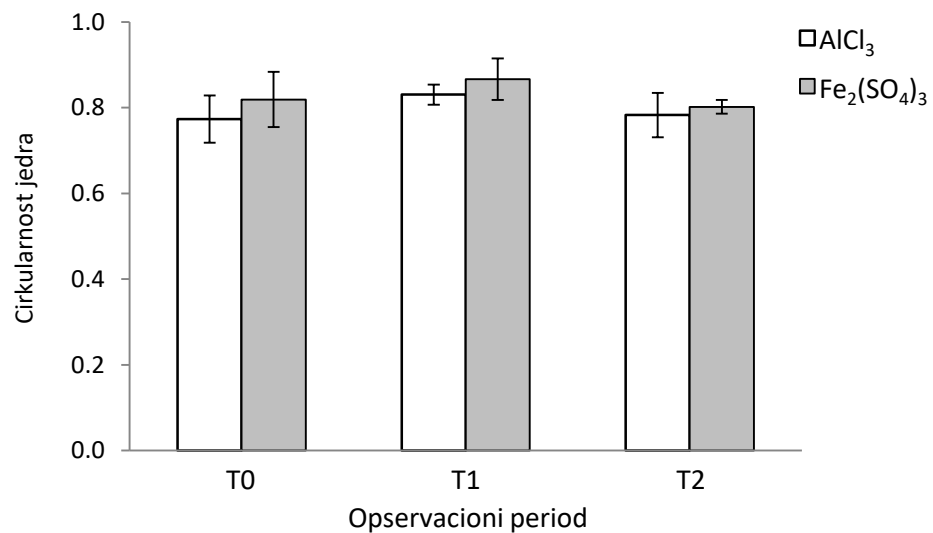
5.5.3. Cirkularnost jedra

Povećanje vrednosti cirkularnosti jedra uočeno je 24h nakon primene sredstva za retrakciju gingive, izuzev u grupi brušenih zuba kod kojih je korišćen ferisulfat. Nakon 72h došlo je do smanjenja cirkularnosti jedra u odnosu na drugi opservacioni period u svim slučajevima izuzev u već spomenutoj grupi gde je došlo do statistički značajnog povećanja ove vrednosti ($p < 0.05$) (grafikon 15).

Analizom varijanse za ponovljena merenja nisu ustanovljene razlike ovog parametra između grupa sa različitim retrakcionim sredstvima tokom celog perioda ispitivanja. Takođe, unutar grupa vrednosti ovog parametra se nisu značajno promenile, a promene se ne dešavaju na statistički značajno različit način u odnosu na primenjeno retrakciono sredstvo.



(a)



(b)

Grafikon 15. Kretanje vrednosti cirkularnosti jedra tokom perioda ispitivanja u G1 (a) i G2 (b) grupi ispitanika, u odnosu na korišćeno sredstvo za retrakciju gingive.

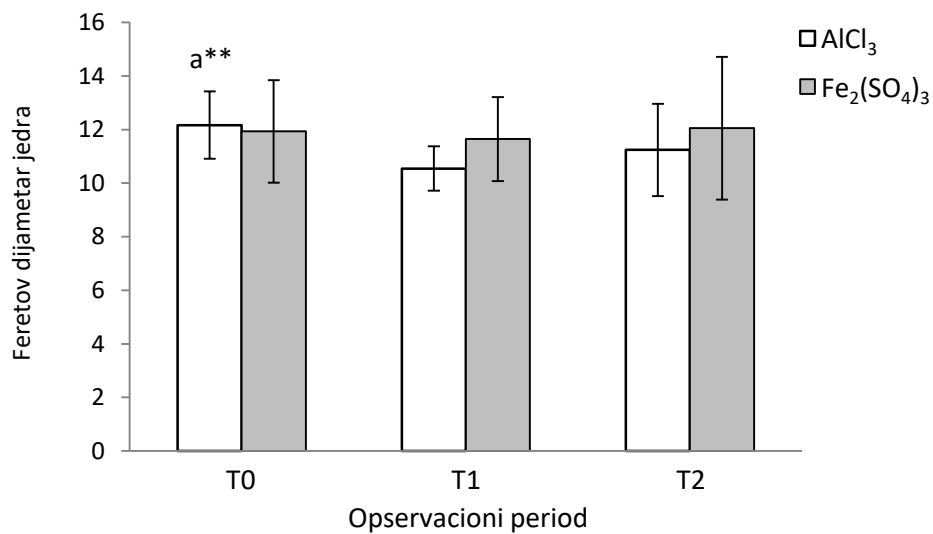
* – $p < 0.05$, b – vs T1 (Studentov t-test uparenih uzoraka).

5.5.4. Feretov dijametar

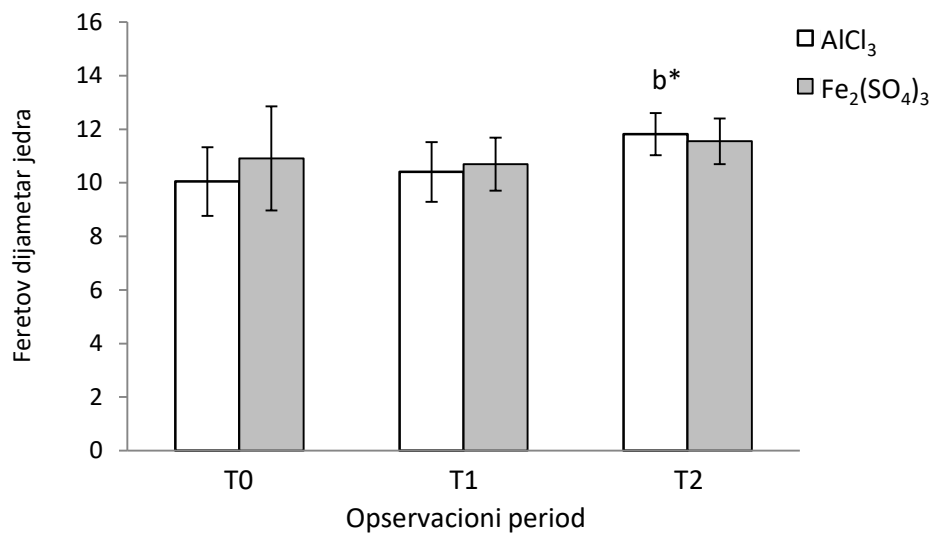
Feretov dijametar je posle 24h od primene sredstva za retrakciju gingive u odnosu na inicijalne vrednosti opao u grupi brušenih zuba sa oba tipa retrakcionih sredstava, s tim da je pad statistički značajan nakon primene rastvora aluminijum hlorida ($p < 0,01$). U grupi nebrušenih zuba sa retrakcionim sredstvom na bazi ferisulfata takođe je došlo do pada, dok je nakon primene aluminijum hlorida došlo do blagog porasta ovog parametra. Nakon 72h u odnosu na prethodni opservacioni period došlo je do porasta Feretovog dijametra u obe grupe, a porast je statistički značajan u grupi nebrušenih zuba sa retrakcionim sredstvom na bazi aluminijum hlorida ($p < 0,05$) (grafikon 16).

Analizom varijanse za ponovljena merenja nisu ustanovljene razlike ovog parametra između grupa sa različitim retrakcionim sredstvima tokom celog perioda ispitivanja. Takođe, unutar grupa vrednosti ovog parametra nisu se značajno promenile, a promene se ne dešavaju na statistički značajno različit način u odnosu na primenjeno retrakciono sredstvo.

Pri primeni rastvora aluminijum hlorida analizom varijanse za ponovljena merenja utvrđene su statistički značajne promene oblika jedra kod svih ispitanika tokom celokupnog perioda praćenja ($p < 0,05$), a one su se odvijale na statistički značajno različit način kod ispitanika G1 i G2.



(a)



(b)

Grafikon 16. Kretanje vrednosti Feretovog dijametra jedra tokom perioda ispitivanja u G1 (a) i G2 (b) grupi ispitanika, u odnosu na korišćeno sredstvo za retrakciju gingive.

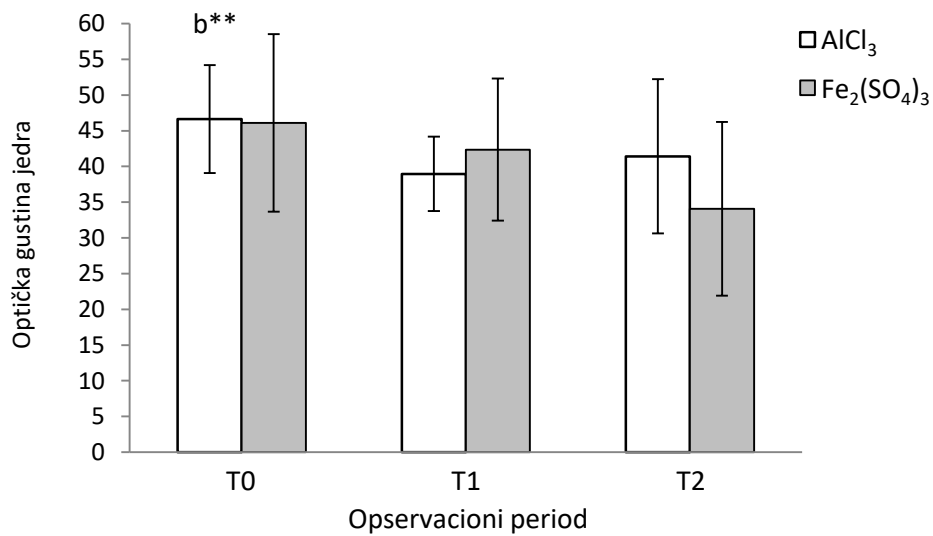
* – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, a – vs T0, b – vs T1 (Studentov t-test uparenih uzoraka).

5.5.5. Optička gustina jedra

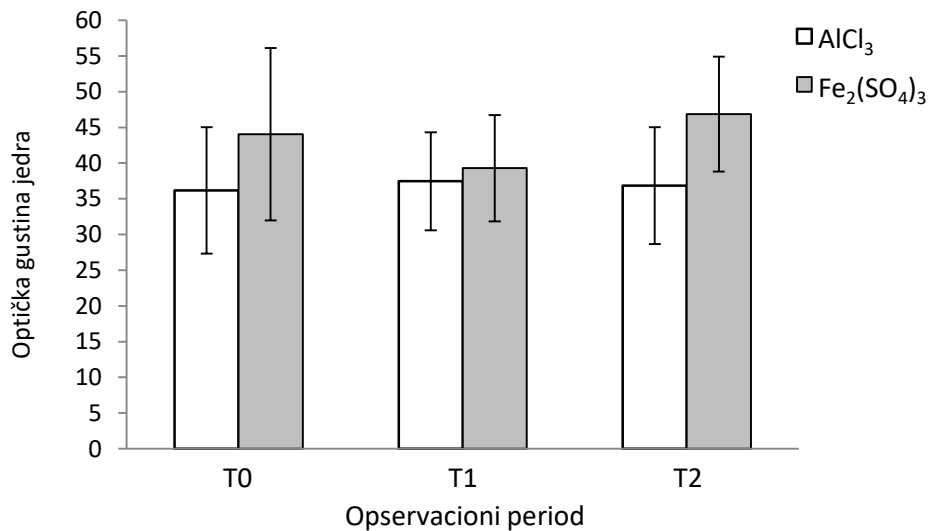
Jedan dan od primene sredstva za retrakciju gingive u grupi brušenih zuba došlo je do pada optičke gustine jedra, koje je bilo statistički značajno za retrakciono sredstvo na bazi aluminijum hlorida ($p < 0,01$). Nakon 72h, u poređenju sa prethodnim opservacionim periodima, došlo je do povećanja optičke gustine u podgrupi R1, dok je u podgrupi R2 došlo do daljeg pada ovog parametra.

U grupi nebrušenih zuba je nakon 24h u odnosu na inicijalne vrednosti došlo do porasta optičke gustine u podgrupi R1, a smanjenja u podgrupi R2. Nakon 72h vrednosti optičke gustine bile su bliske sa inicijalnim vrednostima (grafikon 17).

Analizom varijanse za ponovljena merenja nisu ustanovljene razlike ovog parametra između grupa sa različitim retrakcionim sredstvima tokom celog perioda ispitivanja. Takođe, unutar grupa vrednosti ovog parametra nisu se značajno promenile, a promene se nisu dešavale na statistički značajno različit način u odnosu na primenjeno retrakciono sredstvo.



(a)



(b)

Grafikon 17. Kretanje vrednosti optičke gustine jedra tokom perioda ispitivanja u G1 (a) i G2 (b) grupi ispitanika, u odnosu na korišćeno sredstvo za retrakciju gingive.

** – $p < 0.01$, b – vs T1 (Studentov t-test uparenih uzoraka).

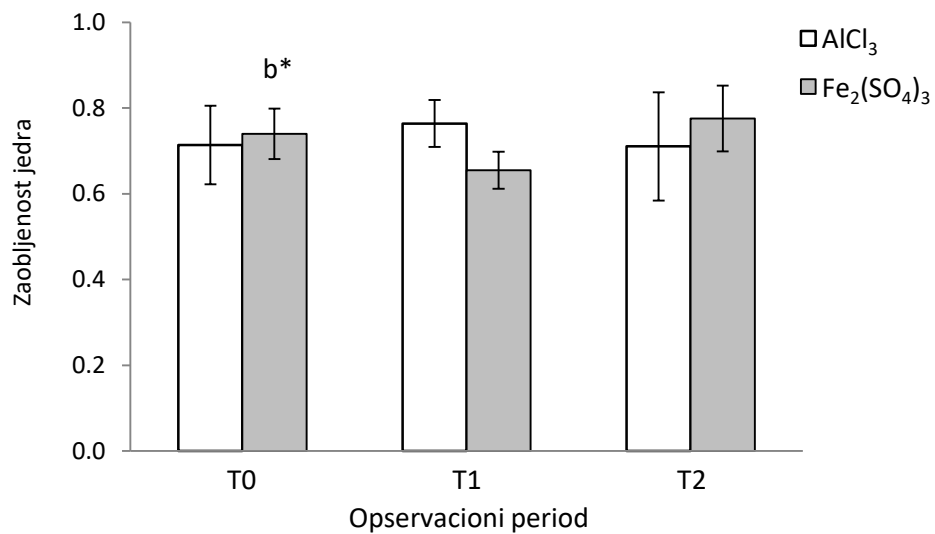
5.5.6. Zaobljenost jedra

U grupi brušenih zuba i podgrupi sa primenjenim retrakcionim sredstvom na bazi aluminijum hlorida nakon 24h došlo je do porasta zaobljenosti jedra u odnosu na inicijalnu vrednost, dok je u podgrupi R2 došlo do statistički značajnog smanjenja ovog parametra ($p < 0,05$). Nakon tri dana vrednosti zaobljenosti jedra približile su se inicijalnim vrednostima ovog parametra.

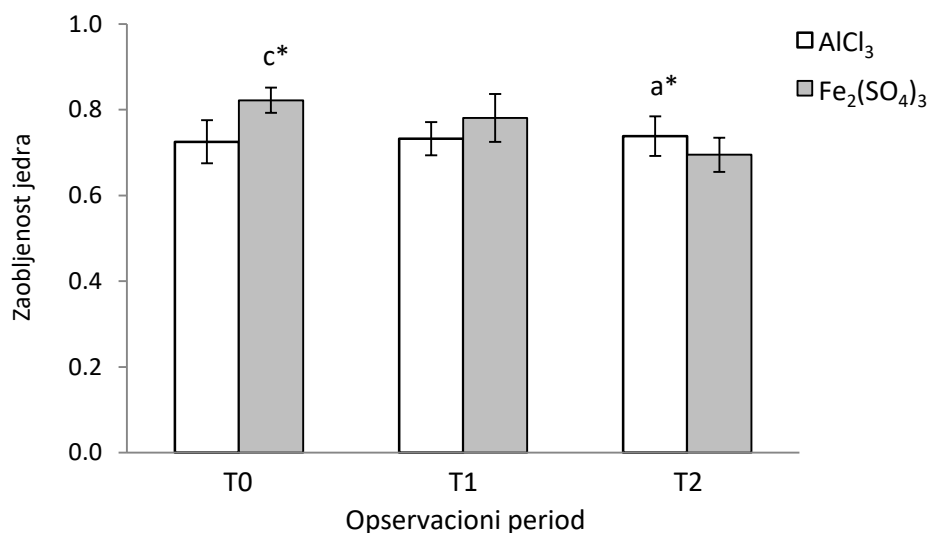
Jedan dan od retrakcione procedure u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima i podgrupi sa aluminijum hloridom, zaobljenost jedra je ostala na istom nivou kao inicijalna, da bi nakon 72h statistički značajno porasla u odnosu na početnu vrednost ($p < 0,01$). Nakon upotrebe ferisulfata zaobljenost jedra se smanjila u drugom i trećem opservacionom periodu u poređenju sa inicijalnom vrednošću. Zaobljenost jedra bila je statistički značajno niža nakon 72h u odnosu na početnu vrednost ($p < 0,05$) (grafikon 18).

