

## ULOGA OKSIDATIVNOG STRESA I SISTEMA ANTIOKSIDATIVNE ZAŠTITE U PARODONTOPATIJI

Vesna Obradović  
Zavod za stomatologiju, Kragujevac

## THE ROLE OF OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDANT DEFENCE SYSTEM IN PERIODONTITIS

Vesna Obradovic  
Institute of Dentistry, Kragujevac, Serbia

### SAŽETAK

Prevalenca parodontalnih oboljenja veoma je visoka u adultnoj populaciji. Prema rezultatima istraživanja u SAD, čak je 46% ukupne populacije bilo zahvaćeno parodontalnom bolešću u periodu od 2010. do 2012, što znači da je 64,7 miliona ljudi imalo parodontopatiju, a od toga 8% tešku formu bolesti. Imajući u vidu klinički i socioekonomski značaj parodontopatije, ovaj pregledni rad ima za cilj da na sveobuhvatan način predstavi patogenetske aspekte, s posebnim osvrtom na oksidativni stres i antioksidativne mehanizme zaštite kao moguće molekularne mehanizme nastanka i razvoja parodontopatije kod odraslih. Oksidativni stres je uključen u progresiju ovog oboljenja kao hronične inflamatorne bolesti parodontijuma, koji nastaje kao posledica neravnoteže između odgovora domaćina i bakterijske infekcije. U isto vreme nastaju i smanjena antioksidativna aktivnost i smanjen kapacitet pljuvačnih žlezda, što doprinosi daljem razvoju ove bolesti. MDA je najčešći derivat lipidne peroksidacije koji nastaje u parodontopatiji. Svi navedeni literaturni podaci navode na zaključke da povišene vrednosti MDA mogu biti posledica i lokalnog i sistemskog oksidativnog stresa kao odgovora na inflamatornu parodontalnu bolest, samostalno ili u kombinaciji s drugim sistemskim poremećajima i pušenjem. Štetni efekti ROS tokom oksidativnog stresa odigravaju se kroz procese lipidne peroksidacije i ireverzibilnu modifikaciju proteina do ćelijske apoptoze i programirane ćelijske smrti. Pored dva najznačajnija signalna puta (kaspaza put i NADPH oksidaza-4 put), još nekoliko signalnih puteva posreduje u oksidativnim oštećenjima ćelije: PERK/NRF2 signalni put, JNK/mitogen-aktivirajući put (MAP). Istraživači su otvoreni za ideju o uvođenju biohemijских analiza koje bi pomogle u dijagnostikovanju inflamatornog procesa u parodontijumu pre nego što on postane vidljiv na kliničkom nivou. Upravo iz tog razloga, nesumnjiv je značaj poznavanja uloge oksidativnog stresa, antioksidativne zaštite organizma kao i molekularnih mehanizama kojima oštećenje nastaje. Procena i merenje biomarkera oksidativnog stresa i enzima antioksidativne zaštite mogu imati veliki značaj u praćenju biohemijских pokazatelja stanja parodontijuma i čak pomoći različitim metodama lečenja parodontopatije.

**Ključne reči:** oksidativni stres; antioksidansi; parodontopatija; lipidna peroksidacija; prenos signala

### ABSTRACT

The prevalence of periodontal disease is very high in the adult population. According to research results, as much as 46% of the total population was affected by periodontal disease in the period from 2010 to 2012, which would mean that 64.7 million people had periodontitis, of which 8% had a severe form of this disease. Having in mind the clinical and socioeconomic significance of periodontitis, this review aims to present in a comprehensive way the pathogenetic aspects of periodontitis with a special emphasis on oxidative stress and antioxidant protection mechanisms as possible molecular mechanisms for the development of periodontitis in adults. Oxidation stress is involved in the progression of periodontitis as a chronic inflammatory disease of periodontium, which occurs as a result of imbalance between host response and bacterial infection. At the same time there is a decreased antioxidant activity and salivary gland capacity, which contributes to the further development of this disease. MDA is the most common lipid peroxidation derivative that occurs in periodontitis. All of the mentioned literature data suggest that the elevated MDA values may be due to both local and systemic oxidative stress as a response to inflammatory periodontal disease alone or in combination with other systemic disorders and smoking. The harmful effects of ROS during oxidative stress occur through lipid peroxidation processes and irreversible protein modification to cell apoptosis and programmed cell death. In addition to the two most important signal pathways, caspase pathway and NADPH oxidase-4 pathway, several other signaling pathways mediate in oxidative cell damage: PERK/NRF2 signal path, JNK / mitogen-activating pathway (MAP). When a clinically visible inflammatory process occurs in periodontium, this usually presents a condition that is more or less irreversible. In parodontology, therefore, the idea of introducing biochemical analyzes to diagnose the inflammatory process in parodontium is still open before it can be seen at the clinical level. For this reason, the significance of the role of oxidative stress, the antioxidant protection of the organism and the molecular mechanisms by which damage occurs is an indisputable importance. Assessment and measurement of biomarkers of oxidative stress and antioxidant enzymes can play a central role in monitoring biochemical indicators of parodontium state and even assist with various methods of treatment of periodontal disease.

