

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΟΔΟΝΤΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΔΟΝΤΟΛΟΓΙΑ

*“Σύγκριση της αποτελεσματικότητας τριών διαφορετικών στοματικών
διαλυμάτων στον μετεγχειρητικό έλεγχο της οδοντικής μικροβιακής
πλάκας και την πρώιμη επούλωση των ούλων μετά από συμβατική
χειρουργική του περιοδοντίου”*

ΓΚΑΤΖΩΝΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2016

Αντί Προλόγου

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου σε όλους όσους με τη συμμετοχή τους βοήθησαν στην εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας και σε όσους συνέβαλαν στην επιτυχή διεκπεραίωση του κύκλου των σπουδών μου.

Στον επιβλέποντα της παρούσας διπλωματικής εργασίας Επίκουρο Καθηγητή κύριο Σπυρίδωνα Βασιλόπουλο για την πολύτιμη βοήθεια, την καθοδήγηση και την ένθερμη υποστήριξή του σε όλα τα στάδια της μελέτης, χωρίς τα οποία η εκπόνησή της θα ήταν αδύνατη. Θα ήθελα να την ευχαριστήσω επίσης θερμά για τη συνολική του παρουσία δίπλα μου σε όλη τη διάρκεια των μεταπτυχιακών σπουδών μου, από τη διαδικασία της επιλογής μου για τη συμμετοχή στο πρόγραμμα έως την αποφοίτησή μου.

Στον Διευθυντή του Εργαστηρίου της Περιοδοντολογίας Καθηγητή κύριο Ιωάννη Βρότσο για την αμέριστη υποστήριξή του και την κρίσιμη συμβολή του στο να επιδιώξω και να επιτύχω τους στόχους και τα όνειρά μου.

Στον Υπεύθυνο του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Περιοδοντολογίας Καθηγητή κύριο Φοίβο Μαδιανό και στον Υπεύθυνο της Μεταπτυχιακής Κλινικής Περιοδοντολογίας Αναπληρωτή Καθηγητή κύριο Ιωάννη Καρούση για την ευκαιρία που μου έδωσαν να συμμετάσχω στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα, την απλόχερη προσφορά γνώσης και τη συνεχή καθοδήγηση τους σε θεωρητικό και κλινικό επίπεδο, καθώς και στα πλαίσια της διπλωματικής μου εργασίας και τέλος για τη διαρκή προσπάθειά τους για βελτίωση και αναβάθμιση του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών.

Σε όλο το επιστημονικό και ερευνητικό προσωπικό του εργαστηρίου Περιοδοντολογίας και στους επιστημονικούς συνεργάτες της Μεταπτυχιακής Κλινικής Περιοδοντολογίας και της Κλινικής των Εμφυτευμάτων για τη συμβολή τους στην κλινική και επιστημονική μου κατάρτιση.

Στη Διευθύντρια του τμήματος Βιοεπιστημών και Εφαρμογών, Εργαστήριο Παθολογίας Κυττάρου και Εξωκυττάριας Ουσίας του Εθνικού Κέντρου Έρευνας Φυσικών Επιστημών (Ε.Κ.Ε.Φ.Ε.) "ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ" κυρία Τσιλιμπάρη Φωτεινή για την άψογη συνεργασία της στο πειραματικό μέρος της μελέτης.

Στους διδακτορικούς φοιτητές του τμήματος Βιοεπιστημών και Εφαρμογών, Εργαστήριο Παθολογίας Κυττάρου και Εξωκυττάριας Ουσίας του Εθνικού Κέντρου Έρευνας Φυσικών Επιστημών (Ε.Κ.Ε.Φ.Ε.) "ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ" κυρία Αρχοντία Καμινάρη και κυρία Χριστίνα Γκολφίνοπούλου για την πολύτιμη συμβολή τους στη διεξαγωγή των εργαστηριακών αναλύσεων, την καθοδήγηση και τη γνώση που μου προσέφεραν.

Στο υπόλοιπο προσωπικό του εργαστηρίου Φυσικής & Βιοχημείας του Εθνικού Κέντρου Έρευνας Φυσικών Επιστημών "ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ" για την προσφορά του χρόνου τους και την άψογη συνεργασία τους.

Στον κύριο Νικόλαο Πανταζή για τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Τέλος, στις συμφοιτήτριές μου Παναγιώτα, Μαρία και Θεοδώρα για όλες τις στιγμές που μοιραστήκαμε τα τελευταία τρία χρόνια.

Πίνακας περιεχομένων

ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΣΚΟΠΟΣ	9
A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	17
1. Οδοντική Μικροβιακή Πλάκα (ΟΜΠ)	17
1.1 Γενικά.....	17
1.2 Στάδια σχηματισμού υπερουλικής ΟΜΠ	20
1.3 Υποουλική ΟΜΠ	22
1.4 Παράγοντες που επηρεάζουν τον σχηματισμό της ΟΜΠ.....	24
2. Επούλωση περιοδοντικών ιστών μετά την χειρουργική (φάση αποκατάστασης των βλαβών)	28
2.1 Προϋποθέσεις – Βασικοί παράγοντες (πρωταγωνιστές)	28
2.2 Γενικά ιστολογικά στοιχεία επούλωσης του περιοδοντικού τραύματος ...	31
2.3 Βιολογία - Ιστολογία επούλωσης περιοδοντικών ιστών μετά από χειρουργική	35
2.3.1 Ο ρόλος του συνδετικού ιστού στην επιθηλιακή διαφοροποίηση ...	35
2.3.2 Κύτταρα και αυξητικοί παράγοντες κατά την επούλωση των περιοδοντικών ιστών	39
2.3.3 Επούλωση κατά τις διάφορες περιοδοντικές χειρουργικές επεμβάσεις	44
2.3.3.1 Ουλοπλαστική – Ουλεκτομή	44
2.3.3.2 Χειρουργική μετά κρημνού (ολικού – μερικού πάχους) ..	45
2.3.3.3 Τεχνικές που σχετίζονται με παραμονή αποκαλυμμένου οστού ή περισστέου	49

2.3.3.4	Αυτομοσχεύματα μαλακών ιστών (αποκαταστατική χειρουργική).....	51
2.3.3.5	Καθοδηγούμενη ιστική ανάπτυξη (KIA).....	56
2.3.4	Ο ρόλος των LASER στην επούλωση των περιοδοντικών ιστών.	58
2.3.4.1	Εισαγωγή - LASER στην Περιοδοντολογία	58
2.3.4.2	Θεραπεία με LASER χαμηλής ισχύος (LLLT) - Γενικά.....	59
2.3.4.3	Επίδραση της LLLT στην μετεγχειρητική επούλωση των περιοδοντικών ιστών	60
2.4	Μετεγχειρητικές επιπλοκές	65
3.	Μέθοδοι μετεγχειρητικού ελέγχου ΟΜΠ	72
3.1	Αντιβιοτικά χορηγούμενα δια της συστηματικής οδού.....	73
3.2	Τοπικοί αντισηπτικοί παράγοντες.....	82
3.2.1.	Ιστορική αναδρομή	82
3.2.2.	Ταξινόμηση	86
3.2.3.	Μέσα μεταφοράς χημικών παραγόντων.....	91
3.2.4.	Χημικοί παράγοντες ελέγχου ΟΜΠ.....	93
3.2.4.1.	Διγλυκονική χλωρεξιδίνη (CHX)	96
3.2.4.2.	Αιθέρια έλαια και φαινόλες.....	103
3.2.4.3	Τεταρτοταγείς ενώσεις αμμωνίας	106
3.2.4.4.	Ένζυμα	107
3.2.4.5.	Αμινοαλκοόλες	108
3.2.4.6.	Απολυμαντικοί ή επιφανειοδραστικοί παράγοντες (detergents ή surfactants).....	108
3.2.4.7.	Φθοριούχες ενώσεις	109

3.2.4.8.	Παράγοντες που απελευθερώνουν οξυγόνο	110
3.2.4.9.	Μεταλλικά άλατα	110
3.2.4.10.	Σανγκουϊναρίνη	111
3.2.4.11.	Εξιτιδίνη (hexitidine)	111
3.2.4.12.	Ιοδιούχος ποβιδόνη	112
3.2.4.13.	Συνδυασμός αλκυλο διμεθυλο γλυκίνης και αλκυλο διμεθυλο αμινοξειδίου (C31G)	114
3.2.5.	Σύγκριση αποτελεσματικότητας διαφόρων τοπικών αντισηπτικών παραγόντων στον έλεγχο της ΟΜΠ και της ουλίτιδας	115
3.2.6.	Αξιολόγηση αποτελεσματικότητας CHX στον έλεγχο της ΟΜΠ και την ιστική επούλωση μετά από χειρουργική του περιοδοντίου.....	125
3.2.6.1	Σε μορφή διαλύματος.....	125
3.2.6.2	Σε μορφή γέλης.....	127
3.2.6.3	Σε μορφή εναιωρήματος (spray)	128
3.2.6.4	Σκευάσματα CHX σε συνδυασμό με ουσίες κατά της πρόκλησης χρωστικών	128
3.2.6.5	Σκευάσματα CHX με ή χωρίς αλκοόλη	132
3.2.7.	Αξιολόγηση αποτελεσματικότητας άλλων τοπικών αντισηπτικών παραγόντων στον έλεγχο της ΟΜΠ και την ιστική επούλωση μετά από χειρουργική του περιοδοντίου.....	133

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	137
ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ	137
Κλινικές παράμετροι / αξιολόγηση	147
Επαναληψιμότητα των μετρήσεων	149
Μικροβιολογική αξιολόγηση	150
Στατιστική ανάλυση	160
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	163
<i>Κλινικά Αποτελέσματα.....</i>	<i>163</i>
<i>Μικροβιολογικά Αποτελέσματα</i>	<i>170</i>
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	174
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	189
ΠΙΝΑΚΕΣ.....	191
ΓΡΑΦΗΜΑΤΑ	229
ΕΙΚΟΝΕΣ	245
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	253
ABSTRACT	263
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	271

ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΣΚΟΠΟΣ

Η μικροβιακή επιμόλυνση και λοίμωξη της μετεγχειρητικής περιοχής έχει αποδειχθεί ότι λειτουργεί ανασταλτικά στην επούλωση των περιοδοντικών ιστών. (Burke 1971, Blomlof και συν. 1988, Sanz και Herrera 1998). Η ελαχιστοποίηση της ποσότητας της εμμένουσας οδοντικής μικροβιακής πλάκας (ΟΜΠ) στην μετεγχειρητική περιοχή οδηγεί σε ταχύτερη και χωρίς επιπλοκές επούλωση, συγκριτικά με την ύπαρξη εκτεταμένων εναποθέσεων αυτής (Flores de Jacoby και Mengel 1995) Είναι πλήρως αποδεκτό ότι η απομάκρυνση του τοπικού παράγοντα κατέχει σημαντικό ρόλο στην πρώιμη φάση της επούλωσης των περιοδοντικών ιστών. Μάλιστα, το πρώτο Ευρωπαϊκό Workshop περιοδοντολογίας (Αγγλία, 1994) (Lindhe και Echeverria 1994) κατέληξε στο ότι ο αυστηρός μετεγχειρητικός έλεγχος της ΟΜΠ αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την επιτυχή έκβαση της χειρουργικής του περιοδοντίου. Παράλληλα, έχει δειχθεί ότι η διενέργεια χειρουργικής σε περιοδοντικούς ιστούς με έντονο τοπικό παράγοντα και φλεγμονή, όχι μόνο δεν επιφέρει ουσιαστικό αποτέλεσμα στην προσπάθεια επαναφοράς της περιοδοντικής υγείας, αλλά, αντίθετα οδηγεί σε επιδείνωση της κατάστασης. (Rosling και συν. 1976b, Nyman και συν. 1977, Westfelt και συν. 1983b).

Η ατομική αποτελεσματική μηχανική απομάκρυνση της ΟΜΠ σε καθημερινή βάση, με την χρήση οδοντόβουρτσας και μεσοδόντιων βουρτσών ή οδοντικού νήματος έχει αποδειχθεί από πολλές μελέτες, ότι αποτελεί το μοναδικό μέσο για τη διατήρηση της περιοδοντικής και οδοντικής υγείας μακροχρόνια (Lang και συν. 1973, De la Rosa και συν. 1979, Axelsson & Lindhe 1987, Boyd και συν. 1989, Cutress και συν. 1991, Van der Weijden και συν. 1995, 1996). Ωστόσο, η μηχανική απομάκρυνση του

τοπικού παράγοντα στην άμεση μετεγχειρητική περίοδο (πρώτες 7-10 ημέρες) είναι σχεδόν μη εφικτή, λόγω της ευαισθησίας και του πόνου, που εκλύεται από την χειρουργηθείσα περιοχή (Noguerol και συν. 1991). Ακόμη και η χρήση πολύ μαλακών οδοντοβουρτσών, ειδικά σχεδιασμένων για την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο, δεν είναι καλώς ανεκτή από τους ασθενείς και μάλιστα κάποιες φορές αντενδείκνυται, κυρίως όταν η χειρουργική του περιοδοντίου αφορά αναπλαστικές τεχνικές και μοσχεύματα μαλακών ιστών. Συνεπώς είναι προφανής ο λόγος για τον οποίο έχουν αναφερθεί πολλά διαφορετικά πρωτόκολλα και μέθοδοι που στοχεύουν στον όσο το δυνατόν καλύτερο μετεγχειρητικό μικροβιακό έλεγχο. Αυτά περιλαμβάνουν τη τακτική επαγγελματική απομάκρυνση του τοπικού παράγοντα σε εβδομαδιαία βάση για τον πρώτο μετεγχειρητικό μήνα, την εφαρμογή τοπικών αντισηπτικών παραγόντων σε μορφή διαλύματος ή γέλης και την κατά περίπτωση χορήγηση συστηματικών αντιβιοτικών.

Μια βασική μέθοδος, που εφαρμόζεται στην καθ' ημέρα κλινική πράξη, ως χημικό μέσο για τον έλεγχο της μετεγχειρητικής ΟΜΠ, είναι η χρήση στοματικών διαλυμάτων. Στο εμπόριο κυκλοφορεί πληθώρα σκευασμάτων με διάφορες ενεργές αντιμικροβιακές ουσίες. Από αυτά, εκείνα που περιέχουν χλωρεξιδίνη, αποτελούν τους πλέον ισχυρούς αντιμικροβιακούς παράγοντες. Η διγλυκονική χλωρεξιδίνη (CHX) είναι μία ισχυρή αντιμικροβιακή ουσία που χημικά ανήκει στην οικογένεια των δι-διγουανιδινών. Τα στοματικά διαλύματα, που περιέχουν CHX σε διάφορες συγκεντρώσεις (0,05- 0,2%), θεωρούνται ως τα πλέον αποτελεσματικά στην μείωση της οδοντικής μικροβιακής πλάκας και της φλεγμονής των ούλων (Quirynen M και συν., 2005, Southern EN και συν., 2006). Αυτό οφείλεται στην ισχυρή

αντιμικροβιακή δράση της CHX, η οποία προσβάλλει την βακτηριακή κυτταρική μεμβράνη Gram(+), Gram(-) βακτηρίων, μυκήτων και ιών (HSV1, HSV 2, Influenza A), προκαλώντας διαρροή ή/και καθίζηση των κυτταρικών τους συστατικών (Southard SR και συν., 1989). Η CHX προσκολλάται στα βακτήρια εμποδίζοντας την πρόσφυσή τους στις οδοντικές επιφάνειες. Μέσω της προσκόλλησής της σε σιαλικές πρωτεΐνες εμποδίζει το σχηματισμό του βιοϋμενίου (biofilm). Επιπλέον, διαπερνά το βιοϋμένιο της οδοντικής πλάκας και δρά κατά των ήδη ενσωματωμένων βακτηρίων (Löe και Schiott 1970). Η CHX διατηρεί την αντιμικροβιακή δράση της περισσότερο από 12 ώρες, λόγω της υπερουλικής προσκόλλησής της στους σκληρούς και μαλακούς ιστούς (supragingival substantivity). Δεν προκαλεί τη δημιουργία ανθεκτικών μικροβιακών στελεχών ακόμη και μετά από παρατεταμένη χρήση της (Shiloah και συν. 1994).

Ειδικότερα οι Westfelt και συν. (1983^a), σε ελεγχόμενη κλινική μελέτη κατέγραψαν χαμηλά επίπεδα ΟΜΠ και πολύ καλή επούλωση των περιοδοντικών ιστών, μετά από την χορήγηση στοματικού διαλύματος χλωρεξιδίνης 0,2% δύο φορές την ημέρα για 1 λεπτό κάθε φορά, κατά την περίοδο των πρώτων 6 μετεγχειρητικών μηνών. Παρόμοια θετικά αποτελέσματα προέκυψαν από την μελέτη των Sanz και συν. (1989), όπου η χορήγηση στοματικού διαλύματος CHX συγκέντρωσης 0,12% για τις πρώτες 6 μετεγχειρητικές εβδομάδες οδήγησε σε κατά 54,4% και 40% μεγαλύτερη μείωση του δείκτη πλάκας και αιμορραγίας αντίστοιχα, συγκριτικά με την ομάδα, που έλαβε διάλυμα placebo. Και άλλες μελέτες όμως, όπως αυτή των Langebaek και Bay (1976), έχουν αναδείξει την ευεργετική επίδραση της CHX στην διατήρηση

χαμηλών επιπέδων μικροβιακού φορτίου, κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο επούλωσης.

Από την άλλη πλευρά, όπως κάθε αντιμικροβιακή/αντισηπτική ουσία, έτσι και η CHX παρουσιάζει κάποιες ανεπιθύμητες ενέργειες (Flötra και συν. 1971). Η πιο συχνή παρενέργεια από την μακροχρόνια χρήση χλωρεξιδίνης είναι η εμφάνιση φαιάς χρώσης των οδοντικών επιφανειών και της γλώσσας (Addy και συν. 1991a). Επίσης συχνά αναφέρεται αύξηση του ρυθμού σχηματισμού και εναπόθεσης τρυγίας. Σε περιπτώσεις υπερευαισθησίας αλλά και λανθασμένης χρήσης της χλωρεξιδίνης (αυξημένη ποσότητα ή/ και συχνότητα πλύσεων, παρατεταμένη παραμονή του διαλύματος στο στόμα) μπορεί να παρατηρηθούν αποφλοιωτικές βλάβες των ούλων και των βλεννογόνων, που υποχωρούν μετά την διακοπή του στοματικού διαλύματος. Σπάνια παρουσιάζεται αλλεργική αντίδραση, διόγκωση των παρωτίδων, καθώς και αλλοίωση γεύσης κυρίως στο αλμυρό (Helms και συν. 1995, Wu και Savitt 2002). Επιπρόσθετα, η CHX έχει φανεί σε ιστολογικό επίπεδο, ότι μπορεί να προκαλέσει κατά δόσοεξαρτώμενο τρόπο *in vitro* μείωση του πολλαπλασιασμού των ουλικών ινοβλαστών, η οποία φαίνεται ότι είναι ανεξάρτητη από τον χρόνο έκθεσης των κυττάρων στην δραστική ουσία (Mariotti και Rumpf 1999, Dogan και συν. 2003, Flemingson και συν. 2008) καθώς και *ex vivo* μείωση της κολλαγονογενετικής δραστηριότητας των ινοβλαστών, οδηγώντας σε επιβράδυνση των διαδικασιών της ιστικής επούλωσης (Boisnic και συν. 2006). Πέρα από τις ουλικές ινοβλάστες, η CHX φαίνεται να επιδρά αρνητικά στα επιθηλιακά κύτταρα και στα περιφερικά λεμφοκύτταρα (Eren και συν. 2002, Ribeiro και συν. 2004).

Μια βασική ουσία, που περιέχεται στην πλειοψηφία των σκευασμάτων CHX, είναι η αιθανόλη. Η αιθανόλη έχει ενοχοποιηθεί για ξηρότητα του στοματικού βλεννογόνου, πρόκληση ερεθισμού σε μετεγχειρητικές περιοχές, προβλήματα εθισμού σε χρόνιους αλκοολικούς ασθενείς που έχουν διακόψει την κατανάλωση αλκοόλ, καθώς και κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του στόματος (Wynder και συν. 1983, Winn και συν. 1991). Αν και σίγουρα δεν έχει αποδειχθεί κάποια αιτιολογική σχέση μεταξύ αλκοολούχων στοματικών διαλυμάτων και καρκίνου του στόματος, κυρίως λόγω της πληθώρας των συγχυτικών παραγόντων (Elmore και Horwitz 1995), τα σκευάσματα με αιθανόλη παρουσιάζουν κάποια μειονεκτήματα και αρκετές φορές αντενδείκνυται η χορήγησή τους.

Γι αυτό τον λόγο έχουν αναπτυχθεί νέα σκευάσματα χλωρεξιδίνης τα οποία στερούνται αιθανόλης. Το επόμενο ερώτημα που τέθηκε, είναι αν αυτά ήταν το ίδιο αποτελεσματικά με τα παλαιότερα που περιείχαν αιθανόλη. Έτσι αρκετοί ερευνητές προσπάθησαν να απαντήσουν σε αυτό το ερώτημα μέσα από κλινικές μελέτες. Στην πλειοψηφία τους οι μελέτες αυτές χρησιμοποιώντας ομάδες περιοδοντικά υγιών ασθενών (ή με ουλίτιδα, η οποία πρώτα θεραπεύτηκε) συνέκριναν την αποτελεσματικότητα των σκευασμάτων χλωρεξιδίνης με και χωρίς αλκοόλη, αναφορικά με την ικανότητά τους να εμποδίζουν τον σχηματισμό ΟΜΠ και την εγκατάσταση φλεγμονής στα ούλα χωρίς να καταφέρουν, όμως, να βρουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (Leyes Borrajo και συν. 2002, Lorenz και συν. 2006, Παραϊοαννου και συν. 2016, Quirynen και συν. 2001, Todkar και συν. 2012, Zimmer και συν. 2015). Ωστόσο, δεν υπάρχουν κλινικές μελέτες, οι οποίες να συγκρίνουν την αποτελεσματικότητα των προαναφερθέντων σκευασμάτων στον έλεγχο της

ΟΜΠ και στην δυνατότητα επούλωσης των περιοδοντικών ιστών μετά την διενέργεια χειρουργικής του περιοδοντίου. Εξαίρεση αποτελεί η τυχαιοποιημένη πιλοτική κλινική μελέτη των Olsson και συν. 2012. Σε αυτή την έρευνα δύο ομάδες ασθενών, που είχαν υποβληθεί σε χειρουργική του περιοδοντίου έλαβαν τυχαία δύο διαφορετικά σκευάσματα χλωρεξιδίνης, ένα με αλκοόλη (0,1% CHX) και ένα χωρίς (0,12% CHX), για τις πρώτες δύο μετεγχειρητικές εβδομάδες ενώ παράλληλα απείχαν από οποιαδήποτε εφαρμογή μηχανικής απομάκρυνσης της ΟΜΠ. Οι ερευνητές κατέληξαν, πως τα δύο σκευάσματα ήταν εξίσου αποτελεσματικά στον έλεγχο του τοπικού παράγοντα, ενώ ταυτόχρονα ήταν το ίδιο καλώς ανεκτά από τους ασθενείς (έτσι όπως καταγράφηκε μέσω της οπτικής αναλογικής κλίμακας-VAS).

Όπως είδαμε η CHX ναι μεν αποτελεί τον χρυσό κανόνα στον χημικό έλεγχο της ΟΜΠ, αλλά ταυτόχρονα εμφανίζει κάποιες παρενέργειες (συμπεριλαμβανομένης και της αρνητικής επίδρασης στην επούλωση των μαλακών ιστών μέσω ανασταλτικής δράσης στις ινοβλάστες των ούλων) και παράλληλα υπάρχουν περιπτώσεις που η χορήγησή της αντενδείκνυται. Στην βιβλιογραφία υπάρχουν ελάχιστες μελέτες που έχουν αξιολογήσει την αποτελεσματικότητα άλλων αντιμικροβιακών ουσιών, πέραν της CHX, στον μετεγχειρητικό έλεγχο της ΟΜΠ και την επούλωση των μαλακών ιστών μετά από χειρουργική του περιοδοντίου. Οι μόνες ουσίες που έχουν αξιολογηθεί σε μετεγχειρητικό επίπεδο είναι η εξιτιδίνη (που συγκρίθηκε με εναιώρημα απεσταγμένου νερού) (Bokor 1996) και ο συνδυασμός φθοριοαμίνης / φθοριούχου κασσίτερου (που συγκρίθηκε άμεσα με την CHX) (Horwitz και συν. 2000). Συγκεκριμένα ο συνδυασμός φθοριοαμίνης /

φθοριούχου κασσίτερου φάνηκε εξίσου αποτελεσματικός με την CHX στον μετεγχειρητικό έλεγχο της ΟΜΠ και της ουλικής φλεγμονής μέχρι και 12 εβδομάδες μετά από την διενέργεια μετά κρημονού ριζικής απόξεσης (Horwitz και συν. 2000). Ωστόσο, άλλες ουσίες που κυκλοφορούν ευρέως σήμερα, όπως ο παράγοντας C31G (συνδυασμός αλκυλο-διμεθυλο-γλυκίνης και αλκυλο-διμεθυλο-αμινοξειδίου) δεν έχουν αξιολογηθεί στο κατά πόσο θα μπορούσαν να χορηγηθούν μετεγχειρητικά ως χημικά μέσα ελέγχου της ΟΜΠ καθώς και στην επίδρασή τους στις διαδικασίες της ιστικής επούλωσης (πρώιμης και όψιμης).

Σκοπός της συγκεκριμένης ελεγχόμενης τυχαιοποιημένης διπλά τυφλής κλινικής μελέτης είναι η σύγκριση της αποτελεσματικότητας τριών διαφορετικών στοματικών διαλυμάτων (ενός με χλωρεξιδίνη και αιθανόλη, ενός με χλωρεξιδίνη χωρίς αιθυλική αλκοόλη και ενός με δραστική ουσία τον παράγοντα C31G) στον μετεγχειρητικό έλεγχο της ΟΜΠ και την πρώιμη επούλωση των ούλων, σε ασθενείς που υποβάλλονται σε συμβατική χειρουργική του περιοδοντίου.

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4. Οδοντική Μικροβιακή Πλάκα (ΟΜΠ)

1.1 Γενικά

Η ΟΜΠ ορίζεται ως η μη ενασβεστισμένη μάζα μικροβίων, που προσκολλάται σταθερά στις σκληρές αλλά και μαλακές επιφάνειες της στοματικής κοιλότητας (οδοντικές επιφάνειες, εμφράξεις, προσθετικές αποκαταστάσεις, εμφυτεύματα, βλεννογόνο) και αποτελείται από μια οργανική μήτρα προερχόμενη από σιαλικές γλυκοπρωτεΐνες και εξωκυττάρια μικροβιακά προϊόντα (Listgarten 1994) καθώς και άλλα συστατικά όπως ένζυμα, υπολείμματα τροφών, επιθηλιακά κύτταρα, λευκοκύτταρα, ασβέστιο και φώσφορο. Η δομή αυτή είναι γνωστή ως οδοντικό βιοϋμένιο (biofilm). Ως βιοϋμένιο ορίζεται γενικά ένας μικροβιακός πληθυσμός που περικλείεται από ένα οργανικό υπόστρωμα και αναπτύσσεται μέσα σε αυτό. Τα μικρόβια που τον απαρτίζουν παραμένουν αλληλοσυγκολλούμενα και προσκολλημένα σε επιφάνειες ή διεπιφάνειες. Τα βιοϋμένια παρουσιάζουν ιδιαίτερη εσωτερική δομή, με τις μικροβιακές συναθροίσεις διαταγμένες κατά τρόπο που επιτρέπει τη ροή υγρής φάσης ανάμεσά τους. Στα βαθύτερα στρώματα του οδοντικού βιοϋμένιου υπάρχει συνήθως ένα πυκνό στρώμα μικροβίων προσκολλημένων στο επίκτητο υμένιο (pellicle) πάνω στην οδοντική επιφάνεια. Το επίκτητο υμένιο αποτελείται από γλυκοπρωτεΐνες και δημιουργείται πάνω στην αδαμαντίνη και εκτεθειμένη οστέϊνη των δοντιών. Ακόμη και μετά την μηχανική απομάκρυνσή του επανασχηματίζεται μέσα σε μερικά λεπτά. Το υμένιο αυτό φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην επιλεκτική προσκόλληση μικροβίων πάνω

στις οδοντικές επιφάνειες. Καθώς ωριμάζει η δομή του βιοϋμενίου, αναπτύσσονται από αυτό το στρώμα οι μικροβιακές αποικίες και οργανώνονται σε μορφή “μανιταριού” με δίκτυο καναλιών ανάμεσά τους που επιτρέπει την κυκλοφορία υγρής φάσης και κατά συνέπεια τη μεταφορά θρεπτικών ουσιών στο βιοϋμένιο, αλλά και την απομάκρυνση των μεταβολικών προϊόντων που παράγουν οι μικροοργανισμοί του (Watnick και Kolter 2000). Ο σχηματισμός και η ανάπτυξη της ΟΜΠ (βιοϋμένιο) καθοδηγούνται από μια δυναμική και συνεχώς μεταβαλλόμενη ισορροπία μεταξύ της στοματικής μικροβιακής χλωρίδας και πληθώρας παραγόντων που επιλεκτικά ενισχύουν ή αναστέλλουν την επιβίωση συγκεκριμένων μικροβιακών ειδών.

Η χημική και μικροβιακή σύνθεση της ΟΜΠ δεν είναι σταθερή, αλλά διαφέρει ανάλογα με την ηλικία της πλάκας, την ανατομική περιοχή που σχηματίστηκε, τη δίαιτα και τη στοματική υγιεινή του ατόμου (Taubman και Smith 1976).

Τα πρώτα μικρόβια που αποικίζουν την στοματική κοιλότητα των νεογνών, προέρχονται από τον ουρογεννητικό σωλήνα, την στοματική κοιλότητα και το δέρμα της μητέρας. Από την στιγμή που το νεογνό δεν έχει δόντια, τα μικρόβια που αποικίζουν την στοματική του κοιλότητα είναι αυτά που μπορούν να προσκολληθούν στον βλεννογόνο. Έτσι ο *Streptococcus salivarius*, αποικίζει την στοματική κοιλότητα μέσα στην πρώτη ημέρα από την γέννηση (Long και Swenson 1976). Επίσης, κατά τον τοκετό, η στοματική κοιλότητα του βρέφους, μολύνεται με τα βακτήρια *Lactobacillus jensenii* και *Lactobacillus acidophilus* (Carlsson και συν. 1975). Ωστόσο, οι λακτοβάκιλλοι και ορισμένα Gram αρνητικά (Gram -) μικροβιακά είδη (Kononen και συν. 1992b) ανιχνεύονται σε χαμηλά επίπεδα και τελικά δεν

διατηρούνται, κυρίως λόγω της απουσίας των δοντιών εκείνη την περίοδο. Χαρακτηριστικά ο *Lactobacillous casei* εμφανίζεται μετά την ηλικία των δύο ετών, αποτελώντας το κυρίαρχο στοματικό μικροβιακό είδος. Με την ανατολή των νεογνών δοντιών αρχίζουν να εμφανίζονται τα πρώτα αναερόβια και δυνητικά αναερόβια μικρόβια (Kononen και συν. 1992a) η αναλογία των οποίων αυξάνεται κατά την εφηβεία και την ενηλικίωση των ατόμων (Papapanou και συν. 1993, Wojcicki και συν. 1987). Αντίστοιχα η απώλεια των δοντιών, όπως συμβαίνει σε ηλικιωμένα άτομα, οδηγεί σε νέα τροποποίηση των περιβαλλοντικών συνθηκών και κατά συνέπεια στην εξαφάνιση μικροβιακών ειδών όπως ο *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, οι λακτοβάκιλοι, ο *Streptococcus mutans*, ο *Streptococcus sanguis* και οι σπειροχαίτες. Ταυτόχρονα επικρατούν άλλα είδη, που δεν στηρίζονται στην ύπαρξη των δοντιών όπως οι μύκητες *Candida* (Arendorf και Walker 1980, Kononen και συν. 1991, Socransky και Manganiello 1971).

Η ΟΜΠ σε ένα υγιές άτομο, σχηματίζεται αρχικά υπερουλικά και στη συνέχεια επεκτείνεται υποουλικά εμπεριέχοντας αρκετές εκατοντάδες διαφορετικών μικροβιακών ειδών (Fejerskov και συν. 2008). Χαρακτηριστικά, στη στοματική κοιλότητα έχουν αναγνωριστεί πάνω από 700 διαφορετικά είδη μικροβίων, τουλάχιστον τα 400 εκ των οποίων μπορούν να ανιχνευθούν στον περιοδοντικό θύλακο, ενώ σε ένα τυχαίο δείγμα οδοντικής πλάκας ανιχνεύονται συνήθως 30 ή περισσότερα διαφορετικά μικροβιακά είδη (Paster και συν. 2006).

1.2 Στάδια σχηματισμού υπερουλικής ΟΜΠ

1^ο στάδιο: Σχηματισμός του επίκτητου υμενίου (pellicle)

Σε κάθε επιφάνεια που έρχεται σε επαφή με το σάλιο εναποτίθενται αμέσως διάφορες πρωτεΐνες οι οποίες δημιουργούν μία λεπτή μεμβράνη, τον επίκτητο υμένα. Είναι δηλαδή, μία οργανική, ακύτταρη εναπόθεση πρωτεϊνών του σάλιου και του υγρού της ουλοδοντικής σχισμής. Ο σχηματισμός του επίκτητου υμένα επιτελείται πολύ γρήγορα και καλύπτει μία καθαρή επιφάνεια μέσα σε λίγα λεπτά. (Marsh και Bradshaw 1995).

2^ο στάδιο: Αρχικός μικροβιακός αποικισμός

Ταυτόχρονα με τον σχηματισμό του επίκτητου υμενίου αρχίζει και η προσκόλληση των πρώτων μικροβίων. Για την προσκόλληση των μικροβίων σημαντικό ρόλο παίζουν οι ηλεκτροστατικές δυνάμεις που αναπτύσσονται μεταξύ των μικροοργανισμών και της αδαμαντίνης καθώς και η ύπαρξη συγκεκριμένων σιαλικών συστατικών όπως γλυκοπρωτεΐνες, πρωτεΐνες πλούσιες σε προλίνη, σταθερίνη και φμπρονεκτίνη, που λειτουργούν ως προσκολλητίνες (Hamilton και Bowden 1996, Listgarten 1999). Τα πρώτα μικρόβια που προσκολλώνται είναι Gram θετικά (Gram +) αερόβια βακτήρια (κυρίως κόκκοι), που διαιρούνται και σχηματίζουν μικροαποικίες. Εντός 4 ωρών ο αριθμός των μικροβίων φτάνει τα 10^3 - 10^4 /mm² οδοντικής επιφάνειας. Δύο με τέσσερις ημέρες μετά, ακολουθεί η εγκατάσταση Gram+ ράβδων και νηματοειδών, καθώς και η σταδιακή εμφάνιση αναερόβιων Gram - (κυρίως κόκκοι, νηματοειδή και ατρακτόμορφα βακτήρια) και

δυνητικά αναερόβιων μικροοργανισμών, γένη των *Haemophilus*, *Eikenella* και *Actinobacillus* (Fine 1988, Wilkins 1999). Αυτή η μετάβαση προς μια πιο αναερόβια χλωρίδα αυξάνει σημαντικά την παθογονικότητα του οδοντικού βιοϋμενίου (Wilkins 1999). Όλοι αυτοί οι μικροοργανισμοί βρίσκονται μέσα σε μια μήτρα η οποία αποτελείται κυρίως από συστατικά του σάλιου και υψηλές συγκεντρώσεις εξωπολυσακχαριτών βακτηριακής προέλευσης. Τις πρώτες ώρες σχηματισμού της ΟΜΠ τα μικρόβια προσκολλώνται ασθενώς και αποκολλώνται εύκολα από την επιφάνεια. Με την πάροδο του χρόνου η προσκόλληση τους ισχυροποιείται και αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται, αυξάνοντας τον αριθμό τους μέχρι και 1000 φορές εντός 24ώρου, κυρίως μέσω του πολλαπλασιασμού των στρεπτόκοκκων.

3^ο στάδιο: Ωρίμανση της ΟΜΠ

Σύμφωνα με τις μελέτες των Loe και συν. (1965) και Theilade και συν. (1966), αν αυτή η νεοσυσταθείσα οδοντική πλάκα αφεθεί να αναπτυχθεί περαιτέρω χωρίς την εφαρμογή στοματικής υγιεινής, τότε συμβαίνουν κάποιες μεταβολές οι οποίες οδηγούν στην εγκατάσταση της ουλίτιδας 2-3 εβδομάδες αργότερα. Κατά την διάρκεια αυτής της περιόδου η βακτηριακή σύνθεση της οδοντικής πλάκας τροποποιείται σε μια πιο σύνθετη μικροβιακή χλωρίδα όπου επικρατούν Gram-αναερόβια βακτήρια. Σπειροχαίτες και μαστιγοφόρα βακτήρια παρατηρούνται γύρω από κόκκους, ράβδους, νηματοειδή και ατρακτόμορφα βακτήρια. Όλα αυτά τα συμβιωτικά βακτήρια, λαμβάνουν τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά από το

σάλιο και το υγρό της ουλοδοντικής σχισμής. Επιπλέον, υπάρχει μια αλληλεξάρτηση μεταξύ διαφορετικών ειδών, επειδή τα προϊόντα κάποιων εξ'αυτών είναι απαραίτητα για τον μεταβολισμό άλλων.

1.3 Υποουλική ΟΜΠ

Η μικροβιακή σύνθεση της υποουλικής ΟΜΠ μοιάζει αρκετά με αυτήν της υπερουλικής, έτσι όπως ανιχνεύεται επί παρουσίας ουλίτιδας και απουσία περιοδοντικών θυλάκων. Η μικροβιακή σύνθεση περιλαμβάνει Gram+ και Gram- κόκκους, ράβδους και νηματοειδή βακτήρια. Σπειροχαίτες και μαστιγοφόρα βακτήρια μπορούν να ανιχνευθούν κυρίως στο ακρορριζικό τμήμα της υποουλικής πλάκας. Μεταξύ της υποουλικής ΟΜΠ και της οδοντικής επιφάνειας παρεμβάλλεται μια ζώνη οργανικού υλικού που ονομάζεται “cuticle” (Eide και συν. 1983, Lie και Selvig 1975). Η δομή αυτή πιθανότατα περιέχει τα υπολείμματα της επιθηλιακής πρόσφυσης, που αρχικά συνέδεε το προσπεφυκός επιθήλιο με την οδοντική επιφάνεια, καθώς και συστατικά του ουλικού εξιδρώματος. Επίσης, μεταξύ της ΟΜΠ και του καταδυόμενου επιθηλίου της ουλοδοντικής σχισμής παρεμβάλλονται λευκοκύτταρα.

Η μικροβιακή σύνθεση της υποουλικής ΟΜΠ γίνεται πιο σύνθετη στην περίπτωση που έχει δημιουργηθεί περιοδοντικός θύλακος. Μυλικά ανιχνεύονται κυρίως νηματοειδή βακτήρια, κόκκοι και ραβδόμορφα. Ωστόσο, στο ακρορριζικότερο τμήμα του θυλάκου οι παραπάνω μικροοργανισμοί εμφανίζονται ολοένα και σε μικρότερη αναλογία ενώ αντίθετα επικρατούν σπειροχαίτες, μαστιγοφόρα βακτήρια

και Gram- βακτήρια (κυρίως ραβδόμορφα και κόκκοι). Οι επιφανειακές στοιβάδες των μικροοργανισμών που έρχονται σε επαφή με τους μαλακούς ιστούς (καταδυόμενο επιθήλιο) είναι αρκετά διαφορετικές από αυτές που έρχονται σε επαφή με την οδοντική επιφάνεια και μάλιστα οι πρώτες συνδέονται με πολύ πιο ασθενείς δεσμούς με το επιθήλιο του θυλάκου (Listgarten 1976). Δομικές διαφορές ανιχνεύονται ακρορριζικά του θυλάκου όπου οι σπειροχαίτες και τα μαστιγοφόρα βακτήρια, που επικρατούν, είναι κινητά και γι' αυτό δεν παρεμβάλλεται καθόλου οργανικό υπόστρωμα μεταξύ αυτών.

Η χρονική διαδοχή των γεγονότων που συμβαίνουν κατά την ανάπτυξη και εξέλιξη της υποουλικής ΟΜΠ δεν έχει μελετηθεί στον άνθρωπο. Ωστόσο σε σκύλους, έχει φανεί ότι η υποουλική ΟΜΠ μπορεί να εμφανιστεί μέσα στην ουλοδοντική σχισμή μέσα σε μερικές ημέρες από την διακοπή της εφαρμογής διαδικασιών στοματικής υγιεινής (Matsson και Attström 1979, Ten Napel και συν. 1985). Οι υποουλικές εναποθέσεις μπορεί να εμφανίζονται ως ακρορριζική συνέχεια της υπερουλικής ΟΜΠ, ή ως μεμονωμένες εναποθέσεις σε κάποια απόσταση από αυτήν. Η ώριμη εγκατεστημένη υποουλική ΟΜΠ εμφανίζει διαφορές μεταξύ διαφορετικών πειραματόζων (σκύλοι). Σε κάποιες περιπτώσεις επικρατούν οι σπειροχαίτες ενώ σε άλλες, αποικίες από Gram- ραβδόμορφα και κοκκοειδή βακτήρια. Πάντως, αν και υπάρχουν διαφορές μεταξύ πειραματόζων και ανθρώπου, το μοντέλο του σκύλου εξακολουθεί να αποτελεί σημαντικό ερευνητικό εργαλείο για την διερεύνηση του σχηματισμού της υποουλικής ΟΜΠ.

1.4 Παράγοντες που επηρεάζουν τον σχηματισμό της ΟΜΠ

Η στοματική κοιλότητα αποτελεί ένα σύνθετο οικοσύστημα με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, που επηρεάζουν την ανάπτυξη της ΟΜΠ. Τέτοιοι παράγοντες είναι (Lindhe και συν. 2008):

α) Η φυσικοχημική συμβατότητα του στοματικού περιβάλλοντος

Η στοματική χλωρίδα αναπτύσσεται ευνοϊκά σε $pH = 6-7$. Ασύμβατο pH φονεύει εκλεκτικά τα οξεοευαίσθητα μικροβιακά είδη και επικρατούν οξεοάντοχα, που είναι και τα περισσότερα παθογόνα. Επιπλέον, η συγκέντρωση οξυγόνου είναι διαφορετική σε διάφορα σημεία της στοματικής κοιλότητας. Τα μικρόβια ανάλογα με τις ανάγκες τους σε οξυγόνο (O_2) διακρίνονται σε αερόβια, δυνητικά αναερόβια και αναερόβια.

β) Η επίδραση του σάλιου

Η συνεχής έκκριση σάλιου από τους σιαλογόνους αδένες επιδρά θετικά αλλά και αρνητικά στην ανάπτυξη της ΟΜΠ. Οι ρυθμιστικές του ιδιότητες σταθεροποιούν το pH σε ευνοϊκά επίπεδα για την φυσιολογία των οδοντικών ιστών. Τα διάφορα συστατικά του, όπως οι ανοσοσφαιρίνες, η λακτοφερίνη, η λυσοζύμη και οι υπεροξειδάσες εμποδίζουν την ανάπτυξη της ΟΜΠ, λόγω των αντιμικροβιακών τους ιδιοτήτων. Όπως προαναφέρθηκε το σάλιο είναι υπεύθυνο για τη δημιουργία του επίκτητου υμενίου, που με τη σειρά του είναι απαραίτητο για την προσκόλληση ορισμένων βακτηρίων στις οδοντικές επιφάνειες.

γ) Το τοπικό περιβάλλον

Η ύπαρξη φλεγμονής αντίστοιχα με την παρυφή των ούλων, λόγω ουλίτιδας ή τραύματος, οδηγεί σε μεγαλύτερη εναπόθεση υπερουλικής ΟΜΠ (Daly και Highfield 1996), γεγονός που κυρίως έχει αποδοθεί στην αύξηση του ρυθμού ροής του υγρού της ουλοδοντικής σχισμής (Brecx και συν. 1980, Goldman και συν. 1974, HILLAM & Hull 1977, Lang και συν. 1973, Quirynen και συν. 1991, Saxton 1973).

Ένας ακόμη βασικός παράγοντας του ξενιστή που επηρεάζει την μικροβιακή σύνθεση της υποουλικής ΟΜΠ είναι το βάθος της ουλοδοντικής σχισμής (ή αντίστοιχα του περιοδοντικού θυλάκου). Έχει φανεί ότι τα μικροβιακά είδη του κόκκινου (*Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*) και πορτοκαλί συμπλέγματος αυξάνονται σημαντικά με την αύξηση του βάθους του περιοδοντικού θυλάκου.

δ) Οι γενετικοί, περιβαλλοντικοί και συστηματικοί παράγοντες που σχετίζονται με τον ξενιστή

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν το γενετικό υπόβαθρο του κάθε ατόμου, περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως το κάπνισμα και συστηματικοί παράγοντες, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, η παχυσαρκία και τα αυτοάνοσα νοσήματα (π.χ. σύνδρομο Sjogren).

Άτομα θετικά για τον υπερφλεγμονώδη γονότυπο, που σχετίζεται με τον πολυμορφισμό του γονιδίου που κωδικοποιεί για την ιντερλευκίνη 1 (IL-1), έχει βρεθεί ότι εμφανίζουν μεγαλύτερης βαρύτητας περιοδοντική νόσο (Kornman και

συν. 1997a) και αυξημένα επίπεδα μικροβιακών ειδών του κόκκινου και πορτοκαλί συμπλέγματος σε περιοχές με βάθος θυλάκων > 6χιλ. (Socransky και Haffajee 2005).

Το κάπνισμα επηρεάζει την μικροβιακή σύνθεση της υποουλικής ΟΜΠ. Οι Socransky & Haffajee (2005) έδειξαν ότι οι καπνιστές εμφάνιζαν πολύ μεγαλύτερη αναλογία μικροβιακών ειδών του κόκκινου και πορτοκαλί συμπλέγματος σε υγιείς περιοχές με βάθος ουλοδοντικής σχισμής ≤ 3 χιλ., συγκριτικά με αντίστοιχες περιοχές ατόμων που δεν είχαν καπνίσει ποτέ.

Η παχυσαρκία έχει συσχετιστεί με αυξημένα επίπεδα μικροβίων του κόκκινου συμπλέγματος σε υποουλικά δείγματα ΟΜΠ, κυρίως *Tannerella forsythia* (Socransky και Haffajee 2005) ενώ το σύνδρομο Sjogren, αν και οδηγεί σε μείωση της σιαλικής ροής και κατ'επέκταση μειωμένα επίπεδα σχηματισμού υπερουλικής και υποουλικής ΟΜΠ, έχει ενοχοποιηθεί για την ανίχνευση υψηλών επιπέδων συγκεκριμένων μικροβίων, όπως *Veillonella parvula* (Socransky και Haffajee 2005), τόσο σε δείγματα υπερουλικής όσο και υποουλικής ΟΜΠ.

Ο σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) έχει δειχθεί ότι επηρεάζει την μικροβιακή σύνθεση της ΟΜΠ. Σε δείγματα από περιοχές με περιοδοντική προσβολή ατόμων με ΣΔ τύπου I, ανιχνεύθηκε αυξημένη συγκέντρωση καπνοκυτοφάγων (*Carnocytophaga species*), αποτελώντας το 24% της καλλιεργήσιμης χλωρίδας (Mashimo και συν. 1983). Αντίστοιχα αυξημένη αναλογία των κυριότερων δυνητικά περιοδοντοπαθογόνων μικροβίων, όπως *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Porphyromonas gingivalis* και *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, ανιχνεύθηκε σε δείγματα υποουλικής ΟΜΠ περιοδοντικά προσβεβλημένων ατόμων με ΣΔ τύπου II (Zambon και συν. 1988).

ε) Το είδος των επιφανειών

Οι στερεές επιφάνειες των δοντιών και των διαφόρων αποκαταστάσεών τους αποτελούν ευνοϊκό έδαφος για την προσκόλληση και συγκράτηση των μικροβίων. Η αδρότητα και η επιφανειακή ενέργεια αυτών των επιφανειών επηρεάζει την συγκέντρωση και την ανάπτυξη της ΟΜΠ.

στ) Η έκκριση του ουλικού υγρού

Το ουλικό υγρό προσφέρει μηχανικό καθαρισμό με τη συνεχή ροή του, προστατεύει με την επίδραση ορισμένων αμυντικών στοιχείων που διαθέτει, ενώ προσφέρει και τροφικές ουσίες για ορισμένα είδη μικροβίων.

ζ) Οι δυνάμεις που ασκούνται στη στοματική κοιλότητα

Οι κινήσεις της γλώσσας και των παρειών, οι μασητικές δυνάμεις και οι διαδικασίες στοματικής υγιεινής προάγουν την απομάκρυνση των μικροοργανισμών από τις οδοντικές επιφάνειες.

η) Η διατροφή

Η συχνότητα λήψης, το είδος, η μορφή και η σύσταση της τροφής είναι καθοριστικής σημασίας για το μεταβολισμό των μικροβίων, άρα και για την εξέλιξη της ΟΜΠ.

2. Επούλωση περιοδοντικών ιστών μετά την χειρουργική (φάση αποκατάστασης των βλαβών)

2.1 Προϋποθέσεις – Βασικοί παράγοντες (πρωταγωνιστές)

Σε κλινικό επίπεδο οι βασικότερες προϋποθέσεις για την επίτευξη αποτελεσματικής επούλωσης μετά την χειρουργική του περιοδοντίου, είναι οι ακόλουθες:

Α) Η αποτελεσματική απομάκρυνση όλων των ερεθιστικών παραγόντων κατά την φάση ελέγχου της φλεγμονής, όπως της ΟΜΠ και της τρυγίας. Έτσι επιτυγχάνεται αποτελεσματικός έλεγχος της φλεγμονής και της αιμορραγίας, καθιστώντας ευκολότερο τον διεγχειρητικό χειρισμό των περιοδοντικών ιστών. Τα παραπάνω συνεπάγονται μικρότερη καταπόνηση των ιστών, μικρότερο βαθμό καταρράκωσής τους κατά την επέμβαση και τελικά καλύτερη μετεγχειρητική πρόγνωση (Goldman και Cohen 1980). Πέρα όμως από αυτό, μελέτες έχουν δείξει ότι η διενέργεια χειρουργικής σε περιοδοντικούς ιστούς με έντονο τοπικό παράγοντα και φλεγμονή, όχι μόνο δεν επιφέρει ουσιαστικό αποτέλεσμα στην προσπάθεια εγκατάστασης περιοδοντικής υγείας, αλλά αντίθετα οδηγεί σε επιδείνωσή της (Rosling και συν. 1976b, Nyman και συν. 1977, Westfelt και συν. 1983b).

Β) Η επιλογή της σωστής τεχνικής και η ορθή εκτέλεσή της για την αντιμετώπιση της εκάστοτε περιοδοντικής βλάβης (Goldman και Cohen 1980).

Γ) Η ορθή μετεγχειρητική διαμόρφωση των σκληρών και μαλακών ιστών σε σχέση με τα παρακείμενα δόντια και ανατομικές δομές.

Δ) Ο αποτελεσματικός έλεγχος της ΟΜΠ στην περιοχή του τραύματος αλλά και γενικότερα, τόσο κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο, όσο και μεταγενέστερα

στα πλαίσια της διατήρησης του θεραπευτικού αποτελέσματος. Η μικροβιακή επιμόλυνση και λοίμωξη της χειρουργηθείσας περιοχής κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο έχει αποδειχθεί ότι λειτουργεί ανασταλτικά στην επούλωση των περιοδοντικών ιστών (Blomlof και συν. 1988, Burke 1971, Sanz και Herrera 1998) Η ελαχιστοποίηση της ποσότητας της εμμένουσας ΟΜΠ στην μετεγχειρητική περιοχή οδηγεί σε ταχύτερη και χωρίς επιπλοκές επούλωση, συγκριτικά με την ύπαρξη εκτεταμένων εναποθέσεων αυτής (Flores de Jacoby και Mengel 1995) Χαρακτηριστική είναι η μελέτη σε σκύλους των Hamr και συν. (1975), όπου οι ερευνητές συνέκριναν ιστολογικά την επούλωση των περιοδοντικών ιστών μετά από ουλεκτομή ελέγχοντας ή μη τον τοπικό παράγοντα για συνολικό διάστημα 42 ημερών. Συγκεκριμένα οι μελετητές βούρτσιζαν τα δόντια των 5 ζώων που συμμετείχαν, 2 φορές/ημέρα για 4 μήνες, έτσι ώστε στο τέλος της περιόδου ο δείκτης πλάκας και ο ουλικός δείκτης να είναι σχεδόν μηδέν. Στη συνέχεια διεκόπη κάθε διαδικασία στοματικής υγιεινής για 2 εβδομάδες. Αμέσως μετά πραγματοποιήθηκαν σταδιακά ουλεκτομές παρειικά στον πρώτο γομφίο και τους δύο προγόμφιους της άνω γνάθου αμφοτερόπλευρα, εφαρμόζοντας τοπικά διακλυσμούς με σύριγγα για 2 λεπτά, στη μία πλευρά 0,2% CHX και στην άλλη πλευρά φυσιολογικό ορό (ομάδα ελέγχου). Η εφαρμογή περιοριζόταν μόνο στην περιοχή που γινόταν η ουλεκτομή. Οι ουλεκτομές πραγματοποιούνταν με τέτοια χρονολογική σειρά, έτσι ώστε να υπάρχουν περιοχές που είχαν εκτεθεί στην επίδραση της CHX ή αντίστοιχα του φυσιολογικού ορού για διαφορετικό χρονικό διάστημα (2, 4, 7, 14, 28 και 42 ημέρες αντίστοιχα), ενώ ελήφθησαν δείγματα ιστών για ιστολογική ανάλυση σε όλα τα προαναφερόμενα χρονικά σημεία. Στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας τα ούλα όπου είχε γίνει εφαρμογή CHX εμφανίζονταν

ωχρά και «σφιχτά», σε αντίθεση με τις περιοχές που είχαν λάβει φυσιολογικό ορό, που ήταν ερυθρές και οιδηματώδεις. Μετά από δύο ημέρες επούλωσης το πάχος της ζώνης διήθησης από φλεγμονώδη κύτταρα (κυρίως ουδετερόφιλα) στο συνδετικό ιστό των ούλων που έλαβαν φυσιολογικό ορό ήταν 1,5 φορές μεγαλύτερο από το αντίστοιχο των ούλων που έλαβαν CHX. Στις 4 και 7 ημέρες ο συνδετικός ιστός των ούλων που είχαν λάβει CHX εμφάνιζε μια λεπτή ζώνη διήθησης κυρίως από ουδετερόφιλα, αμέσως υποκείμενα του προσπεφυκώτος επιθηλίου. Σε αντίθεση ο συνδετικός ιστός των ούλων, που έλαβαν ορό εμφάνιζε πολύ μεγαλύτερη ζώνη διήθησης και περιείχε εκτός από ουδετερόφιλα, μακροφάγα, λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα. Στις 14 και 28 ημέρες η φλεγμονώδης διήθηση ήταν ελάχιστη στον συνδετικό ιστό των ούλων, που έλαβαν CHX και μάλιστα χωρίς ανίχνευση ΟΜΠ, ενώ το αντίθετο παρατηρήθηκε στα ούλα που έλαβαν ορό. Στις 42 ημέρες τα ούλα που έλαβαν CHX εμφάνιζαν καλά οργανωμένο προσπεφυκός επιθήλιο (όπου τα ακρορριζικότερα κύτταρά του βρίσκονταν στο ύψος της αδαμαντινοστεϊνικής ένωσης) και πλούσιο σε κολλαγόνο συνδετικό ιστό, κάτι που δεν ίσχυε για αυτά που έλαβαν ορό (τα ακρορριζικότερα κύτταρα του προσπεφυκώτος επιθηλίου βρίσκονταν 0,5-1mm ακρορριζικότερα της αδαμαντινοστεϊνικής ένωσης και ο συνδετικός ιστός ήταν ελλιπής σε κολλαγόνες ίνες. Το συμπέρασμα ήταν ότι η επούλωση των περιοδοντικών ιστών επηρεάζεται από την δυνατότητα ελέγχου της ΟΜΠ, κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο. Όμως η διατήρηση χαμηλών επιπέδων ΟΜΠ και κατά τη μεταγενέστερη μετεγχειρητική περίοδο έχει φανεί ότι παίζει σημαντικό όλο στη διατήρηση της περιοδοντικής σταθερότητας. Χαρακτηριστικά οι Froum και συν. (1982a) σε κλινική μελέτη που διεξήγαγαν σε 19 ασθενείς, όπου πραγματοποίησαν μετά κρημνού

ριζικές αποξέσεις σε περιοχές με γωνιώδεις ενδοστικές βλάβες και μέσο αρχικό βάθος περιοδοντικών θυλάκων 7,4mm και αξιολόγησαν τη σταθερότητα του θεραπευτικού αποτελέσματος για διάστημα 6 μηνών, κατέγραψαν στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ της υπάρχουσας ποσότητας ΟΜΠ και του κέρδους κλινικής πρόσφυσης αλλά και του βαθμού οστικής πλήρωσης των περιοδοντικών βλαβών. Τα παραπάνω ενισχύονται και από τα συμπεράσματα του πρώτου Ευρωπαϊκού Workshop περιοδοντολογίας (Αγγλία, 1994) (Lindhe και Echeverria 1994) όπου διατυπώθηκε ότι ο αυστηρός μετεγχειρητικός έλεγχος της ΟΜΠ αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την επιτυχή έκβαση της χειρουργικής του περιοδοντίου.

2.2 Γενικά ιστολογικά στοιχεία επούλωσης του περιοδοντικού τραύματος

Τα βασικά στάδια κατά την επούλωση των περιοδοντικών τραυμάτων που προέρχονται από χειρουργικές διαδικασίες είναι τα εξής:

A) Στάδιο αιμόστασης

Το στάδιο αυτό ξεκινάει αμέσως μετά τον ιστικό τραυματισμό με τον σχηματισμό του αιματικού θρόμβου. Αιμοπετάλια που έχουν εξαγγειωθεί ενεργοποιούνται και συναθροίζονται με άλλα κύτταρα του αίματος - όπως ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα και ερυθρά αιμοσφαίρια - στον αιματικό θρόμβο, αποκαλούμενο και αιματικό πήγμα. Το κύριο συστατικό της εξωκυττάριας μήτρας είναι το νεοσχηματισθέν δίκτυο ινικής, το οποίο επίσης περιέχει κι άλλες πρωτεΐνες που ευνοούν την κυτταρική συγκόλληση, όπως η φμπρονεκτίνη (Clark και συν. 2004, Rehemian και

συν. 2005). Αυτή η συνάθροιση κυττάρων και οργανικού υποστρώματος πλούσιου σε ινική, συχνά αναφέρεται με τον όρο «προσωρινή εξωκυττάρια μήτρα», καθώς αργότερα θα αντικατασταθεί από κοκκιώδη ιστό. Ο σχηματισμός του αιματικού θρόμβου αποτελεί το εναρκτήριο λάκτισμα για την προσέλκυση φλεγμονωδών κυττάρων στην περιοχή της βλάβης.

B) Στάδιο φλεγμονής

Η φάση αυτή εξελίσσεται παράλληλα με την αιμοστατική φάση. Η αποδόμηση του ινοδωγόνου οδηγεί στην απελευθέρωση χημειοκινών, του συστήματος του συμπληρώματος και πεπτιδίων που προσελκύουν ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα (Kolaczowska και Kubes 2013). Η εξαγγείωση και η μετανάστευση κυττάρων στους περιβάλλοντες ιστούς ελέγχεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα (Kolaczowska και Kubes 2013, Shi και Pamer 2011). Τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα εμφανίζονται μέσα σε μία και 24 ώρες, αντίστοιχα, από την δημιουργία του τραύματος. Τα ουδετερόφιλα εξουδετερώνουν τα βακτήρια που εισβάλλουν στην περιοχή της βλάβης, λειτουργώντας ως καθαρτήριο και απελευθερώνουν πρωτεάσες πριν φαγοκυτταρωθούν. Τα μακροφάγα αποτελούν έναν ετερογενή πληθυσμό κυττάρων, αφού συμμετέχουν τόσο σε φλεγμονώδεις (M1 μακροφάγα) όσο και αντιφλεγμονώδεις διαδικασίες (φαινότυπος M2a) (Mantovani και συν. 2013, Novak και Koh 2013). Αυτή η πρωταρχική καταβολική φλεγμονώδης διαδικασία είναι παροδική, αλλά απαραίτητη για τα επόμενα στάδια της αναβολικής φάσης, που περιλαμβάνει τον σχηματισμό νέου ιστού.

Γ) Στάδιο σχηματισμού νέου ιστού

Η φάση αυτή αρχίζει με τον σχηματισμό του κοκκιώδους ιστού, δηλαδή του αγγειοβριθούς ιστού που αποτελείται από ινοβλάστες και εξωκυττάρια μήτρα. Η μετάβαση από την καταβολική στην αναβολική φάση απαιτεί την ενεργοποίηση μιας σύνθετης διαδικασίας που εμπλέκει τουλάχιστον τρεις διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους: ενδοθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες και επιθηλιακά κύτταρα. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα που χρειάζονται για τον σχηματισμό των νέων τριχοειδών, μπορούν να προέλθουν από το ενδοθήλιο των αιμοφόρων αγγείων καθώς και από κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα (Potente και συν. 2011). Οι ινοβλάστες προέρχονται από τον συνδετικό ιστό αντίστοιχα με τα όρια του τραύματος, από ινοκύτταρα (που προέρχονται από μονοκύτταρα) (Grieb και συν. 2011, Reilkoff και συν. 2011) από περικύτταρα αγγείων (Grieb και συν. 2011) και πιθανώς από μια διαδικασία, που ονομάζεται επιθηλιομεσεγγυματική μετάβαση (Weber και συν 2012). Τα επιθηλιακά κύτταρα προέρχονται από κερατινοκύτταρα, αντίστοιχα με τα όρια του τραύματος. Ένα μέρος των ινοβλαστών εμφανίζει φαινότυπο που προσομοιάζει με τα λεία μυϊκά κύτταρα (Tomasek και συν. 2013). Αυτές οι μυοϊνοβλάστες μπορούν να επανασυνδέσουν τα όρια του τραύματος μεταξύ τους, παίζοντας ρόλο – κλειδί στην διαδικασία της επούλωσης (Klingberg και συν. 2013).

Δ) Στάδιο αναδιαμόρφωσης (remodeling phase)

Το στάδιο αυτό περιλαμβάνει την εξάλειψη της βλάβης και την δημιουργία ουλώδους ιστού. Η πλειοψηφία των μυοϊνοβλαστών, ινοβλαστών, ενδοθηλιακών κυττάρων και μακροφάγων αποπίπτουν καταλείποντας ένα μικρό αριθμό κυττάρων στην πλούσια σε κολλαγόνο εξωκυττάρια μήτρα. Δεν έχει διευκρινιστεί η φύση της σηματοδότησης της παραπάνω αποπτωτικής διαδικασίας (Hinz 2007). Αυτός ο ουλώδης ιστός, πέρα από τα αισθητικά του μειονεκτήματα, παρουσιάζει κατώτερες βιολογικές και μηχανικές ιδιότητες σε σχέση με τον πρωταρχικό φυσιολογικό ιστό που αντικαθιστά. Ο σχηματισμός ουλώδους ιστού, διαδικασία που ονομάζεται ίνωση, αποτελεί την κύρια παθολογία σε διάφορες καταστάσεις που σχετίζονται με φλεγμονή. Η ίνωση μπορεί να παρατηρηθεί σε διάφορους ιστούς και όργανα, όπως στο ήπαρ, τους πνεύμονες, την καρδιά, τους νεφρούς και το δέρμα. Ωστόσο, η παθοφυσιολογία της παραμένει αινιγματική (Meneghin και Hogaboam 2007), και πολλές προσπάθειες έχουν γίνει για την δυνατότητα ελέγχου της ίνωσης και κατ'επέκταση της δημιουργίας ουλώδους ιστού (Wynn και Ramalingam 2012). Υπάρχουν και περιπτώσεις όμως, που η δημιουργία πυκνού ινώδους συνδετικού ιστού, αποτελεί θεμιτό στόχο, και μάλιστα φαίνεται να οδηγεί σε καλύτερη μακροχρόνια πρόγνωση και σταθερότητα, όπως στην περίπτωση της περιοδοντικής επούλωσης μετά την εφαρμογή υποεπιθηλιακών μοσχευμάτων συνδετικού ιστού (Santagata και συν. 2014, Thoma και συν. 2011).

2.3 Βιολογία - Ιστολογία επούλωσης περιοδοντικών ιστών μετά από χειρουργική

2.3.1 Ο ρόλος του συνδετικού ιστού στην επιθηλιακή διαφοροποίηση

Το ερώτημα κατά πόσο η ειδικότητα του επιθηλίου καθορίζεται από κληρονομικούς μηχανισμούς ή καθοδηγείται από διαδικασίες λειτουργικής προσαρμογής, διερευνήθηκε από τους Karring και συν. (1971), σε μελέτη που διεξήγαγαν σε πηθίκους. Μετά την αφαίρεση του καταδυόμενου επιθηλίου παρειακά των προγομφίων της άνω ή/και της κάτω γνάθου και την αναπέταση βλεννογονοπεριοστικών κρημνών, ακολούθησε η παρασκευή μισχωτών κρημνών συνδετικού ιστού, οι οποίοι μετατοπίστηκαν στις δεκτριες περιοχές και καθηλώθηκαν με ράμματα. Επιπλέον πάρθηκαν ελεύθερα ουλικά μοσχεύματα από την υπερώα, τα οποία καθηλώθηκαν σε βλεννογόνο μετά την διενέργεια κρημνού μερικού πάχους, τόσο στην άνω όσο και στην κάτω γνάθο. Η πειραματική διαδικασία σχεδιάστηκε κατά τέτοιο τρόπο, ώστε να προκύψουν περίοδοι παρακολούθησης 5 και 14 ημερών, 1-8, 10 και 12 μηνών. Η ιστολογική εξέταση έδειξε, ότι κατά την πρώιμη περίοδο επούλωσης (δείγματα 5 ημερών), οι επιφανειακές στιβάδες του επιθηλίου απέπεσαν, ενώ παράλληλα υπήρχε αφθονία μιτωτικών διαιρέσεων στις βασικές στιβάδες των μοσχευμάτων που τοποθετήθηκαν στα ούλα και τον φατνιακό βλεννογόνο. Ο πολλαπλασιασμός των επιθηλιακών κυττάρων ξεκίνησε από τα χείλη μοσχεύματος – παρακείμενων ιστών, ενώ η αναγέννηση του υπερφατνιακού συνδετικού ιστού εμφανίστηκε να ξεκινά μέσα στον περιοδοντικό σύνδεσμο. Στις 14 ημέρες ολόκληρη η επιφάνεια των μοσχευμάτων καλυπτόταν από μια λεπτή στιβάδα επιθηλίου. Στις 30 ημέρες, τα μοσχεύματα καλύπτονταν πλήρως από επιθήλιο, αλλά εμφάνιζαν χαρακτηριστικές

ιδιότητες ίδιες με εκείνες των ιστών από τους οποίους προήλθαν. Στους 2 μήνες, τα μοσχεύματα παρουσίαζαν κλινικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά ίδια με εκείνα των δότριων ιστών. Επιπλέον, τόσο τα κλινικά όσο και τα ιστολογικά ευρήματα έδειξαν, ότι οι ιστοί των ούλων, του φατνιακού βλεννογόνου και του βλεννογόνου της υπερώας είχαν διατηρήσει τις ιδιαιτερότητές τους, αν και είχαν μεταμοσχευθεί σε διαφορετικές θέσεις, υποδηλώνοντας ότι τα κλινικά και δομικά χαρακτηριστικά των ιστών αυτών είναι γενετικά και όχι λειτουργικά προκαθορισμένα. Το εύρημα ότι μετά την πλήρη αφαίρεση των κερατινοποιημένων ιστών γύρω από φυσικά δόντια (ελεύθερα και προσπεφυκότητα ούλα), μια ζώνη κερατινοποιημένων ιστών θα επανασχηματιστεί, επιβεβαιώθηκε αργότερα από μελέτες σε πειραματόζωα και ανθρώπους (Wennstrom 1983, Wennstrom και Lindhe 1983, Wennstrom και συν. 1981). Σε όλες αυτές τις μελέτες, οι ερευνητές πάντα παρατηρούσαν επαναδημιουργία μιας μικρού εύρους ζώνης ούλων μετά την πλήρη αφαίρεσή τους. Μάλιστα σε μία από αυτές τις μελέτες (Wennstrom 1983), ενδιαφέρον ήταν το εύρημα ότι 9 μήνες μετά την χειρουργική, η πλήρης αφαίρεση των κερατινοποιημένων ιστών (με ουλεκτομή) φάνηκε να οδηγεί σε δημιουργία μεγαλύτερου εύρους ζώνης προσπεφυκώτων ούλων συγκριτικά με την μερική αφαίρεση (μετά κρημνού αφαίρεση). Η παρατήρηση αυτή αποδόθηκε στην αυξημένη ποσότητα κοκκιώδους ιστού, προερχόμενου από τον χώρο του περιρριζίου, που σχηματίστηκε μετά την ουλεκτομή συγκριτικά με την προσέγγιση με την αναπέταση κρημνού. Περαιτέρω στοιχεία για την καθοριστική σημασία του συνδετικού ιστού των ούλων στην επιθηλιακή διαφοροποίηση, προήλθαν και από μια μεταγενέστερη μελέτη σε πειραματόζωα, των Karring και συν. (1975b). Στην μελέτη αυτή ελήφθησαν μοσχεύματα συνδετικού ιστού από περιοχή ούλων και

φατνιακού βλεννογόνου, τα οποία στη συνέχεια μεταμοσχεύθηκαν σε περιοχές φατνιακού βλεννογόνου. Μετά την πάροδο 3-4 εβδομάδων, τα μοσχεύματα αποκαλύφθηκαν με αφαίρεση του υπερκείμενου επιθηλίου. Μετά από 12 μήνες επούλωσης, τα ιστολογικά ευρήματα έδειξαν, ότι ο συνδετικός ιστός που προερχόταν από ούλα καλύφθηκε με κερατινοποιημένο επιθήλιο, ενώ αυτός που προερχόταν από τον φατνιακό βλεννογόνο, με μη κερατινοποιημένο. Επίσης τα παραπάνω στοιχεία υποδηλώνουν, ότι ο κοκκιώδης ιστός που προέρχεται από φατνιακό βλεννογόνο θα δώσει γένεση σε μη κερατινοποιημένο επιθήλιο, ενώ αυτός που προέρχεται από υπερφατνιακό συνδετικό ιστό ή από περιρριζίο θα οδηγήσει στη δημιουργία κερατινοποιημένου επιθηλίου. Οι παρατηρήσεις αυτές επιβεβαιώθηκαν αργότερα και σε ανθρώπους (Edel 1974, Edel και Faccini 1977).

Από την άλλη πλευρά, είναι σημαντικό να τονισθεί, ότι αν και ο υποκείμενος συνδετικός ιστός φαίνεται να καθορίζει τα χαρακτηριστικά του υπερκείμενου επιθηλίου, το καταδυόμενο επιθήλιο δεν είναι κερατινοποιημένο. Το ερώτημα κατά πόσο το περιβάλλον της ουλοδοντικής σχισμής μπορεί να επηρεάζει την δυνατότητα κερατινοποίησης του καταδυόμενου επιθηλίου, έχει διερευνηθεί σε πειραματόζωα. Σε μία πειραματική μελέτη σε πηθίκους, οι Caffesse και συν. (1977) πραγματοποίησαν αναπέταση βλεννογονοπεριστικών κρημνών και στη συνέχεια προετοίμασαν κρημούς μερικού πάχους στον φατνιακό βλεννογόνο, ακρορριζικότερα των πρώτων, έτσι ώστε κατά την ακρορριζική μετατόπιση και συρραφή των κρημνών ολικού πάχους να αφήσουν το καταδυόμενο επιθήλιο εκτεθειμένο στο στοματικό περιβάλλον. Στη συνέχεια πάρθηκαν βιοψίες από μία ώρα έως και 8 εβδομάδες μετεγχειρητικά και ακολούθησε ιστολογική ανάλυση. Τα

ευρήματα έδειξαν ότι το καταδυόμενο επιθήλιο διαθέτει την δυνατότητα κερατινοποίησης και η επαφή του με την οδοντική επιφάνεια, είναι αυτή που του στερεί την προαναφερόμενη δυνατότητα. Σε μία άλλη πειραματική μελέτη (Caffesse και συν. 1979b) επίσης σε πηθίκους, πραγματοποιήθηκε η αντίστροφη διαδικασία. Μετά την αναπέταση κρημνών ολικού πάχους στην παρειακή πλευρά των υπό εξέταση δοντιών και χωρίς να συμπεριληφθούν οι όμορες μεσοδόντιες θηλές, οι κρημνοί επανατοποθετήθηκαν κατά τέτοιο τρόπο, έτσι ώστε η εξωτερική επιφάνεια του κερατινοποιημένου επιθηλίου των ούλων να έρθει σε επαφή με την οδοντική επιφάνεια (δηλαδή σαν να επρόκειτο για καταδυόμενο επιθήλιο). Η ιστολογική ανάλυση δύο μήνες μετά, έδειξε ότι η εξωτερική επιφάνεια του επιθηλίου μπορούσε να αλλάξει μορφολογικά σε μη κερατινοποιημένο επιθήλιο, παρουσιάζοντας ανατομικά χαρακτηριστικά καταδυόμενου επιθηλίου. Οι παραπάνω μελέτες απέδειξαν ότι το περιβάλλον της ουλοδοντικής σχισμής με την ύπαρξη της οδοντικής επιφάνειας μπορεί να ελέγχει την δυνατότητα κερατινοποίησης της εξωτερικής επιφάνειας του ουλικού επιθηλίου.

Ένα ακόμη ερώτημα, που μέχρι και σήμερα αποτελεί πεδίο αμφιλεγόμενων απόψεων, είναι το κατά πόσο η ύπαρξη φλεγμονής στους περιοδοντικούς ιστούς μπορεί να επηρεάσει την δυνατότητα κερατινοποίησης του επιθηλίου. Αποτελέσματα μελετών σε πειραματόζωα, έχουν αποτύχει να δείξουν ότι η πειραματικά προκληθείσα οξεία ή χρόνια φλεγμονή του συνδετικού ιστού των ούλων μπορεί να τροποποιήσει το φυσιολογικά κερατινοποιημένο επιθήλιο, υπό την προϋπόθεση ότι πραγματοποιείται τακτικός έλεγχος της ΟΜΠ (Caffesse και συν. 1985, Nasjleti και συν. 1984). Από την άλλη πλευρά, η μείωση της φλεγμονής των

ούλων μέσω της χορήγησης συστηματικών αντιβιοτικών, του τοπικού ελέγχου της ΟΜΠ με εφαρμογή διαδικασιών στοματικής υγιεινής και της πραγματοποίησης υποουλικής αποτρύγωσης, μπορεί να ευνοήσει την κερατινοποίηση του καταδυόμενου επιθηλίου (Bye και συν. 1980, Caffesse και συν. 1980, Caffesse και συν. 1982). Επιπρόσθετα ιστολογικά και ανοσοϊστοχημικά ευρήματα μέσω ανοσοφθορισμού σε ανθρώπους, έχουν δείξει ότι η φλεγμονή μπορεί να συμβάλει στην διαφοροποίηση του ουλικού επιθηλίου (Levy και συν. 1969, Ouhayoun και συν. 1990, Tonetti και συν. 1994).

2.3.2 Κύτταρα και αυξητικοί παράγοντες κατά την επούλωση των περιοδοντικών ιστών

Στην επούλωση μετά από κάθε περιοδοντική επέμβαση, υπάρχει μεγάλη ανάγκη για γρήγορη επιθηλιοποίηση του τραύματος (Goldman και Cohen 1980, Stahl 1976). Και αυτό, διότι το επιθήλιο δρα σαν προστατευτικός μανδύας στους υποκείμενους ιστούς προστατεύοντάς τους από μηχανικούς, χημικούς και μικροβιακούς ερεθισμούς. Η πηγή του επιθηλίου που θα καλύψει το τραύμα, είναι το περιφερικό επιθήλιο που βρίσκεται παρακείμενα της μετεγχειρητικής περιοχής (Engler και συν. 1966). Σε 24 – 36 ώρες μετά την επέμβαση αρχίζει η μετανάστευση του επιθηλίου. Ο ρυθμός της κίνησης των επιθηλιακών κυττάρων είναι 0,5 – 1χιλ. ανά ημέρα. Ο ρυθμός αυτός μπορεί να διαφοροποιηθεί όταν υπάρχουν βαθιές σχισμές ή περιοχές με ή χωρίς απογύμνωση οστού που όχι μόνο δεν επουλώνονται φυσιολογικά αλλά οδηγούν και στον σχηματισμό περιοχών που είναι ευαίσθητες και αιμορραγούν στον παραμικρό μικροβιακό ερεθισμό. Μάλιστα, σε περιοχές που

έχει πραγματοποιηθεί αποκάλυψη οστού, παρατηρείται υποδεέστερη επούλωση των μαλακών ιστών και απορρόφηση του οστού που μπορεί να οδηγήσει σε περαιτέρω απώλεια περιοδοντικής στήριξης.