Analizom varijanse za ponovljena merenja nisu ustanovljene razlike ovog parametra između grupa sa upotrebljenim različitim retrakcionim sredstvima tokom celog perioda ispitivanja. Takođe, unutar grupa vrednosti ovog parametra nisu se značajno promenile, ali su se te promene dešavale na različiti način u odnosu na primenjeno retrakciono sredstvo ($p < 0,05$) kod ispitanika sa brušenim i nebrušenim zubima.

Nakon upotrebe rastvora ferisulfata analizom varijanse za ponovljena merenja utvrđeno je da se zaobljenost jedra menjala na statistički značajno različit način u grupama G1 i G2 ($p < 0,01$), a razlike u ovom parametru između grupa ustanovljene tokom celog perioda ispitivanja.



(a)



(b)

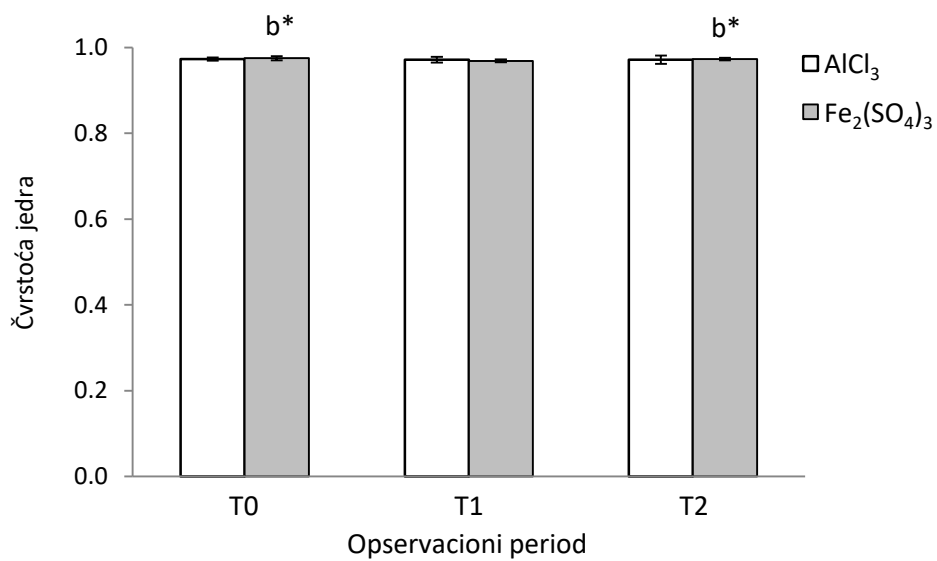
Grafikon 18. Kretanje vrednosti zaobljenosti jedra tokom perioda ispitivanja u G1 (a) i G2 (b) grupi ispitanika, u odnosu na korišćeno sredstvo za retrakciju gingive.

* – $p < 0.05$, a – vs T0, b – vs T1, c – vs T2 (Studentov t-test uparenih uzoraka).

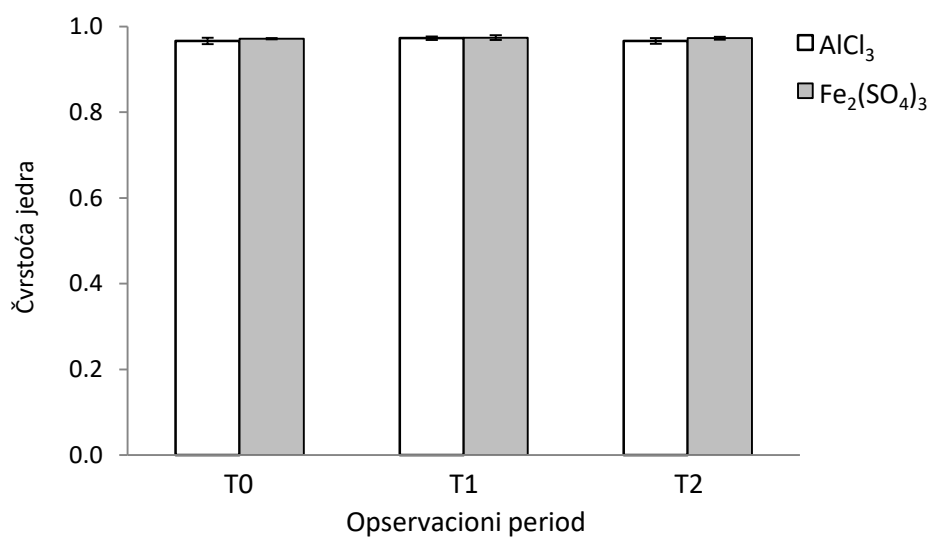
5.5.7. Čvrstoća jedra

U grupi ispitanika sa nebrušenim zubima nisu ustanovljene statistički značajne promene čvrstoće jedra, kao i u grupi ispitanika sa brušenim zubima i aluminijum hloridom kao retrakcionim sredstvom. U G1 čvrstoća jedra bila je statistički značajno manja nakon 24h u odnosu na inicijalnu i vrednost 72h nakon primene retrakcionog sredstva ($p < 0,05$) (grafikon 19).

Analizom varijanse za ponovljena merenja nisu ustanovljene razlike u čvrstoći jedra između grupa sa različitim retrakcionim sredstvima i tokom celog perioda ispitivanja. Takođe, unutar grupa vrednosti ovog parametra nisu se značajno promenile, a promene se nisu dešavale na statistički značajno različit način u odnosu na primenjeno retrakciono sredstvo.



(a)



(b)

Grafikon 19. Kretanje vrednosti čvrstoće jedra tokom perioda ispitivanja u G1 (a) i G2 (b) grupi ispitanika, u odnosu na korišćeno sredstvo za retrakciju gingive.

* – $p < 0.05$, b – vs T1 (Studentov t-test uparenih uzoraka).

6. DISKUSIJA

6.1. PROMENE INDEKSA ZA PROCENU STANJA GINGIVE NAKON HEMIJSKO - MEHANIČKE RETRAKCIONE PROCEDURE

Parodontalna oboljenja imaju hronični inflamatorni karakter i nastaju kao odgovor na prisutne patogene mikroorganizme. Njihov klinički tok uveliko zavisi od imunološkog odgovora domaćina. Oštećenja gingive nastala mehaničkim ili hemijskim putem praćena su eksudacijom i otokom i obezbeđuju pogodno tlo kako lakšem naseljavanju na već oštećenu podlogu, tako i prodoru brojnih oralnih mikroba u tkivo desni i dublje strukture parodonta. Beznačajna upala gingive, ukoliko nije na vreme dijagnostikovana i pravilno tretirana, može dovesti do destrukcije ostalih parodontalnih tkiva sa trajnim posledicama na oralno zdravlje, praćenih i gubitkom zuba (Harrison 1961, Woychesin 1964, de Gennaro 1982, Donaldson 2013).

Klinički tok oboljenja parodonta tesno zavisi od aktivacije imunološkog odgovora domaćina, pa je početak kao i intenzitet i tok bolesti kod pacijenata različit (Gupta 2013). Postojanje hroničnih i sistemskih oboljenja, kao i lokalnih promena na mekim tkivima usne duplje ili zubima, može umanjiti jačinu imunološkog odgovora pacijenta i time pospešiti nastanak parodontalnih oboljenja.

U istraživanju se pošlo od pretpostavke da široko primenjivana hemijsko - mehanička procedura retrakcije gingive u toku izrade fiksnih protetičkih nadoknada može oštetiti tretirana meka tkiva i izazvati akutnu inflamatornu reakciju gingive, što je dijagnostifikovano određivanjem gingivalnog indeksa i indeksa krvarenja. Analiza pomenutog jatrogenog oštećenja i preporuke koje su izašle iz istraživanja mogu smanjiti incidencu parodontalnih bolesti.

Klinička svrha hemijsko - mehaničke retrakcione procedure je eksponiranje područja granice preparacije zuba (demarkacione linije) u slučajevima kada je ona smeštena u nivou, odnosno ispod ruba gingive (Tabassum 2017). Kombinacijom mehaničkog pritiska i hemijskog delovanja na tkivo gingive dobija se optimalno proširenje gingivalnog sulkusa i bolja kontrola sekrecije tečnosti u njemu, te se demarkaciona linija može precizno otisnuti. Time se garantuje kasnije tesno naleganje veštačke krunice na tkivo zuba uz maksimalno poštovanje integriteta

parodontalnog tkiva (Tosches 2009, Tarighi 2014). Postojanje marginalne pukotine, odnosno nedostatka intimnog kontakta između veštačke krunice i nebrušenog dela zuba, predilekciono je mesto za nakupljanje oralnog biofilma koji je uzrok karijesa i parodontalnih oboljenja. Sem toga, marginalna pukotina narušava i strukturalnu trajnost same zubne nadoknade, te smanjuje njen funkcionalni i protektivni kvalitet.

Hemijsko - mehanička procedura podrazumeva korišćenje retrakcionog konca natopljenog retrakcionom tečnošću (Albaker 2010). Uloga konca je mehanička kompresija tkiva i dislokacija gingive, kao i obezbeđivanje jednake koncentracije retrakcionog sredstva duž celog gingivalnog sulkusa (Jokstad 1999, Shannon 2002).

Debljina retrakcionog konca zavisi od dubine gingivalnog sulkusa (Abadziev 2009). Pravilan odabir debljine retrakcionog konca smanjuje mogućnost mehaničke traume gingive tokom retrakcionog postupka na najmanju moguću meru (Beier 2009) te je, u ovom istraživanju, obzirom na starosnu dob i odsustvo oštećenja potpornog aparata zuba ispitanika, korišćen konac malog promera (00). Upotrebljeni retrakcioni konac omogućio je uniformnost u izvođenju hemijsko - mehaničke metode retrakcije gingive, a moguća mehanička oštećenja gingive sveo na najmanju moguću meru.

Oštećenja mekih tkiva nastala tokom hemijsko - mehaničke retrakcione procedure se mnogo češće vezuju za retrakciono sredstvo. Kostić i sar. su istražujući efekat različitih retrakcionih sredstava na gingivi kunića i ukazali na značajno manji inflamatorni potencijal mehaničke u odnosu na hemijsko - mehaničku proceduru (Kostić 2014). Međutim, posmatrano sa kliničkog aspekta, korišćenje retrakcionog konca bez impregnacije hemijskim sredstvom daje slab i najčešće nedovoljan terapijski efekat (Kumbuloglu 2007).

Sredstvo za retrakciju gingive hemijskim efektom apikalno i lateralno potiskuje gingivalno tkivo istovremeno kontrolišući krvarenje i protok gingivalne tečnosti. Najčešće korišćena sredstva za retrakciju gingive jesu soli metala (aluminijuma, gvožđa, cinka) sa adstringentnim dejstvom (Nowakowska 2006, Poss 2002). Znatno ređe se koriste vazokonstriktori (adrenalin), a razlog njihovog postepenog isključivanja iz kliničke prakse su sistemski neželjeni efekti (Polat 2007, Hilley 1984, Csillag 2007, Bader 2002).

Literaturni podaci su pokazali da adstrigensna sredstva poseduju izvesnu agresivnost što može uzrokovati i trajnija oštećenja tkiva u toku retrakcione procedure (Jokstad 1999, Kopač 2002, Chandra 2016, Wang 2019).

Naime, mehanizam dejstva adstrigenasa je precipitacija proteina i inhibicija transkapilarnog kretanja plazma proteina (Fazekas 2002, Thomas 2011). Adstrigensna retrakciona sredstva smanjuju ćelijsku permeabilnost i isušuju gingivalno tkivo i tako dovode do njegove reverzibilne recesije. Precipitacija i denaturacija proteina mogu uzrokovati lokalno oštećenje tkiva (Bowley 1998, Polat 2007).

Istraživanje se je baziralo na ispitivanju mogućeg štetnog dejstva dva adstrigensna sredstva, na bazi aluminijum hlorida i ferisulfata, međusobno ih upoređujući. Dužina retrakcionog dejstva ispitivanih sredstava iznosila je pet minuta, obzirom da se radi o njihovoj aplikaciji u gingivalni sulkus jednog zuba. Predviđeno vreme bilo je dovoljno za kliničku manipulaciju plasiranja konca u sulkus i dejstvo na okolna tkiva do postizanja traženog efekta. U istraživanjima drugih autora ekspozicija gingive retrakcionom sredstvu iznosila je tri (Akca 2006), pet (Ruel 1980) i deset minuta (Shaw 1980, Kopač 2002). U istraživanju Kostića vreme ekspozicije ćelijske kulture sredstvu za retrakciju gingive bilo je direktno srazmerno njegovom citotoksičnom i citostatičkom efektu (Kostić 2015).

Aluminijum hlorid je najčešće korišćeni adstrigensni retrakcioni rastvor sa umerenim retrakcionim efektom. Koncentracije jedinjenja u retrakcionim rastvorima su različite i zavise od proizvođača. Dokazana je potencijalna toksičnost aluminijum hlorida u koncentracijama većim od 10% (Jokstad 1999, Kopač 2002, Felpel 1997). Kostić je pokazao značajno veći citostatički i citotoksični uticaj 25% rastvora u odnosu na 10% rastvor aluminijum hlorida, što je objasnio većom inicijalnom koncentracijom aktivne supstance (Kostić 2015). Kako se na tržištu nalaze različite koncentracije istog preparata, u istraživanju je korišten 25% rastvor aluminijum hlorida, tretirajući tkivo najkoncentrovanijim komercijalnim rastvorom.

U poređenju sa preparatima na bazi aluminijuma, ferisulfat ima slabiji retrakcioni efekat. Ferisulfat koaguliše krv, ali se često hemoragija ponovo javlja nakon uklanjanja konca, a otvaranje gingivalnog sulkusa je manje u poređenju sa solima aluminijuma (Kostić 2012). Paudel i sar. ne

preporučuju upotrebu ferisulfata u koncentracijama većim od 20% (Paudel 2011). U istraživanju je korišćen 15,5% rastvor ferisulfata.

Kopač i sar. i Lodetti i sar. su dokazali toksični efekat adstrigenasa u retrakcionim sredstvima na keratocitima (Kopač 2002, Lodetti 2004). Phatale i sar. su patohistološkom analizom dokazali blaga do umerena oštećenja tkiva nakon upotrebe retrakcionih sredstava na bazi aluminijum hlorida (Phatale 2010). Upoređujući dejstva različitih sredstava za retrakciju gingive, Akca i sar. navode da su oštećenja tkiva ferisulfatom značajno veća u komparaciji sa aluminijum hloridom (Akca 2006).

U istraživanju je učestvovalo 60 ispitanika, bez sistemskih i lokalnih oralnih oboljenja, uključujući i odsustvo zubnog karijesa. Ispitanici su bili oba pola, imali su dobru oralnu higijenu i nisu bili pušači. Na ovaj način izbegnuti su uticaji drugih oboljenja na gingivalno tkivo, a grupa je bila uniformna što je preduslov za dobijanje relevantnih rezultata. Kod polovine ispitanika bila je indikovana izrada jedne veštačke krunice, tako da je hemijsko - mehaničkoj retrakcionoj proceduri prethodilo brušenje zuba (ispitivana grupa G1). U ispitivanoj grupi G2 zubi nisu brušeni. Svaka od eksperimentalnih grupa podeljena je na dve podgrupe, prema vrsti sredstva za retrakciju gingive: R1 - rastvor aluminijum hlorida i R2 - rastvor ferisulfata. Ispitivani parametri određivani su pre hemijsko - mehaničke retrakcione procedure, kao i 24h i 72h nakon nje. Tako je, za svaki testirani parametar, svaki ispitanik sam sebi bio i kontrola komparacijom rezultata dobijenih pre i nakon hemijsko - mehaničke retrakcione metode.