**Key words:** oxidative stress; antioxidants; periodontitis; lipid peroxidation; signal transduction.

## UVOD

Zapaljenje potpornog aparata zuba veoma je česta inflamatorna bolest, koja nastaje posle bakterijske infekcije u usnoj duplji i posledično progredira do izmenjenog odgovora domaćina (1). Do imunološkog odgovora tkiva parodonticijuma dolazi usled nakupljanja dentalnog biofilma, što za cilj ima sprečavanje širenja lokalne infekcije u sistemsku. Parodontopatija može rezultirati destrukcijom zuba i potpornih tkiva, sa eliminacijom zahvaćenih zuba, ali može da ima i sistemske efekte na druge organe i organske sisteme (2,3).

Prevalenca parodontopatije je veoma visoka u adultnoj populaciji. Prema rezultatima upitnika sprovedenog u Sjedinjenim Američkim Državama o opštem zdravstvenom stanju (The Third National Health and Nutrition Examination Survey [NHANES]), kod čak 46% ukupne populacije bila je prisutna parodontopatija u periodu od 2010. do 2012. godine, što znači da je 64,7 miliona ljudi imalo to oboljenje, od čega 8% tešku formu bolesti (4). Rezultati evropskih istraživanja pokazuju sličnu tendenciju porasta broja obolelih od parodontalnih oboljenja, koja predstavljaju sve veći socioekonomski problem (5). Smatra se da čak 10% ukupne svetske populacije ima parodontopatiju, koja se razvila samostalno ili u sklopu drugih sistemskih bolesti (6).

Zapaljenje potpornog aparata zuba je klinički entitet opisan prvi put pre više od 5.000 godina (7,8). Kliničari i istraživači danas razlikuju nekoliko različitih formi ovog oboljenja sa veoma različitim kliničkim manifestacijama i stepenom progresije. Osim akutne forme, koja je najčešće u formi gingivitisa, hronična forma predstavlja progresivnu bolest, koja zahvata gingivu, parodontalne ligamente i alveolarnu kost, u čijoj je osnovi gingivalni inflamatorni proces koji dalje progresivno zahvata potporni aparat zubnih struktura i dovodi do resorpcije alveolarnog koštanog tkiva (7,8). Postavljanje dijagnoze se zasniva pre svega na kliničkom nalazu u oralnoj duplji. Dve primarne forme parodontalne bolesti jesu gingivitis i parodontopatija, koje treba razlikovati u kliničkom smislu. Gingivitis predstavlja umereno i reverzibilno stanje, koje odlikuju rana forma inflamatorne bolesti i promene koje su ograničene na gingivu i okolno tkivo, ali bez gubitka funkcije pripojnog eptela, dok parodontopatija predstavlja skup ireverzibilnih inflamatornih promena, koje zahvataju i periodontalni ligament i alveolarnu kost, sa nepovoljnim prognostičkim karakterom (9).

U održavanju oralne homeostaze, odnosno održavanju integriteta mekih i čvrstih tkiva oralne sredine, značajnu ulogu ima sekret pljuvačnih žlezda – pljuvačka. Pošto je u stalnom kontaktu sa oralnim tkivima, precizno odražava sva zbivanja u njima, i fiziološka i patološka, pa je autori nazivaju „ogledalom oralnog zdravlja“. Zbog toga ovaj sekret predstavlja pogodnu dijagnostičku tečnost u kojoj

se mogu analizirati brojni markeri oboljenja oralnih tkiva (8–11). Od posebnog značaja je antioksidativna uloga pljuvačke. Ona se ogleda u neutralizaciji slobodnih radikala i umanjenju oksidativnog oštećenja ćelija parodontalnih tkiva, što ovaj sekret ostvaruje zahvaljujući prisustvu enzimskih i neenzimskih antioksidanasa, među kojima se izdvajaju salivarna peroksidaza, superoksid dizmutaza, glutation peroksidaza, katalaza, mokraćna kiselina i albumin. Analiziranje ukupnog antioksidativnog kapaciteta pljuvačke i njenih antioksidanasa značajno je za bolje razumevanje patogeneze parodontopatije i uvođenje novih preventivnih mera (8–11).

Imajući u vidu klinički i socioekonomski značaj parodontopatije, ovaj pregledni rad ima za cilj da na sveobuhvatan način predstavi patogenetske aspekte ovog oboljenja, s posebnim osvrtom na oksidativni stres i antioksidativne mehanizme zaštite kao moguće molekularne mehanizme nastanka i razvoja parodontopatije kod odraslih.

## NASTANAK SLOBODNIH RADIKALA U PARODONTOPATIJI

Oksidativni stres je stanje neravnoteže između proizvodnje slobodnih radikala i sposobnosti sistema antioksidativne zaštite da je redukuje (10). Slobodni radikali su klasifikovani na reaktivne kiseonične vrste (ROS) i reaktivne azotne vrste (RNS) koje poseduju nesparene elektrone. ROS, u koje spadaju superoksid anjon, hidroksil, alkoksil i peroksil radikalski kao i neradikalski oblici (vodonik-peroksid i singlet kiseonik), i RNS, u koje spadaju azot-monoksid, azot-dioksid i peroksinitrit prirodni su oksidansi, uključeni u veliki broj biohemijskih reakcija na nivou ćelije koje su esencijalne za njen život, ali mogu biti štetni kada se proizvode u velikoj količini. Slobodni radikali mogu uzrokovati oštećenje svih esencijalnih biokomponenti kao što su DNK, proteini, membranski lipidi, i time izazvati ćelijsku smrt (10–12).