Εκτός όμως από τα επιθηλιακά κύτταρα, που είναι τα ταχύτερα κινούμενα, η επιφάνεια της ρίζας όπως και του οστού μετά την αναπέταση του κρημνού, επαναποικίζεται από κύτταρα που προέρχονται από τον συνδετικό ιστό των ούλων, το οστούν και το περιρρίζιο (Lindhe 1998).

Ο συνδετικός ιστός αποτελεί την βάση των ούλων, του φατνιακού βλεννογόνου, του περιρριζίου και του μυελού των οστών (Ten Cate 2001). Ζωτικής σημασίας είναι η αλληλεπίδραση μεταξύ επιθηλίου, συνδετικού ιστού, αγγείων και λεμφαγγείων καθώς και των παρακείμενων μαλακών και σκληρών ιστών, συμπεριλαμβανομένου του περιοστέου και του ενδοστέου.

Αναλυτικότερα, το αγγειακό εξίδρωμα που αναδύεται από τα υποεπιθηλιακά τριχοειδή και τα φλεβίδια των προσπεφυκώτων ούλων και του φατνιακού βλεννογόνου περιέχει αμινοξέα, υδατάνθρακες, Ca, K, ορμόνες, βιταμίνες και νερό, στοιχεία απαραίτητα για το μεταβολισμό και τη διατήρηση των κυτταρικών και εξωκυττάρων τμημάτων των ιστών περιφερικά των αγγείων. Το εξίδρωμα μετά την έξοδό του από τα αγγεία τροφοδοτεί τον συνδετικό ιστό και στη συνέχεια δια μέσου της βασικής μεμβράνης φθάνει στον επιθηλιακό μεσοκυττάριο χώρο, τροφοδοτώντας τα επιθηλιακά κύτταρα. Ένα τμήμα του εξιδρώματος συγκρατείται επίσης από τις ινοβλάστες του συνδετικού ιστού.

Εντυπωσιακές αλλαγές συμβαίνουν μετά το τραύμα και τον ερεθισμό που προκαλείται κατά την επέμβαση. Τα αδιαφοροποίητα μεσεγγυματικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται και διαφοροποιούνται προς διάφορες κατηγορίες κυττάρων, μία εκ των οποίων είναι οι ινοβλάστες, η δραστηριότητα των οποίων οδηγεί στο σχηματισμό του κολλαγόνου. Πέρα από τις ινοβλάστες, τα αρχέγονα μεσεγγυματικά κύτταρα διαφοροποιούνται σε οστεοβλάστες, οστεϊνοβλάστες, οδοντοβλάστες, μαστοκύτταρα και μονοκύτταρα. Από την σύντηξη των δύο τελευταίων κυτταρικών πληθυσμών θα προέλθουν οι πολυπύρρηνοι οστεοκλάστες. Οι οστεοβλάστες σε συνεργασία με τους οστεοκλάστες ελέγχουν τον μεταβολισμό του οστίτη ιστού, με την διαρκή εναπόθεση και αποδόμησή του, όχι μόνο κατά την διάρκεια των επουλωτικών διαδικασιών, αλλά και καθ'όλη την λειτουργική φάση του περιοδοντίου.

Ιδιαίτερο ρόλο στην επούλωση των ιστών παίζουν τα μονοπύρρηνα μακροφάγα και τα μαστοκύτταρα.

Τα μονοπύρρηνα μακροφάγα είναι υπεύθυνα για την φαγοκυττάρωση και την πέψη όλων των κυτταρικών υπολειμμάτων, των τεμαχιδίων κολλαγόνου καθώς και των βακτηρίων. Διατάσσονται περιφερικά του αιματικού θρόμβου, βοηθώντας στην απομάκρυνσή του με την δράση των ενζύμων που περιέχουν (όξινες φωσφατάσες, πρωτεάσες, λιπάσες, κολλαγενάσες).

Τα μαστοκύτταρα είναι ιδιαίτερα αυξημένα τις πρώτες 7 – 10 μετεγχειρητικές ημέρες. Συνθέτουν ουσίες όπως η ισταμίνη, η ηπαρίνη και η θειϊκή ηπαρίνη, τις οποίες εκκρίνουν πλησίον των αγγείων, μιας και εδράζονται περιαγγειακά. Έτσι, όταν χημικά, θερμικά ή μηχανικά ερεθίσματα τα ενεργοποιήσουν αυτά

αποκοκκιώνονται και προκαλείται έντονη αγγειοδιαστολή (η ισταμίνη έχει ισχυρή αγγειοδιασταλτική δράση).

Καθώς η οξεία φάση της μετεγχειρητικής φλεγμονής υποχωρεί (2 – 4 ημέρες μετεγχειρητικά), σταδιακά εγκαθίσταται η χρόνια φλεγμονή. Η χρόνια φλεγμονή χαρακτηρίζεται από την παρουσία των Τ-λεμφοκυττάρων τα οποία ενεργοποιούνται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά μακροφάγα (Kornman και συν. 1997b). Τα Τ-λεμφοκύτταρα πιθανώς να βοηθούν στην επούλωση μέσω της παραγωγής και έκκρισης: 1) ενεργοποιητικών παραγόντων των μακροφάγων, που επάγουν την φαγοκυτταρική ικανότητα των μακροφάγων, 2) ανασταλτικών παραγόντων μετανάστευσης των μακροφάγων, έτσι ώστε αυτά να παραμένουν και να δρουν στη περιοχή του τραύματος, 3) παραγόντων ενεργοποίησης οστεοβλαστών, οστεοκλαστών και ινοβλαστών, 4) παραγωγής πεπτιδίων που επάγουν την σύνθεση συνδετικού ιστού, όπως γλυκοπεπτιδίων, που ενεργοποιούν ινοβλάστες, οστεοβλάστες και οστεϊνοβλάστες. Τα Τ-λεμφοκύτταρα παίζουν σημαντικό ρόλο και στην διαφοροποίηση των Β-λεμφοκυττάρων σε πλασματοκύτταρα τα οποία με την σειρά τους παράγουν ανοσοσφαιρίνες κατά συγκεκριμένων μικροοργανισμών και προϊόντων αυτών. Επίσης μετά την χειρουργική επέμβαση οι ιστικές πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες αναγνωρίζονται ως ξένα σώματα, οδηγώντας στην παραγωγή αντισωμάτων. Μάλιστα μεταξύ 5^{ης} και 7^{ης} μετεγχειρητικής ημέρας παρατηρείται αυξημένη συγκέντρωση IgG αντισωμάτων στο αίμα και αντίστοιχα μείωση της συγκέντρωσης των IgM.

Ιδιαίτερα σημαντικά στοιχεία για την επίτευξη αποτελεσματικής επούλωσης είναι αφ'ενός η ύπαρξη επαρκούς αγγείωσης της περιοχής, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η

παροχή των απαραίτητων θρεπτικών συστατικών, αφ'ετέρου ο επαρκής πληθυσμός αμυντικών φλεγμονωδών κυττάρων (ουτερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα, μονοκύτταρα και μακροφάγα).

Η διαδικασία επούλωσης του τραύματος χαρακτηρίζεται από μετακίνηση, προσκόλληση, πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση πολλών διαφορετικών κυτταρικών τύπων. Το έναυσμα για την διαφοροποίηση αυτής της έντονης κυτταρικής δραστηριότητας δίνεται από την στιγμή κατά την οποία γίνεται προσκόλληση των πολυπεπτιδικών μεσολαβητών στους αντίστοιχους κυτταρικούς υποδοχείς και των ιντεγκρινών σε συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (Βραχόπουλος και Πεπελάση 2003). Ρυθμιστικό ρόλο στις διάφορες κυτταρικές λειτουργίες διαδραματίζουν αυξητικοί παράγοντες, όπως οι μετατρεπτικοί αυξητικοί παράγοντες α και β (TGF- α , TGF- β), ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας προσκόλλησης της ηπαρίνης (HB – EGF), και ο αυξητικός παράγοντας των κερατινοκυττάρων (KGF). Χαρακτηριστικά, έχει βρεθεί ότι η έκφραση του KGF εκατονταπλασιάζεται μέσα στο πρώτο 24ωρο από την δημιουργία του τραύματος (Martin 1997). Άλλοι αυξητικοί παράγοντες, όπως οι αυξητικοί παράγοντες των ινοβλαστών 1 και 2 (FGF -1, FGF -2), ο αυξητικός παράγοντας των επιθηλιακών αγγειακών κυττάρων (VEGF), η αγγειογενίνη, η αγγειοτροπίνη, οι αγγειοποιητίνες και ο αυξητικός παράγοντας των ηπατοκυττάρων (HGF), διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της αγγειογένεσης (Conway και συν. 2001). Ο αυξητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων (PDGF) φαίνεται να έχει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της επούλωσης λόγω της μιτογενετικής δράσης του επί των ινοβλαστών και άλλων μεσεγχυματικών κυττάρων, αλλά και λόγω της έντονης παρουσίας του

στους ουλικούς ιστούς (Green και συν. 1997). Επαγωγικό ρόλο στη διαδικασία εναπόθεσης κολλαγόνου από τις ινοβλάστες παίζουν ο αυξητικός παράγοντας του συνδετικού ιστού (CTGF) και ο μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας β (TGF – β), με τον τελευταίο να επάγει τη διαφοροποίηση των ινοβλαστών σε μυοϊνοβλάστες, συμμετέχοντας έτσι στη ρίκνωση του τραύματος (Βραχόπουλος και Πεπελάση 2003). Σημαντικό ρόλο στην επουλωτική διαδικασία παίζουν οι ιντεγκρίνες, αφού συμμετέχουν ενεργά τόσο στη μετακίνηση όσο και στην προσκόλληση των κυττάρων. Επιπλέον σημαντική είναι και η συμβολή των μεταλλοπρωτεϊνών της θεμέλιας ουσίας (MMPs), οι οποίες είναι απαραίτητες τόσο για την μετακίνηση και διευθέτηση των κερατινοκυττάρων, όσο και για την επαναδημιουργία του υποστρώματος του κοκκιώδους ιστού (Parks 1999). Τέλος, ιδιαίτερα σημαντική είναι η βιολογική διαδικασία της πρωτεόλυσης, η οποία συμβάλει στην διάσπαση του θρόμβου ινώδους και την ιστική αναγέννηση (Βραχόπουλος και Πεπελάση 2003).

2.3.3 Επούλωση κατά τις διάφορες περιοδοντικές χειρουργικές επεμβάσεις

2.3.3.1 Ουλοπλαστική – Ουλεκτομή

Τα στάδια επούλωσης μετά από ουλεκτομή έχουν περιγραφεί από τους Nonaes και συν. (1969). Αμέσως μετά την επέμβαση, το τραύμα καλύπτεται από αιματικό πήγμα με έντονη παρουσία λευκοκυττάρων. Μετά από 2 ημέρες, ένας παχύς αιματικός θρόμβος καλύπτει την μετεγχειρητική περιοχή, ενώ διαφαίνεται και η πρώτη μετανάστευση επιθηλιακών κυττάρων αντίστοιχα με τα ακρορριζικά όρια

των ορίων του τραύματος. Στις 4 ημέρες, ο αιματικός θρόμβος ακόμη καλύπτει το μεγαλύτερο τμήμα του τραύματος, αλλά πλέον είναι εμφανώς ορατός ο πολλαπλασιασμός του στοματικού επιθηλίου. Στις 7 ημέρες παρατηρείται επιθηλιοποίηση του τραύματος και επαναδημιουργία της ουλοδοντικής σχισμής, αλλά η πλήρης κερατινοποίηση και ο επανασχηματισμός των επιθηλιακών καταδύσεων (rete pegs) ανιχνεύονται μόλις στις 16 ημέρες. Ήδη από την δεύτερη μετεγχειρητική εβδομάδα, οι ινοβλάστες του υπερφατνιακού συνδετικού ιστού πλησίον του δοντιού αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται και να συνθέτουν κολλαγόνο, οδηγώντας με αυτό τον τρόπο, σε εναπόθεση νέου συνδετικού ιστού (Waerhaug 1999). Αν η ριζική επιφάνεια είναι ελεύθερη ΟΜΠ, η επούλωση θα οδηγήσει στο σχηματισμό ελεύθερων ούλων με όλα τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά που τα διακρίνουν. Για την πλήρη επούλωση των μαλακών ιστών, απαιτείται διάστημα περίπου 38 ημερών, όπου πλέον δεν παρατηρείται διαφορά με τις παρακείμενες περιοχές. Όσον αφορά το οστό, οι αλλαγές συνίστανται στην μικρού βαθμού απορρόφηση και τη συνακόλουθη απώλεια συνδετικογενούς πρόσφυσης. Μεγάλη σημασία για την επίτευξη αποτελεσματικής και γρήγορης επούλωσης έχει ο επαρκής μετεγχειρητικός έλεγχος της φλεγμονής, διότι η παρουσία ΟΜΠ ή υπολειμμάτων τροφής οδηγούν σε καθυστερημένη επούλωση.

2.3.3.2 Χειρουργική μετά κρημνού (ολικού – μερικού πάχους)

Γενικά, τόσο μετά την αναπέταση κρημνών ολικού πάχους όσο και μερικού πάχους, η επουλωτική διαδικασία ακολουθεί παρόμοιο μοτίβο, το οποίο αρχικά χαρακτηρίζεται από τον σχηματισμό αιματικού θρόμβου μεταξύ μαλακών και

υποκείμενων σκληρών ιστών. Αρχικά η πρόσφυση των μαλακών ιστών στο υποκείμενο οστόν, δια μέσου του αιματικού θρόμβου, είναι χαλαρή και εύκολα διαταράξιμη (Kon και συν. 1969). Το πάχος του αιματικού θρόμβου είναι ιδιαίτερα σημαντικό για την περαιτέρω διαδικασία της επούλωσης. Όσο πιο μεγάλο είναι το πάχος του θρόμβου, τόσο ατελέστερη είναι η πρόσφυση του μαλακού ιστού με το υποκείμενο οστόν και τόσο πιο αργά αντικαθίσταται από συνδετικό ιστό, καθυστερώντας έτσι την επούλωση. Γι αυτό και επιδιώκεται η κατά το δυνατόν στενότερη επαφή μεταξύ κρημνού και οστίτη ιστού, τουλάχιστον τις πρώτες 7 ημέρες. Ο θρόμβος παραμένει για 3-4 ημέρες, ενώ μετά αρχίζει και απορροφάται (πλήρως την 6^η -7^η ημέρα), έως ότου αντικατασταθεί από νεοπλασθέντα συνδετικό ιστό. Την 6^η με 7^η μετεγχειρητική ημέρα παρατηρείται φλεγμονώδης διήθηση και αυξημένη αγγείωση του εναπομείναντος συνδετικού ιστού. Ακόμη, σε αυτό το στάδιο, ο κρημνός είναι επιρρεπής σε διαχωρισμό από το υποκείμενο οστόν, αν εφαρμοστεί τάση στην περιοχή. Στις 12 ημέρες, ο κρημνός έχει επαναπροσφυθεί στο οστόν και την οδοντική επιφάνεια, ενώ το ουλικό επιθήλιο έχει κερατινοποιηθεί με σχηματισμό των επιθηλιακών καταδύσεων (rete pegs). Στις 4 εβδομάδες, ο κρημνός έχει επαναπροσφυθεί στην οδοντική επιφάνεια μέσω πυκνού, καλά οργανωμένου συνδετικού ιστού. Στις 5 εβδομάδες οι μαλακοί ιστοί έχουν αναγεννηθεί πλήρως και δεν υπάρχουν διαφορές με τις παρακείμενες μη χειρουργημένες περιοχές (Caffesse και συν. 1984, Kon και συν. 1984). Η δύναμη με την οποία ο κρημνός προσφύεται στην οδοντική επιφάνεια κατά την μετεγχειρητική επούλωση έχει αξιολογηθεί από τους Hiatt και συν. (1968). Την 2^η και 3^η μετεγχειρητική ημέρα, η απαιτούμενη τάση που έπρεπε να εφαρμοστεί για τον διαχωρισμό του κρημνού από το δόντι και το οστόν ήταν 225γρ., ενώ την 7^η

μετεγχειρητική ημέρα, η αντίστοιχη δύναμη ήταν 340γρ. (η απόσπαση επιτυγχανόταν μέσω έλξης των ραμμάτων αντίστοιχα με τα χείλη του κρημονού και η απαιτούμενη δύναμη αξιολογούταν με δυναμόμετρο). Όταν αποκόπηκε η επιθηλιακή πρόσφυση, το δίκτυο ινικής κάτω από την επιφάνεια του συνδετικού ιστού φάνηκε να παρέχει πολύ μικρή αντίσταση στις ασκούμενες μηχανικές τάσεις. Την 14^η μετεγχειρητική ημέρα, έλξη του ράμματος με δύναμη ίση με 1700γρ. ήταν ικανή να οδηγήσει σε μερικό αποχωρισμό του κρημονού μόνο από την οδοντική επιφάνεια. Ένα μήνα μετά την επέμβαση, δεν ήταν εφικτός ο μηχανικός διαχωρισμός του κρημονού από την οδοντική επιφάνεια, παρά μόνο η ενδοεπιθηλιακή δημιουργία μιας σχισμής αντίστοιχα με το σημείο εφαρμογής της τάσης, η οποία ήταν μικροσκοπικά ανιχνεύσιμη. Τα παραπάνω ευρήματα υποδηλώνουν ότι η αρχική πρόσφυση του κρημονού στην οδοντική επιφάνεια γίνεται δια μέσου του επιθηλίου, ενώ η στοιβάδα ινικής δεν φαίνεται να συνεισφέρει σημαντικά στην συγκράτηση του κρημονού. Επιπλέον η σωστή προσαρμογή του βλεννογονοπεριοστικού κρημονού στη ριζική επιφάνεια, φάνηκε να αναστέλει τον ακρορριζικό πολλαπλασιασμό και μετανάστευση των επιθηλιακών κυττάρων. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώθηκαν αργότερα και από τους Wikesjo και συν. (1991), κάνοντας φανερό πως ο σχηματισμός συνδετικογενούς πρόσφυσης στην οδοντίνη διαμεσολαβείται από προσρόφηση στην οδοντική επιφάνεια πρωτεϊνών πλάσματος και μεταγενέστερη εξέλιξη και ωρίμανση του θρόμβου ινικής (Wikesjo και συν. 1991). Συνεπώς φαίνεται ότι η μεσόφαση οδοντικής επιφάνειας – μαλακών ιστών είναι επιρρεπής στο μηχανικό τραύμα μέχρι και την 7^η μετεγχειρητική ημέρα. Περίπου την 14^η μετεγχειρητική ημέρα φαίνεται να έχει αποκατασταθεί μια δομική συνέχεια της χειρουργημένης περιοχής, ικανή να

ανθίσταται στον μηχανικό τραυματισμό. Τα παραπάνω αναδεικνύουν την σημαντικότητα της παθητικής προσαρμογής του κρημού και της συρραφής στην χωρίς επιπλοκές επούλωση του τραύματος.

Σε κυτταρικό επίπεδο, η αρχικά οξεία φλεγμονή, που χαρακτηρίζεται κυρίως από την παρουσία ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων, αντικαθίσταται κατά την 7^η μετεγχειρητική ημέρα από χρόνια φλεγμονή, όπου επικρατούν λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα και μακροφάγα. Η επαναγγείωση ξεκινά 2 – 3 ημέρες μετά την επέμβαση, και οργανώνεται πλήρως μεταξύ πρώτης και δεύτερης μετεγχειρητικής εβδομάδας.

Όμως, τι γίνεται με τον οστίτη ιστό; Κατά τη διάρκεια της αρχικής φάσης της επούλωσης, πραγματοποιείται διαφόρου βαθμού οστική απορρόφηση, αντίστοιχα με την παρυφή της φατνιακής ακρολοφίας (Ramfjord και Costich 1968). Το πόσο οστούν θα απορροφηθεί κάθε φορά, εξαρτάται από το οστικό πάχος στην εκάστοτε περιοχή (Wood και συν. 1972) και μπορεί να κυμαίνεται από 0,5 – 1,49mm (Froum και συν. 1982, Kyriazis και συν. 2012). Η οστεοκλαστική απορρόφηση συνεχίζεται φθάνοντας στο μέγιστο βαθμό 8 -10 ημέρες μετά την επέμβαση. Μεταξύ 10^{ης} και 12^{ης} μετεγχειρητικής ημέρας, παρατηρείται μείωση της οστικής απορρόφησης και κατά τη 14^η – 21^η μετεγχειρητική ημέρα επέρχεται εξισορρόπηση μεταξύ δημιουργίας και απορρόφησης οστίτη ιστού. Μετά την 21^η μετεγχειρητική ημέρα, η οστική εναπόθεση κυριαρχεί στην περιοχή του τραύματος.

Στην περίπτωση της αναπέτασης κρημού μερικού πάχους, η διαφορά έγκειται στο γεγονός ότι, με μια λεπτή τομή, διαχωρίζεται ο μαλακός ιστός του κρημού, αφήνοντας το περίοστεο και τμήμα του συνδετικού ιστού να καλύπτει το

υποκείμενο οστού. Με αυτόν τον τρόπο, ο κρημνός μερικού πάχους πλεονεκτεί του αντίστοιχου ολικού, λόγω της μικρότερης οστικής απορρόφησης που λαμβάνει χώρα (Fickl και συν. 2011, Pfeifer 1965). Η οστεοκλαστική δραστηριότητα ξεκινά 4 ημέρες μετά την επέμβαση, και συνεχίζει για περίπου δύο εβδομάδες μετεγχειρητικά. Ιστολογικά, το περίοστεο αποτελείται από δύο ζώνες, μια εξωτερική αγγειονευροβριθή, πλούσια σε κολλαγόνες ίνες και μια εσωτερική κυτταροβριθή, πλούσια σε τριχοειδική αγγείωση.

Η φύση και το πάχος του περισστέου και του υπερκείμενου συνδετικού ιστού, η σύσταση και το πάχος του οστού που καλύπτει το φατνίο καθώς και η θέση του κρημνού μετεγχειρητικά αποτελούν καθοριστικούς παράγοντες για αποτελεσματική επούλωση. Μετά τον αρχικό σχηματισμό του θρόμβου, το περίοστεο δεν εμφανίζει έντονη οστεοκλαστική δραστηριότητα, ενώ το επιφανειακό μαλακό τμήμα του κρημνού εμφανίζει έντονη φλεγμονή με ύπαρξη διασταλμένων αγγείων που περιέχουν πληθώρα ερυθροκυττάρων και πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων. Πιο συγκεκριμένα, η οστεοκλαστική δραστηριότητα είναι εμφανής μεταξύ 4^{ης} και 8^{ης} μετεγχειρητικής ημέρας και στη συνέχεια ελαχιστοποιείται. Τελικά, περίπου 28 ημέρες μετά, σταματά εντελώς και υπερισχύει η οστεοβλαστική δράση στη φατνιακή απόφυση του οστού.

2.3.3.3 Τεχνικές που σχετίζονται με παραμονή αποκαλυμμένου οστού ή περισστέου

Η επούλωση μετά την εφαρμογή κρημνών ολικού ή μερικού πάχους, για την αντιμετώπιση ουλοβλεννογόνιων προβλημάτων και συγκεκριμένα για αύξηση του

εύρους των κερατινοποιημένων ιστών, έχει αξιολογηθεί σε αρκετές μελέτες επί πειραματόζων (Karring και συν. 1975a, Kon και συν. 1978, Pustiglioni και συν. 1975, Staffileno και συν. 1966). Η διαδικασία σχηματισμού κοκκιώδους ιστού μετά από χειρουργικές τεχνικές με διατήρηση του περιοστέου (μερικού πάχους κρημνός) ή παραμονή του οστίτη ιστού εκτεθειμένου στο στοματικό περιβάλλον έχει μελετηθεί σε πηθίκους, από τους Karring και συν. (1975a). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μετά την έκθεση του περιοστέου ή του οστού στο στοματικό περιβάλλον, ο δημιουργούμενος κοκκιώδης ιστός προέρχεται από το περιρρίζιο των εμπλεκόμενων δοντιών, το μυελό των οστών καθώς και από τα παρακείμενα ούλα και τον φατνιακό βλεννογόνο. Κατά την διάρκεια των αρχικών σταδίων της επούλωσης, παρατηρήθηκε απορρόφηση του παρειικού οστικού πετάλου, η οποία ήταν ανάλογη του πάχους και της δομής του. Γενικά, η οστική απορρόφηση ήταν εντονότερη στις περιπτώσεις, όπου το φατνιακό οστόν παρέμεινε τελείως εκτεθειμένο στο στοματικό περιβάλλον, ενώ φάνηκε πως η διατήρηση του περιοστέου λειτουργεί προστατευτικά για τον οστίτη ιστό. Μετά από περίπου 1 μήνα επούλωσης, τα ελεύθερα ούλα είχαν αναγεννηθεί και παρουσίαζαν αβαθή ουλοδοντική σχισμή. Ένα με δύο μήνες μετά την επέμβαση, είχαν επαναδημιουργηθεί ελαστικές ίνες στον τραυματισμένο φατνιακό βλεννογόνο, οι οποίες παρουσίαζαν ίδια ιστολογικά χαρακτηριστικά με αυτές του παρακείμενου φυσιολογικού βλεννογόνου. Ενδιαφέρον είναι το εύρημα, πως ο κοκκιώδης ιστός που προερχόταν από τον συνδετικό ιστό των παρακείμενων ούλων ή το περιρρίζιο καλυπτόταν από κερατινοποιημένο επιθήλιο, ενώ στην περίπτωση που προερχόταν από τον συνδετικό ιστό του παρακείμενου φατνιακού βλεννογόνου καλυπτόταν από μη κερατινοποιημένο επιθήλιο. Το τελευταίο επιβεβαιώνει

προαναφερόμενα στοιχεία περί της γενετικά καθοδηγούμενης διαδικασίας της κερατινοποίησης και καθιστά τις συγκεκριμένες τεχνικές απρόβλεπτες, ως προς την δυνατότητα αύξησης του εύρους των κερατινοποιημένων ιστών.

2.3.3.4 Αυτομοσχεύματα μαλακών ιστών (αποκαταστατική χειρουργική)

Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν περιοδοντικές χειρουργικές επεμβάσεις, που σχετίζονται με την λήψη ελεύθερων ουλικών μοσχευμάτων ή υποεπιθηλιακών μοσχευμάτων συνδετικού ιστού από την υπερώα και στη συνέχεια μεταφοράς τους σε μια δέκτρια θέση, με στόχο την αύξηση του εύρους και πάχους των κερατινοποιημένων ιστών ή/και την αντιμετώπιση υφιστάμενων.

Τα βασικά στάδια επούλωσης και επαναγγείωσης ενός ελεύθερου ουλικού μοσχεύματος που τοποθετείται πάνω σε περίοστεο, μετά την αναπέταση κρημνού μερικού πάχους, έχουν μελετηθεί σε πηθικούς από τους Oliver και συν. (1968). Η ιστολογική εξέταση έδειξε ότι η επούλωση μπορεί να διακριθεί σε τρεις διαφορετικές φάσεις: α) Η αρχική φάση (0-3 ημέρες) χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη ενός λεπτού στρώματος ινικής, που παρεμβάλεται μεταξύ περιostίου και μοσχεύματος μαλακών ιστών καθώς και από την αποδόμηση του επιθηλίου με απόπτωση των εξωτερικών στιβάδων του. Η επιβίωση του μοσχεύματος στηρίζεται στην δημιουργία πλασματικής αγγειακής κυκλοφορίας. β) Η φάση επαναγγείωσης (4-11 ημέρες) χαρακτηρίζεται από ελάχιστη οστική απορρόφηση αντίστοιχα με την παρυφή της φατνιακής απόφυσης καθώς και από τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών στην περιοχή ανάμεσα στο περίοστεο και το μόσχευμα. Την 5^η

μετεγχειρητική ημέρα έχει αποπέσει όλο το επιθήλιο του ελεύθερου ουλικού μοσχεύματος, ενώ παράλληλα μια νέα στοιβάδα επιθηλιακών κυττάρων δημιουργείται στην εξωτερική επιφάνεια του μοσχεύματος, προερχόμενη από τα παρακείμενα ούλα. Την 11^η ημέρα παρατηρήθηκε ινώδης σύνδεση μεταξύ του μοσχεύματος και του υποκείμενου περιοστέου. Ο κοκκιώδης ιστός βαθμιαία άρχισε να αντικαθίσταται από ινοβλάστες και την 11^η ημέρα το μόσχευμα ήταν πλήρως καλυμμένο από επιθήλιο σε συνέχεια του παρακείμενου κερατινοποιημένου ιστού. Σε αυτό το στάδιο ήταν εμφανής η ύπαρξη πραγματικής αγγείωσης, με την δημιουργία νέων τριχοειδών αντίστοιχα με τη βάση του μοσχεύματος. γ) Η φάση ωρίμανσης (11-42 ημέρες). Στις 14 ημέρες επούλωσης, οι ίνες του συνδετικού ιστού του μοσχεύματος ήταν συγκρίσιμες σε ποιότητα και εμφάνιση, με αυτές του παρακείμενου φυσιολογικού συνδετικού ιστού των ούλων. Στις 14 ημέρες, το επιθήλιο είχε φθάσει σχεδόν στο φυσιολογικό του πάχος, αλλά ακόμη δεν εμφάνιζε σημεία κερατινοποίησης. Σημεία κερατινοποίησης ήταν ανιχνεύσιμα κατά την 28^η μετεγχειρητική ημέρα. Στις 14 ημέρες, ο αριθμός των αιμοφόρων αγγείων του συνδετικού ιστού του μοσχεύματος είχε μειωθεί, αλλά ταυτόχρονα είχε αυξηθεί η πυκνότητα του συνδετικού ιστού με το μοτίβο της αγγείωσης να μην παρουσιάζει σημαντικές μεταβολές μετά την 14^η ημέρα.

Οι παραπάνω παρατηρήσεις, έρχονται σε συμφωνία με αυτές άλλων μελετητών, όπως των Caffesse και συν. (1979a), Caffesse και συν. (1979b) και Staffileno & Levy (1969) οι οποίοι μελέτησαν την επούλωση ελεύθερων ουλικών μοσχευμάτων τοποθετημένων επί περιοστέου ή πλήρως αποκαλυμμένου οστίτη ιστού, σε πηθίκους και σκύλους αντίστοιχα. Στις περιπτώσεις όπου είχαν πραγματοποιηθεί

κρημνοί ολικού πάχους, παρατηρήθηκε μια επιβράδυνση της επουλωτικής διαδικασίας συγκριτικά με την διατήρηση του περιοστέου, η οποία δεν ήταν πλέον εμφανής μετά την 28^η μετεγχειρητική ημέρα. Η ύπαρξη του περιοστέου φάνηκε να οδηγεί σε καλύτερη προσαρμογή και θρέψη του μοσχεύματος, ενώ τα μοσχεύματα που είχαν τοποθετηθεί κατ'ευθείαν σε αποκαλυμμένο οστόύν, εμφάνισαν αρχικά μεγαλύτερη αποδόμηση και επιβράδυνση της επιθηλιακής μετανάστευσης. Η κερατινοποίηση της εξωτερικής επιφάνειας των μοσχευμάτων καταγράφηκε την 28^η ημέρα και στις δύο περιπτώσεις, αλλά ελαστικές ίνες παρατηρήθηκαν μόνο στον συνδετικό ιστό των μοσχευμάτων που είχαν τοποθετηθεί πάνω σε περιόστεο.

Η επουλωτική διαδικασία στον άνθρωπο ακολουθεί παρόμοια πρότυπα, με το μόσχευμα από την 1^η έως την 6^η ημέρα να είναι οιδηματώδες, ενώ ταυτόχρονα μέχρι την 3^η ημέρα παρουσιάζει κλινικά λευκή απόχρωση. Από την 4^η ημέρα αρχίζει να εμφανίζεται ρόδινο, λόγω της σταδιακά δημιουργούμενης αγγειακής κυκλοφορίας. Πλήρης ανάπλαση του επιθηλίου πραγματοποιείται κατά την 7^η -10^η ημέρα, ενώ από την 14^η ημέρα αρχίζει η διαδικασία κερατινοποίησής του, η οποία ολοκληρώνεται περίπου στις 38-42 ημέρες. Από την 10^η ημέρα παρατηρείται αύξηση του αριθμού των ινοβλαστών και σχετική μείωση της φλεγμονώδους αντίδρασης, η οποία είναι ιδιαίτερα εμφανής τις πρώτες 48 ώρες από την επέμβαση, ενώ φλεγμονώδης διήθηση του συνδετικού ιστού του μοσχεύματος καταγράφεται μέχρι την 17^η – 21^η ημέρα. Έτσι 38 – 42 ημέρες μετά την επέμβαση, έχουμε αποκατάσταση του επιθηλίου και του συνδετικού ιστού, άρα και δημιουργία ουλοδοντικής πρόσφυσης.

Αναφορικά με το υποεπιθηλιακό μόσχευμα συνδετικού ιστού, η διαδικασία και τα στάδια της επούλωσης είναι παρόμοια με εκείνα του ελεύθερου ουλικού μοσχεύματος. Η διαφορά έγκειται στο γεγονός ότι σε αυτή την περίπτωση το μόσχευμα συνδετικού ιστού καλύπτεται από κάποιον μυλικά ή πλάγια μετατοπιζόμενο κρημνό που παρασκευάζεται στη δέκτρια περιοχή. Η επούλωση ακολουθεί παρόμοιο πρότυπο όπως και κατά τη διενέργεια ενός συμβατικού κρημνού. Σύμφωνα με την μελέτη σε πειραματόζωα (σκυλιά) των Wilderman και Wentz (1965), η διαδικασία της επούλωσης μπορεί να χωριστεί στα εξής τέσσερα στάδια: α) Το στάδιο της προσαρμογής (πρώτες 4 μετεγχειρητικές ημέρες), όπου ο κρημνός διαχωρίζεται από την εκτεθειμένη ριζική επιφάνεια με ένα λεπτό στρώμα ινικής και το επιθήλιο αρχίζει να πολλαπλασιάζεται και να φθάνει σε μυλικό επίπεδο τη ριζική επιφάνεια. β) Το στάδιο του πολλαπλασιασμού (7^η – 21^η μετεγχειρητική ημέρα), όπου το στρώμα ινικής αρχίζει να αντικαθίσταται από συνδετικό ιστό υποκείμενα του κρημνού. Μετά από 6-10 ημέρες επούλωσης παρατηρείται μια στοιβάδα ινοβλαστών σε επαφή με τη ριζική επιφάνεια. Στο τέλος αυτού του σταδίου λεπτές ίνες κολλαγόνου έχουν σχηματιστεί παρακείμενα της ριζικής επιφανείας αλλά ακόμη δεν έχει επιτευχθεί ινώδης σύνδεση μεταξύ συνδετικού ιστού του κρημνού και ρίζας του δοντιού. Επιπλέον από μυλικά έχει ξεκινήσει ο πολλαπλασιασμός και η κατάδυση του επιθηλίου με ακρορριζική κατεύθυνση. γ) Το στάδιο της πρόσφυσης (27^η – 28^η μετεγχειρητική ημέρα). Σε αυτό το στάδιο λεπτές ίνες κολλαγόνου εισέρχονται σε ένα νεοσχηματισθέν στρώμα οστεΐνης αντίστοιχα με το ακρορριζικό τμήμα της ριζικής επιφανείας. δ) Το στάδιο της ωρίμανσης (2-3 μήνες μετά την επέμβαση) που χαρακτηρίζεται από συνεχή

σχηματισμό κολλαγόνων ινών, οι οποίες εισέρχονται στην οστεΐνη της ριζικής επιφανείας, κυρίως αντίστοιχα με το ακρορριζικό τμήμα της.

Πέρα από τα προαναφερόμενα, αξίζει να σημειωθεί ότι η γενετική πληροφορία της κερατινοποίησης του υπερκείμενου επιθηλίου εμπεριέχεται στον υποκείμενο συνδετικό ιστό. Οι Karring και συν. (1975b) σε ιστολογική μελέτη σε πηθίκους έδειξαν ότι μοσχεύματα συνδετικού ιστού ούλων όταν τοποθετούνται σε περιοχές μη κερατινοποιημένου επιθηλίου (στοματικός βλεννογόνο) θα καλυφθούν τελικά από κερατινοποιημένο επιθήλιο.

Ένα άλλο ερώτημα που έχει αποτελέσει έναυσμα έρευνας είναι η φύση της πρόσφυσης που δημιουργείται μεταξύ των μοσχευμάτων μαλακών ιστών και της ριζικής επιφανείας. Ο Pasquinelli (1995) σε μεμονωμένο περιστατικό αντιμετώπισης υφίξης με ελεύθερο ουλικό μόσχευμα και κατόπιν ιστολογικής ανάλυσης ανέφερε ότι είναι δυνατή η δημιουργία νέας οστεΐνης και συνδετικογενούς πρόσφυσης μεταξύ ριζικής επιφανείας και μοσχεύματος μαλακών ιστών. Ο Harris (1999) και οι Majzoub και συν. (2001) σε μεμονωμένες αναφορές περιστατικών, όπου εφαρμόστηκαν μοσχεύματα συνδετικού ιστού σε συνδυασμό με μυλικά μετατοπιζόμενους κρημνούς για αντιμετώπιση υφίξεων, παρατήρησαν σε ιστολογικό επίπεδο ότι μόνο στο ακρορριζικότερο τμήμα της καλυμμένης ριζικής επιφανείας είχε εναποτεθεί νέα οστεΐνη, ενώ η επούλωση είχε επιτευχθεί κατά κύριο λόγο από μακρά επιθηλιακή πρόσφυση μεταξύ μοσχεύματος μαλακών ιστών και ρίζας. Παρόμοια ήταν τα ευρήματα και από τη μελέτη των Bruno και Bowers (2000) οι οποίοι μετά από εφαρμογή υποεπιθηλιακού μοσχεύματος συνδετικού ιστού για αντιμετώπιση μονήρους υφίξης και ιστολογική ανάλυση, παρατήρησαν

ότι αναγέννηση των περιοδοντικών ιστών (νέα οστεΐνη, φατνιακό οστόύν και περιρρίζιο) είχε συμβεί μόνο στο ακρορριζικό τριτημόριο της καλυμμένης ριζικής επιφανείας. Στο μέσο τριτημόριο η ριζική επιφάνεια ερχόταν σε επαφή με συνδετικό ιστό χωρίς την εναπόθεση νέας οστεΐνης, ενώ στο μυλικό τριτημόριο είχε επιτευχθεί μακρά επιθηλιακή πρόσφυση.

Σημαντικό τέλος είναι να αναφερθεί, ότι τα μοσχεύματα μαλακών ιστών παρουσιάζουν κάποια ρίκνωση των διαστάσεών τους, το μεγαλύτερο μέρος της οποίας συμβαίνει κατά τον πρώτο μετεγχειρητικό μήνα, αλλά μπορεί να συνεχίσει να υφίσταται μέχρι και ένα έτος μετά, με το ποσοστό να ποικίλει από 25% - 45% (Egli και συν. 1975, James και McFall 1978, Mormann και συν. 1981, Orsini και συν. 2004, Rateitschak και συν. 1979). Μάλιστα, ενώ φαίνεται ότι η επαναγγείωση καθυστερεί στα μεγαλύτερου πάχους μοσχεύματα, αντίθετα τα τελευταία παρουσιάζουν μικρότερο ποσοστό ρίκνωσης (Egli και συν. 1975, Rateitschak και συν. 1979, Mormann και συν. 1981).

2.3.3.5 Καθοδηγούμενη ιστική ανάπτυξη (KIA)

Η καθοδηγούμενη ιστική ανάπτυξη βασίζεται στην αρχή του εκλεκτικού επαναποικισμού της οδοντικής ριζικής επιφάνειας από κύτταρα που έχουν το δυναμικό να δημιουργήσουν εκ νέου τους ιστούς που απαρτίζουν τη στηρικτική μονάδα του δοντιού (Ama και Chung 1994). Οι σημαντικές μεταβλητές που μπορούν να επηρεάσουν την επούλωση του χειρουργικού τραύματος είναι: α) το επαρκές κυτταρικό δυναμικό για αναγέννηση των περιοδοντικών ιστών, β) η γρήγορη

κάλυψη των αναπλαστικών υλικών από επιθήλιο, γ) ο αποτελεσματικός μετεγχειρητικός έλεγχος της ΟΜΠ προς αποφυγή επιμόλυνσης και φλεγμονής της περιοχής, δ) η σταθεροποίηση του τραύματος (Caton και Greenstein 1993).

Σύμφωνα με απόψεις ερευνητών η διαδικασία που πρέπει να ακολουθηθεί ώστε να επιτευχθεί η ανάπλαση των περιοδοντικών ιστών πρέπει να περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια (McGullogh 1993):

α) Απορρόφηση και απομάκρυνση των φλεγμονωδών ή αποδομημένων ιστικών στοιχείων.

β) Διαθέσιμοι πληθυσμοί προγονικών κυττάρων με ικανότητα διαφοροποίησης και πολλαπλασιασμού γειτονικά της υπό ανάπλασης περιοχής. Τα κύτταρα αυτά θα πρέπει να ανταποκρίνονται στην παρουσία διαλυτών παραγόντων της θεμέλιας ουσίας και να διαφοροποιούνται ταυτόχρονα σε εξειδικευμένα κύτταρα σχηματισμού περιοδοντικών ιστών (οστεοβλάστες, οστεϊνοβλάστες, ινοβλάστες).

γ) Τα αρχέγονα προγονικά κύτταρα και τα εξειδικευμένα εκκριτικά κύτταρα θα πρέπει να μεταναστεύσουν στις κατάλληλες θέσεις, έτσι ώστε να συνθέσουν το αντίστοιχο οργανικό υπόστρωμα.

δ) Εγκατάσταση πληθυσμών αυτοανανεούμενων κυττάρων στην περιοχή της επέμβασης.

ε) Σταθερή οργάνωση του σχηματιζόμενου οργανικού υποστρώματος και των συνδετικών στοιχείων στη ριζική επιφάνεια και το οστόύν.

στ) Αποίκιση της περιοχής από κύτταρα που συνθέτουν αυξητικούς, διαφοροποιητικούς και ενεργοποιητικούς παράγοντες, έτσι ώστε να διατηρείται η ομοιόσταση των ιστών.

Τέτοιου είδους κύτταρα είναι τα αρχέγονα ή πρόδρομα ή προγονικά κύτταρα (stem cells).

Αντιφατικά είναι τα ευρήματα, ως προς το απαιτούμενο χρονικό διάστημα για επίτευξη αποτελεσματικής επούλωσης μετά την εφαρμογή τεχνικών KIA (Greenstein και Gaton 1993). Μια μερίδα ερευνητών υποστηρίζει, πως η περιοδοντική κατάσταση εμφανίζεται εμφανώς βελτιωμένη μετά από τρεις μήνες, συγκριτικά με την επούλωση στον ένα μήνα. Άλλοι πάλι ερευνητές δεν βρίσκουν διαφορές μετά από 8 ή 12 εβδομάδες. Φαίνεται λοιπόν, πως η κρίσιμη φάση της επούλωσης είναι οι πρώτοι δύο μήνες. Αυτό, διότι η κινητική των κυττάρων είναι μεγαλύτερη τις πρώτες δύο εβδομάδες της επούλωσης, ενώ μειώνεται κατά την τρίτη εβδομάδα.

2.3.4 Ο ρόλος των LASER στην επούλωση των περιοδοντικών ιστών (Καρούσης 2015).

2.3.4.1 Εισαγωγή - LASER στην Περιοδοντολογία

Στην περιοδοντολογία, η χρήση των laser μπορεί να στοχεύει στην απολύμανση και μείωση του μικροβιακού φορτίου, στην αφαίρεση μαλακών και σκληρών ιστών, στην αιμόσταση, και βέβαια στην βιοδιεγερτική δράση που ασκούν υπό συγκεκριμένες συνθήκες ακτινοβολήσης, με αποτέλεσμα να επιδρούν σε μια σειρά παθολογικών καταστάσεων αλλά και να ευνοούν την εξέλιξη των επουλωτικών

διαδικασιών, μειώνοντας παράλληλα τον μετεπεμβατικό πόνο και την οδοντινική υπερευαισθησία. Στην χειρουργική του περιοδοντίου και γενικότερα των μαλακών ιστών της στοματικής κοιλότητας, τα laser βρίσκουν εφαρμογή σε πληθώρα επεμβάσεων, όπως χαλινεκτομή, ουλεκτομή, αφαίρεση καλύπτρας, επουλίδας, καλοήθων όγκων, αποκάλυψη εμφυτευμάτων και λήψη βιοψιών.

2.3.4.2 Θεραπεία με LASER χαμηλής ισχύος (LLLT) - Γενικά

Μια σπουδαία εφαρμογή των laser είναι η θεραπεία με χαμηλή ισχύ, η οποία έχει περιγραφεί με διάφορους όρους, όπως “Low Level Laser Therapy (LLLT)”, “Soft Laser Therapy (SLT)”, Low Intensity Laser Therapy (LILT) ή και “Biostimulative Therapy (BT)”. Στηρίζεται στην ικανότητα του φωτός να λειτουργεί διεγερτικά σε ζωντανά κύτταρα, μέσω φωτοηλεκτρικών, φωτοφυσικών και φωτοχημικών φαινομένων. Φαίνεται ότι η βιοδιεγερτική δράση στους ιστούς σχετίζεται με μικρά μήκη κύματος (καλύτερα αποτελέσματα παρατηρούνται στο ερυθρό και στο εγγύς υπέρυθρο φάσμα), μικρή ενεργειακή πυκνότητα ($2-4 \text{ J/cm}^2$) και μικρή ισχύ εκπομπής (0,5W). Εντυπωσιακό είναι το γεγονός, ότι η εφαρμογή LLLT έχει περιγραφεί ότι οδήγησε σε αποκατάσταση τραυμάτων νευρικού ιστού της σπονδυλικής στήλης (Wu και συν. 2009). Επίσης έχει μελετηθεί στην επούλωση τραυμάτων περιφερικών νεύρων και έχει καταδειχθεί ανάπλαση των νευραξόνων τραυματισμένων νεύρων σε πειραματόζωα (Mester και συν. 1991, Solomon και συν. 1991), αλλά και βελτίωση ιατρογενούς υπαισθησίας του κάτω φατνιακού νεύρου σε ανθρώπους (Khullar και συν. 1996). Στην περιοδοντολογία η εφαρμογή της LLLT έχει συσχετιστεί με μείωση της ουλικής φλεγμονής, προαγωγή της μετεγχειρητικής επούλωσης των μαλακών

και σκληρών ιστών, καθώς και με μείωση του μετεγχειρητικού πόνου και της οδοντινικής υπερευαισθησίας.

Το συνηθέστερα χρησιμοποιούμενο laser για βιοδιέγερση, στην οδοντιατρική, είναι το laser γαλίου – αργιλίου – αρσενικού, το οποίο εκπέμπει σε μήκη κύματος 780 – 830nm, αποδίδοντας ισχύ εύρους 10 – 500mW. Ωστόσο χρησιμοποιούνται και άλλοι τύποι laser, όπως τα διοδικά και τα Nd:YAG.

2.3.4.3 Επίδραση της LLLT στην μετεγχειρητική επούλωση των περιοδοντικών ιστών

In vitro μελέτες

Πολλές in vitro μελέτες έχουν δείξει ότι στην περιοδοντική θεραπεία, η εφαρμογή της LLLT επάγει τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των κυττάρων των περιοδοντικών ιστών, προάγοντας την διαδικασία της πρώιμης ιστικής επούλωσης. Η χαμηλής ισχύος ακτινοβολία laser έχει φανεί πειραματικά ότι επάγει την ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό ουλικών ινοβλαστών, κυττάρων του περιφριζίου, οστεοβλαστών, αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων και την απελευθέρωση αυξητικών παραγόντων (Aleksic και συν. 2010, Almeida-Lopes και συν. 2001, Khadra και συν. 2005, Kreisler και συν. 2003, Ozawa και συν. 1998, Pourzarandian και συν. 2005a, Pourzarandian και συν. 2005b, Saygun και συν. 2008, Stein και συν. 2005, Tuby και συν. 2007, Wu και συν. 2012). Επιπλέον η LLLT φαίνεται να ενισχύει και να επιταχύνει την διαδικασία της επούλωσης μέσω μείωσης της ιστικής φλεγμονής, αφού σε αρκετές in vitro μελέτες έχει καταδειχθεί η δυνατότητά της να μειώνει την παραγωγή προφλεγμονωδών μορίων, όπως η

προσταγλανδίνη E2 (PGE2), διάφορες ιντερλευκίνες και ο παράγοντας TNFα ή την έκφραση των αντίστοιχων για την παραγωγή τους γονιδίων (Shimizu και συν. 1995, Sakurai και συν. 2000, Gavish και συν. 2008).

Η LLLT φαίνεται, πέρα από τα παραπάνω, ότι προάγει και την οστεογένεση. Οι Ozawa και συν. (1998) και Stein και συν. (2005) σε *in vitro* μελέτες, κατέληξαν πως αυτό το είδος θεραπείας με ακτινοβολία laser μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση του σχηματισμού οστίτη ιστού, μέσω επαγωγής του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών. Επίσης, η LLLT οδήγησε σε αύξηση της δραστηριότητας της αλκαλικής φωσφατάσης (Ozawa και συν. 1998) και της έκφρασης mRNA δεικτών που σχετίζονται με την διαφοροποίηση των οστεοβλαστών, όπως οστεοποντίνης (Stein και συν. 2005), οστεοκαλσίνης (Ozawa και συν. 1998) και οστικών σιαλοπρωτεϊνών (Stein και συν. 2005). Επιπρόσθετα η LLLT έχει φανεί ότι επάγει την οστεογένεση μέσω αύξησης της παραγωγής του αυξητικού παράγοντα IGF -1 (insulin-like growth factor-1) και οστικών μορφογενετικών πρωτεϊνών (BMPs) (Fujimoto και συν. 2010, Kiyosaki και συν. 2010, Shimizu και συν. 2007), καθώς και επιταχύνει την διαφοροποίηση προγονικών οστικών κυττάρων σε οστεοβλάστες επιδρώντας στη σηματοδοτική οδό BMPs / Smad (Hirata και συν. 2010). Ακόμη έχει αναφερθεί ότι η LLLT αυξάνοντας την έκφραση της οστεοπρωτεγερίνης, των παραγόντων RANKL και RANK, οδηγεί τελικά σε αυξημένη δραστηριότητα των οστικών κυττάρων (Kim και συν. 2007). Τέλος, πρόσφατα, αξιολογήθηκε η βιοδιεγερτική δράση της ακτινοβολίας διοδικού laser επί αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων. Οι Kim και συν. (2009) και Li και συν.

(2010) ανέφεραν ότι η έκθεση αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων σε ερυθρή ακτινοβολία διδοδικού laser, προήγαγε την διαφοροποίησή τους σε οστεοβλάστες.

Κλινικές μελέτες

Αναφορικά με περιοδοντικές επεμβάσεις ουλεκτομής – ουλοπλαστικής, αρκετές είναι οι μελέτες που έχουν δείξει ταχύτερη επιθηλιοποίηση και ιστική επούλωση των ούλων μετά την εφαρμογή LLLT, είτε ως επιπρόσθετη θεραπεία μετά την χειρουργική αντιμετώπιση είτε εναλλακτικά της χρήσης χειρουργικού νυστεριού, συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου που δεν έλαβε θεραπευτική παρέμβαση με laser χαμηλής ισχύος (Amorim και συν. 2006, Ozcelik και συν. 2008, Sobouti και συν. 2014). Από την άλλη πλευρά, υπάρχουν και μελέτες, όπως αυτή των Damante και συν. (2004) που δεν παρατηρήθηκαν διαφορές ως προς την ταχύτητα της ιστικής επούλωσης μετά από επεμβάσεις ουλοπλαστικής, μεταξύ της ομάδας που είχε εφαρμοστεί LLLT μετεγχειρητικά και της ομάδας ελέγχου.

Οι Sanz-Moliner και συν. (2013) συνέκριναν τον μετεγχειρητικό πόνο και την ιστική επούλωση μετά από χειρουργική του περιοδοντίου με τροποποιημένο κρημνό Widman (MWF), σε μια ομάδα ασθενών με σχεδιασμό split-mouth, όπου στη μία πλευρά εφαρμόστηκε επιπρόσθετα LLLT με διοδικό laser αμέσως μετά την επέμβαση, ενώ στην άλλη όχι. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στην πλευρά που εφαρμόστηκε LLLT, τόσο το μετεγχειρητικό οίδημα όσο και ο πόνος ήταν σημαντικά μικρότερος έναντι της πλευράς ελέγχου.

Οι Ozcelik και συν. (2008) έδειξαν ότι η επιπρόσθετη εφαρμογή LLLT (διοδικό laser) μετά από αναπλαστική χειρουργική θεραπεία με χρήση πρωτεϊνών θεμέλιας ουσίας αδαμαντίνης (emdogain), τόσο αμέσως μετά την εφαρμογή του αναπλαστικού υλικού όσο και καθημερινά για 10 λεπτά για τις πρώτες 5 μετεγχειρητικές ημέρες, οδήγησε σε σημαντικά μεγαλύτερη βελτίωση κλινικών παραμέτρων, όπως η υφίζηση των ούλων, το οίδημα και ο μετεγχειρητικός πόνος, συγκριτικά με την ομάδα που δεν έλαβε LLLT.

Οι Ozturan και συν. (2014) μελέτησαν την διενέργεια μυλικά μετατοπιζόμενου κρημού σε συνδυασμό με LLLT. Συμπεριέλαβαν 10 ασθενείς με 74 συμμετρικές αμφοτερόπλευρες υφιζήσεις κατηγορίας I και II κατά Miller, όπου εφήρμοσαν σχεδιασμό split – mouth. Η μια πλευρά ακτινοβολήθηκε με laser αμέσως μετά την διενέργεια του κρημού για 5 λεπτά, καθώς και μετά την συρραφή για άλλα 5 λεπτά. Η LLLT εφαρμόστηκε σε αυτήν την πλευρά για τις επόμενες 7 ημέρες, σε σχήμα των 5 λεπτών μία φορά την ημέρα. Στην πλευρά ελέγχου δεν εφαρμόστηκε ακτινοβολία laser. Στατιστικά σημαντικές διαφορές βρέθηκαν μεταξύ των δύο ομάδων, αναφορικά με το εύρος και το βάθος της υπολειπόμενης υφίζησης, το πάχος των κερατινοποιημένων ιστών και το επίπεδο κλινικής πρόσφυσης, με τις τιμές να είναι καλύτερες στην ομάδα που έλαβε LLLT. Επιπλέον σημαντική διαφορά καταγράφηκε και στο ποσοστό πλήρους κάλυψης των ριζών, όπου στην ομάδα που έλαβε LLLT ήταν 7,7%, ενώ στην ομάδα ελέγχου 3,3%.

Η LLLT έχει ακόμη αξιολογηθεί στην επούλωση και τον έλεγχο του μετεγχειρητικού πόνου μετά την διενέργεια ουλοβλεννογόνιας χειρουργικής με ελεύθερα ουλικά μοσχεύματα. Το 2009, οι Almeida και συν. διεξήγαγαν μια κλινική μελέτη, όπου σε

10 ασθενείς με ανάγκη αμφερόπλευρης αύξησης του εύρους των κερατινοποιημένων ιστών στην κάτω γνάθο, εφήρμοσαν σχεδιασμό split – mouth. Η μια πλευρά, μετά την χειρουργική, ακτινοβολήθηκε με διοδικό laser για μεγαλύτερη αναλγησία και ταχύτερη επούλωση, ενώ η άλλη πλευρά λειτούργησε ως ομάδα ελέγχου. Η LLLT εφαρμόστηκε δύο φορές, μία αμέσως μετά την επέμβαση και μία φορά 48 ώρες μετά. Ωστόσο τα αποτελέσματα δεν έδειξαν στατιστικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων, τόσο σε επίπεδο επούλωσης, όσο και σε επίπεδο ελέγχου του μετεγχειρητικού πόνου.

Οι Moslemi και συν. (2014) αξιολόγησαν την επίδραση της LLLT στην επούλωση και τον πόνο της δότριας και όχι της δέκτριας θέσης μετά από την λήψη ελεύθερου ουλικού μοσχεύματος. Συμπεριέλαβαν 12 ασθενείς, και εφαρμόζοντας σχεδιασμό split – mouth, ακτινοβόλησαν την μια δότρια πλευρά της υπερώας με διοδικό laser τόσο αμέσως μετά την λήψη του μοσχεύματος, όσο και την 1^η , 2^η , 4^η και 7^η μετεγχειρητική ημέρα, ενώ την άλλη πλευρά όχι. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι την 14^η ημέρα η επούλωση των ιστών στην πλευρά που είχε εφαρμοστεί η LLLT ήταν σαφώς καλύτερη συγκριτικά με την πλευρά ελέγχου, ενώ κατά την 21^η μετεγχειρητική ημέρα η επιθηλιοποίηση ήταν σαφώς καλύτερη στην πειραματική πλευρά.

Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η εφαρμογή της LLLT, στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, οδηγεί σε ταχύτερη και χωρίς επιπλοκές μετεγχειρητική επούλωση των περιοδοντικών ιστών. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι η δράση της LLLT εξαρτάται από πληθώρα παραγόντων που σχετίζονται τόσο με τα χαρακτηριστικά της χρησιμοποιούμενης πηγής ακτινοβολίας laser, όπως το μήκος κύματος, η ισχύς,

η ενεργειακή πυκνότητα, όσο και με το πρωτόκολλο εφαρμογής της, όπως την χρονική διάρκεια της ακτινοβολήσης, τον αριθμό και την συχνότητα των ακτινοβολήσεων ή και την απόσταση από την ακτινοβολούμενη επιφάνεια, παράγοντες που οδηγούν σε μεγάλη ετερογένεια των αποτελεσμάτων των διαφόρων μελετών και καθιστούν εξαιρετικά δύσκολη των εξαγωγή ασφαλών και συγκεκριμένων συμπερασμάτων.

2.4 Μετεγχειρητικές επιπλοκές

Επιπλοκές, μετά από περιοδοντικές χειρουργικές πράξεις, μπορούν να συμβούν είτε πρώιμα, στην άμεση μετεγχειρητική περίοδο (δηλαδή τις πρώτες ημέρες μετά την επέμβαση), είτε μεθύτερα, σε πιο προχωρημένα στάδια της επούλωσης (δηλαδή μετά την πάροδο των πρώτων 7 – 10 ημερών). Στις πρώιμες μετεγχειρητικές επιπλοκές συγκαταλέγονται ο πόνος, το οίδημα, η αιμορραγία, η επιμόλυνση - λοίμωξη της χειρουργημένης περιοχής, η εμφάνιση αποστήματος, η διάνοιξη των κρημνών, η νέκρωση των ιστών (εσχαροποίηση της περιοχής) με πιθανή διαπύηση και η ριζική οδοντινική υπερευαισθησία. Στις μεθύτερες επιπλοκές συμπεριλαμβάνονται παθολογικές εξεργασίες, που μπορούν να πυροδοτηθούν από την χειρουργική επέμβαση, όπως εξωτερική απορρόφηση ρίζας ή αντικαταστατική απορρόφηση (αγκύλωση), καθώς και δημιουργία ουλώδους ιστού ή ανώμαλου ουλικού περιγράμματος που σχετίζονται με πλημμελή διεγχειρητικό χειρισμό των περιοδοντικών ιστών και μη ευνοϊκή επούλωση.

Πληθώρα παραγόντων έχει ενοχοποιηθεί και συσχετίζεται με αναποτελεσματική επούλωση και εμφάνιση επιπλοκών μετεγχειρητικά. Αυτές οι παράμετροι θα μπορούσαν να διακριθούν σε συστηματικές, που σχετίζονται με την γενικότερη υγεία και την ύπαρξη συγκεκριμένων συστηματικών νόσων όπως ο σακχαρώδης διαβήτης (Chang και συν. 2012), σε περιβαλλοντικές όπως το κάπνισμα (Griffin και συν. 2006, Semlali και συν. 2011, Balaji 2008, Javed και συν. 2012) και τέλος, σε παράγοντες που σχετίζονται με τον χειρουργό, τη χειρουργική διαδικασία και τον μετεγχειρητικό έλεγχο της ΟΜΠ. Πιο συγκεκριμένα σε αυτούς τους παράγοντες ανήκουν η εμπειρία και η δεξιότητα του επεμβαίνοντος (Tan και συν. 2014), το είδος της χειρουργικής επέμβασης (π.χ. επέμβαση που εμπλέκει μόνο μαλακούς ιστούς ή συνδυάζει και χειρουργική οστού, ουλοβλεννογόνια χειρουργική, κ.α.) (Canakci και Canakci 2007, Curtis και συν. 1985, Griffin και συν. 2006, Tan και συν. 2014), ο απαιτούμενος διεγχειρητικός χρόνος (Sawyer και Pruett 1994, Tan και συν. 2014), η διενέργεια ή μη απελευθερωτικών τομών στο περίοστεο (Tan και συν. 2014), η ύπαρξη τάσεων κατά τη συμπλησίαση και συρραφή των κρημνών, ο αποτελεσματικός ή μη έλεγχος του μικροβιακού φορτίου κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο με την χρήση τοπικών αντισηπτικών ή/και συστηματικών αντιβιοτικών φαρμάκων (Powell και συν. 2005, Sawyer και Pruett 1994).

Ο πόνος, το οίδημα και η αιμορραγία αποτελούν τις συχνότερα εμφανιζόμενες επιπλοκές, μετά τη χειρουργική του περιοδοντίου. Οι Curtis και συν. (1985) ανέφεραν συνολικό ποσοστό μέσης προς αυξημένης βαρύτητας τέτοιων μετεγχειρητικών επιπλοκών 5,5% σε σύνολο 304 περιοδοντικών χειρουργικών πράξεων, ενώ στο 51,3% των περιπτώσεων δεν αναφέρθηκε καθόλου ή

αναφέρθηκε σε πολύ μικρή κλίμακα πόνου. Οι ίδιοι μελετητές ανέφεραν, πως το είδος της περιοδοντικής επέμβασης σχετίζεται με την ένταση του πόνου, του οιδήματος και την πιθανότητα εμφάνισης μετεγχειρητικής αιμορραγίας. Η ουλοβλεννογόνια χειρουργική φάνηκε να σχετίζεται με 3,5 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα πρόκλησης πόνου συγκριτικά με την χειρουργική οστού. Οι Griffin και συν. (2006) αξιολόγησαν, μέσω ενός ερωτηματολογίου που χορήγησαν στους ασθενείς, την συχνότητα εμφάνισης πόνου, οιδήματος και αιμορραγίας μετά από επεμβάσεις αύξησης του εύρους και του πάχους των ούλων. Συγκεκριμένα συμπεριέλαβαν 70 επεμβάσεις με ελεύθερο ουλικό μόσχευμα, 172 με υποεπιθηλιακό μόσχευμα συνδετικού ιστού και 89 περιπτώσεις όπου εφαρμόστηκε η ακύτταρη δερματική μήτρα (alloderm) και όχι αυτομόσχευμα μαλακών ιστών. Τα αποτελέσματα έδειξαν, ότι οι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε χειρουργική με ελεύθερο ουλικό μόσχευμα ήταν 3 φορές πιθανότερο να εμφανίσουν μετεγχειρητικό πόνο ή αιμορραγία συγκριτικά με αυτούς που έλαβαν υποεπιθηλιακά μοσχεύματα συνδετικού ιστού. Επίσης στις περιπτώσεις που εφαρμόστηκε αλλογενές μόσχευμα μαλακών ιστών (alloderm) μειώθηκε σημαντικά η πιθανότητα εμφάνισης οιδήματος και αιμορραγίας (OR = 0,46 και OR = 0,30, αντίστοιχα). Επιπλέον οι Canakçi και Canakçi (2007), έδειξαν ότι η διενέργεια κρημνού σε συνδυασμό με χειρουργική οστού οδηγεί σε έκλυση περισσότερου μετεγχειρητικού πόνου συγκριτικά με την ουλεκτομή, η οποία με την σειρά της είναι πιο επώδυνη από την διενέργεια τροποποιημένου κρημνού Widman. Το είδος της περιοδοντικής επέμβασης φάνηκε να επηρεάζει την ένταση του μετεγχειρητικού πόνου, οιδήματος και αιμορραγίας και στη μελέτη των Tan και συν. (2014), όπου μεταξύ αποκάλυψης κλινικής μύλης, ριζικής απόξεσης με κρημνό και τοποθέτησης

οδοντικών εμφυτευμάτων. Ο μετεγχειρητικός πόνος υποχώρησε με πιο αργό ρυθμό σε διάστημα 7 ημερών, παραμένοντας ακόμη σε υψηλότερα επίπεδα (κλίμακα VAS – Visual Analogue Scale) στην περίπτωση της ριζικής απόξεσης με κρημνό. Η χρονική διάρκεια περάτωσης της περιοδοντικής επέμβασης, είναι ακόμη μια παράμετρος, που έχει συσχετιστεί με αύξηση του μετεγχειρητικού πόνου, οιδήματος και αιμορραγίας (Curtis και συν. 1985, Griffin και συν. 2006). Χαρακτηριστικά οι Tan και συν. (2014) έδειξαν ότι χειρουργικές επεμβάσεις διάρκειας ≥ 60 λεπτών οδήγησαν σε σημαντικά μεγαλύτερο οίδημα και πόνο (και στις 7 ημέρες παρακολούθησης), συγκριτικά με επεμβάσεις διάρκειας < 60 λεπτών. Πέρα από τα παραπάνω και η διενέργεια περιοστικών απελευθερωτικών τομών έχει συσχετιστεί με αυξημένο μετεγχειρητικό οίδημα (Tan και συν. 2014).

Μια σχετικά σπάνια επιπλοκή μετά από τη χειρουργική του περιοδοντίου είναι ο σχηματισμός θρόμβου «liver clot». Η συγκεκριμένη οντότητα ορίζεται ως έντονα ερυθρός με σύσταση δίκην γέλης θρόμβος, πλούσιος σε αιμοσφαιρίνη προερχόμενη από τα ερυθροκύτταρα του φυσιολογικά δημιουργούμενου αιματικού πύργματος. Η επιπλοκή αυτή, στην ουσία σχετίζεται με την μετεγχειρητική αιμορραγία και έχει αναφερθεί σε περιπτώσεις μετά από κλασική χειρουργική του περιοδοντίου (Pandya και συν. 2012). Αναλυτικότερα, πέρα από την αιμορραγία που συμβαίνει διεγχειρητικά, αιμορραγία μπορεί να προκύψει είτε κατά την άμεση μετεγχειρητική περίοδο (στις πρώτες 24 ώρες από την χειρουργική επέμβαση) είτε δευτερογενώς, σε μεταγενέστερο χρονικό σημείο της επούλωσης. Η άμεση μετεγχειρητική αιμορραγία αποδίδεται σε διάφορους παράγοντες συμπεριλαμβανομένων της απελευθέρωσης τάσεων, της απομάκρυνσης αγγειοσυσπαστικών παραγόντων και

της χάλασης των αιμοφόρων αγγείων της περιοχής. Η αιμορραγία σε μεταγενέστερο χρονικό σημείο της επούλωσης οφείλεται κυρίως σε επιμόλυνση - λοίμωξη της χειρουργημένης περιοχής, δημιουργία εσωτερικού τραυματισμού, καθώς και ύπαρξη ξένων σωμάτων, όπως οστικών ακίδων, ψηγμάτων αδαμαντίνης ή υπολειμμάτων οδοντιατρικών υλικών (π.χ. χειρουργική κονία). Αυτοί οι τελευταίοι παράγοντες οδηγούν επαναλαμβανόμενα σε επιβράδυνση και ατελή σχηματισμό του θρόμβου, καταλήγοντας είτε σε πρόκληση δευτερογενούς αιμορραγίας, είτε σπανιότερα σε εμφάνιση της κλινικής οντότητας «liver clot». Μάλιστα, η επιπλοκή αυτή έχει συνδεθεί και με αιμορραγία φλεβικών τριχοειδών, λόγω του καφέ - ερυθρού χρώματος που λαμβάνει (Pandya και συν. 2012).

Η επιμόλυνση και λοίμωξη του χειρουργικού τραύματος, κλινικά χαρακτηρίζεται από διαπύηση ή παρουσία συριγγίου, πιθανώς πόνο, οίδημα, ερυθρότητα και πυρετό άνω των 38°C (Sawyer και Pruett 1994). Ωστόσο, η προαναφερόμενη περιγραφή δεν αποτελεί καθολικά αποδεκτό ορισμό της μόλυνσης και λοίμωξης ενός τραύματος και γενικά παρατηρείται μεγάλη ετερογένεια στην βιβλιογραφία, ως προς αυτό το θέμα. Η συχνότητα εμφάνισης της συγκεκριμένης επιπλοκής μετά από χειρουργική του περιοδοντίου, χωρίς την χρήση αντιβιοτικών φαρμάκων, φαίνεται από διάφορες μελέτες να είναι σχετικά χαμηλή και συγκεκριμένα να κυμαίνεται από 1% - 4,4% (Checchi και συν. 1992, Pack και Haber 1983) για την κλασική χειρουργική του περιοδοντίου και γύρω στο 4,5% μετά από χειρουργική οδοντικών εμφυτευμάτων (Gynther και συν. 1998). Στη βιβλιογραφία έχει αναφερθεί, ότι η αναπέταση κρημού σε συνδυασμό με χειρουργική του οστού σχετίζεται με τρεις φορές μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης μετεγχειρητικής

μόλυνσης του τραύματος, συγκριτικά με την ουλοβλεννογόνια χειρουργική (Curtis και συν. 1985), καθώς και ότι γενικότερα η χειρουργική του οστού οδηγεί συχνότερα στην εμφάνιση αυτής της επιπλοκής, συγκριτικά με την αναπέταση κρημνών χωρίς την διενέργεια οστεοπλαστικής ή/και οστεκτομής (Pack και Haber 1983). Άλλοι παράγοντες που έχουν αναφερθεί ότι αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης της επιπλοκής αυτής, είναι η ύπαρξη διαφόρων συστηματικών νοσημάτων, ο παρατεταμένος διεγχειρητικός χρόνος και ο μη αποτελεσματικός μετεγχειρητικός έλεγχος της ΟΜΠ (Sawyer και Pruett 1994). Μια ενδιαφέρουσα αναδρομική μελέτη που αξιολόγησε την συχνότητα εμφάνισης μετεγχειρητικής λοίμωξης μετά από διάφορα είδη περιοδοντικών χειρουργικών επεμβάσεων, είναι αυτή των Powell και συν. (2005). Στη μελέτη αυτή αξιολογήθηκαν 395 ασθενείς, που έλαβαν συνολικά 1053 περιοδοντικές χειρουργικές πράξεις, οι οποίες περιελάμβαναν αναπέταση κρημνών σε συνδυασμό με χειρουργική οστού, ριζικές αποξέσεις με κρημνό, άπω σφηνοειδείς εκτομές, ελεύθερα ουλικά μοσχεύματα, υποεπιθηλιακά μοσχεύματα συνδετικού ιστού, μυλικά μετατοπιζόμενους κρημνούς, κατευθυνόμενη ιστική ανάπλαση, τεχνικές ανύψωσης του εδάφους του ιγμορείου καθώς και τεχνικές διατήρησης και αύξησης της φατνιακής ακρολοφίας με τη χρήση οστικών μοσχευμάτων ή/και μεμβρανών. Ως επιμόλυνση και λοίμωξη του μετεγχειρητικού τραύματος ορίστηκε η ύπαρξη και προοδευτικά αύξηση του οιδήματος σε συνδυασμό με διαπύηση της περιοχής. Το συνολικό ποσοστό εμφάνισης της παραπάνω επιπλοκής ήταν 2,09%. Ενδιαφέρον ήταν το εύρημα, ότι μόλυνση συνέβει σε 8 από τις 281 επεμβάσεις (2,85%) που είχε χορηγηθεί συστηματικά αντιβίωση προ - ή μετεγχειρητικά, ενώ η αντίστοιχη συχνότητα στην περίπτωση μη χορήγησης αντιβίωσης ήταν 14 περιπτώσεις σε 772 χειρουργικές

πράξεις (ποσοστό 1,81%), υποδηλώνοντας πως η περιεγχειρητική χορήγηση αντιβίωσης ίσως να μην αποτελεί τόσο σημαντικό παράγοντα στην πρόληψη μετεγχειρητικής λοίμωξης. Ωστόσο, ο μετεγχειρητικός έλεγχος της ΟΜΠ με την τοπική χρήση χλωρεξιδίνης, φάνηκε να επηρεάζει την συχνότητα εμφάνισης επιπλοκών, αφού το ποσοστό αυτών στις περιπτώσεις που χορηγήθηκε χλωρεξιδίνη ήταν 1,89%, έναντι 3,27% στις περιπτώσεις που δεν χρησιμοποιήθηκε.

Μία ακόμη συχνή μετεγχειρητική επιπλοκή είναι η οδοντινική υπερευαισθησία. Ως οδοντινική υπερευαισθησία ή ριζική οδοντινική υπερευαισθησία ή απλώς ριζική υπερευαισθησία ορίζεται ο πόνος που προέρχεται από την εκτεθειμένη οδοντίνη, ως απάντηση σε χημικά, θερμικά, μηχανικά ή ωσμωτικά ερεθίσματα και ο οποίος δεν μπορεί να αποδοθεί σε κάποιο οδοντικό έλλειμμα ή παθολογία (Addy και συν. 1985, Canadian Advisory Board on Dentin 2003). Οι Al-Sabbagh και συν. (2010), θέλοντας να αξιολογήσουν την συχνότητα και ένταση της οδοντινικής υπερευαισθησίας μετά από χειρουργική του περιοδοντίου, και συγκεκριμένα μετά από ριζική απόξεση με κρημνό, εφήρμοσαν απτικά και θερμικά ερεθίσματα στα δόντια των χειρουργημένων περιοχών, ενώ παράλληλα χορήγησαν ερωτηματολόγια στους ασθενείς, που περιείχαν την κλίμακα VAS. Οι μετρήσεις πάρθηκαν προεγχειρητικά, μία εβδομάδα μετεγχειρητικά και μία φορά την εβδομάδα για τις επόμενες 5 εβδομάδες. Τα αποτελέσματα έδειξαν, ότι μία εβδομάδα μετεγχειρητικά η συνολική επίπτωση της υπερευαισθησίας βάσει απτικών και θερμικών ερεθισμάτων ήταν 79%, ενώ 6 εβδομάδες μετά τις επεμβάσεις, το αντίστοιχο ποσοστό είχε μειωθεί σε 45%, καταλήγοντας ότι πρόκειται για μια επιπλοκή που ακόμη και χωρίς αντιμετώπιση, σταδιακά υποχωρεί και τελικά

εξαφανίζεται με την πάροδο του χρόνου. Ευρήματα και άλλων μελετών δείχνουν, πως η οδοντινική υπερευαισθησία εμφανίζεται σε ποσοστό 76,8% - 80,4% την πρώτη μετεγχειρητική ημέρα, με τη φύση της περιοδοντικής επέμβασης και τη διάρκεια ολοκλήρωσής της πιθανώς, να σχετίζονται με την συχνότητα εμφάνισης και την ένταση της συγκεκριμένης επιπλοκής. Ωστόσο, ο επιπολασμός μειώνεται σε 36,8% μετά την πρώτη μετεγχειρητική εβδομάδα, 33,4% μετά από δύο εβδομάδες, 29,6% στις 4 εβδομάδες και 21,7% στις 8 εβδομάδες, ενώ παράλληλα στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, η υπερευαισθησία χαρακτηρίζεται ως ήπια από τους ασθενείς. Συνεπώς τα στοιχεία δείχνουν, πως η επιπλοκή αυτή είναι γενικά καλώς ανεκτή από τους ασθενείς, πολλές φορές δεν χρειάζεται κάποια ιδιαίτερη αντιμετώπιση και είναι παροδική σε διάρκεια (Lin και Gillam 2012).

3. Μέθοδοι μετεγχειρητικού ελέγχου ΟΜΠ

Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω, ο μετεγχειρητικός έλεγχος της ΟΜΠ αποτελεί μια βασική προϋπόθεση για αποτελεσματική και χωρίς επιπλοκές επούλωση των περιοδοντικών ιστών, καθορίζοντας παράλληλα την βραχυπρόθεσμη και μακροπρόθεσμη κλινική επιτυχία των περιοδοντικών χειρουργικών επεμβάσεων. Ωστόσο, η μηχανική απομάκρυνση του τοπικού παράγοντα από τον ασθενή κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο (πρώτες 7-10 ημέρες) είναι σχεδόν μη εφικτή, λόγω της ευαισθησίας και του πόνου, που εκλύεται από την χειρουργημένη περιοχή (Nogueroi και συν. 1991). Για αυτόν τον λόγο, έχουν αναφερθεί πολλά διαφορετικά πρωτόκολλα και μέθοδοι, που στοχεύουν στον όσο το δυνατόν αποδοτικότερο μετεγχειρητικό μικροβιακό έλεγχο, συμπεριλαμβανομένων της χορήγησης

συστηματικών αντιβιοτικών, της εφαρμογής τοπικών αντισηπτικών παραγόντων σε μορφή διαλύματος ή γέλης και της μηχανικής απομάκρυνσης του τοπικού παράγοντα σε εβδομαδιαία βάση στο οδοντιατρείο (συνήθως για τον πρώτο μετεγχειρητικό μήνα) (Heitz και συν. 2004).