U cilju dobijanja objektivnih zaključaka bilo je neophodno izabrati grupu ispitanika sa zdravim parodontom. Sa druge strane, sam uzrast predviđenih ispitanika empirijski je ukazivao na postojanje izvesnih promena na tkivima parodonta, uglavnom na gingivi. S tim u vezi izvršena je klinička opservacija ispitanika obe grupe i usledila parodontološka terapija. Pre retrakcione procedure kod svih ispitanika izmerene su vrednosti CPITN predviđenog za procenu stanja čitavog parodonta i eventualne potrebe za terapijom. Odsustvo inflamacije potpornog aparata zuba, kao i nepostojanje statistički značajnih razlika u vrednostima CPITN između grupa ispitanika je pružilo mogućnost iste polazne tačke za sve ispitanike uključene u istraživanje, odnosno nemogućnost da se dobijeni rezultati tumače u senci ranijih oštećenja parodonta. Sve promene na gingivalom tkivu ili u pljuvački ispitanika bile su rezultat dejstva hemijsko - mehaničke retrakcione procedure kod

brušenih i nebrušenih zuba. Pored toga, dizajn eksperimenta predvideo je i utvrđivanje indeksa za procenu stanja gingive (gingivalni indeks i indeks krvarenja gingive), a dobijeni rezultati ukazivali su na odsustvo zapaljenja i oštećenja tkiva desni pre početka retrakcione procedure i brušenja zuba.

Rezultati su pokazali da je 24h od primene sredstva za retrakciju gingive u obe ispitivane grupe, u komparaciji sa vrednostima na početku ispitivanja, došlo do statistički značajnog povećavanja vrednosti oba gingivalna indeksa ($p < 0.001$). Posle 72h vrednosti su bile niže u odnosu na drugi opservacioni period, ali ipak i dalje statistički značajno više u odnosu na početak ispitivanja ($p < 0,001$).

Može se zaključiti da su vrednosti gingivalnog indeksa (GI) veće u grupi pacijenata sa brušenim zubima (G1), te one iznose $2,37 \pm 0,52$ za sredstvo na bazi aluminijum hlorida i $2,30 \pm 0,65$ za sredstvo na bazi ferisulfata jedan dan nakon retrakcione procedure. Dobijene vrednosti gingivalnog indeksa ukazivale su na umerenu inflamaciju gingive koja je klinički bila praćena crvenilom, edemom i blagim krvarenjem u toku sondiranja sulkusa. Kliničke promene bile su manje izražene trećeg dana od retrakcione procedure i iznosile su $1,27 \pm 0,59$ (aluminijum hlorid) i $1,57 \pm 0,56$ (ferisulfat). Gingiva je bila blago inflamirana, uz neznatnu promenu boje i jedva prisutni edem, sa sporadičnim krvarenjem pri sondiranju. Mogu se uočiti slične numeričke vrednosti GI, bez obzira na vrstu upotrebljenog retrakcionog sredstva.

Vrednosti GI su niže u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima (G2): 1.13 ± 0.52 (T1) i 0.43 ± 0.42 (T2) u podgrupi sa retrakcionim sredstvom na bazi aluminijum hlorida, odnosno 1.83 ± 0.49 (T1) i 1.00 ± 0.38 (T2) u grupi sa primenjenim ferisulfatom. Dobijene vrednosti gingivalnog indeksa ukazuju na blagu inflamaciju gingive, do potpunog gubitka zapaljenja tri dana nakon upotrebe rastvora aluminijum hlorida. Uočeno je da su u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima numeričke vrednosti GI veće kod sredstva na bazi ferisulfata, kao i da se kretanje ispitivanog parametra u celokupnom periodu posmatranja vrši na statistički signifikantno različit način u zavisnosti od upotrebljenog retrakcionog sredstva.

Vrednost GI je statistički značajno rasla tokom celokupnog perioda ispitivanja ($p < 0.001$). Uočeni su veliki efekti primenjenih retrakcionih sredstava na vrednost ovog indeksa unutar podgrupa, kao i u okviru celih ispitivanih grupa. Što se tiče uticaja vrste upotrebljenog retrakcionog sredstva na vrednost GI, jedino je u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima dokazan

veći efekat sredstva na bazi ferisultata na promenu vrednosti GI ($\eta^2 = 0.8732$). U grupi G1 nije dokazan statistički signifikantan uticaj vrste retrakcionog sredstva na promenu vrednosti GI.

Posmatrajući dobijene srednje vrednosti može su uočiti da je inflamatorni efekat oba retrakciona sredstva izraženiji u grupi sa brušenim zubima. Sama tehnika brušenja zuba sa subgingivalnom demarkacijom može da ošteti gingivu i uzrokuje njenu inflamaciju (Bowley 1998, Paniz 2016, Paniz 2017). Upoređivanjem rezultata GI u grupi brušenih i nebrušenih zuba pokazan je pozitivni efekat brušenja zuba na porast vrednosti GI.

Testiranjem efekata na vrednost GI između grupe ispitanika sa brušenim i nebrušenim zubima ustanovljeno je da se one statistički značajno razlikuju po vrednostima ovog parametra tokom celog perioda ispitivanja ($p < 0.001$), sa velikim efektom i u R1 i R2 podgrupi, s tim da je efekat znatno veći u R1. Izmerene vrednosti parametra su, očekivano, bile manje u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima. Promene vrednosti GI tokom ispitivanog perioda u grupama G1 i G2 dešavale su se na statistički značajno različit način ($p < 0.001$) u podgrupi R1, dok ta razlika nije postojala u podgrupi R2.

Analogna situacija javila se i pri utvrđivanju srednjih vrednosti i standardnih devijacija Ikr pre i nakon retrakcione procedure. Vrednosti ispitivanog indeksa bile su numerički veće u grupi ispitanika sa brušenim zubima, i iznosile 1.80 ± 0.56 za drugi i 1.00 ± 0.38 za treći opservacioni period prilikom upotrebe rastvora aluminijum hlorida, kao i 2.33 ± 0.24 (T1) i 1.57 ± 0.62 (T2) kod upotrebe rastvora ferisulfata. Klinički su se promene na gingivi manifestovale kao tačkasto krvarenje u toku ili nakon sondiranja.

Vrednosti indeksa krvarenja u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima bile su niže i iznosile su 1.30 ± 0.37 (R1) i 1.63 ± 0.61 (R2) za prvi, odnosno 0.57 ± 0.53 (R1) i 0.77 ± 0.59 (R2) za drugi opservacioni period. Neznatno krvarenje iz gingivalnog sulkusa jedan dan nakon aplikacije retrakcionog konca potpuno je izostalo nakon 72 časa, ukazujući na reverzibilnost nastalih promena. Slično rezultatima menjanja vrednosti GI u datim opservacionim periodima, u obe ispitivane grupe uočene su veće vrednosti indeksa krvarenja gingive nakon korišćenja sredstva na bazi ferisulfata.

Unutar obe ispitivane grupe, utvrđen je statistički značajan porast vrednosti Ikr tokom celokupnog ispitivanog perioda ($p < 0.001$). Efekti aplikovanih sredstava za retrakciju gingive na vrednost Ikr bili su veoma veliki, sa dominacijom kod primene sredstva za retrakciju gingive na bazi aluminijum hlorida u grupi ispitanika sa brušenim zubima. Testiranje efekata između podgrupa je pokazalo da se one statistički značajno nisu razlikovale tokom celokupnog perioda praćenja. Promene vrednosti Ikr tokom perioda ispitivanja dešavale su se na sličan način u obe grupe ispitanika, a u grupi G1 na gotovo identičan način.

Vrednosti Ikr su se statistički značajno razlikovale ($p < 0.05$) tokom celog perioda ispitivanja samo pri korišćenju retrakcionih sredstava na bazi ferisulfata, sa velikim efektom brušenja zuba, dok u grupi gde je korišćen aluminijum hlorid statistički značajna razlika nije postojala. Promene vrednosti Ikr tokom ispitivanog perioda dešavale su se na statistički značajno različit način u svim grupama, ali je ta razlika izraženija pri primeni sredstava za retrakciju gingive na bazi aluminijum hlorida.

Rezultati istraživanja ukazali su na reverzibilno oštećenje gingivalnog tkiva nakon lokalne aplikacije sredstava na bazi aluminijum hlorida i ferisulfata. Imajući u vidu odlične regenerativne sposobnosti gingivalnog tkiva (Bosshardt 2005), očekivano je ozdravljenje tkiva nakon nekoliko dana, što je i potvrđeno vrednostima indeksa u trećem opservacionom periodu. Do istih zaključaka došli su i Feng i sar. u svojoj pilot studiji, gde su dokazali veće vrednosti GI jedan dan nakon retrakcione procedure, kao i smanjenje indeksa trećeg dana nakon intervencije sa potpunim ozdravljenjem nakon dvonedeljnog perioda (Feng 2006).

Posmatranjem promena na gingivalnom tkivu ispitanika nakon retrakcione procedure i određivanjem predviđenih indeksa uočena je blaga do umerena akutna inflamatorna reakcija gingivalnog tkiva jedan dan nakon aplikacije sredstva za retrakciju gingive. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa nalazima Phatale i sar. koji su takođe utvrdili blagu do umerenu inflamaciju tkiva gingive nakon upotrebe aluminijum hlorida, bez degeneracije i nekroze tkiva (Phatale 2010). Chandra i sar. su dokazali porast vrednosti GI i Ikr nakon retrakcionih procedura, dajući prednost hemijskoj u odnosu na hemijsko - mehaničku retrakcionu proceduru (Chandra 2016). Cimasoni i sar. su pokazali porast zapremine gingivalne tečnosti srazmerno povećanju vrednosti gingivalnih indeksa (Cimasoni 1983).

Nešto veće vrednosti oba ispitivana indeksa uočene su nakon brušenja zuba, što ukazuje na izvesnu mehaničku povredu tkiva koja može da pospeši inflamatorno dejstvo sredstva za retrakciju gingive (Hatch 1984, Felpel 1997).

Veliki broj autora bavio se istraživanjem štetnog uticaja adstrigensnih retrakcionih sredstava na animalnim modelima u predviđenim vremenskim intervalima, a njihovi zaključci su u saglasnosti sa rezultatima dobijenim ovim istraživanjem i ukazuju na reverzibilnost promena nastalih na gingivalnom tkivu (Harrison 1961, Woycheshin 1964, Shaw 1980, Kopač 2002, Kostić 2014). Istraživanje Akca i sar. dokazalo je potpuno ozdravljenje gingivalnog tkiva pasa nakon aplikacije rastvora aluminijum hlorida (Akca 2006). Slično tome, Ahmadzadeh i sar. su ukazali na potpuno ozdravljenje gingivalnog tkiva pasa sedam dana nakon upotrebe retrakcionog sredstva na bazi ferisulfata (Ahmadzadeh 2014).

Reverzibilnost nastalih promena nakon hemijsko - mehaničke retrakcione procedure ukazuje na potencijalno malu verovatnoću da zbog hemijsko - mehaničke retrakcije gingive dođe do trajnijeg oštećenja parodontalnog tkiva, što je potkrepljeno i nalazima drugih autora. Ova studija rađena je na ljudima, na posebno odabranoj homogenoj grupi ispitanika što je čini posebnom u dosadašnjoj literaturi. Optimistični karakter prezentovanih rezultata mogao bi se potkrepiti dužim intervalom ispitivanja koji bi verovatno rezultovao potpunim ozdravljenjem gingive, najmanjim predviđenim vrednostima indeksa za ocenu stanja gingive i odsustvom njene recesije.

6.2.PROMENE PROINFLAMATORNIH CITOKINA NAKON HEMIJSKO - MEHANIČKE RETRAKCIONE PROCEDURE

Komponente permanentno prisutnog oralnog biofilma imaju kapacitet da aktiviraju lokalni imunološki odgovor, koji uključuje i stvaranje inicijalnog infiltrata inflamatornih ćelija sastavljenog od limfocita, makrofaga i polimorfonuklearnih leukocita (Korman 2000). Reakcija ćelija infiltrata kao i ćelija lokalnih tkiva (fibroblasta i endotelnih ćelija) na prisutno oštećenje i produkte bakterija jeste sinteza širokog spektra proinflamatornih medijatora, odnosno citokina (Gupta 2013, Keles 2014, Pradeep 2009). Citokini se mogu definisati kao proteini važni za

pokretanje i održavanje zapaljenskih i imunoloških odgovora (Keles 2014). Posmatrano sa stanovišta oralne medicine, citokini su povezani sa destrukcijom parodontalnih tkiva, indukcijom proteinaza i razgradnjom kosti (Gemmel 1997).

Regulaciju imunskog odgovora sem sekrecije proinflammatoryh vrši i proizvodnja antiinflammatoryh citokina (Mosmann 1996). Ovi solubilni proteini se vezuju za specifične receptore target ćelija, inicirajući ili inhibirajući intracelularnu reakciju (Hughes 1995). Citokini tako imaju i „protektivno“ dejstvo u sprečavanju destrukcije tkiva, ukoliko su sintetisani u pravo vreme i na pravom mestu (Gemmel 2000). Stoga citokine možemo posmatrati i kao zajednički imenitelj niza procesa koji se svakodnevno odvijaju u organizmu preteći da poremete homeostazu tkiva.

Inflammatory odgovor gingive ispitanika praćen je merenjem koncentracije salivarnih proinflammatoryh citokina (IL-6, TNF α , IgA i MCP1), čije je lučenje posledica inicijacije zapaljenja nakon aplikacije sredstava za retrakciju gingive u grupi ispitanika sa brušenim i nebrušenim zubima.

Aplikacija konaca impregniranih retrakcionim sredstvom dovela je do povećanja koncentracije svih određivanih proinflammatoryh citokina kod ispitanika obe eksperimentalne grupe, što je u pozitivnoj korelaciji sa rezultatima praćenja kliničkih parametara. Jedan dan nakon retrakcione procedure, u obe ispitivane grupe, došlo je do statistički značajnog povećanja vrednosti sva četiri testirana parametra ($p < 0,001$) u odnosu na vrednosti pre aplikacije retrakcionog sredstva. Nakon 72h, koncentracije ispitivanih citokina u pljuvački su se smanjile u odnosu na drugi opservacioni period, ali su one i dalje bile statistički značajno više nego pre aplikacije sredstva za retrakciju gingive ($p < 0,001$). Dobijeni rezultati su jasno ukazali na inflammatory efekat hemijsko - mehaničke retrakcione procedure, bez obzira na vrstu upotrebljenog retrakcionog sredstva, obzirom da je došlo da statistički signifikantnog povećanja koncentracije sva četiri markera inflamacije u pljuvački obe grupe ispitanika već prvog dana nakon intervencije.

Istraživanje je obuhvatilo i određivanje salivarne koncentracije IL-6 koji predstavlja multifunkcionalni proinflammatory citokin sintetisan kao odgovor na oštećenje tkiva i prisutnu infekciju. IL-6 ima širok spektar bioloških aktivnosti uključujući proizvodnju antitela, aktiviranje T ćelija, diferencijaciju B limfocita i aktivaciju osteoklasta (Hirano 1988, Akira 1990, Kurtis

1999). IL-6 stimuliše DNK sintezu i inhibira produkciju kolagenih i nekolagenih proteina od strane osteoblasta, te ima direktnu ulogu u regulaciji formiranja kosti (Kurtis 1999). Sem toga, IL-6 je glavni regulator sinteze proteina akutne faze. Stoga se determinacija količine IL-6 u pljuvački može koristiti u dijagnostičke i terapijske svrhe kod oboljenja usne duplje (Mozaferi 2018).