Literaturni podaci navode da su mnoge oralne bolesti kao što su parodontopatije, dentalni karijes, maligne bolesti usne duplje i HIV/AIDS udružene i s pojavom oksidativnog stresa (13,14). Oksidativni stres je uključen u progresiju parodontopatije kao hronične inflamatorne bolesti parodonticijuma i nastaje kao posledica neravnoteže između odgovora domaćina i bakterijske infekcije. U isto vreme nastaju i smanjena antioksidativna aktivnost i kapacitet pljuvačnih žlezda, što doprinosi daljem razvoju ove bolesti. Među glavnim etiološkim faktorima pominje se *Porphyromonas gingivalis*, pored *Prevotella intermedia* i *Eikenella corrodens*. *Porphyromonas gingivalis* se najčešće izoluje kod pacijenata s parodontopatijom, a reč je o gram-negativnom asaharolitičnom anaerobu, koji formira tamne kolonije na krvnom agaru, sa izraženim

destruktivnim potencijalom prema epitelnim, endotelnim i glatkim mišićnim ćelijama (15,16). Neutrofili su prva linija odbrane od bakterijske infekcije i aktiviraju se nakon formiranja patogenog biofilma u usnoj duplji domaćina, koje sada postaju dominantan izvor ROS u borbi protiv inflamacije. Usled stimulacije od strane patogena, neutrofili proizvode  $O_2^-$  putem metaboličkog puta zvanog „respiratorno sagorevanje“ katalizovanog pomoću nikotinamid-adenin dinukletid oksidaze (NADPH) tokom fagocitoze. Nastali  $O_2^-$  može biti oslobođen u fagocitarni i ekstracelularni prostor, a zatim i konvertovan u različite radikalske i neradikalske oblike kao što su vodonik-peroksid ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikal ( $OH\cdot$ ) i singlet kiseonik ( $^1O_2$ ) (13–17). ROS su veoma reaktivne vrste sa veoma kratkim poluzivotom, ali i potencijalom da za kratko vreme postojanja uzrokuju direktno oštećenje tkiva. One zatim pokreću niz reakcija u kojima nastaju i drugi produkti i biomarkeri oksidativnog stresa (17).

### PRODUKTI LIPIDNE PEROKSIDACIJE U PARODONTOPATIJI

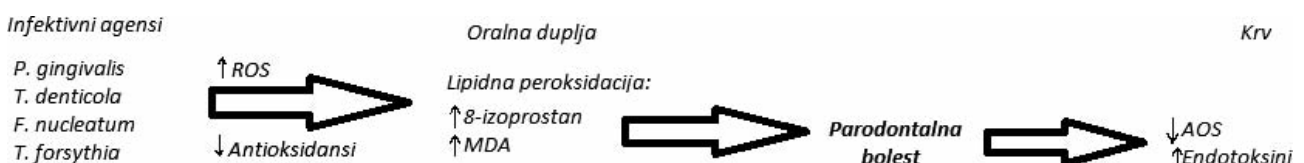
Lipidna peroksidacija i njeni produkti najčešće su ispitivani derivati ROS u parodontopatiji (18–20). Lipidna peroksidacija nastaje kao rezultat delovanja slobodnih radikala usled kojih nastaju strukturalne i funkcionalne promene ćelijske membrane. Tada nastaju produkti lipidne peroksidacije kao što su malonildialdehid (MDA), 4-hidroksi-2-115-nonenal (HNE) i izoprostan kao posledica i lokalnog i sistemskog oksidativnog stresa (18–24) (slika 1). Detaljnije, peroksidacija lipida se odvija u tri faze: inicijacija, propagacija i terminacija. Tokom I faze, faze inicijacije, dolazi do eliminacije vodonikovog atoma metilenske grupe molekula nezasićene masne kiseline (LH) pod uticajem snažnog oksidanta, npr. hidroksil radikala, peroksil radikala i dr. (18,19). Nastali alkil-radikal (L) u II fazi, fazi propagacije, sa kiseonikom gradi peroksil radikal (LOO), koji omogućava nastavak lančane reakcije, pri čemu se formira novi alkil radikal, dok se peroksil radikal stabilizuje gradeći hidroperoksid (LOOH) (20). Na ovaj način se faza propagacije ponavlja više puta gde hidroperoksidi podležu daljim reakcijama, pri čemu se stvaraju novi slobodni radikali ili se razlažu najčešće do malondialdehida (MDA) i isparljivih ugljovodonika. Treća faza, faza lipidne peroksidacije, terminacija, obuhvata reakcije koje se odigravaju između slobodnih radikala, pri čemu nastaju tercijarni produkti oksidacije, stabilni i nereaktivni dimeri i polimeri (18–24).