3.1 Αντιβιοτικά χορηγούμενα δια της συστηματικής οδού

Στα πλαίσια της περιοδοντικής θεραπείας, και συγκεκριμένα σε συνδυασμό με την χειρουργική του περιοδοντίου, τόσο προεγχειρητικά όσο και μετεγχειρητικά, έχουν χρησιμοποιηθεί πολλά διαφορετικά είδη συστηματικών αντιβιοτικών, συμπεριλαμβανομένων της αμοξυκιλλίνης (με ή χωρίς κλαβουλανικό οξύ), της μετρονιδαζόλης, της κλινδαμυκίνης, της αζιθρομυκίνης, της δοξυκυκλίνης, της τετρακυκλίνης καθώς και συνδυασμών των παραπάνω (Slots και συν. 2004).

Οι διάφορες αντιβιοτικές ουσίες αλληλεπιδρούν και εξουδετερώνουν τους μικροοργανισμούς μέσω πέντε διαφορετικών γνωστών μηχανισμών, οι οποίοι είναι οι εξής:

- α) Αναστέλλουν τη σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος,
- β) Τροποποιούν τη δομή της κυτταρικής μεμβράνης,
- γ) Αναστέλλουν τη ριβοσωμική σύνθεση πρωτεϊνών,
- δ) Καταστέλλουν τη σύνθεση DNA,
- ε) Αναστέλλουν τη σύνθεση φολλικού οξέος.

Τα αντιβιοτικά που επιδρούν στη σύνθεση του μικροβιακού κυτταρικού τοιχώματος, στη δομή της κυτταρικής μεμβράνης ή στη σύνθεση του DNA χαρακτηρίζονται συνήθως (αλλά όχι πάντα) από βακτηριοκτόνο δράση, ενώ εκείνα που αναστέλλουν την σύνθεση πρωτεϊνών ή φολλικού οξέος χαρακτηρίζονται από βακτηριοστατική δράση. Σημαντικό ωστόσο, είναι να αναφερθεί, ότι μια δεδομένη αντιβιοτική ουσία μπορεί να εμφανίζει τόσο βακτηριοκτόνο όσο και βακτηριοστατική δράση, ανάλογα με τη συγκέντρωση στην οποία θα βρεθεί καθώς και με το είδος του μικροβίου που θα αλληλεπιδράσει.

Οι πενικιλίνες (συμπεριλαμβανομένης της αμοξυκιλλίνης) ανήκουν στην κατηγορία των β-λακταμών, δηλαδή περιέχουν στο μόριό τους τον κυκλικό πυρήνα της β-λακτάμης. Χαρακτηρίζονται από βακτηριοκτόνο δράση, αναστέλλοντας την σύνθεση του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος, κάτι που οδηγεί σε αύξηση της ενδοκυττάριας ωσμωτικής πίεσης και τελικά καταστροφή του μικροβιακού κυττάρου. Παρουσιάζουν ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα έναντι Gram + και - μικροβίων, αερόβιων και αναερόβιων. Σημαντικότερη ανεπιθύμητη ενέργεια είναι η εμφάνιση αλλεργίας, που μπορεί να οδηγήσει σε αναφυλακτικό επεισόδιο, με επίπτωση 1 περιστατικό σε 10000 νέες συνταγογραφήσεις (Wilson και συν. 2007). Αν και οι πενικιλίνες φαίνονται αρκετά αποτελεσματικές, πολλά μικροβιακά είδη παράγουν κάποια ένζυμα, τις β-λακταμάσες, που έχουν την ικανότητα να καταστρέφουν τον δακτύλιο της β-λακτάμης και τελικά να εξουδετερώνουν τη δράση των πενικιλινών (Walker και συν. 1987). Γι αυτό τον λόγο έχουν αναπτυχθεί ουσίες, όπως το κλαβουλανικό οξύ που έχουν την ικανότητα να συνδέονται με τις β-

λακταμάσες, προκαλώντας τους μη αντιστρεπτή αναστολή και εμποδίζοντας έτσι την υδρόλυση των πενικιλινών. Γενικότερα η χορήγηση των πενικιλινών αντενδείκνυται σε περιπτώσεις ιστορικού υπερευαισθησίας στις ουσίες αυτές καθώς και πεπτικών διαταραχών (π.χ. έμετοι, διάρροιες) λόγω κινδύνου μειωμένης απορρόφησης (όταν χορηγούνται από το στόμα).

Η μετρονιδαζόλη ανήκει στην ευρύτερη οικογένεια των ιμιδαζολίων και χαρακτηρίζεται από βακτηριοκτόνο δράση, παράγοντας μεταβολίτες που καταστρέφουν το μικροβιακό κυτταρικό DNA. Είναι δραστική κυρίως κατά υποχρεωτικά αναερόβιων μικροβίων και πιο συγκεκριμένα Gram-. Κυριότερες παρενέργειές της είναι η πρόκληση μεταλλικής γεύσης και η εμφάνιση αντίδρασης δισουλφιράμης, όταν συνδυαστεί με αιθανόλη (κατανάλωση αλκοόλ). Αντένδειξη στη χορήγησή της αποτελεί η γενικότερη ευαισθησία στα ιμιδαζόλια, παθήσεις του κεντρικού νευρικού συστήματος και η πορφυρία.

Η κλινδαμυκίνη ανήκει στην ομάδα των λινκοζαμιδών. Χαρακτηρίζεται κυρίως από βακτηριοστατική δράση, αναστέλοντας τη ριβοσωμική σύνθεση πρωτεϊνών, κατόπιν αλληλεπίδρασης με τον υποδοχέα της 23S υπομονάδας του 50S βακτηριακού ριβοσώματος. Εμφανίζει αυξημένη δραστικότητα κατά πολλών Gram + και - αναερόβιων και δυνητικά αναερόβιων μικροοργανισμών, όπως *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Veillonella*, *Peptostreptococcus*, *Actinomyces*, *Eubacteria* και *Streptococcus Pneumoniae*. Συνηθέστερες και σημαντικότερες παρενέργειες της κλινδαμυκίνης είναι η εμφάνιση διάρροιας και ψευδομεμβρανώδους κολίτιδας, με σχετικά χαμηλή επίπτωση (περίπου 1 αναφορά στις 10000 συνταγογραφήσεις). Η χορήγησή της αντενδείκνυται σε περιπτώσεις

υπερευαισθησίας στην ουσία ή στη λινκομυκίνη, διαρροϊκών συνδρόμων, ιστορικού κολίτιδας ή εντερίτιδας καθώς και κολίτιδας από αντιβιοτικά.

Η αζιθρομυκίνη ανήκει στην ομάδα των αζαλιδών που είναι αντιμικροβιακοί συγγενείς με τα μακρολίδια. Χαρακτηρίζεται από βακτηριοστατική δράση, αφού συνδέεται με την 50S ριβοσωμική υπομονάδα και αναστέλλει την εξαρτώμενη από RNA πρωτεϊνική σύνθεση. Εμφανίζει σχετικά ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα με κύρια δραστικότητα κατά Gram + αερόβιων και δυνητικά αναερόβιων σταφυλόκοκκων και στρεπτόκοκκων καθώς και Gram - αναερόβιων μικροβίων (όπως *Fusobacteria*, *Prevotella*, *Porphyromonas gingivalis*, *Moraxella catarrhalis* και *Legionella pneumoniae*). Σημαντικότερες ανεπιθύμητες ενέργειες είναι οι γαστρεντερικές διαταραχές (ναυτία, έμμετοι, διάρροια και σπανιότατα ψευδομεμβρανώδης κολίτιδα), ενώ έχουν αναφερθεί σπάνιες περιπτώσεις ηπατικής δυσλειτουργίας με αύξηση των ηπατικών ενζύμων και ηπατοκυτταρική ή / και χολοστατική ηπατίτιδα με ή χωρίς ίκτερο. Η χορήγησή της αντενδείκνυται σε περιπτώσεις γενικότερης υπερευαισθησίας στα μακρολίδια, βαρειάς ηπατικής ανεπάρκειας καθώς και συγχορήγησή της με σισαπρίδη.

Η δοξυκυκλίνη και η υδροχλωρική τετρακυκλίνη ανήκουν στις τετρακυκλίνες. Χαρακτηρίζονται από βακτηριοστατική δράση, αφού αναστέλλουν στην σύνδεση του tRNA με το mRNA στην 30S ριβοσωμική υπομονάδα, οδηγώντας σε αναστολή της πρωτεϊνικής σύνθεσης. Είναι ευρέως φάσματος αντιβιοτικά, δραστικά κατά Gram + και Gram - μικροβίων. Μάλιστα, όταν εφαρμόζονται τοπικά σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορούν να αποκτήσουν και βακτηριοκτόνο δράση, προκαλώντας μεταβολές στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των μικροβιακών κυττάρων.

Συγκεκριμένα η δοξυκυκλίνη ανήκει στις δεύτερης γενιάς τετρακυκλίνες, παρουσιάζοντας μεγαλύτερη ικανότητα προσρόφησης και διείσδυσης στο βακτηριακό κύτταρο και άρα δυνατότητα μείωσης της δόσης και της συχνότητας χορήγησής της. Κυριότερες ανεπιθύμητες ενέργειες είναι οι γαστρεντερικές διαταραχές και η ηπατοτοξικότητα, δρουν ανταγωνιστικά των πενικιλλινών, ενώ αντενδείκνυται αυστηρά η χορήγησή τους κατά την διάρκεια της κύησης και της γαλουχίας.

Στη χειρουργική του περιοδοντίου, όπως προαναφέρθηκε, η συστηματική χορήγηση αντιβιοτικών βρίσκει εφαρμογή ως μέτρο πρόληψης της εμφάνισης μετεγχειρητικών επιπλοκών, συμπεριλαμβανομένης της επιμόλυνσης και λοίμωξης της χειρουργημένης περιοχής. Η μόλυνση αυτή εμφανίζει κάποια βασικά σημεία, όπως πυόρροια, οίδημα, ερυθρότητα και βακτηριαιμία. Ωστόσο, το κατά πόσο η συστηματική χορήγηση αντιβιοτικών μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης μετεγχειρητικής φλεγμονής αποτελεί πεδίο αντικρουοόμενων απόψεων και τελικά η χορήγηση ή μη αντιβίωσης στα διάφορα είδη περιοδοντικών επεμβάσεων στηρίζεται στην εμπειρία του επεμβαίνοντος.

Το κύριο επιχείρημα που προκαλεί αυτή τη διαμάχη, είναι η χαμηλή επίπτωση της συγκεκριμένης επιπλοκής, που όπως έχει προαναφερθεί κυμαίνεται από 1% (Pack και Haber 1983), μέχρι 2,09% (Powell και συν. 2005) ή το πολύ 4,2% (Checchi και συν. 1992). Πρέπει να σημειωθεί ότι τα ευρήματα αυτά προέρχονται κατά κύριο λόγο από αναδρομικές μελέτες με περιορισμένο μέγεθος δείγματος το οποίο κυμαίνεται από 228 – 927 περιοδοντικές χειρουργικές πράξεις στη μελέτη των Pack & Haber 1983, και 231 – 498 επεμβάσεις στη μελέτη των Checchi και συν. (1992).

Μόνο η αναδρομική μελέτη των Powell και συν. (2005), που πραγματοποιήθηκε σε πολλά περιοδοντικά κέντρα, περιέλαβε σχετικά μεγάλο αριθμό ασθενών (395) με πολλαπλές διαφορετικές χειρουργικές πράξεις (1053). Ίσως λοιπόν, είναι απαραίτητη η διεξαγωγή και άλλων μεγάλων πολυκεντρικών μελετών που θα διερευνούν τον επιπολασμό της μετεγχειρητικής λοίμωξης, αλλά και τους πιθανούς παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με την εμφάνισή της, καθώς και το είδος των θεραπευτικών πρωτοκόλλων που μπορούν να την αποτρέψουν. Αν και σε κάποιες μελέτες έχει αναφερθεί, πως η συστηματική χορήγηση αντιβιοτικών σε συνδυασμό με τη χειρουργική διαδικασία, μπορεί να βελτιώσει την ιστική επούλωση και το θεραπευτικό αποτέλεσμα, ωστόσο δεν έχουν βρεθεί στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σχέση με την μη χορήγηση αντιβίωσης. Κάποιες αναφορές (Kidd και Wade 1974) υποστηρίζουν την άποψη, ότι η επούλωση είναι ταχύτερη και η δυσανεξία του ασθενούς μικρότερη, αν πραγματοποιηθεί περιεγχειρητική χορήγηση συστηματικών αντιβιοτικών (πενικιλίνη). Ωστόσο, άλλες μελέτες (Checchi και συν. 1992, Pack και Haber 1983, Powell και συν. 2005) δεν υποστηρίζουν την προληπτική χορήγηση αντιβιοτικών ως συνηθισμένο και αναγκαίο μέρος του περιεγχειρητικού πρωτοκόλλου, όπως την χορήγηση τετρακυκλινών (Checchi και συν. 1992), πενικιλίνης ή ερυθρομυκίνης (Pack και Haber 1983) ή ακόμη και κεφαλεξίνης (Appleman και συν. 1982), διότι δεν αποτελούν αποτελεσματικό μέτρο στην πρόληψη των μετεγχειρητικών λοιμώξεων. Ταυτόχρονα οι τελευταίες αυτές μελέτες καταλήγουν στο συμπέρασμα, πως η προφυλακτική χορήγηση αντιβίωσης στη χειρουργική του περιοδοντίου δεν είναι επιστημονικά τεκμηριωμένα και άρα δικαιολογημένα, εκτός από τις περιπτώσεις, όπου συστηματικά νοσήματα ή παθολογικές καταστάσεις του περιοδοντικού

ασθενούς την επιβάλλουν. Ίσως μια συγκεκριμένη κατηγορία περιοδοντικών επεμβάσεων, όπου φαίνεται ότι η περιεγχειρητική χορήγηση συστηματικών αντιβιοτικών προσδίδει σημαντικό κλινικό όφελος, είναι οι αναπλαστικές τεχνικές με την χρήση μεμβρανών κατευθυνόμενης ιστικής ανάπλασης και οστικών μοσχευμάτων. Η έκθεση των μεμβρανών στο στοματικό περιβάλλον και η επακόλουθη μόλυνσή τους σε συνδυασμό με την λοίμωξη της χειρουργημένης περιοχής έχει συσχετιστεί με υποδεέστερο αναπλαστικό αποτέλεσμα (Murphy 1995, Nowzari και συν. 1996). Εξ' αιτίας αυτού, πολλοί ερευνητές προτείνουν την παράλληλη χορήγηση αντιβιοτικών, ως μέρος του χειρουργικού πρωτοκόλλου (Cortellini και Bowers 1995, Cortellini και Tonetti 2000, Machtei και Schallhorn 1995, Kornman και Robertson 2000, Sanz και Giovannoli 2000). Ωστόσο, οι Powell και συν. (2005), στην αναδρομική μελέτη τους, όπου συμπεριέλαβαν και περιοχές που είχαν χρησιμοποιηθεί αναπλαστικά υλικά, κατέληξαν στο συμπέρασμα πως η χρήση μεμβράνης δεν αυξάνει σε στατιστικά σημαντικό βαθμό τον κίνδυνο λοίμωξης συγκριτικά με την μη εφαρμογή αυτής (επιπολασμός μετεγχειρητικής λοίμωξης με μεμβράνη 3% έναντι 1,88% άνευ αυτής). Η λογική, πίσω από την συστηματική χορήγηση αντιβιοτικών στις αναπλαστικές επεμβάσεις, στηρίζεται στο ότι αυξάνεται η προβλεψιμότητα του αποτελέσματος, μέσω του ελέγχου της υποουλικής μικροβιακής χλωρίδας κατά την πρώιμη φάση της επούλωσης, που συνεπάγεται μείωση του κινδύνου μετεγχειρητικής επιμόλυνσης, φλεγμονής και έκθεσης της μεμβράνης στο στοματικό περιβάλλον. Ωστόσο, η κλινική σημαντικότητα και η μακροχρόνια αποτελεσματικότητα αυτής της τακτικής έχουν τεθεί υπό αμφισβήτηση. Μάλιστα έχουν διεξαχθεί αρκετές μελέτες με πειραματική ομάδα, όπου πέρα από την αναπλαστική επέμβαση χορηγήθηκε και αντιβίωση και ομάδα

ελέγχου, όπου πραγματοποιήθηκε το ίδιο είδος επέμβασης, αλλά χωρίς την συνοδή χορήγηση αντιβίωσης. Τα αποτελέσματα και εδώ είναι αντιφατικά. Άλλες μελέτες έδειξαν, ότι τα αντιβιοτικά οδηγούν σε στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο κλινικό όφελος στην πειραματική ομάδα (Nowzari και συν. 1995, Mombelli και συν. 1996), ενώ άλλες κατέληξαν στο συμπέρασμα, πως ναι μεν η αντιβίωση βοηθά στον αρχικό έλεγχο της φλεγμονής (Demolon και συν. 1993) αλλά δεν επηρεάζει σημαντικά την ανάπλαση των μαλακών και σκληρών ιστών σε μεγαλύτερο χρόνο παρακολούθησης (12 μήνες) (Demolon και συν. 1994). Επιπλέον, δεν υπάρχουν μελέτες που να συγκρίνουν την αποτελεσματικότητα διαφορετικών αντιβιοτικών ουσιών καθώς και το ποιο είναι το καταλληλότερο χρονικό σημείο για την χορήγησή τους (αμέσως πριν ή αμέσως μετά την επέμβαση). Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως η μικροβιακή αποίκιση των μεμβρανών αρχίζει μόλις 3 λεπτά μετά την είσοδό τους στο στοματικό περιβάλλον (Nowzari και συν. 1996). Πάντως η μεγάλη ετερογένεια στις διάφορες μελέτες, ως προς τα χορηγούμενα αντιβιοτικά σχήματα, δείχνει πως δεν υπάρχουν συγκεκριμένες απαντήσεις σε ερωτήματα, όπως ποια είναι η καταλληλότερη αντιβιοτική ουσία, σε τι δόση, για πόση διάρκεια και πότε πρέπει να ξεκινήσει η χορήγησή της.

Και σε αυτό το σημείο, σημαντική είναι η αναφορά στους γενικούς κινδύνους (ανεπιθύμητες ενέργειες, αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα, τοξικότητα σε διάφορα ιστικά όργανα, ανάπτυξη ανθεκτικών μικροβιακών στελεχών, κ.α.) που σχετίζονται με την συστηματική χορήγηση των αντιβιοτικών και θα πρέπει πάντα να συνεκτιμώνται με το ενδεχόμενο όφελος για την λήψη της τελικής απόφασης. Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων οι παρενέργειες είναι μικρής κλίμακας και αφορούν

την εμφάνιση γαστρεντερικών διαταραχών, όπως διάρροια και ναυτία. Ωστόσο, μπορούν να συμβούν και σημαντικότερες μεγαλύτερης κλίμακας ανεπιθύμητες ενέργειες, όπως αλλεργικές και αναφυλακτικές αντιδράσεις ή ψευδομεμβρανώδης κολίτιδα. Στη βιβλιογραφία έχει αναφερθεί, ότι αναφυλακτικά επεισόδια μετά από συστηματική χορήγηση πενικιλίνης συμβαίνουν με συχνότητα περίπου 1 περιστατικό ανά 10000 συνταγογραφήσεις, ενώ το 10% αυτών των περιπτώσεων είναι θανατηφόρες (Wilson και συν. 2007). Η χορήγηση συστηματικών αντιβιοτικών θα πρέπει να γίνεται μετά από λεπτομερή έλεγχο του ιατρικού ιστορικού του ασθενούς και πάντα μετά την αξιολόγηση των ενδεχόμενων παρενεργειών, αλλά και αλληλεπιδράσεων με άλλες φαρμακευτικές ουσίες που ήδη λαμβάνει ο ασθενής.

Ένα άλλο σημαντικό πρόβλημα που σχετίζεται με την αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών και έχει αναφερθεί σε λιγοστές μελέτες, είναι η ανάπτυξη ανθεκτικών στις αντιβιοτικές ουσίες μικροβιακών στελεχών. Οι Feres και συν. (2002) ταυτοποίησαν ανθεκτικά στελέχη σε δείγματα υποουλικής ΟΜΠ και σάλιου ασθενών, που έπασχαν από χρόνια περιοδοντίτιδα και δέχθηκαν συνδυασμό ριζικών αποξέσεων και από του στόματος χορηγούμενη αμοξικιλίνη ή μετρονιδαζόλη. Ανιχνεύθηκε αύξηση της εκατοστιαίας αναλογίας των ανθεκτικών μικροβιακών στελεχών στα δείγματα υποουλικής ΟΜΠ, μετά την χορήγηση των αντιβιοτικών. Ωστόσο, τα επίπεδα των ανθεκτικών στελεχών μειώθηκαν και εξισώθηκαν με εκείνα προ της θεραπείας μετά από σύντομο χρονικό διάστημα (90 ημέρες). Χαρακτηριστικά, στην Ισπανία, όπου η διάθεση αντιβιοτικών γίνεται χωρίς συνταγογράφηση έχουν καταγραφεί αυξημένα επίπεδα στοματικών βακτηρίων, ανθεκτικών στα συνήθη

χορηγούμενα αντιβιοτικά, ενώ στην Ολλανδία, όπου η χρήση είναι πιο ελεγχόμενη και περιορισμένη, τα επίπεδα είναι πολύ χαμηλότερα (van Winkelhoff και συν. 2005). Είναι λοιπόν κατανοητό, ότι η αλόγιστη χρήση μπορεί να οδηγήσει σε παγκόσμια εξάπλωση ανθεκτικών βακτηριακών στελεχών. Τα παραπάνω υπογραμμίζουν την βαρύνουσα σημασία της επιλεγμένης χορήγησης αντιβιοτικών, μόνο στις περιπτώσεις εκείνες, όπου η γενική υγεία ή συγκεκριμένοι κλινικοί λόγοι την καθιστούν αναγκαία.

3.2 Τοπικοί αντισηπτικοί παράγοντες

3.2.1. Ιστορική αναδρομή (Fischman 1997)

Ο όρος «προϊόντα στοματικής υγιεινής» είναι πρόσφατος, αλλά υπάρχουν στοιχεία που χρονολογούνται τουλάχιστον 6000 έτη πριν, τα οποία δείχνουν ότι ήδη από τότε χρησιμοποιούνταν διάφορα σκευάσματα και συνταγές για την βελτίωση της στοματικής και οδοντικής υγείας. Στα στοιχεία αυτά, συμπεριλαμβάνεται ο γραπτός πάπυρος Ebers του 1500 π.Χ., που περιέχει συνταγές για σκόνες και στοματικά διαλύματα γύρω στο 4000 π.Χ.. Ένας σημαντικός αριθμός σκευασμάτων έχει αναφερθεί από τον συγγραφέα και επιστήμονα Ιπποκράτη (περίπου 480 π.Χ.). Με τα σημερινά δεδομένα, τα πρώτα σκευάσματα που χρησιμοποιήθηκαν φαίνονται αλλόκοτα, αλλά με κάποια λογική δράσης. Έτσι, η χρήση σε μορφή σκευάματος του σώματος ή μέρος του σώματος ζώων, που συνεχώς εμφάνιζαν ανατολή νέων δοντιών, θεωρούνταν ότι θα προσέδιδε υγεία και δύναμη στην οδοντοφυΐα του χρήστη. Ο Ιπποκράτης, για παράδειγμα, συνιστούσε ένα σκεύασμα οδοντόπαστας

για ψήκτριση των δοντιών, το οποίο παρασκευαζόταν από κεφάλι λαγού και τρία ολόκληρα ποντίκια, στα δύο από τα οποία αφαιρούσε τα έντερα, και στη συνέχεια αναμίγνυε την σκόνη από την καύση των ζώων με λιπαρό μαλλί, μέλι, γλυκάνισο, μύρο και λευκό κρασί.

Παρομοίως, τα στοματικά διαλύματα περιείχαν συστατικά που ασκούσαν κάποια διεγερτική δράση στην έκκριση των σιελογόνων αδένων, μείωναν την κάκοσμη αναπνοή ή εμφάνιζαν αντιμικροβιακή δράση. Στους Ρωμαίους ήταν ιδιαίτερα δημοφιλή αλκοολούχα στοματικά διαλύματα, που είχαν ως βάση το λευκό κρασί και την μπύρα. Η χρήση των ούρων ως στοματικό διάλυμα, ήταν δημοφιλής σε πολλούς λαούς και για πολλούς αιώνες. Μάλιστα υπήρχαν διάφορες απόψεις, με τους Καντάβρους και άλλους ισπανικούς λαούς να προτιμούν τα ούρα παλαιότερων ημερών, ενώ με τον Fauchard (1690–1761) στην Γαλλία να συνιστά τα ούρα που συλλέγονται εκείνη τη στιγμή. Τα Αραβικά έθνη προτιμούσαν τα παιδικά ούρα, ενώ οι Ρωμαίοι τα αραβικά. Ανέκδοτες εκθέσεις προτείνουν τα άτομα να χρησιμοποιούν τα δικά τους ούρα ως στοματικό διάλυμα, ακόμη και σήμερα. Θα μπορούσε, πράγματι να υπάρξουν οφέλη για τη στοματική υγεία κάνοντας πλύσεις με ούρα, δεδομένης της περιεκτικότητάς τους σε ουρία, αλλά αυτό δεν έχει ποτέ αξιολογηθεί και σύμφωνα με τη σημερινή δεοντολογία για την άσκηση της οδοντιατρικής περίθαλψης είναι απίθανο να εγκριθούν τέτοιου τύπου μελέτες.

Στο πέρασμα των αιώνων, οι περισσότερες οδοντικές σκόνες, οδοντόκρεμες, και στοματικά διαλύματα έχουν σχεδιαστεί για κοσμητικούς λόγους και όχι για τον έλεγχο οδοντικών και περιοδοντικών παθήσεων. Πολλά σκευάσματα περιείχαν εξαιρετικά αποτριπτικά συστατικά και/ή όξινες ουσίες. Ωστόσο, έχουν

χρησιμοποιηθεί και συστατικά με αντιμικροβιακές ιδιότητες, ίσως όχι σκόπιμα, συμπεριλαμβανομένων του αρσενικού και φυτικών ουσιών. Διάφορα φυτικά εκχυλίσματα χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο σε οδοντόκρεμες και στοματικά διαλύματα, αν και υπάρχουν ελάχιστα στοιχεία που να υποστηρίζουν την αποτελεσματικότητά τους στον έλεγχο της ουλίτιδας και σχεδόν καθόλου στην πρόληψη της οδοντικής τερηδόνας. Πολλοί παράγοντες που συνταγογραφήθηκαν ευρέως κατά τη διάρκεια του εικοστού αιώνα, συνήθως με τη μορφή στοματικών διαλυμάτων, μπορούσαν να προκαλέσουν τοπικά βλάβες στους ιστούς καθώς και συστηματικά προβλήματα, συμπεριλαμβανομένων του αρωματικού θειϊκού οξέος, του υδραργύρου, του ανθρακικού οξέος και της φορμαλδεΐδης (Dilling και Hallam 1936).

Ίσως η μεγαλύτερη αλλαγή στα προϊόντα στοματικής υγιεινής επήλθε με τη χημικοπαρασιτική θεωρία της καταστροφής των οδοντικών ιστών, από τον WD Miller το 1890. Η θεωρία ότι τα οργανικά οξέα που παράγονται από βακτήρια του στόματος μέσω ζύμωσης υδατανθράκων καταστρέφουν την αδαμαντίνη των δοντιών, οδήγησε στην ενσωμάτωση παραγόντων στις οδοντόκρεμες που θα μπορούσαν να επηρεάσουν αυτή την διαδικασία καθώς και στην παραγωγή αλκαλικών προϊόντων. Αμέσως μετά, στις αρχές του εικοστού αιώνα, διάφορα άλατα νατρίου και καλίου προστέθηκαν σε οδοντόκρεμες, ως θεραπεία της περιοδοντικής νόσου. Ίσως, με εξαίρεση του πολύ γνωστού στοματικού διαλύματος αιθέριων ελαίων που κυκλοφόρησε στο τέλος του 19^{ου} αιώνα, η προσθήκη αντιμικροβιακών ή / και αντισηπτικών παραγόντων στις οδοντόπαστες και τα στοματοπλύματα αποτελεί σχετικά πρόσφατη πρακτική των κατασκευαστών. Κατά

την διάρκεια του 19^{ου} και 20^{ου} αιώνα οι οδοντόκρεμες έγιναν λιγότερο αποτριπτικές. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός, ότι η σημασία του επιπέδου αποτριπτικότητας της οδοντόπαστας στην πρόληψη της εξωγενούς χρώσης των δοντιών έγινε εμφανής, όταν ένας κατασκευαστής διέθεσε στην αγορά μια μη αποτριπτική οδοντόπαστα. Η αντιαισθητική καφέ χρώση των δοντιών, που εμφανίστηκε σε πολλούς χρήστες, οδήγησε στην πρώιμη απόσυρση του προϊόντος από την αγορά.

Σύγχρονοι οργανισμοί, όπως ο Διεθνής Οργανισμός Τυποποίησης (ISO), θέτουν ως πρωταρχικό στοιχείο ενός προϊόντος στοματικής υγιεινής, την ασφάλεια και όχι την αποτελεσματικότητα. Ένα σύγχρονο πρότυπο ISO για τα στοματικά διαλύματα είναι το pH τους, το οποίο αν είναι πολύ χαμηλό μπορεί να βλάψει τους σκληρούς οδοντικούς ιστούς. Κατά τη διάρκεια των αιώνων και μέχρι σχετικά πρόσφατα, δεν είχαν πραγματοποιηθεί επιστημονικές αξιολογήσεις των παραγόντων καισκευασμάτων στοματικής υγιεινής με αποτέλεσμα να βασίζεται σε εμπειρικές και μεμονωμένες απόψεις. Στα 6000 έτη ιστορίας των προϊόντων στοματικής υγιεινής, η επιστημονική αξιολόγηση αυτών αποτελεί πολύ πρόσφατο γεγονός, το οποίο σαφώς μπορεί να αποδοθεί στην γενικότερη προσπάθεια χημειοπροφύλαξης και χημειοθεραπείας των ανθρώπινων νόσων. Πράγματι, ίσως η πρώτη, οδοντιατρική ελεγχόμενη τυχαιοποιημένη διπλά-τυφλή κλινική μελέτη διασταυρούμενου σχεδιασμού (cross – over design), πραγματοποιήθηκε πριν από λιγότερο από 50 έτη (Cooke και Armitage 1960).

3.2.2. Ταξινόμηση

Για τον χημικό έλεγχο της υπερουλικής ΟΜΠ έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορα είδη αντισηπτικών – αντιμικροβιακών ουσιών. Σύμφωνα με το Ευρωπαϊκό Workshop Περιοδοντολογίας στο Βερολίνο το 1996, αυτοί οι παράγοντες έχουν ταξινομηθεί στις εξής κατηγορίες (Lang και Newman 1997).

α) Αντιμικροβιακοί παράγοντες (antimicrobial agents): οι χημικές ουσίες, οι οποίες χαρακτηρίζονται από βακτηριοστατική ή βακτηριοκτόνο δράση *in vitro*, κατά της πλάκας, αλλά δεν διαθέτουν αποδεδειγμένα παρόμοια δράση *in vivo*.

β) Παράγοντες που μειώνουν ή ελαττώνουν την ΟΜΠ (plaque reducing / inhibitory agents): οι χημικές ουσίες που έχει αποδειχθεί ότι μειώνουν την ποσότητα ή/και επηρεάζουν την ποιοτική σύνθεση της ΟΜΠ, το οποίο μπορεί να είναι ή να μην είναι επαρκές για αποδοτικό έλεγχο της ουλίτιδας ή/και της τερηδόνας.

γ) Παράγοντες κατά της ΟΜΠ (antiplaque agents): χημικές ουσίες που μπορούν επαρκώς να δράσουν κατά της ΟΜΠ, όντας αποδοτικές στον έλεγχο της ουλίτιδας ή/και της τερηδόνας.

δ) Παράγοντες κατά της ουλίτιδας (antigingivitis agents): χημικές ουσίες που μειώνουν την φλεγμονή των ούλων, χωρίς απαραίτητα να επηρεάζουν την ΟΜΠ (συμπεριλαμβανομένων αντιφλεγμονωδών παραγόντων)

Ανάλογα με τον τρόπο δράσης τους στην ποσοτική ή/και ποιοτική σύνθεση της ΟΜΠ, οι χημικοί παράγοντες μπορούν να διαχωρισθούν ως εξής (Lindhe και συν. 2008):

- Αυτοί που εμποδίζουν την προσκόλληση των μικροβίων (antiadhesive agents)
- Αυτοί που διαθέτουν αντιμικροβιακή δράση (antimicrobial agents)
- Αυτοί που απομακρύνουν την ΟΜΠ (plaque removal agents)
- Αντιπαθογόνοι (antipathogenic agents)

Παράγοντες που εμποδίζουν την προσκόλληση των μικροβίων

Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν ουσίες, οι οποίες δρώντας στην επιφάνεια του επίκτητου υμενίου (pellicle) αποτρέπουν την αρχική προσκόλληση των πρώτων βακτηρίων αποικιστών και έτσι την δημιουργία της ΟΜΠ. Αυτοί οι παράγοντες, λοιπόν, είναι πιο αποτελεσματικοί όταν δρουν σε οδοντικές επιφάνειες που έχει ήδη απομακρυνθεί η ΟΜΠ. Τέτοιοι παράγοντες υπάρχουν και χρησιμοποιούνται τόσο στη βιομηχανία όσο και για οικιακή χρήση. Ωστόσο, αυτές οι χημικές ουσίες στα κυκλοφορούντα εμπορικά σκευάσματα είναι είτε εξαιρετικά τοξικές για στοματική χρήση είτε αναποτελεσματικές εναντίον των βακτηρίων της ΟΜΠ. Σήμερα υπάρχουν κάποια σκευάσματα με τέτοιες ιδιότητες, αν και όχι διαθέσιμα στο ευρύ κοινό, όπως αυτά που περιέχουν αμινοαλκοόλη ή δελμοπινόλη, ουσίες οι οποίες αλληλεπιδρούν με τον σχηματισμό της βακτηριακής οργανικής μήτρας, και κατ'επέκταση συγκατελέγονται μεταξύ των ουσιών με αντιπροσκολλητική δράση ή

που απομακρύνουν την ΟΜΠ. Αυτές οι ουσίες έχει φανεί να είναι αποτελεσματικές κατά της ΟΜΠ και της ουλίτιδας (Collaert και συν. 1992, Claydon και συν. 1996) Ένα ακόμη πλεονέκτημα αυτών των ουσιών είναι, ότι δεν χρωματίζουν τις οδοντικές επιφάνειες.

Αντιμικροβιακοί παράγοντες

Οι αντιμικροβιακές ουσίες μπορούν να αναστείλλουν το σχηματισμό της ΟΜΠ μέσω δύο διαφορετικών μηχανισμών. Ο πρώτος αφορά σε αναστολή του βακτηριακού πολλαπλασιασμού, στοχεύοντας κυρίως στα βακτήρια που πρωταρχικά αποικίζουν την οδοντική επιφάνεια. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί είτε επιδρώντας στο επίκτητο οδοντικό υμένιο (pellicle) πριν την προσκόλληση των πρώτων βακτηριακών αποικιστών είτε μετά την προσκόλλησή τους αλλά πριν την διαίρεση και τον πολλαπλασιασμό τους. Η δράση αυτή χαρακτηρίζεται ως βακτηριοστατική, έχοντας ως αποτέλεσμα την αδυναμία προσκόλλησης δευτερευόντων βακτηρίων και τελικά την μη δυνατότητα δημιουργίας της ΟΜΠ. Ο δεύτερος μηχανισμός θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως βακτηριοκτόνος, όπου ο αντιμικροβιακός παράγοντας εξουδετερώνει όλους τους μικροοργανισμούς μέσω προσκόλλησής του στην οδοντική επιφάνεια. Ωστόσο, ένας παράγοντας για να ασκεί βακτηριοκτόνο δράση θα πρέπει να χαρακτηρίζεται από ισχυρή και παρατεταμένη διάρκεια δράσης. Αν δεν εμφανίζει αυτές τις ιδιότητες, τότε άλλα βακτήρια του στοματικού περιβάλλοντος θα αποικίσουν την οδοντική επιφάνεια αμέσως μετά την πάροδο της βακτηριοκτόνου δράσης και το βιοϋμένιο θα επανεγκατασταθεί. Από την άλλη πλευρά, δεν υπάρχει αντιμικροβιακός παράγοντας που να μπορεί να αποστειρώσει

την οδοντική επιφάνεια μετά από κάθε εφαρμογή του και αυτό είναι θεμιτό, διότι σε αντίθετη περίπτωση θα καταστρέφονταν και πολλοί μικροοργανισμοί που φυσιολογικά αποικίζουν την στοματική κοιλότητα, δίνοντας την ευκαιρία σε εξωγενούς προέλευσης παθογόνους μικροοργανισμούς να την αποικίσουν. Φαίνεται λοιπόν, πως η πλεοψηφία των αντιμικροβιακών ουσιών χαρακτηρίζεται αρχικά από βακτηριοκτόνο δράση, όταν η ουσία βρίσκεται μέσα στη στοματική κοιλότητα σε υψηλή συγκέντρωση, δηλαδή στην αρχή κατά την εφαρμογή της και μέχρις ότου απομακρυνθεί με έκπλυση ή απόχρεμψη. Στη συνέχεια μετατρέπεται σε βακτηριοστατική με ποικίλη διάρκεια. Ο Stralfors (1961) έδειξε, ότι αποτελεσματική βακτηριοκτόνος δράση συνεπάγεται άμεση εξουδετέρωση του 99,9% των στοματικών βακτηρίων, έτσι ώστε να αποτραπεί ο σχηματισμός ΟΜΠ για ικανό χρονικό διάστημα. Σήμερα υπάρχει πληθώρα εμπορικών σκευασμάτων με αντιμικροβιακές ουσίες για στοματική χρήση με ποικίλη αποτελεσματικότητα (Addy 1986, Kornman 1986, Mandel 1988, Addy και συν. 1994, Rolla και συν. 1997, Eley 1999).

Παράγοντες που απομακρύνουν την ΟΜΠ

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν χημικοί παράγοντες που έχουν ονομαστεί «χημικές οδοντόβουρτσες». Όπως με τους παράγοντες που εμποδίζουν την προσκόλληση των βακτηρίων, υπάρχουν παράγοντες, όπως τα υποχλωρίδια, που μπορούν να απομακρύνουν βακτηριακές εναποθέσεις και χρησιμοποιούνται αρκετά για οικιακή χρήση. Και πάλι όμως, αυτοί οι χημικοί παράγοντες αναμένεται να είναι τοξικοί, όταν χρησιμοποιηθούν στο στοματικό περιβάλλον. Ίσως, το πιο κοντινό επιτυχές

παράδειγμα, είναι η χρήση ενζύμων, με δράση τόσο κατά του επίκτητου υμενίου (pellicle), όπως οι πρωτεάσες, όσο και κατά της βακτηριακής μήτρας, όπως οι δεξτράσες και μουτανάσες (Kornman 1986). Ωστόσο, αν και τα συγκεκριμένα ένζυμα, φαίνονται αποτελεσματικά κατά της ΟΜΠ, στερούνται επαρκούς δυνατότητας σταδιακής απελευθέρωσης (substantivity) μέσα στη στοματική κοιλότητα και ταυτόχρονα χαρακτηρίζονται από παρενέργειες, όπως ερεθισμός της ραχιαίας επιφανείας της γλώσσας, διάβρωση του στοματικού βλεννογόνου και διαταραχές στη γεύση (Kelstrup και συν. 1978).

Αντιπαθογόνοι παράγοντες

Θεωρητικά, είναι δυνατόν, ένας παράγοντας να επιδρά στους μικροοργανισμούς της ΟΜΠ, αναστέλλοντας την έκφραση της παθογονικότητάς τους, χωρίς απαραίτητα να καταστρέφει τους ίδιους τους μικροοργανισμούς. Κατά κάποια έννοια αντιμικροβιακοί παράγοντες με βακτηριοστατική δράση, θα μπορούσε να ειπωθεί ότι χαρακτηρίζονται από αντιπαθογόνες ιδιότητες. Ωστόσο λόγω της πολυπαραγοντικής αιτιολογίας των περιοδοντικών νόσων και του μεγάλου αριθμού μικροβίων που σχετίζονται με την εμφάνισή τους δεν έχει καταστεί δυνατή η δημιουργία προϊόντων που να περιέχουν τροποποιημένους μικροοργανισμούς με αντιπαθογόνο δυναμικό και να δρουν τοπικά στους ουλικούς ιστούς..

3.2.3 Μέσα μεταφοράς χημικών παραγόντων

Για τη μεταφορά των χημικών παραγόντων που ελέγχουν την υπερουλική ΟΜΠ στη στοματική κοιλότητα, έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορα μέσα μεταφοράς. Τα κυριότερα αφορούν τη χρήση οδοντόπαστας, στοματικού διαλύματος, γέλης, βερνικιού, τσίχλας ή και συσκευών καταιονισμού υγρού διαλύματος υπό πίεση.

Από όλα αυτά, το πλέον ευρέως χρησιμοποιούμενο μέσο μεταφοράς είναι το στοματικό διάλυμα. Τα στοματικά διαλύματα ποικίλουν στα συστατικά που περιέχουν, αλλά συνήθως είναι λιγότερο πολύπλοκα από τις οδοντόπαστες. Μπορεί απλά να είναι υδατικά διαλύματα, αλλά η ανάγκη να παραμένουν σταθερά στη σύνθεση και να είναι πιο αποδεκτά από το ευρύ κοινό, οδήγησε στην προσθήκη επιπλέον ουσιών που προσδίδουν γεύση, χρώμα, αλλά και συντηρητικών όπως βενζοϊκό νάτριο. Ανιονικές καθαριστικές ουσίες συμπεριλαμβάνονται σε κάποια προϊόντα, αλλά δεν μπορούν να συνδυαστούν με κατιονικά αντισηπτικά, όπως το χλωριούχο κετυλπιριδίνιο και η χλωρεξιδίνη (Barkvoll και συν. 1989). Η αιθυλική αλκοόλη συχνά χρησιμοποιείται στα στοματικά διαλύματα για να προσδώσει σταθερότητα σε κάποια συστατικά τους, να αυξήσει το χρόνο ζωής των σκευασμάτων και ως επιπρόσθετος αντιμικροβιακός παράγοντας (Overholser και συν. 1990). Αναφορικά με τις αντιμικροβιακές ιδιότητες των αλκοολών τα στοιχεία είναι αντικρουόμενα. Υπάρχουν αλκοόλες, όπως η ισοπροπυλική αλκοόλη που όντως έχει ισχυρή αντιμικροβιακή δράση αλλά χρησιμοποιείται ως αντισηπτικό του δέρματος (Bartzokas και συν. 1987). Η αιθανόλη φαίνεται ή να μην έχει καθόλου αντιμικροβιακή δράση τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* (Gjerme και συν. 1970) ή να παρουσιάζει βακτηριοκτόνο δράση και αναστολή της ανάπτυξης βιοϋμενίων ΟΜΠ

μόνο σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις (40% κατόγκον) και με μεγάλη συχνότητα εφαρμογής (6 φορές/ημέρα), ενώ σε συγκεντρώσεις της τάξης του 10% (που φέρουν πολλά στοματικά διαλύματα) δεν φαίνεται να έχει καμία αντιμικροβιακή δράση (Sissons και συν. 1996). Ωστόσο, κατά καιρούς, έχουν εκφραστεί διάφοροι προβληματισμοί (Eley 1999) σε σχέση με τα στοματικά διαλύματα που περιέχουν αιθανόλη, όπως η σύνδεσή τους με ξηρότητα του στοματικού βλεννογόνου, επιδείνωση ξηροστομίας, ελκώδους ουλίτιδας και διάβρωσης του στοματικού βλεννογόνου σε ασθενείς που έχουν ακτινοβοληθεί στην περιοχή της κεφαλής και του τραχήλου για κακοήθεις νεοπλασίες (Blanco και συν. 1996) πρόκληση ερεθισμού σε μετεγχειρητικές περιοχές, κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του στόματος, προβλήματα εθισμού σε χρόνιους αλκοολικούς ασθενείς που έχουν διακόψει την κατανάλωση αλκοόλ ακόμη και με αύξηση του ρυθμού χημικής διάβρωσης της επιφάνειας (μείωση επιφανειακής σκληρότητας) και άρα φθοράς αποκαταστικών υλικών που χρησιμοποιούνται στη στοματική κοιλότητα, όπως οι σύνθετες ρητίνες (McKinney και Wu 1985, Penugonda και συν. 1994). Σε μια μεγάλη μελέτη ασθενών – μαρτύρων στις Η.Π.Α., βρέθηκε ότι γυναίκες που χρησιμοποιούσαν στοματικά διαλύματα με υψηλή περιεκτικότητα σε αιθανόλη ($\geq 25\%$), σε καθημερινή βάση, διέτρεχαν 2,8 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του στόματος συγκριτικά με αυτές που δεν χρησιμοποιούσαν, ενώ ο κίνδυνος ήταν 3,6 φορές μεγαλύτερος συγκριτικά με μη καπνίστριες που δεν κατανάλωναν αλκοόλ (Wynder και συν. 1983). Παρόμοια αλλά μικρότερου μεγέθους επίδραση βρέθηκε και στην μελέτη των Winn και συν. 1991, όπου ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του στόματος αυξανόταν κατά 40% σε άνδρες και 60% σε γυναίκες που χρησιμοποιούσαν τέτοιου είδους στοματικά διαλύματα συνυπολογίζοντας το κάπνισμα και την κατανάλωση

αλκοόλ. Ωστόσο η ύπαρξη πολλών άλλων συγχυτικών παραγόντων, όπως το κάπνισμα, δεν επιτρέπει την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων και σίγουρα τίποτα δεν έχει επιστημονικά αποδειχθεί. Από την άλλη πλευρά, η χρήση των στοματικών διαλυμάτων αφορά μικρά διαστήματα κατά τη διάρκεια της περιοδοντικής θεραπείας, όπου ο κίνδυνος από την αιθανόλη είναι ανεπαίσθητος. Βέβαια ο κίνδυνος υφίσταται, σε περιπτώσεις λήψης των αλκοολούχων διαλυμάτων για μεγάλα χρονικά διαστήματα, χωρίς συνταγή οδοντιάτρου, χρόνιας χρήσης τους ή κατάποσης μεγάλης ποσότητας από παιδιά που μπορεί να προκαλέσει τοξικό επεισόδιο. Επιπλέον, τα αλκοολούχα διαλύματα μπορούν να επηρεάσουν δυσμενώς το χρώμα κάποιων αισθητικών αποκαταστατικών υλικών, ενώ αντενδείκνυται η χορήγησή τους σε περιπτώσεις ατόμων εξαρτημένων στην κατανάλωση αλκοόλ ή ανθρώπων που η θρησκεία ή οι παραδόσεις τους δεν το επιτρέπουν. Πρέπει να σημειωθεί, ότι η πλειοψηφία των σύγχρονων στοματικών διαλυμάτων περιέχει αλκοόλη σε συγκέντρωση μικρότερη του 10%, αλλά υπάρχουν στοματικά διαλύματα με πάνω από 20%. Τα παραπάνω λοιπόν, οδήγησαν στην παρασκευή στοματικών διαλυμάτων που στερούνται αιθυλικής αλκοόλης.

3.2.4 Χημικοί παράγοντες ελέγχου ΟΜΠ

Υπάρχει πληθώρα χημικών παραγόντων, στην πλειοψηφία τους με αντισηπτική ή αντιμικροβιακή δράση και αποτελεσματικότητα που ποικίλει. Είναι σημαντικό να τονιστεί, ότι τα σκευάσματα που περιέχουν αντιμικροβιακούς παράγοντες, χαρακτηρίζονται κυρίως από προληπτική και όχι θεραπευτική δράση. Οι πιο αποτελεσματικοί παράγοντες αναστέλλουν την ανάπτυξη ΟΜΠ και ουλίτιδας, αλλά

δεν εμφανίζουν παρόμοια ευργετική δράση σε περιπτώσεις ήδη εγκατεστημένης ΟΜΠ και ουλίτιδας. Πολλές μελέτες έχουν ασχοληθεί με την περιγραφή διαφόρων χημικών παραγόντων που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της υπερουλικής ΟΜΠ. Η ουσία που έχει λάβει το περισσότερο ενδιαφέρον και έχει μελετηθεί εκτενώς, είναι η διγλυκονική χλωρεξιδίνη και από αυτήν προέρχονται οι περισσότερες γνώσεις μας σχετικά με τις ιδιότητες που θα πρέπει να έχει ένας ιδανικός αντισηπτικός ή αντιμικροβιακός παράγοντας. Βασικό χαρακτηριστικό είναι η ικανότητα μιας ουσίας να διατηρεί τη δράση της για μεγάλο χρονικό διάστημα στη στοματική κοιλότητα, ιδιότητα που καλείται σταδιακή απελευθέρωση (substantivity) (Kornman 1986), και η οποία εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως:

- Δυνατότητα προσρόφησης και παρατεταμένης διατήρησης στις επιφάνειες της στοματικής κοιλότητας, συμπεριλαμβανομένων κυρίως, των οδοντικών επιφανειών που καλύπτονται από το επίκτητο υμένιο
- Δυνατότητα διατήρησης της αντιμικροβιακής δραστηριότητάς της μετά την προσρόφησης της, κυρίως μέσω βακτηριοστατικής δράσης, κατά των πρωταρχικών βακτηρίων που αποικίζουν τις οδοντικές επιφάνειες
- Πολύ μικρή ή καθυστερημένη εξουδετέρωση της αντιμικροβιακής της δράσης μέσα στο στοματικό περιβάλλον ή απελευθέρωσή της με αργό ρυθμό από τις επιφάνειες που έχει προσροφηθεί

Η αντιμικροβιακή δραστηριότητα των αντισηπτικών *in vitro* δεν αποτελεί αξιόπιστο προβλεπτικό παράγοντα για την ανασταλτική τους δράση επί της ΟΜΠ *in vivo* (Gjeramo και συν. 1970, Gjeramo και συν. 1973). Οι πρώτες μελέτες που

συμπεριέλαβαν πολλά είδη αντισηπτικών, αποκάλυψαν πολλές ομοιότητες στο αντιμικροβιακό φάσμα τους, αλλά μεγάλες διαφορές αναφορικά με την κλινική τους αποτελεσματικότητα. Για παράδειγμα, συγκριτικά με την χλωρεξιδίνη, οι ενώσεις τεταρτοταγούς αμμωνίου και το χλωριούχο κετυλπυριδίνιο παρουσίαζαν παρόμοια αντιμικροβιακή δράση *in vitro* (Gjeramo και συν. 1970, Gjeramo και συν. 1973, Roberts και Addy 1981) και μάλιστα αρχικά μεγαλύτερη προσρόφηση από τις στοματικές επιφάνειες (Bonesvoll και Gjeramo 1978). Ωστόσο, η διάρκεια της δράσης του κετυλπυριδινίου είναι πολύ μικρότερη από αυτήν της χλωρεξιδίνης (Schiott και συν. 1970, Roberts και Addy 1981), όπως και η δυνατότητα αναστολής σχηματισμού της ΟΜΠ (Mandel 1988). Τα παραπάνω μπορούν να αποδοθούν στη μικρότερη δυνατότητα διατήρησης του κετυλπυριδινίου από τις επιφάνειες της στοματικής κοιλότητας (Bonesvoll και Gjeramo 1978), στη μειωμένη δραστηριότητά του, αφού προσροφηθεί στις στοματικές επιφάνειες και στην εξουδετέρωσή του στη στοματική κοιλότητα (Moran και Addy 1984) ή σε συνδυασμό των παραπάνω. Φυσικά, μια λύση για την βελτίωση της αποτελεσματικότητας του κετυλπυριδινίου, θα ήταν η αύξηση της συχνότητας εφαρμογής του, η οποία όμως θα οδηγούσε σε δυσκολία χρήσης από την πλευρά των ασθενών και εμφάνιση παρενεργειών (Bonesvoll και Gjeramo 1978). Εναλλακτικά, η σταδιακή απελευθέρωση θα μπορούσε να αυξηθεί συνδυάζοντας αντιμικροβιακές ουσίες ή χρησιμοποιώντας παράγοντες που θα αύξαναν την δυνατότητα διατήρησης των αντιμικροβιακών ουσιών στο στοματικό περιβάλλον (Gaffar και συν. 1992).

Έχοντας κατά νου τα παραπάνω, ακολουθεί συνοπτική περιγραφή των κυριότερων ειδών αντισηπτικών – αντιμικροβιακών χημικών παραγόντων που

χρησιμοποιούνται σε μορφή στοματικού διαλύματος για τοπική εφαρμογή στη στοματική κοιλότητα.

3.2.4.1. Διγλυκονική χλωρεξιδίνη (CHX)

Η CHX είναι μία ισχυρή αντιμικροβιακή ουσία που χημικά ανήκει στην οικογένεια των δι-διγουανιδινών. Θεωρείται ως η πλέον αποτελεσματική αντιμικροβιακή ουσία για τοπική εφαρμογή στη στοματική κοιλότητα μειώνοντας την ΟΜΠ και την φλεγμονή των ούλων (Quirynen και συν. 2005, Southern και συν. 2006). Σε μια πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση των Van Strydonck και συν. (2012) αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα της CHX στον έλεγχο της ΟΜΠ και την μείωση της φλεγμονής των ούλων σε ασθενείς με ουλίτιδα. Στην ανασκόπηση αυτή συμπεριλήφθησαν 30 τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες κλινικές μελέτες, στις οποίες η πειραματική ομάδα έλαβε χλωρεξιδίνη ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με οδηγίες μηχανικής απομάκρυνσης της ΟΜΠ, ενώ στην ομάδα ελέγχου χορηγούνταν διάλυμα placebo ή/και οδηγίες απομάκρυνσης της ΟΜΠ με μηχανικά μέσα. Η ελάχιστη διάρκεια παρακολούθησης στις μελέτες αυτές ήταν 4 εβδομάδες και οι βασικές παράμετροι που αξιολογήθηκαν ήταν η συνάθροιση οδοντικής πλάκας και η αιμορραγία των ούλων. Στις 13 από αυτές πραγματοποιήθηκε μετανάλυση των αποτελεσμάτων, όπου φάνηκε ότι η χορήγηση CHX οδήγησε σε στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη μείωση των δεικτών πλάκας (Plaque-Index Quigley & Hein, Plaque Index Silness & Loe) και αιμορραγίας των ούλων (ουλικός δείκτης, δείκτης αιμορραγίας των μεσοδόντιων θηλών, δείκτης αιμορραγίας μετά από ανίχνευση αντίστοιχα με την παρυφή των ούλων) συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Σε γενικές

γραμμές η χορήγηση CHX οδήγησε σε κατά 33% και 26%, αντίστοιχα, μεγαλύτερη μείωση της ΟΜΠ και της ουλίτιδας. Η κλινική αποτελεσματικότητα της CHX οφείλεται στην ισχυρή αντιμικροβιακή δράση της, η οποία προσβάλλει την βακτηριακή κυτταρική μεμβράνη Gram +, Gram - βακτηρίων, μυκήτων και ιών (HSV1, HSV 2, Influenza A), προκαλώντας διαρροή ή/και καθίζηση των κυτταρικών τους συστατικών (Southard και συν. 1989). Η CHX προσκολλάται στα βακτήρια, εμποδίζοντας την πρόσφυσή τους στις οδοντικές επιφάνειες. Μέσω της προσκόλλησής της σε σιαλικές πρωτεΐνες, εμποδίζει το σχηματισμό του βιοϋμενίου (biofilm). Επιπλέον, διαπερνά το βιοϋμένιο της οδοντικής πλάκας και δρά κατά των ήδη ενσωματωμένων βακτηρίων (Löe και Schiott 1970). Σε χαμηλές συγκεντρώσεις αυξάνει την βακτηριακή κυτταρική διαπερατότητα μέσω διαρροής ενδοκυττάρων συστατικών, όπως του καλίου. Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις προκαλεί κατακρήμνιση του βακτηριακού κυτταροπλάσματος και τελικά κυτταρικό θάνατο (βακτηριοκτόνος δράση). Η CHX διατηρεί την βακτηριοστατική δράση της περισσότερο από 12 ώρες, λόγω της υπερουλικής προσκόλλησης της στους σκληρούς και μαλακούς ιστούς (supragingival substantivity) (Schiott και συν. 1970). Μελέτες με ειδικά ραδιοσημασμένη χλωρεξιδίνη έδειξαν, ότι απελευθερώνεται αργά από τις επιφάνειες επιμηκύνοντας χρονικά την αντιβακτηριακή δράση της (Bonesvoll, P. και Gjermo 1978, Lindhe και συν. 1998). Τα στοματικά διαλύματα χλωρεξιδίνης αναστέλλουν το σχηματισμό της ΟΜΠ με δοσοεξαρτώμενο τρόπο (Jenkins και συν. 1994), αφού το ίδιο αποτέλεσμα με όγκο διαλύματος 10ml συγκέντρωσης 0,2% (δηλαδή συνολική ποσότητα χλωρεξιδίνης 20mg) μπορεί να επιτευχθεί με μεγαλύτερο όγκο διαλύματος χαμηλότερης συγκέντρωσης (Lang και Ramseier-Grossman 1981). Επίσης, αξίζει να σημειωθεί ότι τοπική εφαρμογή

διαλύματος χλωρεξιδίνης 0,2% άμεσα πάνω στις οδοντικές επιφάνειες, π.χ. με τη μορφή εναιωρήματος υπό πίεση ή και γέλης, οδηγεί στο ίδιο επίπεδο αναστολής σχηματισμού της ΟΜΠ, όπως με την εφαρμογή στοματοπλύσεων με δόση χλωρεξιδίνης 20mg (Addy και Moran 1983, Francis και συν. 1987, Jenkins και συν. 1988, Kalaga και συν. 1989).

Σήμερα κυκλοφορούν διάφορα στοματικά διαλύματα που περιέχουν CHX σε διάφορες συγκεντρώσεις (0,05- 0,2%). Αυτό που φαίνεται ότι παίζει σημαντικότερο ρόλο στην αποτελεσματικότητα του σκευάσματος δεν είναι η συγκέντρωση του διαλύματος (δηλαδή αν θα είναι 0,10%, 0,12% ή 0,20%), αλλά η συνολική ποσότητα της CHX σε κάθε στοματοπλύση, η οποία θα πρέπει να είναι 18 – 20mg. Έτσι σε μελέτη των Segreto και συν. (1986) φάνηκε ότι στοματοπλύσεις με διάλυμα 0,2% όγκου 10ml (συνολική ποσότητα CHX 20mg) είναι εξίσου αποτελεσματικές με όγκο 15ml διαλύματος συγκέντρωσης 0,12%. Βασικό συστατικό των περισσότερων σκευασμάτων CHX είναι η αιθυλική αλκοόλη. Ωστόσο λόγω των προβλημάτων που παρουσιάζει η αιθανόλη, σήμερα παρασκευάζονται και διαλύματα χωρίς αλκοόλη, τα οποία περιέχουν και άλλα έκδοχα, όπως π.χ. χλωριούχο κετυλπυριδίνιο ή / και φθοριούχο νάτριο.

Αρκετές είναι οι κλινικές μελέτες που έχουν συγκρίνει την αποτελεσματικότητα της χλωρεξιδίνης με και χωρίς αιθανόλη στον έλεγχο της ΟΜΠ και την μείωση της ουλίτιδας (Πίνακας 1.1). Οι Quirynen και συν. (2001) σε μια κλινική μελέτη που διεξήγαγαν συνέκριναν την αποτελεσματικότητα διαφόρων σκευασμάτων CHX με και χωρίς αιθανόλη καθώς και σε συνδυασμό με άλλα συστατικά, όπως χλωριούχο κετυλπυριδίνιο ή φθοριούχο νάτριο. Στη μελέτη συμπεριλήφθησαν 16 άτομα τα

οποία έλαβαν σταδιακά και με μεσοδιαστήματα αποχής 21 ημέρες και τα 4 διαφορετικά στοματικά διαλύματα που αξιολογήθηκαν. Κατά τη διάρκεια κάθε πειραματικής περιόδου δεν πραγματοποιούνταν μηχανική απομάκρυνση της ΟΜΠ. Πέρα από τους κλινικούς δείκτες πάρθηκαν και δείγματα σάλιου και υπερουλικής ΟΜΠ για αερόβια και αναερόβια μικροβιακή καλλιέργεια. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η απουσία αλκοόλης δεν μείωσε την αποτελεσματικότητα της CHX ούτε σε κλινικό (δείκτης πλάκας, ουλικός δείκτης) αλλά ούτε και σε μικροβιολογικό επίπεδο. Οι Borrajo και συν. (2002) συνέκριναν με κλινικά κριτήρια την αποτελεσματικότητα δύο σκευασμάτων CHX 0,12% ενός με αιθανόλη και ενός χωρίς. Μετά από 27 ημέρες χρήσης των διαλυμάτων (και με παράλληλη εφαρμογή μηχανικής απομάκρυνσης της ΟΜΠ από τους ασθενείς) δεν φάνηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο σκευασμάτων ως προς τον δείκτη πλάκας και τον δείκτη αιμορραγίας των μεσοδοντίων θηλών. Οι Lorenz και συν. (2007) συνέκριναν σκευάσματα CHX 0,2% χωρίς αιθανόλη με σκεύασμα αντίστοιχης περιεκτικότητας σε CHX αλλά με 7% αιθανόλη. Μετά από 21 ημέρες παρατήρησης (ενώ παράλληλα οι ασθενείς εφήρμοζαν και διαδικασίες μηχανικής απομάκρυνσης της ΟΜΠ) κατέληξαν στο συμπέρασμα πως η απουσία αιθανόλης δεν μειώνει την αποτελεσματικότητα της CHX στον έλεγχο της ΟΜΠ και την αντιμετώπιση της ουλίτιδας. Σε παρόμοια κατεύθυνση οι Todkar και συν. (2012) συνέκριναν την κλινική αποτελεσματικότητα CHX 0,2% με και χωρίς αλκοόλη. Μετά από 28 ημέρες χρήσης των σκευασμάτων δεν καταγράφηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους τόσο ως προς τον δείκτη πλάκας όσο και ως προς τον ουλικό δείκτη. Μια άλλη μελέτη όπου πραγματοποιήθηκε σύγκριση της αποτελεσματικότητας της CHX με και χωρίς την παρουσία αλκοόλης ήταν αυτή των Zimmer και συν. (2014). Στη μελέτη

αυτή συμπεριλήφθησαν 160 άτομα τα οποία χωρίστηκαν σε 4 ομάδες. Μετά από 8 εβδομάδες χρήσης των στοματικών διαλυμάτων (σε συνδυασμό με διαδικασίες μηχανικής απομάκρυνσης της ΟΜΠ) καταγράφηκαν δείκτες πλάκας και δείκτης αιμορραγίας των μεσοδοντίων θηλών. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς καμία κλινική παράμετρο που αξιολογήθηκε μεταξύ των σκευασμάτων CHX με και χωρίς αλκοόλη. Τα παραπάνω ευρήματα επιβεβαιώνονται και από μια πολύ πρόσφατη κλινική μελέτη των Παραϊοαννου και συν. (2016) όπου αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα CHX 0,2% με και χωρίς αλκοόλη. Στη μελέτη συμμετείχαν 10 φοιτητές οδοντιατρικής οι οποίοι σταδιακά και με μεσοδιάστημα αποχής 14 ημερών έλαβαν ένα σκεύασμα CHX με αλκοόλη και ένα χωρίς για 21 ημέρες, ενώ παράλληλα δεν πραγματοποιούσαν διαδικασίες μηχανικής απομάκρυνσης της ΟΜΠ. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η απουσία αλκοόλης δεν μείωσε την αποτελεσματικότητα της CHX σε καμία από τις κλινικές παραμέτρους που αξιολογήθηκαν. Συνεπώς είναι αρκετά τα στοιχεία που δείχνουν ότι τα σκευάσματα CHX χωρίς αιθανόλη παρουσιάζουν παρόμοια αποτελεσματικότητα στον έλεγχο της ΟΜΠ και της ουλίτιδας συγκριτικά με εκείνα που περιέχουν αλκοόλη, και μάλιστα χωρίς τις ενδεχόμενες παρενέργειες της τελευταίας καθώς και με πιο αποδεκτή γεύση από τους ασθενείς.

Ωστόσο, όπως κάθε αντιμικροβιακή ουσία, έτσι και η CHX μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση κάποιων παρενεργειών. Οι κυριότερες από αυτές είναι οι εξής (Flotra και συν. 1971):

- Πρόκληση καφέ δυσχρωμιών στις οδοντικές επιφάνειες, σε κάποια είδη αποκαταστατικών υλικών και στη ραχιαία επιφάνεια της γλώσσας. Η

δημιουργία φαιών χρωστικών πάνω στις οδοντικές επιφάνειες αποτελεί την συχνότερα εμφανιζόμενη επιπλοκή μετά από παρατεταμένη χρήση διαλυμάτων CHX. Ως πιθανοί μηχανισμοί αυτής της παρενέργειας, έχουν προταθεί: η αποδόμηση του μορίου της CHX με αποτέλεσμα την απελευθέρωση παραχλωρανιλίνης, η κατάλυση μη ενζυματικών αντιδράσεων τύπου Maillard, η μετουσίωση πρωτεϊνών με σχηματισμό σουλφιδικών αλάτων και η κατακρήμνιση ανιοντικών χρωμογόνων που περιέχονται σε διάφορες τροφές και ροφήματα (κυρίως στο τσάι, τον καφέ και το κόκκινο κρασί (Eriksen και συν. 1985, Watts και Addy 2001). Η παραπάνω παρενέργεια είναι ο βασικός λόγος, που αντενδείκνυται η παρατεταμένη χρήση της CHX προληπτικά, ενώ παράλληλα η επιπλοκή αυτή εμφανίζεται με όλα τα σκεύασμα που περιέχουν την συγκεκριμένη δραστική ουσία, ανεξαρτήτως μέσου μεταφοράς (γέλη, οδοντόπαστα, ελαιώρημα, στοματικό διάλυμα). Έχουν γίνει προσπάθειες για την παρασκευή στοματικών διαλυμάτων CHX που να στερούνται της δημιουργίας χρωστικών, αλλά χωρίς κλινική επιτυχία. Χαρακτηριστικά, ένα νέο σκεύασμα CHX με ειδικό σύστημα κατά των χρωστικών (anti-discoloration system – ADS) κυκλοφόρησε στην Ευρώπη προ 10ετίας, αλλά εργαστηριακές μελέτες που ακολούθησαν, έδειξαν ότι δεν υπήρχε σημαντική διαφορά ως προς την δημιουργία χρωστικών συγκριτικά με τα κλασικά διαλύματα (Addy και συν. 2005), ενώ ταυτόχρονα άλλη μελέτη κατέληξε στο συμπέρασμα πως η δυνατότητα αναστολής σχηματισμού της ΟΜΠ ήταν σαφώς κατώτερη στα διαλύματα με το αντιδυσχρωμικό σύστημα (Arweiler και συν. 2006)

Συνεπώς, ακόμη και σήμερα ισχύει η άποψη ότι σκευάσματα CHX που δεν χρωματίζουν, δεν είναι και κλινικά αποτελεσματικά.

- Διαταραχές στη γεύση, και κυρίως στην αλμυρή αίσθηση (Lang και συν. 1988) τόσο σε τροφές όσο και ροφήματα
- Διάβρωση του στοματικού βλεννογόνου. Αυτή η παρενέργεια φαίνεται να είναι ιδιοσυγκρασιακή αντίδραση και δοσοεξαρτώμενη. Συγκεκριμένα, το πρόβλημα εμφανίζεται συνήθως με διαλύματα CHX συγκέντρωσης 0,20%, ενώ η χρήση διαλύματος 0,10% αυξάνοντας τον όγκο ανά στοματοπλύση για να λαμβάνεται η ίδια ποσότητα δραστικής ουσίας, φαίνεται να βελτιώνει την κλινική κατάσταση. Μάλιστα, πολύ σπάνια εμφανίζονται διαβρώσεις, με χρήση στοματικού διαλύματος συγκέντρωσης 0,12% χορηγούμενο σε δόση 15ml.
- Μονόπλευρη ή αμφοτερόπλευρη διόγκωση των παρωτίδων που αποτελεί σπάνια επιπλοκή αγνώστου αιτιολογίας.
- Αύξηση των υπερουλικών εναποθέσεων τρυγίας. Αυτή η παρενέργεια μπορεί να οφείλεται σε κατακρήμνιση σιαλικών πρωτεϊνών στην οδοντική επιφάνεια, αυξάνοντας το πάχος του επίκτητου υμενίου ή/και οδηγώντας σε κατακρήμνιση ανόργανων αλάτων πάνω ή μέσα στο οδοντικό υμένιο.
- Σε ιστολογικό επίπεδο, μπορεί να προκαλέσει κατά δοσοεξαρτώμενο τρόπο, *in vitro* μείωση του πολλαπλασιασμού των ουλικών ινοβλαστών, η οποία φαίνεται ότι είναι ανεξάρτητη από τον χρόνο έκθεσης των κυττάρων στην δραστική ουσία (Mariotti και Rumpf 1999, Dogan και συν. 2003, Flemingson και συν. 2008) καθώς και *ex vivo* μείωση της κολλαγονογενετικής δραστηριότητας των ινοβλαστών, οδηγώντας σε επιβράδυνση των

διαδικασιών της ιστικής επούλωσης (Boisnic και συν. 2006). Πέρα από τις ουλικές ινοβλάστες, η CHX φαίνεται να επιδρά στα επιθηλιακά κύτταρα και στα περιφερικά λεμφοκύτταρα. Οι Eren και συν. (2002) διερεύνησαν την επίδραση της χρήσης της CHX 0,12% δύο φορές/ημέρα επί 18 ημέρες και παρατήρησαν ότι προκάλεσε μεταβολές στο DNA των επιθηλιακών κυττάρων και των περιφερικών λεμφοκυττάρων. Οι ερευνητές κατέληξαν, ότι εφόσον η CHX δεν συσσωρεύεται στον οργανισμό, οι μεταβολές αυτές αφορούν σε πρώιμες αλλαγές του DNA των κυττάρων, κατά την πρώτη επαφή τους με την χλωρεξιδίνη και είναι αναστρέψιμες. Παρόμοια αποτελέσματα έδειξαν και οι Ribeiro και συν. (2004), οι οποίοι εξέτασαν την επίδραση της CHX στα περιφερικά λεμφοκύτταρα και τα κύτταρα του στοματικού βλεννογόνου.

3.2.4.2. Αιθέρια έλαια και φαινόλες

Στην κατηγορία των αιθέριων ελαίων ανήκουν ουσίες, όπως η μενθόλη, η θυμόλη και η ευκαλυπτόλη, οι οποίες μπορούν να εξαλείψουν αρκετούς μικροοργανισμούς, που εμπλέκονται στο σχηματισμό της ΟΜΠ και την εμφάνιση της ουλίτιδας. Έκθεση για 30'' σε στοματικό διάλυμα, που περιέχει συνδυασμό 4 αιθέριων ελαίων (0,064% θυμόλη, 0.092% ευκαλυπτόλη, 0,042% μενθόλη και μεθυλσαλυκυλικό 0,06%) προκαλεί ευδιάκριτες μεταβολές στην μορφολογία της κυτταρικής επιφάνειας των μικροβίων, την απώλεια της συνοχής του κυττάρου και ενδεχομένως οι μεταβολές αυτές να είναι συνδεδεμένες με τον κυτταρικό θάνατο (Kubert και συν. 1993, Whitaker και συν. 2003). Τα αιθέρια έλαια διαθέτουν ένα ευρύ αντιμικροβιακό

φάσμα, επιδρώντας σε Gram + και Gram - βακτήρια και μύκητες (Ricardo Palmier Teles και Flavia Rocha Fonseca Teles 2009). Η δράση τους στηρίζεται στην αλληλεπίδραση με την αποίκιση των βακτηρίων στις οδοντικές επιφάνειες. Τα αιθέρια έλαια εμποδίζουν την συνάθροιση των Gram + βακτηρίων, που είναι τα πρώτα που αποικίζουν την οδοντική επιφάνεια, μειώνουν τον βακτηριακό πολλαπλασιασμό και αποσπούν ενδοτοξίνες από τα Gram - παθογόνα (Fine και συν. 1996). Τα παραπάνω οδηγούν σε μείωση του συνολικού βακτηριακού φορτίου, επιβράδυνση της ωρίμανσης, μείωση της μάζας και της παθογονικότητας της ΟΜΠ. Οι αντιμικροβιακοί μηχανισμοί δράσης των αιθέριων ελαίων περιλαμβάνουν ρήξη του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος και αναστολή της μικροβιακής ενζυματικής δραστηριότητας (Fine και συν. 1996). Επίσης έχει προταθεί ότι διαθέτουν και αντιφλεγμονώδη δράση, κυρίως μέσω αντιοξειδωτικής δραστηριότητας (Firalti και συν. 1994). Η ικανότητα διείσδυσης των στοματικών διαλυμάτων με αιθέρια έλαια στην ΟΜΠ έχει διερευνηθεί σε in vivo μελέτη με χρήση φθοριζουσών ουσιών που ξεχωρίζουν τους ζωντανούς από τους νεκρούς μικροοργανισμούς (Pan και συν. 2000). Μισή ώρα μετά την εφαρμογή του στοματικού διαλύματος, το 78,7% των βακτηρίων στα δείγματα ΟΜΠ είχε εξουδετερωθεί συγκριτικά με 27,9%, όταν εφαρμόστηκε διάλυμα placebo. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα αιθέρια έλαια μπορούν να διεισδύσουν στην μάζα της ΟΜΠ και να ασκήσουν αντιμικροβιακή δράση στα αναπτυσσόμενα βακτήρια εντός του βιοϋμενίου. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώθηκαν και από άλλες μελέτες, οι οποίες έδειξαν in vivo αντιμικροβιακή δράση σε προϋπάρχουσα εγκατεστημένη ΟΜΠ (Fine και συν. 2007a, Fine και συν. 2005, Fine και συν. 2007b). Από διάφορες μελέτες με ελάχιστη διάρκεια παρακολούθησης τους 6 μήνες, προκύπτει ότι η

επιπρόσθετη χρήση στοματικού διαλύματος αιθέριων ελαίων οδηγεί κατά μέσο όρο σε 32,9% μεγαλύτερη μείωση της ΟΜΠ (δείκτης Quigley-Hein τροποποιημένος κατά Turesky) και 22,1% μεγαλύτερη μείωση της ουλίτιδας (τροποποιημένος ουλικός δείκτης – Modified Gingival Index) (Gordon και συν. 1985, DePaola και συν. 1989, Overholser και συν. 1990, Charles και συν. 2001, Sharma και συν. 2002, Bauroth και συν. 2003, Sharma και συν. 2004). Χαρακτηριστικά, μια από αυτές τις μελέτες έδειξε, ότι μετά από 14 ημέρες στοματοπλύσεων με σκεύασμα που περιείχε αιθέρια έλαια επιτεύχθηκαν σημαντικές μειώσεις στα υπερουλικά επίπεδα διαφόρων μικροβίων, όπως στελεχών *Veillonella* (-52,3%), καπνοκυτοφάγων (-74,1%), *Fusobacterium nucleatum* (-81,5%) και συνολικού αριθμού αναερόβιων (-88,5%) (Fine και συν. 2005). Μάλιστα στην ίδια μελέτη φάνηκε, ότι η προαναφερθείσα μείωση των επιπέδων των διαφόρων μικροβίων διατηρήθηκε για χρονικό διάστημα της τάξης των 12 ωρών μετά την τελευταία στοματοπλύση, υποδηλώνοντας σημαντική ικανότητα σταδιακής απελευθέρωσης, παρόμοιας με αυτήν της CHX.

Από την άλλη πλευρά, βασικό μειονέκτημα των σκευασμάτων αιθέριων ελαίων είναι το χαμηλό pH τους (4,3), το οποίο έχει δειχθεί *in vitro* και *in situ* ότι προκαλεί διάβρωση της οδοντίνης και της αδαμαντίνης, αν και σε μικρότερο βαθμό από τον χυμό πορτοκαλιού (Addy και συν. 1991a, Pontefract και συν. 2001).

Από τις φαινόλες, χαρακτηριστικός αντιπρόσωπος είναι η τρικλοζάνη (τριχλωρο-2-υδροξυ-φαινυλαιθέρας), η οποία χρησιμοποιείται εδώ και πολλά χρόνια σε διάφορα φαρμακευτικά σκευάσματα. Ενσωματωμένη σε στοματικά διαλύματα σε υψηλή συγκέντρωση (0,2%) και σε υψηλή δόση (20mg δύο φορές την ημέρα), η τρικλοζάνη εμφανίζει ήπια αντιμικροβιακή δράση και ικανότητα σταδιακής

απελευθέρωσης (substantivity) για περίπου 5 ώρες Jenkins και συν. 1991a, Jenkins και συν. 1991b). Αναφορικά με την αποτελεσματικότητα της συγκεκριμένης φαινόλης, διάλυμα τρικλοζάνης 0,1% (χορηγούμενη ποσότητα 10mg x 2 φορές / ημέρα) φάνηκε σημαντικά λιγότερο αποτελεσματικό στην αναστολή σχηματισμού της οδοντικής πλάκας, συγκριτικά με διάλυμα CHX 0,01% (χορηγούμενη ποσότητα 1mg x 2 φορές / ημέρα) (Jenkins και συν. 1994).