Dobijeni rezultati su pokazali da se koncentracija IL-6 u pljuvački u grupi ispitanika sa brušenim zubima značajno povećava jedan dan nakon retrakcione procedure, u odnosu na izmerene vrednosti na početku ispitivanog perioda. Te vrednosti su iznosile 12.96 ± 1.99 za sredstvo na bazi aluminijum hlorida, odnosno 12.50 ± 1.84 za sredstvo na bazi ferisulfata. Dobijene salivarne koncentracije IL-6 su bile gotovo identične, za oba ispitivana retrakciona sredstva. Tri dana od aplikacije agensa za retrakciju gingive došlo je do pada salivarnih vrednosti IL-6, mada su one i dalje bile statistički značajno veće nego na početku ispitivanja. Veće vrednosti IL-6, u trećem opservacionom periodu, detektovane su nakon upotrebe ferisulfata kao retrakcionog sredstva.

U grupi ispitanika sa nebrušenim zubima dobijene su niže vrednosti salivarne koncentracije IL-6 u odnosu na ispitanike sa brušenim zubima. Uočeno je statistički značajno povećanje dobijenih koncentracija u odnosu na vrednosti pre retrakcione procedure u drugom (R1 i R2), odnosno trećem opservacionom periodu (R1 i R2). Posmatranjem dobijenih rezultata može se primetiti da su numeričke vrednosti salivarne koncentracije IL-6 približno iste za oba retrakciona sredstva i u obe ispitivane grupe.

Unutar obe grupe ispitanika evidentiran je statistički značajan porast koncentracije IL-6 ($p < 0,001$) u toku celokupnog ispitivanog perioda sa velikim efektom primenjenog retrakcionog sredstva, kako kod ispitanika u grupi, tako i unutar podgrupa formiranih u odnosu na vrstu korišćenog retrakcionog preparata.

Testiranjem uticaja vrste upotrebljenog retrakcionog sredstva na salivarnu koncentraciju IL-6 nije ustanovljeno da se podgrupe statistički značajno razlikuju tokom celog ispitivanog perioda. Uopšteno posmatrano, značajniji uticaj vrste retrakcionog sredstva na koncentraciju IL-6 se zapaža u grupi sa brušenim (G1) nego u grupi sa nebrušenim zubima (G2).

Rezultati su u saglasnosti sa rezultatima drugih autora koji su dokazali povećanje koncentracije IL-6 kod pacijenata sa oštećenjem parodonta. Nalazi Fujihashi i sar., kao i Takahashi i sar. ukazali su na povećane nivoe iRNK specifične za IL-6 u mononuklearnim ćelijama gingive i u gingivalnoj tečnosti kod pacijenata sa parodontopatijom (Fujihashi 1993, Takahashi 1994). Do zaključka da je koncentracija IL-6 u serumu, pljuvački i gingivalnoj tečnosti veća kod pacijenata sa parodontopatijom u odnosu na zdravu kontrolu došli su i Geivelis i sar., Costa i sar. i Shimada i sar. (Geivelis 1993, Costa 2010, Shimada 2010). Ulogu IL-6 u patogenezi inflamatornih promena na gingivi i parodontu potvrđuju i rezultati više grupa istraživača da se koncentracija ovog citokina u ispitivanim uzorcima značajno smanjivala nakon sprovedene terapije (D'Aiuto 2004, D'Aiuto 2005, Shimada 2010). Kobayashi i sar. su utvrdili da je inhibicija receptora IL-6 dala pozitivan efekat na ozdravljenje pacijenata obolelih od parodontopatije i reumatoidnog artritisa (Kobayashi 2014). Ista grupa autora je objavljenim rezultatima sugerisala da sistemska i lokalna prekomerna proizvodnja IL-6 može imati značajnu ulogu u razvoju parodontalnih oboljenja (Kobayashi 2016).

TNF α je važan posrednik u zapaljenskim procesima, autoimunim oboljenjima i alergijskim reakcijama (Yucel 2015). Ovaj proinflamatorni citokin je proizvod monocita, makrofaga i fibroblasta (Ikezawa 2005). Lokalni ćelijski efekat TNF α podrazumeva adheziju polimorfonuklearnih leukocita za endotelne ćelije, degranulaciju polimorfonukleara, aktiviranje fagocitoze i ekspresiju međućelijskog adhezijskog molekula (Yucel 2015).

Analogno koncentraciji IL-6 u pljuvački svih ispitanika došlo je značajnog porasta salivarne koncentracije TNF- α u odnosu na početak ispitivanja, kako nakon drugog tako i nakon trećeg opservacionog perioda, bez obzira na vrstu korišćenog retrakcionog sredstva i brušenje zuba. Veće numeričke vrednosti medijane detektovane su u grupi ispitanika u kojoj su zubi brušeni i iznosile su: 36.16 \pm 4.24 (R1) i 42.11 \pm 5.48 (R2) za drugi, odnosno 32.04 \pm 7.91 (R1) i 38.12 \pm 5.27 (R2) za treći opservacioni period. Veće vrednosti detektovane su pri aplikaciji ferisulfata.

Upola manje vrednosti koncentracije TNF- α pronađene su grupi ispitanika sa nebrušenim zubima: 19.28 \pm 2.57 (R1) i 16.32 \pm 3.16 (R2) za drugi, kao i 16.12 \pm 3.21 (R1) i 14.21 \pm 2.66 (R2) za treći opservacioni period. Na osnovu dobijenih rezultata može se pretpostaviti da sam postupak brušenja upravo srazmerno utiče na porast koncentracije TNF- α u pljuvački, što se verovatno objašnjava njegovim uslovno agresivnim karakterom.

Unutar eksperimentalnih grupa evidentan je statistički značajan porast salivarne koncentracije TNF- α tokom celokupnog ispitivanog perioda ($p < 0.001$), izuzev u podgrupi grupe G2 sa aplikovanim ferisulfatom (R2), gde je $p < 0.01$. Dokazan je veliki uticaj vrste primenjenog retrakcionog sredstva na koncentraciju TNF- α , kako u podgrupama u odnosu na upotrebljeno sredstvo, tako i u celim grupama. Podgrupe eksperimentalnih grupa su se statistički značajno razlikovale po vrednostima TNF- α tokom celog ispitivanog perioda, i to u G1 na nivou $p < 0.001$ uz veliki uticaj, a u grupi G2 na nivou $p < 0.05$ uz srednji uticaj vrste retrakcionog sredstva. U grupi G1 uočen je veći efekat sredstva na bazi ferisulfata, dok je u grupi sa nebrušenim zubima veći efekat pokazalo sredstvo na bazi aluminijum hlorida.

Promene vrednosti TNF- α tokom ispitivanog perioda dešavaju se na statistički značajno različit način u odnosu na tip retrakcionog sredstva samo u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima (G2).

Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa nalazima drugih autora koji su pronašli visoke koncentracije TNF α u gingivalnoj tečnosti parodontalno obolelih pacijenata (Ikezawa 2005, Honda 2006, Yavuzylmaz 1995, Oates 2002). Feng i sar. su ispitivali količinu TNF α u gingivalnoj tečnosti ispitanika 1, 3, 7, 14 i 28 dana nakon retrakcione procedure. Rezultati istraživanja su, kao što je slučaj i u ovoj studiji, pokazali smanjenje vrednosti ispitivanog parametra u vremenskom intervalu između prvog i trećeg dana od početka ispitivanja, s tim što se količina TNF α srazmerno smanjivala sa vremenom, do vraćanja na početni nivo četrnaestog dana (Feng 2006).

Nivo TNF α zavisi od ozbiljnosti i stepena oboljenja zubnog potpornog aparata (Gustafsson 2006, Kroger 2000). Rossomando i sar. su sugerisali da se povećane koncentracije TNF α na mestu oštećenja oralnog tkiva mogu naći pre pojave kliničkih znakova bolesti, što ovaj marker čini posebno dijagnostički važnim (Rossomando 1990).

Salivarne koncentracije ispitivanih proinflamatornih citokina pronađene su kod niza oralnih oboljenja. Povišene koncentracije TNF α i IL-6 u tečnostima usne duplje, u odnosu na zdravu populaciju, pronađene su kod pacijenata sa oralnim karcinomima (Nakano 1999, Jablonska 1997). Brailo i sar. su dokazali da su pacijenti sa oralnom leukoplakijom imali povećanu produkciju TNF α i IL-6 u poređenju sa kontrolom (Brailo 2006). Nasuprot tome, Boras i sar. su pokazali da je kod aftoznog ulceroznog stomatita nivo TNF α povišen u odnosu na kontrolu, dok

su vrednosti IL-6 nepromenjene (Boras 2006). Rhodus i sar. su detektovali povišene nivoe TNF α i IL-6 kod oralnog lihen planusa u odnosu na zdrave pacijente (Rhodus 2005). Mozaferi i sar. su otkrili više vrednosti IL-6 kod pacijenata sa oralnim manifestacijama lihen planusa u poređenju sa pacijentima bez ovog oboljenja (Mozaferi 2018). Kostić i sar. su detektovali veće količine TNF α , mijeloperoksidaze i IgE kod pacijenata nakon predaje totalnih zubnih proteza nego pre njihove izrade (Kostić 2019). Boras i sar. su ukazali na značaj citokina iz pljuvačke u dijagnostici i prognozi oralnih oboljenja, kao i da kserostomija izazvana lekovima ne menja nivo ispitivanih citokina u pljuvački (Boras 2006). Navedena istraživanja samo potenciraju značaj ranog otkrivanja povećanja količine ovih citokina u pljuvački pacijenata u svrhu blagovremene detekcije bolesti i prevencije istih.

Istraživanje je dokazalo statistički značajno povećanje koncentracije IgA u pljuvački u obe grupe ispitanika i u oba opservaciona perioda u odnosu na početak ispitivanja. U grupi brušenih zuba nakon primene rastvora aluminijum hlorida u drugom opservacionom periodu koncentracija je iznosila 55.93 ± 9.86 , a u trećem 50.27 ± 8.71 . U grupi nebrušenih zuba te vrednosti su bile 38.01 ± 2.18 za drugi, odnosno 36.13 ± 1.71 za treći opservacioni period. Nakon upotrebe ferisulfata te vrednosti koncentracije IgA u grupi G1 bile su niže u odnosu na aluminijum hlorid: 48.93 ± 8.07 (T1) i 46.13 ± 8.26 (T2). U grupi G2 situacija je bila obrnuta: 44.72 ± 4.13 (T1) i 41.42 ± 4.70 (T2).

Evidentan je statistički značajan porast koncentracije IgA tokom celokupnog ispitivanog perioda kod ispitanika obe grupe ($p < 0.001$), uz dokazan veliki efekat primenjenih retrakcionih sredstava.

Promene koncentracije IgA tokom ispitivanog perioda nisu se dešavale na statistički značajno različit način u odnosu na vrstu retrakcionog sredstva u grupi sa brušenim zubima (G1), uz srednji efekat retrakcionog sredstva. Način promena statistički je bio značajno različit u grupi sa nebrušenim zubima (G2) ($p < 0.01$) i sa velikim efektom vrste korišćenog sredstva. Na osnovu iznetih podataka može se reći da je efekat vrste sredstva za retrakciju na koncentraciju IgA generalno izraženiji u grupi sa nebrušenim zubima.

Istraživanje je obuhvatilo i detekciju salivarne koncentracije MCP 1, pri čemu je dokazano njeno statistički signifikantno povećanje u obe ispitivane grupe jedan i tri dana od početka ispitivanja, u odnosu na vrednosti pre aplikacije obe vrste retrakcionih sredstava. MCP 1 spada u

grupu hemokina sintetisanih od strane leukocita, keratinocita i osteoblasta kao odgovor na egzogene i endogene stimulanse (Jiang 1999). Hemokini su inducibilni proinflamatorni citokini koji svoju ulogu vrše vezivanjem za specifične receptore na ciljnim ćelijama. Ekspresija MCP 1 otkrivena je u brojnim oboljenjima praćenim hroničnom inflamacijom, kao što su arteroskleroza, idiopatska fibroza pluća, reumatoidni artritis, osteoartritis, razni tumori i alergijske reakcije (Nelken 1991, Antoniades 1992, Graves 1992, Villiger 1992, Yu 1994).

Izmerene vrednosti MCP1 u grupi ispitanika sa brušenim zubima bile su slične za oba retrakciona sredstva 105.81 ± 12.71 (R1) i 105.68 ± 8.24 (R2) za drugi, odnosno 100.58 ± 10.13 (R1) i 97.62 ± 5.66 (R2) za treći opservacioni period. U grupi sa nebrušenim zubima te vrednosti su znatno niže: 77.14 ± 2.05 (R1) i 69.48 ± 4.89 (R2) posle jedan i 67.31 ± 4.78 (R1) i 67.76 ± 4.16 (R2) posle tri dana.

Unutar grupa uočen je statistički značajan porast koncentracije MCP-1 u pljuvački tokom predviđenog ispitivanog perioda ($p < 0.001$), kako za oba tipa retrakcionih sredstava tako i za sve ispitanike. Efekat primenjenih retrakcionih sredstava na vrednosti MCP-1 definisan je kao veliki.

Testiranje uticaja vrste retrakcionog sredstva između podgrupa pokazalo je da se one između sebe statistički značajno ne razlikuju po koncentracijama MCP-1 tokom celog ispitivanog perioda, odnosno da je uticaj vrste aplikovanog sredstva mali.

Promene koncentracije MCP-1 tokom ispitivanog perioda dešavaju se na statistički značajno različit način u zavisnosti od vrste primenjenog retrakcionog sredstva samo u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima ($p < 0.001$).

Dosadašnja istraživanja autora su u saglasnosti sa rezultatima ovog istraživanja i dokazuju da je pojačano lučenje MCP1 pokazatelj parodontalnog oštećenja (Toneti 1994, Pradeep 2009, Garlet 2003, Baker 2000). Emingil i sar. su dokazali više nivoe MCP1 u gingivalnoj tečnosti pacijenata sa generalizovanom agresivnom parodontopatijom u poređenju sa zdravom kontrolnom grupom (Emingil 2004). Kurtis i sar. su ukazali na više nivoe MCP 1 u oralnim tečnostima pacijenata sa agresivnom i hroničnom parodontopatijom u odnosu na kontrolnu grupu, ali ne i razliku u količini ovog hemokina između ispitivanih grupa obolelih (Kurtis 2005). Pradeep i sar.

su prikazali smanjenje količine MCP1 u gingivalnoj tečnosti nakon terapije parodontalnog oboljenja (Pradeep 2009).

Ozaki i sar. navode da interleukin 1β (IL 1β) i TNF α indukuju i sinergistički stimulišu ekspresiju MCP-1 u fibroblastima humanog periodontalnog ligamenta, kao i da opisani proinflamatorni medijatori učestvuju u infiltraciji monocita na zapaljenskim lokalitetima (Ozaki 1996). Tonetti i sar. su demonstrirali postojanje iRNK odgovorne za MCP1 u tkivnim biopsijama uzetim sa obolelih delova parodonta (Tonetti 1994). Garlet i sar. su dokazali da MCP1 podržava sazrevanje monocita u makrofage pod uticajem različitih stimulansa među kojima su i citokini, mikroorganizmi i njihovi produkti, kao i veću prevalencu i količinu MCP1 kod pacijenata sa parodontopatijom u odnosu na zdravu kontrolnu grupu (Garlet 2003). Sa druge strane, Baker i sar. su opisali proliferaciju makrofaga u obolelom gingivalnom tkivu čija je uloga bila ubijanje patogena i sekrecija proinflamatornih medijatora. Produkti oslobođeni iz makrofaga, kao što su IL-1 i TNF α , osim potenciranja zapaljenske reakcije, pokreću i razgradnju kosti (Baker 2000). Na ovaj način MCP1 hemotaktičkim dejstvom za monocite odnosno makrofage može podržavati hroničnu inflamatornu reakciju i gubitak kosti prisutan u parodontopatiji (Pradeep 2009). Pradeep i sar. su dokazali da se nivo MCP1 povećava sa razvojem parodontalnog oboljenja srazmerno njenom stadijumu i smanjuje se nakon tretmana bolesti (Pradeep 2009). Gupta i sar. su apostrofirali ulogu nivoa MCP1 u pljuvački u ozbiljnom oštećenju parodonta. Navedena grupa autora je pokazala signifikantno veći nivo MCP1 u pljuvački, gingivalnoj tečnosti i serumu kod pacijenata sa hroničnom parodontopatijom, kao i njihovo srazmerno smanjenje nakon adekvatne terapije (Gupta 2013).