### Malonildialdehid (MDA)

MDA je najčešći derivat lipidne peroksidacije koji nastaje u parodontopatiji (18,19). Detektuje se standardnom spektrofotometrijskom konvencionalnom metodom, koja se zasniva na reakciji sa tiobarbituratnom kiselinom (TBA), koja služi i za određivanje drugih aldehida produkata lipidne peroksidacije koji su reaktivni sa TBA, pa je stoga nespecifična metoda. Dokazano je da je parodontopatija pozitivno povezana sa visokom koncentracijom TBARS u plazmi i eritrocitima, kao i lokalno, u gingivalnom tkivu odraslih i dece sa gingivitisom (20). Prethodne kliničke studije potvrđuju i povezanost visokih nivoa MDA kod pacijenata s parodontopatijom u poređenju sa zdravim ispitanicima (18–23). S druge strane, neke studije navode da uticaj ovog oboljenja na sistemski oksidativni stres može biti ograničen. Lui i saradnici i njihova studija tipa metaanalize, koja je uključila pet studija koje su ispitivale dinamiku MDA u parodontopatiji, nedvosmisleno pokazuju da ovo oboljenje nije uticalo na povećanje sistemskog MDA iako su lokalne vrednosti ovog markera lipidne peroksidacije bile povišene (25). Nakon toga, studije opisuju i značajnu ulogu komorbiditeta kod pacijenata sa parodontopatijom u nastanku sistemskog oksidativnog stresa. Stanja poput šećerne bolesti, hiperlipidemije i akutnog koronarnog sindroma značajni su faktori nastanka i progresije ROS proizvodnje (22,26). Osim toga, pušenje predstavlja jedan od najvažnijih faktora za nastanak parodontopatije, ali i za nastanak povišenih vrednosti sistemskog MDA kod pušača, nezavisno od zapaljenja potpornog aparata zuba (21). Svi navedeni literaturni podaci navode na zaključke da povišene vrednosti MDA mogu biti posledica i lokalnog i sistemskog oksidativnog stresa kao odgovora na inflamatornu parodontalnu bolest samostalno ili u kombinaciji s drugim sistemskim poremećajima i pušenjem.

### 4-hidroksi-2-115-nonenal (HNE)

HNE je drugi značajan aldehid i krajnji produkt lipidne peroksidacije, međutim, o samoj ulozi HNE još uvek se malo zna. U studiji koju su sproveli Hendek i saradnici objavljeni su rezultati istraživanja kod ispitanika sa parodontopatijom koji ukazuju na povišene vrednosti HNE kod obolelih u odnosu na zdrave ispitanike (27). S druge strane, druga istraživanja navode podatke da su nivoi HNE bili povišeni u serumu pacijenata, ali ne i u



Slika 1. Shematski prikaz povezanosti parodontalne bolesti i lipidne peroksidacije.

pljuvački (28). U toku su istraživanja koja treba da razjasne da li se vrednosti HNE menjaju nakon terapije parodontalne bolesti jer se u toj oblasti pojavljuje najviše kontroverznih informacija (27,28).

### Izoprostan

Izoprostan je produkt peroksidacije arahidske kiseline koji se iz bioloških uzoraka (serum, plazma i urin) kod obolelih od parodontopatije određuje kao veoma pouzdan marker. Nekoliko studija, koje su istraživale povezanost ovog markera s parodontalnim bolestima, pokazalo je da je 8-epi-prostaglandin F2 alfa, kao jedan od izoprostana, bio značajno povišen kod pacijenata sa parodontopatijom i gingivitisom, i to naročito u težim formama bolesti (29,30). Određivanje 8-izoprostana predstavlja alternativni način potvrde lipidne peroksidacije, naročito u proceni sistemskog hroničnog oksidativnog stresa. Pozitivna korelacija izoprostana primećena je i sa koncentracijom antitela koja nastaju kao odgovor na bakterije *Porphyrromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* i *Eikenella corrodens* kao uzročnike parodontalne bolesti (31). Istraživanja sugerišu da bi određivanje specifičnih izoprostana moglo biti obećavajuće dijagnostičko sredstvo u detektovanju oksidativnog stresa u parodontopatiji, ali da su svakako neophodne i longitudinalne i prospektivne studije sa većim brojem ispitanika koje bi potvrdile ove pretpostavke.

## ANTIOKSIDATIVNA ZAŠTITA U PARODONTOPATIJI

Antioksidativna zaštita organizma podrazumeva aktivnost enzimskih i neenzimskih jedinjenja u borbi protiv slobodnih radikala (32). U enzimske spadaju glutation peroksidaza, mijeloperoksidaza, superoksid dizmutaza i katalaza. U neenzimske antioksidante se ubrajaju: tioli, odnosno sulfhidrilna jedinjenja poput glutationa (GSH), vitamini C i E, karotenoidi, flavonoidi i drugi sekundarni biomolekuli. U parodontopatiji značajnu ulogu u odbrani od bakterijske infekcije ima pljuvačka (32-34). Od posebnog značaja je njena antioksidativna uloga. Ona se ogleda u neutralisanju slobodnih radikala i umanjenju oksidativnog oštećenja ćelija parodontalnih tkiva, što ovaj sekret ostvaruje zahvaljujući prisustvu enzimskih i neenzimskih antioksidanasa. Među njima se izdvajaju salivarna peroksidaza, superoksid dizmutaza, glutation peroksidaza, katalaza, mokraćna kiselina i albumin. Analiziranje ukupnog antioksidativnog kapaciteta pljuvačke i njenih antioksidanasa značajno je za bolje razumevanje patogeneze parodontopatije i uvođenje novih preventivnih mera (35). Za razliku od enzimskih antioksidanasa, koji predstavljaju prirodnu sposobnost organizma, neenzimski antioksidansi najčešće se unose iz

egzogene sredine i mogu poboljšati prirodnu otpornost organizma u borbi protiv uzročnika parodontalnih bolesti (33-36).