3.2.4.3 Τεταρτοταγείς ενώσεις αμμωνίας

Από αυτή την κατηγορία, η πιο γνωστή και μελετημένη ουσία είναι το χλωριούχο κετυλπυριδίνιο (CPC). Αποτελεί συστατικό πολλών στοματικών διαλυμάτων και συνήθως ανευρίσκεται σε συγκέντρωση 0,05%. Στο στοματικό περιβάλλον, εμφανίζεται ως κατιόν και απορροφάται σε μεγαλύτερο βαθμό από τις στοματικές επιφάνειες, συγκριτικά με την CHX (Bonesvoll και Gjermo 1978). Η ικανότητα σταδιακής απελευθέρωσης του CPC φαίνεται να είναι μόλις 3 – 5 ώρες (Roberts και Addy 1981), εξ' αιτίας της ταχείας απώλειας της δράσης του μετά την προσρόφησή του ή της ταχείας αποδέσμευσής του από τις στοματικές επιφάνειες. Παρουσιάζει αντιμικροβιακή δράση και αναστέλει τον σχηματισμό της ΟΜΠ, αλλά σε πολύ χαμηλότερο βαθμό από την CHX. Η αποτελεσματικότητά του μπορεί να βελτιωθεί, αυξάνοντας την συχνότητα εφαρμογής του σε 4 φορές την ημέρα (Bonesvoll και Gjermo 1978), αλλά τότε αυξάνονται οι τοπικές παρενέργειες συμπεριλαμβανομένης της δημιουργίας χρωστικών στα δόντια και γίνεται δυσχερέστερη η συμμόρφωση των ασθενών. Τέλος, έχουν προταθεί σκευάσματα που συνδυάζουν την CHX με το CPC, τα οποία φαίνεται να είναι συγκρίσιμα ως προς

την αποτελεσματικότητα, με αυτά της CHX, χωρίς ωστόσο να μπορεί να αξιολογηθεί η συμβολή του CPC στη δραστικότητα της CHX (Quirynen και συν. 2001, Quirynen και συν. 2005).

3.2.4.4. Ένζυμα

Οι ουσίες αυτές ανήκουν σε δύο κατηγορίες. Η πρώτη ομάδα αποτελείται από ένζυμα που στερούνται πραγματικών αντιμικροβιακών ιδιοτήτων και δρουν μέσω της διάσπασης της ανώριμης ΟΜΠ εκτοπίζοντας μικρόβια από την οδοντική επιφάνεια. Τέτοια ένζυμα είναι η δεξτρανάση, η μουτανάση και διάφορες πρωτεάσες και λιπάσες. Ωστόσο, αυτοί οι παράγοντες χαρακτηρίζονται από μικρή ικανότητα σταδιακής απελευθέρωσης και παρενέργειες, όπως η διάβρωση του στοματικού βλενογόννου και η πρόκληση διαταραχών στη γεύση (Kelstrup και συν. 1978). Η δεύτερη ομάδα περιλαμβάνει τα ένζυμα γλυκοξειδάση και αμυλογλυκοξειδάση, τα οποία ενισχύουν τους μηχανισμούς άμυνας του ξενιστή ενάντια στη μικροβιακή πρόκληση. Η δράση τους στηρίζεται στην κατάλυση της μετατροπής του ενδογενούς και εξωγενούς θειοκυανίου σε υποθειοκυάνιο μέσω του συστήματος λακτοϋπεροξειδάσης του σάλιου. Αυτές οι υποθειοκυανιούχες ενώσεις ασκούν ανασταλτική δράση σε ορισμένα στοματικά βακτήρια, όπως τους στρεπτόκοκκους. Ωστόσο δεν υπάρχουν μακροχρόνιες *in vivo* μελέτες σχετικά με την δράση τους, ενώ η συνεισφορά τους στην αντιμετώπιση της ουλίτιδας είναι αμφιλεγόμενη.

3.2.4.5. Αμινοαλκοόλες

Κύριοι εκπρόσωποι αυτής της ομάδας είναι η δελμοπινόλη και οκταπινόλη. Ο μηχανισμός δράσης τους δεν είναι πλήρως κατανοητός, αλλά δεν φαίνεται να έχουν αντιμικροβιακή ή αντισηπτική δράση. Αναστέλουν τον σχηματισμό ή οδηγούν σε διάσπαση του βιοϋμενίου. Η δελμοπινόλη, επίσης, αναστέλει το σχηματισμό γλυκάνης από τον στρεπτόκοκκο mutants και μειώνει την σύνθεση οξέων από άλλα βακτήρια. Σκευάσματα δελμοπινόλης συγκέντρωσης 0,1% και 0,2% έχουν αξιολογηθεί κλινικά και φαίνεται να είναι αποτελεσματικά κατά του σχηματισμού της ΟΜΠ (Addy και συν. 2007). Μάλιστα τα σκευάσματα που περιέχουν δελμοπινόλη σε συγκέντρωση 0,2% έχουν εγκριθεί από την FDA (2005) για την αντιμετώπιση της ουλίτιδας (Imrey et al. 1994). Κυριότερες παρενέργειες είναι η χρώση των δοντιών, το παροδικό μούδιασμα του βλενογόννου και κυρίως της γλώσσας, καθώς και η αίσθηση καυσalgίας.

3.2.4.6. Απολυμαντικοί ή επιφανειοδραστικοί παράγοντες (detergents ή surfactants) (Lindhe και συν. 2015)

Ο σημαντικότερος και συχνότερα χρησιμοποιούμενος παράγοντας είναι το sodium lauryl sulfate (SLS). Παρουσιάζει ικανότητα σταδιακής απελευθέρωσης 5-7 ώρες. Εμφανίζει περιορισμένη αντιμικροβιακή και κατά του σχηματισμού της ΟΜΠ δράση. Βασικές παρενέργειες μετά την χρήση του παραπάνω παράγοντα, αναφέρονται αντιδράσεις υπερευαισθησίας, όπως χειλίτιδα, στοματίτιδα ή άφθες, καθώς και καυσalgία και αποφλοίωση του βλενογόννου. Κυκλοφορεί ως

συνοδευτικό σε διάφορα στοματικά διαλύματα και οδοντόκρεμες, αλλά δεν υπάρχει προϊόν που να το φέρει ως μεμονωμένο παράγοντα.

3.2.4.7. Φθοριούχες ενώσεις

Μια αντιπροσωπευτική ουσία είναι ο φθοριούχος κασσίτερος. Εμπεριέχεται σε διάφορα προϊόντα στοματικής υγιεινής, όπως οδοντόκρεμες, στοματικά διαλύματα και σωληνάρια γέλης. Ωστόσο λόγω της μη σταθερότητας που παρουσιάζει σε υδατικά διαλύματα, συνήθως παρασκευάζεται σε οδοντόπαστες (Miller και συν. 1969). Αποτελεσματικότερος έχει φανεί ότι είναι ο συνδυασμός του φθοριούχου κασσίτερου με φθοριοαμίνη, όπου ενισχύεται η επιμέρους βακτηριοκτόνος δράση των δύο ουσιών. Η φθοριοαμίνη ασκεί την αντιμικροβιακή δράση της μέσω αντιγλυκολυτικών διεργασιών. Η δράση των παραπάνω ουσιών μεγιστοποιείται όταν χρησιμοποιούνται σε μορφή οδοντόκρεμας, φθάνοντας ακόμη και τις 8 ώρες μετά την χρήση του σκευάσματος (Weiland και συν. 2008). Ωστόσο κλινικές μελέτες διάρκειας 6 μηνών έχουν δείξει, ότι το στοματικό διάλυμα είναι ικανό να μειώσει τα επίπεδα ΟΜΠ και φλεγμονής των ούλων, κάτι που από μόνη της η οδοντόπαστα δεν μπορεί να επιτύχει, ενώ και η συνδυασμένη εφαρμογή διαλύματος και οδοντόκρεμας δεν υπερτερεί της μονοθεραπείας με στοματικό διάλυμα. Βασική παρενέργεια των ουσιών αυτών είναι η χρώση των δοντιών (Paraskevas και συν. 2005).

3.2.4.8. Παράγοντες που απελευθερώνουν οξυγόνο

Οι κυριότεροι παράγοντες αυτής της κατηγορίας είναι το υπεροξείδιο του βορικού νατρίου (sodium peroxyborate), το υπεροξείδιο του ανθρακικού νατρίου (sodium peroxycarbonate) και το υπεροξείδιο του υδρογόνου (hydrogen peroxide). Διαθέτουν αντιμικροβιακή δράση και αναστέλουν τον σχηματισμό της ΟΜΠ (Moran και συν. 1995). Συγκεκριμένα το υπεροξείδιο του υδρογόνου έχει βρεθεί ότι μεσοπρόθεσμα (6 μήνες) οδηγεί σε σημαντική μείωση δεικτών φλεγμονής των ούλων (Hasturk και συν. 2004). Σε χαμηλές συγκεντρώσεις (< 1,5%) το υπεροξείδιο του υδρογόνου εμφανίζει σπάνια παρενέργειες, αλλά σε υψηλότερες συγκεντρώσεις μπορεί να προκαλέσει αφθώδη έλκη (Rees και Orth 1986).

3.2.4.9. Μεταλλικά άλατα

Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν διάφορα άλατα κυρίως του ψευδαργύρου. Ως μεμονωμένοι παράγοντες, έχουν μικρή επίδραση στην ΟΜΠ, αλλά ο συνδυασμός τους με άλλες δραστικές ουσίες βελτιώνει την ικανότητα σταδιακής τους απελευθέρωσης και τη δράση τους. Κυκλοφορούν σε σκευάσματα στοματικών διαλυμάτων μαζί με χλωρεξιδίνη, χλωριούχο κετυλπυριδίνιο, τρικλοζάνη, εξετιδίνη, κ.α. Τα διάφορα συνδυαστικά σκευάσματα είναι αποτελεσματικά στον έλεγχο της ΟΜΠ, την αντιμετώπιση της κακοσμίας του στόματος ακόμη και στην επούλωση στοματικών αφθών.

3.2.4.10. Σανγκουϊναρίνη

Η σανγκουϊναρίνη είναι αλκαλοειδές εκχύλισμα του φυτού *Sanguinaria Canadensis* και σε συνδυασμό με άλλα αλκαλοειδή έχει ενσωματωθεί σε διάφορα προϊόντα στοματικής υγιεινής. In vitro εμφανίζει μικρή βακτηριοκτόνο δράση (Shapiro και συν. 2002), ενώ αμφιλεγόμενα είναι τα ευρήματα των κλινικών μελετών ως προς την ικανότητά της να ελέγχει την ΟΜΠ (Moran και συν. 1988, Scherer και συν. 1998, Quirynen και συν. 1990). Η χρήση της ως αντισηπτικό διάλυμα κατά την μη χειρουργική φάση της περιοδοντικής θεραπείας, όπως και κατά τη φάση διατήρησης του θεραπευτικού αποτελέσματος, δεν έδειξε να βελτιώνει σημαντικά τους κλινικούς δείκτες στις 6 εβδομάδες παρακολούθησης (Cullinan και συν. 1997), ενώ η βραχύχρονη χορήγησή της (2 εβδομάδες) μπορεί να διατηρήσει το θεραπευτικό αποτέλεσμα (στους 3 μήνες παρακολούθησης) (Tenenbaum και συν. 1999). Η λήψη σκευασμάτων σανγκουϊναρίνης έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση λευκοπλακίας (Mascarenhas και συν. 2002).

3.2.4.11. Εξιτιδίνη (hexitidine)

Αποτελεί πυμιδινικό παράγωγο. Εμφανίζει αντιμικροβιακή δράση εναντίον Gram + και - μικροβίων αλλά και μυκήτων (*Candida albicans*). Ωστόσο φαίνεται ότι παρουσιάζει μικρή ικανότητα σταδιακής απελευθέρωσης, με την αντιμικροβιακή της δράση να μην διαρκεί πάνω από 90 λεπτά. Σε συστηματική ανασκόπηση, όπου συμπεριλήφθησαν 6 τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες μικρής διάρκειας (6 εβδομάδες), προέκυψαν ετερογενή αποτελέσματα ως προς την δράση της εξιτιδίνης

χωρίς να είναι σαφής η ικανότητά της να αναστέλει το σχηματισμό ΟΜΠ (Afennich και συν. 2011). Κυκλοφορεί σε διαλύματα συγκέντρωσης 0,1% και μπορεί να προκαλέσει σε χαμηλή συχνότητα χρώση των δοντιών, διάβρωση του στοματικού βλενογόννου και διόγκωση των παρωτίδων (Addy και Moran 1984, Yusof 1990; van der Weijden και συν. 2010).

3.2.4.12. Ιωδιούχος ποβιδόνη

Η ιωδιούχος ποβιδόνη εμφανίζει βακτηριοκτόνο δράση έναντι Gram + και - μικροοργανισμών. Η δράση της στηρίζεται στην οξείδωση των αμινο- και θειο-ομάδων που περιέχει στο μόριό της, σε αμινοξέα και νουκλεοτίδια, και στην αλληλεπίδρασή της με ακόρεστα λιπαρά οξέα της κυτταρικής μεμβράνης και των κυτταροπλασματικών οργανιδίων (Schreier και συν. 1997, Quirynen και συν. 2002). Σε in vitro πειράματα έχει φανεί, ότι είναι κυτταροτοξική για τα κερατινοκύτταρα και τις ινοβλάστες σε συγκεντρώσεις 250-500μg/ml (Niedner 1997). Στην κλινική πράξη χρησιμοποιείται με τη μορφή διαλύματος σε συγκεντρώσεις 1-10%. Σε συγκέντρωση 1% εμφανίζει ικανότητα σταδιακής απελευθέρωσης για μόλις 1 ώρα, και συνεπώς η δυνατότητά της να αναστέλει το σχηματισμό της ΟΜΠ είναι περιορισμένη (Addy και συν. 1977, Addy και Wrigth 1978). Η δράση της σε συνδυασμό με 1,5% υπεροξείδιο του υδρογόνου (συγκέντρωση ιωδιούχου ποβιδόνης 5%) έχει αξιολογηθεί σε μελέτες μικρής (Maruniak και συν. 1992) και μεγαλύτερης διάρκειας (6 μήνες) (Clark και συν. 1989), όπου τα συνδυαστικά σκευάσματα χρησιμοποιήθηκαν για στοματικές πλύσεις και υποουλικούς διακλυσμούς, οδηγώντας σε σημαντική μείωση της ουλίτιδας (Greenstein 1999).

Στην προσπάθεια αξιολόγησης της κλινικής σημασίας της χρήσης ιωδιούχου ποβιδόνης ως επιπρόσθετο μέσο στην μηχανική απομάκρυνση των εναποθέσεων τοπικού παράγοντα σε συνδυασμό με συσκευή υπερήχων στην θεραπεία προκεχωρημένης περιοδοντίτιδας βραδείας εξέλιξης, οι μελέτες έχουν καταλήξει σε αντιφατικά αποτελέσματα. Η προσθήκη ιωδιούχου ποβιδόνης 0,5% στη συσκευή υπερήχων οδήγησε σε ενθαρρυντικά αποτελέσματα, ιδιαίτερα σε θυλάκους με αρχικό βάθος 7mm (Rosling et al. 2001), ενώ σε μια άλλη πιο πρόσφατη μελέτη φάνηκε ότι η επιπρόσθετη χρήση της συγκεκριμένης ουσίας δεν προσέδωσε σημαντικότερο κλινικό όφελος στην μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία με συσκευή υπερήχων, έναντι της μηχανικής απομάκρυνσης των υπερ και υποουλικών τρυγικών εναποθέσεων ως μονοθεραπεία (Leonhardt και συν. 2006). Επιπλέον υπάρχουν μελέτες που έχουν δείξει, ότι οι διακλυσμοί των θυλάκων με ιωδιούχο ποβιδόνη σε συνδυασμό με την μηχανική απομάκρυνση του τοπικού παράγοντα μειώνουν αποτελεσματικά την ποσότητα των περιοδοντοπαθογόνων μικροβίων και επομένως συμβάλουν στον έλεγχο της περιοδοντικής νόσου (Rosling και συν. 2001, Hoang και συν. 2003). Η ιωδιούχος ποβιδόνη έχει επίσης χρησιμοποιηθεί στην θεραπεία της νεκρωτικής ουλίτιδας (Addy και Llewelyn 1978). Δεν έχουν αναφερθεί συγκεκριμένες πρενέργειες με την χρήση της συγκεκριμένης αντιμικροβιακής ουσίας, αλλά μπορεί να επηρεάσει την λειτουργία του θυρεοειδή αδένος και γι αυτό δεν θα πρέπει να χορηγείται σε άτομα που εμφανίζουν παθήσεις του θυρεοειδή.

3.2.4.13. Συνδυασμός αλκυλο διμεθυλο γλυκίνης και αλκυλο διμεθυλο αμινοξειδίου (C31G)

Οι ουσίες αυτές προέρχονται από λιπαρά οξέα ελαίων καρύδας. Σε αρκετές *in vitro* μελέτες έχει φανεί ότι ο παράγοντας C31G αναστέλει την βακτηριακή γλυκόλυση και ασκεί βακτηριοκτόνο δράση έναντι διαφόρων Gram + και – βακτηρίων αλλά εμποδίζει και την προσκόλληση κάποιων μικροοργανισμών, όπως διαφόρων στελεχών στρεπτόκοκκων (Corner και συν. 1988). Επίσης έχει φανεί ότι είναι αποτελεσματικό έναντι μυκήτων, όπως *Candida albicans*. Σε κλινική μελέτη των Corner και συν. 1990, φάνηκε ότι διαλύματα C31G συγκέντρωσης 0,2% και 0,5% οδήγησαν σε σημαντικά μεγαλύτερη μείωση του συνολικού μικροβιακού φορτίου σε δείγματα σάλιου, συγκριτικά με την χορήγηση διαλύματος αιθέριων ελαίων και την θεραπεία placebo, μέχρι και τρεις ώρες μετά την χορήγησή τους. Επίσης τα διαλύματα C31G με τις προαναφερόμενες συγκεντρώσεις ανέστειλαν την γλυκόλυση σιαλικών βακτηρίων μέχρι και 6 ώρες μετά την εφαρμογή τους. Οι Corner και συν. (1988), σε *in vitro* μελέτη, κατέληξαν πως διάλυμα C31G συγκέντρωσης 0,5% ήταν εξίσου αποτελεσματικό με διάλυμα χλωρεξιδίνης παρόμοιας συγκέντρωσης, αναφορικά με την μείωση των επιπέδων διαφόρων μικροβίων σε δείγματα σάλιου. Ωστόσο, όπως είναι γνωστό, η ικανότητα σταδιακής απελευθέρωσης μιας αντιμικροβιακής ουσίας στο στοματικό περιβάλλον αποτελεί σημαντική παράμετρο και κριτήριο αξιολόγησης της συνολικής αντιμικροβιακής της ισχύος και της ικανότητά της να αναστέλει τον σχηματισμό της ΟΜΠ. Τα ευρήματα μελετών αναφορικά με αυτήν την ιδιότητα του παράγοντα C31G είναι αντικρουόμενα, με τη μια πλευρά να αναφέρει ικανότητα σταδιακής

απελευθέρωσης μέχρι και 6 ώρες μετά την χορήγησή του, και την άλλη να υποστηρίζει ότι μετά τα 30 λεπτά και μέχρι τις πρώτες 7 ώρες παρουσιάζει σημαντικά μικρότερη ικανότητα σταδιακής απελευθέρωσης συγκριτικά με την χλωρεξιδίνη (Elworthy και συν. 1996). Τέλος ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι ο παράγοντας C31G παρουσιάζει την μέγιστη ανασταλτική του δράση έναντι Gram - βακτηρίων σε τιμή pH = 5,5, ενώ σε ουδέτερο pH πιθανώς η εξωτερική κυτταρική μεμβράνη αυτών των βακτηρίων λειτουργεί σαν φραγμός στη δράση του C31G (Corner και συν. 1988).

3.2.5 Σύγκριση αποτελεσματικότητας διαφόρων τοπικών αντισηπτικών παραγόντων στον έλεγχο της ΟΜΠ και της ουλίτιδας (Πίνακας 1.2)

Αντικρουόμενα είναι τα ευρήματα, όταν τα αιθέρια έλαια συγκρίνονται με την CHX, ως προς την κλινική τους αποτελεσματικότητα. Άλλες μελέτες, όπως αυτή των Bresch και συν. (1990), καταλήγουν ότι η CHX υπερέχει στην ικανότητα να διατηρεί χαμηλά τον δείκτη πλάκας και επομένως την υγεία των ιστών, ακόμη και μετά από διάστημα 3 εβδομάδων μη εφαρμογής διαδικασιών μηχανικής απομάκρυνσης της ΟΜΠ. Σε παρόμοια κατεύθυνση, οι Overholser και συν. (1990) συνέκριναν την κλινική αποτελεσματικότητα της CHX έναντι αυτής των αιθέριων ελαίων (Overholser και συν. 1990). Σε αυτή την τυχαιοποιημένη διπλά τυφλή κλινική μελέτη διάρκειας 6 μηνών, συμπεριλήφθησαν 124 ενήλικες με ουλίτιδα. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες, όπου η μία έλαβε στοματικό διάλυμα CHX, η άλλη διάλυμα αιθέριων ελαίων και η τρίτη διάλυμα placebo (διάλυμα υδραλκοόλης). Πέρα από το στοματικό διάλυμα, όλοι οι ασθενείς πραγματοποιούσαν μηχανική απομάκρυνση

της ΟΜΠ χρησιμοποιώντας την ίδια οδοντόπαστα. Τα αποτελέσματα 6 μήνες μετά, έδειξαν ότι η ομάδα των αιθέριων ελαίων εμφάνιζε κατά 36,1% λιγότερη ΟΜΠ έναντι της ομάδας placebo, ενώ η αντίστοιχη διαφορά μεταξύ της ομάδας της CHX και της ομάδας placebo ήταν 50,3% υπέρ της πρώτης. Αναφορικά με την ουλική φλεγμονή, τα αιθέρια έλαια οδήγησαν σε κατά 35,9% μεγαλύτερη μείωση της ουλίτιδας έναντι του διαλύματος placebo, ενώ η αντίστοιχη διαφορά μεταξύ και placebo CHX ήταν 30,5%. Επιπλέον, οι ασθενείς που χρησιμοποίησαν τα αιθέρια έλαια δεν εμφάνισαν χρωστικές και υπερουλική τρυγία στις οδοντικές τους επιφάνειες, ενώ η ομάδα που έλαβε CHX παρουσίασε σημαντική αύξηση και των δύο αυτών παραμέτρων. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα, πως αν και η CHX φάνηκε να ελέγχει καλύτερα τον σχηματισμό της ΟΜΠ, εν τέλει και τα δύο διαλύματα ήταν αποτελεσματικά στον έλεγχο της ουλίτιδας, με τα αιθέρια έλαια να παρουσιάζουν λιγότερες παρενέργειες. Από την άλλη πλευρά, σε μελέτη των Charles και συν. (2004), όπου πραγματοποιήθηκε άμεση σύγκριση διαλύματος αιθέριων ελαίων με διάλυμα CHX για διάστημα 6 μηνών, φάνηκε ότι και τα δύο σκευάσματα παρουσίαζαν παρόμοια αποτελεσματικότητα στα επίπεδα μείωσης της ΟΜΠ και της ουλίτιδας, με την διαφορά ότι η εναπόθεση τρυγίας και η χρώση των δοντιών ήταν πιο έντονη για την ομάδα της CHX. Οι ίδιοι συγγραφείς εξέφρασαν την άποψη, ότι η CHX θα πρέπει να συστήνεται σε περιπτώσεις, όπου ο βραχυπρόθεσμος έλεγχος της ΟΜΠ είναι σημαντικός και η εφαρμογή της δέουσας καθημερινής στοματικής υγιεινής είναι δύσκολη, όπως αμέσως μετά από διάφορες χειρουργικές επεμβάσεις για την αποκατάσταση περιοδοντικών βλαβών. Τα αιθέρια έλαια θα μπορούσαν να παίξουν ένα σημαντικό ρόλο στον μακρόχρονο έλεγχο της

ΟΜΠ και της φλεγμονής των ούλων, όπως π.χ. κατά τη φάση διατήρησης του θεραπευτικού αποτελέσματος.

Μια άλλη ουσία που έχει μελετηθεί είναι το χλωριούχο κετυλπυριδίνιο (CPC). Ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα είναι η συστηματική ανασκόπηση του Gunsolley (2006), όπου έγινε προσπάθεια σύγκρισης της αποτελεσματικότητας τριών διαφορετικών αντιμικροβιακών παραγόντων, της CHX, των αιθέριων ελαίων και του CPC, μέσω μετανάλυσης μελετών που διερευνούσαν την αποτελεσματικότητα της εκάστοτε δραστικής ουσίας στον έλεγχο της ΟΜΠ και της ουλίτιδας. Συνολικά συμπεριλήφθησαν 6 μελέτες που αξιολογούσαν διαλύματα CHX 0,12%, 25 μελέτες με αιθέρια έλαια και 7 μελέτες με CPC. Όλες οι κλινικές μελέτες είχαν ομάδα placebo και ελάχιστο χρόνο παρακολούθησης τους 6 μήνες. Η μετανάλυση έδειξε ότι η μέση μείωση του δείκτη πλάκας ήταν 40,4% για την CHX, 27% για τα αιθέρια έλαια και 15,4% για το CPC, ενώ οι αντίστοιχες μέσες μειώσεις του ουλικού δείκτη ήταν 28,7% για την CHX, 18,2% για τα αιθέρια έλαια και 13,4% για το CPC (τα ποσοστά αυτά αποτελούν τον μέσο όρο των διαφορών που προέκυψαν μεταξύ των ομάδων που έλαβαν την εκάστοτε δραστική ουσία και των ομάδων placebo, από όλες τις συμπεριλαμβανόμενες μελέτες).

Οι Harper και συν. (1996) συνέκριναν στην ίδια μελέτη, την αποτελεσματικότητα στοματικού διαλύματος CHX 0,12% έναντι αυτής διαλύματος CPC 0,05% στον έλεγχο της ΟΜΠ. Όλοι οι ασθενείς υποβάλλονταν σε αποτρύγωση και στίλβωση του οδοντικού τους φραγμού και στη συνέχεια ελάμβαναν το ένα σκεύασμα για 4 ημέρες, χωρίς να εφαρμόζουν οποιαδήποτε άλλη διαδικασία στοματικής υγιεινής. Την 5^η ημέρα εξετάζονταν και καταγραφόταν ο δείκτης πλάκας (δείκτης Quigley &

Hein). Στη συνέχεια, και για τις επόμενες 2,5 ημέρες, πραγματοποιούσαν τις συνηθισμένες διαδικασίες στοματικής τους υγιεινής και έπειτα, αφού πραγματοποιούνταν εκ νέου αποτρίγωση και στίλβωση, ελάμβαναν το δεύτερο σκεύασμα ακριβώς όπως και στην πρώτη περίοδο της μελέτης. Τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά σημαντικά μικρότερο δείκτη πλάκας μετά την χρήση της CHX συγκριτικά με το CPC (1,71 και 2,25 αντίστοιχα).

Εκτός από το CPC, έχει μελετηθεί και μια άλλη ουσία που ανήκει στις τεταρτοταγείς ενώσεις της αμμωνίας, το χλωριούχο βενζυλαμμώνιο. Οι Saxer και συν. (1982) συνέκριναν την αποτελεσματικότητα του προαναφερόμενου παράγοντα με αυτήν της CHX, χρησιμοποιώντας ως διάλυμα ελέγχου ένα υδατικό διάλυμα υδροχλωρικής κινίνης, αλκοόλης και σουκρόζης. Στη μελέτη συμμετείχαν 18 εθελοντές, κάθε ένας εκ των οποίων έλαβε διαδοχικά τα τρία διαφορετικά στοματικά διαλύματα για 7 ημέρες, με μεσοδιάστημα αποχής από το ένα στοματικό διάλυμα στο άλλο τις 7 ημέρες. Στην αρχή και στο τέλος της κάθε περιόδου πραγματοποιούνταν στίλβωση των δοντιών, ενώ στα μεσοδιαστήματα αποχής από τα στοματικά διαλύματα οι ασθενείς πραγματοποιούσαν τις συνηθισμένες διαδικασίες στοματικής τους υγιεινής. Οι δείκτες που καταγράφονταν σε κάθε περίοδο παρακολούθησης είναι ο δείκτης πλάκας (Loe 1967), ο δείκτης αιμορραγίας των μεσοδόντιων θηλών (Saxer και Muhlemann 1975) και ο δείκτης πλάκας της ουλοδοντικής σχισμής (Muhlemann και Strub 1975). Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική υπεροχή και των δύο διαφορετικών δραστικών ουσιών στον έλεγχο της ΟΜΠ, συγκριτικά με το διάλυμα ελέγχου, αλλά η CHX ήταν σημαντικά πιο αποτελεσματική έναντι του χλωριούχου βενζυλαμμωνίου (μετά από 7 ημέρες η μέση αύξηση του δείκτη πλάκας, συγκριτικά

με την αρχή, ήταν 0,32 και 0,54 για την CHX και το βενζυλαμμώνιο αντίστοιχα, ενώ οι αντίστοιχες αυξήσεις του δείκτη πλάκας της ουλοδοντικής σχισμής ήταν 17% και 37,5% αντίστοιχα). Ωστόσο, αναφορικά με την αιμορραγία των μεσοδόντιων θηλών, δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών ομάδων, αν και αξίζει να σημειωθεί ότι στην ομάδα του βενζυλαμμωνίου και του διαλύματος ελέγχου καταγράφηκε μια μικρή αύξηση της αιμορραγίας συγκριτικά με τις αρχικές μετρήσεις (baseline), ενώ στην ομάδα της CHX σημειώθηκε μικρή μείωση, στατιστικά μη σημαντική.

Οι Auschill και συν. (2005) συνέκριναν την αποτελεσματικότητα ενός στοματικού διαλύματος φθοριοαμίνης / φθοριούχου κασσίτερου με αυτήν της CHX. Στη μελέτη αυτή συμπεριλήφθησαν 7 εθελοντές, οι οποίοι έλαβαν διαδοχικά με μεσοδιαστήματα αποχής τα δύο προαναφερόμενα στοματικά διαλύματα, καθώς και νερό, το οποίο αποτελούσε την αρνητική ομάδα ελέγχου. Πρωτότυπο στη μελέτη αυτή, ήταν η κατασκευή εξατομικευμένου ακρυλικού νάρθηκα, τον οποίο κάθε ασθενής έφερε στην άνω γνάθο, και ο οποίος ερχόταν σε άμεση επαφή με τις υπερώιες και παρειακές επιφάνειες των δοντιών, αφήνοντας όμως ελεύθερες τις μεσοδόντιες επιφάνειες, επιτρέποντας έτσι τον σχηματισμό του βιοϋμενίου στις όμορες επιφάνειες των δοντιών και ταυτόχρονα αποτρέποντας την ενδεχόμενη διατάραξη της ΟΜΠ από επαφή των παρειών ή/και της γλώσσας. Η χορήγηση κάθε στοματικού διαλύματος πραγματοποιούνταν για 48 ώρες, με συχνότητα εφαρμογής δύο φορές την ημέρα. Το μεσοδιάστημα αποχής μεταξύ των στοματικών διαλυμάτων ήταν 14 ημέρες. Στο τέλος κάθε πειραματικής περιόδου (μετά από 48 ώρες) αφαιρούνταν ο ακρυλικός νάρθηκας και συλλεγόταν η ΟΜΠ, η οποία

βαφόνταν με ειδικό φθορίζων αποκαλυπτικό διάλυμα, το οποίο χρωμάτιζε με πράσινο τα μεταβολικά ενεργά βακτήρια και με κόκκινο τους νεκρούς μικροοργανισμούς. Στη συνέχεια γινόταν αξιολόγηση κάθε δείγματος σε ειδικό θάλαμο με την βοήθεια μικροσκοπίου με ακτινοβολία laser και λαμβάνονταν ψηφιακές εικόνες, οι οποίες μετά από επεξεργασία σε ειδικό πρόγραμμα ανάλυσης εικόνων επέτρεπαν τον επί τις % προσδιορισμό των ζωντανών μικροβίων σε κάθε δείγμα βιοϋμενίου, καθώς και τον προσδιορισμό του πάχους του βιοϋμενίου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το μέσο πάχος του βιοϋμενίου ήταν 8,4μm, 15,7μm και 76,7μm, μετά την εφαρμογή φθοριοαμίνης / φθοριούχου κασσίτερου, CHX και νερού, αντίστοιχα. Επιπλέον η μέση εκατοστιαία μείωση των ζωντανών μικροβίων στα δείγματα ήταν 42,8% για την χλωρεξιδίνη και 42,2% για το άλλο στοματικό διάλυμα. Οι διαφορές μεταξύ των δύο διαλυμάτων, ως προς τις εξεταζόμενες μεταβλητές, δεν ήταν στατιστικά σημαντικές, οδηγώντας στο συμπέρασμα πως το σκεύασμα των φθοριούχων ενώσεων παρουσιάζει εξίσου καλή αντιβακτηριακή δράση και ικανότητα μείωσης της συγκέντρωσης ΟΜΠ με την CHX.

Αναφορικά με την αποτελεσματικότητα των παραγόντων που απελευθερώνουν οξυγόνο, οι Gusberti και συν. (1988) συνέκριναν το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂) με την CHX. Στη μελέτη τους συμπεριέλαβαν 32 άτομα, τα οποία χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες. Κάθε ομάδα έλαβε διαφορετικό στοματικό διάλυμα (0,12% CHX, 1% H₂O₂ και αλκοολούχο υδατικό διάλυμα ως placebo), το οποίο χρησιμοποιούνταν ως μονοθεραπεία για συνολικό διάστημα 21 ημερών. Οι ασθενείς στο διάστημα αυτό απείχαν από οποιαδήποτε άλλη διαδικασία στοματικής υγιεινής. Οι παράμετροι που αξιολογήθηκαν ήταν ο δείκτης πλάκας

(Silness & Loe 1964) και ο ουλικός δείκτης (Loe & Silness 1963), τόσο αμέσως πριν την έναρξη της μελέτης, όσο και στις 14 και 21 ημέρες, ενώ παράλληλα στις 21 ημέρες ελήφθησαν δείγματα ΟΜΠ υπερουλικά και αντίστοιχα με την παρυφή των ούλων για καλλιέργεια και ανίχνευση συγκεκριμένων περιοδοντοπαθογόνων. Στο τέλος της περιόδου παρακολούθησης φάνηκε, ότι η ομάδα που χρησιμοποίησε CHX παρουσίασε 95% μείωση της επίπτωσης της ουλίτιδας, 100% μείωση των επιφανειών με αιμορραγία στην ανίχνευση και 80% μείωση του δείκτη πλάκας, συγκριτικά με την ομάδα placebo, ενώ οι αντίστοιχες μειώσεις για την ομάδα που έλαβε H₂O₂ ήταν 15%, 28% και μη σημαντική μείωση του δείκτη πλάκας. Αναφορικά με την αντιμικροβιακή δράση των εξεταζόμενων ουσιών, η CHX μείωσε σε σημαντικό βαθμό τόσο τα δυνητικά όσο και τα αυστηρά αναερόβια μικρόβια, ενώ σε αντίθεση, το H₂O₂ δεν οδήγησε σε σημαντική μείωση ούτε της συνολικής μικροβιακής χλωρίδας, αλλά ούτε και των δυνητικά αναερόβιων βακτηριακών ειδών, όπως οι στρεπτόκοκκοι και οι ακτινομύκητες. Τέλος, η θεραπεία με H₂O₂ φάνηκε σε σημαντικό βαθμό λιγότερο αποτελεσματική συγκριτικά με την CHX, στη μείωση των αυστηρώς αναερόβιων μικροβίων, όπως *Fusobacterium* και *Veillonella*.

Οι Moran και συν. (1995) συνέκριναν την αποτελεσματικότητα δύο διαφορετικών οξυγονούχων ενώσεων, του υπεροξειδίου του βορικού νατρίου (sodium peroxyborate) και του υπεροξειδίου του ανθρακικού νατρίου (sodium peroxycarbonate) συγκριτικά με την CHX και ένα διάλυμα placebo (φυσιολογικός ορός). Στη μελέτη συμμετείχαν 16 εθελοντές, οι οποίοι έλαβαν διαδοχικά και τα 4 στοματικά διαλύματα. Η κάθε πειραματική περίοδος διαρκούσε 4 ημέρες, όπου οι ασθενείς απείχαν από οποιαδήποτε άλλη διαδικασία στοματικής υγιεινής. Το

μεσοδιάστημα αποχής από το ένα στο άλλο στοματικό διάλυμα ήταν 2,5 ημέρες. Στο τέλος κάθε πειραματικής περιόδου (την 5^η ημέρα) πραγματοποιούνταν καταγραφή του δείκτη πλάκας (Quigley & Hein 1962) και ενός δείκτη που αξιολογεί το μέγεθος της επιφάνειας, που έχει καλυφθεί από οδοντική πλάκα (Addy και συν. 1983). Παράλληλα, 16 διαφορετικοί ασθενείς, με παρόμοια χαρακτηριστικά με εκείνους της πρώτης μελέτης, χωρίστηκαν τυχαία σε 4 ομάδες και ακολουθώντας το ίδιο πειραματικό πρωτόκολλο έλαβαν από ένα μόνο στοματικό διάλυμα (εκ των 4 που αξιολογήθηκαν και στην πρώτη μελέτη). Σε αυτή την δεύτερη παράλληλη μελέτη πάρθηκαν δείγματα σάλιου αμέσως πριν, καθώς και 30, 60, 180, 300 και 420 λεπτά μετά την πλύση με το εκάστοτε στοματικό διάλυμα για καλλιέργεια διαφόρων περιοδοντοπαθογόνων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η CHX ήταν σημαντικά ανώτερη στην αναστολή της συγκέντρωσης ΟΜΠ συγκριτικά με τα άλλα τρία στοματικά διαλύματα. Τόσο η CHX όσο και τα άλλα δύο στοματικά διαλύματα υπερέιχαν στον έλεγχο της ΟΜΠ έναντι του διαλύματος placebo. Αναφορικά με την επιφάνεια που είχε καλυφθεί από ΟΜΠ, το διάλυμα υπεροξειδίου του ανθρακικού νατρίου υπερτερούσε του άλλου οξυγονόχου σκευάσματος, αλλά και τα δύο ήταν υποδεέστερα της CHX. Σε επίπεδο ικανότητας των εξεταζόμενων ουσιών να μειώνουν τα επίπεδα μικροβίων στο σάλιο, η CHX οδήγησε σε σημαντικά μεγαλύτερη μείωση του μικροβιακού φορτίου έναντι του φυσιολογικού ορού μέχρι και 7 ώρες μετά την λήψη της, ενώ τα δύο οξυγονούχα σκευάσματα υπερτερούσαν του φυσιολογικού ορού μέχρι τις 3 πρώτες ώρες, και από εκεί και πέρα δεν είχαν σχεδόν καμία διαφορά με το διάλυμα placebo. Τα ευρήματα υποδηλώνουν, πως οι παράγοντες που απελευθερώνουν οξυγόνο διαθέτουν κάποια έμμεση αντιβακτηριακή δράση, αλλά σαφώς κατώτερη της CHX.

Όσον αφορά την αποτελεσματικότητα των φαινόλων με κύριο εκπρόσωπο την τρικλοζάνη, οι Moran και συν. (1991) συνέκριναν την αποτελεσματικότητα ενός διαλύματος φαινόλης στον έλεγχο της ΟΜΠ και της ουλίτιδας, συγκριτικά με αυτήν της CHX. Στη μελέτη αυτή συμπεριλήφθησαν 15 εθελοντές, οι οποίοι ήταν περιοδοντικά υγιείς και εμφάνιζαν υψηλό επίπεδο στοματικής υγιεινής. Κάθε ασθενής έλαβε με τυχαίο τρόπο, διαδοχικά, τρία διαφορετικά στοματικά διαλύματα, ένα με CHX, ένα με φαινόλη και ένα διάλυμα φυσιολογικού ορού (διάλυμα placebo). Κάθε πειραματική περίοδος είχε διάρκεια 19 ημέρες, όπου οι ασθενείς χρησιμοποιούσαν μόνο το χορηγούμενο στοματικό διάλυμα, σύμφωνα με τις οδηγίες, και απέχαν από οποιαδήποτε άλλη διαδικασία στοματικής υγιεινής. Το μεσοδιάστημα αποχής μεταξύ των πειραματικών περιόδων ήταν 21 ημέρες. Οι βασικές παράμετροι που αξιολογήθηκαν ήταν ο δείκτης πλάκας, το μέγεθος της οδοντικής επιφάνειας που είχε καλυφθεί από ΟΜΠ, ο ουλικός δείκτης και η χρώση των δοντιών. Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών διαλυμάτων, ως προς τον δείκτη πλάκας, με την χαμηλότερη τιμή να καταγράφεται στην ομάδα της CHX και την μεγαλύτερη στην ομάδα placebo. Αναφορικά με το μέγεθος της οδοντικής επιφάνειας που είχε καλυφθεί από ΟΜΠ, η τιμή ήταν τριπλάσια για την ομάδα της φαινόλης και εξαπλάσια για την ομάδα placebo συγκριτικά με την ομάδα της CHX. Η χαμηλότερη τιμή ουλικού δείκτη καταγράφηκε στην ομάδα της CHX, αλλά οι διαφορές μεταξύ των τριών ομάδων δεν ήταν στατιστικά σημαντικές. Τέλος, η πρόκληση χρωστικών στα δόντια ήταν σημαντικά μικρότερη στην ομάδα του φυσιολογικού ορού, αλλά δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων της CHX και της φαινόλης. Οι ερευνητές κατέληξαν

στο συμπέρασμα ότι η CHX πλεονεκτεί των φαινομένων στη διατήρηση της στοματικής υγείας.

Ένας ακόμη αντιμικροβιακός παράγοντας, που δεν έχει μελετηθεί εκτενώς, είναι ο συνδυασμός αλκυλο διμεθυλο γλυκίνης και αλκυλο διμεθυλο αμινοξειδίου (C31G). Οι Renton-Harper και συν. (1996) συνέκριναν την αποτελεσματικότητα του παράγοντα C31G με αυτήν της τρικλοζάνης (φαινόλη), του CPC, της CHX και του φυσιολογικού ορού (διάλυμα placebo), στον έλεγχο της ΟΜΠ. Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 20 εθελοντές, οι οποίοι σταδιακά και με τυχαίο τρόπο έλαβαν τα πέντε προαναφερόμενα στοματικά διαλύματα. Όλοι οι ασθενείς υποβάλλονταν σε αποτρίγωση και στίλβωση του οδοντικού τους φραγμού και στη συνέχεια ελάμβαναν το ένα σκεύασμα για 4 ημέρες, χωρίς να εφαρμόζουν οποιαδήποτε άλλη διαδικασία στοματικής υγιεινής. Την 5^η ημέρα εξετάζονταν και καταγραφόταν ο δείκτης πλάκας (δείκτης Quigley & Hein 1962) και ένας δείκτης αξιολόγησης της έκτασης της οδοντικής επιφάνειας που είχε καλυφθεί από ΟΜΠ (Addy και συν. 1983). Στη συνέχεια, και για τις επόμενες 2,5 ημέρες, πραγματοποιούσαν τις συνηθισμένες διαδικασίες στοματικής τους υγιεινής και έπειτα, αφού πραγματοποιούνταν εκ νέου αποτρίγωση και στίλβωση, ελάμβαναν το επόμενο σκεύασμα, με το ίδιο πειραματικό πρωτόκολλο, όπως και στην πρώτη περίοδο της μελέτης. Τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά σημαντικά μικρότερο δείκτη πλάκας μετά την χρήση της CHX συγκριτικά με όλα τα υπόλοιπα στοματικά διαλύματα. Συγκεκριμένα οι τιμές του δείκτη πλάκας ήταν 1,71 για την χλωρεξιδίνη, 2,25 για το CPC, 2,31 για την τρικλοζάνη, 2,41 για το C31G και 2,70 για τον φυσιολογικό ορό, ενώ οι αντίστοιχες τιμές για την έκταση της οδοντικής επιφάνειας που είχε

καλυφθεί από ΟΜΠ ήταν 0,31 (CHX), 0,77 (τρικλοζάνη), 0,79 (CPC), 0,92 (C31G) και 1,29 (φυσιολογικός ορός). Οι ερευνητές, ερμηνεύοντας τα αποτελέσματα, συμπέραναν ότι το CPC είναι περίπου το ίδιο αποτελεσματικό με την τρικλοζάνη, ενώ και τα δύο αυτά στοματικά διαλύματα υπερτερούν σημαντικά του C31G, το οποίο παρουσίασε την μικρότερη αποτελεσματικότητα στον έλεγχο της ΟΜΠ, όντας σημαντικά αποτελεσματικότερο μόνο έναντι του φυσιολογικού ορού. Επιπλέον η μεγαλύτερη διαφορά καταγράφηκε μεταξύ της CHX και του C31G, όπου το τελευταίο βρέθηκε να είναι κατά 70% λιγότερο αποτελεσματικό από την CHX.

3.2.6 Αξιολόγηση αποτελεσματικότητας CHX στον έλεγχο της ΟΜΠ και την ιστική επούλωση μετά από χειρουργική του περιοδοντίου (Πίνακας 1.3)

3.2.6.1 Σε μορφή διαλύματος

Η διατήρηση της χειρουργημένης περιοχής ελεύθερης, κατά το δυνατόν, μικροβίων αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την ομαλή έκβαση της επούλωσης των ιστών κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο αλλά και για την μακροπρόθεσμη επιτυχία της εκάστοτε χειρουργικής επέμβασης. Για τον λόγο αυτό έχουν γίνει αρκετές προσπάθειες αξιολόγησης της δυνατότητας διαφόρων αντισηπτικών – αντιμικροβιακών παραγόντων να διατηρούν χαμηλά επίπεδα ΟΜΠ, ιδιαίτερα κατά την αρχική μετεγχειρητική περίοδο που δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν μηχανικά μέσα στοματικής υγιεινής.

Η αντιμικροβιακή ουσία που έχει διερευνηθεί περισσότερο και αποτελή χρυσό κανόνα στην χειρουργική του περιοδοντίου είναι η CHX. Ήδη, το 1983, οι Westfelt

και συν., μετά από κλασική χειρουργική του περιοδοντίου με εφαρμογή κρημνού Widman και οστεοπλαστική, συνέκριναν την χρήση στοματικού διαλύματος CHX 0,2% με την μηχανική απομάκρυνση των υπερουλικών εναποθέσεων στο οδοντιατρείο για τους πρώτους 6 μετεγχειρητικούς μήνες. Η μια ομάδα χρησιμοποιούσε ως μέσο ελέγχου της ΟΜΠ αποκλειστικά στοματικό διάλυμα CHX 0,2%, κάνοντας πλύσεις δύο φορές την ημέρα για ένα λεπτό, ενώ στην άλλη ομάδα πραγματοποιούνταν μηχανική απομάκρυνση της ΟΜΠ κάθε 2 εβδομάδες από τους ερευνητές. Οι κλινικές μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στους 6, 12 και 24 μήνες μετά την χειρουργική του περιοδοντίου. Τα αποτελέσματα έδειξαν υπεροχή της μηχανικής απομάκρυνσης της ΟΜΠ στο οδοντιατρείο έναντι της χρήσης του στοματικού διαλύματος σε όλες τις κλινικές παραμέτρους που αξιολογήθηκαν (δείκτης πλάκας, ουλικός δείκτης, απώλεια κλινικής πρόσφυσης, βάθος περιοδοντικού θυλάκου), με τις διαφορές όμως να είναι μικρές και σχεδόν μηδενικές 24 μήνες μετά, οδηγώντας στο συμπέρασμα πως η χρήση στοματικού διαλύματος CHX μπορεί να αντικαταστήσει την χρήση μηχανικών μέσων κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο.

Οι Sanz και συν. (1989) αξιολόγησαν την κλινική αποτελεσματικότητα στοματικού διαλύματος CHX 0,12% για τις πρώτες 6 εβδομάδες μετά από την εφαρμογή κλασικής χειρουργικής του περιοδοντίου. Στη μελέτη συμπεριλήφθησαν 40 ασθενείς, που χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες. Και στις δύο ομάδες τοποθετήθηκε χειρουργική κονία στην περιοχή της επέμβασης και παράλληλα δόθηκαν οδηγίες, έτσι ώστε η μια ομάδα χρησιμοποιούσε CHX 0,12% δύο φορές την ημέρα, ενώ η άλλη διάλυμα placebo. Η ομάδα που έκανε πλύσεις με CHX

παρουσίασε κατά 54,5% μικρότερο δείκτη πλάκας και κατά 40% χαμηλότερο ουλικό δείκτη συγκριτικά με την ομάδα placebo, 6 εβδομάδες μετά την χειρουργική θεραπεία. Επιπλέον ο ρυθμός επιθηλιοποίησης του τραύματος ήταν ταχύτερος στην ομάδα της CHX, αλλά η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

3.2.6.2 Σε μορφή γέλης

Η αποτελεσματικότητα της CHX στον μετεγχειρητικό έλεγχο της ΟΜΠ, πέρα από την εφαρμογή της σε μορφή στοματικού διαλύματος, έχει αξιολογηθεί και σε άλλες μορφές. Οι Bakaeen & Strahan (1980) διεξήγαγαν μια κλινική μελέτη με σχεδιασμό split-mouth σε 15 ασθενείς. Κάθε ασθενής έλαβε δύο χειρουργικές περιοδοντικές επεμβάσεις (αφαιρετικές τομές και οστεοπλαστική) στην άνω γνάθο με μεσοδιάστημα μεταξύ των επεμβάσεων ένα μήνα. Στη μια πλευρά χορηγήθηκε γέλη CHX 1%, η οποία εφαρμοζόταν στην χειρουργημένη περιοχή με οδοντόβουρτσα για τουλάχιστον ένα λεπτό και για συνολικό διάστημα δύο εβδομάδων. Στην άλλη πλευρά χορηγήθηκε γέλη placebo με παρόμοιες οδηγίες εφαρμογής. Μετά την πρώτη μετεγχειρητική εβδομάδα, και στις δύο περιπτώσεις, οι ασθενείς έλαβαν στίλβωση και κατόπιν συνέχισαν την εφαρμογή της γέλης για ακόμη μία εβδομάδα. Στο τέλος της περιόδου ελέγχου καταγράφηκαν χαμηλότερες τιμές δείκτη πλάκας, ουλικού δείκτη και ροής υγρού από την ουλοδοντική σχισμή, αλλά οι διαφορές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές. Ωστόσο στην περιοχή που εφαρμόστηκε CHX παρατηρήθηκε σημαντικά μικρότερο οίδημα και οι ασθενείς ανέφεραν λιγότερο πόνο

3.2.6.3 Σε μορφή εναιωρήματος (spray)

Οι Francetti και συν. (2000) συνέκριναν την εφαρμογή CHX σε μορφή στοματικού διαλύματος και σε μορφή spray μετά από χειρουργική του περιοδοντίου. Στην μελέτη συμπεριλήφθησαν 40 άτομα, τα οποία χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, και έλαβαν διαφορετικές επεμβάσεις συμπεριλαμβανομένων ακρορριζικά μετατοπιζόμενου κρημνού και μυλικά μετατοπιζόμενου κρημνού σε συνδυασμό ή όχι με μοσχεύματα μαλακών ιστών. Στη μια ομάδα χορηγήθηκε στοματικό διάλυμα CHX 0,12% δύο φορές την ημέρα για ένα λεπτό, ενώ στην άλλη spray CHX 0,2% δύο φορές την ημέρα για τοπική εφαρμογή μόνο στην περιοχή της επέμβασης, για τις πρώτες 14 μετεγχειρητικές ημέρες. Ο δείκτης πλάκας δεν εμφάνισε σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων τόσο την 7^η όσο και την 14^η μετεγχειρητική ημέρα. Επίσης, στις 14 ημέρες δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων, ως προς τον ουλικό δείκτη. Σημαντική διαφορά καταγράφηκε ως προς τον δείκτη χρώσης των δοντιών, που ήταν σημαντικά μεγαλύτερος στην ομάδα του στοματικού διαλύματος, τόσο στα δόντια της περιοχής της επέμβασης όσο και στον υπόλοιπο φραγμό, και στα δύο χρονικά σημεία της περιόδου παρακολούθησης (7 και 14 ημέρες).

3.2.6.4 Σκευάσματα CHX σε συνδυασμό με ουσίες κατά της πρόκλησης χρωστικών

Όπως έχει προαναφερθεί η CHX παρουσιάζει δύο βασικές συχνές παρενέργειες, που είναι η προσωρινή διαταραχή της αίσθησης της γεύσης και οι κιτρινο - καφέ δυσχρωμίες στις οδοντικές επιφάνειες, στη ραχιαία επιφάνεια της γλώσσας και στις

επιφάνειες των προσθετικών αποκαταστάσεων. Έτσι έχουν γίνει αρκετές προσπάθειες να παρασκευαστούν προϊόντα CHX με επιπρόσθετες ουσίες, οι οποίες στοχεύουν κυρίως στην ελάττωση της πρόκλησης χρωστικών, όπως το υπεροξειδίο του βορίου, η πολυβινυλοπυρρολιδόνη, το μεταδιθειώδες νάτριο ή το ασκορβικό οξύ. Ωστόσο το ερώτημα που τίθεται είναι κατά πόσο τα συνδυαστικά αυτά σκευάσματα είναι εξίσου αποτελεσματικά με τα κλασικά διαλύματα CHX.

Οι Cortellini και συν. (2008) συνέκριναν μετεγχειρητικά δύο διαφορετικά σκευάσματα CHX συγκέντρωσης 0,2%, χωρίς αλκοόλη, όπου στο ένα είχαν προστεθεί οι ουσίες μεταδιθειώδες νάτριο και ασκορβικό οξύ, ως μέσα μείωσης της χρωμογόνου δράσης της CHX. Στη μελέτη συμμετείχαν 48 ασθενείς, οι οποίοι έλαβαν κλασική χειρουργική του περιοδοντίου για εξάλειψη υπολειμματικών θυλάκων. Η μελέτη είχε διάρκεια συνολικά δύο εβδομάδες, όπου οι ασθενείς απείχαν από οποιαδήποτε είδος μηχανικής απομάκρυνσης της ΟΜΠ και χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, λαμβάνοντας ένα από τα δύο υπό αξιολόγηση σκευάσματα. Την πρώτη μετεγχειρητική εβδομάδα χρησιμοποιούσαν το ένα σκεύασμα, ενώ την 7^η μετεγχειρητική ημέρα πραγματοποιούνταν αφαίρεση των ραμμάτων και στίλβωση της περιοχής, και έπειτα χορήγηση του δεύτερου σκευάσματος για μία ακόμη εβδομάδα, έτσι ώστε κάθε ασθενής να έχει λάβει και τα δύο σκευάσματα. Οι παράμετροι που αξιολογήθηκαν ήταν η χρώση των οδοντικών επιφανειών (δείκτης χρωστικών Lobene 1968), η ύπαρξη φλεγμονής γύρω από τα ράμματα, οιδήματος στα ούλα και η ύπαρξη κοκκιώδους ιστού στην χειρουργημένη περιοχή, καθώς και η ανεκτικότητα των ασθενών στη χρήση των δύο σκευασμάτων, με την βοήθεια της κλίμακας VAS. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν

υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο σκευασμάτων ως προς τις ιστικές παραμέτρους, ενώ το σκεύασμα με τις αντιχρωμογόνες ουσίες οδήγησε σε σημαντικά μικρότερη δημιουργία χρωστικών στις οδοντικές επιφάνειες (κοπτικά, όμορα και αντίστοιχα με την ουλική παρυφή). Μάλιστα οι περισσότεροι ασθενείς ανέφεραν μικρότερες διαταραχές στη γεύση, στην αίσθηση του αλμυρού και στον ερεθισμό των μαλακών ιστών μετά από την χρήση του σκευάσματος με τις αντιχρωμογόνες ουσίες.

Σε παρόμοια κατεύθυνση οι Duss και συν. (2010) συνέκριναν την αποτελεσματικότητα δύο διαφορετικών σκευασμάτων CHX, ενός συγκέντρωσης 0,05% με φυτικά εκχυλίσματα και ενός συμβατικού διαλύματος συγκέντρωσης 0,10% μετά από κλασική χειρουργική του περιοδοντίου (ριζική απόξεση με κρημνό). Οι ασθενείς μετεγχειρητικά και για τις πρώτες 4 εβδομάδες χρησιμοποιούσαν ένα από τα δύο σκευάσματα ανάλογα στην ομάδα που ανήκαν. Μέχρι και τους πρώτους τρεις μετεγχειρητικούς μήνες δεν πραγματοποιήθηκε απομάκρυνση της ΟΜΠ από την οδοντιατρική ομάδα. Αμέσως πριν την επέμβαση, καθώς και στις 2, 4 και 12 εβδομάδες μετά την χειρουργική αξιολογήθηκε η χρώση των οδοντικών επιφανειών (δείκτης χρωστικών Lobene 1968) και στα αντίστοιχα χρονικά σημεία πάρθηκαν υποουλικά δείγματα ΟΜΠ για μικροβιολογική ανάλυση. Τα αποτελέσματα δεν έδειξαν διαφορές μεταξύ των δύο σκευασμάτων ως προς την ποιοτική και ποσοτική σύνθεση της ΟΜΠ 12 εβδομάδες μετά την χειρουργική, αλλά το σκεύασμα με τα φυτικά εκχυλίσματα οδήγησε σε σημαντικά λιγότερη χρώση των οδοντικών επιφανειών έναντι του κλασικού σκευάσματος.

Τα προαναφερόμενο σκεύασμα CHX 0,05% με φυτικά εκχυλίσματα αξιολογήθηκε και από τους Laugisch και συν. (2016). Σε αυτή την μελέτη, οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, όπου η μία έλαβε το παραπάνω σκεύασμα, ενώ η άλλη ένα σκεύασμα CHX 0,10%. Εδώ συμπεριλήφθησαν χειρουργικές περιοδοντικές επεμβάσεις (ριζική απόξεση με κρημό), καθώς και επεμβάσεις τοποθέτησης εμφυτευμάτων χωρίς την επιπρόσθετη ανάγκη αύξησης μαλακών ή/και σκληρών ιστών. Η χρήση των στοματικών διαλυμάτων πραγματοποιήθηκε για 2 εβδομάδες, αλλά από την 3^η έως και την 14^η μετεγχειρητική ημέρα οι ασθενείς παράλληλα με την χρήση του διαλύματος βούρτσιζαν τα δόντια τους με πολύ μαλακή οδοντόβουρτσα και συγκεκριμένη οδοντόπαστα. Επιπλέον την 7^η μετεγχειρητική ημέρα, όπου και αφαιρέθηκαν τα ράμματα, πραγματοποιήθηκε σε όλους τους ασθενείς στίλβωση των δοντιών της χειρουργημένης περιοχής. Οι παράμετροι που αξιολογήθηκαν ήταν ο δείκτης πλάκας, η πρώιμη ιστική επούλωση (μέσω του δείκτη Early Wound Healing Index), η δυσχρωμία των δοντιών (μέσω του δείκτη δυσχρωμίας, discoloration index) και η υποκειμενική αντίληψη του κάθε ασθενούς για την χρήση του διαλύματος (μέσω της κλίμακας VAS) τόσο αμέσως πριν την επέμβαση, όσο και 7 και 14 ημέρες μετά από αυτήν. Επίσης πάρθηκαν δείγματα υγρού της ουλοδοντικής σχισμής των εμπλεκόμενων στην επέμβαση δοντιών για αξιολόγηση των επιπέδων μεσολαβητών της φλεγμονής, όπως IL-1β, MMP -8, -13, ελαστάσης και μυελοϋπεροξειδάσης με την βοήθεια της ELISA. Τα αποτελέσματα δεν έδειξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων για καμία από τις αξιολογούμενες παραμέτρους. Η μόνη διαφορά καταγράφηκε αναφορικά με την υποκειμενική αντίληψη των ασθενών για πρόκληση χρωστικών την 1^η και 2^η μετεγχειρητική εβδομάδα, καθώς και για διαταραχές στη γεύση την 1^η

μετεγχειρητική εβδομάδα, με την ομάδα που έλαβε το συνδυαστικό σκεύασμα (με τα φυτικά εκχυλίσματα) να αναφέρει σημαντικά μικρότερες ενοχλήσεις.

3.2.6.5 Σκευάσματα CHX με ή χωρίς αλκοόλη

Η αλκοόλη, όπως έχει προαναφερθεί αποτελεί έναν από τους κύριους ερεθιστικούς παράγοντες των στοματικών διαλυμάτων και έχει δειχθεί ότι σε συγκεντρώσεις > 10%, καθώς και με την αύξηση του χρόνου της στοματοπλύσης οδηγεί σε γραμμική αύξηση των επώδυνων συμπτωμάτων (Bonesvoll et al., 1974)(Bonesvoll και συν. 1974). Πλέον κυκλοφορούν διάφορα σκευάσματα CHX, τα οποία δεν περιέχουν αλκοόλη. Η μοναδική μελέτη που έχει αξιολογήσει την αποτελεσματικότητα σκευάσματος CHX χωρίς αλκοόλη συγκριτικά με κλασικό αλκοολούχο σκεύασμα στον έλεγχο της ΟΜΠ μετά από χειρουργική του περιοδοντίου, είναι αυτή των Olsson και συν. (2012). Στην μελέτη συμμετείχαν 20 ασθενείς, οι οποίοι χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες. Μετά την χειρουργική του περιοδοντίου (αναπέταση κρημνών, ριζικές αποξέσεις και οστεοπλαστική, όπου χρειαζόταν) η μία ομάδα έλαβε στοματικό διάλυμα CHX 0,1% με αλκοόλη και η άλλη διάλυμα CHX 0,12% χωρίς αλκοόλη. Για τις επόμενες δύο εβδομάδες, οι ασθενείς έκαναν πλύσεις με τα αντίστοιχα στοματικά διαλύματα. Την 14^η μετεγχειρητική ημέρα, αφού καταγράφηκαν ο δείκτης πλάκας, η χρώση των οδοντικών επιφανειών και οι ενδεχόμενες διαταραχές της γεύσης (με την βοήθεια της κλίμακας VAS), ως αποτέλεσμα της χρήσης των στοματικών διαλυμάτων, πραγματοποιήθηκε στίλβωση των δοντιών των εμπλεκόμενων περιοχών και στη συνέχεια για τις επόμενες δύο εβδομάδες (3^η και 4^η μετεγχειρητική εβδομάδα), χορηγήθηκαν τα ίδια διαλύματα

αντίστροφα στις δύο ομάδες, έτσι ώστε κάθε ασθενής να έχει χρησιμοποιήσει και τα δύο είδη στοματικών διαλυμάτων. Τα αποτελέσματα δεν έδειξαν σημαντικές διαφορές σε καμία από τις παραμέτρους που αξιολογήθηκαν, μεταξύ των δύο ομάδων, τόσο στις 14 όσο και στις 28 ημέρες μετά από την χειρουργική του περιοδοντίου.

3.2.7 Αξιολόγηση αποτελεσματικότητας άλλων τοπικών αντισηπτικών παραγόντων στον έλεγχο της ΟΜΠ και την ιστική επούλωση μετά από χειρουργική του περιοδοντίου (Πίνακας 1.4)

Η CHX αποτελεί την πιο μελετημένη και αποδεδειγμένα ισχυρή αντιμικροβιακή ουσία που χορηγείται για τοπική εφαρμογή μετά από την χειρουργική του περιοδοντίου. Ωστόσο, λόγω των παρενεργειών που εμφανίζει, είναι εύλογο το ερώτημα κατά πόσο και άλλες αντιμικροβιακές ουσίες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τον μετεγχειρητικό έλεγχο της ΟΜΠ. Οι μελέτες που έχουν διερευνήσει την αποτελεσματικότητα άλλων ουσιών, μετά από περιοδοντικές χειρουργικές επεμβάσεις είναι ελάχιστες. Γι αυτό το λόγο πραγματοποιείται και η συγκεκριμένη εργασία έχοντας ως στόχο να καλύψει μέρος αυτού του κενού.

Οι Horwitz και συν. (2000) συνέκριναν την αποτελεσματικότητα στοματικού διαλύματος φθοριοαμίνης / φθοριούχου κασσίτερου με την CHX, μετά από κλασική χειρουργική του περιοδοντίου (ριζική απόξεση με κρημνό), αναφορικά με τον έλεγχο της ΟΜΠ, την χρώση των δοντιών και περιοδοντικές κλινικές παραμέτρους, όπως το βάθος περιοδοντικού θυλάκου και την απώλεια πρόσφυσης. Οι ασθενείς

της μελέτης χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες, λαμβάνοντας διαφορετικό στοματικό διάλυμα. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν αμέσως πριν τις επεμβάσεις, 3 και 12 εβδομάδες μετά. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων σε καμία από τις κλινικές παραμέτρους που αξιολογήθηκαν, με εξαίρεση την πρόκληση χρωστικών στα δόντια, όπου η ομάδα που έλαβε CHX παρουσίαζε σημαντικά μεγαλύτερο δείκτη χρωστικών την 3^η μετεγχειρητική εβδομάδα, διαφορά η οποία εξισορροπήθηκε την 12^η μετεγχειρητική εβδομάδα.

Μια ακόμη αντιμικροβιακή ουσία, που έχει αξιολογηθεί μετά από χειρουργική του περιοδοντίου, είναι η εξιτιδίνη. Ο Bokor (1996) αξιολόγησε την αποτελεσματικότητα της εξιτιδίνης σε μορφή spray στον μετεγχειρητικό έλεγχο της ΟΜΠ και την υγεία των ουλικών ιστών. Στην μελέτη συμπεριλήφθησαν 40 ασθενείς, οι οποίοι έλαβαν κλασική χειρουργική του περιοδοντίου για εξάλειψη υπολειμματικών θυλάκων (τροποποιημένος κρημνός Widman) σε δύο διαφορετικά τεταρτημόρια. Αρχικά πραγματοποιήθηκε η χειρουργική στο ένα τεταρτημόριο, και οι ασθενείς ανάλογα με την ομάδα στην οποία ανήκαν έλαβαν spray εξιτιδίνης 0,2% ή απεσταγμένο νερό (placebo) για τοπική εφαρμογή τρεις φορές την ημέρα. Μετά από περίοδο 28 ημερών, οι ασθενείς σταμάτησαν τη λήψη των σκευασμάτων και ξεκίνησαν μηχανική απομάκρυνση της ΟΜΠ. Μετά την πάροδο ενός μήνα, πραγματοποιήθηκαν οι επεμβάσεις στα άλλα τεταρτημόρια, και χορηγήθηκαν αντίστροφα τα spray εξιτιδίνης και απεσταγμένου νερού, έτσι ώστε κάθε ασθενής να έχει λάβει και τα δύο σκευάσματα με διαφορετική σειρά. Η αξιολόγηση του δείκτη πλάκας (Quigley-Hein index) πραγματοποιήθηκε αμέσως πριν το

χειρουργείο, στις 7, 14, 21 και 28 ημέρες μετά την επέμβαση σε κάθε πειραματική περίοδο, ενώ ο ουλικός δείκτης (Loe & Silness 1963) και ο δείκτης αιμορραγίας των μεσοδόντιων θηλών (Saxer & Muhlemann 1975) καταγράφηκαν πριν το χειρουργείο και 28 ημέρες μετά. Τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά σημαντικά μικρότερο δείκτη πλάκας (σε όλα τα χρονικά σημεία - 7, 14, 21 και 28 ημέρες) και μικρότερους δείκτες φλεγμονής των ούλων στην ομάδα της εξιτιδίνης.

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

Πρόκειται για μια μονοκεντρική, ελεγχόμενη, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη, η οποία συνέκρινε την αποτελεσματικότητα τριών διαφορετικών στοματικών διαλυμάτων, ενός με χλωρεξιδίνη που περιείχε αλκοόλη (Plak out 0,12%), ενός με χλωρεξιδίνη χωρίς αλκοόλη (Chlorhexil 0,12%) και ενός με δραστική ουσία τον παράγοντα C31G που περιείχε αλκοόλη (Therasol) στον μετεγχειρητικό έλεγχο της οδοντικής πλάκας και την επούλωση των περιοδοντικών ιστών, σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε κλασική χειρουργική του περιοδοντίου (σχεδιάγραμμα 1). Η μελέτη εγκρίθηκε από την Επιτροπή Δεοντολογίας της Οδοντιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Υπολογισμός μεγέθους δείγματος (power analysis)

Το μέγεθος του δείγματος υπολογίστηκε θεωρώντας τη 1 μονάδα της μέσης τιμής του δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης (EHI, Wachtel και συν. 2003) ως ελάχιστη κλινικά σημαντική διαφορά στις 14 ημέρες τουλάχιστον στη μια ομάδα. Οι μέσες τιμές του δείκτη EHI στις τρεις ομάδες (βάσει των πρώτων στοιχείων που συλλέχθηκαν από ένα μικρό δείγμα ασθενών) υπολογίστηκαν σε 2, 2 και 3, αντίστοιχα. Η διακύμανση μέσα στην κάθε ομάδα (group variance) θεωρήθηκε ίση με 1 για όλες τις ομάδες. Στηριζόμενοι στις προαναφερόμενες υποθέσεις και χρησιμοποιώντας δοκιμασία one-way ANOVA θεωρήσαμε ότι 16 μετρήσεις

συνολικά από 16 διαφορετικούς ασθενείς ή και 16 μετρήσεις από 4 διαφορετικούς ασθενείς θα ήταν επαρκείς για να ανιχνεύσουμε την διαφορά της 1 μονάδας. Δεδομένου ότι από κάθε ασθενή θα λαμβάνονταν 4 μετρήσεις δείκτη EHI την 14^η μετεγχειρητική ημέρα, ο απαιτούμενος αριθμός ατόμων θα έπρεπε να είναι $16 / 4 = 4$ άτομα. Αυτός ο αριθμός έπρεπε να διορθωθεί διότι θα συσχετίζονταν πολλαπλές μετρήσεις σε κάθε άτομο. Η διόρθωση αυτή πραγματοποιήθηκε μέσω υπολογισμού του inflation factor. Ο inflation factor (Design Effect) προκύπτει από τον τύπο

$$DE = 1 + (m - 1) * \rho$$

,όπου m = αριθμός μετρήσεων δείκτη EHI ανά ασθενή (average cluster size, και ρ = συντελεστής συσχέτισης μέσα στην ομάδα (intraclass correlation coefficient).

Στη συγκεκριμένη περίπτωση $m = 4$ και $\rho = 0,7$ ($\rho = 0$ σημαίνει καμία συσχέτιση μεταξύ των μετρήσεων στις διαφορετικές θέσεις και $\rho = 1$ σημαίνει ότι συμπίπτουν). Βασει αυτών και του τύπου που προαναφέρθηκε υπολογίστηκε το $DE = 3,1$ και μετά τη διόρθωση ο αριθμός των ατόμων ανά ομάδα υπολογίστηκε σε $3,1 \times 4 = 12,4$. Υποθέτοντας μια πιθανή απώλεια μετρήσεων της τάξης του 10%, ο τελικός αριθμός ατόμων ανά ομάδα υπολογίστηκε σε $12,4 / 0,9 = 13,8 \approx 14$ άτομα. Όλοι οι παραπάνω υπολογισμοί βασίστηκαν σε προκαθορισμένο επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $p \leq 0,05$ και αναμενόμενη ισχύ (intended power) 80%.

Ανεύρεση και συλλογή ασθενών

Στην μελέτη συμμετείχαν 42 άτομα, γυναίκες και άνδρες, ηλικίας 34-69 ετών, ασθενείς της Οδοντιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού

Πανεπιστημίου Αθηνών που παραπέμφθηκαν στην Μεταπτυχιακή Κλινική της Περιοδοντολογίας (ΜΚΠ) για περιοδοντική θεραπεία. Η συλλογή του δείγματος πραγματοποιήθηκε μεταξύ Οκτωβρίου 2015 και Μαΐου 2016. Όλοι οι συμμετέχοντες ενημερώθηκαν εκτενώς για την φύση και τα στάδια της μελέτης, στην οποία θα ελάμβαναν μέρος, και συναίνεσαν γραπτώς.

Κριτήρια επιλογής

- Ασθενείς που έχρηζαν χειρουργικής περιοδοντικής θεραπείας για μείωση / εξάλειψη υπολειμματικών περιοδοντικών θυλάκων στις περιοχές #13-15 ή/και #23-25 ή/και #33-35 ή/και #43-45 (ύπαρξη σε τουλάχιστον 2 από τα τρία δόντια τουλάχιστον ενός περιοδοντικού θυλάκου βάθους $\geq 5\text{mm}$ με αιμορραγία στην ανίχνευση (BoP) (Lang και συν. 1986), χωρίς την ύπαρξη ενδοστικής βλάβης που θα πληρούσε τις προϋποθέσεις για κατευθυνόμενη ιστική αναγέννηση. Επίσης συμπεριλήφθησαν περιοδοντικοί ασθενείς που έχρηζαν χειρουργικής αποκάλυψης κλινικής μύλης σε τουλάχιστον ένα από τα συμπεριλαμβανόμενα στις προαναφερόμενες περιοχές δόντια
- Ολοκλήρωση της φάσης ελέγχου φλεγμονής τουλάχιστον 6 εβδομάδες πριν την διενέργεια της χειρουργικής επέμβασης
- Στο σύνολο του οδοντικού φραγμού δείκτης πλάκας PI $< 25\%$ (O'Leary και συν. 1972)
- Στο σύνολο του οδοντικού φραγμού απλουστευμένος ουλικός δείκτης s-GI $< 25\%$ (Lindhe 1981)

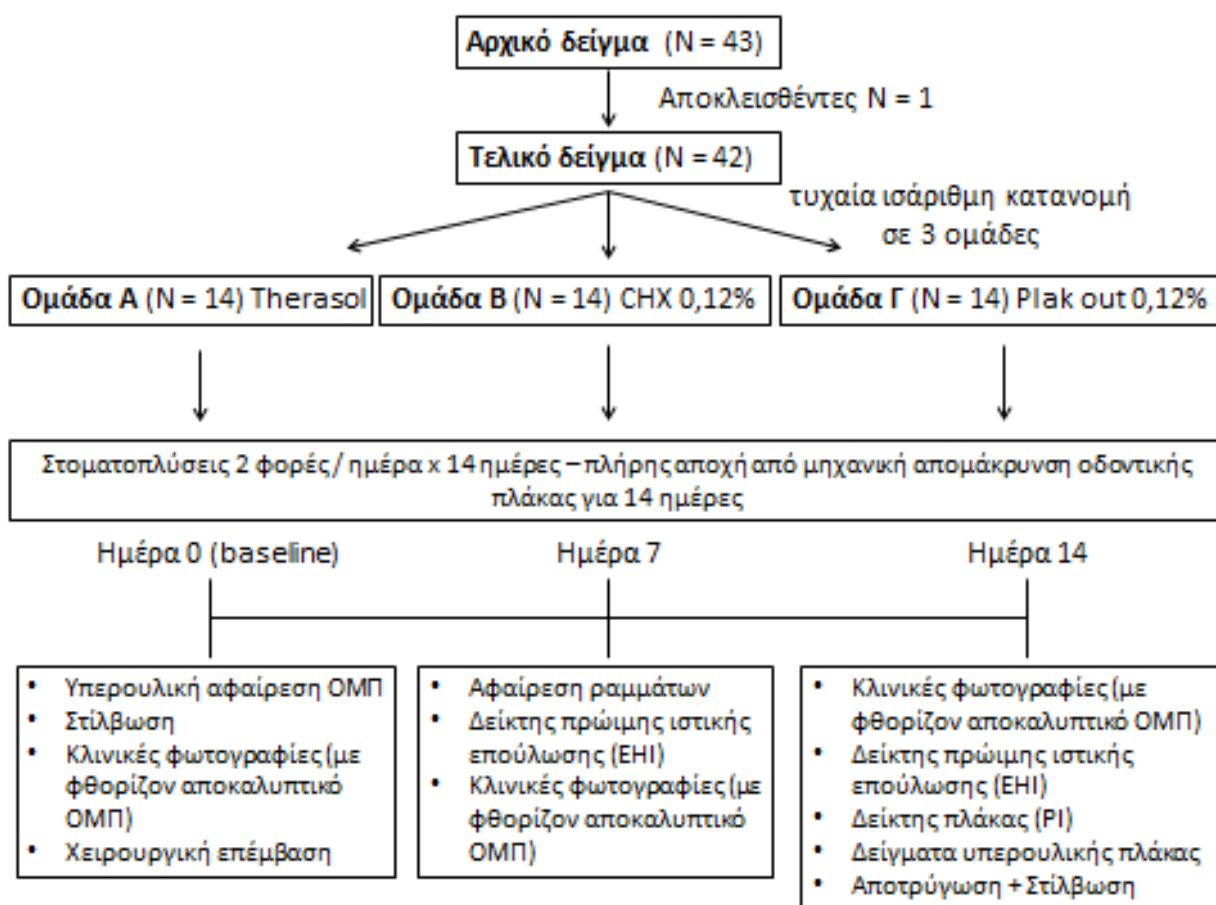
- Ύπαρξη ζώνης κερατινοποιημένων ιστών εύρους $\geq 2\text{mm}$

Κριτήρια αποκλεισμού

- Αρρύθμιστος σακχαρώδης διαβήτης τύπου I ή II ($\text{HbA1c} > 7\%$)
- Κάπνισμα (> 20 τσιγάρα / ημέρα)
- Λήψη αντιβιοτικών φαρμάκων τους τελευταίους 3 μήνες πριν την διενέργεια της χειρουργικής του περιοδοντίου
- Λήψη μη στεροειδών ή/και στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων τον τελευταίο 1 μήνα πριν την διενέργεια της χειρουργικής του περιοδοντίου
- Λήψη οποιουδήποτε αντιμικροβιακού στοματικού διαλύματος τις τελευταίες 14 ημέρες πριν την διενέργεια της χειρουργικής του περιοδοντίου
- Ανοσοκαταστολή ή λήψη ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων
- Ιστορικό χημειοθεραπείας ή/και ακτινοθεραπείας για κακοήθεις νεοπλασίες
- Λήψη από του στόματος διφωσφονικών σκευασμάτων > 3 έτη ή ενδοφλέβιων διφωσφονικών (ανεξαρτήτως χρονικής διάρκειας λήψης)
- Ιστορικό οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου ή/και αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου τους τελευταίους 6 μήνες
- Ηπατική ή νεφρική δυσλειτουργία

- Νοητική υστέρηση ή/και σωματική ανικανότητα που δυσχεραίνουν την αποτελεσματική εφαρμογή στοματικής υγιεινής
- Χρήση ναρκωτικών ουσιών ή κατάχρηση αλκοόλ
- Κύηση ή γαλουχία
- Ύπαρξη ακίνητων προσθετικών αποκαταστάσεων ολικής ή μερικής κάλυψης στην άνω γνάθο και στην κάτω γνάθο, που να συμπεριλαμβάνουν τα δόντια #13-15 ή/και #23-25 ή/και #33-35 ή/και #43-45 ή κινητών προσθετικών αποκαταστάσεων με συγκρατητικούς μηχανισμούς επί των αντίστοιχων προγομφίων

Σχεδιάγραμμα 1. Πειραματικός σχεδιασμός μελέτης.