Dosadašnja istraživanja različitih grupa autora obuhvatila su i ulogu drugih interleukina na razvoj oboljenja parodonta, čime su postavili izazov u otkrivanju njihove uloge u oštećenju tkiva nakon hemijsko - mehaničke ili neke druge retrakcione procedure. Koseoglu i sar. su opisali ulogu inhibitornog citokina IL-35 koji se oslobađa iz T limfocita, a merenjem njegove koncentracije u gingivalnoj tečnosti i pljuvački pacijenata sa zdravim i obolelim parodontom dokazana je njegova uloga u supresiji parodontalne inflamacije i očuvanju oralnog zdravlja (Koseoglu 2015). Mitani i sar. su utvrdili značajno povećanje IL-35 i IL-17 u gingivalnom fluidu pacijenata sa hroničnom parodontopatijom u odnosu na zdrave pacijente (Mitani 2015). Yucel i sar. su objavili da je reakcija tkiva domaćina na prisustvo bakterija lučenje medijatora tipa IL-1, kao i TNF α , što je povećalo

kataboličke procese u ekstracelularnom matriksu i dovode do resorpcije kosti (Yucel 2015). Nalazi ovih autora, kao i rezultati ovog istraživanja potvrđuju pretpostavku da je u etiopatogenezi inflamatornih promena neophodno sagledati ulogu interleukina, ali i drugih markera sekretovanih u oralni medijum. Njihov broj i mehanizam dejstva matrica su budućih istraživanja koja će dodatno osvetliti etiologiju i genezu oboljenja parodonta, svodeći jatrogeni učinak na najmanju moguću meru.

Tehnika brušenja zuba svojom invazivnošću može biti potencijalni uzrok inflamacije gingivalnog tkiva parodonta, te i promene vrednosti ispitivanih gingivalnih indeksa i koncentracije proinflamatornih citokina u pljuvački. S tim u vezi, dizajn eksperimenta je predvideo ispitivanja u dve grupe na kojima je sprovedena hemijsko - mehanička procedura retrakcije gingive: sa brušenjem (G1), odnosno bez brušenja zuba (G2), a u obe grupe su primenjena dva različita retrakciona sredstva (R1 i R2). Upoređivanje je, pak sa druge strane, neophodno, da bi se jasno izdvojila proinflamatorna uloga retrakcione procedure od mogućeg oštećenja nastalog brušenjem zuba. Sa druge strane, ispitivanje hemijsko - mehaničke metode retrakcije gingive samo na nebrušenim zubima ne bi imalo nikakvog praktičnog smisla, jer se ova procedura bez brušenja zuba klinički i ne izvodi. Zato rezultate istraživanja treba posmatrati kroz prizmu realnog: stvarni štetni efekat retrakcione procedure je onaj koji je kombinovan sa eventualnim štetnim efektom brušenja zuba.

RM ANOVA je unutar efekata grupe objasnila kako je samo brušenje zuba uticalo na vrednost posmatranog parametra (vrednost indeksa procene stanja gingive i salivarna koncentracija proinflamatornih citokina) kod grupa ispitanika sa upotrebljenim retrakcionim sredstvom. Istom statističkom metodom ustanovljeno je da li se je pri upotrebi istog retrakcionog sredstva vrednost ispitivanog parametra menjala u zavisnosti od toga da li su zubi brušeni ili ne. Praćeno je i kretanje testiranog parametra u periodu ispitivanja, odnosno da li se on menjao na isti način u grupi ispitanika kod kojih je aplikovano identično retrakciono sredstvo.

Promene koncentracije IL-6 tokom ispitivanog perioda u podgrupama grupe ispitanika sa brušenim zubima dešavale su se na statistički značajno različit način u zavisnosti od vrste retrakcionog sredstva ($p < 0.01$), dok u grupi ispitanika sa nebrušenim zubima to nije bio slučaj. Promene vrednosti koncentracije IL-6 tokom ispitivanog perioda u grupama G1 i G2 dešavale su se na statistički značajno različit način ($p < 0.001$) uz veliki efekat brušenja ($\eta^2 = 0.7223$ u R1, odnosno $\eta^2 = 0.7250$ u R2)

Brušenje zuba imalo je veliki efekat na vrednosti TNF- α u obe grupe ispitanika. Testiranje efekata između grupa ispitanika sa brušenim i nebrušenim zubima pokazalo je da se one statistički značajno razlikuju po vrednostima koncentracije TNF- α tokom celog ispitivanog perioda ($p < 0.001$), što govori o velikom uticaju brušenja zuba bez obzira na primenjeno retrakciono sredstvo. Promene koncentracije TNF- α tokom celokupnog perioda ispitivanja dešavaju se na statistički značajno različit način u obe ispitivane grupe.

Testiranje efekata između ispitivanih grupa na koncentraciju IgA pokazalo je da su se one statistički značajno razlikovale tokom celog ispitivanog perioda u grupi gde je aplikovano sredstvo na bazi aluminijum hlorida, R1 ($p < 0.001$), sa velikim efektom ($\eta^2 = 0.3103$), dok nije postojala statistički značajna razlika vrednosti koncentracije IgA u grupi sa aplikovanim ferisulfatom.

Promene vrednosti IgA tokom ispitivanog perioda nisu se dešavale na statistički značajno različit način u grupi kod koje je primenjeno sredstvo za retrakciju gingive na bazi aluminijum hlorida ($p < 0.001$), dok su se u grupi sa retrakcionim sredstvom na bazi ferisulfata te promene odvijale na veoma sličan način u obe ispitivane grupe.

Testiranjem efekata brušenja ustanovljeno je da su se grupe statistički značajno razlikovale po vrednostima MCP-1 ($p < 0.001$) tokom celog perioda ispitivanja, sa velikim efektom brušenja zuba u R1 ($\eta^2 = 0.8302$) i još većim u R2 grupi ($\eta^2 = 0.9040$). Promene vrednosti MCP-1 tokom ispitivanog perioda u G1 i G2 takođe su se dešavale na statistički značajno različit način ($p < 0.001$).

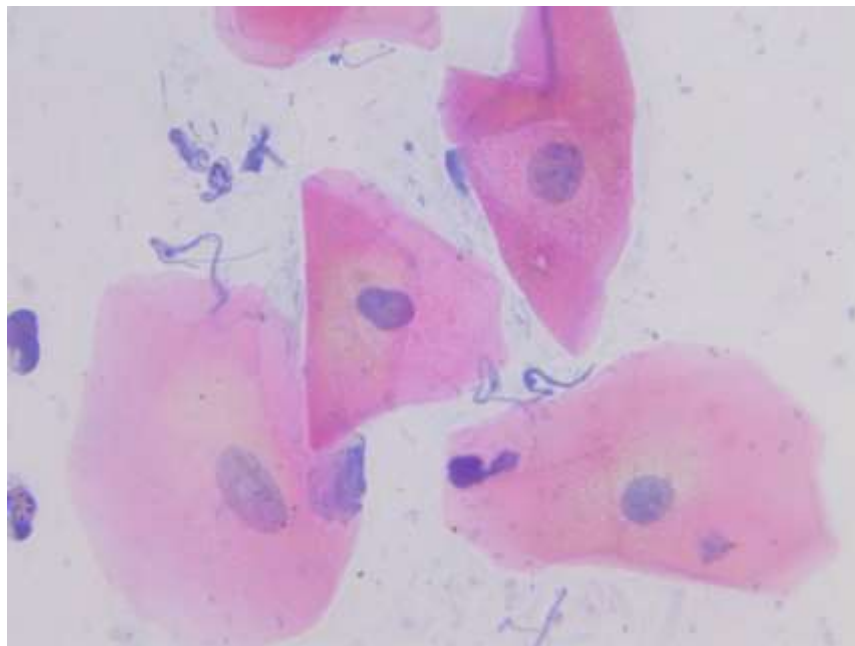
Navedeni rezultati mogu se sumirati u pretpostavci da brušenje zuba ima veliki efekat na sve testirane parametre u istraživanju, kao i da se oni statistički razlikuju u grupi ispitanika sa brušenim i nebrušenim zubima. Istraživanje je dokazalo veći inflamatorni efekat hemijsko - mehaničke retrakcione metode nakon brušenja zuba, što je potvrdilo i hipotezu istraživanja.

Većina istraživanja koja se odnose na neželjeno dejstvo retrakcionog rastvora aluminijum hlorida izvedena su u uslovima *in vitro* (Liu 2009, Nowakowska 2012, Lodetetti 2004, Kostić 2015). Time se potencira značaj jedne kliničke studije koja je praćenjem kliničkih objektivnih parametara oštećenja gingive kao i njihovom morfometrijskom i citološkom analizom dala egzaktni sud o ponašanju gingivalnog tkiva nakon aplikacije impregniranog retrakcionog konca u gingivalni sulkus ispitanika.

6.3. CITOMORFOMETRIJSKE PROMENE NAKON HEMIJSKO - MEHANIČKE RETRAKCIONE PROCEDURE

Citomorfološkim ispitivanjima pruža se mogućnost uočavanja povezanosti građe i funkcije pojedinih vrsta tkiva, uključujući i epitel gingive. Praćenjem promena unutar samih ćelija, a uporedo sa histološkim istraživanjima prirode i mehanizma nastanka parodontalnih lezija pruža se detaljan uvid u kvantitativna i kvalitativna svojstva zapaljenskog infiltrata, kao i redosled događaja tokom patogeneze oboljenja gingive. (Igić 2010).

Potencijalno inflamatorno dejstvo sredstava za retrakciju gingive analizirano je i kroz morfometrijske promene epitelnih ćelija (Slika 4) uzetih brisom gingive pre i nakon retrakcione procedure (eksfolijativna citologija). Deskvamirane ćelije gingive pripadaju superficijalnom sloju epitela, lako se uklanjaju sa površine gingive i mogu se mikroskopski ispitivati u cilju ponalaženja izvesnih strukturalnih promena koje bi ukazivale na potencijalno štetno dejstvo primenjenih preparata. U skladu sa tim, unutar istraživanja morfometrijski su analizirani površina, obim i cirkularnost jedra, Feretov dijagram, optička gustina, zaobljenost i čvrstoća jedra.



Slika 4. Grupa skvamoznih ćelija (x1000)

Površina jedra se povećala jedan dan nakon primene obe vrste retrakcionih sredstava da bi se, uporedo sa smanjenjem količine proinflamatornih citokina u pljuvački, kao i kliničkih znakova inflamacije, površina jedra smanjila nakon trodnevnog opservacionog perioda. Porast parametra je zabeležen u grupi sa brušenim i u grupi sa nebrušenim zubima, što govori u prilog dejstvu hemijsko - mehaničke retrakcione procedure na promenu ovog morfometrijskog parametra. Uparedno smanjenje površine jedra i stepena inflamacije gingivalnog tkiva, navodi na zaključak da porast površine nukleusa epitelnih ćelija gingive ukazuje na njihovo zapaljenje. Navedeni dokazi su u skladu sa dosadašnjim oskudnim morfometrijskim ispitivanjima na temu inflamacije. Naime, dokazano je da inflamacija dovodi po porasta površine ćelije (Chvatal 2007, Awadová 2018).

Porast površine jedra epitelnih ćelija gingive prati i povećanje njegovog obima, opet 24 časa nakon retrakcione procedure, a u poređenju sa vrednostima na početku ispitivanja u obe eksperimentalne grupe. Statistička značajnost uočena je u grupi sa brušenim zubima i nakon upotrebe rastvora aluminijum hlorida. Nakon tri dana te vrednosti su se smanjile u odnosu na drugi opservacioni period, ali su ipak ostale veće no pre aplikacije retrakcionog konca.

Utvrđeno je da promene u regulaciji volumena ćelije predstavljaju ozbiljan izazov za ćelijsku prilagodljivost i održivost i stoje iza mnogih patoloških fenotipa, uključujući zapaljenje, edem mrežnjače ili mozga i traumatske ili ishemijske povrede (Jo 2015, Ryskamp 2014, Pannicke 2006, Papadopoulos 2013). Iako su naša ispitivanja obuhvatila samo nukleus ćelija, može se napraviti analogija dobijenih rezultata i dokaza drugih autora o promenama volumena ćelija povezanih sa nastalim zapaljenjem. Naime, nukleus ćelije predstavlja najbitniji regulatorni deo iste, koji sa jedne strane kontroliše sve celularne metaboličke procese, a istovremeno prati njene morfološke i strukturalne promene. Ispitivanja Igić i sar. i Petrović potvrdila su smanjenje veličine jedra nakon terapije parodontalnih oboljenja (Igić 2008, Petrović 2018).

Promena cirkularnosti jedra uočena je jedan dan nakon primene sredstava za retrakciju gingive, izuzev u grupi brušenih zuba kod kojih je, kao retrakciono sredstvo korišćen ferisulfat. Nakon tri dana vrednosti cirkularnosti jedra smanjene su u svim podgrupama izuzev već pomenute gde je došlo do statistički značajnog povećanja ove vrednosti. Promene cirkularnosti jedra nisu statistički značajno zavisile od vrste upotrebljenog retrakcionog sredstva.

Ispitivanje je obuhvatilo i određivanje Feretovog dijagrama čija je vrednost, u odnosu na inicijalne vrednosti, bila manja jedan dan nakon retrakcione procedure. Statistička značajnost

uočena je u grupi pacijenata sa brušenim zubima i aplikovanim rastvorom aluminijum hlorida. Tri dana nakon retrakcione procedure došlo je ponovnog rasta Feretovog dijagrama sa statističkom signifikansošću u grupi nebrušenih zuba sa upotrebljenim aluminijum hloridom.

Praćena je i promena optičke gustine jedra koja se nejednako menjala u zavisnosti od eksperimentalne grupe. Naime, u grupi ispitanika sa brušenim zubima došlo je do pada optičke gustine jedra, a statistička signifikantnost zabeležena je pri upotrebi retrakcionog sredstva na bazi aluminijum hlorida. Nakon trećeg opservacionog perioda, a u poređenju sa prethodnim, došlo je do povećanja optičke gustine u podgrupi sa korišćenim rastvorom aluminijum hlorida, dok su se vrednosti ovog parametra u podgrupi sa upotrebljenim ferisulfatom dalje smanjivale.

Nasuprot grupi pacijenata u kojoj su zubi brušeni, u grupi sa nebrušenim zubima nakon jednog dana od retrakcione procedure vrednost optičke gustine jedra porasla je u podgrupi sa aplikovanim aluminijum hloridom, a smanjila se u podgrupi sa korišćenim ferisulfatom. Tri dana od početka ispitivanja vrednosti optičke gustine jedra bile su bliske inicijalnim vrednostima.

Zaobljenost jedra porasla je nakon primene rastvora aluminijum hlorida, a smanjila se nakon upotrebe rastvora ferisulfata u grupi pacijenata kod kojih su zubi brušeni. Vrednosti ovog parametra su tri dana od retrakcione procedure bile veoma slične inicijalnim. U grupi pacijenata sa nebrušenim zubima se vrednost zaobljenosti jedra statistički značajno povećala tri dana nakon retrakcione procedure aluminijum hloridom. Sa druge strane, ta vrednost se smanjila nakon upotrebe ferisulfata.

Čvrstoća jedra kao parametar nije se bitno menjala u toku ispitivanja.

Dobijeni podaci o optičkoj gustini, zaobljenosti i čvrstoći jedra evidentno ne prate tok do sada opisanih zapaljenskih promena u tkivu i ne menjaju se po jasnom šablonu. Istraživanje je zašlo u sferu do sada jasno neobjašnjenih promena unutar ćelijskih struktura, te se u nedostatku literaturnih podataka dobijeni rezultati ne mogu istumačiti na naučno korektan način. Ipak, svaki dobijeni podatak govori u prilog činjeničnom stanju i pruža osnov za dalje istraživanje, upoređivanje i donošenje relevantnih zaključaka.