Aktivnost SOD i CAT merena je u gingivalnom tkivu ispitanika i primećena je smanjena aktivnost ovih enzima, i to proporcionalno povećanju parodontalnog oštećenja (39). Takođe, aktivnost SOD i GPx je smanjena kod pacijenata sa parodontopatijom (20). Literaturni podaci navode i negativnu povezanost između nivoa 8-izoprostana i MDA i aktivnosti SOD i GPx, pored korelacije kliničkih parametara i enzimskih antioksidanasa (39). Metaanaliza, koja je obuhvatila studije koje su pratile aktivnost SOD kod ispitanika s parodontopatijom i bez nje, s druge strane, nije potvrdila značajnu razliku ovog enzimskog antioksidansa poređenjem ove dve populacije (25). Definitivno, u literaturi su konzistentniji rezultati o neenzimskim antioksidansima u parodontopatiji, i to verovatno zbog metodološki jednostavnijeg pristupa prilikom njihovog ispitivanja.

### Enzimski antioksidansi pljuvačke

Oralna peroksidaza (OP) sastoji se iz dva peroksidazna enzima: mijeloperoksidaze (20%) i salivarne peroksidaze (80%). Mijeloperoksidaza (MPO) jeste enzim koji sadrže leukociti (neutrofili i monociti). U prisustvu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formira se sa MPO kompleks enzim supstrat, koji ima sposobnost da oksidiše hloride i jodide pljuvačke, pri čemu nastaju toksični proizvodi. Oksidacijom hlorida ovim kompleksom dobija se hipohlorna kiselina (HOCl), koja ispoljava baktericidno delovanje na mnoge oralne bakterije. Aktivnost MPO u salivi je povećana u toku inflamatornih procesa u oralnoj sredini, što je posledica prisustva većeg broja polimorfonukleara. Ovaj enzim, kao i salivarna peroksidaza, učestvuje u nespecifičnoj antibakterijskoj odbrani oralne sredine (27-34). Salivarnu peroksidazu luče acinusne ćelije parotidne i submandibularne pljuvačne žlezde (26-28). Uloga salivarne peroksidaze je redukcija vodonik-peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), produkta metabolizma oralnih bakterija.

Katalaza, po strukturi tetramer, u fiziološkim uslovima sprečava veće stvaranje H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ovaj enzim učestvuje u razgradnji H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> do molekuskog kiseonika i vode. Aktivnost ovog enzima se povećava prilikom povećane produkcije H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, jer aktivno učestvuje u uklanjanju H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (31-35).

Superoksid dizmutaza (SOD) katalizuje reakciju dismutacije superoksidnog anjon radikala (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) u vodonik-peroksid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) i kiseonik (O<sub>2</sub>). Poznato je da kod eukariota, uključujući i čoveka, postoje tri izoforme SOD: Cu i Zn-zavisna-SOD (citozolski enzim), Mn-zavisna-SOD (matriks mitohondrija) i ekstracelularna SOD, dok prokariotske ćelije sadrže Fe i Mn-zavisnu SOD (20,34, 36).

Glutation peroksidaza (GSH peroksidaza), po strukturi tetramer, ima primarnu ulogu u neutralisanju vodonik-peroksida i sprečavanju H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-zavisnog mehanizma produkcije slobodnih radikala. Glutation peroksidaza koristi redukovani glutation (GSH) kao davaoca redukujućih ekvivalenata, pri čemu se stvaraju oksidovani glutation (GSSG) i voda. Da bi se odigravala kontinuirana redukcija vodonik-peroksida, neophodno je stalno obnavljanje GSH, a ovu reakciju katalizuje NADPH-zavisna glutation reduktaza (GSSG reduktaza) (33-38).

### *Neenzimski antioksidansi pljuvačke*

Pljuvačka u svom sastavu sadrži i neenzimske antioksidanse, od kojih je najznačajnija mokraćna kiselina, a u manjoj koncentraciji prisutni su i albumini, vitamin C i glutation. Mokraćna kiselina (*acidum uricum*) krajnji je proizvod metabolizma purinskih nukleotida. Dovoljno visoka koncentracija mokraćne kiseline u krvnoj plazmi čoveka rezultat je nemogućnosti dalje razgradnje mokraćne kiseline zbog nedostatka enzima urikaze kao i reapsorpcije na nivou bubrežnih tubula. Ovaj metabolit ima značajnu ulogu u ukupnom antioksidativnom kapacitetu krvne plazme iako njegovo prisustvo u pljuvački nije u potpunosti razjašnjeno (32,37,39). Pretpostavlja se da se urati (solni mokraćne kiseline) pasivnom difuzijom transportuju iz cirkulacije u pljuvačku, gde im je koncentracija niža nego u krvnoj plazmi. Postoji i mogućnost prisustva mokraćne kiseline u gingivalnoj tečnosti kao posledica oksidativnog oštećenja proteina lokalnog tkiva. Bez obzira na njeno poreklo, smatra se glavnim antioksidantom pljuvačke, jer učestvuje u oko 70% ukupnog salivarnog antioksidativnog kapaciteta (32,38,39).