CHX: Chlorhexil, ΟΜΠ: Οδοντική μικροβιακή πλάκα, EHI: Early wound Healing Index

(Wachtel και συν. 2003), PI: Plaque Index (Silness & Loe 1964)

Κλινική διαδικασία

Σε όλους τους ασθενείς είχε προηγηθεί μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία (φάση ελέγχου φλεγμονής) με εργαλεία χειρός και υπερήχους, η οποία είχε πραγματοποιηθεί στην μεταπτυχιακή ή προπτυχιακή κλινική της Οδοντιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ τουλάχιστον 6 εβδομάδες πριν την διενέργεια της χειρουργικής του περιοδοντίου. Συνολικά στο φραγμό ο δείκτης πλάκας (O'Leary και συν. 1972) και ο απλουστευμένος ουλικός δείκτης (Lindhe 1981) ήταν μικρότεροι του 25%.

Όλες οι χειρουργικές επεμβάσεις πραγματοποιήθηκαν από πρωτοετείς και τριτοετείς μεταπτυχιακούς φοιτητές Περιοδοντολογίας. Στην περιοχή που συμπεριλαμβανόταν στο χειρουργικό πεδίο πραγματοποιήθηκε υπερουλική αποτρύγωση και στίλβωση των οδοντικών επιφανειών πριν την επέμβαση. Η χειρουργική του περιοδοντίου περιελάμβανε εξάλειψη / μείωση υπολειμματικών περιοδοντικών θυλάκων ή/και αποκάλυψη κλινικής μύλης. Στις περιπτώσεις εξάλειψης / μείωσης υπολειμματικών περιοδοντικών θυλάκων πραγματοποιούνταν τοπική αναισθησία της περιοχής (αναισθητικό διάλυμα υδροχλωρικής αρτικάϊνης 4% με επινεφρίνη 1/100000 – Ubistesin forte), ενδοσχισμικές τομές, τομές διατήρησης των μεσοδόντιων θηλών (τροποποιημένη τεχνική διατήρησης μεσοδόντιων θηλών – MPPT (Cortellini και συν. 1995) ή απλοποιημένος κρημνός διατήρησης μεσοδόντιων θηλών – SPPF (Cortellini και συν. 1999) (εικόνα 1), ανάλογα με το εύρος του μεσοδόντιου διαστήματος). Ακολούθησε αναπέταση κρημνών ολικού πάχους παρειακά και υπερώια / γλωσσικά (εικόνα 2), ανοιχτή ριζική απόξεση με εργαλεία χειρός και υπερήχους, οστεοπλαστική με φρέζες καρβιδίου σε χειρολαβή υψηλών στροφών (όπου αυτό κρίθηκε απαραίτητο για μείωση του κατακόρυφου βάθους ενδοστικών βλαβών). Έγινε λέπτυνση των κρημνών παρειακά και υπερώια / γλωσσικά (όπου αυτό κρίθηκε απαραίτητο για μείωση του βάθους των υπεροστικών θυλάκων). Τέλος πραγματοποιήθηκαν διακλυσμοί της περιοχής με φυσιολογικό ορό, επανατοποθέτηση των κρημνών και συρραφή με απλές διακεκομμένες ραφές ή κάθετες ραφές τύπου εφαπλωματοποιών (μονόκλωνο βραδέως απορροφήσιμο ράμμα Monosorb 5-0) για κατά πρώτο σκοπό επούλωση (εικόνα 3). Στις περιπτώσεις χειρουργικής αποκάλυψης κλινικής μύλης πραγματοποιούνταν αναισθησία, όπως ακριβώς

προαναφέρθηκε, ενδοσχισμικές τομές παρειακά και υπερώια / γλωσσικά. Σε περίσσεια κερατινοποιημένων ιστών αφαιρέθηκαν ούλα εύρους 1 – 1,5mm ενώ σε απουσία τους (< 3mm) πραγματοποιήθηκε μόνο ακρορριζική μετατόπιση των ιστών. Ακολούθησε αναπέταση κρημνών ολικού πάχους, οστεκτομή / οστεοπλαστική με φρέζες καρβιδίου σε χειρολαβή υψηλών στροφών μέχρι την απόδοση του επιθυμητού βιολογικού εύρους. Εν συνεχεία έγινε σχολαστική απόξεση της ριζικής επιφάνειας με εργαλεία χειρός και υπερήχους, διακλυσμοί της περιοχής με φυσιολογικό ορό, επανατοποθέτηση των κρημνών και συρραφή με κάθετες ραφές τύπου εφαπλωματοποιών (μονόκλωνο βραδέως απορροφήσιμο ράμμα Monosorb 5-0). Στις περιπτώσεις που έπρεπε να πραγματοποιηθεί ακρορριζική μετατόπιση των ιστών, διενεργήθηκε παρειακά κρημνός ολικού πάχους μέχρι την αποκάλυψη της οστικής παρυφής της φατνιακής απόφυσης και στη συνέχεια κρημνός μερικού πάχους για την δυνατότητα εκτέλεσης περισστικών ραφών και ακρορριζικής μετατόπισης του παρειακού κρημνού. Οι ραφές ήταν ίδιες όπως και πριν. Σε όλες τις περιπτώσεις πραγματοποιήθηκε πλήρης συμπλησίαση των κρημνών αντίστοιχα με τις μεσοδόντιες περιοχές για κατά πρώτο σκοπό επούλωση του τραύματος. Σε κανένα περιστατικό δεν χρησιμοποιήθηκε χειρουργική κονία και δεν χορηγήθηκε αντιβίωση τόσο προεγχειρητικά όσο και μετεγχειρητικά. Σε όλες τις περιπτώσεις χορηγήθηκαν οι κλασικές μετεγχειρητικές οδηγίες, σε συνδυασμό με ιβουπροφαίνη ως αναλγητική – αντιφλεγμονώδης αγωγή για τις πρώτες τρεις μετεγχειρητικές ημέρες (δισκία Ιβουπροφαίνης 400mg, t.i.d.), αρχίζοντας με ένα δισκίο μία ώρα πριν την χειρουργική επέμβαση. Στους καπνιστές συστάθηκε διακοπή του καπνίσματος τουλάχιστον για τις πρώτες επτά μετεγχειρητικές ημέρες. Σε περίπτωση ύπαρξης επώδυνων συμπτωμάτων μεταξύ των δόσεων της ιβουπροφαίνης κατά τις τρεις

πρώτες μετεγχειρητικές ημέρες ή πέραν της τρίτης μετεγχειρητικής ημέρας, οι ασθενείς μπορούσαν να λαμβάνουν δισκία παρακεταμόλης των 500mg (κάθε 6-8 ώρες). Σε όλες τις περιπτώσεις τα ράμματα αφαιρέθηκαν την 7^η μετεγχειρητική ημέρα. Δεν καταγράφηκε περίπτωση αυτόματης απώλειας κάποιου ή κάποιων ραμμάτων από τις χειρουργημένες περιοχές πριν την 7^η μετεγχειρητική ημέρα.

Μετεγχειρητικό πρωτόκολλο στοματικής υγιεινής

Οι ασθενείς απείχαν πλήρως από οποιουδήποτε είδους μηχανική απομάκρυνση της οδοντικής πλάκας (βούρτσισμα, οδοντικό νήμα, μεσοδόντια βουρτσάκια, κ.α.) σε ολόκληρο το τεταρτημόριο που πραγματοποιήθηκε η χειρουργική επέμβαση για τις πρώτες 14 μετεγχειρητικές ημέρες. Ωστόσο χρησιμοποιούσαν το στοματικό διάλυμα που τους δόθηκε, όπως θα περιγραφεί στη συνέχεια. Στα υπόλοιπα τεταρτημόρια εφήρμοζαν τις συνηθισμένες τους διαδικασίες μηχανικής απομάκρυνσης της ΟΜΠ, ενώ τους συστάθηκε να απέχουν από λήψη τροφής ή/και υγρών στοιχείων τουλάχιστον για μία ώρα μετά την χρήση των στοματικών διαλυμάτων. Με την βοήθεια προγράμματος τυχαιοποίησης Random Sequence Generator (www.random.org) σε ηλεκτρονικό υπολογιστή, οι ασθενείς χωρίστηκαν τυχαία σε τρεις ομάδες, ως εξής:

- **Ομάδα Α:** πλύσεις με διάλυμα αλκυλοδιμεθυλοαμινοξειδίου και αλκυλοδιμεθυλογλυκίνης (C31G) με 6,4% βάρος κατ'όγκο αιθανόλη (Therasol, Intertrade) σε ποσότητα 15ml, 2 φορές/ημέρα (ανά 12 ώρες) για 1 λεπτό και για συνολικό διάστημα 14 ημέρες

- **Ομάδα Β:** πλύσεις με διάλυμα χλωρεξιδίνης 0,12% χωρίς αιθανόλη (Chlorhexil 0,12%, Intermed) σε ποσότητα 15ml, 2 φορές/ημέρα (ανά 12 ώρες) για 1 λεπτό και για συνολικό διάστημα 14 ημέρες
- **Ομάδα Γ:** πλύσεις με διάλυμα χλωρεξιδίνης 0,12% με 7% βάρος κατόγκο αιθανόλη (Plak out 0,12%, Omega Pharma) σε ποσότητα 15ml, 2 φορές/ημέρα (ανά 12 ώρες) για 1 λεπτό κάθε φορά και για συνολικό διάστημα 14 ημέρες

Τα στοματικά διαλύματα είχαν τοποθετηθεί σε πλαστικά αδιαφανή δοχεία χωρητικότητας 500ml ίδιου χρώματος (εικόνα 4), που έφεραν ετικέτες με τις ενδείξεις Α, Β, Γ, ώστε τόσο οι ασθενείς όσο και ο εξεταστής να μην γνωρίζουν ποιο από τα τρία στοματικά διαλύματα χρησιμοποιείται κάθε φορά. Οι ασθενείς πέραν της προφορικής ενημέρωσης έλαβαν και γραπτώς τις οδηγίες λήψης των στοματικών διαλυμάτων. Καθ'όλη την διάρκεια των πρώτων 14 μετεγχειρητικών ημερών δεν πραγματοποιήθηκε αποτρύγωση ή στίλβωση στην υπό αξιολόγηση περιοχή. Την 14^η μετεγχειρητική ημέρα, και αφού καταγράφηκαν τα απαραίτητα στοιχεία, πραγματοποιήθηκε αποτρύγωση και στίλβωση της υπό μελέτη περιοχής, ενώ χορηγήθηκαν νέες οδηγίες στοματικής υγιεινής με έναρξη των μηχανικών διαδικασιών απομάκρυνσης της οδοντικής πλάκας και διακοπή του στοματικού διαλύματος.

Κλινικές παράμετροι / αξιολόγηση

Πραγματοποιήθηκε λήψη κλινικών φωτογραφιών των προστοματικών επιφανειών κυνόδοντα, 1^{ου} και 2^{ου} προγόμφιου, με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή, προεγχειρητικά (αμέσως πριν την διενέργεια της επέμβασης), 7 και 14 ημέρες μετά την επέμβαση. Ως αρχή των μετρήσεων (ημέρα 0) θεωρήθηκε η ημέρα πραγματοποίησης της χειρουργικής επέμβασης και μάλιστα το χρονικό σημείο προεγχειρητικά, όπου είχε πραγματοποιηθεί αποτρύγωση και στίλβωση της περιοχής ενδιαφέροντος. Συνεπώς η αρχική μέτρηση της ΟΜΠ ήταν 0. Κάθε φορά, πριν την λήψη των φωτογραφιών, προηγούταν εφαρμογή, επί των ανίστοιχων οδοντικών επιφανειών, φθορίζοντος αποκαλυπτικού διαλύματος οδοντικής μικροβιακής πλάκας (Plaque test, Ivoclar, Vivadent, Lichtenstein) (εικόνα 5). Η έγχυση γινόταν με την βοήθεια ρύγχους και μετά από ένα λεπτό ο ασθενής έκανε στοματοπλύση με νερό για 30 δευτερόλεπτα. Έπειτα εφαρμοζόταν υπεριώδης ακτινοβολία μέσω κλασικής λυχνίας πολυμερισμού ρητινωδών υλικών (εικόνα 6) για την δυνατότητα άμεσης επισκόπησης της οδοντικής πλάκας. Σε μια προσπάθεια αύξησης της επαναληψιμότητας των συνθηκών λήψης των φωτογραφιών, χρησιμοποιήθηκε ακτινογραφικός παραλληλιστής οπισθίων δοντιών (εικόνα 7). Ο φωτογραφικός φακός ευθιαζόταν και ερχόταν σε άμεση επαφή με τον δακτύλιο του παραλληλιστή. Η ψηφιακή φωτογραφική μηχανή ήταν Canon EOS DSLR 600D (Rebel T3i) και ο φακός Canon EF 100mm f/2,8 macro USM, ενώ δεν χρησιμοποιήθηκε εξωτερική φωτεινή πηγή. Η λήψη όλων των φωτογραφιών πραγματοποιήθηκε με τις ίδιες ρυθμίσεις, οι οποίες ήταν: ISO 100, ταχύτητα κλείστρου 1/50, τιμή διαφράγματος f=10, αυτόματη προσαρμογή λευκού,

χειροκίνητη εστίαση φακού 1:1,5. Στη συνέχεια οι φωτογραφίες επεξεργάστηκαν σε υπολογιστή, με το πρόγραμμα Adobe Photoshop CS6, έτσι ώστε να μπορεί να καθοριστεί το ποσοστό της προστομιακής επιφάνειας του κυνόδοντα και των προγομφίων, που καλύπτεται από οδοντική πλάκα. Η συγκεκριμένη μέθοδος εφαρμόζεται σε συνδυασμό με φθορίζον αποκαλυπτικό διάλυμα (Fluorescein disclosing and digital plaque image analysis - DPIA), αξιολογώντας ουσιαστικά τον αριθμό των pixels της οδοντικής επιφάνειας που καλύπτεται από οδοντική πλάκα συγκριτικά με τον συνολικό αριθμό των pixels των προστομιακών επιφανειών των υπό αξιολόγηση δοντιών, και στη συνέχεια υπολογίζεται το ποσοστό της οδοντικής επιφάνειας που καλύπτεται από οδοντική πλάκα, μέσω του πηλίκου αυτών των δύο τιμών (Pretty και συν. 2005, SageI και συν. 2000).

Η συσσώρευση ΟΜΠ αξιολογήθηκε μέσω του δείκτη πλάκας των Silness & Loe (1964) (πίνακας 1.4) την 14^η μετεγχειρητική ημέρα, σε 4 επιφάνειες ανά δόντι (μέσο παρειακά, εγγύς, άπω και μέσο υπερώια/γλωσσικά), με την βοήθεια ευθύ περιοδοντικού ανιχνευτήρα (UNC 15 Probe, Hu-Friedy). Ως αρχή των μετρήσεων (ημέρα 0) θεωρήθηκε η ημέρα πραγματοποίησης της χειρουργικής επέμβασης και μάλιστα το χρονικό σημείο προεγχειρητικά, όπου είχε πραγματοποιηθεί αποτρύγωση και στίλβωση της περιοχής ενδιαφέροντος. Συνεπώς στην αρχή ο δείκτης πλάκας είχε τιμή 0.

Η μετεγχειρητική επούλωση των μαλακών ιστών ανίστοιχα με τις μεσοδόντιες περιοχές, αξιολογήθηκε στις 7 και 14 ημέρες μετά την επέμβαση, μέσω του δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης (Early Wound – Healing Index, EHI) (Wachtel και συν. 2003). Συγκεκριμένα από κάθε ασθενή ελήφθησαν 4 μετρήσεις, οι οποίες

αφορούσαν τις μεσοδόντιες θηλές μεταξύ πλαγίου τομέα και κυνόδοντα, κυνόδοντα και πρώτου προγόμφιου, πρώτου και δεύτερου προγόμφιου και δεύτερου προγόμφιου και πρώτου γομφίου, αντίστοιχα (εικόνα 8). Οι τιμές που μπορεί να λάβει ο δείκτης, καθώς και η κλινική έννοια αυτών περιγράφονται στον πίνακα 1.5.

Επαναληψιμότητα των μετρήσεων

Η αξιολόγηση όλων των προαναφερόμενων κλινικών παραμέτρων και η λήψη των φωτογραφιών πραγματοποιήθηκε από έναν, κάθε φορά τον ίδιο εξεταστή. Για την τυποποίηση και αύξηση της επαναληψιμότητας των μετρήσεων, ο εξεταστής χρησιμοποίησε δύο ασθενείς, οι οποίοι δεν συμπεριλήφθησαν στη μελέτη. Οι ασθενείς αυτοί είχαν υποβληθεί σε κλασική χειρουργική του περιοδοντίου για εξάλειψη υπολειμματικών θυλάκων και μετεγχειρητικά έλαβαν στοματικό διάλυμα χλωρεξιδίνης 0,12%. Κατά την διάρκεια της μετεγχειρητικής περιόδου, και συγκεκριμένα την 7^η μετεγχειρητική ημέρα, που οι ασθενείς προσήλθαν για αφαίρεση των ραμμάτων, υποβλήθηκαν σε εξέταση του δείκτη πλάκας και του δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης στη χειρουργημένη περιοχή, σε δύο διαφορετικά χρονικά σημεία μέσα στην ίδια ημέρα (με διαφορά τουλάχιστον 12 ωρών). Η συμφωνία μεταξύ των επαναλαμβανόμενων μετρήσεων στα διαφορετικά χρονικά σημεία από τον ίδιο εξεταστή αξιολογήθηκε μέσω ανάλυσης συσχέτισης (intraclass correlation analysis). Ο εξεταστής θεωρήθηκε τυποποιημένος όταν και οι δύο μετρήσεις της αξιολογούμενης κλινικής παραμέτρου ήταν ίδιες με απόκλιση +/- 10% (συντελεστής συσχέτισης μέσα στην ομάδα – intraclass correlation coefficient > 0.9).

Μικροβιολογική αξιολόγηση

1) Λήψη και αποθήκευση δειγμάτων ΟΜΠ

Δείγματα υπερουλικής ΟΜΠ συλλέχθηκαν κατά τη 14^η μετεγχειρητική ημέρα, από την όμορη επιφάνεια του δοντιού με τη μεγαλύτερη ποσότητα ΟΜΠ, δηλαδή με τη μεγαλύτερη τιμή δείκτη πλάκας (Silness & Loe 1964) αντίστοιχα με τη μεσοδόντια περιοχή που εμφάνιζε την χειρότερη επούλωση (δηλαδή με τη μεγαλύτερη τιμή δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης – EHI (Wachtel και συν. 2003). Από κάθε ασθενή πάρθηκε ένα δείγμα ΟΜΠ. Η περιοχή απομονώθηκε παρειικά και γλωσσικά (εφόσον επρόκειτο για την κάτω γνάθο) με τολύπια βάμβακος, ακολούθησε ήπιο στέγνωμα με την βοήθεια αεροσύριγγας και τέλος λήψη της ΟΜΠ με την βοήθεια περιοδοντικών ξέστρων ριζικής απόξεσης (Gracey 11/12 ή 13/14, Hu-Friedy). Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε κωνικά σωληνάρια τύπου Eppendorf (εικόνα 9), τα οποία περιείχαν 150μl ρυθμιστικού διαλύματος TE (tris – EDTA), ως αποθηκευτικού μέσου. Στη συνέχεια τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε πλαστικό κουτί αποθήκευσης κωνικών σωληναρίων Eppendorf (tryobox kit) (εικόνα 10), το οποίο αρχικά καταψύχθηκε στους -20°C, ενώ μετά την πλήρωσή του από σωληνάρια μεταφερόταν σε βαθύτερη κατάψυξη, στους -80°C, μέχρι τη στιγμή της μικροβιολογικής ανάλυσης. Η αποθήκευση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας της Οδοντιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

2) Επεξεργασία και ανάλυση δειγμάτων ΟΜΠ

Τα δείγματα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας την τεχνική ποσοτικής αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (quantitative real time PCR – qrt PCR με σκοπό την ποσοτική αξιολόγηση του συνολικού βακτηριακού μικροβιακού φορτίου ανά δείγμα ΟΜΠ (total bacterial count). Η διαδικασία της επεξεργασίας και ανάλυσης των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε στο τμήμα Βιοεπιστημών και Εφαρμογών, Εργαστήριο Παθοβιολογίας Κυττάρου και Εξωκυττάριας Ουσίας του Εθνικού Κέντρου Έρευνας Φυσικών Επιστημών "ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ" (Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. 'ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ').

α) Αρχή της Μεθόδου

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR) είναι μια τεχνική, η οποία επιτρέπει τη λογαριθμική ενζυμική ενίσχυση μικρών αλληλουχιών DNA (100-600 bp), χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα ένα μεγαλύτερο δίκλωνο μόριο DNA. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται δύο εκκινητές (primers), καθένας από τους οποίους είναι συμπληρωματικός προς μια συγκεκριμένη αλληλουχία μιας εκ των δύο αλυσίδων του DNA. Η αλληλουχία των εκκινητών επιμηκύνεται μέσω της DNA πολυμεράσης, με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή αντιγράφων της επιθυμητής αλληλουχίας. Οι εκκινητές επαναχρησιμοποιούνται πολλές φορές για την περαιτέρω ενίσχυση της συγκεκριμένης αλληλουχίας από τα ήδη υπάρχοντα αντίγραφα, με αποτέλεσμα την λογαριθμική αύξηση των αντιγράφων. Σε κάθε κύκλο της διαδικασίας ενίσχυσης (amplification), οι δύο κλώνοι της αλληλουχίας

του DNA αποδιατάσσονται μέσω αύξησης της θερμοκρασίας. Ακολουθεί μείωση της θερμοκρασίας για την πρόσδεση των εκκινητών και σύνθεση της αλληλουχίας μέσω της DNA πολυμεράσης.

Η ποσοτική πραγματικού χρόνου PCR είναι μια γρήγορη, αξιόπιστη και ευαίσθητη μέθοδος, η οποία επιτρέπει την ποσοτικοποίηση συγκεκριμένων αλληλουχιών-στόχων. Στην qPCR, η μέτρηση της ποσότητας του προϊόντος πραγματοποιείται καθ' όλη τη διάρκεια της αντίδρασης, μέσω της παρακολούθησης της αύξησης του φθορισμού κάποιας φθορίζουσας ουσίας. Στη συγκεκριμένη περίπτωση ο φθορισμός μετριέται σε κάθε κύκλο της PCR, με αποτέλεσμα να προκύπτει μια καμπύλη ενίσχυσης (amplification plot), γεγονός που επιτρέπει στον ερευνητή να παρακολουθεί όλη τη διαδικασία της αντίδρασης. Η αύξηση του σήματος φθορισμού είναι ανάλογη του συντιθέμενου προϊόντος και σχετίζεται άμεσα με την ποσότητα του αρχικού υποστρώματος.

Η καμπύλη ενίσχυσης διακρίνεται σε τρεις φάσεις: την εκθετική, τη γραμμική και τη φάση κορεσμού. Κατά την εκθετική φάση (exponential phase), σε κάθε κύκλο της αντίδρασης πραγματοποιείται ακριβής διπλασιασμός του προϊόντος, καθώς όλα τα απαραίτητα για την PCR συστατικά (π.χ. dNTPs, εκκινητές, πολυμεράση) βρίσκονται σε περίσσεια (100% αποδοτικότητα). Καθώς συνεχίζεται η αντίδραση, επέρχεται η γραμμική φάση κατά την οποία κάποια από τα αντιδραστήρια αρχίζουν να εξαντλούνται, ενώ παράλληλα συσσωρεύονται, σταδιακά, αναστολείς. Στη συγκεκριμένη φάση, η αντίδραση της ενίσχυσης επιβραδύνεται, καθώς μειώνεται η αποδοτικότητα της και τελικά σταματάει εντελώς, οπότε η καμπύλη φθορισμού φτάνει σε σημείο κορεσμού (plateau). Το σημείο κορεσμού διαφέρει μεταξύ των

δειγμάτων και εξαρτάται από τις κινητικές των αντιδράσεών τους. Οι μετρήσεις για την ποσοτικοποίηση αφορούν την εκθετική φάση της αντίδρασης. Σημαντική παράμετρο για την ποσοτικοποίηση αποτελεί η τιμή Ct (threshold cycle). Πρόκειται για τον αριθμό των κύκλων της αντίδρασης ενίσχυσης που απαιτούνται ώστε η τιμή του παρατηρούμενου φθορισμού να προσεγγίζει ένα συγκεκριμένο όριο (threshold). Η τιμή του ορίου αυτού ορίζεται πάνω από την αντίστοιχη του μη-ειδικού σήματος (background). Η τιμή Ct είναι αντιστρόφως ανάλογη της αρχικής ποσότητας του υποστρώματος: όσο μικρότερη είναι η τιμή Ct τόσο υψηλότερη είναι η συγκέντρωση του αρχικού υποστρώματος.

Σύστημα ανίχνευσης

SYBR Green I

Στα μη ειδικά συστήματα ανίχνευσης χρησιμοποιείται μια φθορίζουσα χρωστική, η οποία ενσωματώνεται σε δίκλωνο μόριο DNA (dsDNA). Μια τέτοια ευρέως χρησιμοποιούμενη χρωστική είναι η SYBR Green I. Η ουσία αυτή διεγείρεται με ακτινοβολία μήκους κύματος 497 nm και εκπέμπει στα 520 nm. Σημειώνεται ότι η SYBR Green I δεν φθορίζει όταν βρίσκεται ελεύθερη σε διάλυμα. Ωστόσο, η ενσωμάτωσή της στο DNA κατά τη σύνθεσή του, έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή φθορισμού. Η ένταση του φθορισμού αυτού είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του παραγόμενου προϊόντος.

Η χρήση μη ειδικών συστημάτων ανίχνευσης παρουσιάζει τόσο πλεονεκτήματα όσο και μειονεκτήματα. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της SYBR Green είναι η δυνατότητα

χρήσης της με οποιοδήποτε ζευγάρι εκκινητών, για την ενίσχυση οποιασδήποτε αλληλουχίας-στόχου, γεγονός που την καθιστά πολύ πιο οικονομική μέθοδο από την χρήση ειδικού ανιχνευτή (probe). Όμως είναι περισσότερο αποτελεσματική όταν το μέγεθος του προϊόντος πολλαπλασιασμού (amplicon) του εκκινητή κυμαίνεται από 100 – 500 ζεύγη βάσεων (bp). Στα ειδικά συστήματα ανίχνευσης γίνεται χρήση ανιχνευτή (probe), ειδικού για την αλληλουχία-στόχο. Οι ανιχνευτές έχουν τη δυνατότητα σήμανσης με διάφορες φθορίζουσες χρωστικές, των οποίων τα διαφορετικά φάσματα διέγερσης και εκπομπής επιτρέπουν τον σαφή διαχωρισμό τους (π.χ. TaqMan probe).

Παρ'όλα αυτά, η SYBR Green I συνιστά μια ιδιαίτερα ευαίσθητη μέθοδο, καθώς σε κάθε μόριο DNA που συντίθεται δεσμεύονται πολλά μόρια χρωστικής, με αποτέλεσμα την ενίσχυση του προκύπτοντος σήματος. Αντίθετα, σημαντικό μειονέκτημα της SYBR Green αποτελεί το γεγονός ότι προσδένεται σε όλα τα δίκλινα μόρια DNA που συντίθενται κατά την αντίδραση ενίσχυσης, στα οποία συμπεριλαμβάνονται τα πιθανά διμερή των εκκινητών καθώς και μη ειδικά προϊόντα που ενδέχεται να προκύπτουν. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε λανθασμένη υπερεκτίμηση της συγκέντρωσης της αλληλουχίας-στόχου. Παρ'όλα αυτά υπάρχει τρόπος να ξεπεραστούν αυτοί οι περιορισμοί. Ο σωστός σχεδιασμός ειδικών εκκινητών όπως επίσης και η βελτιστοποίηση των συνθηκών της αντίδρασης, μπορούν να συμβάλλουν στην αποτροπή δημιουργίας διμερών των εκκινητών. Επιπλέον, η μελέτη των καμπύλων αποδιάταξης (melting curves) μετά το πέρας της αντίδρασης, δίνει τη δυνατότητα διαχωρισμού του φθορισμού που προέκυψε από

την ενίσχυση της αλληλουχίας-στόχου από τους φθορισμούς που οφείλονται στα διμερή των εκκινητών ή σε μη ειδικά προϊόντα.

β) Εργαστηριακός εξοπλισμός

- Απεσταγμένο νερό (dH₂O)
- Διάλυμα αιθανόλης 99%
- Μικροπιπέτες ακριβείας (1000μl, 200μl, 20μl, και 2,5μl) (εικόνα 11)
- Κωνικά σωληνάρια τύπου Eppendorf χωρητικότητας 1,5ml (εικόνα 9)
- Υδατόλουτρο
- Κλίβανος επώασης (Incubator) (εικόνα 12)
- Φυγόκεντρος Eppendorf (Eppendorf centrifuge) (εικόνα 13)
- Συσκευή ανάδευσης (Vortex) (εικόνα 14)
- Φασματοφωτόμετρο (NanoDrop - 1000 Spectrophotometer) (εικόνα 15)
- Συσκευή Light Cycler 96 Real Time PCR System (Roche Life Sciences) και αντίστοιχο λογισμικό ανάλυσης αποτελεσμάτων και κατασκευής γραφικών (εικόνα 16)

γ) Απομόνωση βακτηριακού DNA από τα δείγματα ΟΜΠ

Η απομόνωση του DNA πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του PureLink Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, K1820-01) (εικόνα 17) ακολουθώντας το πρωτόκολλο λύσης Gram (+) βακτηριακού DNA. Η διαδικασία περιελάμβανε τα εξής:

- Παρασκευή διαλύματος λυσοζύμης τελικής συγκέντρωσης 20mg/ml σε Tris – EDTA Buffer, Triton 1%.
- Απομόνωση ιζήματος ΟΜΠ από το αποθηκευτικό μέσο με φυγοκέντρωση σε 13000rpm για 1 λεπτό
- Προσθήκη διαλύματος λυσοζύμης συγκέντρωσης 20mg/ml
- Επώαση σε υδατόλουτρο στους 37°C για 30 λεπτά
- Προσθήκη πρωτεΐνάσης K συγκέντρωσης 20mg/ml και ανάδευση για 5 sec
- Προσθήκη ρυθμιστικού διαλύματος λύσης / δέσμευσης (Lysis / Binding buffer) και ανάδευση για 5sec
- Επώαση σε κλίβανο επώασης στους 55°C για 30 λεπτά
- Προσθήκη διαλύματος αιθανόλης 99% και ανάδευση για 5sec
- Μεταφορά του υπερκείμενου σε στήλη δέσμευσης DNA
- Φυγοκέντρωση σε 10500rpm για 1 λεπτό
- Προσθήκη ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης 1 (Wash buffer 1) και φυγοκέντρωση σε 10500rpm για 1 λεπτό
- Προσθήκη ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης 2 (Wash buffer 2) και φυγοκέντρωση σε 13000rpm για 3 λεπτά
- Μεταφορά στήλης δέσμευσης DNA σε Eppendorf και έκλυση DNA με ρυθμιστικό διάλυμα έκλυσης (elution buffer)
- Φυγοκέντρωση σε 13000rpm για 1 λεπτό
- Αποθήκευση απομονωμένου DNA στους -20°C (εικόνα 18)

δ) Μέτρηση συγκέντρωσης DNA δειγμάτων ΟΜΠ

Η συγκέντρωση DNA υπολογίστηκε με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου (NanoDrop -1000 Spectrophotometer). Πριν τις μετρήσεις των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε μέτρηση τυφλού (blank measurement) χρησιμοποιώντας το ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης (elution buffer) από την προαναφερόμενη διαδικασία απομόνωσης του DNA. Σε κάθε δείγμα απομονωμένου DNA καταγράφηκαν οι λόγοι $\lambda = 260/280$ και $\lambda = 260/230$, καθώς και η συγκέντρωση του DNA σε ng/μl.

ε) Διαδικασία qrt - PCR

Η qrt - PCR πραγματοποιήθηκε με τη χρήση γενικού εκκινητή (universal primer - 5' TCCTACGGGAGGCAGCAGT 3', 5'GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT 3') (Nadkarni και συν. 2002) (εικόνα 19), ικανού να ανιχνεύσει την αλληλουχία DNA του γονιδίου που κωδικοποιεί για την 16S ριβοσωμική υπομονάδα (η οποία είναι συντηρημένη στους βακτηριακούς πληθυσμούς) από τουλάχιστον 50 διαφορετικά μικροβιακά είδη (αερόβια και αναερόβια Gram θετικά και αρνητικά βακτήρια) και φθορίζουσας χρωστικής SYBR Green I. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε συσκευή Light Cyclor 96 Real Time PCR με τη χρήση πλάκας 96 φρεατίων (εικόνα 20) και όγκο αντίδρασης 20μl ανά φρεάτιο. Η διαδικασία περιελάμβανε τα ακόλουθα στάδια:

- Δημιουργία πρότυπης καμπύλης αναφοράς (standard curve). Για την πρότυπη καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιήθηκε το Gram (-) δυνητικά αναερόβιο βακτήριο Escherichia Coli (στέλεχος BL 21 gold D3). Η διαδικασία είχε ως ακολούθως:

- Διενέργεια καλλιέργειας *Escherichia Coli* (*E. Coli*). Τα κύτταρα *E.coli* αναπτύχθηκαν σε στερεές καλλιέργειες σε τρυβλία petri. Από τη στερεή καλλιέργεια επιλέχθηκε μία μοναδική αποικία για την ανάπτυξη μικρής κλίμακας υγρής καλλιέργειας βακτηριακών κυττάρων. Η αποικία εμβολιάστηκε σε 5mL υγρού θρεπτικού μέσου LB (Lysogeny Broth) χωρίς παρουσία αμπικιλίνης και η ανάπτυξη των κυττάρων έγινε στους 37°C υπό ανάδευση για 16 ώρες (εικόνα 21)
- Απομόνωση βακτηριακού DNA με τη βοήθεια του PureLink Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, K1820-01) ακολουθώντας πρωτόκολλο λύσης Gram (-) βακτηριακού DNA (ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία που περιγράφηκε στην υποενότητα B2γ, με την διαφορά ότι αντί για λυσοζύμη προστέθηκε RNase)
- Υπολογισμός συγκέντρωσης DNA πρότυπων δειγμάτων με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου (NanoDrop 1000 Spectrophotometer), έτσι όπως αναφέρθηκε παραπάνω
- Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων *E. Coli* γνωστής συγκέντρωσης DNA (0,5ng/μl, 1ng/μl, 5ng/μl, 10ng/μl, 25ng/μl, 50ng/μl) (εικόνα 22)
- Προετοιμασία για qrt- PCR. Κάθε γνωστή συγκέντρωση διαλύματος *E Coli* τοποθετήθηκε εις διπλούν και ως αρνητικό control χρησιμοποιήθηκε διάλυμα των γενικών εκκινητών (forward και reverse universal primers)
- Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε 40 κύκλους (κύριο στάδιο ενίσχυσης – amplification στους 94°C για 30sec, 58°C για 30sec και 72°C για 45sec.) και περιελάμβανε ένα προκαταρκτικό στάδιο επώασης (preincubation –

1 κύκλος στους 94°C για 300sec.) και ένα τελικό στάδιο αποδιάταξης (melting – 1 κύκλος στους 95°C για 10sec, 65°C για 60sec και 97°C για 1sec)

➤ Ποσοτική αξιολόγηση βακτηριακού DNA δειγμάτων ΟΜΠ με rtPCR

- Κάθε αντίδραση πραγματοποιήθηκε εις διπλούν έτσι όπως περιγράφεται στον πίνακα 1.7. Ως αρνητικό control χρησιμοποιήθηκε δείγμα χωρίς DNA (no template control - NTC). Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε με το ίδιο πρωτόκολλο με εκείνο της E. Coli. (εικόνα 23)

στ) Επεξεργασία και ανάλυση αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με το λογισμικό Light Cyclers 96 1.1 Software. Με τη βοήθεια των πρότυπων διαλυμάτων Escherichia Coli γνωστής συγκέντρωσης DNA υπολογίστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς της μορφής $y = ax + b$, η οποία είχε ως εξής:

$$y = -3,66 * x + 13,94$$

, όπου y = αριθμός κύκλων ενίσχυσης (C_q) και $x = \log c$ (c = ποσότητα βακτηριακού DNA σε ng) (εικόνα 24).

Βάσει αυτής της εξίσωσης υπολογίστηκε η μάζα του βακτηριακού DNA σε κάθε δείγμα ΟΜΠ. Στη συνέχεια υπολογίστηκε ο αριθμός των αντιγράφων του βακτηριακού DNA (δηλαδή ο αριθμός βακτηρίων – copy number) ανά δείγμα ΟΜΠ, σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο:

$$m = \frac{n * NA}{bp}$$

, όπου m = μάζα βακτηριακού DNA εκάστοτε δείγματος ΟΜΠ, NA = αριθμός Avogadro, bp = αριθμός ζευγών βάσεων του προϊόντος πολλαπλασιασμού (amplicon) που χρησιμοποιήθηκε στην αντίδραση (εδώ $bp = 466$ του συγκεκριμένου ζεύγους εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν στην αντίδραση) και n = ζητούμενος αριθμός αντιγράφων βακτηριακού DNA.

Στατιστική ανάλυση

Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά του δείγματος παρουσιάζονται ανά ομάδα σε πίνακα διπλής εισόδου με απόλυτες και σχετικές (%) συχνότητες για τις κατηγορικές μεταβλητές και διαμέσους και ενδοτεταρτομοριακά εύρη (Median - IQR) για τις ποσοτικές μεταβλητές. Οι έλεγχοι για τυχόν διαφορές μεταξύ των ομάδων σε αυτά τα χαρακτηριστικά ήταν χ^2 για τις κατηγορικές και Kruskal-Wallis για τις ποσοτικές μεταβλητές. Τα δεδομένα για τους υπό εξέταση δείκτες (δείκτης πρώιμης ιστικής επούλωσης, δείκτης πλάκας και επιφάνεια πλάκας), μετρημένους σε διαφορετικές θέσεις και διαφορετικές χρονικές στιγμές, παρουσιάζονται αρχικά σε πίνακες με διαμέσους και ενδοτεταρτομοριακά εύρη (Median - IQR) ενώ διαφορές στην κατανομή τους μεταξύ των ομάδων αξιολογούνται αδρά μέσω ελέγχων Kruskal-Wallis. Τα δεδομένα παρουσιάζονται αντίστοιχα και μέσω θηκογραμμάτων (box-plots). Θα πρέπει εδώ να σημειωθεί ότι σε ορισμένες περιπτώσεις ο αριθμός των μετρήσεων σε συγκεκριμένους συνδυασμούς ομάδας, θέσης και ημέρας ήταν μικρός, γεγονός που σε συνδυασμό με τον περιορισμένο

αριθμό δυνητικών τιμών για τους δείκτες πρώιμης ιστικής επούλωσης (1, 2, 3, 4, 5) και πλάκας (0, 1, 2, 3) οδήγησε σε κάποιες περιπτώσεις σε συμπτώσεις μεταξύ των τιμών της διαμέσου και των άλλων τεταρτημορίων. Στη συνέχεια τα δεδομένα για τις τρεις υπό εξέταση μεταβλητές παρουσιάζονται και αναλύονται χωριστά. Η περιγραφή των κατανομών δίνεται αναλυτικά για τους δείκτες πρώιμης ιστικής επούλωσης και πλάκας μέσω πινάκων διπλής εισόδου ενώ για τα γραφήματα χρησιμοποιούνται ιστογράμματα έτσι ώστε να αποτυπωθεί λεπτομερειακά η κατανομή του κάθε δείκτη. Για την ανάλυση χρησιμοποιούνται κατάλληλα μοντέλα παλινδρόμησης μικτών επιδράσεων που λαμβάνουν υπόψη τους τις πιθανές συσχετίσεις μεταξύ πολλαπλών μετρήσεων σε κάθε άτομο (είτε σε διαφορετικές θέσεις είτε σε διαφορετικές χρονικές στιγμές). Οι παράγοντες που αφορούν την ομάδα (στοματικά διαλύματα), τη θέση και τη χρονική στιγμή μπαίνουν πάντοτε στα αντίστοιχα μοντέλα καθώς αποτελούν μεταβλητές κύριου ενδιαφέροντος (π.χ. ομάδα) είτε αντανakλούν το σχεδιασμό της μελέτης (π.χ. πολλαπλές μετρήσεις σε διαφορετικές θέσεις-δόντια την ίδια χρονική στιγμή). Στη συνέχεια εξετάζεται η σημαντικότητα άλλων δημογραφικών-κλινικών χαρακτηριστικών και αλληλεπιδράσεων προκειμένου να δημιουργηθεί ένα τελικό πολυπαραγοντικό μοντέλο. Όλοι οι έλεγχοι στη διαδικασία επιλογής του τελικού μοντέλου βασίζονται σε πηλίκια πιθανοφάνειας (likelihood ratio tests). Για τις περιπτώσεις του δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης και πλάκας χρησιμοποιήθηκαν μοντέλα διατεταγμένης λογιστικής παλινδρόμησης μικτών επιδράσεων λόγω της φύσης της μελετούμενης εξαρτημένης μεταβλητής (διατεταγμένη κατηγορική). Για την επιφάνεια πλάκας χρησιμοποιήθηκε γραμμικό μικτό μοντέλο κατόπιν logit μετασχηματισμού της εξαρτημένης μεταβλητής (ποσοστό 0 έως 100%). Για την παρουσίαση βασικών

ευρημάτων από τα τελικά πολυπαραγοντικά μοντέλα χρησιμοποιήθηκαν γραμμικοί (δείκτες πρώιμης ιστικής επούλωσης και πλάκας) και μη-γραμμικοί συνδυασμοί (επιφάνεια πλάκας) με αντίστοιχα Wald-type tests. Στις περιπτώσεις των δεικτών πρώιμης ιστικής επούλωσης και πλάκας τα αποτελέσματα των μοντέλων διατεταγμένης λογιστικής παλινδρόμησης οδηγούν σε Odds Ratios που δίνουν τις σχετικές πιθανότητες για μεγαλύτερες τιμές του δείκτη σε σύγκριση δύο κατηγοριών μιας επεξηγηματικής μεταβλητής (π.χ. Ομάδα Β vs. Ομάδα Α). Στο logit-normal μοντέλο που χρησιμοποιήθηκε για την επιφάνεια πλάκας οι συντελεστές του μοντέλου εκφράζονται τελικά ως διαφορές στα ποσοστά επιφάνειας πλάκας μεταξύ των συγκρινόμενων ομάδων. Για την ανάλυση των διαφορών του συνολικού μικροβιακού φορτίου μεταξύ των ομάδων ή ανάλογα με άλλα χαρακτηριστικά, χρησιμοποιήθηκαν μοντέλα απλής γραμμικής παλινδρόμησης μετά από μετασχηματισμό δεκαδικού λογαρίθμου του αριθμού των βακτηρίων του μικροβιακού φορτίου. Ο μετασχηματισμός χρησιμοποιήθηκε γιατί η αρχική κατανομή ήταν έντονα θετικά λοξή ενώ η μετασχηματισμένη μεταβλητή προσέγγιζε την κανονική. Λόγω του μετασχηματισμού η ερμηνεία των αποτελεσμάτων των μοντέλων αυτών δίνεται με όρους σχετικής % διαφοράς. P-values μικρότερα του 0.05 θεωρούνται ως στατιστικά σημαντικά. Η ανάλυση έγινε με το στατιστικό πακέτο Stata 13.1 - Stata Corp., TX USA.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Κλινικά Αποτελέσματα

Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά του δείγματος παρουσιάζονται ανά ομάδα στον πίνακα 2.1. Πρακτικά δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών ομάδων σε καμία από τις παραμέτρους που αρχικά καταγράφηκαν συμπεριλαμβανομένου και του καπνίσματος (όλα οι τιμές $p > 0,05$).

Ανάλυση δεδομένων δείκτη πλάκας (PI)

Στις 14 ημέρες, η κατανομή των τιμών του δείκτη πλάκας (PI) ανά ομάδα (συγκεντρωτικά για όλα τα δόντια και τις επιφάνειες) παρουσιάζεται στον πίνακα 2.2., όπου οι διάμεσοι και τα αντίστοιχα ενδοτεταρτημοριακά εύρη (σε παρένθεση) των τιμών του PI ήταν 2.0 (1.5, 3.0), 2.0 (1.0, 2.0) και 1.0 (1.0, 1.0) στις ομάδες Α, Β και Γ, αντίστοιχα (στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων, $p < 0,001$). Η σύγκριση μεταξύ των ομάδων αποκάλυψε στατιστικά σημαντικά χαμηλότερες τιμές PI στην ομάδα Β συγκριτικά με την Α ($p = 0,012$) και ακόμη χαμηλότερες στην ομάδα Γ σε σχέση με την Α ($p < 0,001$) (Πίνακας 2.3). Επίσης η ομάδα Γ εμφάνισε σημαντικά χαμηλότερες τιμές PI συγκριτικά με την ομάδα Β ($p < 0,001$) (Πίνακας 2.3). Τα παραπάνω απεικονίζονται συγκεντρωτικά ως ιστόγραμμα στο γράφημα 2.1. Συνεπώς όσον αφορά την αποτελεσματικότητα των στοματικών διαλυμάτων στον έλεγχο της ΟΜΠ θα λέγαμε ότι το διάλυμα της ομάδας Γ ήταν αποτελεσματικότερο της Β που με τη σειρά του ήταν αποτελεσματικότερο της Α ($\Gamma > B > A$).

Στον πίνακα 2.4 και στα γραφήματα 2.2 – 2.4 παρουσιάζονται οι διάμεσοι και τα ενδοτεταρτημοριακά εύρη των τιμών του PI ανά δόντι και επιφάνεια στις τρεις ομάδες. Στον πίνακα 2.4 εμφανίζονται πιο συχνά σημαντικά p-values μεταξύ των τριών ομάδων. Επιπλέον τα γραφήματα 2.2 – 2.4 δίνουν μια αρχική εικόνα υψηλότερων τιμών PI στις όμορες επιφάνειες (εγγύς – άπω) συγκριτικά με τις παρειακές/υπερώιες/γλωσσικές, καθώς και υψηλότερων τιμών στα οπίσθια δόντια (προγόμφιοι) συγκριτικά με τον κυνόδοντα, ανεξάρτητα της ομάδας. Στον πίνακα 2.5 παρουσιάζεται η αναλυτική κατανομή των τιμών του PI ανά ομάδα, δόντι και επιφάνεια, ενώ στον πίνακα 2.6 και στο γράφημα 2.5 φαίνεται η κατανομή των τιμών του PI ανά ομάδα και δόντι συνολικά για όλες τις επιφάνειες (παρειακά, εγγύς, άπω, υπερώια/γλωσσικά).

Στο τελικό πολυπαραγοντικό μοντέλο διατεταγμένης λογιστικής παλινδρόμησης μικτών επιδράσεων (Πίνακας 2.7) φαίνεται πως η εντόπιση του δοντιού (οπίσθια – πρόσθια περιοχή), η οδοντική επιφάνεια, το κάπνισμα και η ομάδα σχετίζονται σημαντικά με τον δείκτη PI. Συγκεκριμένα οι προγόμφιοι (1^{ος} προγόμφιος: OR = 3,25, 2^{ος} προγόμφιος: OR = 4,64, $p < 0,001$), οι όμορες και κυρίως οι άπω οδοντικές επιφάνειες (εγγύς επιφάνειες: OR = 7,19, άπω επιφάνειες: OR = 12,58, $p < 0,001$) και το κάπνισμα (OR = 20,41, $p < 0,001$) συσχετίστηκαν με σημαντικά μεγαλύτερη συσσώρευση ΟΜΠ.

Ειδικά για τον παράγοντα κάπνισμα, η κατανομή των τιμών του PI ανάλογα με τις καπνιστικές συνήθειες του δείγματος παρουσιάζεται στον πίνακα 2.8 και στο γράφημα 2.6 (κατανομή δείκτη πλάκας ανά καπνιστικές συνήθειες - όλα τα δόντια και οι επιφάνειες). Οι διάμεσοι και τα αντίστοιχα ενδοτεταρτημοριακά εύρη (σε

παρένθεση) των τιμών του δείκτη πλάκας ήταν 2.0 (1.0, 3.0), 1.0 (1.0, 2.0) και 2.0 (1.0, 3.0) στους καπνιστές, μη καπνιστές και πρώην καπνιστές, αντίστοιχα (στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάλογα με τις καπνιστικές συνήθειες, $p < 0,001$).

Από τους υπόλοιπους δημογραφικούς - κλινικούς παράγοντες που ελέγχθησαν, δεν συσχετίστηκε κάποιος σε σημαντικό βαθμό με τις τιμές του PI (Πίνακας 2.9).

Ανάλυση ποσοστών οδοντικής επιφανείας καλυπτόμενης από ΟΜΠ (PA %)

Ο δείκτης PA% καταγράφηκε στις 7 και 14 ημέρες μετά τη χειρουργική του περιοδοντίου. Συγκεκριμένα στις 7 ημέρες η διάμεσος του PA% ήταν 22,8%, 20,6% και 11,2% για τις ομάδες A, B και Γ αντίστοιχα (Πίνακας 2.10, Γράφημα 2.7). Στις 14 ημέρες οι τιμές για τις ομάδες A, B και Γ ήταν 32,5%, 14,9% και 11,2%, αντίστοιχα (Πίνακας 2.10, Γράφημα 2.7). Μεταξύ των δύο μετρήσεων, κατά την 7^η και 14^η μετεγχειρητική ημέρα αντίστοιχα, δεν υπήρχε σημαντική μεταβολή των τιμών του PA% σε καμία από τις τρεις ομάδες (έλεγχος σημαντικότητας αλληλεπίδρασης ημέρας x ομάδας, $p = 0,153$, Πίνακας 2.11), κάτι που πρακτικά σημαίνει ότι μεταξύ των δύο χρονικών σημείων οι μετρήσεις μέσα στην κάθε ομάδα ήταν παρόμοιες (14 vs 7, συντελεστής $b = 0,09$, $p = 0,416$) (Πίνακας 2.12). Συνεπώς παρουσιάζονται κατ'ευθείαν στις 14 ημέρες οι διαφορές μεταξύ των τριών ομάδων. Η σύγκριση μεταξύ των ομάδων ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές, με την ομάδα B να εμφανίζει κατά μέσο όρο 16 ποσοστιαίες μονάδες χαμηλότερο PA% σε σχέση με την A ($p = 0,049$) και την ομάδα Γ 21 ποσοστιαίες μονάδες χαμηλότερο PA% σε σχέση με την A ($p = 0,005$) (Πίνακας 2.13). Η ομάδα Γ δεν διέφερε σημαντικά με την ομάδα B,

αν και καταγράφηκαν χαμηλότερα ποσοστά RA% στην πρώτη ($p = 0,421$) (Πίνακας 2.13). Μεταφράζοντας τα παραπάνω σε επίπεδο αποτελεσματικότητας των στοματικών διαλυμάτων στον έλεγχο της ΟΜΠ θα μπορούσαμε να πούμε ότι τα διαλύματα των ομάδων Β και Γ ήταν σχεδόν εφάμιλλα και σημαντικά ανώτερα του διαλύματος της ομάδας Α ($\Gamma \approx B > A$).

Στον πίνακα 2.14 και στα γραφήματα 2.8 – 2.10 παρουσιάζεται η αναλυτική κατανομή των τιμών του RA% ανά ομάδα, ημέρα (7 και 14 ημέρες) και δόντι, έτσι όπως καταγράφηκαν στις προστομιακές επιφάνειες των υπό εξέταση δοντιών (κυνόδοντα, πρώτος και δεύτερος προγόμφιος). Στα γραφήματα 2.11 – 2.12 αποδίδεται με την μορφή θηκογραμμάτων η κατανομή των ποσοστών RA% συγκεντρωτικά και για τα τρία δόντια, ανά ομάδα και ημέρα, όπου φαίνεται μια τάση για υψηλότερες τιμές RA% στους προγόμφιους συγκριτικά με τον κυνόδοντα. Επιπλέον δεν φαίνονται σημαντικές διαφορές μεταξύ 7^{ης} και 14^{ης} ημέρας, ανεξάρτητα της ομάδας. Η παρατήρηση ότι οι παρειακές επιφάνειες των προγομφίων καλύπτονταν από περισσότερη ΟΜΠ συγκριτικά με εκείνες των κυνοδόντων επιβεβαιώνεται και μέσω του τελικού πολυπαραγοντικού μοντέλου μικτών επιδράσεων, όπου οι προγόμφιοι παρουσιάζουν μεγαλύτερη πιθανότητα να καλύπτονται από περισσότερη ΟΜΠ συγκριτικά με τον κυνόδοντα (1^{ος} προγόμφιος: συντελεστής $b = 0,50$, 2^{ος} προγόμφιος: συντελεστής $b = 0,74$, $p < 0,001$) (Πίνακας 2.12).

Από τους υπόλοιπους δημογραφικούς - κλινικούς παράγοντες που ελέγχθησαν συμπεριλαμβανομένου και του καπνίσματος δεν φάνηκε κάποιος να έχει στατιστικά σημαντική επίδραση στις τιμές του RA% (Πίνακας 2.15).

Ανάλυση δεδομένων δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης (EHI)

Ο δείκτης EHI καταγράφηκε στις 7 και 14 ημέρες μετά τη χειρουργική του περιοδοντίου.

Κατά την 7^η μετεγχειρητική ημέρα δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων (όλα οι τιμές p στις συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων ήταν $> 0,05$) (Πίνακας 2.16). Οι διάμεσοι και τα αντίστοιχα ενδοτεταρτημοριακά εύρη (σε παρένθεση) των τιμών του δείκτη EHI ήταν 3.0 (2.0, 3.0), 3.0 (2.0, 3.0) και 2.0 (2.0, 3.0) στις ομάδες Α, Β και Γ, αντίστοιχα (μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, $p = 0,398$) (Πίνακας 2.17). Η κατανομή των τιμών του EHI ανά ομάδα (για όλα τα δόντια και τις περιοχές) παρουσιάζεται στο γράφημα 2.13.

Στις 14 ημέρες φάνηκε πως η ομάδα Γ είχε σημαντικά χαμηλότερες τιμές EHI από τη Β ($p = 0,007$) (Πίνακας 2.16). Η ομάδα Α δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές τόσο σε σχέση με τη Β ($p = 0,130$) όσο και με τη Γ ($p = 0,207$) (Πίνακας 2.16). Οι διάμεσοι και τα αντίστοιχα ενδοτεταρτημοριακά εύρη (σε παρένθεση) των τιμών του δείκτη EHI ήταν 2.0 (1.0, 3.0), 3.0 (1.0, 4.0) και 1.0 (1.0, 3.0) στις ομάδες Α, Β και Γ, αντίστοιχα (στατιστικά σημαντικές διαφορές, $p = 0,012$) (Πίνακας 2.18). Η κατανομή των τιμών του EHI ανά ομάδα (για όλα τα δόντια και τις περιοχές) παρουσιάζεται στο γράφημα 2.14. Συνεπώς, κατά τη 14^η ημέρα, η καλύτερη επούλωση (χαμηλότερες τιμές EHI) καταγράφηκε στην ομάδα Γ, ακολουθούμενη από την Α και τέλος τη Β ($\Gamma > A > B$).

Μεταξύ 7^{ης} και 14^{ης} μετεγχειρητικής ημέρας καταγράφηκε σημαντική μείωση των τιμών EHI (άρα βελτίωση της επούλωσης) στην ομάδα Α ($p < 0,001$) και ακόμα

σημαντικότερη στην ομάδα Γ ($p < 0,001$), σε αντίθεση με την ομάδα Β που δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο χρονικών σημείων ($p = 0,557$) (Πίνακας 2.19). Στο γράφημα 2.15 αποδίδεται συγκεντρωτικά (σε όλες τις μεσοδόντιες περιοχές) η κατανομή του EHI ανά ομάδα και ημέρα, όπου φαίνεται πιο καθαρά η γενικότερη μείωση των τιμών από την 7^η στην 14^η μετεγχειρητική ημέρα, ιδιαίτερα στην ομάδα Γ και ακολούθως στην ομάδα Α.

Στον πίνακα 2.20 και στα γραφήματα 2.16 – 2.19 παρουσιάζεται η αναλυτική κατανομή του EHI ανά ομάδα, ημέρα και θέση, ενώ στον πίνακα 2.21 φαίνεται η αναλυτική κατανομή του EHI ανά ομάδα και ημέρα συνολικά για όλες τις μεσοδόντιες περιοχές. Στον πίνακα 2.22 και στα γραφήματα 2.20 και 2.21 παρουσιάζονται οι διάμεσοι και τα ενδοτεταρτημοριακά εύρη των τιμών του EHI ανά ομάδα, μεσοδόντια περιοχή και ημέρα επούλωσης (7 και 14 ημέρες). Οι ενδείξεις 2/3, 3/4, 4/5, 5/6 αφορούν τις μεσοδόντιες θηλές μεταξύ πλαγίου τομέα – κυνόδοντα, κυνόδοντα – πρώτου προγόμφιου, πρώτου – δεύτερου προγόμφιου και δεύτερου προγόμφιου – πρώτου γομφίου, αντίστοιχα. Τα γραφήματα 2.20 και 2.21 εμφανίζουν μια τάση μεγαλύτερων τιμών δείκτη EHI, δηλαδή χειρότερης επούλωσης στις οπίσθιες περιοχές (3/4, 4/5, 5/6) συγκριτικά με τις πρόσθιες (2/3) ανεξάρτητα της ομάδας. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώνεται στο τελικό πολυπαραγοντικό μοντέλο διατεταγμένης λογιστικής παλινδρόμησης μικτών επιδράσεων όπου φαίνεται ότι η μετάβαση από την περιοχή 2/3 σε πιο οπίσθια περιοχή συνεπάγεται σημαντική αύξηση του κινδύνου για μεγαλύτερες τιμές EHI με $OR = 7,41$ ($p = 0,010$), $10,07$ ($p = 0,003$) και $65,48$ ($p < 0,001$) για τις περιοχές 3/4 , 4/5 και 5/6 , αντίστοιχα (Πίνακας 2.23).

Ο έλεγχος της επίδρασης διαφόρων δημογραφικών - κλινικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένου του καπνίσματος, στις τιμές του EHI δεν έδειξε ύπαρξη στατιστικής σημαντικότητας, αφού όλα τα p-values ήταν μεγαλύτερα του ορίου σημαντικότητας που ορίσαμε στη συγκεκριμένη μελέτη ($p \leq 0.05$) (Πίνακας 2.24). Ειδικά για το κάπνισμα, η κατανομή των τιμών του EHI ανάλογα με τις καπνιστικές συνήθειες του δείγματος παρουσιάζονται στους πίνακες 2.25, 2.26 και τα γραφήματα 2.22, 2.23 κατά την 7^η και 14^η μετεγχειρητική ημέρα, αντίστοιχα. Και στα δύο χρονικά σημεία δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές ως προς τις τιμές του δείκτη EHI μεταξύ καπνιστών, πρώην καπνιστών και μη καπνιστών (7^η ημέρα: $p = 0,486$, 14^η ημέρα: $p = 0,514$) (Πίνακες 2.25, 2.26).

Συσχέτιση μεταξύ PI και EHI στις 14 ημέρες

Στο γράφημα 2.24 παρουσιάζεται η κατανομή του EHI ανά επίπεδο PI, όπου φαίνεται μια μετατόπιση προς υψηλότερες τιμές δείκτη επούλωσης καθώς αυξάνονται τα επίπεδα πλάκας. Στο μοντέλο διατεταγμένης λογιστικής παλινδρόμησης μικτών επιδράσεων επιβεβαιώνεται αυτή η τάση, χωρίς να φτάνει τα όρια της στατιστικής σημαντικότητας (οριακά μη σημαντική η διαφορά μεταξύ $PI = 3$ και $PI = 1$, $p = 0,051$) (Πίνακας 2.27) Επιπλέον η σχέση μεταξύ των δύο δεικτών δεν φάνηκε να αλλάζει σημαντικά μεταξύ των τριών ομάδων στις 14 ημέρες παρακολούθησης ($p = 0,210$) (Πίνακας 2.28).

Συσχέτιση μεταξύ PI και PA% στις 14 ημέρες

Στον πίνακα 2.29 και στο γράφημα 2.25 παρουσιάζεται η κατανομή του PA% ανά επίπεδο δείκτη πλάκας (PI), όπου φαίνεται μια στατιστικά σημαντική τάση για υψηλότερες τιμές PA% καθώς αυξάνονται τα επίπεδα πλάκας (μη παραμετρική μέθοδος αξιολόγησης, p-values). Συγκεκριμένα για PI = 0 η διάμεσος του δείκτη PA% = 5,7%, ενώ για PI = 1, 2 και 3 οι αντίστοιχες τιμές του PA% ήταν 12,6%, 33,4% και 41,7% ($p < 0,001$).

Μικροβιολογικά Αποτελέσματα

Στον πίνακα 3.1 παρουσιάζονται η ποσότητα και ο αριθμός βακτηρίων του μικροβιακού φορτίου και ο δεκαδικός λογάριθμος του αριθμού των βακτηρίων ανά ομάδα σε συνάρτηση με τον δείκτη πλάκας και επούλωσης αντίστοιχα με τις επιφάνειες από τις οποίες πάρθηκαν τα δείγματα ΟΜΠ. Στην ομάδα Α καταγράφηκαν μικροβιολογικά αποτελέσματα σε όλους τους ασθενείς, ενώ στις ομάδες Β και Γ δεν υπήρχαν μικροβιολογικά δεδομένα από έξι ασθενείς (τρεις σε κάθε ομάδα). Όπως φαίνεται και στον πίνακα, υπήρχε ομοιογένεια μεταξύ των ομάδων ως προς την επιφάνεια και την ομάδα δοντιού απ'όπου συλλέχθηκαν τα δείγματα ΟΜΠ.

Η ποσότητα του μικροβιακού φορτίου (διάμεσος τιμών) ήταν 0,416ng στην ομάδα Α, 0,521ng στην ομάδα Β και 0,032ng στην ομάδα Γ (Πίνακας 3.1). Τα αντίστοιχα επίπεδα μικροβιακού φορτίου εκφρασμένα ως συνολικός αριθμός βακτηρίων ($\times 10^6$) ήταν 38.470, 48.190 και 3.020 για τις ομάδες Α, Β και Γ αντίστοιχα (Πίνακας

3.1). Οι διαφορές μεταξύ των ομάδων Α και Β δεν ήταν στατιστικά σημαντικές ($p = 0,612$) (Πίνακας 3.2). Ωστόσο η ομάδα Γ εμφάνιζε σημαντικά χαμηλότερο επίπεδο βακτηριακού φορτίου συγκριτικά με τις άλλες δύο ομάδες ($p < 0,001$) (Πίνακας 3.2). Στο γράφημα 3.1 παρουσιάζεται η κατανομή του μικροβιακού φορτίου εκφρασμένου ως δεκαδικός λογάριθμος αριθμού βακτηρίων ανά ομάδα, όπου φαίνεται ότι στις ομάδες Α και Β οι τιμές είναι υψηλότερες συγκριτικά με εκείνες της ομάδας Γ.

Αναφορικά με τις τιμές του δείκτη επούλωσης (EHI), αντίστοιχα με τις επιφάνειες που πάρθηκαν τα δείγματα, δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ($p = 0,403$) (Πίνακας 3.1). Συγκεκριμένα η διάμεσος των τιμών EHI ήταν 3, 4 και 3 στις ομάδες Α, Β και Γ, αντίστοιχα. Σε αντίθεση ο δείκτης πλάκας των επιφανειών λήψης των δειγμάτων παρουσίαζε σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων, με την διάμεσο των τιμών PI να είναι 3 στην ομάδα Α, 2 στην ομάδα Β και 1 στην ομάδα Γ ($p = 0,002$) (Πίνακας 3.1).

Συσχέτιση μεταξύ δείκτη πλάκας (PI) και μικροβιακού φορτίου

Στο γράφημα 3.2 παρουσιάζεται η κατανομή του μικροβιακού φορτίου (ως δεκαδικός λογάριθμος αριθμού βακτηρίων) ανά επίπεδο τιμών δείκτη πλάκας, όπου φαίνεται ότι η αύξηση της τιμής του δείκτη πλάκας συνεπάγεται και σημαντική αύξηση του μικροβιακού φορτίου, κάτι που επιβεβαιώνεται με το μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης (Πίνακας 3.3). Με κατηγορία αναφοράς την τιμή $PI = 1$

καταγράφηκε κατά 953,3% μεγαλύτερος αριθμός βακτηρίων για $PI = 2$ ($p = 0,002$) και κατά 1490,6% μεγαλύτερο βακτηριακό φορτίο για $PI = 3$ ($p < 0,001$).

Συσχέτιση μεταξύ μικροβιακού φορτίου και δείκτη επούλωσης (ΕΗΙ)

Στο γράφημα 3.3 παρουσιάζεται η κατανομή του μικροβιακού φορτίου (ως δεκαδικός λογάριθμος αριθμού βακτηρίων) ανά επίπεδο τιμών δείκτη επούλωσης. Η ποσότητα του μικροβιακού φορτίου δεν φάνηκε να συσχετίζεται με τις τιμές του δείκτη επούλωσης (όλα οι τιμές $p > 0,05$) (Πίνακας 3.4) κάτι που συνάδει και με τα κλινικά ευρήματα, όπου η ποσότητα της ΟΜΠ (έτσι όπως καταγράφηκε μέσω του δείκτη πλάκας) δεν συσχετίστηκε με την ποιότητα της επούλωσης.

Έλεγχος επίδρασης δημογραφικών – περιβαλλοντικών - κλινικών παραγόντων στα επίπεδα μικροβιακού φορτίου

Η ηλικία, το φύλο, η περιοχή εντόπισης του χειρουργείου (άνω – κάτω γνάθος, Πίνακας 3.5), ο επεμβαίνων μεταπτυχιακός φοιτητής (πρωτοετής ή τριτοετής, Πίνακας 3.6), το κάπνισμα και το είδος της περιοδοντικής χειρουργικής επέμβασης (εξάλειψη περιοδοντικών θυλάκων ή αποκάλυψη κλινικής μύλης ή συνδυασμός) δεν φάνηκαν να επηρεάζουν σημαντικά τα επίπεδα του μικροβιακού φορτίου. Αναλυτικότερα για το κάπνισμα παρουσιάζεται η κατανομή του μικροβιακού φορτίου (ως δεκαδικός λογάριθμος αριθμού βακτηρίων) ανάλογα με τις καπνιστικές συνήθειες των ασθενών στο γράφημα 3.4. Στο μοντέλο απλής γραμμικής παλινδρόμησης για τις διαφορές του μικροβιακού φορτίου ανάλογα με τις

καπνιστικές συνήθειες του δείγματος φαίνεται ότι τόσο οι πρώην καπνιστές όσο και οι ενεργοί καπνιστές έφεραν κατά 97,4% και 49,4%, αντίστοιχα μεγαλύτερους αριθμούς μικροβίων συγκριτικά με τα άτομα τα οποία δεν είχαν καπνίσει ποτέ, αν και οι διαφορές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές ($p = 0,624$ και $0,538$ για πρώην και ενεργούς καπνιστές, αντίστοιχα) (Πίνακας 3.7). Τέλος, αναφορικά με το είδος της περιοδοντικής χειρουργικής επέμβασης καταγράφηκε οριακά σημαντική διαφορά στα επίπεδα μικροβιακού φορτίου με την αποκάλυψη κλινικής μύλης να πλεονεκτεί (κατά 75,3% χαμηλότερο μικροβιακό φορτίο) έναντι της εξάλειψης θυλάκων ($p = 0,043$) (Πίνακας 3.8).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη συγκεκριμένη τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη διπλά τυφλή κλινική μελέτη αξιολογήθηκε και συγκρίθηκε η αποτελεσματικότητα στοματικών διαλυμάτων χλωρεξιδίνης (CHX) με και χωρίς αιθυλική αλκοόλη καθώς και διαλύματος με τον δραστικό παράγοντα C31G στον μετεγχειρητικό έλεγχο της ΟΜΠ και στην πρώιμη επούλωση των ούλων μετά από εφαρμογή συμβατικής χειρουργικής του περιοδοντίου.

Αναφορικά με την αποτελεσματικότητα των στοματικών διαλυμάτων στον μετεγχειρητικό έλεγχο της ΟΜΠ, έτσι όπως καταγράφηκε μέσω του δείκτη πλάκας (PI) φάνηκε πως το πιο αποτελεσματικό διάλυμα ήταν αυτό της CHX σε συνδυασμό με αιθανόλη (Ομάδα Γ). Ακολουθούσε το διάλυμα χλωρεξιδίνης χωρίς αιθυλική αλκοόλη (Ομάδα Β) και τέλος το λιγότερο αποτελεσματικό ήταν το διάλυμα με τον παράγοντα C31G (Ομάδα Γ). Σύγκριση διαλυμάτων CHX με και χωρίς αιθανόλη στην δυνατότητα μετεγχειρητικού ελέγχου της ΟΜΠ έχει πραγματοποιηθεί από τους Olsson και συν. (2012), όπου δεν καταγράφηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο σκευασμάτων. Ωστόσο αυτή η μελέτη ήταν πιλοτική, συμμετείχε σχετικά μικρό δείγμα ασθενών και τα άτομα που συμπεριλήφθησαν έλαβαν σταδιακά και τα δύο εξεταζόμενα στοματικά διαλύματα χωρίς ενδιάμεση περίοδο αποχής, γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο αλλοίωσης των αποτελεσμάτων λόγω αλληλοεπικάλυψης των δράσεων των δύο σκευασμάτων. Επίσης στη δική μας μελέτη καταγράφηκε σημαντικά μεγαλύτερη ποσότητα ΟΜΠ στους προγόμφιους συγκριτικά με τους κυνόδοντες καθώς και περισσότερη ΟΜΠ στις όμορες επιφάνειες των υπό εξέταση δοντιών συγκριτικά με τις παρειακές / υπερώιες / γλωσσικές επιφάνειες, ευρήματα

που συνάδουν και με εκείνα άλλων μελετών (Caton και συν. 1993, Furuichi και συν. 1992). Από τους υπόλοιπους δημογραφικούς – περιβαλλοντικούς παράγοντες που ελέγχθησαν μόνο το κάπνισμα φάνηκε να σχετίζεται σε σημαντικό βαθμό με την ποσότητα της ΟΜΠ. Συγκεκριμένα οι καπνιστές εμφάνιζαν περίπου 20 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να έχουν σημαντικά περισσότερη ΟΜΠ (δηλαδή υψηλότερες τιμές δείκτη πλάκας) συγκριτικά με τους μη καπνιστές (OR = 20,41). Η συσχέτιση ΟΜΠ και καπνίσματος σε κλινικό επίπεδο έχει διερευνηθεί σε αρκετές μελέτες με τα ευρήματα να είναι αντικρουόμενα. Άλλες μελέτες ανιχνεύουν υψηλότερα ποσοστά ΟΜΠ στους καπνιστές σε σχέση με τους μη καπνιστές (Ainamo 1971, Preber 1980, Müller και συν. 2002) ενώ άλλες δεν βρίσκουν σημαντικές διαφορές (Swenson 1979, Bergstrom και Preber 1986, Chen και συν. 2001, Salvi και συν. 2005). Πάντως δεν έχει προταθεί κάποιος συγκεκριμένος παθογενετικός μηχανισμός και οι διαφορές που έχουν καταγραφεί αποδίδονται κυρίως στην πλημμελέστερη στοματική υγιεινή που γενικά εφαρμόζουν οι καπνιστές. Βέβαια στην παρούσα μελέτη οι ασθενείς απείχαν από διαδικασίες μηχανικής απομάκρυνσης της ΟΜΠ και χρησιμοποιούσαν μόνο το στοματικό διάλυμα που τους είχε δοθεί σύμφωνα με τις προκαθορισμένες οδηγίες. Ωστόσο, πιθανώς οι καπνιστές και λόγω του γεγονότος ότι είναι πιο αμελείς στην εφαρμογή στοματικής υγιεινής μπορεί να μην τηρούσαν επακριβώς το πρωτόκολλο χημικού ελέγχου της ΟΜΠ τόσο σε επίπεδο συχνότητας όσο και ποσότητας εφαρμογής. Εξάλλου οι Horwitz και συν. (2000) σε μια μελέτη σύγκρισης δύο στοματικών διαλυμάτων που χορηγήθηκαν ως μέρος του μετεγχειρητικού πρωτοκόλλου ελέγχου της ΟΜΠ μετά από χειρουργική του περιοδοντίου διαπίστωσαν ότι κατά μέσο όρο οι ασθενείς είχαν χρησιμοποιήσει μόλις το 45% της ποσότητας του εκάστοτε στοματικού

διαλύματος που τους είχε αρχικά χορηγηθεί, χωρίς όμως να αναφέρουν πληροφορίες σχετικά με τις καπνιστικές συνήθειες του δείγματός τους.

Αναφορικά με τα ποσοστά της οδοντικής επιφάνειας που καλυπτόταν από ΟΜΠ (δείκτης PA%), έτσι όπως αξιολογήθηκαν μέσω ψηφιακής επεξεργασίας κλινικών φωτογραφιών των περιοχών που πραγματοποιήθηκαν οι επεμβάσεις, φάνηκε ότι η CHX σε συνδυασμό με αιθανόλη ήταν το πιο αποτελεσματικό διάλυμα, ακολουθούμενο από το διάλυμα CHX χωρίς αιθανόλη (χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά με το πρώτο) και τέλος το διάλυμα C31G ήταν σημαντικά υποδεέστερο των άλλων δύο. Επίσης στους προγόμφιους καταγράφηκαν σημαντικά μεγαλύτερες τιμές PA% συγκριτικά με τους κυνόδοντες. Τα αποτελέσματα συνάδουν και με εκείνα που καταγράφηκαν μέσω του δείκτη πλάκας (PI) στις 14 ημέρες. Μάλιστα η συσχέτιση μεταξύ δείκτη πλάκας και PA% έδειξε πως για κάθε αύξηση της τάξης μεγέθους του δείκτη PI, αντίστοιχα με τις παρειακές επιφάνειες των δοντιών, υπήρχε σημαντική αύξηση των τιμών του δείκτη PA%, επιβεβαιώνοντας ουσιαστικά την ορθότητα των μετρήσεων. Από τους δημογραφικούς – περιβαλλοντικούς παράγοντες που ελέγχθησαν, συμπεριλαμβανομένου και του καπνίσματος, δεν φάνηκε κάποιος να επηρεάζει τις τιμές του δείκτη PA%. Η τεχνική που χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση του ποσοστού της παρειακής επιφάνειας των υπό εξέταση δοντιών που καλυπτόταν από ΟΜΠ έχει χρησιμοποιηθεί και σε άλλες μελέτες (Pretty και συν. 2005, Sagel και συν. 2000). Η αξιολόγηση αφορούσε μόνο στις παρειακές επιφάνειες των δοντιών, οι οποίες όπως είδαμε παραπάνω εμφάνιζαν τα χαμηλότερα ποσοστά ΟΜΠ (σύμφωνα με τον δείκτη πλάκας PI). Επιπλέον βασική αδυναμία της παρούσας μελέτης αποτελεί το γεγονός ότι η

διαδικασία λήψης των κλινικών φωτογραφιών δεν είχε τυποποιηθεί μέσω της κατασκευής κάποιου εξατομικευμένου νάρθηκα δήξης ή της χρήσης κεφαλοστάτη και της σταθερής θέσης της φωτογραφικής μηχανής (π.χ. πάνω σε ειδικά κατασκευασμένο τρίποδο) που θα εξασφάλιζαν ίδιες συνθήκες φωτογράφισης σε όλους τους ασθενείς και επαναληψιμότητα των μετρήσεων. Αυτά ίσως εξηγούν το γεγονός ότι δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των μετρήσεων στις 7 και 14 ημέρες μέσα στην κάθε ομάδα, καθώς και το ότι το κάπνισμα δεν επηρέασε σημαντικά τις τιμές του δείκτη PA% (σε αντίθεση με τον δείκτη πλάκας).