Sa druge strane, sama tehnika ćelijske morfometrije može promeniti stvarni prirodni oblik i dimenzije ćelije, jer se tkivo i njegovi pojedinačni ćelijski elementi podvrgavaju oticanju tokom

perfuzije i ubrizgavanje boja, kao i skupljanja uzrokovano fiksjom i ugradnjom tokom postupka preparacije (Grosche 2002). Nastale promene su nedvosmisleno znak uticaja primenjenih sredstava na gingivalno tkivo, ali bi, obzirom na prisutna metodološka ograničenja i nedostatak usko stručnih literaturnih podataka, konačno zaključivanje u pojedinim segmentima bilo pretenciozno od strane stomatologa. Naravno, morfometrijske analize u stomatologiji će biti dalji fokus istraživanja.

Komparacijom potencijalno toksičnog dejstva različitih retrakcionih sredstava stomatologu se pruža mogućnost odabira bezbednijeg načina izvođenja retrakcione procedure. Sagledavanjem dejstva hemijsko mehaničke retrakcione procedure na tkivo gingive može se predvideti nastanak i tok njene inflamacije, te blagovremeno reagovati u cilju sprečavanja mogućih komplikacija, u smislu skraćanja vremena izlaganja retrakcionom sredstvu, ispiranja gingivalnog sulkusa vodom ili fiziološkim rastvorom nakon retrakcione procedure, odlaganja uzimanja otiska do saniranja zapaljenske reakcije, te izbora nekog drugog načina otvaranja gingivalnog sulkusa.

7. ZAKLJUČCI

Na osnovu dobijenih rezultata, a u skladu sa postavljenim ciljevima, može se zaključiti:

1. Hemijsko - mehanička metoda retrakcije gingive dovela je do statistički značajnog povećanja vrednosti gingivalnog indeksa i indeksa krvarenja nakon aplikacije retrakcionih sredstava na bazi aluminijum hlorida i ferisulfata u grupi pacijenata sa brušenim i nebrušenim zubima. Time je dokazan infalamatorni potencijal ispitivane retrakcione procedure.

2. Sa vremenom su se vrednosti gingivalnog indeksa i indeksa krvarenja smanjivale, što je ukazalo na reverzibilnu inflamatornu reakciju gingive.

3. Vrednosti gingivalnog indeksa i indeksa krvarenja bile su veće nakon upotrebe sredstava na bazi ferisulfata, kao i u grupi pacijenata sa brušenim zubima.

4. Hemijsko mehanička metoda retrakcije gingive dovela je do statistički značajnog povećanja salivarne koncentracije ispitivanih proinflamatornih citokina (faktor nekroze tumora α , monocitni hemotaktični protein 1, interleukin 6 i imunoglobulin A) nakon aplikacije retrakcionih sredstava na bazi aluminijum hlorida i ferisulfata, u grupi pacijenata sa brušenim i nebrušenim zubima. Biohemijskim ispitivanjima je, takođe, dokazan infalamatorni potencijal hemijsko - mehaničke retrakcione procedure.

5. Salivarna koncentracija ispitivanih proinflamatornih citokina se smanjivala sa vremenom, što je ukazalo na reverzibilnu inflamatornu reakciju.

6. Salivarne koncentracije faktora nekroze tumora α i interleukina 6 bile su veće nakon upotrebe retrakcionog sredstva na bazi ferisulfata i u grupi pacijenata sa brušenim zubima.

7. Salivarne koncentracije imunoglobulina A i monocitnog hemotaktičnog proteina 1 su veće nakon upotrebe retrakcionog sredstva na bazi aluminijum hlorida u grupi pacijenata sa brušenim i na bazi ferisulfata u grupi pacijenata sa nebrušenim zubima.

8. Vrednosti ispitivanih gingivalnih indeksa i koncentracija proinflamatornih citokina bile su veće u grupi pacijenata sa brušenim zubima, što potvrđuje uticaj mehaničke traume prilikom preparacije zuba na nastanak zapaljenja gingive.

9. Hemijsko - mehanička metoda retrakcije gingive dovela je do promena u svim ispitivanim citomorfometrijskim parametrima epitelnih ćelija gingive (površina jedra, obim jedra, cirkularnost jedra, Feret-ov dijametar jedra, optička gustina jedra, zaobljenost jedra, i čvrstoća jedra).

10. Površina i obim jedra epitelnih ćelija gingive bili su veći nakon hemijsko - mehaničke metode retrakcije gingive, što se može smatrati znakom inflamacije gingive. Dobile vrednosti su se smanjivale sa vremenom, što je dokaz reverzibilnosti nastalih zapaljenskih promena u gingivi.

11. Rezultati istraživanja obezbeđuju lakši odabir retrakcionog sredstva, a u cilju prevencije parodontalnih oboljenja. Pravilan izbor kliničkih procedura i upotrebljenih terapijskih sredstava smanjuje pojavu jatrogenih oštećenja koja mogu ugroziti efekat protetičke terapije i trajnost fiksnih nadoknada.

8. LITERATURA:

1. Abadziev M. Comparative research of the subgingival impression quality by fixed prosthesis using one and double cord retraction technique. *Journal of IMAB – Annual Proceeding (Scientific Papers) 2009*, book 2:18-20.
2. Abduo J, Lyons KM. Interdisciplinary interface between fixed prosthodontics and periodontics. *Periodontol 2000*. 2017; 74(1):40-62.
3. Ahmadzadeh A, Majd NE, Chasteen J, Kaviani A, Kavooosi MA. Inflammatory response of canine gingiva to a chemical retraction agent placed at different time intervals. *Dent Res J (Isfahan)*. 2014; 11(1):81-86.
4. Akca EA, Yildirim E, Dalkiz M, Yavuzylmaz H, Beydemir B. Effects of different retraction medicaments on gingival tissue. *Quintessence Int* 2006; 37:53-59.
5. Akira S, Hirano T, Taga T, Kishimoto T. Biology of multifunctional cytokines: IL 6 and related molecules (IL 1 and TNF). *FASEB J*. 1990; 4(11):2860-7.
6. Al-Ani A, Bennani V, Chandler NP, Lyons KM, Thomson WM. New Zealand dentists' use of gingival retraction techniques for fixed prosthodontics and implants. *N Z Dent J* 2010; 106:92-96.
7. Alassiri S, Parnanen P, Rathnayake N, Johannsen G, Heikkinen AM, Lazzara R, van der Schoor P, van der Schoor JG, Tervahartiala T, Gieselmann D, Sorsa T. The Ability of Quantitative, Specific, and Sensitive Point-of-Care/Chair-Side Oral Fluid Immunotests for aMMP-8 to Detect Periodontal and Peri-Implant Diseases. *Dis Markers*. 2018 Aug 5;2018:1306396
8. Albaker AM. Gingival retraction - techniques and materials: a review. *Pak Oral Dental J* 2010; 30:545-551.
9. Antoniadis HN, Neville-Golden J, Galanopoulos T, Kradin RL, Valente AJ, Graves DT. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 in mRNA in human idiopathic pulmonary fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89:5371-5.
10. Awadová T, Pivoňková H, Heřmanová Z, Kirdajová D, Anděrová M2, Malínský J. Cell volume changes as revealed by fluorescence microscopy: Global vs local approaches. *J Neurosci Methods*. 2018; 306:38-44.

11. Bader JD, Bonito AJ, Shugars DA. A systemic review of cardiovascular effects of epinephrine on hyper tensive dental patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 93:647-53
12. Baggiolini M. Chemokines in pathology and medicine. *J Intern Med* 2001; 250:91–104.
13. Baker PJ. The role of immune responses in bone loss during periodontal disease. *Microbes Infect* 2000; 2:1181–92.
14. Bakianian Vaziri P, Vahedi M, Mortazavi H, Abdollahzadeh Sh, Hajilooi M. Evaluation of salivary glucose, IgA and flow rate in diabetic patients: a case-control study. *J Dent (Tehran)*. 2010; 7(1):13-8.
15. Bartold PM, Walsh LJ, Narayanan AS. Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontol* 2000. 2000; 24:28-55.
16. Beier US, Krnewitter R, Dumfahrt H. Quality of impressions after use of the Magic FoamCord gingival retraction system--a clinical study of 269 abutment teeth. *Int J Prosthodont* 2009; 22:143-147.
17. Bennani V, Schwass D, Chandler N. Gingival retraction techniques for implants versus teeth: current status. *J Am Dent Assoc* 2008; 139:1354-1363.
18. Biyikoğlu B, Buduneli N, Kardeşler L, Aksu K, Oder G, Kütükçüler N. Evaluation of t-PA, PAI-2, IL-1beta and PGE(2) in gingival crevicular fluid of rheumatoid arthritis patients with periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2006; 33(9):605-11.
19. Boras VV, Brailo V, Lukac J, Kordić D, Picek P, Blazic-Potocki Z. Salivary interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha in patients with drug-induced xerostomia. *Oral Dis*. 2006; 12(5):509-11.
20. Boras VV, Lukac J, Brailo V, Picek P, Kordić D, Zilić IA. Salivary interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in patients with recurrent aphthous ulceration. *J Oral Pathol Med*. 2006;3 5(4):241-3.
21. Bosshardt DD, Lang NP. The junctional epithelium: from health to disease. *J Dent Res* 2005; 84:9-20.
22. Bosshardt DD. The periodontal pocket: pathogenesis, histopathology and consequences. *Periodontol* 2000. 2018; 76(1):43-50.
23. Bostanci N, Belibasakis GN. Gingival crevicular fluid and its immune mediators in the proteomic era. *Periodontol* 2000. 2018; 76(1):68-84.

24. Bowles WH, Tardy SJ, Vahadi A. Evaluation of new gingival retraction agents. *J Dent Res.* 1991; 70(11):1447-9.
25. Bowley JF, Payne JB, Stockhill JW. Management of the gingival sulcus in fixed prosthodontics: a literature review and treatment protocol. *Compend Contin Educ Dent* 1998; 19:154-162.
26. Brailo V, Vucićeović-Boras V, Cekić-Arambasin A, Alajbeg IZ, Milenović A, Lukac J. The significance of salivary interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha in patients with oral leukoplakia. *Oral Oncol.* 2006; 42(4):370-3.
27. Brailo V, Vucicevic-Boras V, Lukac J, Biocina-Lukenda D, Zilic-Alajbeg I, Milenovic A, Balija M. Salivary and serum interleukin 1 beta, interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha in patients with leukoplakia and oral cancer. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2012; 17(1):e10-5.
28. Čakić S. Gingivalna tečnost u dijagnostikovanju parodontopatije i sistemskih bolesti. *Srp Arh Celok Lek.* 2009; 137(5-6):298-303
29. Champagne CM, Buchanan W, Reddy MS, Preisser JS, Beck JD, Offenbacher S. Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2003; 31:167-80.
30. Chandra S, Singh A, Gupta KK, Chandra C, Arora V. Effect of gingival displacement cord and cordless systems on the closure, displacement, and inflammation of the gingival crevice. *J Prosthet Dent.* 2016; 115(2):177-82.
31. Chempesz F, Vag J, Fazekas A. In vitro kinetic study of absorbancy of retraction cords. *J Prosthet Dent* 2003; 89:45-49.
32. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clin Chim Acta.* 2007; 383(1-2):30-40.
33. Chvatal A, Anderova M, Kirchhoff F. Three-dimensional confocal morphometry – a new approach for studying dynamic changes in cell morphology in brain slices. *J. Anat.* 2007; 210: 671-683.
34. Chvátal A, Anderová M, Hock M, Prajerová I, Neprasová H, Chvátal V, Kirchhoff F, Syková E. Three-dimensional confocal morphometry reveals structural changes in astrocyte morphology in situ. *Neurosci Res.* 2007; 85(2):260-71
35. Cimasoni G. Cervicular fluid updated. *Monogr Oral Sci* 1983; 12: 1-152.

36. Colotta F, Borrè A, Wang JM, Tattanelli M, Maddalena F, Polentarutti N, et al. Expression of a monocyte chemotactic cytokine by human mononuclear phagocytes. *J Immunol* 1992; 148:760–5.
37. Concard HJ, Halten JR. Internalized discoloration of dentin under porcelain crowns: A clinical report. *J Prosthet Dent* 2009; 101: 153-157.
38. Costa PP, Trevisan GL, Macedo GO, Palioto DB, Souza SL, Grisi MF, Novaes AB Jr, Taba M Jr. Salivary interleukin-6, matrix metalloproteinase-8, and osteoprotegerin in patients with periodontitis and diabetes. *J Periodontol.* 2010; 81(3):384-91.
39. Cowan FF. *Dental pharmacology*. 2nd ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1992: 272-273.
40. Csillag M, Nyiri G, Vag J, Fazekas A. Dose-related effects of epinephrine on human gingival blood flow and cervicular fluid production used as a soaking solution for chemo-mechanical tissue retraction. *J Prosthet dent* 2007; 97:6-11.
41. D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Suvan J, Tonetti MS. Short-term effects of intensive periodontal therapy on serum inflammatory markers and cholesterol. *J Dent Res.* 2005; 84(3):269-73.
42. D'Aiuto F, Parkar M, Andreou G, Suvan J, Brett PM, Ready D, Tonetti MS. Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res.* 2004; 83(2):156-60.
43. Đajić D, Đukanović D, Kojović D. *Bolesti usta: Parodontologija-oralna žarišta i konsektivna oboljenja tzv. fokalna infekcija*. Beograd: Elit medica; 2015.
44. Đajić D, Đukanović D. *Parodontologija i tzv. "fokalna infekcija"*. Beograd: Draslar partner; 2006.
45. de Gennaro GG, Landesman HM, Calhoun JE, Martinoff JT. A comparison of gingival inflammation to retraction cords. *J Prosthet Dent* 1982; 47:384-386.
46. de Oliveira PA, de Pizzol-Júnior JP1,2, Longhini R1, Sasso-Cerri E2, Cerri PS2. Cimetidine Reduces Interleukin-6, Matrix Metalloproteinases-1 and -9 Immunoexpression in the Gingival Mucosa of Rat Molars With Induced Periodontal Disease. *J Periodontol.* 2017; 88(1):100-111.
47. Dederichs M, Fahmy MD, Kuepper H, Guentsch A. Comparison of Gingival Retraction Materials Using a New Gingival Sulcus Model. *J Prosthodont.* 2019; 28(7):784-789.

48. Del Rocío Nieto-Martínez M, Maupomé G, Barceló-Santana F. Effects of diameter, chemical impregnation and hydration on the tensile strength of gingival retraction cords. *J Oral Rehabil.* 2001; 28(12):1094-100.
49. Delima AJ, Van Dyke TE. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000.* 2003; 31:55-76.
50. Deshmane SL1, Kremlev S, Amini S, Sawaya BE. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1): An Overview. *J Interferon Cytokine Res.* 2009; 29(6):313-26
51. Diaz-Arnold AM, Marek CA. The impact of saliva on patient care: A literature review. *J Prosthet Dent.* 2002; 88(3):337-43.
52. Donaldson M, Goodchild JH. Local and systemic effects of mechanico-chemical retraction. *Compend Contin Educ Dent.* 2013; 34 Spec No 6:1-7.
53. Donovan TE, Chee WW. Current concepts in gingival displacement. *Dent Clin North Am* 2004; 48: 433-444.
54. Dutzan N, Vernal R, Vaque JP, García-Sesnich J, Hernandez M, Abusleme L, Dezerega A, Gutkind JS, Gamonal J. Interleukin-21 expression and its association with proinflammatory cytokines in untreated chronic periodontitis patients. *J Periodontol.* 2012; 83(7):948-54.
55. Einarsdottir ER, Lang NP, Aspelund T, Pjetursson BE. A multicenter randomized, controlled clinical trial comparing the use of displacement cords, an aluminum chloride paste, and a combination of paste and cords for tissue displacement. *J Prosthet Dent.* 2018; 119(1):82-88.
56. Emingil G, Atilla G, Huseyinov A. Gingival crevicular fluid monocyte chemoattractant protein-1 and RANTES levels in patients with generalized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 2004; 31:829–34.
57. Fazekas A, Csemesz F, Csabai Z, Vag J. Effects of pre-soaked retraction cords on the microcirculation of the human gingival margin. *Oper Dent* 2002; 27(4):343-348.
58. Felpel LP. A review of pharmacotherapeutics for prosthetic dentistry: Part I. *J Prosthet Dent* 1997; 77: 285-92.
59. Feng J, Aboyoussef H, Weiner S, Singh S, Jandinski J. The effect of gingival retraction procedures on periodontal indices and crevicular fluid cytokine levels: a pilot study. *J Prosthodont.* 2006; 15(2):108-12.