Glutation je tripeptid, koji se sastoji iz glutaminske kiseline, cisteina i glicina. U ćelijama je prisutan u dva oblika: kao redukovani (GSH) i oksidovan (GSSG). Za normalno funkcionisanje ćelije vrlo je važno da u njoj uvek ima u dovoljnoj količini redukovanog glutaciona, koji je neophodan za delovanje antioksidativnog enzima glutation peroksidaze (32-36).

Postoji više studija u kojima su se istraživači bavili ispitivanjem ukupnog antioksidativnog kapaciteta pljuvačke kod pacijenata obolelih od parodontopatije (41-42). Rezultati su ukazali na znatno smanjenje ukupnog antioksidativnog kapaciteta pljuvačke obolelih osoba u odnosu na grupu zdravih ispitanika, a pošto mokraćna kiselina predstavlja 70% ukupnog antioksidativnog kapaciteta pljuvačke, najverovatnije je reč o smanjenju ovog antioksidansa, što je u nekim istraživanjima i ustanovljeno (41-42). Rezultati su pokazali da gde je ukupni antioksidativni status pljuvačke obolelih od parodontopatije bio manji, tu je inflamacija parodonticijuma bila izraženija.

## **SIGNALNI PUTEVI KOJI POSREDUJU U OŠTEĆENJIMA TKIVA U PARODONTOPATIJI**

Štetni efekti ROS tokom oksidativnog stresa odigravaju se kroz procese lipidne peroksidacije i ireverzibilne modifikacije proteina do ćelijske apoptoze i programirane ćelijske smrti. Pored dva najznačajnija signalna puta (kaspaza put i NADPH oksidaza-4 put), još nekoliko signalnih puteva posreduje u oksidativnim oštećenjima ćelije: PERK/NRF2 signalni put, JNK/mitogen-aktivirajući put (MAP) (42-48).

### *Kaspazni put*

Kaspaze, kao enzimi iz familije cistein proteaze, učestvuju u inflamatornim procesima i programiranoj ćelijskoj smrti (42). U teškoj formi parodontopatije koncentracije kaspaze-3 znatno su povišene u serumu, i koreliraju s gingivalnim indeksom i kliničkom slikom, pri čemu imaju značajnu ulogu u destrukciji parodonticijuma. Dva kaspazna puta se dovode u vezu sa oksidativnim oštećenjima. Prvi je mitohondrijalni put, a drugi, put posredstvom receptora za ćelijsku smrt. U ćelijama kaspaze postoje kao zimogene (prokaspaze), koje se aktiviraju samo u prisustvu odgovarajućeg stimulusa kao što je oksidativni stres (43). Tokom aktivacije, kaspaze podležu proteolitičkim aktivnostima do aktivnih enzima. U drugom metaboličkom putu vodonik-peroksid otpušta citohrom C, koji vezuje apoptotski proteaza aktivirajući faktor-1, koji indukuje aktivaciju kaspaze-9 (44). Aktivacija vodonik-peroksidom kaspaze-3 vodi ka oštećenju DNK i apoptotske ćelijske smrti. U drugom metaboličkom putu važnu ulogu ima kaspaza-8, koja kaskadno aktivira i druge kaspaze, 3 i 9. Ovakav niz reakcija u čijem se središtu nalazi vodonik-peroksid najčešći je signalni put kojim posreduju slobodni radikali prilikom oštećenja parodonticijuma (42-44).

### *NADPH oksidaza-4 (NOX4) put*

NADPH oksidaze su enzimi koji katalizuju prenos elektrona sa NADPH na molekularni kiseonik tokom produkcije ROS i imunskog odgovora (45). NOX familija enzima obuhvata NOX1, 2, 3 i 4 izoforme, koje se nalaze u gotovo svim organima, a najzastupljenija je upravo NOX-4 izoforma, i to u epitelnim i endotelnim ćelijama. Ova izoforma predominantno generiše vodonik-peroksid u mitohondrijama, gde se obično i nalazi, i upravo ova forma se povezuje sa glavnim mehanizmom nastanka oksidativnog stresa u parodontopatiji (46). Ovakva prekomerna produkcija ROS indukuje aktivaciju i mnogih drugih proapoptotskih proteina kao što su kaspaza-9 i 3, kaspaza-1. Eksplozija ROS takođe izaziva proinflamatorni šift i gensku ekspresiju preko aktivacije nuklearnog

faktora kapa- $\beta$  (NF- $\kappa$  $\beta$ ). Povećanje nivoa NOX-4 primećeno je kod inflamiranog i hipoksičnog parodontijuma, kao i smanjenje CAT aktivnosti. Naime, prolongirano izlaganje stimulusima vodi ka kolapsu antioksidativnog mehanizma u korist oksidativnog stresa i inflamatornog odgovora, kao što je slučaj u parodontopatiji (45-48).