Αναφορικά με την μετεγχειρητική επούλωση των ούλων, έτσι όπως αξιολογήθηκε μέσω του δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης (EHI) τα αποτελέσματα έδειξαν πως κατά την 7^η μετεγχειρητική ημέρα δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών ομάδων. Κατά τη 14^η μετεγχειρητική ημέρα φάνηκε πως ο συνδυασμός CHX και αιθανόλης (Ομάδα Γ) οδήγησε σε σημαντικά καλύτερη επούλωση συγκριτικά με τη χρήση CHX άνευ αιθανόλης (Ομάδα Β). Το διάλυμα C31G (Ομάδα Α) ήταν εξίσου αποτελεσματικό με τα διαλύματα CHX (αν και ανώτερο χωρίς στατιστική σημαντικότητα του διαλύματος CHX χωρίς αιθανόλη). Επιπλέον ενδιαφέρον ήταν το εύρημα ότι από τις 7 στις 14 ημέρες υπήρξε σημαντική βελτίωση των τιμών του δείκτη EHI σε όλες τις ομάδες εκτός από εκείνη της CHX χωρίς αιθανόλη. Ο δείκτης EHI που χρησιμοποιήθηκε στη συγκεκριμένη μελέτη έχει χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν και σε άλλες μελέτες, οι οποίες κατά βάσει αξιολογούσαν στις μεσοδόντιες περιοχές την αποτελεσματικότητα περιοδοντικών αναπλαστικών τεχνικών (έχοντας ως ομάδα ελέγχου ασθενείς που έλαβαν την χειρουργική τεχνική χωρίς την εφαρμογή του εκάστοτε αναπλαστικού υλικού) και όχι στοματικών

διαλυμάτων (Wachtel και συν. 2003, Farina και συν. 2013). Η μοναδική μελέτη όπου έχει χρησιμοποιηθεί ο δείκτης EHI για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας αλκοολούχων στοματικών διαλυμάτων CHX (με και χωρίς φυτικά εκχυλίσματα κατά της πρόκλησης χρωστικών) στην μετεγχειρητική επούλωση των περιοδοντικών ιστών μετά από τεχνικές συμβατικής χειρουργικής του περιοδοντίου είναι αυτή των Laugisch και συν. (2016). Οι ασθενείς εφήρμοζαν μετά την 3^η μετεγχειρητική ημέρα και μηχανικές διαδικασίες απομάκρυνσης της ΟΜΠ. Συνεπώς τα ευρήματα δεν μπορούν να συγκριθούν με αυτά της παρούσας μελέτης. Ο δείκτης EHI ενέχει μια υποκειμενικότητα κυρίως στο διαχωρισμό των τιμών 2 και 3 (λεπτή γραμμή ινικής ή θρόμβος ινικής) αλλά παρέχει τη δυνατότητα αξιολόγησης της μετεγχειρητικής επούλωσης στις μεσοδόντιες περιοχές, που είναι οι περιοχές ενδιαφέροντος, με λίγα κριτήρια μειώνοντας τον κίνδυνο λάθους εκτίμησης λόγω πολυπλοκότητας. Οι διάφοροι δείκτες που κατά καιρούς έχουν χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση της πορείας της επούλωσης των μαλακών ιστών στηρίζονται στην ταυτόχρονη καταγραφή αρκετών κλινικών σημείων, όπως η απόχρωση των ιστών, το περίγραμμα των χειλέων του τραύματος (φυσιολογικό, υπερπλαστικό, ατροφικό), η ύπαρξη οιδήματος, κοκκιώδους ιστού ή εσχάρων νέκρωσης, η διάνοιξη ή μη των κρημνών, καθιστώντας τους είτε αρκετά αδρούς είτε πολύπλοκους και άρα δύσχρηστους κατά τη διαδικασία της αξιολόγησης (Dentino και συν. 1995, Dastoor και συν. 2007). Από τις διάφορες άλλες παραμέτρους που αξιολογήθηκαν, όπως η εντόπιση της περιοχής που διενεργήθηκε η επέμβαση (άνω ή κάτω γνάθος), το είδος της χειρουργικής επέμβασης (εξάλειψη θυλάκων ή αποκάλυψη κλινικής μύλης), η εμπειρία του επεμβαίνοντος (πρωτοετής ή τριτοετής μεταπτυχιακός φοιτητής) και το κάπνισμα, δεν φάνηκε κάποιος να επηρέασε σε σημαντικό βαθμό

τα αποτελέσματα της πρώιμης ιστικής επούλωσης. Το είδος της χειρουργικής επέμβασης έχει φανεί σε άλλες μελέτες να επηρεάζει την μετεγχειρητική νοσηρότητα σε επίπεδο αιμορραγίας, οιδήματος, πόνου και γενικότερα κάκωσης των ιστών. Μάλιστα η μετά κρημνού ριζική απόξεση (σε συνδυασμό με χειρουργική του οστού) έχει συνδυαστεί με σημαντικά μεγαλύτερη μετεγχειρητική νοσηρότητα και χρόνο αποδρομής των επώδυνων συμπτωμάτων συγκριτικά με τη χειρουργική αποκάλυψη κλινικής μύλης και την τοποθέτηση οδοντικών εμφυτευμάτων (Canakci και Canakci 2007, Tan και συν. 2014). Η εμπειρία του χειρουργού είναι ένας παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει την μετεγχειρητική επούλωση των μαλακών ιστών (ανάλογα με το πόσο τραυματικός θα είναι ο διεγχειρητικός χειρισμός των ιστών), αλλά συνήθως οι συγκρίσεις αφορούν κλινικούς με σημαντική διαφορά στην εμπειρία, όπως π.χ. ένας περιοδοντολόγος με πάνω από 5 έτη κλινικής εμπειρίας (Tan και συν. 2014) συγκριτικά με έναν μεταπτυχιακό φοιτητή Περιοδοντολογίας. Στην παρούσα μελέτη οι διαφορές ως προς την εμπειρία των επεμβαίνοντων ήταν πολύ μικρές και γι αυτό δεν καταγράφηκε κάποια συσχέτιση με την ιστική επούλωση. Ένας ακόμη παράγοντας που έχει συσχετιστεί με την μετεγχειρητική νοσηρότητα και πορεία της επούλωσης των μαλακών ιστών και δεν αξιολογήθηκε στη δική μας μελέτη είναι το χρονικό διάστημα που απαιτείται για την ολοκλήρωση της χειρουργικής πράξης. Γενικότερα η αύξηση του διεγχειρητικού χρόνου έχει συνδυαστεί με περισσότερο οίδημα και κάκωση των περιοδοντικών ιστών μετεγχειρητικά. Μάλιστα οι Tan και συν. (2014) κατέγραψαν σημαντικά περισσότερο μετεγχειρητικό οίδημα και κακουχία της περιοχής (αιματώματα) όταν η χειρουργική επέμβαση ξεπερνούσε σε διάρκεια την μία ώρα, συγκριτικά με επεμβάσεις μικρότερης διάρκειας.

Το κάπνισμα αποτελεί έναν παράγοντα που επηρεάζει δυσμενώς τις διαδικασίες επούλωσης των περιοδοντικών ιστών τόσο βραχυπρόθεσμα (πρώιμη μετεγχειρητική περίοδος – επούλωση τραύματος) όσο και μακροπρόθεσμα (κέρδος κλινικής πρόσφυσης, μείωση βάθους περιοδοντικών θυλάκων). Το μονοξείδιο του άνθρακα και άλλα χημικά προϊόντα που απελευθερώνονται κατά τη διάρκεια του καπνίσματος οδηγούν σε αγγειοσύσπαση και μείωση της αιματικής ροής στα τριχοειδή αγγεία διαφόρων ιστών συμπεριλαμβανομένων και των ούλων. Ακόμη και η κατανάλωση ενός τσιγάρου μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της ταχύτητας αιματικής ροής στα τριχοειδή αγγεία κατά 40% μέσα σε μία ώρα (Balaji και συν. 2008). Ο ακριβής μηχανισμός μέσω του οποίου το κάπνισμα μπορεί να επηρεάσει την επούλωση ενός τραύματος είναι άγνωστος. Ωστόσο χημικές ουσίες που συνδέονται με τον καπνό και το κάπνισμα, όπως η νικοτίνη, η κοτινίνη, το μονοξείδιο του άνθρακα και το υδροκυάνιο είναι τοξικές για διάφορα κύτταρα που σχετίζονται με την ιστική επούλωση. In vitro μελέτες έχουν δείξει ότι η νικοτίνη αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των ουλικών ινοβλαστών καθώς και τη σύνθεση ινονεκτίνης και κολλαγόνου τύπου I από αυτές, ενώ ταυτόχρονα οδηγεί σε αύξηση της δραστηριότητας ενζύμων που σχετίζονται με την αποδόμηση του κολλαγόνου (Trypton και Dabbous 1995). Πέρα από τις ινοβλάστες μειώνεται και ο πολλαπλασιασμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων και των μακροφάγων, κυττάρων που μεταφέρουν απαραίτητα συστατικά για τη δημιουργία υγιούς ουλώδους συνδετικού ιστού στην περιοχή του τραύματος (Sherwin and Gastwirth, 1990). Τα ερυθρά αιμοσφαίρια με την αιμοσφαιρίνη και τη μεταφορά οξυγόνου μέσω αυτής διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στις διαδικασίες της επούλωσης. Όμως το μονοξείδιο του άνθρακα παρουσιάζει 200 φορές μεγαλύτερη δεσμευτική συγγένεια

με την αιμοσφαιρίνη συγκριτικά με το οξυγόνο και άρα καταλαμβάνει τη θέση του τελευταίου. Αυτό συνεπάγεται σημαντική μείωση της ποσότητας του οξυγόνου που τελικά φθάνει στους περιφερικούς ιστούς (όπως τα ούλα) και κατ'επέκταση κυτταρική υποξία και ελαττωματική ιστική επούλωση (Sherwin και Gastwirth 1990). Επιπλέον στοιχεία καταδεικνύουν ότι το κάπνισμα μειώνει τον πολλαπλασιασμό και την μετανάστευση των επιθηλιακών κυττάρων προάγοντας ταυτόχρονα τις διαδικασίες απόπτωσής τους μέσω μείωσης της δραστηριότητας της κασπάσης-3 (Semlali και συν. 2011). Η επιθηλιοποίηση του τραύματος επηρεάζεται και μέσω ενός δεύτερου μηχανισμού. Η νικοτίνη προκαλεί αγγειοσύσπαση στα τριχοειδή αγγεία του δέρματος και των βλεννογόνων. Η αγγειοσύσπαση αυτή είναι αποτέλεσμα της απελευθέρωσης επινεφριδιακών και περιφερικών κατεχολαμινών, οι οποίες με τη σειρά τους πυροδοτούν την απελευθέρωση κάποιων άλλων ορμονών (στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρονται ως «chalone hormones») που επιβραδύνουν και μειώνουν το ρυθμό της επιθηλιοποίησης του τραύματος (μέσω αναστολής της διαδικασίας της μίτωσης των επιθηλιακών κυττάρων) (Mosely και συν. 1978). Στις αρνητικές δράσεις της νικοτίνης πρέπει να προστεθεί η αύξηση της συγκολλητικότητας των αιμοπεταλίων που οδηγεί σε δημιουργία μικροθρόμβων και μείωση της μικροδιάχυσης. Αυτή η μειωμένη μικροδιάχυση οδηγεί σε θρομβωτική απόφραξη των τριχοειδών αγγείων και τελικά σε ιστική ισχαιμία (Mosely και Finseth 1977). Αρνητική δράση στις διαδικασίες της επούλωσης παρουσιάζει και το υδροκυάνιο που εμπεριέχεται στα έκδοχα του καπνού, το οποίο αναστέλλει ενζυμικά συστήματα απαραίτητα για τον οξειδωτικό μεταβολισμό που με τη σειρά του είναι καθοριστικής σημασίας για την επιδιόρθωση των κυττάρων μετά τον ιστικό τραυματισμό (Mosely και Finseth 1977).

Στην παρούσα μελέτη το κάπνισμα δεν φάνηκε να επηρεάζει σε σημαντικό βαθμό τη διαδικασία της ιστικής επούλωσης. Η επίδραση του καπνίσματος στην επούλωση των ούλων κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο μετά από συμβατική χειρουργική του περιοδοντίου δεν έχει διερευνηθεί σε άλλες μελέτες μέχρι σήμερα. Ωστόσο, θετικό στοιχείο της παρούσας μελέτης είναι το γεγονός ότι υπήρχε ομοιογένεια μεταξύ των ομάδων ως προς τον αριθμό των καπνιστών.

Εν συνεχεία, ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι τα διαλύματα που περιείχαν αιθανόλη και μάλιστα σε παρόμοιες περιεκτικότητες (ανεξαρτήτως της κύριας δραστικής ουσίας του διαλύματος - CHX ή C31G) φάνηκαν σχεδόν εξίσου αποτελεσματικά στην μετεγχειρητική επούλωση, ενώ το διάλυμα που στερούνταν αιθυλικής αλκοόλης ήταν κατώτερο. Από τη μια πλευρά έχουν αναφερθεί αρκετά προβλήματα με τη χρήση της αιθυλικής αλκοόλης στα στοματικά διαλύματα, συμπεριλαμβανομένου και του ενδεχόμενου κινδύνου εμφάνισης κακοήθων νεοπλασιών του στοματοφαρυγγικού συστήματος και έχουν προταθεί αντίστοιχοι παθογενετικοί μηχανισμοί από *in vitro* μελέτες, όπως η αύξηση των επιπέδων ακεταλδεϋδης (που αποτελεί τον κύριο τοξικό μεταβολίτη της αιθανόλης) (Lachenmeier και συν. 2009), η οποία ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις δρα κυτταροτοξικά στις ινοβλάστες των ούλων (Roggi και συν. 2003) και του στοματικού βλενογόνου ενώ παράλληλα μπορεί να επιφέρει σημειακές μεταλλάξεις στο DNA και να οδηγήσει σε καρκινογένεση (Cheng και συν. 2003, Hecht και συν. 2001, Wang και συν. 2000). Από την άλλη πλευρά, αρκετά επιβαρυντικά στοιχεία για την αιθανόλη προέρχονται κυρίως από επιδημιολογικές μελέτες, όπου εξετάστηκαν στοματικά διαλύματα με αρκετά υψηλές περιεκτικότητες σε αιθυλική αλκοόλη (>20-

25%), τα οποία χρησιμοποιούνταν σχεδόν σε καθημερινή βάση για μεγάλα χρονικά διαστήματα (> 6 μήνες). Ωστόσο τα περισσότερα σύγχρονα σκευάσματα (συμπεριλαμβανομένων και αυτών που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη) φέρουν πολύ χαμηλότερες συγκεντρώσεις αιθανόλης και χορηγούνται για πολύ μικρότερα χρονικά διαστήματα (περίπου 15 ημέρες, όπως στην παρούσα μελέτη). Επιπρόσθετα, γενικά η αλκοόλη λειτουργεί ως διαλύτης για άλλα συστατικά και συνεπώς αποτελεί σταθεροποιητικό παράγοντα του διαλύματος (Brexh και συν. 2003, Overholser και συν. 1990). Ακριβώς γι αυτό το λόγο, ακόμη και τα στοματικά διαλύματα που δεν περιέχουν αιθανόλη φέρουν κάποια άλλη αλκοόλη, συνηθέστερα την ξυλιτόλη. Αναφορικά με τις αντιμικροβιακές ιδιότητες της αιθανόλης τα στοιχεία είναι αντικρουόμενα. Υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν ότι στερείται αντιμικροβιακής δράσης τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* (Gjeramo και συν. 1970) και άλλες που αναφέρουν ότι μπορεί να αναστείλει την ανάπτυξη βιοϋμενίων ΟΜΠ μόνο σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις (40% κατ'όγκον) και με μεγάλη συχνότητα εφαρμογής (6 φορές/ημέρα), ενώ σε συνηθισμένες συγκεντρώσεις (γύρω στο 10%) δεν παρουσιάζει σημαντική αντιμικροβιακή δράση (Sissons και συν. 1996). Τα ευρήματα της συγκεκριμένης μελέτης υποδηλώνουν ότι ίσως η ύπαρξη της αιθυλικής αλκοόλης καθιστά αποτελεσματικότερα τα διαλύματα σε επίπεδο μετεγχειρητικής επούλωσης των μαλακών ιστών. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με το εύρημα της μελέτης των Boissic και συν. (2006), οι οποίοι συνέκριναν *ex vivo* την επίδραση δύο διαφορετικών στοματικών διαλυμάτων CHX με και χωρίς αιθανόλη στον πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων και την ικανότητα των ουλικών ινοβλαστών να συνθέτουν κολλαγόνο. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ύπαρξη της αιθυλικής αλκοόλης όχι μόνο δεν οδήγησε σε διαφοροποίηση των

προαναφερόμενων διαδικασιών (σε αντίθεση με το διάλυμα CHX χωρίς αλκοόλη που λειτούργησε ανασταλτικά) αλλά μπορούσε να προάγει και τη διαδικασία της ιστικής επούλωσης.

Στην παρούσα μελέτη η μη ανίχνευση σημαντικών διαφορών μεταξύ των τριών ομάδων (αναφορικά με την επούλωση των ούλων) τις πρώτες 7 μετεγχειρητικές ημέρες ίσως σχετίζεται με την παρουσία των ραμμάτων, τα οποία συγκρατούν τους κρημνούς στη θέση τους και κατά μία έννοια κατευθύνουν τη διαδικασία της επούλωσης των μαλακών ιστών. Το γεγονός ότι όλες οι ομάδες, εκτός της Β, παρουσίασαν βελτίωση της επούλωσης από την 7^η στη 14^η μετεγχειρητική ημέρα ίσως εξηγείται από την παρουσία της αιθανόλης στα αντίστοιχα διαλύματα. Συνεπώς, ενώ κατά τις πρώτες 7 μετεγχειρητικές ημέρες και επί παρουσίας των ραμμάτων η αιθανόλη δεν φαίνεται να σχετίζεται με την επούλωση των μαλακών ιστών, μετά την αφαίρεση των ραμμάτων και για τις επόμενες 7 μετεγχειρητικές ημέρες (κατά τη 14^η ημέρα) ίσως να προάγει τη διαδικασία της ιστικής επούλωσης.

Στην παρούσα μελέτη έγινε προσπάθεια σύνδεσης του μετεγχειρητικού ελέγχου της ΟΜΠ με τα αποτελέσματα της πρώιμης ιστικής επούλωσης των περιοδοντικών ιστών. Η συσχέτιση μεταξύ δείκτη πλάκας (PI) αντίστοιχα με τις όμορες επιφάνειες των δοντιών και δείκτη επούλωσης (EHI) δεν ήταν στατιστικά σημαντική, ωστόσο καταγράφηκε μια τάση για υψηλότερες τιμές δείκτη EHI (χειρότερη επούλωση) καθώς αυξάνονταν οι τιμές του δείκτη πλάκας. Όπως γνωρίζουμε υπάρχουν στοιχεία τόσο από ιστολογικές μελέτες σε πειραματόζωα (Hamp και συν. 1975) όσο και από κλινικές μελέτες (Rosling και συν. 1976a, Westfelt και συν. 1983a) που καταδεικνύουν τη σημασία του μετεγχειρητικού ελέγχου της ΟΜΠ στην προαγωγή

των διακασιών ιστικής επούλωσης και στην επιτυχή έκβαση της χειρουργικής του περιοδοντίου σε επίπεδο βραχυπρόθεσμης (3-6 μήνες) και μακροπρόθεσμης (≥ 1 έτος) διατήρησης του θεραπευτικού αποτελέσματος (κέρδος κλινικής πρόσφυσης, εξάλειψη / μείωση βάθους περιοδοντικών θυλάκων, απουσία φλεγμονής των ούλων). Μάλιστα σε μια μεγάλης έκτασης αναδρομική μελέτη (Powell και συν. 2005) φάνηκε ότι η χρήση CHX ως μέσο ελέγχου της ΟΜΠ κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο (τις πρώτες εβδομάδες) οδήγησε σε μικρότερο επιπολασμό μικροβιακής επιμόλυνσης και εμφάνισης μετεγχειρητικών επιπλοκών της χειρουργημένης περιοχής (1,89% VS 3,27%, αντίστοιχα με και χωρίς εφαρμογή CHX). Ωστόσο δεν υπάρχουν ευρήματα μελετών που να έχουν συνδυάσει τα επίπεδα ΟΜΠ με την ποιότητα της επούλωσης των μαλακών ιστών σε τόσο σύντομο μετεγχειρητικό χρονικό διάστημα (κατά τη διάρκεια των πρώτων δύο εβδομάδων). Συνδυάζοντας τα παραπάνω στοιχεία με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης θα μπορούσαμε να πούμε ότι ίσως το χρονικό διάστημα αξιολόγησης της επούλωσης ήταν πολύ μικρό για να ανιχνευθεί σημαντικότερη συσχέτιση μεταξύ ποσότητας ΟΜΠ και ποιότητας ιστικής επούλωσης.

Εκτός από τα κλινικά και τα μικροβιολογικά ευρήματα της παρούσας μελέτης συνηγορούν υπέρ της ανωτερότητας του διαλύματος χλωρεξιδίνης με αιθανόλη στον μετεγχειρητικό έλεγχο της μικροβιακής πλάκας συγκριτικά με τα δύο άλλα στοματικά διαλύματα. Τα αποτελέσματα της ποσοτικής PCR πραγματικού χρόνου έδειξαν ότι το συνολικό βακτηριακό φορτίο ήταν σημαντικά χαμηλότερο στην ομάδα της χλωρεξιδίνης με αιθανόλη, ενώ οι διαφορές μεταξύ των άλλων δύο ομάδων ήταν στατιστικά μη σημαντικές. Η PCR, σε αντίθεση με άλλες μοριακές

τεχνικές ανίχνευσης αλληλουχιών DNA, αποτελεί μια μέθοδο που χαρακτηρίζεται από υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα με ικανότητα ανίχνευσης ελάχιστου μικροβιακού φορτίου (ακόμη και 3-5 κυττάρων) ενώ παράλληλα ο κίνδυνος διασταυρούμενης αντιδραστικότητας με κύτταρα μη στόχους και άρα εμφάνισης ψευδών αποτελεσμάτων είναι εξαιρετικά χαμηλός (Zambon και Haraszthy 1995). Η πραγματικού χρόνου ποσοτική PCR δίνει το πλεονέκτημα της ποσοτικοποίησης συγκεκριμένων αλληλουχιών-στόχων ενώ ταυτόχρονα η μέτρηση της ποσότητας του προϊόντος πραγματοποιείται καθ' όλη τη διάρκεια της αντίδρασης, μέσω της παρακολούθησης της αύξησης του φθορισμού κάποιας φθορίζουσας ουσίας (εδώ SYBR Green I). Στη συγκεκριμένη μελέτη αξιολογήθηκε μόνο το συνολικό βακτηριακό φορτίο μέσω γενικών εκκινητών και όχι συγκεκριμένα μικροβιακά στελέχη. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με άλλες μελέτες όπου επιδιώκεται η ανίχνευση και ποσοτικοποίηση συγκεκριμένων περιοδοντοπαθογόνων που σχετίζονται με την βαρύτητα και εξέλιξη της περιοδοντικής νόσου (Chen και Slots 1999), την αποτελεσματικότητα της περιοδοντικής θεραπείας (Jervøe-Storm και συν. 2007) ή εμφανίζονται σε υψηλότερα επίπεδα σε καπνιστές με περιοδοντίτιδα (Guglielmetti και συν. 2014). Ωστόσο σε αυτές τις μελέτες πραγματοποιείται λήψη δειγμάτων υποουλικής ΟΜΠ από περιοδοντικούς θυλάκους όπου επικρατούν κυρίως αναερόβιες συνθήκες και συνεπώς ανιχνεύονται βακτήρια όπως *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* που η παρουσία και τα επίπεδά τους έχουν συσχετιστεί με τα στάδια και την θεραπεία της περιοδοντικής νόσου. Στη δική μας μελέτη πάρθηκαν δείγματα υπερουλικής ΟΜΠ όπου επικρατούν κυρίως αερόβιες συνθήκες και για αυτό αναμένουμε κυρίως την ανίχνευση κατά βάσει στρεπτόκοκκων και

λακτοβάκιλλων. Επιπλέον δεν υπάρχουν στοιχεία που να έχουν συνδέσει την εξέλιξη της πρώιμης μετεγχειρητικής επούλωσης (πρώτες 2 μετεγχειρητικές εβδομάδες) των ούλων με συγκεκριμένα είδη μικροβίων. Συνεπώς αυτό που κυρίως ενδιέφερε ήταν η αξιολόγηση της ικανότητας του κάθε εξεταζόμενου στοματικού διαλύματος να ελέγχει το συνολικό μικροβιακό φορτίο στην περιοχή που δεν πραγματοποιούνταν διαδικασίες μηχανικής απομάκρυνσης της ΟΜΠ μετά τη διενέργεια χειρουργικής του περιοδοντίου. Αδυναμία της μελέτης αποτελεί ίσως το γεγονός ότι οι γενικοί εκκινητές (universal primers) που χρησιμοποιήθηκαν μπορούν να ανιχνεύσουν περίπου 50 διαφορετικά βακτηριακά είδη (ίσως βέβαια και αρκετά παραπάνω διότι οι εκκινητές ανιχνεύουν το γονίδιο που κωδικοποιεί για την 16S ριβοσωμική υπομονάδα η οποία είναι συντηρημένη σε πολλά διαφορετικά βακτηριακά είδη), αριθμό αρκετά χαμηλό αν αναλογιστεί κανείς ότι στη στοματική κοιλότητα έχουν ανιχνευθεί σχεδόν 900 διαφορετικά είδη μικροβίων (Aas και συν. 2005, Wade 2011). Επιπλέον οι εκκινητές (primers) που χρησιμοποιήθηκαν εδώ μειονεκτούν ως προς την ανίχνευση κάποιων συγκεκριμένων βακτηριακών οικογενειών, όπως τα χλαμύδια και οι σπειροχαίτες (Nadkarni και συν. 2002). Εν τούτοις και άλλα ζεύγη γενικών εκκινητών που έχουν χρησιμοποιηθεί σε άλλες μελέτες δεν μπορούν να ανιχνεύσουν μεγαλύτερο εύρος βακτηριακών ειδών ή είναι σχεδιασμένοι για να ανιχνεύουν συγκεκριμένες βακτηριακές οικογένειες ή γένη (Horz και συν. 2005, Kirakodu και συν. 2008). Επίσης όσο μεγαλώνει το μέγεθος του προϊόντος πολλαπλασιασμού (amplicon) του εκκινητή τόσο μειώνεται η ευαισθησία και η ειδικότητά του. Από την άλλη πλευρά το ζεύγος εκκινητών που χρησιμοποιήθηκε στη δική μας μελέτη μπορούσε να ανιχνεύσει μια μεγάλη ποικιλία Gram θετικών και αρνητικών βακτηρίων, τόσο αερόβιων όσο και αναερόβιων,

(Nadkarni και συν. 2002) αντιπροσωπευτικών του μικροβιακού φορτίου της υπερουλικής ΟΜΠ. Ωστόσο, τουλάχιστον από όσο γνωρίζουμε μέχρι του παρόντος δεν υπάρχει άλλη μελέτη που να έχει αξιολογήσει τα επίπεδα του συνολικού υπερουλικού μικροβιακού βακτηριακού φορτίου με τη συγκεκριμένη τεχνική και συνεπώς τα ευρήματα δεν είναι συγκρίσιμα με εκείνα άλλων μελετών. Επίσης έγινε προσπάθεια συσχέτισης των κλινικών με τα μικροβιολογικά ευρήματα όπου φάνηκε ότι η αύξηση των τιμών του δείκτη πλάκας (PI) συνεπαγόταν και σημαντικά μεγαλύτερη αύξηση του συνολικού βακτηριακού φορτίου στοιχείο που μάλλον ήταν αναμενόμενο. Ωστόσο το μικροβιακό φορτίο δεν συσχετίστηκε με την ποιότητα της ιστικής επούλωσης (δείκτης ΕΗΙ). Αυτό έρχεται σε συμφωνία με τα κλινικά ευρήματα όπου δεν ανιχνεύθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του δείκτη πλάκας και της πρώιμης ιστικής επούλωσης. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι δεν ανιχνεύθηκε σημαντική επίδραση του καπνίσματος στα επίπεδα του μικροβιακού φορτίου εν αντιθέσει με τα κλινικά ευρήματα όπου το κάπνισμα φάνηκε να οδηγεί σε συσσώρευση μεγαλύτερης ποσότητας ΟΜΠ (έτσι όπως καταγράφηκε μέσω του δείκτη πλάκας). Το εύρημα αυτό ίσως μπορεί να αποδοθεί στο ότι πάρθηκε μόνο ένα δείγμα ΟΜΠ από μία μόνο επιφάνεια από κάθε ασθενή σε αντιδιαστολή με τον δείκτη πλάκας που καταγραφόταν σε 4 επιφάνειες ανά δόντι σε όλα τα δόντια της χειρουργημένης περιοχής και άρα το αποτέλεσμα δεν είναι αντιπροσωπευτικό της πραγματικότητας.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στα πλαίσια των περιορισμών αυτής της μελέτης μπορούμε να καταλήξουμε στα εξής συμπεράσματα:

- Αναφορικά με τον μετεγχειρητικό έλεγχο της οδοντικής μικροβιακής πλάκας για διάστημα 14 ημερών, τόσο με κλινικά όσο και με μικροβιολογικά κριτήρια φάνηκε ότι ο συνδυασμός χλωρεξιδίνης με αιθανόλη υπερτερεί έναντι των άλλων διαλυμάτων.
- Το διάλυμα CHX με αιθανόλη υπερείχε στη μείωση του βακτηριακού φορτίου της ΟΜΠ σε βαθμό στατιστικά σημαντικό έναντι των άλλων δύο διαλυμάτων, που με τη σειρά τους δεν διέφεραν μεταξύ τους (μη στατιστικά σημαντική διαφορά).
- Σε επίπεδο πρώιμης μετεγχειρητικής επούλωσης των ούλων μετά από συμβατική χειρουργική του περιοδοντίου φάνηκε ότι κατά την 7^η μετεγχειρητική ημέρα δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών διαλυμάτων που εξετάστηκαν. Αυτό ίσως συνεπάγεται ότι σε περιπτώσεις περιοδοντικών επεμβάσεων που τα ράμματα πρόκειται να αφαιρεθούν μέσα σε ένα τέτοιο χρονικό διάστημα, η χλωρεξιδίνη και ο παράγοντας C31G μπορούν να επιφέρουν παρόμοιο αποτέλεσμα ιστικής επούλωσης.
- Το στοματικό διάλυμα με τον δραστικό παράγοντα C31G φάνηκε εξίσου αποτελεσματικό με τα σκευάσματα χλωρεξιδίνης (μη στατιστικά σημαντική διαφορά) στην μετεγχειρητική επούλωση των ούλων κατά την περίοδο παρακολούθησης των 14 ημερών. Επιπλέον η CHX με αιθανόλη

υπερείχε έναντι εκείνης χωρίς αιθυλική αλκοόλη στο αντίστοιχο χρονικό διάστημα (14 ημέρες παρακολούθησης). Η παρατήρηση αυτή μπορεί να υποδηλώνει ότι στις περιπτώσεις που τα ράμματα παραμένουν για διάστημα μεγαλύτερο των 7 ημερών, η χρήση διαλυμάτων που περιέχουν αιθανόλη υπερτερεί.

- Τα ευρήματα της μελέτης δείχνουν ότι η παρουσία της αιθανόλης αυξάνει την αποτελεσματικότητα της χλωρεξιδίνης. Επίσης τα διαλύματα με τον δραστικό παράγοντα C31G θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν εναλλακτικά της χλωρεξιδίνης κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο.

Ωστόσο, απαιτείται η διενέργεια και άλλων ελεγχόμενων κλινικών μελετών με μεγαλύτερα δείγματα και χρόνους παρακολούθησης για την περαιτέρω διερεύνηση και επιβεβαίωση των παρόντων αποτελεσμάτων.

ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 1.1 Σύγκριση αποτελεσματικότητας στοματικών διαλυμάτων CHX με και χωρίς αλκοόλη στον έλεγχο της ΟΜΠ και της ουλίτιδας.

Μελέτη	Σχεδιασμός / Δείγμα	Παράμετροι προς αξιολόγηση / Διάρκεια	Αποτελέσματα / Συμπεράσματα
Quirynen M και συν.2001	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη διπλά τυφλή διασταυρούμενου σχεδιασμού κλινική μελέτη 16 άτομα (υγιές περιοδόντιο) 4 διαλύματα: • CHX 0,2% + αλκοόλη (θετική ομάδα ελέγχου) • CHX 0,12% + αλκοόλη • CHX 0,2% + CPC 0,05% • CHX 0,12% + NaF 0,05% Όχι μηχανική απομάκρυνση ΟΜΠ κατά τη διάρκεια κάθε πειραματικής περιόδου	Κλινικά: 1) Δείκτης πλάκας 2) Δείκτης χρωστικών στις οδοντικές επιφάνειες 3) Δείκτης αιμορραγίας των μεσοδόντιων θηλών 4) Ερωτηματολόγια για υποκειμενική αξιολόγηση διαλυμάτων Μικροβιολογικά: Λήψη δειγμάτων υπερουλικής ΟΜΠ και δειγμάτων σάλιου στις 7 και 11 ημέρες (αξιολόγηση μέσω αερόβιας και αναερόβιας καλλιέργειας) Διάρκεια κάθε πειραματικής περιόδου: 11 ημέρες (μεσοδιάστημα αποχής από το ένα στοματικό διάλυμα στο άλλο: 21 ημέρες)	• Κλινικοί δείκτες: Μ.Σ.Σ. διαφορές μεταξύ των 4 διαλυμάτων • Μικροβιολογικές παράμετροι: CHX + NaF → υψηλότερες συγκεντρώσεις αερόβιων και αναερόβιων μικροβίων (τα άλλα 3 διαλύματα σχεδόν εξίσου αποτελεσματικά) • Υποκειμενική αντίληψη ασθενών: Σ.Σ. καλύτερο το διάλυμα CHX + CPC
Borrajio και συν. 2002	Ελεγχόμενη διπλά τυφλή παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη 96 ασθενείς / 3 ομάδες: • CHX 0,12% + NaF 0,05% + αιθανόλη 11%	1) Δείκτης πλάκας 2) Δείκτης αιμορραγίας μεσοδοντίων θηλών (PBI) 27 ημέρες	• Δείκτης πλάκας, δείκτης αιμορραγίας: Μ.Σ.Σ. διαφορές μεταξύ των δύο διαλυμάτων με CHX

	• CHX 0,12% + NaF 0,05% (χωρίς αιθανόλη) • Διάλυμα placebo + μηχανική απομάκρυνση ΟΜΠ κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου		
Lorenz και συν. 2006	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μονά τυφλή (ως προς τον εξεταστή) παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη 90 ασθενείς / 4 ομάδες • CHX 0,2% χωρίς αιθανόλη • CHX 0,2% + NaF 0,055% χωρίς αιθανόλη • CHX 0,2% + αιθανόλη 7% (θετική ομάδα ελέγχου) • Διάλυμα placebo (αρνητική ομάδα ελέγχου) + μηχανική απομάκρυνση ΟΜΠ	1) Δείκτης πλάκας 2) Ουλικός δείκτης 3) Δείκτης χρώσης οδοντικών επιφανειών 4) Αιμορραγία κατά την ανίχνευση (BoP) 21 ημέρες	• Μ.Σ.Σ. διαφορές μεταξύ των τριών διαλυμάτων CHX ως προς όλες τις κλινικές παραμέτρους που αξιολογήθηκαν • Η έλλειψη αλκοόλης και η προσθήκη NaF δεν μειώνουν την αποτελεσματικότητα της CHX
Todkar και συν. 2012	Ελεγχόμενη μονά τυφλή παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη 30 ασθενείς (ουλίτιδα) / 3 ομάδες • CHX 0,2% + αλκοόλη • CHX 0,2% χωρίς αλκοόλη • Διάλυμα placebo (νερό)	1) Δείκτης πλάκας 2) Ουλικός δείκτης 28 ημέρες	• Μ.Σ.Σ. διαφορές μεταξύ των δύο διαλυμάτων CHX ως προς όλες τις κλινικές παραμέτρους
Zimmer και συν. 2014	Ελεγχόμενη μονά τυφλή (ως προς τον εξεταστή) παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη 160 ασθενείς / 4 ομάδες • A: CHX 0,06% + NaF 0,025% + αλκοόλη (θετική ομάδα ελέγχου)	1) Τροποποιημένος δείκτης πλάκας (MPPI) 2) Δείκτης πλάκας (Quigley – Hein, QHI) 3) Δείκτης αιμορραγίας μεσοδοντίων θηλών (PBI) 8 εβδομάδες	Μέση βελτίωση (%) δείκτη MPPI (baseline → 8 εβδομάδες): • A: 11,9 • B: 12,2 • Γ: 13,6 Μέση βελτίωση (%) δείκτη QHI (baseline → 8 εβδομάδες):

	• B: CHX 0,06% + NaF 0,025% (χωρίς αλκοόλη) • Γ: CHX 0,06% + CPC 0,03% + NaF 0,025% (χωρίς αλκοόλη) • Δ: Μόνο μηχανική απομάκρυνση ΟΜΠ Όλοι οι ασθενείς εφήρμοζαν μηχανική απομάκρυνση ΟΜΠ		• A: 36,6 • B: 32,3 • Γ: 36,8 Μέση βελτίωση (%) δείκτη PBI (baseline → 8 εβδομάδες): • A: 80,2 • B: 77,8 • Γ: 76,5 Δεν υπήρχαν Σ.Σ. διαφορές μεταξύ των τριών διαλυμάτων CHX σε καμία από τις κλινικές παραμέτρους που αξιολογήθηκαν
Παραϊοαννου και συν. 2016	Ελεγχόμενη διπλά τυφλή διασταυρούμενου σχεδιασμού κλινική μελέτη 10 άτομα / 2 διαλύματα • CHX 0,2% (χωρίς αλκοόλη) • CHX 0,2% + αλκοόλη Αποχή από μηχανική απομάκρυνση ΟΜΠ κατά την διάρκεια της πειραματικής περιόδου	1) Δείκτης πλάκας 2) Ουλικός δείκτης 3) Δείκτης χρώσης οδοντικών επιφανειών Διάρκεια πειραματικής περιόδου: 21 ημέρες (μεσοδιάστημα αποχής από τη χρήση των διαλυμάτων μεταξύ της κάθε περιόδου: 14 ημέρες)	• Μ.Σ.Σ. διαφορές μεταξύ των δύο διαλυμάτων ως προς όλες τις κλινικές παραμέτρους που αξιολογήθηκαν • Η απουσία αλκοόλης δεν μειώνει την αποτελεσματικότητα της CHX

CPC: Χλωριούχο κετυλπυριδίνιο, NaF: Φθοριούχο νάτριο, Σ.Σ.: Στατιστικά Σημαντικό,

Μ.Σ.Σ.: Μη Στατιστικά Σημαντικό

Πίνακας 1.2 Σύγκριση αποτελεσματικότητας διαφόρων τοπικών αντισηπτικών

παραγόντων στον έλεγχο της ΟΜΠ και της ουλίτιδας.

Μελέτη	Σχεδιασμός / Δείγμα	Παράμετροι προς αξιολόγηση / Διάρκεια	Αποτελέσματα / Συμπεράσματα
Saxer και συν. 1982	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη διπλά τυφλή διασταρούμενου σχεδιασμού κλινική μελέτη 18 άτομα / 3 διαλύματα: - CHX 0,2% - Χλωριούχο βενζυλαμμώνιο (D-301) 0,085% - Ομάδα ελέγχου (υδροχλωρική κινίνη, υδραλκοόλη, σουκρόζη)	1) δείκτης πλάκας, 2) δείκτης αιμορραγίας των μεσοδόντιων θηλών 7 ημέρες	Μέση αύξηση δείκτη πλάκας: CHX: 0,32 D-301: 0,54 } Σ.Σ.Διαφορά Μη Σ.Σ.Διαφορές μεταξύ CHX και D-301 αναφορικά με την αιμορραγία των μεσοδόντιων θηλών
Gusberti και συν. 1988	Ελεγχόμενη παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη 32 άτομα / 3 ομάδες: - CHX 0,12 - H₂O₂ 1% - αλκοολούχο υδατικό διάλυμα (ομάδα ελέγχου)	1) δείκτης πλάκας, 2) ουλικός δείκτης, 3) δείγματα ΟΜΠ για βακτηριακή καλλιέργεια (συνολικό μικροβιακό φορτίο, συνολικός αριθμός δυνητικά αναερόβιων μικροβίων) 21 ημέρες	Μείωση δείκτη πλάκας (VS control): CHX: 80% H ₂ O ₂ : παρόμοια με την ομάδα placebo Μείωση ουλικού δείκτη (VS control): CHX: 100% H ₂ O ₂ : 28% Σ.Σ. Διαφορά υπέρ της CHX σε όλες τις κλινικές παραμέτρους Μικροβιολογικά αποτελέσματα: CHX → σημαντική μείωση συνολικού μικροβιακού φορτίου, αυστηρά και δυνητικά αναερόβιων βακτηρίων (σημαντική διαφορά συγκριτικά με το H ₂ O ₂)
Overholser και συν. 1990	Τυχαιοποιημένη διπλά τυφλή παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη 124 άτομα / 3 ομάδες: - CHX - αιθέρια έλαια - placebo	1) δείκτης πλάκας, 2) ουλικός δείκτης, 3) ποσότητα τρυγίας 4) ποσότητα χρωστικών 6 μήνες	Αιθέρια έλαια: 36% λιγότερη ΟΜΠ και 36% μικρότερος ουλικός δείκτης VS placebo CHX: 50% λιγότερη ΟΜΠ και 30,5% μικρότερος ουλικός δείκτης VS placebo

	+ μηχανική απομάκρυνση ΟΜΠ από ασθενείς		CHX > αιθέρια έλαια (ΟΜΠ) CHX = αιθέρια έλαια (ουλική φλεγμονή)
Brecx και συν. 1990	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη διπλά τυφλή παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη 36 άτομα / 4 ομάδες: • Διάλυμα φαινόλων • Διάλυμα φθοριοαμίνης / φθοριούχου κασσίτερου (ASF) • CHX 0,2% • Υδροχλωρική κινίνη 0,02% (placebo)	1) δείκτης πλάκας, 2) ουλικός δείκτης, 3) λήψη δειγμάτων ΟΜΠ για μικροσκοπική ανάλυση και αξιολόγηση % ποσοστού ζωντανών βακτηρίων ανά δείγμα ΟΜΠ 21 ημέρες	Δείκτης πλάκας: CHX: 0,2 Φαινόλες: 1,44 ASF: 1,46 Placebo: 1,8 Ουλικός δείκτης: CHX: 0,48 Φαινόλες: 0,85 ASF: 0,86 Placebo: 0,88 Αποτελεσματικότητα στοματικών διαλυμάτων αναφορικά με τον έλεγχο της ΟΜΠ και την ουλική φλεγμονή: CHX > Φαινόλες = ASF > Placebo Αποτελεσματικότητα στοματικών διαλυμάτων σε μικροβιολογικό επίπεδο: CHX > Φαινόλες > ASF > Placebo
Moran και συν. 1991	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μονά τυφλή διασταυρούμενου σχεδιασμού κλινική μελέτη 15 άτομα / 3 διαλύματα: • CHX 0,2% • Φαινόλη • Φυσιολογικός ορός (ομάδα ελέγχου)	1) δείκτης πλάκας, 2) % οδοντική επιφάνεια καλυπτόμενη από ΟΜΠ, 3) ουλικός δείκτης, χρώση οδοντικών επιφανειών 19 ημέρες	Αποτελεσματικότητα στοματικών διαλυμάτων στον έλεγχο της ΟΜΠ: CHX > Φαινόλη > Φυσιολογικός ορός Αποτελεσματικότητα στοματικών διαλυμάτων αναφορικά με μείωση ουλικού δείκτη: CHX > Φαινόλη > Φυσιολογικός ορός Παρόμοια χρώση των οδοντικών επιφανειών με CHX και Φαινόλη.
Moran και συν. 1995	<u>A Μέρος:</u> Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μονά τυφλή διασταυρούμενου σχεδιασμού κλινική μελέτη	<u>A Μέρος:</u> 1) δείκτης πλάκας, 2) επιφάνεια καλυπτόμενη από ΟΜΠ 4 ημέρες	<u>A Μέρος:</u> Δείκτης πλάκας: CHX: 1,2 SPB: 2,1 SPCB: 1,9

	16 άτομα / 4 διαλύματα: • CHX 0,2% • Υπεροξείδιο βορικού νατρίου (SPB) • Υπεροξείδιο ανθρακικού νατρίου (SPCB) • Φυσιολογικός ορός 0,9% (ομάδα ελέγχου - control) <u>B Μέρος:</u> Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μονά τυφλή παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη 16 άτομα (διαφορετικά από το A Μέρος) / 4 ομάδες Κάθε ομάδα έλαβε ένα από τα 4 προαναφερόμενα στοματικά διαλύματα (παρόμοιο πρωτόκολλο)	<u>B Μέρος:</u> Λήψη δειγμάτων σάλιου αμέσως πριν, καθώς και 30, 60, 180, 300 και 420 λεπτά μετά από πλύση με το εκάστοτε στοματικό διάλυμα για καλλιέργεια αναερόβιων περιοδοντοπαθογόνων	Control: 2,6 Αποτελεσματικότητα στοματικών διαλυμάτων στον έλεγχο της ΟΜΠ: CHX > SPB = SPCB > Φυσιολογικού ορού <u>B Μέρος:</u> Μείωση συνολικού μικροβιακού φορτίου στο σάλιο: <u>CHX (VS control)</u> → σημαντική μείωση μικροβίων (CFU/ml σάλιου) μέχρι και 7 ώρες μετά τη λήψη της <u>SPB, SPCB (VS control)</u> → σημαντική μείωση μικροβίων (CFU/ml σάλιου) μέχρι και 3 ώρες μετά τη λήψη τους <u>Αντιμικροβιακή δράση:</u> CHX > SPB, SPCB
Renton-Harper και συν. 1996	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μονά τυφλή διασταυρούμενου σχεδιασμού κλινική μελέτη 20 άτομα / 5 διαλύματα: • CHX 0,12% • C31G • CPC 0,05% • Τρικλοζάνη (Tri) 0,03% • Φυσιολογικός ορός (control)	1) δείκτης πλάκας και 2) επιφάνεια καλυπτόμενη από ΟΜΠ 4 ημέρες	<u>Δείκτης πλάκας:</u> CHX: 1,7 C31G: 2,4 CPC: 2,2 Tri: 2,3 Φυσιολογικός ορός: 2,7 } Σ.Σ. Διαφορά } Μη Σ.Σ. Διαφορά Αποτελεσματικότητα διαλυμάτων στον έλεγχο της ΟΜΠ: CHX > CPC = τρικλοζάνη > C31G > placebo Η CHX κατά 30% αποτελεσματικότερη του C31G

Charles και συν. 2004	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μονά τυφλή παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη 108 άτομα / 3 ομάδες: • CHX 0,12% • Αιθέρια έλαια (ΕΟ) • Υδραλκοόλη 5% (placebo) + μηχανική απομάκρυνση ΟΜΠ από ασθενείς	1) δείκτης πλάκας, 2) ουλικός δείκτης, 3) δείκτης τρυγίας, 4) δείκτης χρώσης των οδοντικών επιφανειών 6 μήνες	Δείκτης πλάκας, Ουλικός δείκτης (6 μήνες): Μ.Σ.Σ. διαφορές μεταξύ CHX και ΕΟ Δείκτης τρυγίας (6 μήνες): CHX: 0,45 ΕΟ: 0,24 Placebo: 0,21 Χρώση δοντιών (6 μήνες): CHX: 2,08 ΕΟ: 0,33 Placebo: 0,01 ΕΟ εξίσου αποτελεσματικά με CHX στον έλεγχο της ΟΜΠ και την ουλίτιδα Σημαντικά περισσότερη τρυγία και χρωστικές με CHX συγκριτικά με ΕΟ
Auschill και συν. 2005	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μονά τυφλή διασταυρούμενου σχεδιασμού κλινική μελέτη 7 άτομα / 3 διαλύματα: • CHX 0,2% • Φθοριοαμίνη / Φθοριούχος κασσίτερος (ASF) (0,0125% και 0,0125% αντίστοιχα) • Νερό (placebo) Χρήση ακρυλικού νάρθηκα που κάλυπτε παρ./υπερ. επιφάνειες δοντιών	1) προσδιορισμός πάχους βιοϋμενίου και 2) % ποσοστό ζωντανών βακτηρίων στα δείγματα ΟΜΠ 2 ημέρες	Μέση εκατοστιαία μείωση ζωντανών βακτηρίων (VS placebo): CHX: 42,8% ASF: 42,2% Μέσο πάχος βιοϋμενίου: CHX: 15,7μm ASF: 8,4μm Νερό: 76,7μm Δεν υπήρχαν Σ.Σ.Διαφορές μεταξύ CHX και ASF σε καμία παράμετρο

Gunsolley 2006	Συστηματική ανασκόπηση και μετανάλυση • 6 μελέτες με CHX 0,12% • 25 μελέτες με αιθέρια έλαια • 7 μελέτες με CPC Όλες οι μελέτες είχαν ομάδα placebo	1) δείκτης πλάκας, 2) ουλικός δείκτης ≥ 6 μήνες	Μέση μείωση ΟΜΠ (VS placebo): CHX: 40,4% Αιθέρια έλαια: 27% CPC: 15,4% Μέση μείωση ουλικού δείκτη (VS placebo): CHX: 28,7% Αιθέρια έλαια: 18,2% CPC: 13,4% Αποτελεσματικότητα στοματικών διαλυμάτων αναφορικά με τον έλεγχο της ΟΜΠ και την ουλική φλεγμονή: CHX > Αιθέρια έλαια > CPC
-------------------	---	---	---

Πίνακας 1.3 Αξιολόγηση αποτελεσματικότητας CHX στον έλεγχο της ΟΜΠ και την ιστική επούλωση μετά από χειρουργική του περιοδοντίου.

Μελέτη	Σχεδιασμός / Δείγμα / Διάρκεια	Παράμετροι προς αξιολόγηση	Αποτελέσματα / Συμπεράσματα
Σε μορφή διαλύματος			
Westfelt και συν. 1983	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη 14 ασθενείς / 2 ομάδες χειρουργική του περιοδοντίου για εξάλειψη υπολειμματικών περιοδοντικών θυλάκων / Διενέργεια κρημονού Widman με ή χωρίς οστεοπλαστική - CHX 0,2% - Μηχανική απομάκρυνση ΟΜΠ στο οδοδνιαιρείο κάθε 2 εβδομάδες Μετά τους πρώτους 6 μήνες και διάστημα 18 ακόμη μηνών SPT ανά 3 μήνες (όλοι οι ασθενείς)	1) δείκτης πλάκας, 2) ουλικός δείκτης, 3) βάθος περιοδοντικού θυλάκου, 4) επίπεδο κλινικής πρόσφυσης 24 μήνες	24 μήνες Μ.Σ.Σ διαφορά μεταξύ των 2 ομάδων σε καμία από τις εξεταζόμενες κλινικές παραμέτρους Ελαφρά υπεροχή ομάδας με μηχανική απομάκρυνση ΟΜΠ έναντι CHX σε υπολειμματικό βάθος θυλάκου (2,2mm VS 2,7mm) και απώλεια πρόσφυσης (7,7mm VS 9,2mm) Η εφαρμογή CHX μπορεί αποτελεσματικά να αντικαταστήσει την μηχανική απομάκρυνση της ΟΜΠ κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο
Sanz και συν. 1989	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη διπλά τυφλή παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη 40 ασθενείς / 2 ομάδες Χειρουργική του περιοδοντίου για εξάλειψη υπολειμματικών περιοδοντικών θυλάκων / Διενέργεια ριζικής απόξεσης μετά κρημονού σε συνδυασμό με οστεκτομή / οστεοπλαστική - CHX 0,12% (20 άτομα) - Placebo (20 άτομα) + χειρουργική κονία	1) δείκτης πλάκας (PI), 2) ουλικός δείκτης (GI), 3) βάθος περιοδοντικού θυλάκου (ΒΘ), 4) επίπεδο κλινικής πρόσφυσης (ΚΕΠ), 5) ρυθμός επιθηλιοποίησης τραύματος, 6)μετεγχειρητικός πόνος 6 εβδομάδες	Στις 6 εβδομάδες η CHX (VS Placebo) οδήγησε σε: PI: ↓ κατά 54% GI: ↓ κατά 40% } Σ.Σ.Διαφορά Μη Σ.Σ. διαφορές αναφορικά με ΒΘ και ΚΕΠ Ταχύτερος ρυθμός επιθηλιοποίησης και λιγότερος πόνος στην ομάδα CHX (Μη Σ.Σ. διαφορά με placebo)

Διαλύματα CHX σε συνδυασμό με ουσίες κατά της πρόκλησης χρωστικών			
Cortellini και συν. 2008	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη τριπλά τυφλή διασταυρούμενου σχεδιασμού κλινική μελέτη 48 ασθενείς / 2 ομάδες Χειρουργική του περιοδοντίου (σε συνδυασμό με οστεκτομή / οστεοπλαστική όπου ήταν απαραίτητο) - CHX 0,2% + ουσίες κατά της πρόκλησης χρωστικών (ADS) - CHX 0,2% (control)	1) δείκτης χρώσης οδοντικών επιφανειών, 2) ύπαρξη οιδήματος – κοκκιωματούδους ιστού, 3) υποκειμενική αξιολόγηση σκευασμάτων μέσω κλίμακας VAS 2 εβδομάδες	Μη Σ.Σ. Διαφορές ως προς την επούλωση των μαλακών ιστών Σ.Σ. λιγότερη εμφάνιση χρωστικών με CHX + ADS συγκριτικά με CHX Καλύτερη αποδοχή CHX + ADS από τους ασθενείς (Σ.Σ. Διαφορά με CHX)
Duss και συν. 2010	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη διπλά τυφλή παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη 45 ασθενείς / 2 ομάδες Χειρουργική του περιοδοντίου (ριζική απόξεση μετά κρημονού) - CHX 0,05% + φυτικό εκχύλισμα - CHX 0,1% (control)	1) δείκτης χρώσης οδοντικών επιφανειών, 2) λήψη δειγμάτων υποουλικής ΟΜΠ για μικροβιολογική ανάλυση (checkerboard DNA – DNA hybridization) 12 εβδομάδες	Στις 12 εβδομάδες: 2,3 φορές μεγαλύτερος κίνδυνος εμφάνισης χρωστικών με τη χρήση CHX 0,1% συγκριτικά με CHX 0,05% + φυτικό εκχύλισμα - Μη ύπαρξη Σ.Σ. Διαφορών ως προς την ποιοτική και ποσοτική σύνθεση της ΟΜΠ μεταξύ των 2 ομάδων Η προσθήκη φυτικού εκχυλίσματος στη CHX οδηγεί σε σημαντικά λιγότερη πρόκληση χρωστικών
Laugisch και συν. 2016	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη 40 ασθενείς / 2 ομάδες Χειρουργική του περιοδοντίου (ριζική απόξεση μετά κρημονού) ή / και επεμβάσεις τοποθέτησης οδοντικών εμφυτευμάτων χωρίς αύξηση μαλακών ή/και σκληρών ιστών - CHX 0,05% + φυτικό εκχύλισμα - CHX 0,1% (control) 3^η – 14^η ημέρα: + μηχανική απομάκρυνση ΟΜΠ	1) δείκτης πλάκας, 2) δείκτης ιστικής επούλωσης (EHI), 3) δείκτης χρωστικών, 4) Αξιολόγηση διαλυμάτων (κλίμακα VAS) 5) δείγματα υγρού ουλοδοντικής σχισμής για αξιολόγηση επιπέδων μεσολαβητών φλεγμονής (IL-1β, κ.α.) μέσω ELISA 14 ημέρες	Μη Σ.Σ. Διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων σε καμία από τις κλινικές και εργαστηριακές παραμέτρους που αξιολογήθηκαν CHX + φυτικό εκχύλισμα > CHX αναφορικά με υποκειμενική αντίληψη ασθενών για εμφάνιση χρωστικών και λιγότερες διαταραχές στη γεύση

Διαλύματα CHX με ή χωρίς αλκοόλη			
Olsson και συν. 2012	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη διπλά τυφλή διασταυρούμενου σχεδιασμού πιλοτική κλινική μελέτη 20 ασθενείς / 2 ομάδες Χειρουργική του περιοδοντίου (ριζική απόξεση μετά κρημονού με ή χωρίς οστεοπλαστική) - CHX 0,10% + αλκοόλη (AB) - CHX 0,12% χωρίς αλκοόλη (AF)	1) δείκτης πλάκας, 2) χρώση οδοντικών επιφανειών, 3) υποκειμενική αντίληψη διαταραχών στη γεύση και εμφάνισης χρωστικών μέσω κλίμακας VAS 4 εβδομάδες	<u>Στις 14 ημέρες:</u> Μη Σ.Σ.Διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων ως προς όλες τις παραμέτρους <u>Στις 28 ημέρες:</u> Μη Σ.Σ.Διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων ως προς όλες τις παραμέτρους
Σε μορφή γέλης			
Bakaeen & Strahan 1980	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη διπλά τυφλή split mouth κλινική μελέτη 15 ασθενείς αμφοτερόπλευρη χειρουργική του περιοδοντίου στην άνω γνάθο για εξάλειψη υπολειμματικών θυλάκων (αφαιρετικές τομές, ριζική απόξεση, οστεοπλαστική) Μεσοδιάστημα μεταξύ των δύο επεμβάσεων: 1 μήνας Πειραματική πλευρά: gel CHX 1% Πλευρά ελέγχου: gel placebo	1) δείκτης πλάκας, 2) ουλικός δείκτης, 3) ποσότητα υγρού ουλοδοντικής σχισμής, 4) μετεγχειρητική νοσηρότητα (πόνος, οίδημα) 2 εβδομάδες	Μη Σ.Σ.Διαφορές μεταξύ των δύο πλευρών αναφορικά με δείκτη πλάκας, ουλικό δείκτη και ροής υγρού από την ουλοδοντική σχισμή Σημαντικά μικρότερο οίδημα και λιγότερος πόνος στην πλευρά που εφαρμόστηκε gel CHX
Σε μορφή εναιωρήματος			
Francetti και συν. 2000	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη 40 άτομα / 2 ομάδες Τροποποιημένος κρημνός Widman, ακρορριζικά μετατοπιζόμενος κρημνός, αυτομοσχεύματα μαλακών ιστών, μυλικά μετατοπιζόμενος κρημνός σε συνδυασμό ή μη με μόσχευμα συνδετικού ιστού	1) δείκτης πλάκας 2) ουλικός δείκτης, 3) δείκτης χρώσης οδοντικών επιφανειών, 4) μεταβολές γεύσης, 5) απώλεια ακεραιότητας επιθηλίου, 6) ερύθημα	<u>Κατά την 14^η μετεγχειρητική ημέρα:</u> Δείκτης πλάκας: Ομάδα A: 0,14 Ομάδα B: 0,10 } Μη Σ.Σ.Διαφορά Ουλικός δείκτης: Ομάδα A: 0,30 Ομάδα B: 0,20 } Μη Σ.Σ.Διαφορά Δείκτης χρώσης δοντιών: Ομάδα A: 1,09 Ομάδα B: 0,02 } Σ.Σ.Διαφορά

	- Ομάδα Α: διάλυμα CHX 0,12% - Ομάδα Β: εναιώρημα CHX 0,2% 2^η μετεγχειρητική εβδομάδα: + μηχανική απομάκρυνση ΟΜΠ	2 εβδομάδες	Μεταβολή στη γεύση: Ομάδα Α: 1,25 Ομάδα Β: 0,10 } Σ.Σ.Διαφορά Η CHX σε μορφή διαλύματος οδήγησε σε Σ.Σ. περισσότερη πρόκληση χρωστικών στα δόντια και μεγαλύτερη διαταραχή της γεύσης
--	--	-------------	---

Πίνακας 1.4 Αξιολόγηση αποτελεσματικότητας άλλων τοπικών αντισηπτικών παραγόντων (εκτός της CHX) στον έλεγχο της ΟΜΠ και την ιστική επούλωση μετά από χειρουργική του περιοδοντίου.

Μελέτη	Σχεδιασμός / Δείγμα / Διάρκεια	Παράμετροι προς αξιολόγηση	Αποτελέσματα / Συμπεράσματα
Bokor 1996	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη διπλά τυφλή διασταυρούμενου σχεδιασμού κλινική μελέτη 38 ασθενείς / 2 ομάδες Χειρουργική του περιοδοντίου σε δύο τεταρτημόρια / ανά ασθενή (τροποποιημένος κρημνός Widman) • Εναιώρημα εξιτιδίνης 0,2 % • Εναιώρημα απεσταγμένου νερού (placebo)	1) δείκτης πλάκας, 2) ουλικός δείκτης, 3) δείκτης αιμορραγίας των μεσοδόντιων θηλών 28 ημέρες	• Σ.Σ. μικρότερη τιμή δείκτη πλάκας στην ομάδα της εξιτιδίνης συγκριτικά με την placebo σε όλα τα χρονικά σημεία • Σ.Σ. Διαφορά ως προς ουλικό δείκτη και δείκτη αιμορραγίας των μεσοδόντιων θηλών μεταξύ των ομάδων (χαμηλότερες τιμές στην ομάδα της εξιτιδίνης)
Horwitz και συν. 2000	Τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη διπλά τυφλή παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη 32 ασθενείς / 2 ομάδες Χειρουργική του περιοδοντίου σε 1 τεταρτημόριο / ανά ασθενή (μετά κρημνού ριζική απόξεση) • Διάλυμα φθοριοαμίνης / φθοριούχου κασσίτερου (AmF/SnF₂) • Διάλυμα CHX	1) δείκτης πλάκας, 2) ουλικός δείκτης, 3) δείκτης χρωστικών στις οδοντικές επιφάνειες, 4) βάθος περιοδοντικού θυλάκου 5) απώλεια κλινικής πρόσφυσης 12 εβδομάδες	• Στις 12 εβδομάδες καμία Σ.Σ. Διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων ως προς οποιαδήποτε κλινική παράμετρο • Στις 3 εβδομάδες περισσότερες χρωστικές στην ομάδα της CHX (Σ.Σ. Διαφορά συγκριτικά με την άλλη ομάδα) Η εφαρμογή AmF/ SnF₂ εξίσου αποτελεσματική με την CHX στον μετεγχειρητικό έλεγχο της ΟΜΠ και της ουλικής φλεγμονής.

Πίνακας 1.5 Δείκτης πλάκας.

Περιγραφή	Τιμή
Απουσία οδοντικής πλάκας	0
Επίχρισμα οδοντικής πλάκας στην επιφάνεια των ελευθέρων ούλων, αόρατη με γυμνό μάτι, ανιχνεύσιμη με τον περιοδοντικό ανιχνευτήρα	1
Μέτριες εναποθέσεις οδοντικής πλάκας στα ελεύθερα ούλα ορατές με γυμνό μάτι	2
Άφθονες εναποθέσεις οδοντικής πλάκας στα ελεύθερα ούλα	3

Οι μετρήσεις λαμβάνονται ως εξής:

(1) Η οδοντική πλάκα καταγράφεται σε 4 επιφάνειες ανά δόντι (μέσο παρειακά, εγγύς – άπω παρειακά και μέσο υπερώια/γλωσσικά)

(2) Ο υπολογισμός του δείκτη αφορά στο άθροισμα των μετρήσεων στις 4 επιφάνειες του συνόλου των εξεταζόμενων δοντιών διαιρούμενων με τον αριθμό των εξεταζόμενων δοντιών

Πίνακας 1.6 Δείκτης πρώιμης ιστικής επούλωσης (EHI).

Περιγραφή	Τιμή
Πλήρης σύγκλειση των κρημνών – μη ύπαρξη ινικής	1
Πλήρης σύγκλειση των κρημνών – ύπαρξη λεπτής γραμμής ινικής στην μεσοδόντια περιοχή	2
Πλήρης σύγκλειση των κρημνών – ύπαρξη θρόμβου ινικής στην μεσοδόντια περιοχή	3
Ατελής σύγκλειση των κρημνών – μερική νέκρωση των μεσοδόντιων μαλακών ιστών	4
Ατελής σύγκλειση των κρημνών – ολική νέκρωση των μεσοδόντιων μαλακών ιστών	5

Οι μετρήσεις λαμβάνονται ως εξής:

(1) Κάθε μεσοδόντια περιοχή στα υπό εξέταση δόντια λαμβάνει μια τιμή επούλωσης από 1-5

(2) Ο υπολογισμός του δείκτη σε κάθε ασθενή αφορά στο άθροισμα των τιμών που λαμβάνουν οι μεσοδόντιες περιοχές των εξεταζόμενων δοντιών, διαιρούμενου με τον αριθμό των εξεταζόμενων μεσοδόντιων περιοχών

Πίνακας 1.7 Αντιδραστήρια rt PCR.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ	ΟΓΚΟΣ	ΤΕΛΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ
ΚΑΡΑ SYBR FAST qPCR (2x)	10μl	1x
10 μM forward primer	0,4	200nM
10 μM reverse primer	0,4	200nM
DNA	μl ανάλογα το δείγμα	40ng
Αποστειρωμένο νερό	Έως 20 μl	-

ΚΑΡΑ SYBR FAST: SYBR Green I (φθορίζουσα χρωστική),

Forward / Reverse primers: universal primer - 5' TCCTACGGGAGGCAGCAGT 3' /

5'GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT 3' (γενικοί εκκινητές)

DNA: μικροβιακό DNA δειγμάτων οδοντικής μικροβιακής πλάκας

Πίνακας 2.1. Χαρακτηριστικά δείγματος ανά ομάδα.

	Ομάδα				p-value
	A N (%)	B N (%)	Γ N (%)	Σύνολο N (%)	
Σύνολο	14 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)	42 (100.0)	
Φύλο					0.353
Άνδρας	7 (50.0)	4 (28.6)	3 (21.4)	14 (33.3)	
Γυναίκα	7 (50.0)	10 (71.4)	11 (78.6)	28 (66.7)	
Κάπνισμα					>0.999
Καπνιστής	5 (35.7)	6 (42.9)	5 (35.7)	16 (38.1)	
Μη καπνιστής	8 (57.1)	7 (50.0)	8 (57.1)	23 (54.8)	
Πρώην Καπνιστής	1 (7.1)	1 (7.1)	1 (7.1)	3 (7.1)	
Επεμβαίνων ΜΤΠΧ φοιτητής					0.892
3ετής	11 (78.6)	12 (85.7)	10 (71.4)	33 (78.6)	
1ετής	3 (21.4)	2 (14.3)	4 (28.6)	9 (21.4)	
Χειρουργική περιοδοντίου					0.248
Εξάλειψη θυλάκων	10 (71.4)	12 (85.7)	8 (57.1)	30 (71.4)	
Αποκάλυψη κλινικής μύλης	4 (28.6)	1 (7.1)	5 (35.7)	10 (23.8)	
Συνδυασμός	0 (0.0)	1 (7.1)	1 (7.1)	2 (4.8)	
Περιοχή					0.971
#12-16	5 (35.7)	4 (28.6)	5 (35.7)	14 (33.3)	
#22-26	3 (21.4)	2 (14.3)	4 (28.6)	9 (21.4)	
#32-36	2 (14.3)	3 (21.4)	2 (14.3)	7 (16.7)	
#42-46	4 (28.6)	5 (35.7)	3 (21.4)	12 (28.6)	
					0.634
Γνάθος					
Άνω	8 (57.1)	6 (42.9)	9 (64.3)	23 (54.8)	
Κάτω	6 (42.9)	8 (57.1)	5 (35.7)	19 (45.2)	
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	p-value
Ηλικία	53 (43, 58)	52 (49, 59)	49 (43, 55)	51 (45, 58)	0.618

Πίνακας 2.2. Κατανομή τιμών δείκτη πλάκας (PI) ανά ομάδα (όλα τα δόντια και οι επιφάνειες).

	Ομάδα				p-value
	A	B	Γ	Overall	
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	
Δείκτης πλάκας					<0.001
0	0 (0.0)	3 (1.8)	2 (1.2)	5 (1.0)	
1	38 (25.0)	61 (37.2)	129 (76.8)	228 (47.1)	
2	63 (41.4)	71 (43.3)	26 (15.5)	160 (33.1)	
3	51 (33.6)	29 (17.7)	11 (6.5)	91 (18.8)	
Σύνολο	152 (100.0)	164 (100.0)	168 (100.0)	484 (100.0)	
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	p-value
Δείκτης πλάκας	2.0 (1.5, 3.0)	2.0 (1.0, 2.0)	1.0 (1.0, 1.0)	2.0 (1.0, 2.0)	<0.001

Πίνακας 2.3. Συγκρίσεις τιμών δείκτη πλάκας (PI) μεταξύ ομάδων με βάση το τελικό πολυπαραγοντικό μοντέλο διατεταγμένης λογιστικής παλινδρόμησης μικτών επιδράσεων.

Σύγκριση	Odds Ratio	95% CI	p-value
B vs. A	0.18	(0.05, 0.68)	0.012
Γ vs. A	0.01	(0.00, 0.05)	<0.001
Γ vs. B	0.06	(0.02, 0.25)	<0.001

Πίνακας 2.4. Δείκτης πλάκας (PI) ανά δόντι, επιφάνεια και ομάδα στις 14 ημέρες.

	Ομάδα				p-value
	A Median (IQR)	B Median (IQR)	Γ Median (IQR)	Σύνολο Median (IQR)	
PI, 3Π, Ημ.14(nA=13, nB=14, nΓ=14)	1.0 (1.0, 2.0)	1.0 (1.0, 2.0)	1.0 (1.0, 1.0)	1.0 (1.0, 2.0)	0.261
PI, 3Υ, Ημ.14(nA=13, nB=14, nΓ=14)	1.0 (1.0, 2.0)	1.0 (1.0, 2.0)	1.0 (1.0, 1.0)	1.0 (1.0, 1.0)	0.208
PI, 3Ε, Ημ.14(nA=13, nB=14, nΓ=14)	2.0 (2.0, 2.0)	2.0 (2.0, 2.0)	1.0 (1.0, 1.0)	2.0 (1.0, 2.0)	<0.001
PI, 3Α, Ημ.14(nA=13, nB=14, nΓ=14)	2.0 (2.0, 3.0)	2.0 (1.0, 3.0)	1.0 (1.0, 1.0)	2.0 (1.0, 2.0)	<0.001
PI, 4Π, Ημ.14(nA=14, nB=14, nΓ=14)	2.0 (2.0, 3.0)	1.0 (1.0, 2.0)	1.0 (1.0, 2.0)	1.0 (1.0, 2.0)	0.010
PI, 4Υ, Ημ.14(nA=14, nB=14, nΓ=14)	2.0 (1.0, 2.0)	1.0 (1.0, 2.0)	1.0 (1.0, 1.0)	1.0 (1.0, 2.0)	0.026
PI, 4Ε, Ημ.14(nA=14, nB=14, nΓ=14)	2.0 (2.0, 3.0)	2.0 (2.0, 3.0)	1.0 (1.0, 2.0)	2.0 (1.0, 2.0)	<0.001
PI, 4Α, Ημ.14(nA=14, nB=14, nΓ=14)	2.5 (2.0, 3.0)	2.0 (2.0, 3.0)	1.0 (1.0, 2.0)	2.0 (1.0, 3.0)	0.011
PI, 5Π, Ημ.14(nA=11, nB=13, nΓ=14)	2.0 (1.0, 3.0)	1.0 (1.0, 2.0)	1.0 (1.0, 1.0)	1.0 (1.0, 2.0)	0.081
PI, 5Υ, Ημ.14(nA=11, nB=13, nΓ=14)	2.0 (1.0, 2.0)	1.0 (1.0, 2.0)	1.0 (1.0, 1.0)	1.0 (1.0, 2.0)	0.124
PI, 5Ε, Ημ.14(nA=11, nB=13, nΓ=14)	3.0 (2.0, 3.0)	2.0 (2.0, 3.0)	1.0 (1.0, 2.0)	2.0 (1.0, 3.0)	0.011
PI, 5Α, Ημ.14(nA=11, nB=13, nΓ=14)	3.0 (2.0, 3.0)	2.0 (2.0, 3.0)	1.0 (1.0, 2.0)	2.0 (1.0, 3.0)	0.001

Π: παρειακά, Υ: υπερώια / γλωσσικά, Ε: εγγύς, Α: άπω

Πίνακας 2.5. Αναλυτική κατανομή δείκτη πλάκας (PI) ανά ομάδα, δόντι και επιφάνεια.

	Ομάδα – Δόντι								
	A Κυνοδ. N (%)	A 1ος Προγ. N (%)	A 2ος Προγ. N (%)	B Κυνοδ. N (%)	B 1ος Προγ. N (%)	B 2ος Προγ. N (%)	Γ Κυνοδ. N (%)	Γ 1ος Προγ. N (%)	Γ 2ος Προγ. N (%)
PI – Παρειακά									
0	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (7.1)	1 (7.1)	0 (0.0)
1	9 (69.2)	3 (21.4)	4 (36.4)	9 (64.3)	9 (64.3)	8 (61.5)	11 (78.6)	9 (64.3)	11 (78.6)
2	3 (23.1)	5 (35.7)	3 (27.3)	4 (28.6)	3 (21.4)	3 (23.1)	2 (14.3)	3 (21.4)	2 (14.3)
3	1 (7.7)	6 (42.9)	4 (36.4)	1 (7.1)	2 (14.3)	2 (15.4)	0 (0.0)	1 (7.1)	1 (7.1)
Σύνολο	13 (100.0)	14 (100.0)	11 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)	13 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)
PI – Άπω									
1	0 (0.0)	1 (7.1)	0 (0.0)	4 (28.6)	2 (14.3)	1 (7.7)	11 (78.6)	8 (57.1)	10 (71.4)
2	7 (53.8)	6 (42.9)	3 (27.3)	6 (42.9)	8 (57.1)	8 (61.5)	3 (21.4)	4 (28.6)	1 (7.1)
3	6 (46.2)	7 (50.0)	8 (72.7)	4 (28.6)	4 (28.6)	4 (30.8)	0 (0.0)	2 (14.3)	3 (21.4)
Σύνολο	13 (100.0)	14 (100.0)	11 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)	13 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)
PI – Εγγύς									
0	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (7.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
1	3 (23.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (7.1)	2 (14.3)	2 (15.4)	13 (92.9)	10 (71.4)	9 (64.3)
2	7 (53.8)	8 (57.1)	5 (45.5)	9 (64.3)	8 (57.1)	7 (53.8)	1 (7.1)	4 (28.6)	2 (14.3)
3	3 (23.1)	6 (42.9)	6 (54.5)	3 (21.4)	4 (28.6)	4 (30.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (21.4)
Σύνολο	13 (100.0)	14 (100.0)	11 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)	13 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)
PI – Υπερ./γλωσ									
0	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (7.1)	1 (7.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
1	8 (61.5)	5 (35.7)	5 (45.5)	9 (64.3)	7 (50.0)	7 (53.8)	13 (92.9)	12 (85.7)	12 (85.7)
2	4 (30.8)	7 (50.0)	5 (45.5)	3 (21.4)	6 (42.9)	6 (46.2)	1 (7.1)	2 (14.3)	1 (7.1)
3	1 (7.7)	2 (14.3)	1 (9.1)	1 (7.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (7.1)
Σύνολο	13 (100.0)	14 (100.0)	11 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)	13 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)

Πίνακας 2.6. Αναλυτική κατανομή δείκτη πλάκας (PI) ανά ομάδα, δόντι συνολικά για όλες τις επιφάνειες.

Ομάδα - Δόντι									
	A Κυνοδ. N (%)	A 1ος Προγ. N (%)	A 2ος Προγ. N (%)	B Κυνοδ. N (%)	B 1ος Προγ. N (%)	B 2ος Προγ. N (%)	Γ Κυνοδ. N (%)	Γ 1ος Προγ. N (%)	Γ 2ος Προγ. N (%)
Δείκτης πλάκας									
0	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (3.6)	1 (1.8)	0 (0.0)	1 (1.8)	1 (1.8)	0 (0.0)
1	20 (38.5)	9 (16.1)	9 (20.5)	23 (41.1)	20 (35.7)	18 (34.6)	48 (85.7)	39 (69.6)	42 (75.0)
2	21 (40.4)	26 (46.4)	16 (36.4)	22 (39.3)	25 (44.6)	24 (46.2)	7 (12.5)	13 (23.2)	6 (10.7)
3	11 (21.2)	21 (37.5)	19 (43.2)	9 (16.1)	10 (17.9)	10 (19.2)	0 (0.0)	3 (5.4)	8 (14.3)
Σύνολο	52 (100.0)	56 (100.0)	44 (100.0)	56 (100.0)	56 (100.0)	52 (100.0)	56 (100.0)	56 (100.0)	56 (100.0)

Πίνακας 2.7. Δείκτης πλάκας (PI). Τελικό πολυπαραγοντικό μοντέλο διατεταγμένης λογιστικής παλινδρόμησης μικτών επιδράσεων.