60. Fujihashi K, Beagley KW, Kono Y, Aicher WK, Yamamoto M, DiFabio S, Xu-Amano J, McGhee JR, Kiyono H. Gingival mononuclear cells from chronic inflammatory periodontal tissues produce interleukin (IL)-5 and IL-6 but not IL-2 and IL-4. *Am J Pathol.* 1993; 142(4):1239-50.
61. Gajbhiye V, Banerjee R, Jaiswal P, Chandak A, Radke U. Comparative evaluation of three gingival displacement materials for efficacy in tissue management and dimensional accuracy. *J Indian Prosthodont Soc.* 2019; 19(2):173-179.
62. Garard C, Rollins BJ. Chemokines and disease. *Nat Immunol* 2001; 2: 108-15.
63. Garlet GP, Martins Jr W, Ferreira BR, Milanezi CM, Silva JS. Patterns of chemokines and chemokine receptors expression in different forms of human periodontal disease. *J Periodont Res* 2003; 38:210–7.
64. Geivelis M, Turner DW, Pederson ED, Lamberts BL. Measurements of interleukin-6 in gingival crevicular fluid from adults with destructive periodontal disease. *J Periodontol.* 1993; 64(10):980-3.
65. Gemmel E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol* 2000. 1997; 14: 112-143.
- Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 1996; 17:138-146.
66. Gemmell E, Seymour GJ. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontology* 2004; 2000(35):21–41.
67. Graves DT, Barnhill R, Galanopoulos T, Antoniadis HN. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 in human melanoma in vivo. *Am J Pathol* 1992; 140:9–14.
68. Graves DT, Delima AJ, Assuma R, Amar S, Oates T, Cochran D. Interleukin-1 and tumor necrosis factor antagonists inhibit the progression of inflammatory cell infiltration toward alveolar bone in experimental periodontitis. *J Periodontol.* 1998; 69(12):1419-25.
69. Griffiths G. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol* 2000. 2003; 31:32–42
70. Grosche J, Kettenmann H, Reichenbach A. Bergmann glial cells form distinct morphological structures to interact with cerebellar neurons. *J Neurosci Res.* 2002 15; 68(2):138-49.

71. Gupta M, Chaturvedi R, Jain A. Role of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) as an immune-diagnostic biomarker in the pathogenesis of chronic periodontal disease. *Cytokine*. 2013; 61(3):892-7.
72. Gustafsson A, Ito H, Asman B, Bergstrom K. Hyper-reactive mononuclear cells and neutrophils in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2006; 33:126–9.
73. Harrison JD. Effect of retraction materials on the gingival sulcus epithelium. *J Prosthet Dent* 1961; 11: 514-521.
74. Hashizume M, Mihara M. The Roles of Interleukin-6 in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis*. 2011; 2011:765624.
75. Hatch CL, Chernow B, Terezhalmly GT, Ness MV, Hall-Boyer K, Lake R. Plasma catecholamine and hemodynamic responses to the placement of epinephrine-impregnated gingival retraction cord. *Oral Surg* 1984; 58:540-544.
76. Hilley MD, Milam SB, Giescke AH Jr, Giovanniti JA. Fatality associated with the combined use of halotane and gingival retraction cord. *Anesthesiology* 1984; 60: 587-588.
77. Hirano T, Matsuda T, Turner M, Miyasaka N, Buchan G, Tang B, Sato K, Shimizu M, Maini R, Feldmann M, et al. Excessive production of interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol*. 1988; 18(11):1797-801.
78. Honda T, Domon H, Okui T, Kajita K, Amanuma R, Yamazaki K. Balance of inflammatory response in stable gingivitis and progressive periodontitis lesions. *Clin Exp Immunol* 2006; 144:35–40.
79. Hsu B, Lee S, Schwass D, Tompkins G. Antimicrobial activity of chemomechanical gingival retraction products. *J Am Dent Assoc*. 2017; 148(7):493-499.
80. Huang C, Somar M, Li K, Mohadeb JVN. Efficiency of Cordless Versus Cord Techniques of Gingival Retraction: A Systematic Review. *J Prosthodont*. 2017; 26(3):177-185.
81. Hughes FJ. Cytokines and cell signalling in the peri-odontium. *Oral Dis* 1995; 1:259-265.
82. Igić M, Mihailović D, Kesić Lj, Apostolović M, Kostadinović Lj, Šurdilović D, Tričković Janjić O, Stojković B. Cytomorphometric and clinical assessment before and after the treatment of chronic catarrhal gingivitis in children. *Acta Stomatol Naissi* 2010; 26: 945-952.

83. Igić M. Evaluacija rezultata lečenja hroničnih kataralnih gingivita hijaluronskom kiselinom, bazičnom i lasero terapijom kod dece [disertacija]. Niš: Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet; 2008.
84. Ikezawa I, Tai H, Shimada Y, Komatsu Y, Galicia JC, Yoshie H. Imbalance between soluble tumour necrosis factor receptors type 1 and 2 in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005; 32(10):1047-54.
85. Ilyin SE, Belkowski SM, Plata-Salamán CR. Biomarker discovery and validation: technologies and integrative approaches. *Trends Biotechnol* 2004; 22(8):411–6.
86. Jablonska E, Piotrowski L, Grabowska Z. Serum levels of IL- 1b, IL-6, TNF-a, TNF-R1 and CRP in patients with oral cavity cancer. *Pathol Oncol Res* 1997; 3(2):126–9.
87. Jiang Y, Beller D, Frenzl G, Greves D. Monocyte chemoattractant protein-1 regulates adhesion molecule expression and cytokine production in human monocytes. *J Immunol* 1992; 148:2423-8.
88. Jiang Y, Graves DT. Periodontal pathogens stimulate CC- chemokine production by mononuclear and bone derived cells. *J Periodontol* 1999; 70:1472–8.
89. Jo AO, Ryskamp DA, Phuong TT, Verkman AS, Yarishkin O, MacAulay N, Križaj D. TRPV4 and AQP4 Channels Synergistically Regulate Cell Volume and Calcium Homeostasis in Retinal Müller Glia. *J Neurosci*. 2015 30; 35(39):13525-37.
90. Jokstad A. Clinical trial of gingival retraction cords. *J Prosthet Dent* 1999; 81: 258-61
91. Kaczyński T, Wroński J, Głuszko P, Kryczka T, Miskiewicz A, Górski B, Radkowski M, Strzemecki D, Grieb P, Górski R. Salivary interleukin 6, interleukin 8, interleukin 17A, and tumour necrosis factor α levels in patients with periodontitis and rheumatoid arthritis. *Cent Eur J Immunol*. 2019; 44(3):269-276.
92. Kerschull M, Demmer RT, Papapanou PN. “Gum bug, leave my heart alone!”- epidemiologic and mechanistic evidence linking periodontal infections and atherosclerosis. *J Dent Res* 2010; 89(9):879-902.
93. Keles ZP, Keles GC, Avci B, Cetinkaya BO, Emingil G. Analysis of YKL-40 acute-phase protein and interleukin-6 levels in periodontal disease. *J Periodontol*. 2014; 85(9):1240-6.
94. Kobayashi T, Ishida K, Yoshie H. Increased expression of interleukin-6 (IL-6) gene transcript in relation to IL-6 promoter hypomethylation in gingival tissue from patients with chronic periodontitis. *Arch Oral Biol*. 2016; 69:89-94.

95. Kobayashi T, Okada M, Ito S, Kobayashi D, Ishida K, Kojima A, Narita I, Murasawa A, Yoshie H. Assessment of interleukin-6 receptor inhibition therapy on periodontal condition in patients with rheumatoid arthritis and chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2014; 85(1):57-67.
96. Kojović D, Pejčić A, Obradović R, Marjanović D. *Parodontologija.* Niš: Galaksija; 2015.
97. Kopač I, Cvetko E, Marion L. Gingival inflammatory response induced by chemical retraction agents in beagle dogs. *Int J Prosthodont* 2002; 15:14-9.
98. Kopač I, Strele M, Marion Lj. Electron microscopic analysis of the effects of chemical retraction agents on cultured rat keratinocytes. *J Prosthet Dent* 2002;51-6.
99. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol* 2000. 1997; 14:33-53.
100. Köseoğlu S1, Sağlam M1, Pekbağrıyanık T1, Savran L1, Sütçü R. Level of Interleukin-35 in Gingival Crevicular Fluid, Saliva, and Plasma in Periodontal Disease and Health. *J Periodontol.* 2015; 86(8):964-71.
101. Kostadinović Lj, Apostolović M, Šurdilović D, Igić M, Tričković-Janjić O. Comparative analysis of the clinical and Pathohistologic gingival status in children. *Acta Stomatologica Naissi.* 2005; 21(52):535-546.
102. Kostić I, Mihailović D, Najman S, Stojanović S, Kostić M. The rabbit gingival tissue response to retraction liquids and tetrahydrozoline. *Vojnosanit Pregl* 2014; 71(1): 46–51.
103. Kostić I, Najman S, Kostić M, Stojanovic S. Uperedni pregled sredstava za retrakciju gingive. *Acta medica medianae* 2012; Vol.51(1):81-84.
104. Kostic I. Efekti primene sredstava za retrakciju gingive na eksperimentalnim modelima [disertacija]. Niš: Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet; 2015.
105. Kostic M, Igić M, Jevtovic Stoimenov T, Pejčić A, Pešić Stanković J. Determination of Salivary Myeloperoxidase, Immunoglobulin E, and Tumor Necrosis Factor- α after Complete Denture Insertion. *Med Princ Pract.* 2019; 28(4): 347–351.
106. Kroeger KM, Steer JH, Joyce DA, Abraham LJ. Effects of stimulus and cell type on the expression of the -308 tumour necrosis factor promoter polymorphism. *Cytokine.* 2000; 12(2):110-9.

107. Kumar N, Arthur CP, Ciferri C, Matsumoto ML. Structure of the secretory immunoglobulin A core. *Science*. 2020 28; 367(6481):1008-1014.
108. Kumbuloglu O, User A, Toksavul S, Boyacioglu H. Clinical evaluation of different gingival retraction cords. *Quintessence Int*. 2007; 38(2):e92-8.
109. Kurtiş B, Develioğlu H, Taner IL, Baloş K, Tekin IO. IL-6 levels in gingival crevicular fluid (GCF) from patients with non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM), adult periodontitis and healthy subjects. *J Oral Sci*. 1999; 41(4):163-7.
110. Kurtis B, Tuter G, Serdar M, Akdemir P, Uygur C, Firatli E, et al. Gingival crevicular fluid levels of monocyte chemoattractant protein-1 and tumor necrosis factor – alpha in patients with chronic and aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2005;76:1849–55.
111. Lamster I, Ahlo J. Analysis of Gingival Crevicular Fluid as Applied to the Diagnosis of Oral and Systemic Diseases. *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 2007; 1098:216–229
112. Laufer BZ, Baharav H, Langer Y, Cardash HS. The closure of the gingival crevice following gingival retraction for impression making. *J Oral Rehab* 1997; 24: 629-635.
113. Liu J, Duan Y. Saliva: a potential media for disease diagnostics and monitoring. *Oral Oncol*. 2012; 48(7):569-77.
114. Liu J, Zhang XM, Hao PJ, Hui M, Yu Hy. Comparison of cytotoxicity between chemical retraction agents on human gingival fibroblasts in vitro. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 2009; 27: 202.
115. Lodetti G, D’Abrosca F, Fontana P. Set up of in vitro methods to detect the safety of astringent liquids. *Minerva Stomatol* 2004; 53: 361-367.
116. Löe H. The gingival index, the plaque index and the Retention Index System. *J Periodontol* 1967; 38(6):610-616.
117. Luther SA, Cyster JG. Chemokines as regulators of T cell differentiation. *Nat Immunol* 2001; 2:102-7.
118. Maciej B, Olszewski, Arjan J, Groot, Jaroslaw Dastych and Edward F. Knol. TNF Trafficking to Human Mast Cell Granules: Mature Chain-Dependent Endocytosis. *J Immunol* 2007; 178(9):5701-5709.

119. Maciej B. Olszewski, Arjan J. Groot, Jaroslaw Dastych, Edward F. Knol. TNF Trafficking to Human Mast Cell Granules: Mature Chain-Dependent Endocytosis. *J Immunol* 2007; 178 (9):5701-5709.
120. Madrid C, Courtois B. Vinneau M. Recommendations to use vasoconstrictors in dentistry and oral surgery. *Med Bucc Chir Bucc* 2003; 9:1-30.
121. Maischberger C, Stawarczyk B, von Hajmasy A, Liebermann A. Hemostatic gingival retraction agents and their impact on prosthodontic treatment steps: A narrative review. *Quintessence Int.* 2018; 49(9):719-732.
122. Marina Maksimović-Simović. Efikasnost i bezbednost lečenja obolelih od reumatoidnog artritisa tnf-alfa inhibitorima. Doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet. Klinička medicina. 2017.
123. McCracken MS, Louis DR, Litaker MS, Minyé HM, Oates T, Gordan VV, Marshall DG, Meyerowitz C, Gilbert GH; National Dental PBRN Collaborative Group. Impression Techniques Used for Single-Unit Crowns: Findings from the National Dental Practice-Based Research Network. *J Prosthodont.* 2018; 27(8):722-732.
124. Melilli D, Mauceri R, Albanese A, Matranga D, Pizzo G. Gingival displacement using diode laser or retraction cords: A comparative clinical study. *Am J Dent.* 2018; 31(3):131-134.
125. Mirrielees J, Crofford LJ, Lin Y, Kryscio RJ, Dawson DR 3rd, Ebersole JL, Miller CS. Rheumatoid arthritis and salivary biomarkers of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2010; 37(12):1068-74.
126. Mitani A, Niedbala W, Fujimura T, Mogi M, Miyamae S, Higuchi N, Abe A, Hishikawa T, Mizutani M, Ishihara Y, Nakamura H, Kurita K, Ohno N, Tanaka Y, Hattori M, Noguchi T. Increased expression of interleukin (IL)-35 and IL-17, but not IL-27, in gingival tissues with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2015; 86(2):301-9.
127. Mocellin S, Rossi CR, Pilati P, Nitti D. Tumor necrosis factor, cancer and anticancer therapy. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16(1):35–53.
128. Morimoto Y, Kawahara KI, Tancharoen S, Kikuchi K, Matsuyama T, Hashiguchi T, Izumi Y, Maruyama I. Tumor necrosis factor-alpha stimulates gingival epithelial cells to release high mobility-group box 1. *J Periodontal Res.* 2008; 43(1):76-83.

129. Mozaffari HR, Sharifi R, Sadeghi M. Interleukin-6 levels in the serum and saliva of patients with oral lichen planus compared with healthy controls: a meta-analysis study. *Cent Eur J Immunol*. 2018; 43(1):103-108.
130. Nakano Y, Kobayashi W, Sugai S, Kimura H, Yagihashi S. Expression of tumor necrosis factor- α and interleukin 6 in oral squamous cell carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 1999; 90:858–66.
131. Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D, Wilcox JN. Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. *J Clin Invest* 1991; 88:1121–7.
132. Newman M, Takei H, Klokkevold P, Carranza F. Newman and Carranza's *Clinical Periodontology*. 13th Edition. Philadelphia, PA : Elsevier; 2019.
133. Nowakowska D, Panek H, Nowakowska M, Nowakowska A. Gingival retraction survey results of Polish dentists. Part 1. Method, materials and chemical retraction preferences. *Protet Stomatol* 2006; 56:352-360.
134. Nowakowska D, Panek H, Nowakowska M, Nowakowska A. Gingival retraction-survey results of Polish dentists. Part 2. Clinical habits related to retraction procedures. *Protet Stomatol* 2006; 56:361-366.
135. Nowakowska D, Saczko J, Kulbacka J, Choromanska A, Raszewski Z. Cytotoxic potential of vasoconstrictor experimental gingival retraction agents-in vitro study on primary human gingival fibroblasts. *Folia Biologica (Praha)* 2012; 58:37-43.
136. Nowakowska D, Saczko J, Kulbacka J, Choromanska A. Dynamic oxidoreductive potential of astringent retraction agents. *Folia Biol (Praha)* 2010; 56: 263-268.
137. Oates TW, Graves DT, Cochran DL. Clinical, radiographic and biochemical assessment of IL-1/TNF- α antagonist inhibition of bone loss in experimental periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 137–43.
138. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol*. 1996; 1(1):821-78.
139. Oppenheim JJ. *Clinical applications of cytokines*. Oxford University Press; 1993.
140. Ozaki K, Hanazawa S, Takeshita A, Chen Y, Watanabe A, Nishida K, et al. Interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α stimulate synergistically the expression of monocyte chemoattractant protein-1 in fibroblastic cells derived from human periodontal ligament. *Oral Microbiol Immunol* 1996; 11(2):109–14.