## ZAKLJUČAK

Parodontopatija je hronično inflamatorno oboljenje potpornog aparata zuba koje dovodi do njegove destrukcije. Rasprostranjenost ovog oboljenja, prema nekim istraživanjima, iznosi više od 90% odrasle populacije, tako da možemo da sagledamo i socioekonomski značaj njegovog lečenja i saniranja posledica. Kod istraživača je otvorena ideja o uvođenju biohemijских analiza koje bi pomogle u dijagnostikovanju inflamatornog procesa u parodontijumu pre nego što on postane vidljiv na kliničkom nivou. Upravo iz tog razloga nesumnjiv je značaj poznavanja uloge oksidativnog stresa, antioksidativne zaštite organizma kao i molekularnih mehanizama kojima oštećenje nastaje.

Procena i merenje biomarkera oksidativnog stresa i enzima antioksidativne zaštite može imati veliki značaj u praćenju biohemijских pokazatelja stanja parodontijuma i čak pomoći u pronalaženju različitih metoda lečenja parodontalnih oboljenja. Definitivno savremeno shvatanje nastanka mnogih oboljenja, pa i inflamatornih, bazira se i na štetnom dejstvu tzv. slobodnih radikala. Kao posledica peroksidacije polinezasićenih masnih kiselina nastaje oksidativno oštećenje ćelijske membrane koje dalje dovodi do stvaranja malondialdehida kao krajnjeg produkta. Lipidna peroksidacija i njeni produkti imaju ključnu ulogu u nastanku parodontopatije, a enzimska zaštita putem katalaze i superoksid dismutaze centralno mesto u odbrani domaćina od bakterijske infekcije parodontijuma.

## LITERATURA

- Highfield J. Diagnosis and classification of periodontal disease. *Aust Dent J* 2009; 54: 11–26.
- Lindhe J, Lang NP, Karring T. *Clinical periodontology and implant dentistry*. 5th ed. Oxford, Ames: Blackwell Munksgaard, 2008.
- Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The keystone-pathogen hypothesis. *Nat Rev Microbiol* 2012; 10: 717–25.
- Eke PI, Dye BA, Wei L, et al. Update on prevalence of periodontitis in adults in the United States: NHANES 2009 to 2012. *J Periodontol* 2015; 86: 611–22.
- Marcantonio C, Nicoli LG, Marcantonio Jr E, Zandim-Barcelos DL. Prevalence and possible risk factors of peri-implantitis: a concept review. *J Contemp Dent Pract* 2015; 16: 750–7.
- Richards D. Review finds that severe periodontitis affects 11% of the world population. *Evid Based Dent* 2014; 15: 70–1.
- Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 1975; 25: 229–35.
- Kirkwood KL, Taba MJr, Rossa CJr, Preshaw PM, Giannobile WV. Molecular biology of the host-microbe interaction in periodontal diseases: selected topics. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, eds. *Carranza's Clinical periodontology*. 10th ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2006: 259–74.
- Offenbacher S, Collins JG, Heasman PA. Diagnostic potential of host response mediators. *Adv Dent Res* 1993; 7: 175–81.
- Imamura T. The role of gingipains in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol* 2003; 74: 111–8.
- Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke T. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology* 2000 2014; 64: 57–80.
- Offenbacher S. Periodontal disease: pathogenesis. *Ann Periodontol* 1996; 1: 821–78.
- Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* 1976; 33: 235–49.
- Sezer U, Erciyas K, Ustun K, et al. Effect of chronic periodontitis on oxidative status in patients with rheumatoid arthritis. *J Periodontol* 2013; 84: 785–92.
- Pendyala G, Thomas B, Joshi S. Periodontitis, diabetes mellitus, and the lopsided redox balance: a unifying axis. *J Indian Soc Periodontol* 2013; 17: 338–44.
- Sawamoto Y, Sugano N, Tanaka H, Ito K. Detection of periodontopathic bacteria and an oxidative stress marker in saliva from periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol* 2005; 20: 216–20.
- Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997; 82: 291–5.
- Akalin FA, Baltacioglu E, Alver A, Karabulut E. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2007; 34: 558–65.
- Baltacioglu E, Yuva P, Aydın G, et al. Lipid peroxidation levels and total oxidant/antioxidant status in serum and saliva from patients with chronic and aggressive periodontitis. Oxidative stress index: a new biomarker for periodontal disease?. *J Periodontol* 2014; 85: 1432–41.