Παράγοντας	Odds Ratio	95% C.I.	p-value
Δόντι			
Κυνόδοντας*	1		
1ος προγόμφιος	3.25	(1.90, 5.56)	<0.001
2ος προγόμφιος	4.64	(2.61, 8.27)	<0.001
Ομάδα			
A*	1		
B	0.18	(0.05, 0.68)	0.012
Γ	0.01	(0.00, 0.05)	<0.001
Επιφάνεια			
Παρειακά*	1		
Άπω	12.58	(6.39, 24.79)	<0.001
Εγγύς	7.19	(3.75, 13.78)	<0.001
Υπερ./Γλωσ.	0.49	(0.26, 0.94)	0.031
Κάπνισμα			
Καπνιστής	20.41	(6.13, 67.96)	<0.001
Μη καπνιστής*	1		
Πρώην Καπνιστής	5.51	(0.63, 48.36)	0.124

*Κατηγορία αναφοράς

Πίνακας 2.8. Κατανομή τιμών δείκτη πλάκας (PI) ανάλογα με τις καπνιστικές συνήθειες του δείγματος (όλα τα δόντια και οι επιφάνειες).

	Κάπνισμα Καπνιστής N (%)	Μη καπνιστής N (%)	Πρώην Καπνιστής N (%)	Συνολικά N (%)	p-value
Δείκτης πλάκας					<0.001
0	0 (0.0)	5 (1.9)	0 (0.0)	5 (1.0)	
1	54 (29.3)	158 (59.8)	16 (44.4)	228 (47.1)	
2	69 (37.5)	81 (30.7)	10 (27.8)	160 (33.1)	
3	61 (33.2)	20 (7.6)	10 (27.8)	91 (18.8)	
Σύνολο	184 (100.0)	264 (100.0)	36 (100.0)	484 (100.0)	
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	p-value
Δείκτης πλάκας	2.0 (1.0, 3.0)	1.0 (1.0, 2.0)	2.0 (1.0, 3.0)	2.0 (1.0, 2.0)	<0.001

Πίνακας 2.9. Δείκτης πλάκας (PI). Έλεγχος σημαντικότητας άλλων δημογραφικών-κλινικών χαρακτηριστικών.

Χαρακτηριστικό	p-value
Ηλικία	0.834
Φύλο	0.037
Κάπνισμα	<0.001
Επεμβαίνων ΜΤΠΧ φοιτητής	0.288
Χειρουργική περιοδοντίου	0.391
Περιοχή	0.519
Γνάθος	0.628

Πίνακας 2.10. Αναλυτική κατανομή δείκτη επιφάνειας πλάκας (ΡΑ%) ανά ομάδα, ημέρα συνολικά για όλα τα δόντια.

	Ομάδα – Ημέρα					
	A - Ημ. 7 N (%)	A - Ημ. 14 N (%)	B - Ημ. 7 N (%)	B - Ημ. 14 N (%)	Γ - Ημ. 7 N (%)	Γ - Ημ. 14 N (%)
Σύνολο	38 (100.0)	38 (100.0)	40 (100.0)	40 (100.0)	42 (100.0)	42 (100.0)
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)
Επιφάνεια πλάκας (%)	22.8 (14.2, 46.7)	32.5 (17.2, 44.1)	20.6 (6.3, 32.2)	14.9 (7.6, 28.6)	11.2 (6.0, 16.5)	11.2 (4.6, 29.0)

Πίνακας 2.11. Δείκτης ΡΑ%. Έλεγχος σημαντικότητας αλληλεπιδράσεων.

Αλληλεπίδραση	p-value
Ημέρα Χ Ομάδα	0.153
Δόντι Χ Ομάδα	0.974
Δόντι Χ Ημέρα	0.595

Πίνακας 2.12. Δείκτης PA%. Τελικό πολυπαραγοντικό μοντέλο μικτών επιδράσεων

(logit – normal).

Παράγοντας	Συντελεστής b	95% C.I.	p-value
Ημέρα			
7*	0		
14	0.09	(-0.13, 0.32)	0.416
Ομάδα			
A*	0		
B	-0.78	(-1.56, -0.00)	0.049
Γ	-1.10	(-1.88, -0.32)	0.005
Δόντι			
Κυνόδοντας*	0		
1ος προγόμφιος	0.50	(0.23, 0.78)	<0.001
2ος προγόμφιος	0.74	(0.46, 1.03)	<0.001

*Κατηγορία αναφοράς

Πίνακας 2.13. Δείκτης PA%. Συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων.

Σύγκριση	Διαφορά σε PA%	95% CI	p-value
B vs. A	-16.0	(-32.1, -0.0)	0.049
Γ vs. A	-21.0	(-36.1, -5.8)	0.005
Γ vs. B	-4.9	(-17.0, 7.2)	0.421

Πίνακας 2.14. Αναλυτική κατανομή δείκτη PA% ανά ομάδα, ημέρα και δόντι.

	Ομάδα – Ημέρα					
	A - Ημ. 7 N (%)	A - Ημ. 14 N (%)	B - Ημ. 7 N (%)	B - Ημ. 14 N (%)	Γ - Ημ. 7 N (%)	Γ - Ημ. 14 N (%)
Σύνολο - Κυνόδοντας	12 (100.0)	12 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)
Σύνολο - 1ος προγόμφιος	14 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)
Σύνολο - 2ος προγόμφιος	12 (100.0)	12 (100.0)	12 (100.0)	12 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)
PA – Κυνόδοντας	17.1 (8.2, 35.6)	27.6 (12.6, 39.9)	12.9 (4.8, 30.0)	9.7 (6.4, 15.6)	10.5 (2.7, 15.5)	10.9 (4.0, 27.7)
PA - 1ος προγόμφιος	26.9 (14.6, 46.7)	34.7 (18.9, 44.0)	20.3 (6.4, 35.8)	18.6 (10.2, 27.6)	14.4 (8.9, 25.7)	12.3 (4.6, 29.2)
PA - 2ος προγόμφιος	22.8 (16.1, 86.6)	38.5 (28.9, 47.5)	22.1 (7.9, 41.6)	24.2 (7.3, 32.3)	9.1 (7.4, 31.1)	10.1 (4.8, 29.7)

Πίνακας 2.15. Δείκτης PA%. Έλεγχος σημαντικότητας άλλων δημογραφικών-κλινικών χαρακτηριστικών.

Χαρακτηριστικό	p-value
Ηλικία	0.822
Φύλο	0.606
Κάπνισμα	0.166
Επεμβαίνων ΜΤΠΧ φοιτητής	0.504
Χειρουργική περιοδοντίου	0.591
Περιοχή	0.717
Γνάθος	0.381

Πίνακας 2.16. Δείκτης πρώιμης ιστικής επούλωσης (EHI). Συγκρίσεις μεταξύ ομάδων στις 7 και 14 ημέρες μετά τη χειρουργική επέμβαση με βάση το τελικό μοντέλο.

Σύγκριση	Odds Ratio	95% CI	p-value
B vs. A Ημ. 7	0.94	(0.18, 4.97)	0.940
Γ vs. A Ημ. 7	0.51	(0.09, 2.76)	0.435
Γ vs. B Ημ. 7	0.54	(0.10, 2.94)	0.480
B vs. A Ημ. 14	3.82	(0.68, 21.63)	0.130
Γ vs. A Ημ. 14	0.31	(0.05, 1.90)	0.207
Γ vs. B Ημ. 14	0.08	(0.01, 0.50)	0.007

Πίνακας 2.17. Κατανομή τιμών δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης (EHI) ανά ομάδα (όλα τα δόντια και οι μεσοδόντιες περιοχές) – 7^η μετεγχειρητική ημέρα.

	Ομάδα			Συνολικά	p-value
	A N (%)	B N (%)	Γ N (%)	N (%)	
Δείκτης πρώιμης ιστικής επούλωσης					0.664
1	4 (10.8)	7 (17.9)	8 (22.2)	19 (17.0)	
2	9 (24.3)	9 (23.1)	12 (33.3)	30 (26.8)	
3	19 (51.4)	15 (38.5)	10 (27.8)	44 (39.3)	
4	4 (10.8)	5 (12.8)	4 (11.1)	13 (11.6)	
5	1 (2.7)	3 (7.7)	2 (5.6)	6 (5.4)	
Σύνολο	37 (100.0)	39 (100.0)	36 (100.0)	112 (100.0)	
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	p-value
Δείκτης πρώιμης ιστικής επούλωσης	3.0 (2.0, 3.0)	3.0 (2.0, 3.0)	2.0 (2.0, 3.0)	3.0 (2.0, 3.0)	0.398

Πίνακας 2.18. Κατανομή τιμών δείκτη EHI ανά ομάδα (όλα τα δόντια και οι μεσοδόντιες περιοχές) – 14^η μετεγχειρητική ημέρα.

	Ομάδα Α N (%)	Β N (%)	Γ N (%)	Συνολικά N (%)	p-value
Δείκτης πρώιμης ιστικής επούλωσης					0.006
1	17 (45.9)	13 (33.3)	24 (66.7)	54 (48.2)	
2	9 (24.3)	3 (7.7)	2 (5.6)	14 (12.5)	
3	4 (10.8)	12 (30.8)	5 (13.9)	21 (18.8)	
4	7 (18.9)	8 (20.5)	5 (13.9)	20 (17.9)	
5	0 (0.0)	3 (7.7)	0 (0.0)	3 (2.7)	
Σύνολο	37 (100.0)	39 (100.0)	36 (100.0)	112 (100.0)	
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	p-value
Δείκτης πρώιμης ιστικής επούλωσης	2.0 (1.0, 3.0)	3.0 (1.0, 4.0)	1.0 (1.0, 3.0)	2.0 (1.0, 3.0)	0.012

Πίνακας 2.19. Δείκτης EHI. Συγκρίσεις μεταξύ 14^{ης} και 7^{ης} μετεγχειρητικής ημέρας στις 3 ομάδες με βάση το τελικό μοντέλο.

Ομάδα	Odds Ratio (Ημέρα 14 vs. 7 Ομάδα)	95% CI	p-value
A	0.19	(0.07, 0.47)	<0.001
B	0.76	(0.31, 1.88)	0.557
Γ	0.12	(0.04, 0.33)	<0.001

Πίνακας 2.20. Αναλυτική κατανομή δείκτη EHI ανά ομάδα, ημέρα και θέση.

	Ομάδα – Ημέρα					
	A - Ημ. 7 N (%)	A - Ημ. 14 N (%)	B - Ημ. 7 N (%)	B - Ημ. 14 N (%)	Γ - Ημ. 7 N (%)	Γ - Ημ. 14 N (%)
EHI - 2/3						
1	1 (33.3)	2 (66.7)	0 (0.0)	1 (50.0)	0 (.)	0 (.)
2	2 (66.7)	1 (33.3)	1 (50.0)	0 (0.0)	0 (.)	0 (.)
3	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	1 (50.0)	0 (.)	0 (.)
Σύνολο - 2/3	3 (100.0)	3 (100.0)	2 (100.0)	2 (100.0)	0 (.)	0 (.)
EHI - 3/4						
1	1 (8.3)	7 (58.3)	2 (15.4)	5 (38.5)	5 (41.7)	11 (91.7)
2	4 (33.3)	2 (16.7)	3 (23.1)	1 (7.7)	4 (33.3)	0 (0.0)
3	6 (50.0)	0 (0.0)	6 (46.2)	3 (23.1)	2 (16.7)	1 (8.3)
4	1 (8.3)	3 (25.0)	2 (15.4)	4 (30.8)	1 (8.3)	0 (0.0)
Σύνολο - 3/4	12 (100.0)	12 (100.0)	13 (100.0)	13 (100.0)	12 (100.0)	12 (100.0)
EHI - 4/5						
1	2 (15.4)	6 (46.2)	3 (23.1)	5 (38.5)	3 (21.4)	9 (64.3)
2	1 (7.7)	4 (30.8)	4 (30.8)	1 (7.7)	6 (42.9)	2 (14.3)
3	9 (69.2)	2 (15.4)	4 (30.8)	4 (30.8)	3 (21.4)	2 (14.3)
4	1 (7.7)	1 (7.7)	1 (7.7)	2 (15.4)	2 (14.3)	1 (7.1)
5	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (7.7)	1 (7.7)	0 (0.0)	0 (0.0)
Σύνολο - 4/5	13 (100.0)	13 (100.0)	13 (100.0)	13 (100.0)	14 (100.0)	14 (100.0)
EHI - 5/6						
1	0 (0.0)	2 (22.2)	2 (18.2)	2 (18.2)	0 (0.0)	4 (40.0)
2	2 (22.2)	2 (22.2)	1 (9.1)	1 (9.1)	2 (20.0)	0 (0.0)
3	4 (44.4)	2 (22.2)	4 (36.4)	4 (36.4)	5 (50.0)	2 (20.0)
4	2 (22.2)	3 (33.3)	2 (18.2)	2 (18.2)	1 (10.0)	4 (40.0)
5	1 (11.1)	0 (0.0)	2 (18.2)	2 (18.2)	2 (20.0)	0 (0.0)
Σύνολο - 5/6	9 (100.0)	9 (100.0)	11 (100.0)	11 (100.0)	10 (100.0)	10 (100.0)

Πίνακας 2.21. Αναλυτική κατανομή δείκτη EHI ανά ομάδα, ημέρα συνολικά για όλες τις θέσεις.

	Ομάδα – Ημέρα					
	A - Ημ. 7 N (%)	A - Ημ. 14 N (%)	B - Ημ. 7 N (%)	B - Ημ. 14 N (%)	Γ - Ημ. 7 N (%)	Γ - Ημ. 14 N (%)
Δείκτης πρώιμης ιστικής επούλωσης (EHI)						
1	4 (10.8)	17 (45.9)	7 (17.9)	13 (33.3)	8 (22.2)	24 (66.7)
2	9 (24.3)	9 (24.3)	9 (23.1)	3 (7.7)	12 (33.3)	2 (5.6)
3	19 (51.4)	4 (10.8)	15 (38.5)	12 (30.8)	10 (27.8)	5 (13.9)
4	4 (10.8)	7 (18.9)	5 (12.8)	8 (20.5)	4 (11.1)	5 (13.9)
5	1 (2.7)	0 (0.0)	3 (7.7)	3 (7.7)	2 (5.6)	0 (0.0)
<i>Σύνολο</i>	37 (100.0)	37 (100.0)	39 (100.0)	39 (100.0)	36 (100.0)	36 (100.0)

Πίνακας 2.22. Δείκτης EHI ανά ομάδα στις 7 και 14 ημέρες.

	Ομάδα				
	A Median (IQR)	B Median (IQR)	Γ Median (IQR)	Σύνολο Median (IQR)	p- value
EHI, 2/3, Ημ.7(nA=3, nB=2, nΓ=0)	2.0 (1.0, 2.0)	2.5 (2.0, 3.0)	-	2.0 (2.0, 2.0)	0.197
EHI, 3/4, Ημ.7(nA=12, nB=13, nΓ=12)	3.0 (2.0, 3.0)	3.0 (2.0, 3.0)	2.0 (1.0, 2.5)	2.0 (2.0, 3.0)	0.115
EHI, 4/5, Ημ.7(nA=13, nB=13, nΓ=14)	3.0 (3.0, 3.0)	2.0 (2.0, 3.0)	2.0 (2.0, 3.0)	3.0 (2.0, 3.0)	0.424
EHI, 5/6, Ημ.7(nA=9, nB=11, nΓ=10)	3.0 (3.0, 4.0)	3.0 (2.0, 4.0)	3.0 (3.0, 4.0)	3.0 (3.0, 4.0)	0.976
EHI, 2/3, Ημ.14(nA=3, nB=2, nΓ=0)	1.0 (1.0, 2.0)	2.0 (1.0, 3.0)	-	1.0 (1.0, 2.0)	0.519
EHI, 3/4, Ημ.14(nA=12, nB=13, nΓ=12)	1.0 (1.0, 3.0)	3.0 (1.0, 4.0)	1.0 (1.0, 1.0)	1.0 (1.0, 3.0)	0.024
EHI, 4/5, Ημ.14(nA=13, nB=13, nΓ=14)	2.0 (1.0, 2.0)	3.0 (1.0, 3.0)	1.0 (1.0, 2.0)	1.5 (1.0, 3.0)	0.234
EHI, 5/6, Ημ.14(nA=9, nB=11, nΓ=10)	3.0 (2.0, 4.0)	3.0 (2.0, 4.0)	3.0 (1.0, 4.0)	3.0 (1.0, 4.0)	0.738

Πίνακας 2.23. Δείκτης EHI. Τελικό πολυπαραγοντικό μοντέλο διατεταγμένης λογιστικής παλινδρόμησης μικτών επιδράσεων.

Παράγοντας	Odds Ratio	95% C.I.	p-value
Ημέρα			
7*	1		
14	0.19	(0.07, 0.47)	<0.001
Ομάδα			
A*	1		
B	0.94	(0.18, 4.97)	0.940
Γ	0.51	(0.09, 2.76)	0.435
Ημέρα & Ομάδα (αλληλεπίδραση)			
14 & B	4.07	(1.13, 14.73)	0.032
14 & Γ	0.61	(0.16, 2.40)	0.483
Θέση			
2/3*	1		
3/4	7.41	(1.61, 34.12)	0.010
4/5	10.07	(2.16, 46.86)	0.003
5/6	65.48	(12.03, 356.50)	<0.001

* Κατηγορία αναφοράς

Πίνακας 2.24. Δείκτης EHI. Έλεγχος σημαντικότητας άλλων δημογραφικών-κλινικών χαρακτηριστικών.

Χαρακτηριστικό	p-value
Ηλικία	0.893
Φύλο	0.839
Κάπνισμα	0.363
Επεμβαίνων ΜΤΠΧ φοιτητής	0.523
Χειρουργική περιοδοντίου	0.520
Περιοχή	0.539
Γνάθος	0.306

Πίνακας 2.25. Κατανομή τιμών δείκτη EHI ανάλογα με τις καπνιστικές συνήθειες του δείγματος (όλα τα δόντια και οι μεσοδόντιες περιοχές) – 7^η μετεγχειρητική ημέρα.

	Κάπνισμα Καπνιστής	Μη καπνιστής	Πρώην Καπνιστής	Συνολικά	p-value
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	
Δείκτης πρώιμης ιστικής επούλωσης					0.005
1	6 (13.6)	13 (22.0)	0 (0.0)	19 (17.0)	
2	14 (31.8)	12 (20.3)	4 (44.4)	30 (26.8)	
3	16 (36.4)	26 (44.1)	2 (22.2)	44 (39.3)	
4	6 (13.6)	7 (11.9)	0 (0.0)	13 (11.6)	
5	2 (4.5)	1 (1.7)	3 (33.3)	6 (5.4)	
Σύνολο	44 (100.0)	59 (100.0)	9 (100.0)	112 (100.0)	
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	p-value
Δείκτης πρώιμης ιστικής επούλωσης	3.0 (2.0, 3.0)	3.0 (2.0, 3.0)	3.0 (2.0, 5.0)	3.0 (2.0, 3.0)	0.486

Πίνακας 2.26. Κατανομή τιμών δείκτη EHI ανάλογα με τις καπνιστικές συνήθειες του δείγματος (όλα τα δόντια και οι μεσοδόντιες περιοχές) – 14^η μετεγχειρητική ημέρα.

	Κάπνισμα Καπνιστής	Μη καπνιστής	Πρώην Καπνιστής	Συνολικά	p-value
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	
Δείκτης πρώιμης ιστικής επούλωσης					0.015
1	21 (47.7)	30 (50.8)	3 (33.3)	54 (48.2)	
2	7 (15.9)	5 (8.5)	2 (22.2)	14 (12.5)	
3	6 (13.6)	14 (23.7)	1 (11.1)	21 (18.8)	
4	9 (20.5)	10 (16.9)	1 (11.1)	20 (17.9)	
5	1 (2.3)	0 (0.0)	2 (22.2)	3 (2.7)	
Σύνολο	44 (100.0)	59 (100.0)	9 (100.0)	112 (100.0)	
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	p-value
Δείκτης πρώιμης ιστικής επούλωσης	2.0 (1.0, 3.0)	1.0 (1.0, 3.0)	2.0 (1.0, 4.0)	2.0 (1.0, 3.0)	0.514

Πίνακας 2.27. Συσχέτιση τιμών δείκτη EHI με τιμές δείκτη PI. Βασικό μοντέλο διατεταγμένης λογιστικής παλινδρόμησης μικτών επιδράσεων.

Παράγοντας	Odds Ratio	95% C.I.	p-value
Δείκτης πλάκας			
1*	1		
2	2.14	(0.52, 8.85)	0.294
3	4.45	(0.99, 19.94)	0.051

*Κατηγορία αναφοράς

Πίνακας 2.28. Συσχέτιση τιμών δείκτη EHI με τιμές δείκτη PI. Έλεγχος σημαντικότητας αλληλεπιδράσεων.

Αλληλεπίδραση	p-value
Δείκτης πλάκας Χ Ομάδα	0.210

Πίνακας 2.29. Κατανομή δείκτη επιφάνειας πλάκας (PA%) ανά επίπεδο δείκτη πλάκας (PI).

	Δείκτης πλάκας				p-value
	0 N (%)	1 N (%)	2 N (%)	3 N (%)	
Σύνολο	2 (100.0)	73 (100.0)	27 (100.0)	17 (100.0)	
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	p-value
Επιφάνεια πλάκας (PA%)	5.7 (4.6, 6.8)	12.6 (5.4, 26.7)	33.4 (15.6, 47.3)	41.7 (29.0, 53.7)	<0.001

Πίνακας 3.1 Χαρακτηριστικά δείγματος ανά ομάδα (μικροβιολογικά αποτελέσματα).

	Ομάδα Α N (%)	Β N (%)	Γ N (%)	Συνολικά N (%)	p - value
Σύνολο	14 (100.0)	11 (100.0)	11 (100.0)	36 (100.0)	
Κάπνισμα					0.914
Καπνιστής	5 (35.7)	5 (45.5)	4 (36.4)	14 (38.9)	
Μη καπνιστής	8 (57.1)	5 (45.5)	7 (63.6)	20 (55.6)	
Πρώην Καπνιστής	1 (7.1)	1 (9.1)	0 (0.0)	2 (5.6)	
Χειρουργική περιοδοντίου					0.047
Εξάλειψη θυλάκων	10 (71.4)	10 (90.9)	5 (45.5)	25 (69.4)	
Αποκάλυψη κλινικής μύλης	4 (28.6)	0 (0.0)	5 (45.5)	9 (25.0)	
Συνδυασμός	0 (0.0)	1 (9.1)	1 (9.1)	2 (5.6)	
Επεμβαίνων ΜΤΠΧ φοιτητής					0.859
3ετής	11 (78.6)	10 (90.9)	9 (81.8)	30 (83.3)	
1ετής	3 (21.4)	1 (9.1)	2 (18.2)	6 (16.7)	
Γνάθος					0.259
Άνω	8 (57.1)	4 (36.4)	8 (72.7)	20 (55.6)	
Κάτω	6 (42.9)	7 (63.6)	3 (27.3)	16 (44.4)	
					0.861
Επιφάνεια / Δόντι					
άπω 15	1 (7.1)	1 (9.1)	2 (18.2)	4 (11.1)	
άπω 24	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (9.1)	1 (2.8)	
άπω 25	0 (0.0)	1 (9.1)	1 (9.1)	2 (5.6)	
άπω 34	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (9.1)	1 (2.8)	
άπω 35	1 (7.1)	1 (9.1)	0 (0.0)	2 (5.6)	
άπω 44	0 (0.0)	1 (9.1)	1 (9.1)	2 (5.6)	
άπω 45	3 (21.4)	1 (9.1)	1 (9.1)	5 (13.9)	
εγγύς 14	2 (14.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (5.6)	
εγγύς 15	2 (14.3)	2 (18.2)	3 (27.3)	7 (19.4)	
εγγύς 24	2 (14.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (5.6)	
εγγύς/ 25	1 (7.1)	0 (0.0)	1 (9.1)	2 (5.6)	
εγγύς 35	1 (7.1)	1 (9.1)	0 (0.0)	2 (5.6)	
εγγύς 44	1 (7.1)	2 (18.2)	0 (0.0)	3 (8.3)	

	Ομάδα			Συνολικά	p - value
	A N (%)	B N (%)	Γ N (%)	N (%)	
EHI					0.777
1	3 (21.4)	2 (18.2)	3 (27.3)	8 (22.2)	
2	3 (21.4)	0 (0.0)	2 (18.2)	5 (13.9)	
3	3 (21.4)	3 (27.3)	2 (18.2)	8 (22.2)	
4	5 (35.7)	4 (36.4)	3 (27.3)	12 (33.3)	
5	0 (0.0)	2 (18.2)	1 (9.1)	3 (8.3)	
PI					<0.001
1	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (63.6)	7 (19.4)	
2	4 (28.6)	7 (63.6)	2 (18.2)	13 (36.1)	
3	10 (71.4)	4 (36.4)	2 (18.2)	16 (44.4)	
	Median	Median	Median	Median	p-value
	(IQR)	(IQR)	(IQR)	(IQR)	
Ποσότητα βακτηριακού DNA (ng)	0.416 (0.285, 0.739)	0.521 (0.287, 1.203)	0.032 (0.008, 0.125)	0.355 (0.104, 0.673)	0.001
Αριθμός βακτηρίων (x10⁶)	38.470 (26.340, 68.330)	48.190 (26.590, 111.280)	3.020 (0.740, 11.620)	32.835 (9.695, 62.190)	0.001
Log10 Αριθμού βακτηρίων	7.584 (7.421, 7.835)	7.683 (7.425, 8.046)	6.480 (5.869, 7.065)	7.516 (6.978, 7.792)	0.001
EHI	3.000 (2.000, 4.000)	4.000 (3.000, 4.000)	3.000 (1.000, 4.000)	3.000 (2.000, 4.000)	0.403
PI	3.000 (2.000, 3.000)	2.000 (2.000, 3.000)	1.000 (1.000, 2.000)	2.000 (2.000, 3.000)	0.002

EHI: Δείκτης πρώιμης ιστικής επούλωσης, PI: Δείκτης πλάκας

Πίνακας 3.2. Μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης για διαφορές του αριθμού βακτηρίων μικροβιακού φορτίου (εκφρασμένου ως log10) ανά ομάδα.

Παράγοντας	Σχετική (%) διαφορά	95% C.I.	p-value
Ομάδα			
A*	0		
B	31.6	(-55.9, 292.5)	0.612
Γ	-92.5	(-97.5, -77.5)	<0.001

*Ομάδα αναφοράς

Παράγοντας	Σχετική (%) διαφορά	95% C.I.	p-value
Ομάδα			
A	-24.0	(-74.5, 126.5)	0.612
B*	0		
Γ	-94.3	(-98.2, -81.8)	<0.001

*Ομάδα αναφοράς

Πίνακας 3.3. Μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης για διαφορές του αριθμού βακτηρίων μικροβιακού φορτίου (εκφρασμένου ως log10) ανά επίπεδο τιμών δείκτη πλάκας (PI).

Παράγοντας	Σχετική (%) διαφορά	95% C.I.	p-value
PI			
1*	0		
2	953.3	(147.2, 4388.3)	0.002
3	1490.6	(291.8, 6357.8)	<0.001

*Κατηγορία αναφοράς

Πίνακας 3.4. Μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης για διαφορές του αριθμού βακτηρίων μικροβιακού φορτίου (εκφρασμένου ως log10) ανά επίπεδο τιμών δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης (ΕΗΙ).

Παράγοντας	Σχετική (%) διαφορά	95% C.I.	p-value
ΕΗΙ			
1*	0		
2	29.3	(-86.0, 1094.6)	0.815
3	-10.1	(-87.2, 531.6)	0.912
4	-6.7	(-84.3, 453.4)	0.937
5	-49.0	(-96.4, 615.5)	0.607

*Κατηγορία αναφοράς

Πίνακας 3.5. Μοντέλο παλινδρόμησης για διαφορές του αριθμού βακτηρίων μικροβιακού φορτίου (εκφρασμένου ως log10) ανά περιοχή εντόπισης (άνω – κάτω γνάθος).

Παράγοντας	Σχετική (%) διαφορά	95% C.I.	p-value
Γνάθος			
Ανω*	0		
Κάτω	85.8	(-46.0, 539.0)	0.315

* Κατηγορία αναφοράς

Πίνακας 3.6. Μοντέλο παλινδρόμησης για διαφορές του αριθμού βακτηρίων μικροβιακού φορτίου (εκφρασμένου ως log10) ανά εμπειρία επεμβαίνοντος (πρωτοετής – τριτοετής ΜΤΠΧ φοιτητής περιοδοντολογίας).

Παράγοντας	Σχετική (%) διαφορά	95% C.I.	p-value
Επεμβαίνων ΜΤΠΧ φοιτητής			
3ετής*	0		
1ετής	-48.8	(-90.2, 168.0)	0.417

* Κατηγορία αναφοράς

Πίνακας 3.7. Μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης για διαφορές του αριθμού βακτηρίων μικροβιακού φορτίου (εκφρασμένου ως log10) ανάλογα με τις καπνιστικές συνήθειες του δείγματος.

Παράγοντας	Σχετική (%) διαφορά	95% C.I.	p-value
Κάπνισμα			
Καπνιστής	49.4	(-59.8, 455.3)	0.538
Μη καπνιστής*	0		
Πρώην Καπνιστής	97.4	(-87.9, 3128.5)	0.624

*Κατηγορία αναφοράς

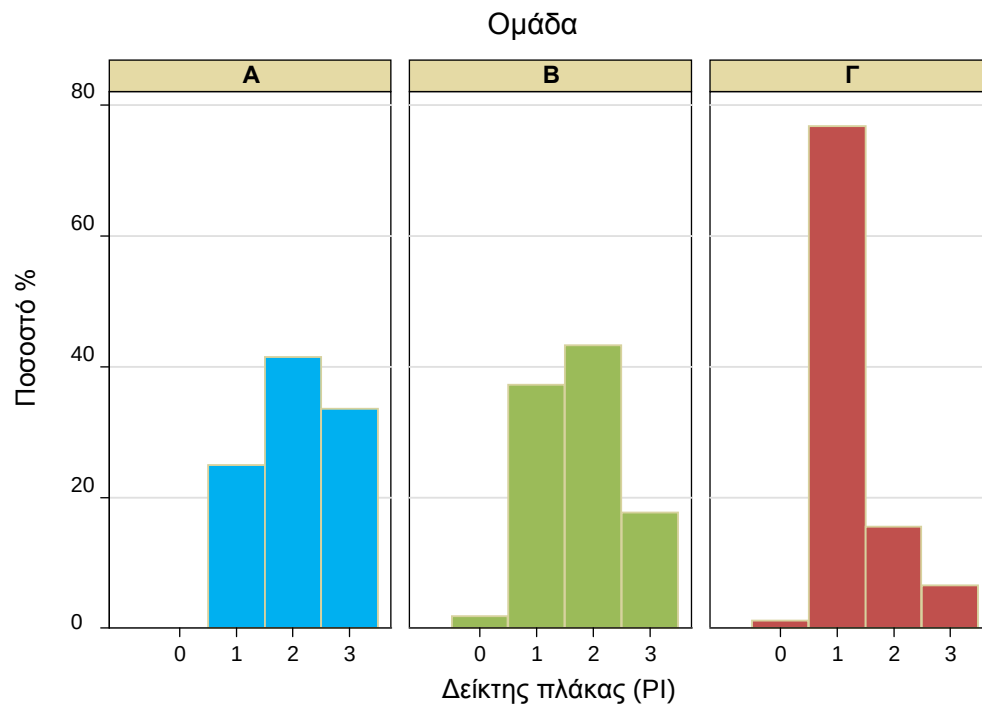
Πίνακας 3.8. Μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης για διαφορές του αριθμού βακτηρίων μικροβιακού φορτίου (εκφρασμένου ως log10) ανάλογα με το είδος της χειρουργικής περιοδοντικής επέμβασης.

Παράγοντας	Σχετική (%) διαφορά	95% C.I.	p-value
Χειρουργική περιοδοντίου			
Εξάλειψη θυλάκων*	0		
Αποκάλυψη κλινικής μύλης	-75.3	(-93.6, -4.3)	0.043
Συνδυασμός	-87.6	(-99.0, 60.0)	0.106

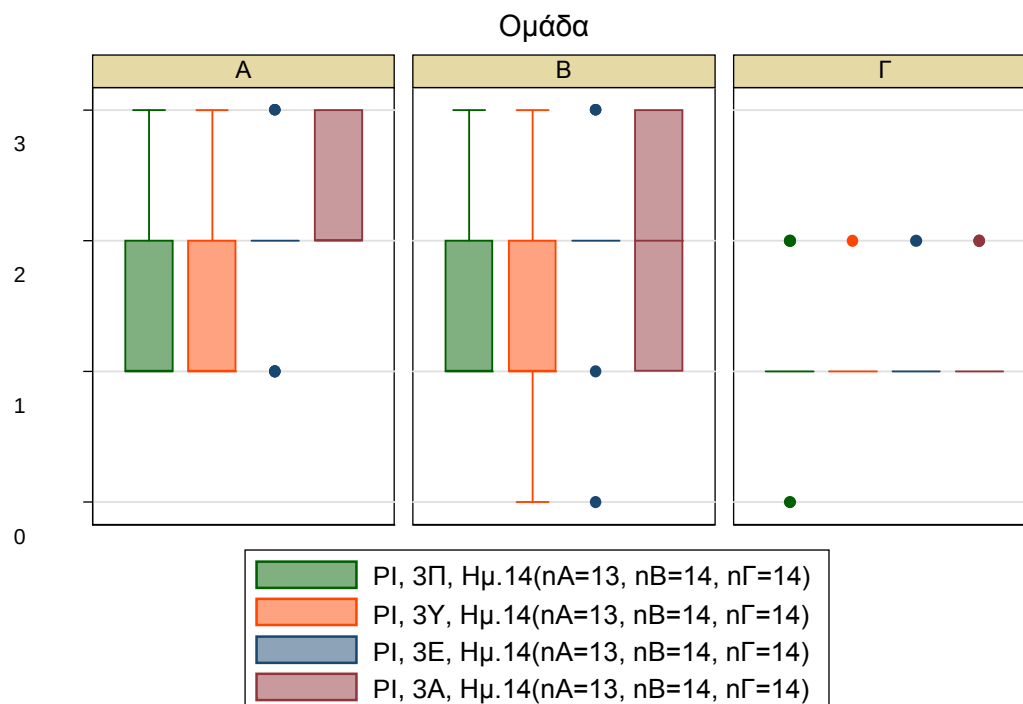
* Κατηγορία αναφοράς

ΓΡΑΦΗΜΑΤΑ

Γράφημα 2.1. Ιστόγραμμα για την κατανομή του δείκτη πλάκας (PI) ανά ομάδα – Όλα τα δόντια και οι επιφάνειες.

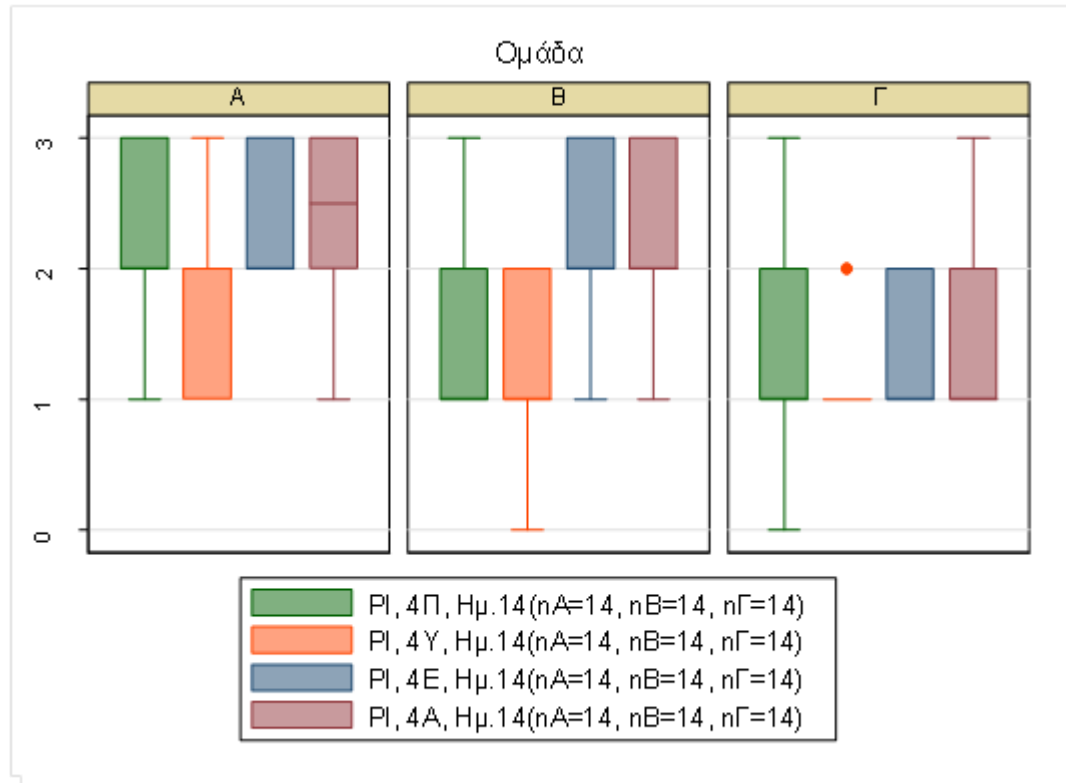


Γράφημα 2.2. Θηκογράμματα για την κατανομή του δείκτη πλάκας (PI) στον κυνόδοντα ανά ομάδα στις 14 ημέρες.



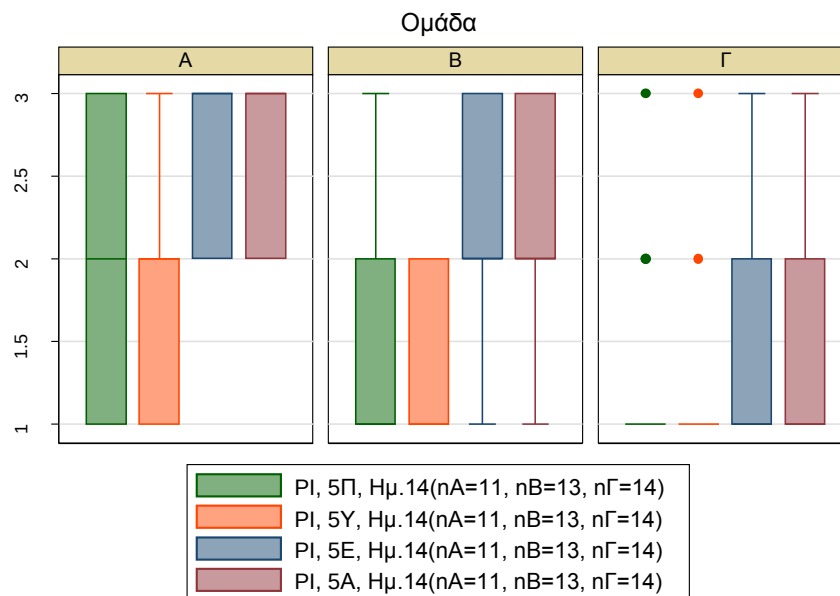
3: κυνόδοντας, **Π:** παρειικά, **Υ:** υπερώια / γλωσσικά, **Ε:** εγγύς, **Α:** άπω

Γράφημα 2.3. Θηκογράμματα για την κατανομή του δείκτη πλάκας (PI) στον 1^ο προγόνιο ανά ομάδα στις 14 ημέρες.



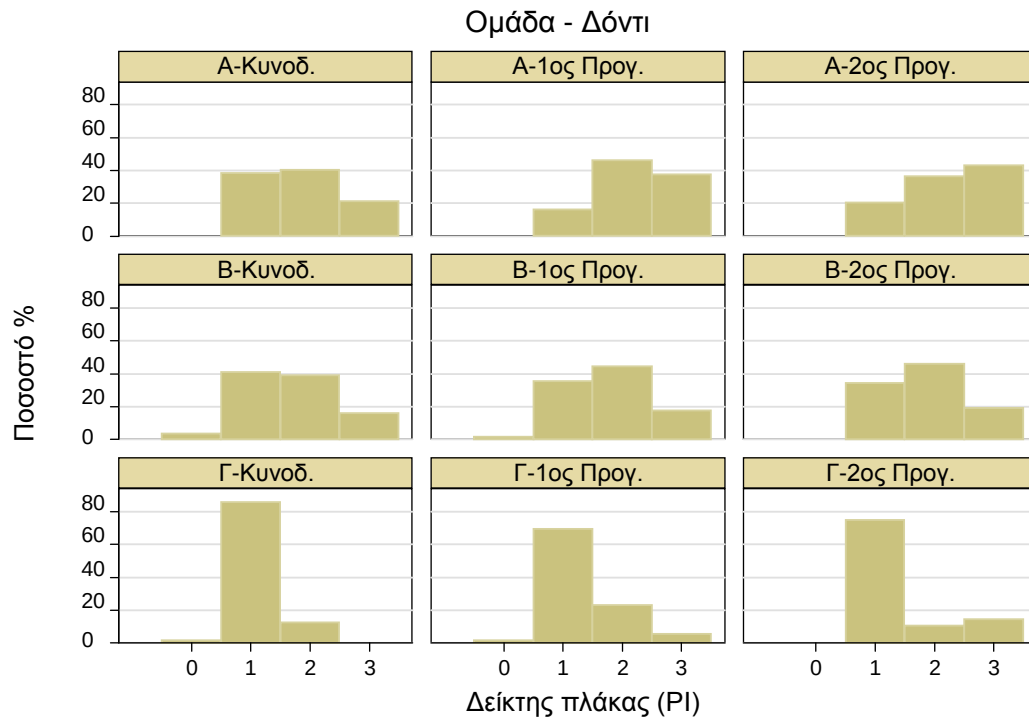
4: 1^{ος} προγόνιος, Π: παρειακά, Υ: υπερώια / γλωσσικά, Ε: εγγύς, Α: άπω

Γράφημα 2.4. Θηκογράμματα για την κατανομή του δείκτη πλάκας (PI) στον 2^ο προγόνιο ανά ομάδα στις 14 ημέρες.

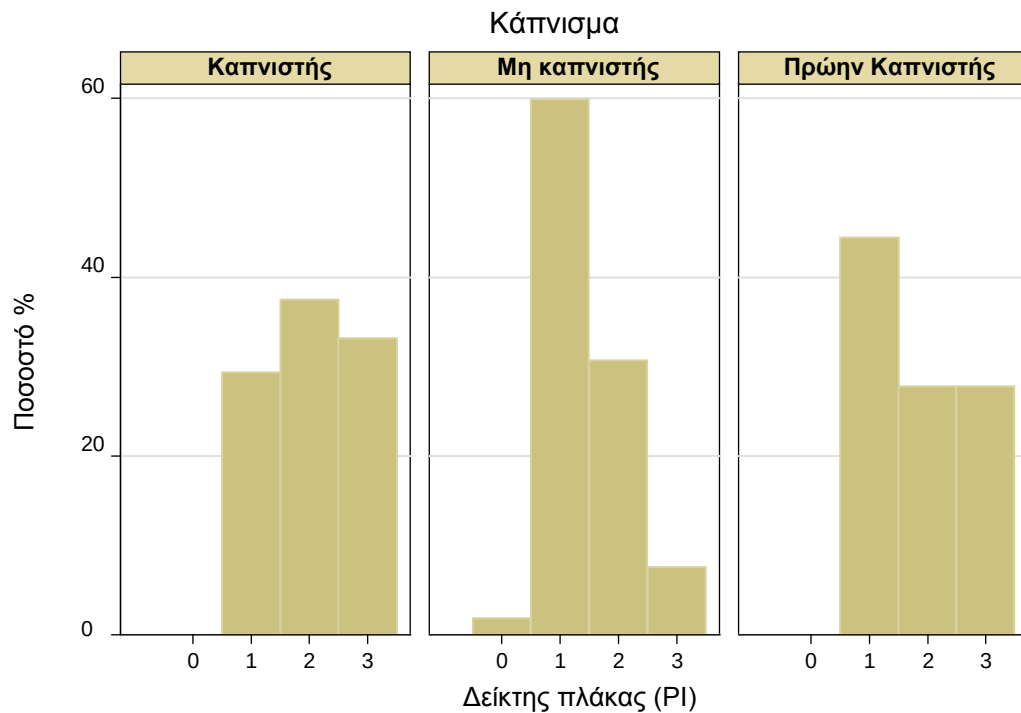


5: 2^{ος} προγόνιος, Π: παρειακά, Υ: υπερώια / γλωσσικά, Ε: εγγύς, Α: άπω

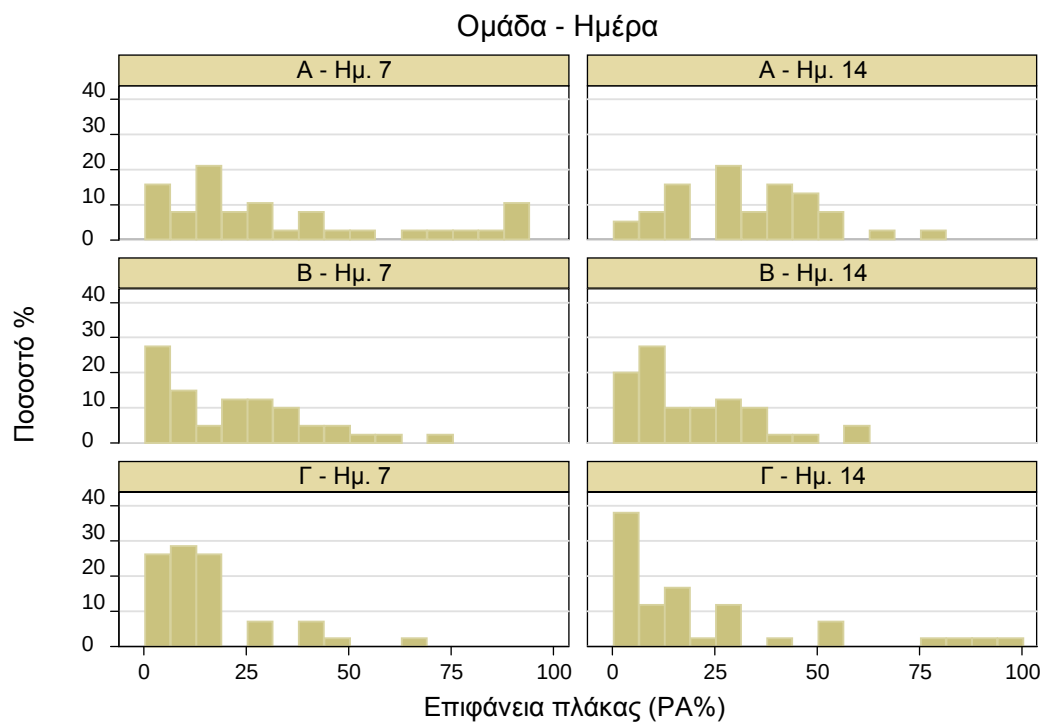
Γράφημα 2.5. Ιστόγραμμα για την κατανομή του δείκτη πλάκας (PI) ανά ομάδα και δόντι (όλες οι επιφάνειες) – 14 ημέρες.



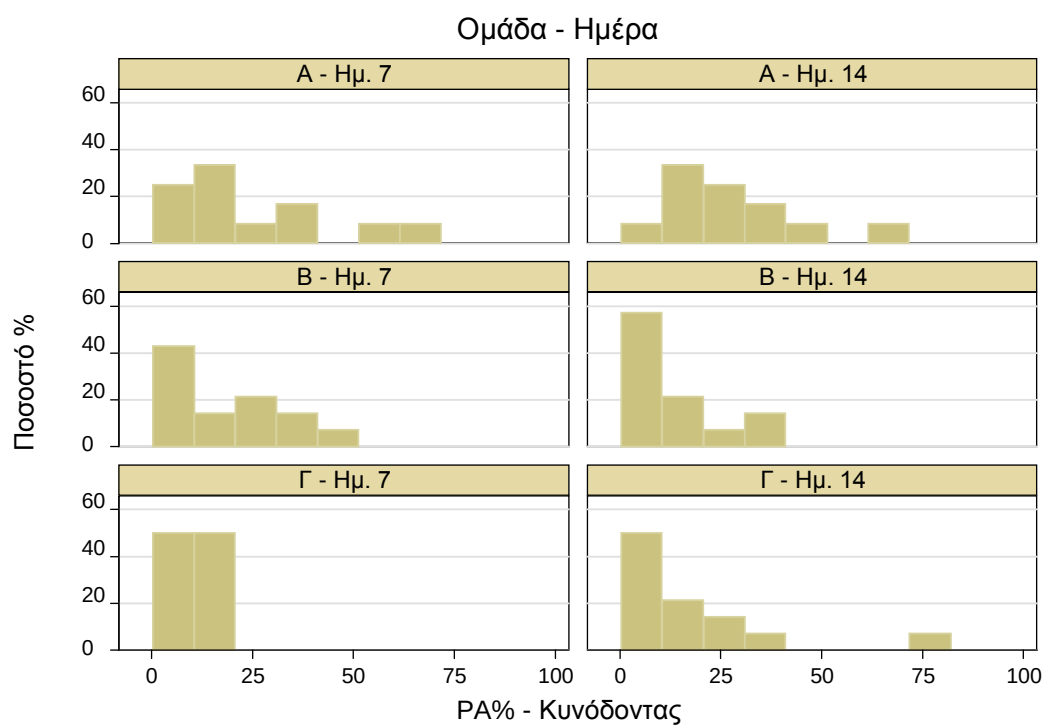
Γράφημα 2.6. Ιστόγραμμα για την κατανομή των τιμών του δείκτη πλάκας (PI) ανάλογα με τις καπνιστικές συνήθειες του δείγματος (όλα τα δόντια και οι επιφάνειες).



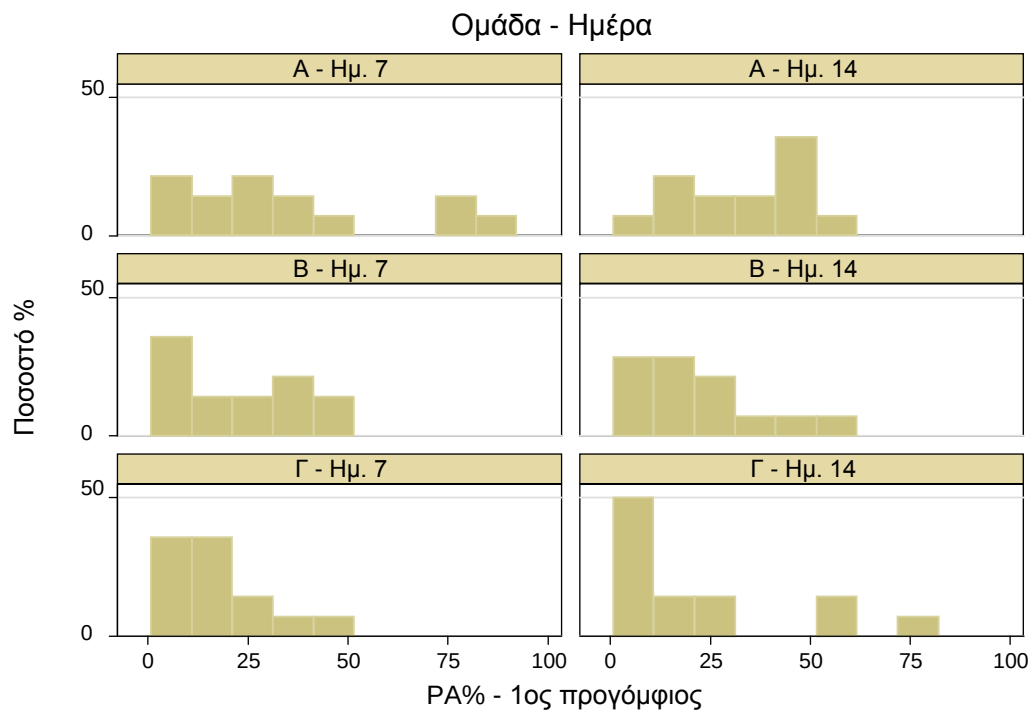
Γράφημα 2.7. Ιστόγραμμα για την κατανομή του δείκτη επιφάνειας πλάκας (PA%) ανά ομάδα και ημέρα - Όλα τα δόντια (κυνόδοντας, 1^{ος}, 2^{ος} προγόμφιος).



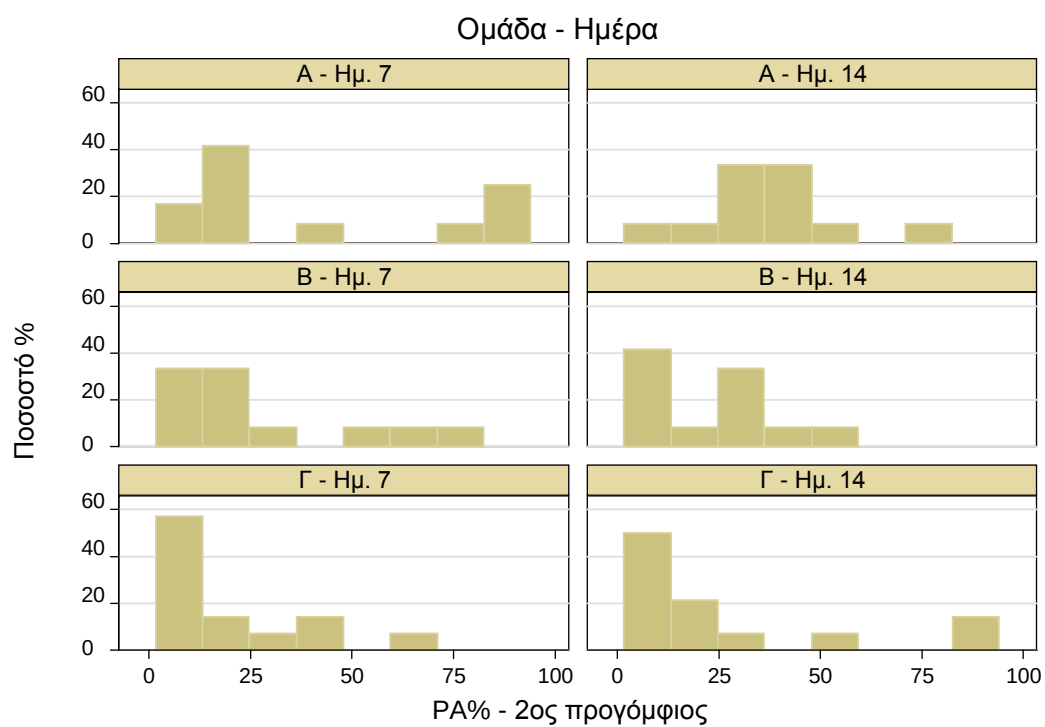
Γράφημα 2.8. Ιστόγραμμα για την κατανομή του δείκτη επιφάνειας πλάκας (PA%) ανά ομάδα και ημέρα - Κυνόδοντας.



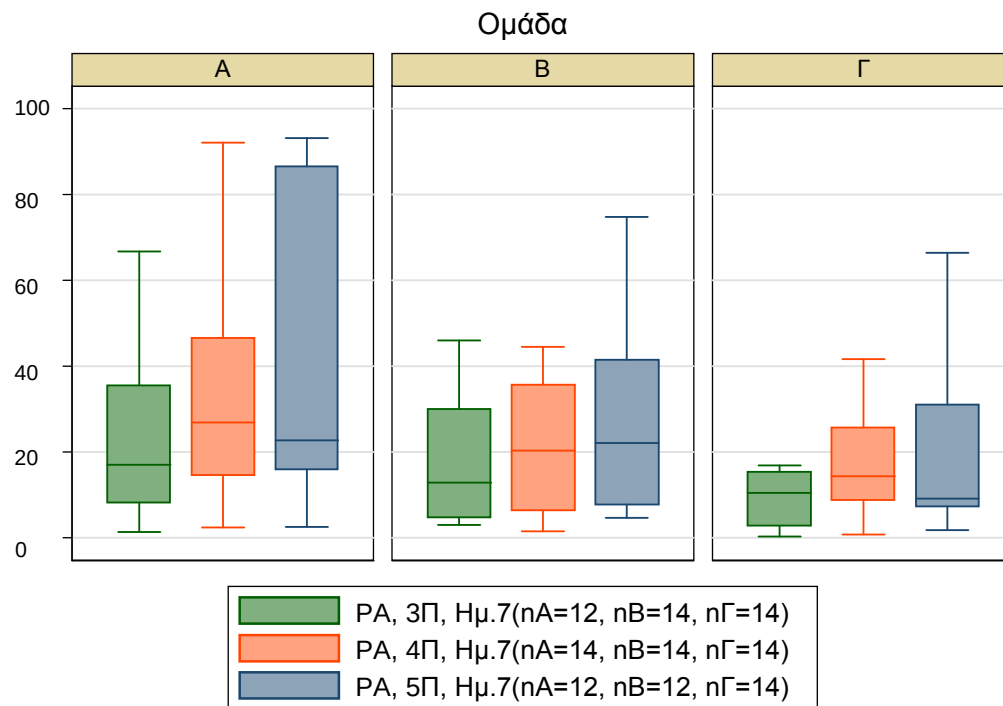
Γράφημα 2.9. Ιστόγραμμα για την κατανομή του PA% ανά ομάδα και ημέρα – 1^{ος} προγόνιος.



Γράφημα 2.10. Ιστόγραμμα για την κατανομή του δείκτη επιφάνειας πλάκας (PA%) ανά ομάδα και ημέρα - 2^{ος} προγόνιος.

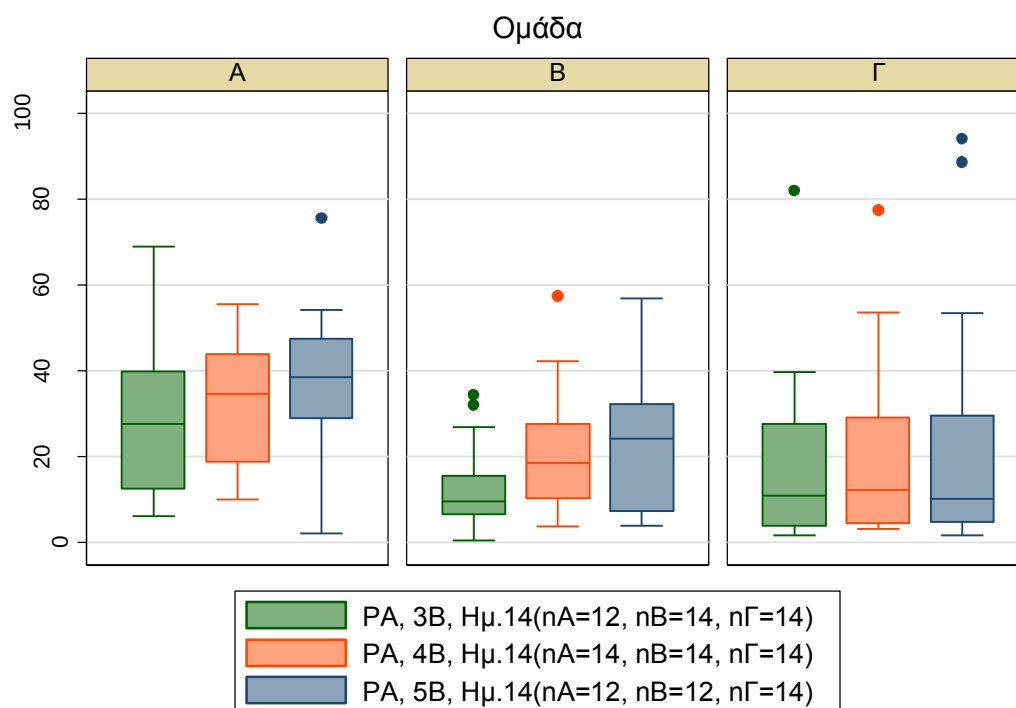


Γράφημα 2.11. Θηκογράμματα - κατανομή δείκτη PA% ανά ομάδα, 7 ημέρες.

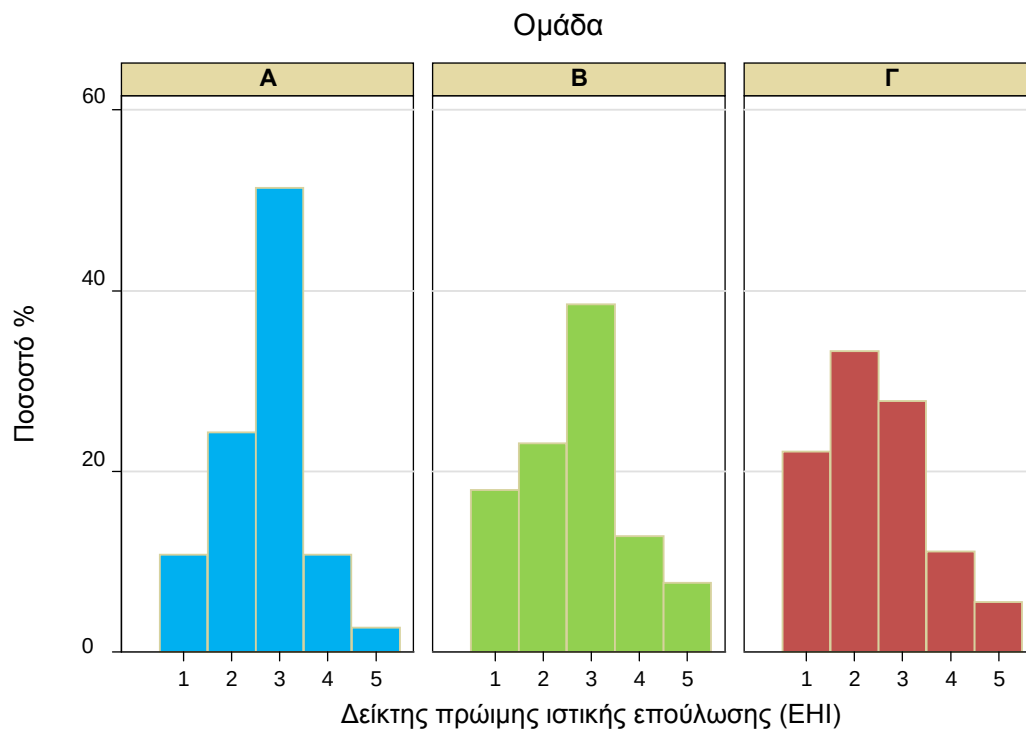


3: κυνόδοντας, 4: 1^{ος} προγόνμφιος, 5: 2^{ος} προγόνμφιος, Π: παρειακά

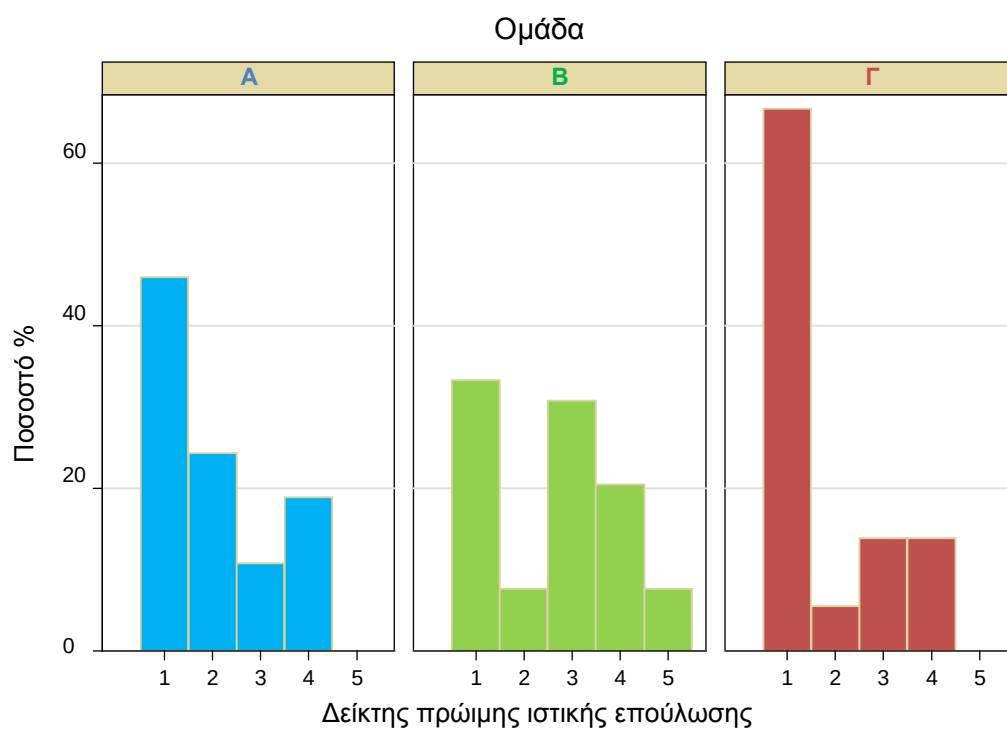
Γράφημα 2.12. Θηκογράμματα - κατανομή δείκτη PA% ανά ομάδα, 14 ημέρες.



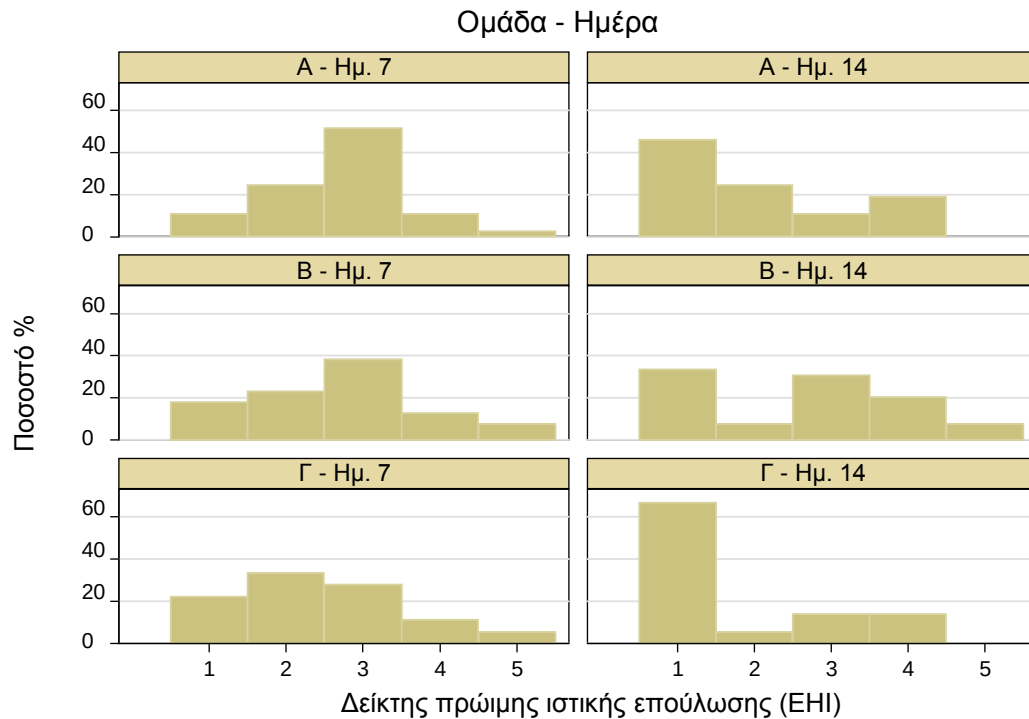
Γράφημα 2.13. Ιστόγραμμα για την κατανομή των τιμών του δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης (ΕΗΙ) ανά ομάδα (όλα τα δόντια και οι μεσοδόντιες περιοχές) – 7^η μετεγχειρητική ημέρα.



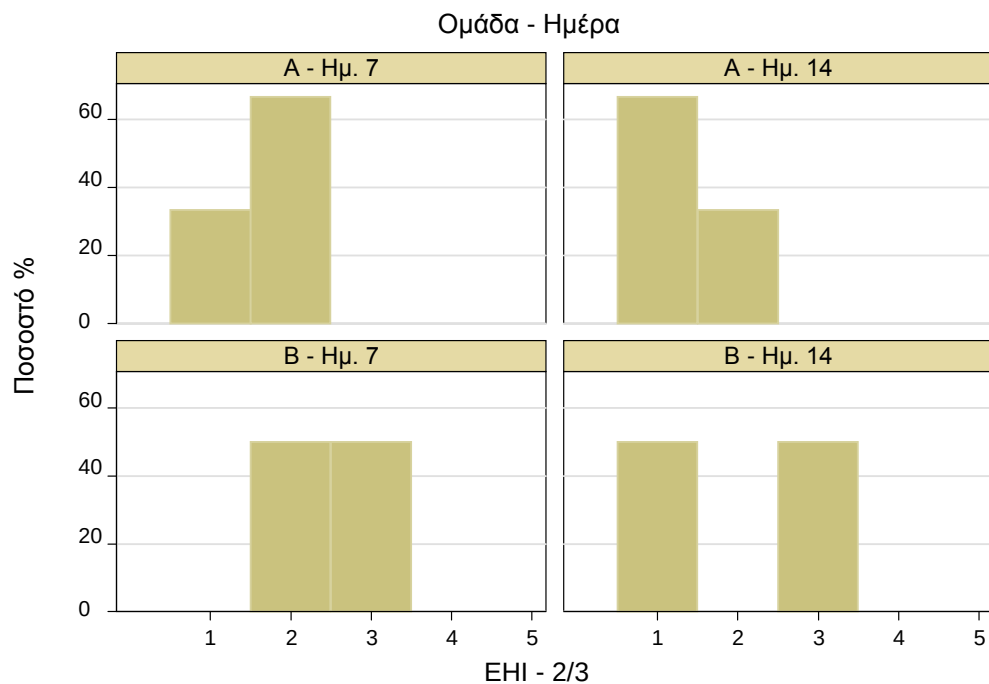
Γράφημα 2.14. Ιστόγραμμα για την κατανομή του δείκτη ΕΗΙ ανά ομάδα (όλα τα δόντια και οι μεσοδόντιες περιοχές) – 14^η μετεγχειρητική ημέρα.



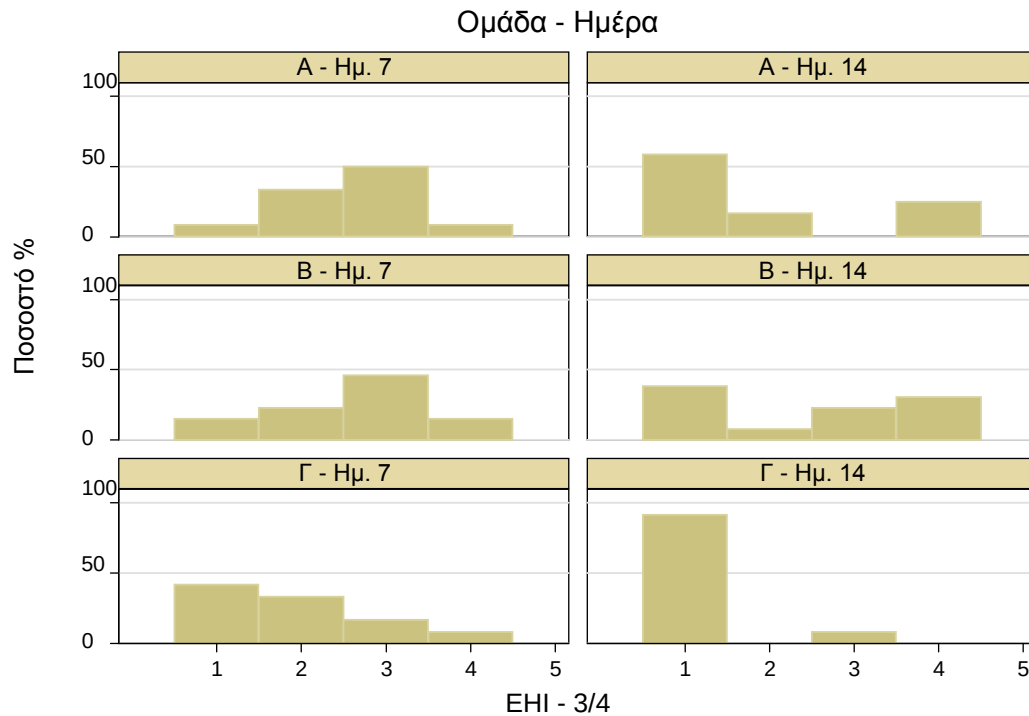
Γράφημα 2.15. Ιστόγραμμα για την κατανομή του δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης (ΕΗΙ) ανά ομάδα και ημέρα – Όλα τα δόντια και οι μεσοδόντιες περιοχές.



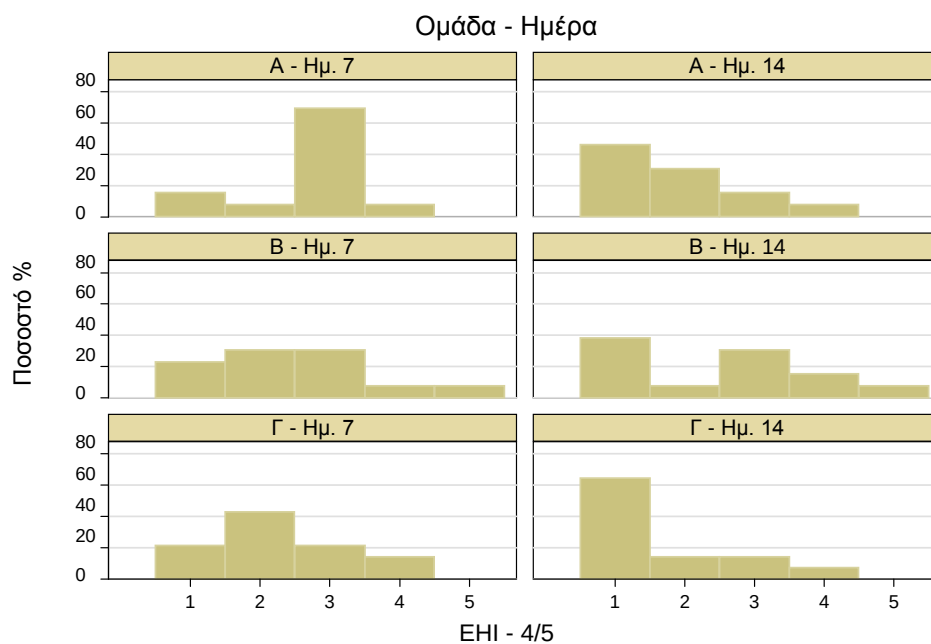
Γράφημα 2.16. Ιστόγραμμα για την κατανομή του δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης (ΕΗΙ) ανά ομάδα και ημέρα –Μεσοδόντια θηλή 2/3 (πλάγιος τομέας – κυνόδοντας).



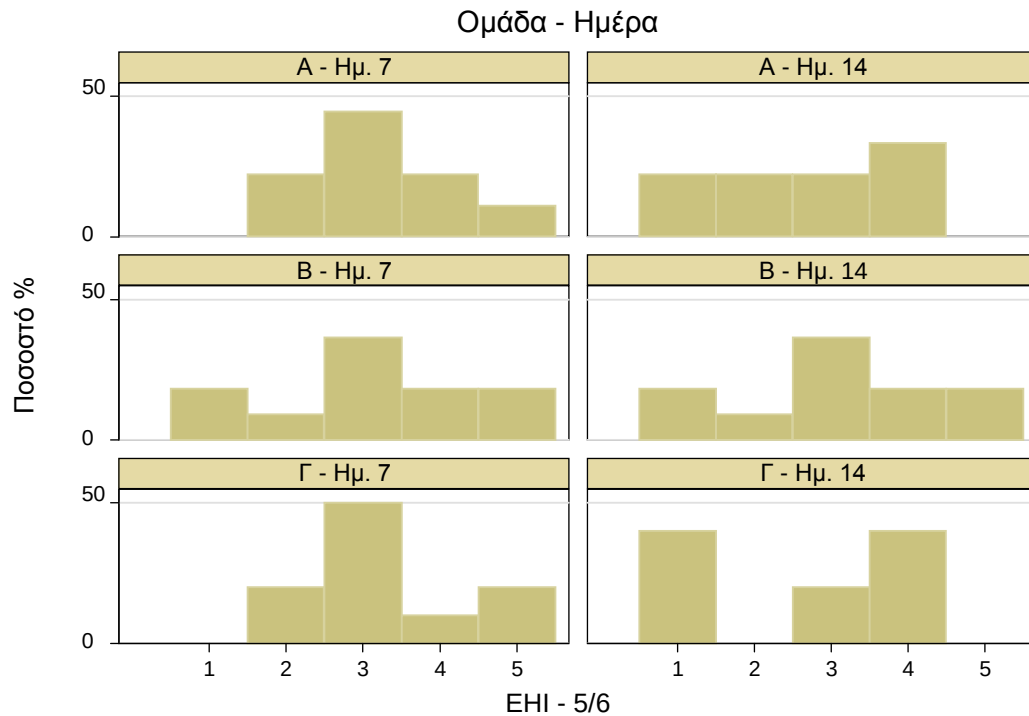
Γράφημα 2.17. Ιστόγραμμα για την κατανομή του δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης (ΕΗΙ) ανά ομάδα και ημέρα – Μεσοδόντια θηλή 3/4 (κυνόδοντας – 1^{ος} προγόνμφιος).