141. Özer Yücel Ö, Berker E2, Mesci L3, Eratalay K2, Tepe E4, Tezcan İ5. Analysis of TNF- α (-308) polymorphism and gingival crevicular fluid TNF- α levels in aggressive and chronic periodontitis: A preliminary report. *Cytokine*. 2015; 72(2):173-7.
142. Paniz G, Nart J, Gobbato L, Chierico A, Lops D, Michalakis K. Periodontal response to two different subgingival restorative margin designs: a 12-month randomized clinical trial. *Clin Oral Investig*. 2016; 20(6):1243-52.
143. Paniz G, Nart J, Gobbato L, Mazzocco F, Stellini E, De Simone G, Bressan E. Clinical Periodontal Response to Anterior All-Ceramic Crowns with Either Chamfer or Feather-edge Subgingival Tooth Preparations: Six-Month Results and Patient Perception. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2017; 37(1):61-68.
144. Pannicke T, Iandiev I, Wurm A, Uckermann O, vom Hagen F, Reichenbach A, Wiedemann P, Hammes HP, Bringmann A. Diabetes alters osmotic swelling characteristics and membrane conductance of glial cells in rat retina. *Diabetes*. 2006; 55(3):633-9.
145. Papadopoulos MC, Verkman AS. Aquaporin water channels in the nervous system. *Nat Rev Neurosci*. 2013; 14(4):265-77.
146. Paudel KR, Aiswal A, Parajuli U, Bajracharya M. Different pharmacological solutions in intracanal irrigation. *Nepal Med Coll J* 2011; 13(2):111-4.
147. Perry DA, Beemsterboer PL, Taggart EJ. *Periodontology for the Dental Hygienist*, 1st ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996: 20-22.
148. Pesce MA, Spitalnik SL. Saliva and the clinical pathology laboratory. *Ann N Y Acad Sci*. 2007; 1098:192-9.
149. Petrović M. Komparativno ispitivanje efikasnosti bazične, lasero- i fitoterapije kod pacijenata sa hroničnom parodontopatijom [disertacija]. Niš: Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet; 2018.
150. Phatale S, Marawar PP, Byakod G, Lagdive SB, Kalburge JV. Effect of retraction materials on gingival health: A hystopathological study. *J Indian Soc Periodontol*. 2010; 14:35-39.
151. Polat NT, Ozdemir AK, Turgut M. Effects of gingival retraction materials on gingival blood flow. *Int J Prosthodont* 2007; 20:57-62.

152. Poss S. An innovative tissue - retraction material. *Compend Contin Educ Dent* 2002; 23:13-17.
153. Pradeep AR, Daisy H, Hadge P, Garg G, Thorat M. Correlation of gingival crevicular fluid interleukin-18 and monocyte chemoattractant protein-1 levels in periodontal health and disease. *J Periodontol.* 2009; 80(9):1454-61.
154. Pradeep AR, Daisy H, Hadge P. Gingival crevicular fluid levels of monocyte chemoattractant protein-1 in periodontal health and disease. *Arch Oral Biol.* 2009; 54(5):503-9.
155. Pradeep AR, Daisy H, Hadge P. Serum levels of monocyte chemoattractant protein-1 in periodontal health and disease. *Cytokine.* 2009; 47(2):77-81.
156. Prasad KD, Hegde C, Agrawal G, Shetty M. Gingival displacement in prosthodontics: A critical review of existing methods. *J Interdiscip Dentistry* 2011; 1: 80-86.
157. Radlović-Pantelić S. *Stomatološka protetika fiksne nadoknade II deo.* Beograd. Zavod za grafičku tehniku Tehnološko-metalurškog fakulteta, 1998.
158. Ray, A., Tatter, S. B., May, L. T., & Sehgal, P. B. Activation of the human “b2-interferon/hepatocyte-stimulating factor/interleukin 6” promoter by cytokines, virus, and second messenger agonists. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1988; 85: 6701–6705.
159. Rayyan MM, Hussien ANM, Sayed NM, Abdallah Comparison of four cordless gingival displacement systems: A clinical study. R, Osman E, El Saad NA, Ramadan S. *J Prosthet Dent.* 2019; 121(2):265-270.
160. Rhodus NL, Cheng B, Myers S, Bowles W, Ho V, Ondrey F. A comparison of the pro-inflammatory, NF-kappaB-dependent cytokines: TNF-alpha, IL-1-alpha, IL-6, and IL-8 in different oral fluids from oral lichen planus patients. *Clin Immunol.* 2005; 114(3):278-83.
161. Rossi D, Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors. *Annu Rev Immunol* 2000;18:217–42.
162. Rossomando EF, Kennedy JE, Hadjimichael J. Tumour necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in humans. *Arch Oral Biol* 1990; 35:431–4.

163. Ruel J, Schuessleb PJ, Malament et al. Effect of retraction procedures on periodontium in humans. *J Prosthet Dent* 1980; 44:508-515.
164. Ryskamp DA, Jo AO, Frye AM, Vazquez-Chona F, MacAulay N, Thoreson WB, Križaj D. Swelling and eicosanoid metabolites differentially gate TRPV4 channels in retinal neurons and glia. *J Neurosci*. 2014 19; 34(47):15689-700.
165. S S, Ma VS, Mi VS, F HG, M H. Gingival Retraction Methods for Fabrication of Fixed Partial Denture: Literature Review. *J Dent Biomater*. 2016; 3(2):205-213.
166. Schroeder HE, Listgarten MA. The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. *Periodontol* 2000. 1997; 13:91-120.
167. Shannon A. Expanded clinical uses of a novel tissue-retraction material. *Compend Contin Educ Dent* 2002; 23(1 Suppl): 3-6.
168. Shaw DH, Krejci RF, Cohan DM. Retraction cords with aluminium chloride: effect on the gingival. *Oper Dent* 1980; 5:138-141.
169. Shimada Y, Komatsu Y, Ikezawa-Suzuki I, Tai H, Sugita N, Yoshie H. The effect of periodontal treatment on serum leptin, interleukin-6, and C-reactive protein. *J Periodontol*. 2010; 81(8):1118-23.
170. Simpson RJ, Hammacher A, Smith DK, Matthews JM, Ward LD. Interleukin-6: structure-function relationships. *Protein Sci*. 1997; 6(5):929-55.
171. Srirangan S, Choy EH. The Role of Interleukin 6 in the Pathophysiology of Rheumatoid Arthritis. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2010; 2(5):247–256.
172. St John MAR, Li Y, Zhou XF, Denny P, Ho CM, Montemagno C, et al. Interleukin 6 and interleukin 8 as potential biomarkers for oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;130(8):929–35.
173. Stuffken M, Vahidi F. Preimpression troughing with the diode laser: A preliminary study. *J Prosthet Dent*. 2016; 115(4):441-6.
174. Tabassum S, Adnan S, Khan FR. Gingival Retraction Methods: A Systematic Review. *J Prosthodont*. 2017; 26(8):637-643.
175. Takahashi K, Takashiba S, Nagai A, Takigawa M, Myoukai F, Kurihara H, Murayama Y. Assessment of interleukin-6 in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol*. 1994; 65(2):147-53.

176. Tanaka T, Narazaki M, Masuda K, Kishimoto T. Regulation of IL-6 in Immunity and Diseases. *Adv Exp Med Biol, Adv Exp Med Biol*. 2016; 941:79-88.
177. Tarighi P, Khoroushi M. A review on common chemical hemostatic agents in restorative dentistry. *Dent Res J (Isfahan)*. 2014; 11(4):423-8
178. Thomas MS, Joseph RM, Parolia A. Nonsurgical gingival displacement in restorative dentistry. *Compend Contin Educ Dent* 2011; 32(5):26-34.
179. Tonetti MS, Imboden MA, Gerber L, Lang NP, Laissue J, Mueller C. Localized expression of mRNA for phagocytic specific chemotactic cytokines in human periodontal infections. *Infect Immun* 1994; 62:4005–14.
180. Tosches NA, Salvi GE. Gingival retraction methods. A literature review. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2009; 119:121-138.
181. Toyman U, Tüter G, Kurtiş B, Kıvrak E, Bozkurt Ş, Yücel AA, Serdar M. Evaluation of gingival crevicular fluid levels of tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor 2, matrix metalloproteinase-3 and interleukin 1- β in patients with different periodontal diseases. *J Periodontal Res*. 2015; 50(1):44-51.
182. Trifunović D, Vujošević Lj. *Stomatološka protetika fiksne nadoknade*. Beograd, Evropski centar za mir i razvoj, 1998.
183. Uitto VJ. Gingival crevice fluid--an introduction. *Periodontol* 2000. 2003; 31:9-11.
184. Valente AJ, Graves DT, Vialle-Valentin CE, Delgado R, Shwartz CJ. Purification of a monocyte chemotactic factor secreted by nonhuman primate vascular cells in culture. *Biochemistry* 1988; 27: 4162-8.
185. Van Damme J, Proost P, Put W, Arens S, Lenaerts JP, Conings R, et al. Induction of monocyte chemotactic proteins MCP-1 and MCP-2 in human fibroblasts and leukocytes by cytokines and cytokine inducers. Chemical synthesis of MCP-2 and development of a specific RIA. *J Immunol* 1994; 152:5495–502.
186. Vasanthi P, Nalini G, Rajasekhar G. Role of tumor necrosis factor-alpha in rheumatoid arthritis: a review. *APLAR Journal of Rheumatology*. 2007; 10(4):270–274.
187. Veitz-Keenan A, Keenan JR. To cord or not to cord? That is still a question. *Evid Based Dent*. 2017; 18(1):21-22.

188. Villiger PM, Terkeltaub R, Lotz M. Production of monocyte chemoattractant protein-1 by inflamed synovial tissue and cultured synoviocytes. *J Immunol* 1992; 149:722–7.
189. Wang Y, Fan F, Li X, Zhou Q, He B, Huang X, Huang S, Ma J. Influence of gingival retraction paste versus cord on periodontal health: a systematic review and meta-analysis. *Quintessence Int.* 2019; 50(3):234-244.
190. Ward SG, Bacon K, Westwick J. Chemokines and T lymphocytes; more than attraction. *Immunity* 1998; 9: 1-11.
191. Wassell RW, Barker D, Walls AW. Crowns and other extracoronal restorations: impression materials and technique. *Br Dent J* 2002; 192:679-684, 687-690.
192. Wostmann B, Rehmann P, Balkenhol M. Influence of different retraction techniques on cervicular fluid flow. *Int J Prosthodont* 2008; 21:215-216.
193. Woycheshin FF. An evaluation of the drugs used for gingival retraction. *J Prosthet Dent* 1964; 14:769-776.
194. Yavuzylmaz E, Yamalik N, Bulut S, Ozen S, Ersoy F, Saatci U. The gingival crevicular fluid interleukin-1 beta and tumour necrosis factor-alpha levels in patients with rapidly progressive periodontitis. *Aust Dent J* 1995;40: 46–9.
195. Yu X, Barnhill RT, Graves DT. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in delayed type hypersensitivity reactions in the skin. *Lab Invest* 1994;71:235–66.
196. Yücel OO. Inflammatory Cytokines and the Pathogenesis of Periodontal Disease. *Immunome Res* 2015; 11(2). 1000093.

BIOGRAFIJA AUTORA

Marko Igić je rođen 7.9.1985. godine u Nišu, gde je završio osnovnu i srednju školu. Medicinski fakultet u Nišu, studijska grupa Stomatologija, upisao je 2004. god. i diplomirao 2010. god. sa najvećom prosečnom ocenom u generaciji (9,89).

Pripravničko-volonterski staž obavio je na Klinici za stomatologiju u Nišu u toku 2010/2011. godine. Stručni ispit za doktora stomatologije položio je 1.6.2011. godine.

Radni odnos na Katedri za stomatološku protetiku na Medicinskom fakultetu u Nišu, na mestu saradnika u nastavi, zasnovao je 15.11.2012. U tom statusu bio je do 15. Novembra 2014. god. Na sednici Nastavno - Naučnog Veća održanoj 24.6.2015. god. izabran je u istraživačko zvanje - istraživač pripravnik. Na sednici Izbornog veća Medicinskog fakulteta u Nišu 2017. godine izabran je u zvanje asistenta za UNO Stomatološka protetika - pretklinika.

Na završnoj je godini specijalizacije iz Stomatološke protetike.

Bio je stipendista Ministarstva Prosvete i sporta Republike Srbije, 2007. godine; stipendista grada Niša 2008. i 2010. godine; stipendista Vlade Republike Srbije – Fonda za mlade talente Republike Srbije, školske 2008/09. godine; stipendista Ministarstva Prosvete i nauke Republike Srbije.

Kao stipendista Ministarstva Prosvete i nauke Republike Srbije bio je angažovan na projektu koji je finansiran od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije pod nazivom. „Preventivni, terapijski i etički pristup u pretkliničkim i kliničkim istražavanjima gena i modulatora redoks ćelijske signalizacije u imunskom, inflamatornom i proliferativnom odgovoru ćelije“. Broj projekta 041018.

Trenutno je angažovan na internom projektu Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu, br. 1114629-4/11.

Autor je i koautor većeg broja naučnih radova publikovanih u časopisima nacionalnog i međunarodnog značaja.

Aktivno se služi engleskim jezikom.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

**ИСПИТИВАЊЕ ИНФЛАМАТОРНОГ ЕФЕКТА ХЕМИЈСКО - МЕХАНИЧКЕ
МЕТОДЕ РЕТРАКЦИЈЕ ГИНГИВЕ ПРИ ИЗРАДИ ФИКСНИХ ПРОТЕТИЧКИХ
НАДОКНАДА**

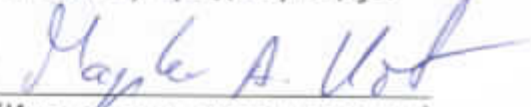
која је одбрањена на Медицинском факултету Универзитета у Нишу:

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

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

У Нишу, _____

Потпис аутора дисертације:


(Име, средње слово и презиме)

Изјава 2.

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

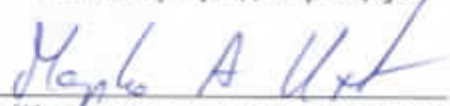
Наслов дисертације:

**ИСПИТИВАЊЕ ИНФЛАМАТОРНОГ ЕФЕКТА ХЕМИЈСКО - МЕХАНИЧКЕ
МЕТОДЕ РЕТРАКЦИЈЕ ГИНГИВЕ ПРИ ИЗРАДИ ФИКСНИХ ПРОТЕТИЧКИХ
НАДОКНАДА**

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

У Нишу, _____

Потпис аутора дисертације:


(Име, средње слово и презиме)

Изјава 3:

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

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

ИСПИТИВАЊЕ ИНФЛАМАТОРНОГ ЕФЕКТА ХЕМИЈСКО - МЕХАНИЧКЕ МЕТОДЕ РЕТРАКЦИЈЕ ГИНГИВЕ ПРИ ИЗРАДИ ФИКСНИХ ПРОТЕТИЧКИХ НАДОКНАДА

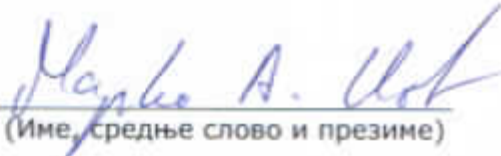
Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском облику, погодном за трајно архивирање.

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

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

У Нишу, _____

Потпис аутора дисертације:


(Име, средње слово и презиме)

¹ Аутор дисертације обавезан је да изабере и означи (заокружи) само једну од шест предложених лиценци; опис лиценци дат је у наставку текста