20. Canakci CF, Cicek Y, Yildirim A, Sezer U, Canakci V. Increased levels of 8-hydroxydeoxyguanosine and malondialdehyde and its relationship with antioxidant enzymes in saliva of periodontitis patients. *Eur J Dent* 2009; 3: 100–6.
21. Celec P, Hodosy J, Celecova V, et al. Salivary thiobarbituric acid reacting substances and malondialdehyde--their relationship to reported smoking and to parodontal status described by the papillary bleeding index. *Dis Markers* 2005; 21: 133–7.
22. Fentoglu O, Kirzioglu FY, Bulut MT, et al. Evaluation of lipid peroxidation and oxidative DNA damage in patients with periodontitis and hyperlipidemia. *J Periodontol* 2015; 86: 682–8.
23. Fredriksson MI, Gustafsson AK, Bergstrom KG, Asman BE. Constitutionally hyperreactive neutrophils in periodontitis. *J Periodontol* 2003; 74: 219–24.
24. Garg N, Singh R, Dixit J, Jain A, Tewari V. Levels of lipid peroxides and antioxidants in smokers and nonsmokers. *J Periodont Res* 2006; 41: 405–10.
25. Liu Z, Liu Y, Song Y, Zhang X, Wang S, Wang Z. Systemic oxidative stress biomarkers in chronic periodontitis: a meta-analysis. *Dis Markers* 2014; 9310–83.
26. Trivedi S, Lal N, Mahdi AA, Mittal M, Singh B, Pandey S. Evaluation of antioxidant enzymes activity and malondialdehyde levels in patients with chronic periodontitis and diabetes mellitus. *J Periodontol* 2014; 85: 713–20.
27. Hendek MK, Erdemir EO, Kisa U, Ozcan G. Effect of initial periodontal therapy on oxidative stress markers in gingival crevicular fluid, saliva, and serum in smokers and non-smokers with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2015; 86: 273–82.
28. Onder C, Kurgan S, Altinoguz SM, et al. Impact of non-surgical periodontal therapy on saliva and serum levels of markers of oxidative stress. *Clin Oral Investig* 2017; 21: 1961–9.
29. Wolfram RM, Budinsky AC, Eder A, et al. Salivary isoprostanes indicate increased oxidation injury in periodontitis with additional tobacco abuse. *Biofactors* 2006; 28: 21–31.
30. Su H, Gornitsky M, Velly AM, Yu H, Benarroch M, Schipper HM. Salivary DNA, lipid, and protein oxidation in nonsmokers with periodontal disease. *Free Radic Biol Med* 2009; 46: 914–21.
31. Sugano N, Yokoyama K, Oshikawa M, et al. Detection of *Streptococcus anginosus* and 8-hydroxydeoxyguanosine in saliva. *J Oral Sci* 2003; 45: 181–4.
32. Guentsch A, Preshaw PM, Bremer-Streck S, Klinger G, Glockmann E, Sigusch BW. Lipid peroxidation and antioxidant activity in saliva of periodontitis patients: effect of smoking and periodontal treatment. *Clin Oral Investig* 2008; 12: 345–52.
33. Maxwell SR, Dietrich T, Chapple IL. Prediction of serum total antioxidant activity from the concentration of individual serum antioxidants. *Clin Chim Acta* 2006; 372: 188–94.
34. Muniz FW, Nogueira SB, Mendes FL, et al. The impact of antioxidant agents complementary to periodontal therapy on oxidative stress and periodontal outcomes: a systematic review. *Arch Oral Biol* 2015; 60: 1203–14.
35. Sculley DV, Langley-Evans SC. Periodontal disease is associated with lower antioxidant capacity in whole saliva and evidence of increased protein oxidation. *Clin Sci* 2003; 105: 167–72.
36. Singh N, Chander Narula S, Kumar Sharma R, Tewari S, Kumar Sehgal P. Vitamin E supplementation, superoxide dismutase status, and outcome of scaling and root planing in patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *J Periodontol* 2014; 85: 242–9.
37. Thomas B, Rao A, Prasad BR, Kumari S. Serum levels of antioxidants and superoxide dismutase in periodontitis patients with diabetes type 2. *J Indian Soc Periodontol* 2014; 18: 451–5.
38. Wei D, Zhang XL, Wang YZ, Yang CX, Chen G. Lipid peroxidation levels, total oxidant status and superoxide dismutase in serum, saliva and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after periodontal therapy. *Aust Dent J* 2010; 55: 70–8.
39. Ellis SD, Tucci MA, Serio FG, Johnson RB. Factors for progression of periodontal diseases. *J Oral Pathol Med* 1998; 27: 101–5.
40. Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, Newman HN, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 189–94.
41. Battino M, Bullon P, Wilson M, Newman H. Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of antioxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999; 10: 458–76.
42. Basu A, Castle VP, Bouziane M, Bhalla K, Haldar S. Crosstalk between extrinsic and intrinsic cell death pathways in pancreatic cancer: synergistic action of estrogen metabolite and ligands of death receptor family. *Cancer Res* 2006; 66: 4309–18.
43. Mareninova OA, Sung KF, Hong P, et al. Cell death in pancreatitis: caspases protect from necrotizing pancreatitis. *J Biol Chem* 2006; 281: 3370–81.

44. Cook MS, Evens MD, Dizdaroglu B, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation and disease. *Faseb J* 2003; 17: 1195–214.
45. Moon JS, Nakahira K, Chung KP, et al. NOX4-dependent fatty acid oxidation promotes NLRP3 inflammasome activation in macrophages. *Nat Med* 2016; 22: 1002–12.
46. Paravicini TM, Touyz RM. NADPH oxidases, reactive oxygen species, and hypertension: clinical implications and therapeutic possibilities. *Diabetes Care* 2008; 31: S170–S180.
47. Sima C, Aboodi GM, Lakschevitz FS, Sun C, Goldberg MB, Glogauer M. Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 down-regulation in oral neutrophils is associated with periodontal oxidative damage and severe chronic periodontitis. *Am J Pathol* 2016; 186: 1417–26.
48. Valko M, Leibfritz D, Mocol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44–84.