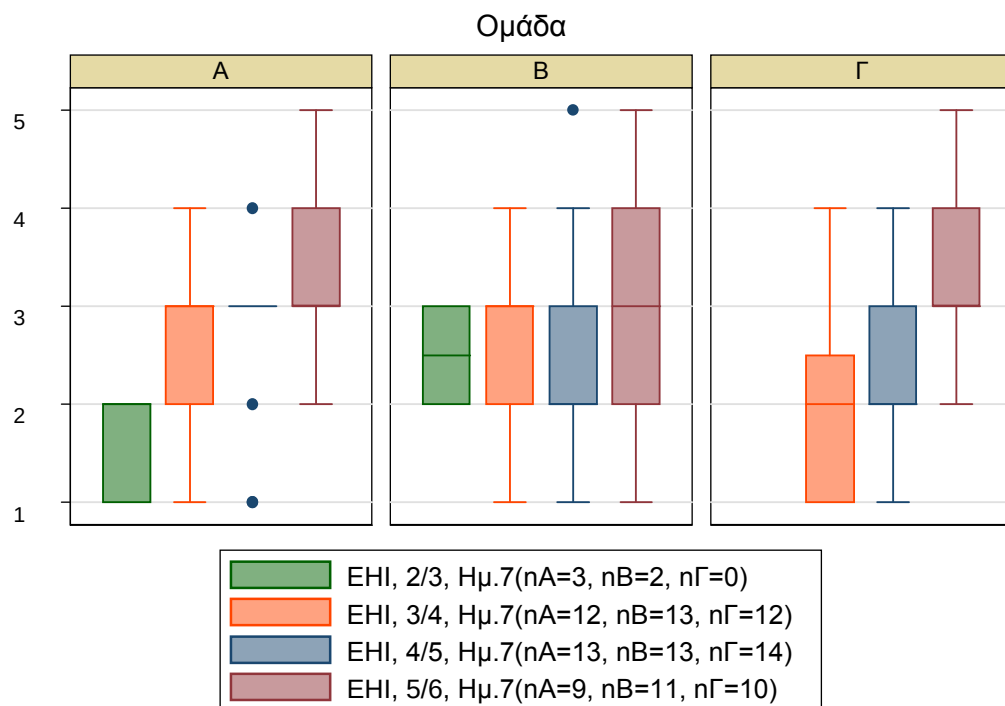
Γράφημα 2.18. Ιστόγραμμα για την κατανομή του δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης (ΕΗΙ) ανά ομάδα και ημέρα – Μεσοδόντια θηλή 4/5 (1^{ος} προγόνμφιος – 2^{ος} προγόνμφιος).



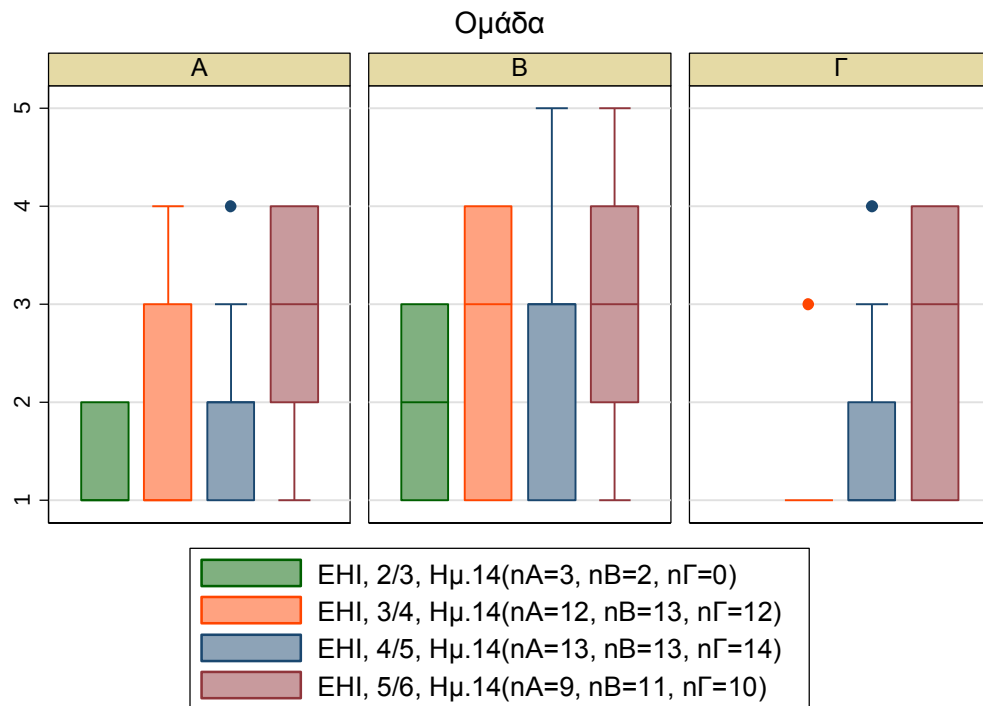
Γράφημα 2.19. Ιστόγραμμα για την κατανομή του δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης (EHI) ανά ομάδα και ημέρα – Μεσοδόντια θηλή 5/6 (2^{ος} προγόνιος – 1^{ος} γομφίος).



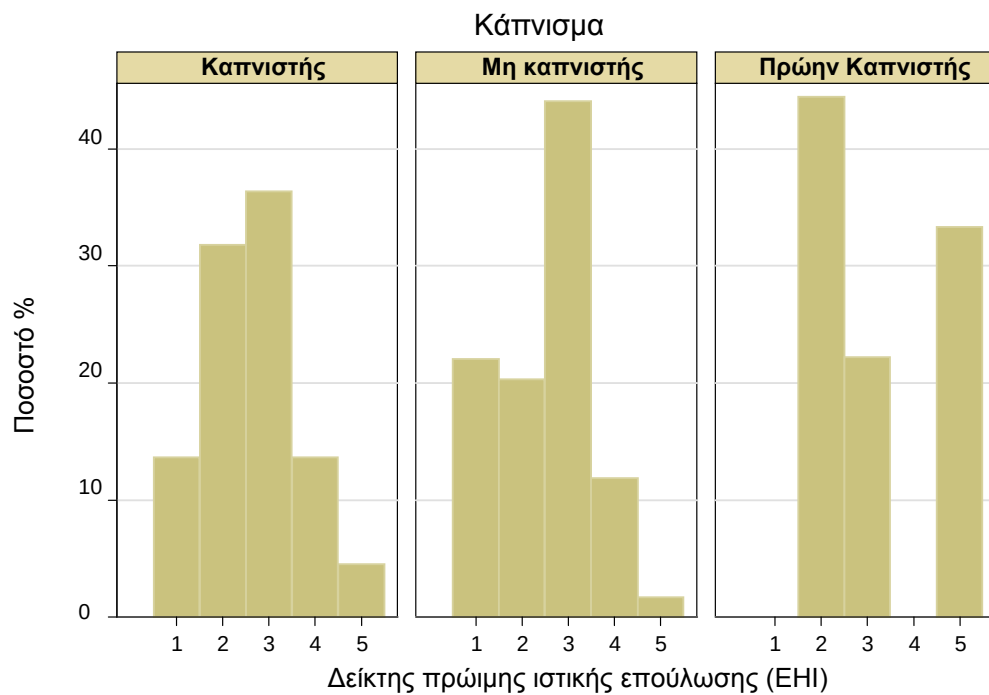
Γράφημα 2.20. Θηκογράμματα για την κατανομή του δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης (EHI) ανά ομάδα στις 7 ημέρες.



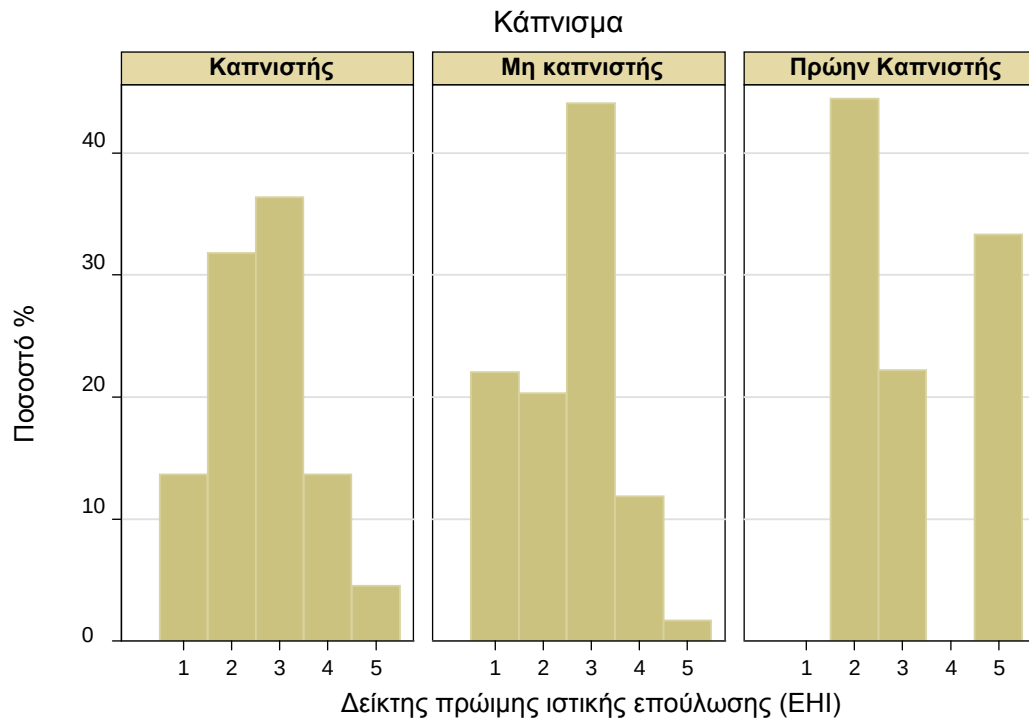
Γράφημα 2.21. Θηκογράμματα για την κατανομή του δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης (EHI) ανά ομάδα στις 14 ημέρες.



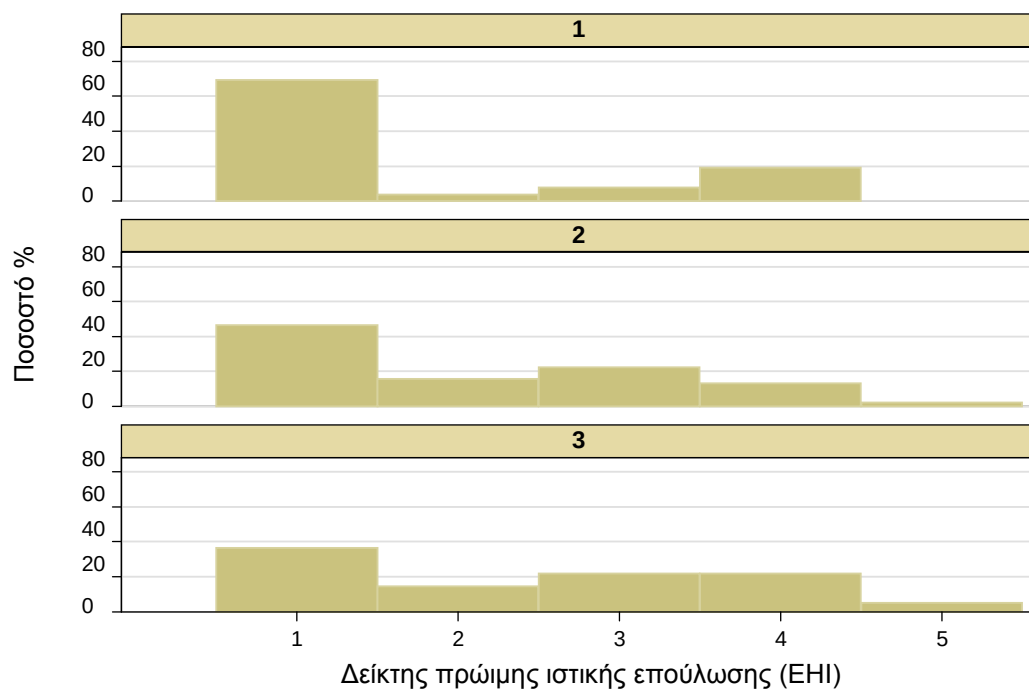
Γράφημα 2.22. Ιστόγραμμα για την κατανομή των τιμών του EHI ανάλογα με τις καπνιστικές συνήθειες του δείγματος (όλα τα δόντια και οι μεσοδόντιες περιοχές) – 7^η μετεγχειρητική ημέρα.



Γράφημα 2.23. Ιστόγραμμα για την κατανομή των τιμών του EHI ανάλογα με τις καπνιστικές συνήθειες του δείγματος (όλα τα δόντια και οι μεσοδόντιες περιοχές) – 14^η μετεγχειρητική ημέρα.

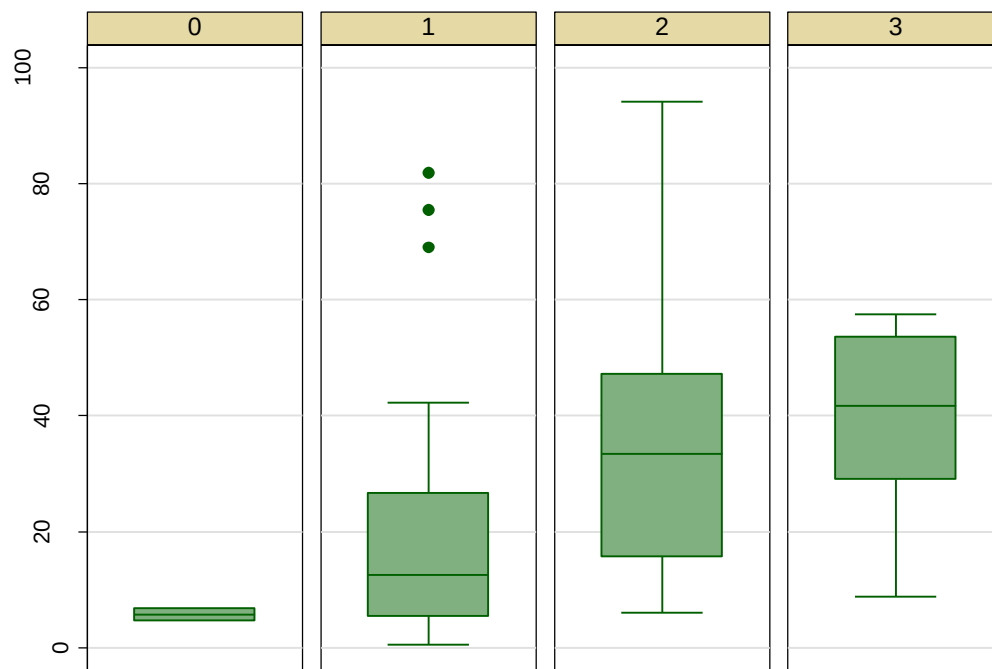


Γράφημα 2.24. Ιστόγραμμα για την κατανομή του δείκτη πρώιμης ιστικής επούλωσης (EHI) ανά επίπεδο δείκτη πλάκας (PI).



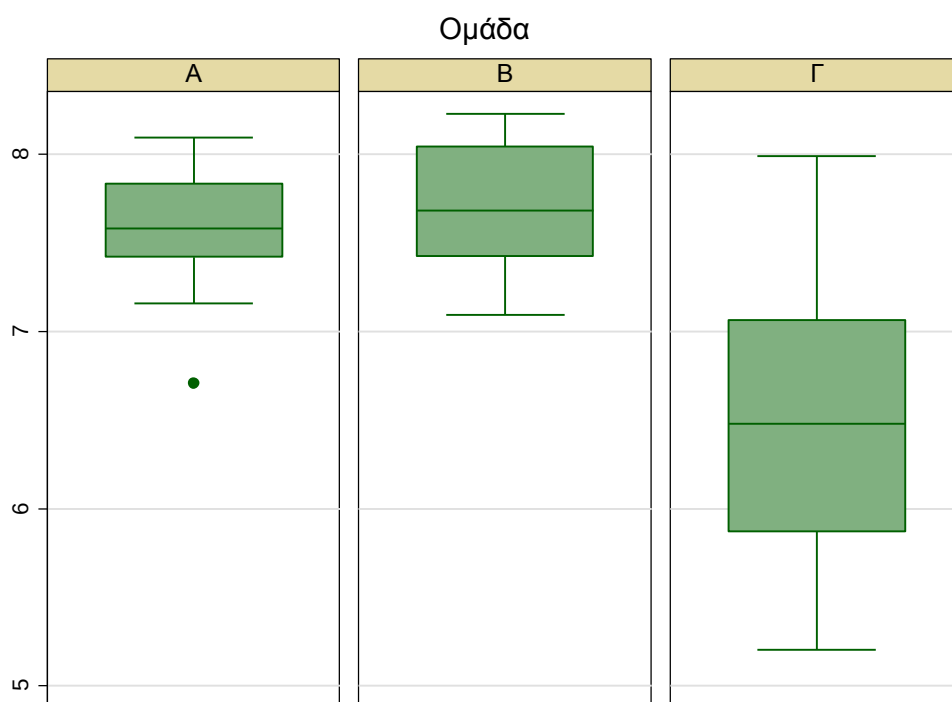
Γραφήματα ανά επίπεδο PI

Γράφημα 2.25. Κατανομή δείκτη επιφάνειας πλάκας (PA%) ανά επίπεδο δείκτη πλάκας (PI).

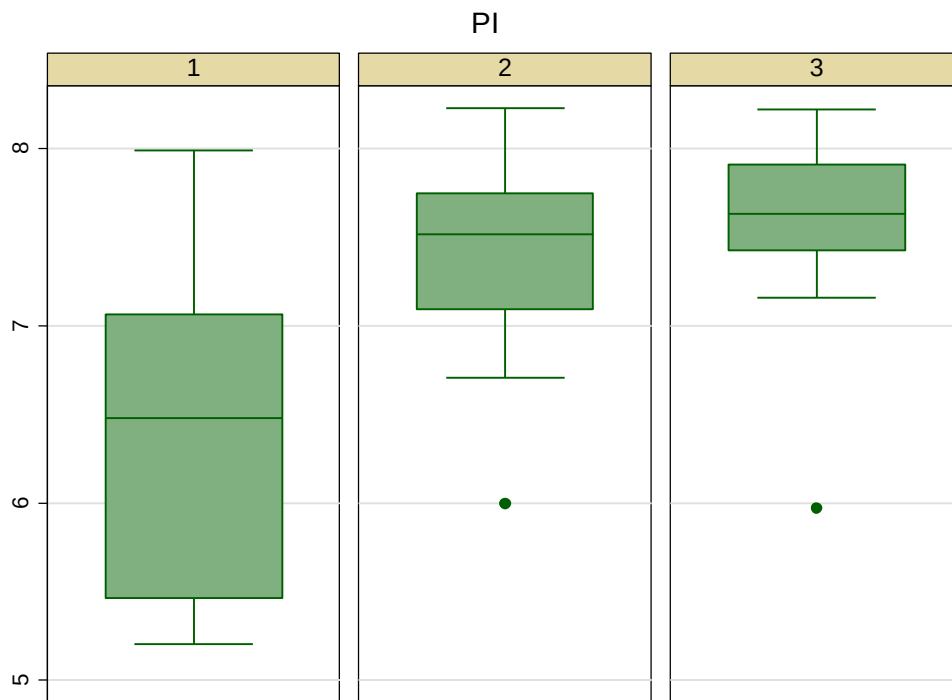


Γραφήματα ανά επίπεδο PI

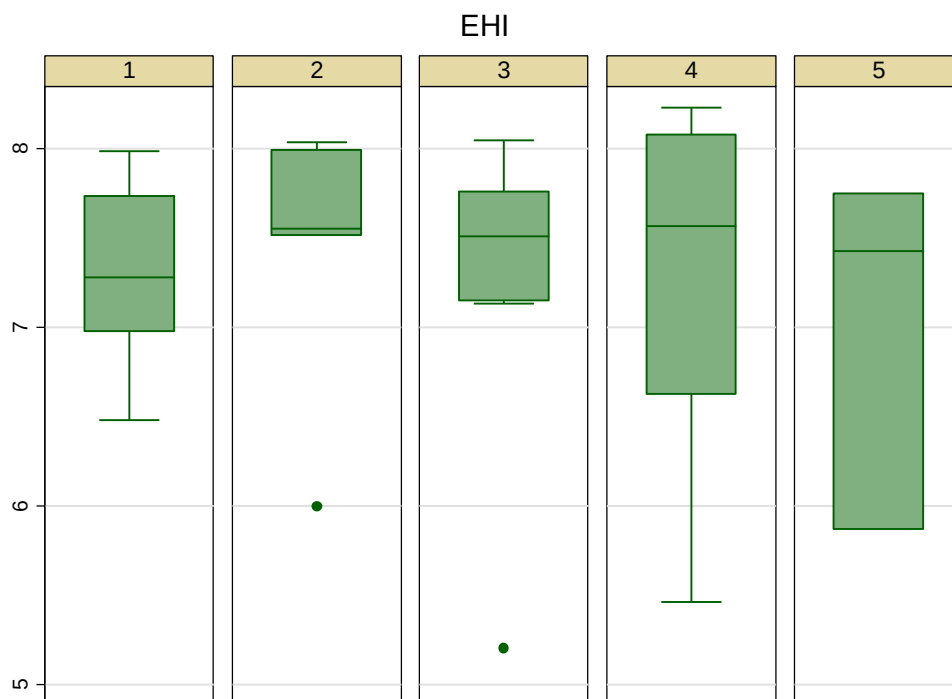
Γράφημα 3.1. Θηκογράμματα για την κατανομή του αριθμού βακτηρίων μικροβιακού φορτίου (εκφρασμένου ως log10) ανά ομάδα.



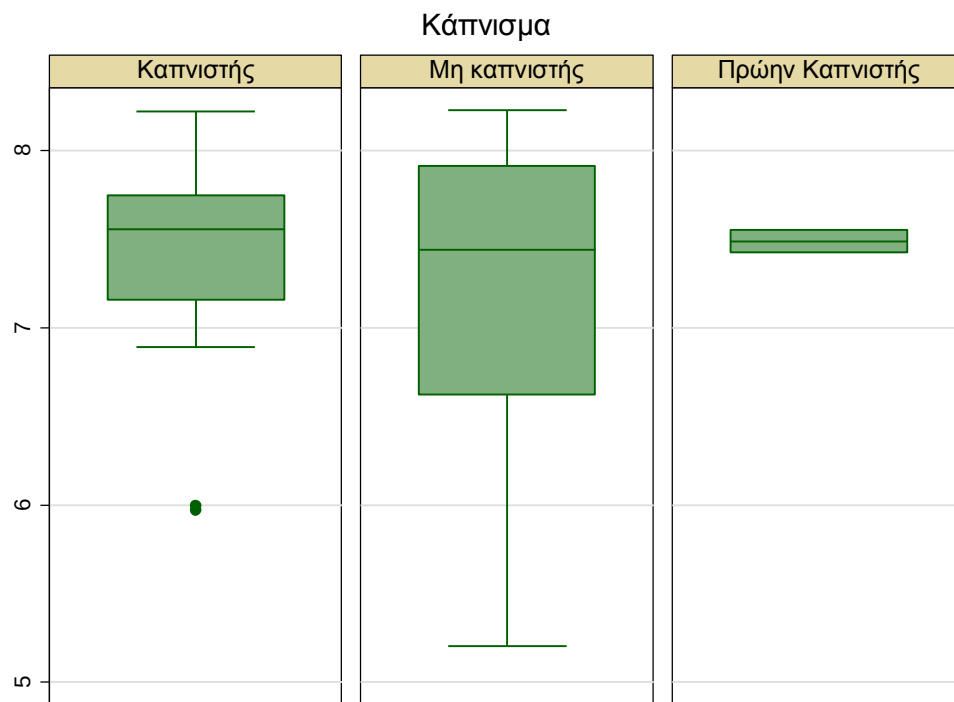
Γράφημα 3.2. Θηκογράμματα για την κατανομή του αριθμού βακτηρίων (εκφρασμένου ως $\log_{10}$) ανά επίπεδο τιμών δείκτη πλάκας (PI).



Γράφημα 3.3. Θηκογράμματα για την κατανομή του αριθμού βακτηρίων (εκφρασμένου ως $\log_{10}$) ανά επίπεδο τιμών δείκτη ιστικής επούλωσης (EHI).



Γράφημα 3.4. Θηκογράμματα για την κατανομή του αριθμού βακτηρίων μικροβιακού φορτίου (εκφρασμένου ως log10) ανά κατηγορία καπνίσματος.



ΕΙΚΟΝΕΣ



Εικόνα 1. Τομές διατήρησης μεσοδόντιων θηλών.



Εικόνα 2. Αναπέταση κρημνού ολικού πάχους.



Εικόνα 3. Συρραφή. Πλήρης συμπλησίαση κρημνών για κατά πρώτο σκοπό επούλωση στις μεσοδόντιες περιοχές.



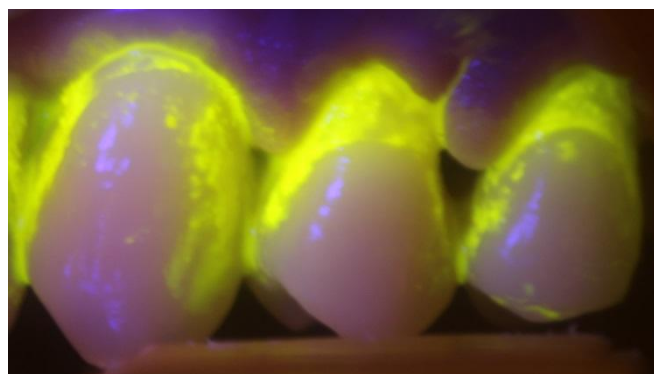
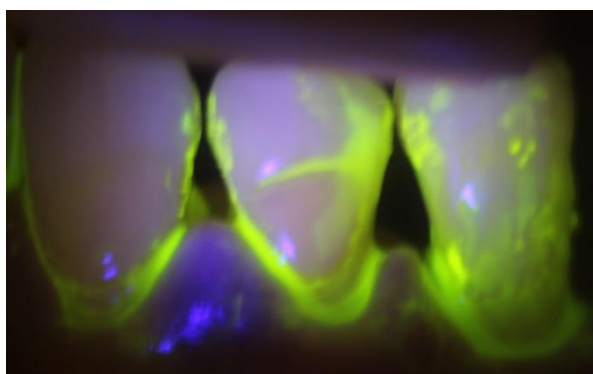
Εικόνα 4. Αδιαφανές πλαστικό δοχείο τοποθέτησης στοματικών διαλυμάτων.



Εικόνα 5. Φθορίζον αποκαλυπτικό διάλυμα ΟΜΠ.



Εικόνα 6. Λυχνία πολυμερισμού.



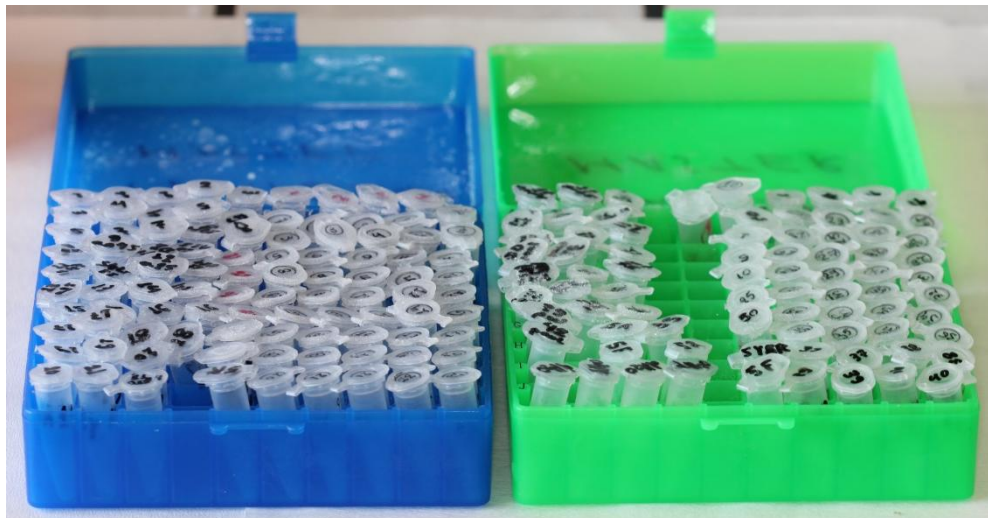
Εικόνα 7α, β. Λήψη φωτογραφιών μετά από εφαρμογή φθορίζοντος αποκαλυπτικού διαλύματος ΟΜΠ για ψηφιακή επεξεργασία.



Εικόνα 8. Αξιολόγηση επούλωσης στις μεσοδόντιες περιοχές με την βοήθεια του δείκτη EHI.



Εικόνα 9. Eppendorf 1,5ml.



Εικόνα 10. Tryobox kit.



Εικόνα 11. Πιπέτες ακριβείας.



Εικόνα 12. Κλίβανος επώασης.



Εικόνα 13. Φυγόκεντρος Eppendorf.



Εικόνα 14. Συσκευή ανάδευσης.



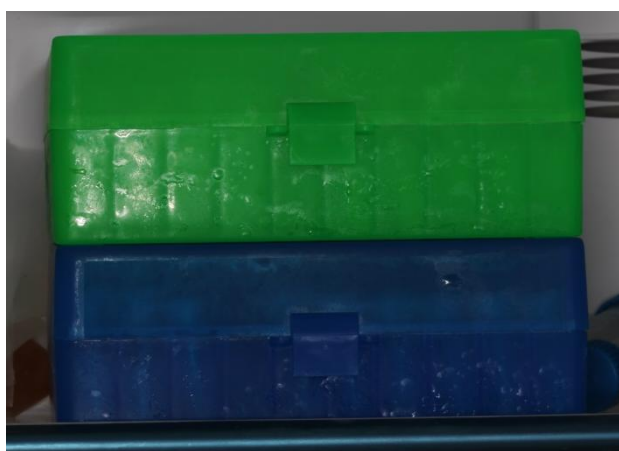
Εικόνα 15. Φασματοφωτόμετρο Nanodrop 1000



Εικόνα 16. Συσκευή real time PCR.



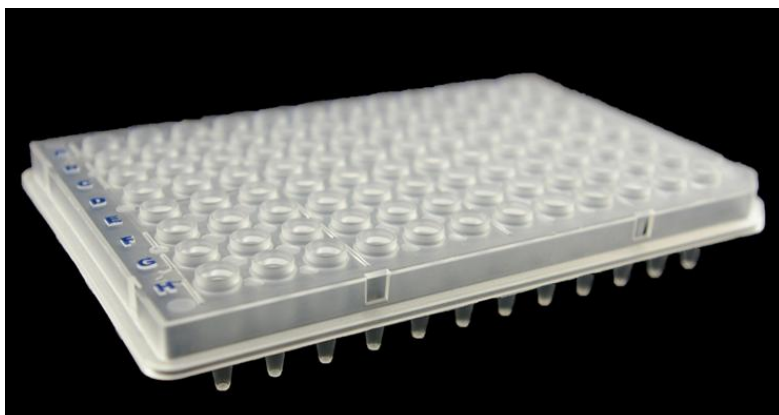
Εικόνα 17. Kit απομόνωσης βακτηριακού DNA.



Εικόνα 18. Αποθήκευση απομονωμένου DNA σε καταψύκτη στους -20°C.



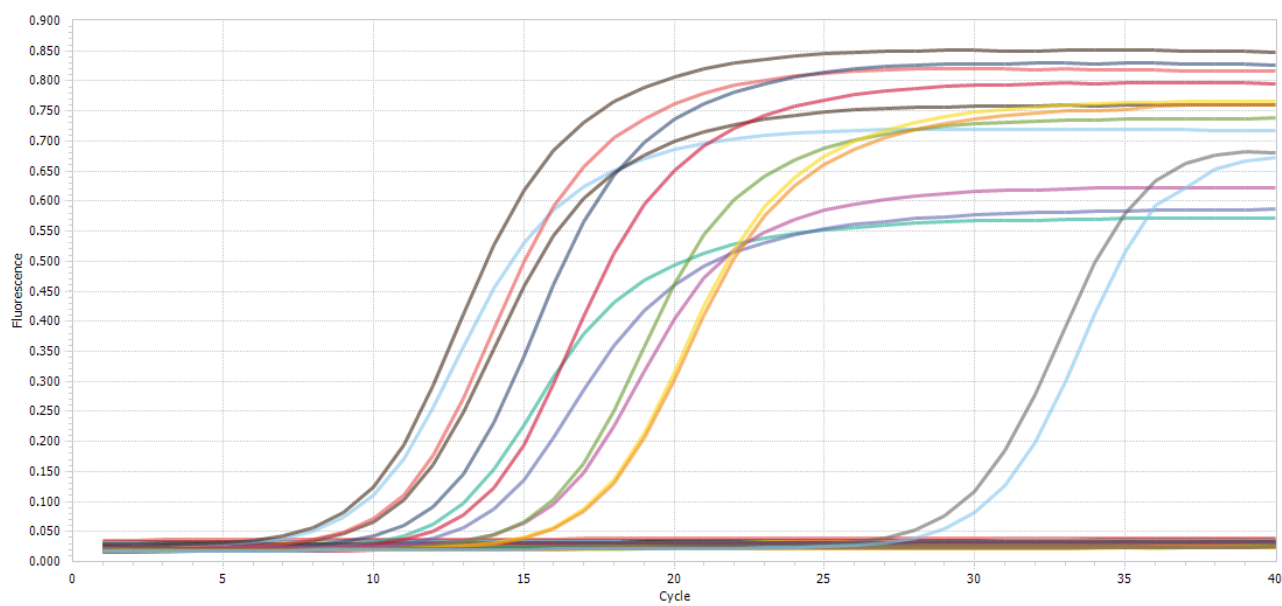
Εικόνα 19. Γενικοί εκκινητές (forward και reverse).



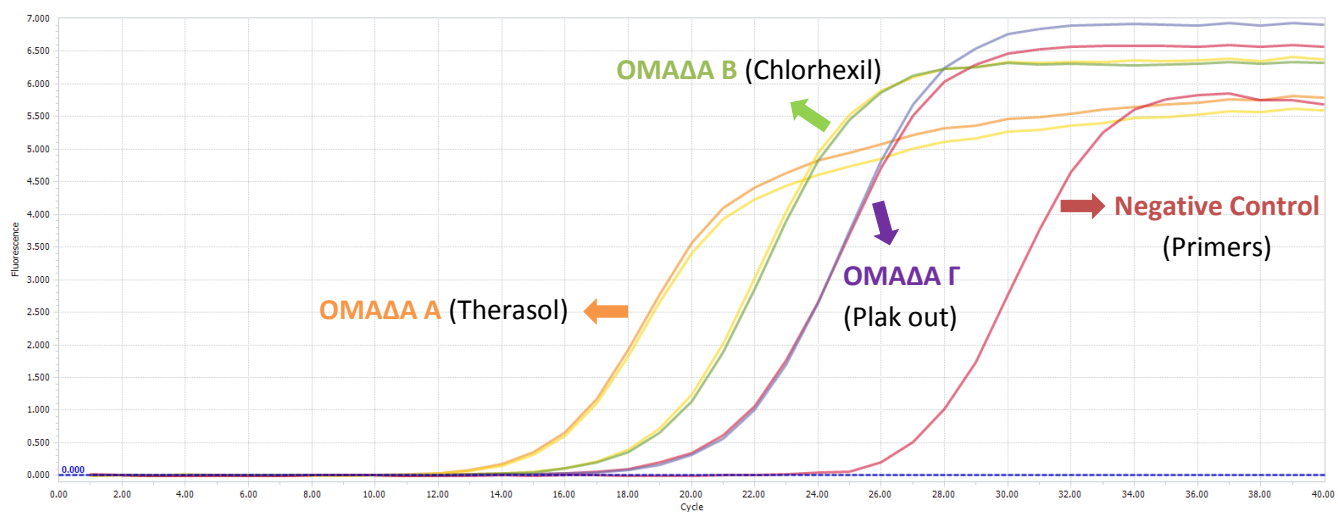
Εικόνα 20. Πλάκα αντίδρασης PCR 96 φρεατίων.



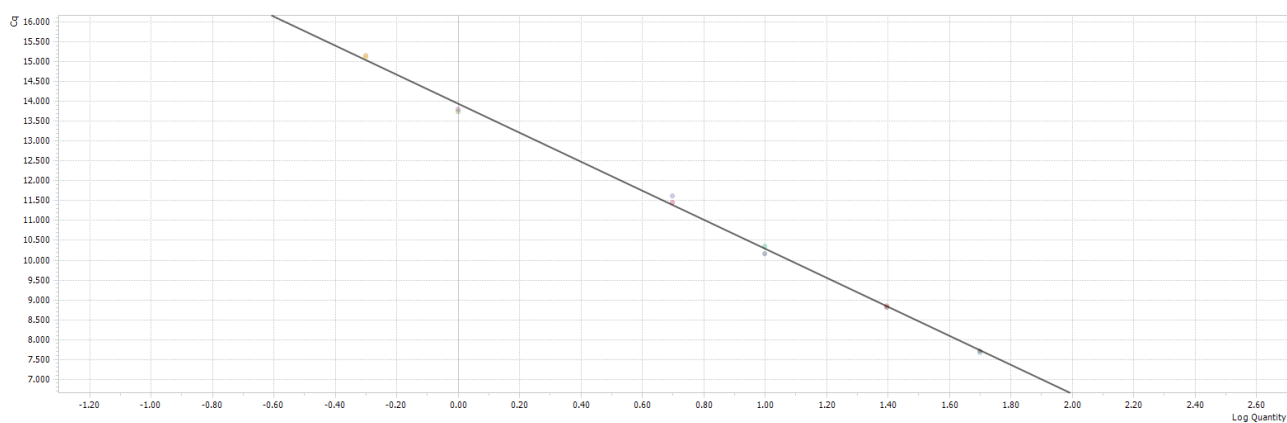
Εικόνα 21. Καλλιέργεια Escherichia Coli.



Εικόνα 22. Σιγμοειδείς καμπύλες PCR στις αντίστοιχες συγκεντρώσεις E. Coli.



Εικόνα 23. Ενδεικτικές καμπύλες αντίδρασης PCR δειγμάτων οδοντικής πλάκας.



Εικόνα 24. Πρότυπη καμπύλη.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η μικροβιακή επιμόλυνση και λοίμωξη της μετεγχειρητικής περιοχής έχει αποδειχθεί ότι λειτουργεί ανασταλτικά στην επούλωση των περιοδοντικών ιστών. Η ελαχιστοποίηση της ποσότητας της παραμένουσας οδοντικής μικροβιακής πλάκας (ΟΜΠ) στην μετεγχειρητική περιοχή οδηγεί σε ταχύτερη και χωρίς επιπλοκές επούλωση, συγκριτικά με την ύπαρξη εκτεταμένων εναποθέσεων αυτής. Παράλληλα, έχει δειχθεί ότι η διενέργεια χειρουργικής σε περιοδοντικούς ιστούς με έντονο τοπικό παράγοντα και φλεγμονή, όχι μόνο δεν επιφέρει ουσιαστικό αποτέλεσμα στην προσπάθεια επαναφοράς της περιοδοντικής υγείας, αλλά, αντίθετα οδηγεί σε επιδείνωση της κατάστασης.

Η ατομική αποτελεσματική μηχανική απομάκρυνση της ΟΜΠ σε καθημερινή βάση, με την χρήση οδοντόβουρτσας και μεσοδόντιων βουρτσών ή οδοντικού νήματος έχει αποδειχθεί από πολλές μελέτες, ότι αποτελεί το μοναδικό μέσο για τη διατήρηση της περιοδοντικής και οδοντικής υγείας μακροχρόνια. Ωστόσο, η μηχανική απομάκρυνση του τοπικού παράγοντα στην άμεση μετεγχειρητική περίοδο (πρώτες 7-10 ημέρες) είναι σχεδόν μη εφικτή, λόγω της ευαισθησίας και του πόνου, που εκλύεται από την χειρουργηθείσα περιοχή. Συνεπώς είναι προφανής ο λόγος για τον οποίο έχουν αναφερθεί πολλά διαφορετικά πρωτόκολλα και μέθοδοι που στοχεύουν στον όσο το δυνατόν καλύτερο μετεγχειρητικό μικροβιακό έλεγχο. Αυτά περιλαμβάνουν την τακτική επαγγελματική απομάκρυνση του τοπικού παράγοντα σε εβδομαδιαία βάση για τον πρώτο μετεγχειρητικό μήνα, την εφαρμογή τοπικών

αντισηπτικών παραγόντων σε μορφή διαλύματος ή γέλης και την κατά περίπτωση χορήγηση συστηματικών αντιβιοτικών.

Μια βασική μέθοδος, που εφαρμόζεται στην καθ'ημέρα κλινική πράξη, ως χημικό μέσο για τον έλεγχο της μετεγχειρητικής ΟΜΠ, είναι η χρήση στοματικών διαλυμάτων. Στο εμπόριο κυκλοφορεί πληθώρα σκευασμάτων με διάφορες ενεργές αντιμικροβιακές ουσίες. Από αυτά, εκείνα που περιέχουν χλωρεξιδίνη, αποτελούν τους πλέον ισχυρούς αντιμικροβιακούς παράγοντες. Η διγλυκονική χλωρεξιδίνη (CHX) είναι μία ισχυρή αντιμικροβιακή ουσία που χημικά ανήκει στην οικογένεια των δι-διγουανιδινών. Μέσω της προσκόλλησής της σε σιαλικές πρωτεΐνες εμποδίζει το σχηματισμό του βιοϋμενίου (biofilm). Επιπλέον, διαπερνά το βιοϋμένιο της οδοντικής πλάκας και δρά κατά των ήδη ενσωματωμένων βακτηρίων. Διατηρεί την αντιμικροβιακή δράση της περισσότερο από 12 ώρες, λόγω της υπερουλικής προσκόλλησης της στους σκληρούς και μαλακούς ιστούς (supragingival substantivity). Δεν προκαλεί τη δημιουργία ανθεκτικών μικροβιακών στελεχών ακόμη και μετά από παρατεταμένη χρήση της. Από την άλλη πλευρά, όπως κάθε αντιμικροβιακή/αντισηπτική ουσία, έτσι και η CHX παρουσιάζει κάποιες ανεπιθύμητες ενέργειες. Η πιο συχνή παρενέργεια είναι η εμφάνιση φαιάς χρώσης των οδοντικών επιφανειών, κάποιων αποκαταστατικών υλικών και της ραχιαίας επιφάνειας της γλώσσας. Ακόμη, σε ιστολογικό επίπεδο, έχει φανεί ότι μπορεί να προκαλέσει κατά δοσοεξαρτώμενο τρόπο *in vitro* μείωση του πολλαπλασιασμού των ουλικών ινοβλαστών, η οποία φαίνεται ότι είναι ανεξάρτητη από τον χρόνο έκθεσης των κυττάρων στην δραστική ουσία καθώς και *ex vivo* μείωση της κολλαγονογενετικής δραστηριότητας των ινοβλαστών, οδηγώντας σε επιβράδυνση

των διαδικασιών της ιστικής επούλωσης. Επιπρόσθετα, πέρα από τις ουλικές ινοβλάστες, η CHX φαίνεται να επιδρά αρνητικά στα επιθηλιακά κύτταρα και στα περιφερικά λεμφοκύτταρα.

Μια βασική ουσία, που περιέχεται στην πλειοψηφία των σκευασμάτων CHX, είναι η αιθανόλη. Η αιθανόλη έχει ενοχοποιηθεί για ξηρότητα του στοματικού βλεννογόνου, πρόκληση ερεθισμού σε μετεγχειρητικές περιοχές, προβλήματα εθισμού σε χρόνιους αλκοολικούς ασθενείς που έχουν διακόψει την κατανάλωση αλκοόλ, καθώς και κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του στόματος. Αν και σίγουρα δεν έχει αποδειχθεί κάποια αιτιολογική σχέση μεταξύ αλκοολούχων στοματικών διαλυμάτων και καρκίνου του στόματος, κυρίως λόγω της πληθώρας των συγχυτικών παραγόντων, τα σκευάσματα με αιθανόλη παρουσιάζουν κάποια μειονεκτήματα.

Γι αυτό τον λόγο έχουν αναπτυχθεί νέα σκευάσματα χλωρεξιδίνης τα οποία στερούνται αιθανόλης. Η αποτελεσματικότητα των σκευασμάτων αυτών έχει συγκριθεί με εκείνη των αλκοολούχων σκευασμάτων σε διάφορες μελέτες. Στην πλειοψηφία τους οι μελέτες αυτές χρησιμοποιώντας ομάδες περιοδοντικά υγιών ασθενών (ή με ουλίτιδα) συνέκριναν την αποτελεσματικότητα των σκευασμάτων χλωρεξιδίνης με και χωρίς αιθανόλη, αναφορικά με την ικανότητά τους να εμποδίζουν τον σχηματισμό ΟΜΠ και την εγκατάσταση φλεγμονής στα ούλα χωρίς να καταφέρουν, όμως, να βρουν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Ωστόσο, με εξαίρεση μία, δεν υπάρχουν κλινικές μελέτες που να έχουν συγκρίνει την αποτελεσματικότητα των προαναφερθέντων σκευασμάτων στον έλεγχο της ΟΜΠ

και στην δυνατότητα επούλωσης των ούλων μετά την διενέργεια χειρουργικής του περιοδοντίου.

Η CHX ναι μεν αποτελεί τον χρυσό κανόνα στον χημικό έλεγχο της ΟΜΠ, αλλά ταυτόχρονα εμφανίζει κάποιες παρενέργειες (συμπεριλαμβανομένης και της αρνητικής επίδρασης στην επούλωση των ούλων) και παράλληλα υπάρχουν περιπτώσεις που η χορήγησή της αντενδείκνυται. Στην βιβλιογραφία υπάρχουν ελάχιστες μελέτες που έχουν αξιολογήσει την αποτελεσματικότητα άλλων αντιμικροβιακών ουσιών, πέραν της CHX, στον μετεγχειρητικό έλεγχο της ΟΜΠ και την επούλωση των μαλακών ιστών μετά από χειρουργική του περιοδοντίου. Οι μόνες ουσίες που έχουν αξιολογηθεί σε μετεγχειρητικό επίπεδο είναι η εξιτιδίνη και ο συνδυασμός φθοριοαμίνης / φθοριούχου κασσίτερου. Ωστόσο, άλλες ουσίες που κυκλοφορούν ευρέως σήμερα, όπως ο παράγοντας C31G (συνδυασμός αλκυλο-διμεθυλο-γλυκίνης και αλκυλο-διμεθυλο-αμινοξειδίου) δεν έχουν αξιολογηθεί στο κατά πόσο θα μπορούσαν να χορηγηθούν μετεγχειρητικά ως χημικά μέσα ελέγχου της ΟΜΠ καθώς και στην επίδρασή τους στις διαδικασίες της ιστικής επούλωσης (πρώιμης και όψιμης).

Σκοπός της συγκεκριμένης κλινικής μελέτης είναι η σύγκριση της αποτελεσματικότητας τριών διαφορετικών στοματικών διαλυμάτων (ενός με χλωρεξιδίνη και αιθανόλη, ενός με χλωρεξιδίνη χωρίς αιθυλική αλκοόλη και ενός με δραστική ουσία τον παράγοντα C31G) στον μετεγχειρητικό έλεγχο της ΟΜΠ και την πρώιμη επούλωση των ούλων, σε ασθενείς που υποβάλλονται σε συμβατική χειρουργική του περιοδοντίου.

Υλικά και Μέθοδοι: Πρόκειται για μια μονοκεντρική, ελεγχόμενη, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, παράλληλου σχεδιασμού κλινική μελέτη. Στη μελέτη συμμετείχαν 42 άτομα, γυναίκες και άνδρες, ηλικίας 34-69 ετών, τα οποία έλαβαν χειρουργική του περιοδοντίου με σκοπό την εξάλειψη/μείωση υπολειμματικών περιοδοντικών θυλάκων ή / και την αποκάλυψη κλινικής μύλης στις περιοχές #13-15 ή/και #23-25 ή/και #33-35 ή/και #43-45, χωρίς την ύπαρξη ενδοστικής βλάβης που θα πληρούσε τις προϋποθέσεις για κατευθυνόμενη ιστική ανάπτυξη. Οι ασθενείς χωρίστηκαν τυχαία σε τρεις ισάριθμες ομάδες (14 άτομα έκαστη) και για τις πρώτες 14 μετεγχειρητικές ημέρες έλαβαν ένα από τα ακόλουθα στοματικά διαλύματα: συνδυασμός αλκυλοδιμεθυλοαμινοξειδίου και αλκυλοδιμεθυλογλυκίνης (C31G, Therasol, Intertrade, Ομάδα Α), χλωρεξιδίνη 0,12% χωρίς αιθανόλη (Chlorhexil 0,12%, Intermed, Ομάδα Β), χλωρεξιδίνη 0,12% με αιθανόλη (Plak out 0,12%, Omega Pharma, Ομάδα Γ). Κατά τη διάρκεια της περιόδου παρακολούθησης απείχαν από οποιαδήποτε διαδικασία μηχανικής απομάκρυνσης της ΟΜΠ στο τεταρτημόριο που είχε πραγματοποιηθεί η χειρουργική επέμβαση. Ο μετεγχειρητικός έλεγχος της ΟΜΠ και η πρώιμη επούλωση των ούλων αξιολογήθηκαν με τις εξής παραμέτρους:

- 1) Λήψη κλινικών φωτογραφιών των προστοματικών επιφανειών κυνόδοντα, 1^{ου} και 2^{ου} προγόμφιου μετά την εφαρμογή φθορίζοντος αποκαλυπτικού διαλύματος ΟΜΠ (προεγχειρητικά - αμέσως πριν την διενέργεια της επέμβασης, 7^η και 14^η μετεγχειρητική ημέρα). Ακολούθησε επεξεργασία των φωτογραφιών σε υπολογιστή για καθορισμό του ποσοστού (%) της

προστομιακής επιφάνειας των αντίστοιχων δοντιών, που καλυπτόταν από ΟΜΠ (δείκτης PA%).

- 2) Δείκτης πλάκας (PI) (14^η μετεγχειρητική ημέρα).
- 3) Δείκτης πρώιμης ιστικής επούλωσης (EHI) (7^η και 14^η μετεγχειρητική ημέρα).
- 4) Λήψη δειγμάτων υπερουλικής ΟΜΠ για μικροβιολογική αξιολόγηση του συνολικού βακτηριακού φορτίου με την τεχνική της ποσοτικής αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (quantitative real time PCR) (14^η μετεγχειρητική ημέρα).

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο Stata 13.1 (Stata Corp., TX USA). P-values μικρότερα του 0.05 θεωρήθηκαν ως στατιστικά σημαντικά.

Αποτελέσματα: Σε επίπεδο μετεγχειρητικού ελέγχου της ΟΜΠ, έτσι όπως καταγράφηκε μέσω του δείκτη πλάκας (PI) στις 14 ημέρες, η σύγκριση μεταξύ των ομάδων αποκάλυψε στατιστικά σημαντικά χαμηλότερες τιμές PI στην ομάδα Β συγκριτικά με την Α ($p = 0,012$) και ακόμη χαμηλότερες στην ομάδα Γ σε σχέση με την Α ($p < 0,001$). Επίσης η ομάδα Γ εμφάνισε σημαντικά χαμηλότερες τιμές PI συγκριτικά με την ομάδα Β ($p < 0,001$). Συγκεκριμένα οι προγόμφιοι (1^{ος} προγόμφιος: OR = 3,25, 2^{ος} προγόμφιος: OR = 4,64, $p < 0,001$), οι όμορες και κυρίως οι άπω οδοντικές επιφάνειες (εγγύς επιφάνειες: OR = 7,19, άπω επιφάνειες: OR = 12,58, $p < 0,001$) και το κάπνισμα (OR = 20,41, $p < 0,001$) συσχετίστηκαν με σημαντικά υψηλότερες τιμές δείκτη PI.

Αναφορικά με τον δείκτη PA%, στις 7 ημέρες η διάμεσος των τιμών ήταν 22,8%, 20,6% και 11,2% για τις ομάδες Α, Β και Γ αντίστοιχα. Στις 14 ημέρες οι τιμές για τις ομάδες Α, Β και Γ ήταν 32,5%, 14,9% και 11,2%, αντίστοιχα. Μεταξύ των δύο

μετρήσεων, κατά την 7^η και 14^η μετεγχειρητική ημέρα αντίστοιχα, δεν υπήρχε σημαντική μεταβολή των τιμών του PA% σε καμία από τις τρεις ομάδες, κάτι που πρακτικά σημαίνει ότι μεταξύ των δύο χρονικών σημείων οι μετρήσεις μέσα στην κάθε ομάδα ήταν παρόμοιες (14 vs 7, συντελεστής $b = 0,09$, $p = 0,416$). Στις 14 ημέρες, η σύγκριση μεταξύ των ομάδων ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές, με την ομάδα Β να εμφανίζει κατά μέσο όρο 16 ποσοστιαίες μονάδες χαμηλότερο PA% σε σχέση με την Α ($p = 0,049$) και την ομάδα Γ 21 ποσοστιαίες μονάδες χαμηλότερο PA% σε σχέση με την Α ($p = 0,005$). Η ομάδα Γ δεν διέφερε σημαντικά με την ομάδα Β, αν και καταγράφηκαν χαμηλότερα ποσοστά PA% στην πρώτη ($p = 0,421$).

Σε επίπεδο μετεγχειρητικής επούλωσης των μαλακών ιστών, έτσι όπως καταγράφηκε μέσω του δείκτη EHI, κατά την 7^η μετεγχειρητική ημέρα δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων (όλα οι τιμές p στις συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων ήταν $> 0,05$). Στις 14 ημέρες φάνηκε πως η ομάδα Γ είχε σημαντικά χαμηλότερες τιμές EHI από τη Β ($p = 0,007$). Η ομάδα Α δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές τόσο σε σχέση με τη Β ($p = 0,130$) όσο και με τη Γ ($p = 0,207$). Μεταξύ 7^{ης} και 14^{ης} μετεγχειρητικής ημέρας καταγράφηκε σημαντική μείωση των τιμών EHI (άρα βελτίωση της επούλωσης) στην ομάδα Α ($p < 0,001$) και ακόμα σημαντικότερη στην ομάδα Γ ($p < 0,001$), σε αντίθεση με την ομάδα Β που δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο χρονικών σημείων ($p = 0,557$). Αναφορικά με την επίδραση του καπνίσματος στην επούλωση, και στα δύο χρονικά σημεία (7 και 14 ημέρες) δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές ως προς τις τιμές του

δείκτη EHI μεταξύ καπνιστών, πρώην καπνιστών και μη καπνιστών (7^η ημέρα: $p = 0,486$, 14^η ημέρα: $p = 0,514$).

Καταγράφηκε μια τάση προς υψηλότερες τιμές δείκτη επούλωσης (EHI) καθώς αυξάνονται τα επίπεδα ΟΜΠ (δείκτης PI). Ωστόσο η παρατήρηση αυτή δεν έφτασε τα όρια της στατιστικής σημαντικότητας (οριακά μη σημαντική η διαφορά μεταξύ PI = 3 και PI = 1, $p = 0,051$).

Σε μικροβιολογικό επίπεδο, στην ομάδα Α καταγράφηκαν μικροβιολογικά αποτελέσματα σε όλους τους ασθενείς, ενώ στις ομάδες Β και Γ δεν υπήρχαν μικροβιολογικά δεδομένα από έξι ασθενείς (τρεις σε κάθε ομάδα). Η ποσότητα του μικροβιακού φορτίου (διάμεσος τιμών) ήταν 0,416ng στην ομάδα Α, 0,521ng στην ομάδα Β και 0,032ng στην ομάδα Γ. Τα αντίστοιχα επίπεδα μικροβιακού φορτίου εκφρασμένα ως συνολικός αριθμός βακτηρίων ($\times 10^6$) ήταν 38.470, 48.190 και 3.020 για τις ομάδες Α, Β και Γ αντίστοιχα. Οι διαφορές μεταξύ των ομάδων Α και Β δεν ήταν στατιστικά σημαντικές ($p = 0,612$), ενώ η ομάδα Γ εμφάνιζε σημαντικά χαμηλότερο επίπεδο βακτηριακού φορτίου συγκριτικά με τις άλλες δύο ομάδες ($p < 0,001$).

Η ποσότητα του μικροβιακού φορτίου δεν φάνηκε να συσχετίζεται με τις τιμές του δείκτη EHI (όλα οι τιμές $p > 0,05$).

Τέλος δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές ως προς τα επίπεδα του συνολικού βακτηριακού φορτίου μεταξύ καπνιστών, πρώην καπνιστών και μη καπνιστών ($p = 0,624$ και 0,538 για πρώην και ενεργούς καπνιστές, αντίστοιχα).

Συμπεράσματα: Στα πλαίσια των περιορισμών αυτής της μελέτης μπορούμε να καταλήξουμε στα εξής:

- Αναφορικά με τον μετεγχειρητικό έλεγχο της οδοντικής μικροβιακής πλάκας για διάστημα 14 ημερών, τόσο με κλινικά όσο και με μικροβιολογικά κριτήρια φάνηκε ότι ο συνδυασμός χλωρεξιδίνης με αιθανόλη υπερτερεί έναντι των άλλων διαλυμάτων.
- Το διάλυμα CHX με αιθανόλη υπερείχε στη μείωση του βακτηριακού φορτίου της ΟΜΠ σε βαθμό στατιστικά σημαντικό έναντι των άλλων δύο διαλυμάτων, που με τη σειρά τους δεν διέφεραν μεταξύ τους (μη στατιστικά σημαντική διαφορά).
- Σε επίπεδο πρώιμης μετεγχειρητικής επούλωσης των ούλων μετά από συμβατική χειρουργική του περιοδοντίου φάνηκε ότι κατά την 7^η μετεγχειρητική ημέρα δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών διαλυμάτων που εξετάστηκαν. Αυτό ίσως συνεπάγεται ότι σε περιπτώσεις περιοδοντικών επεμβάσεων που τα ράμματα πρόκειται να αφαιρεθούν μέσα σε ένα τέτοιο χρονικό διάστημα, η χλωρεξιδίνη και ο παράγοντας C31G μπορούν να επιφέρουν παρόμοιο αποτέλεσμα ιστικής επούλωσης.
- Το στοματικό διάλυμα με τον δραστικό παράγοντα C31G φάνηκε εξίσου αποτελεσματικό με τα σκευάσματα χλωρεξιδίνης (μη στατιστικά σημαντική διαφορά) στην μετεγχειρητική επούλωση των ούλων κατά την περίοδο παρακολούθησης των 14 ημερών. Επιπλέον η CHX με αιθανόλη υπερείχε έναντι εκείνης χωρίς αιθυλική αλκοόλη στο αντίστοιχο χρονικό

διάστημα (14 ημέρες παρακολούθησης). Η παρατήρηση αυτή μπορεί να υποδηλώνει ότι στις περιπτώσεις που τα ράμματα παραμένουν για διάστημα μεγαλύτερο των 7 ημερών, η χρήση διαλυμάτων που περιέχουν αιθανόλη υπερτερεί.

- Τα ευρήματα της μελέτης δείχνουν ότι η παρουσία της αιθανόλης αυξάνει την αποτελεσματικότητα της χλωρεξιδίνης. Επίσης τα διαλύματα με τον δραστικό παράγοντα C31G θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν εναλλακτικά της χλωρεξιδίνης κατά την πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο.

Λέξεις κλειδιά: χλωρεξιδίνη, αλκοόλη, στοματικά διαλύματα, πρώιμη ιστική επούλωση, χειρουργική του περιοδοντίου, έλεγχος οδοντικής μικροβιακής πλάκας

ABSTRACT

Introduction: Microbial contamination and infection of postsurgical area inhibit normal tissue healing process. Minimizing the amount of postoperative dental plaque accumulation leads to more rapid and without complications wound healing. A negative correlation has been found between the amount of dental plaque at the postsurgical site and both gain in soft tissue attachment and osseous fill after periodontal surgical procedures.

Self-performed mechanical plaque removal measures, using toothbrush and interdental brushes or dental floss, is essential for maintaining periodontal and dental health. However, mechanical removal of dental plaque in the early postoperative period (first 7-10 days) is almost not feasible because of sensitivity and pain released from the operated area and many times undesirable due to the risk of tissue irritation and traumatization. Therefore many different protocols have been proposed in order to control postsurgical microbial count, including regular professional removal of plaque and calculus on a weekly basis for the first postoperative month, local application of antiseptic / antimicrobial agents in various formulations and administration of systemic antibiotics.

Chemical supragingival plaque control appears to be an adjunct and not replacement for the mechanical methods, but it is a viable alternative when mechanical measures appear partially or totally ineffective alone or cannot be applied (for example during the immediate postoperative period). There is a plethora of commercially available

mouthrinses containing various antimicrobial agents. Those containing digluconate chlorhexidine (CHX) are supposed to be the most effective. Chlorhexidine is a potent antibacterial and antiplaque agent belonging to the bisbiguanide family. It binds strongly to bacterial cell membranes preventing the formation of biofilm. Moreover, it penetrates biofilm of dental plaque and acts against bacteria already embedded. Once adsorbed, and unlike some other antiseptics, CHX shows a persistent bacteriostatic action lasting in excess of 12 hours (substantivity). It cannot lead to development of resistant bacterial strains, even after prolonged use. On the other hand, as any antimicrobial / antiseptic agent, CHX has a number of local side effects. The most frequent one is brown discoloration of the teeth and some restorative materials and the dorsum of the tongue. In a histological level, it seems that CHX may cause an in vitro dose-dependent inhibition of gingival fibroblasts proliferation, which appears to be independent of exposure time to the active substance, or an ex vivo reduction of fibroblasts ability to synthesize collagen, leading to retardation of tissue healing processes. In addition, beyond gingival fibroblasts, CHX appears to negatively affect epithelial cells and peripheral lymphocytes.

A common substance, present in the majority of CHX formulations, is ethanol. Ethanol has been associated with oral mucosa dryness, tissue irritation of postoperative areas, addiction symptoms in chronic alcoholic patients who have stopped drinking and increased risk for oral cancer. Even if no causal relationship between alcoholic mouthwashes and oral cancer has been proved, mainly due to existence of many confounding factors, formulations with ethanol display some disadvantages.

For that reason, chlorhexidine formulations lacking ethanol have been developed in the recent years. The efficacy of these formulations has been investigated in many studies and has been shown to be comparable to that of alcoholic ones. In the majority of those studies, the efficacy of alcoholic and non-alcoholic CHX formulations has been tested on periodontally healthy (or with gingivitis) patients, evaluating their ability to prevent dental plaque formation and inhibit gingival inflammation. The results indicate that there are no significant differences between the above mentioned formulations. However, there are no clinical studies (except one) evaluating the efficacy of CHX formulations with and without ethanol in the postsurgical control of microbial plaque and gingival healing response after periodontal surgical procedures.

Undoubtedly, CHX is the gold standard at a chemical level in the control of plaque and gingivitis. On the other hand, it displays side effects (including adverse effects on tissue healing response) and in some cases its administration is contraindicated. In the literature there are few studies that have evaluated the efficacy of other antimicrobial agents (as for example hexitidine and amine / stannous fluoride), besides CHX, as a postoperative regime of plaque control after periodontal surgery. However, there is a plethora of antimicrobials / antiseptics widely available today, such as factor C31G (a combination of alkyl-dimethyl-glycine and alkyl-dimethyl - amine oxide), that have not been evaluated at a periodontal postsurgical level.

The aim of the present clinical study is to evaluate and compare the effectiveness of three different mouthrinses (alcohol – free CHX, alcohol based CHX and C31G) in postoperative plaque control and early wound healing after periodontal flap surgery.

Materials & Methods: This is a single-center, controlled, randomized, double-blind, parallel design clinical trial. In the study participated 42 patients, females and males, aged 34-69 years old. Participants received periodontal flap surgery for elimination or reduction of residual periodontal pockets and/or for crown lengthening in the regions #13-15 and/or #23-25 and/or #33-35 and/or #43-45, provided that there was no need for osseous graft or membrane or any other regenerative material or biologic mediator application during surgical procedure. Patients randomly allocated to three groups (14 subjects per group). During the first 14 postoperative days, patients instructed to rinse with one of the following three mouthwashes: a combination of alkyl-dimethyl-glycine and alkyl-dimethyl -amine oxide (C31G, Therasol, InterTrade, Group A), chlorhexidine 0.12% without ethanol (Chlorhexil 0,12%, Intermed, Group B) and 0.12% chlorhexidine with ethanol (Plak out 0,12%, Omega Pharma, Group C). During the whole observation period, subjects refrained from any mechanical effort of plaque removal at the operated areas. Postsurgical plaque control and early wound healing were evaluated according to the following parameters:

- 1) Clinical photographs of buccal aspect of teeth at the operated areas (canine, 1st premolar, 2nd premolar) with fluorescent dental plaque disclosing agent (baseline - immediately prior to surgery, 7th and 14th postoperative day). Photographs were processed in PC Adobe Photoshop Program, in order to evaluate the % area covered by dental plaque (index PA%).
- 2) Plaque index (PI) (14th postoperative day).
- 3) Early wound healing index (EHI) (7th and 14th postsurgical days).

- 4) Supragingival dental plaque samples collection for microbiological evaluation of total bacterial count applying the technique of quantitative real time polymerase chain reaction (quantitative real time PCR) (14th postoperative day).

Statistical analysis was performed with the statistical package Stata 13.1 (Stata Corp., TX USA). P-values less than 0.05 were considered as statistically significant.

Results: Regarding postsurgical plaque control, as evaluated by plaque index (PI), the comparison among groups revealed significantly lower PI values in group B (CHX without ethanol) compared to A (C31G) ($p = 0,012$) and even lower values in group C (CHX with ethanol) with respect to A ($p < 0,001$). Also, group C showed significantly lower PI values compared to group B ($p < 0,001$). In particular, premolars (1st premolar: OR = 3.25, 2nd premolar: OR = 4,64, $p < 0,001$), proximal tooth surfaces (mesial: OR = 7.19, distal: OR = 12,58, $p < 0,001$) and smoking (OR = 20,41, $p < 0,001$) were associated with significantly higher PI values.

Regarding PA% index, 7 days postoperatively median values were 22.8%, 20.6% and 11.2% in groups A, B and C, respectively. At 14th postsurgical day, values for groups A, B and C were 32.5%, 14.9% and 11.2%, respectively. Between two examinations, there was no significant difference in PA% values within each group (14 vs 7 days, coefficient $b = 0,09$, $p = 0,416$). At day 14, group B showed an average of 16 percentage units lower PA% compared with group A (significant difference, $p = 0,049$) and group C displayed 21 percentage units lower PA% compared to A (significant difference, $p = 0,005$). Group C was not significantly different compared to B ($p = 0,421$).

Early wound healing, as evaluated by EHI registration, was not significantly different among groups (all p-values among group comparisons was > 0.05) 7 days after surgery. At 14th postoperative day, EHI values in group C were significantly lower compared to group B ($p = 0,007$). Group A showed no significant differences compared with groups B ($p = 0,130$) and C ($p = 0,207$). Between 7th and 14th postsurgical day, a significant reduction of EHI values (improved wound healing) was recorded at groups A ($p < 0,001$) and C ($p < 0,001$). In contrast, in group B there were no significant differences between two recordings (7 and 14 days) ($p = 0,557$). Smoking was not significantly correlated to healing response. In both examinations (7 and 14 days), there were no significant differences of EHI values among smokers, ex-smokers and non-smokers (7th day: $p = 0,486$, 14th day: $p = 0,514$).

A trend for higher EHI values (deteriorating healing response) as increased dental plaque accumulation (higher PI values) was recorded, but this observation was not statistically significant (borderline non-significant difference between PI = 3 and PI = 1, $p = 0,051$).

At microbiological evaluation, results were recorded from all patients in group A, while in groups B and C there were no microbiological data from six patients (three subjects in each group). The amount of total bacterial load (median values) was 0,416ng in group A, 0,521ng in group B and 0,032ng in group C. The levels of bacterial counts, expressed as total number of bacteria ($\times 10^6$) were 38.470, 48.190 and 3.020 for groups A, B and C, respectively. Differences between groups A and B were not statistically significant ($p = 0,612$), while group C showed significantly lower bacterial counts comparatively to other two groups ($p < 0,001$).

The amount of bacterial load was not correlated with EHI values (all p-values greater than 0.05), which indicates that microbial counts level did not affect the early healing response of gingival tissues.

Finally, there were no significant differences in the levels of total bacterial counts among smokers, former smokers and non-smokers ($p = 0,624$ and $0,538$ for ex-smokers and smokers, respectively).

Conclusions: Within the limitations of this study we can conclude the following:

- Regarding postsurgical plaque control (for an observation period of 14 days), both clinical and microbiological data indicated that chlorhexidine with ethanol is superior to the other formulations.
- CHX with ethanol was superior in reducing total bacterial load compared to the other two solutions, which in turn were not significantly different from each other.
- Regarding early wound healing response, there was no significant difference among the evaluated formulations, 7 days after periodontal surgery. This may indicate that in periodontal surgical procedures where sutures are anticipated to be removed in such a time period (7 days), chlorhexidine and C31G agent could lead to a similar tissue healing response profile.
- Active agent C31G appeared to be as effective as chlorhexidine formulations (non-statistically significant difference) at the level of early postsurgical periodontal tissue healing response (during the 14-day observation period). Moreover, CHX with ethanol was superior to non-alcoholic CHX at the same time period (14 days follow-up). This observation may suggest that in cases

where sutures have to remain more than seven days, use of mouthrinses containing ethanol should be preferred.

- The findings indicate that the presence of ethanol increases the efficacy of chlorhexidine. In addition, solutions with the active agent C31G could be used alternatively to chlorhexidine in the early postsurgical period.

Key words: chlorhexidine, alcohol, mouthrinses, early wound healing, periodontal surgery, plaque control

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I. & Dewhirst, F. E. (2005) Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* **43**, 5721-5732. doi:10.1128/JCM.43.11.5721-5732.2005.
- Addy, M. (1986) Chlorhexidine compared with other locally delivered antimicrobials. A short review. *J Clin Periodontol* **13**, 957-964.
- Addy, M., Griffiths, C. & Isaac, R. (1977) The effect of povidone iodine on plaque and salivary bacteria. A double-blind crossover trial. *J Periodontol* **48**, 730-732. doi:10.1902/jop.1977.48.11.730.
- Addy, M. & Llewelyn, J. (1978) Use of chlorhexidine gluconate and povidone iodine mouthwashes in the treatment of acute ulcerative gingivitis. *J Clin Periodontol* **5**, 272-277.
- Addy, M., Loyn, T. & Adams, D. (1991a) Dentine hypersensitivity--effects of some proprietary mouthwashes on the dentine smear layer: a SEM study. *J Dent* **19**, 148-152.
- Addy, M. & Moran, J. (1983) Comparison of plaque accumulation after topical application and mouth rinsing with chlorhexidine gluconate. *J Clin Periodontol* **10**, 69-71.
- Addy, M. & Moran, J. (1984) The formation of stain on acrylic surfaces by the interaction of cationic antiseptic mouthwashes and tea. *J Biomed Mater Res* **18**, 631-641. doi:10.1002/jbm.820180605.
- Addy, M., Moran, J. & Newcombe, R. G. (2007) Meta-analyses of studies of 0.2% delmopinol mouth rinse as an adjunct to gingival health and plaque control measures. *J Clin Periodontol* **34**, 58-65. doi:10.1111/j.1600-051X.2006.01013.x.
- Addy, M., Moran, J. & Wade, W. (1994). Chemical plaque control in the prevention of gingivitis and periodontitis. In: Lang, N.E. & Karring, T., eds. Proceedings of the 71st

- European Workshop on Periodontology. London: Quintessence Publishing, pp. 244-257.
- Addy, M., Mostafa, P., Absi, E. G. and Adams, D. (1985) "Cervical dentine hypersensitivity. Etiology and management with particular reference to dentifrices," in Proceedings of Symposium on Hypersensitive Dentin—Origin and Management, N. H. Rowe, Ed., pp. 147–167, University of Michigan.
- Addy, M., Sharif, N. & Moran, J. (2005) A non-staining chlorhexidine mouthwash? Probably not: a study in vitro. *Int J Dent Hyg* **3**, 59-63. doi:10.1111/j.1601-5037.2005.00117.x.
- Addy, M., Wade, W. & Goodfield, S. (1991b) Staining and antimicrobial properties in vitro of some chlorhexidine formulations. *Clin Prev Dent* **13**, 13-17.
- Addy, M., Willis, L. & Moran, J. (1983) Effect of toothpaste rinses compared with chlorhexidine on plaque formation during a 4-day period. *J Clin Periodontol* **10**, 89-99.
- Addy, M. & Wright, R. (1978) Comparison of the in vivo and in vitro antibacterial properties of providone iodine and chlorhexidine gluconate mouthrinses. *J Clin Periodontol* **5**, 198-205.
- Afennich, F., Slot, D. E., Hossainian, N. & Van der Weijden, G. A. (2011) The effect of hexetidine mouthwash on the prevention of plaque and gingival inflammation: a systematic review. *Int J Dent Hyg* **9**, 182-190. doi:10.1111/j.1601-5037.2010.00478.x.
- Al-Sabbagh, M., Beneduce, C., Andreana, S. & Ciancio, S. G. (2010) Incidence and time course of dentinal hypersensitivity after periodontal surgery. *Gen Dent* **58**, e14-19.
- Aleksic, V., Aoki, A., Iwasaki, K., Takasaki, A. A., Wang, C. Y., Abiko, Y., Ishikawa, I. & Izumi, Y. (2010) Low-level Er:YAG laser irradiation enhances osteoblast proliferation through activation of MAPK/ERK. *Lasers Med Sci* **25**, 559-569. doi:10.1007/s10103-010-0761-5.

- Almeida-Lopes, L., Rigau, J., Zangaro, R. A., Guidugli-Neto, J. & Jaeger, M. M. (2001) Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. *Lasers Surg Med* **29**, 179-184.
- Almeida, A. L., Esper, L. A., Sbrana, M. C., Ribeiro, I. W. & Kaizer, R. O. (2009) Utilization of low-intensity laser during healing of free gingival grafts. *Photomed Laser Surg* **27**, 561-564. doi:10.1089/pho.2008.2292.
- Amar, S. & Chung, K. M. (1994) Clinical implications of cellular biologic advances in periodontal regeneration. *Curr Opin Periodontol*, 128-140.
- Amorim, J. C., de Sousa, G. R., de Barros Silveira, L., Prates, R. A., Pinotti, M. & Ribeiro, M. S. (2006) Clinical study of the gingiva healing after gingivectomy and low-level laser therapy. *Photomed Laser Surg* **24**, 588-594. doi:10.1089/pho.2006.24.588.
- Appleman, M. D., Sutter, V. L. & Sims, T. N. (1982) Value of antibiotic prophylaxis in periodontal surgery. *J Periodontol* **53**, 319-324. doi:10.1902/jop.1982.53.5.319.
- Arendorf, T. M. & Walker, D. M. (1980) The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. *Arch Oral Biol* **25**, 1-10.
- Arweiler, N. B., Boehnke, N., Sculean, A., Hellwig, E. & Auschill, T. M. (2006) Differences in efficacy of two commercial 0.2% chlorhexidine mouthrinse solutions: a 4-day plaque re-growth study. *J Clin Periodontol* **33**, 334-339. doi:10.1111/j.1600-051X.2006.00917.x.
- Auschill, T. M., Hein, N., Hellwig, E., Follo, M., Sculean, A. & Arweiler, N. B. (2005) Effect of two antimicrobial agents on early in situ biofilm formation. *J Clin Periodontol* **32**, 147-152. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00650.x.
- Axelsson, P. & Lindhe, J. (1987) Efficacy of mouthrinses in inhibiting dental plaque and gingivitis in man. *J Clin Periodontol* **14**, 205-212.

- Bakaeen, G. S. & Strahan, J. D. (1980) Effects of a 1% chlorhexidine gel during the healing phase after inverse bevel mucogingival flap surgery. *J Clin Periodontol* **7**, 20-25.
- Balaji, S. M. (2008) Tobacco smoking and surgical healing of oral tissues: a review. *Indian J Dent Res* **19**, 344-348.
- Barkvoll, P., Rolla, G. & Svendsen, K. (1989) Interaction between chlorhexidine digluconate and sodium lauryl sulfate in vivo. *J Clin Periodontol* **16**, 593-595.
- Bartzokas, C. A., Corkill, J. E. & Makin, T. (1987) Evaluation of the skin disinfecting activity and cumulative effect of chlorhexidine and triclosan handwash preparations on hands artificially contaminated with *Serratia marcescens*. *Infect Control* **8**, 163-167.
- Bauroth, K., Charles, C. H., Mankodi, S. M., Simmons, K., Zhao, Q. & Kumar, L. D. (2003) The efficacy of an essential oil antiseptic mouthrinse vs. dental floss in controlling interproximal gingivitis: a comparative study. *J Am Dent Assoc* **134**, 359-365.
- Blanco— Carrion A. Rodriguez—Nunez I., Gandara-Rey JM, Lopez-Lopez J. (1996) A new mouthrinse formulation for painful lesions of the oral mucosa. *Rev Eur Odontol Estomatol*;3:169-172.
- Blomlof, L., Lindskog, S. & Hammarstrom, L. (1988) A time-related study of healing in the marginal periodontal/root interface. *Swed Dent J* **12**, 101-112.
- Boisnic, S., Ben Slama, L., Branchet-Gumila, M. C., Watts, M. & d'Arros, G. (2006) [Wound healing effect of Eludril in a model of human gingival mucosa]. *Rev Stomatol Chir Maxillofac* **107**, 431-435.
- Bokor, M. (1996) The effect of hexetidine spray on dental plaque following periodontal surgery. *J Clin Periodontol* **23**, 1080-1083.
- Bonesvoll, P. & Gjermo, P. (1978) A comparison between chlorhexidine and some quaternary ammonium compounds with regard to retention, salivary concentration and plaque-inhibiting effect in the human mouth after mouth rinses. *Arch Oral Biol* **23**, 289-294.

- Bonesvoll, P., Lokken, P., Rolla, G. & Paus, P. N. (1974) Retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses. *Arch Oral Biol* **19**, 209-212.
- Boyd, R. L., Murray, P. & Robertson, P. B. (1989) Effect on periodontal status of rotary electric toothbrushes vs. manual toothbrushes during periodontal maintenance. I. Clinical results. *J Periodontol* **60**, 390-395. doi:10.1902/jop.1989.60.7.390.
- Brex, M., Netuschil, L., Reichert, B. & Schreil, G. (1990) Efficacy of Listerine, Meridol and chlorhexidine mouthrinses on plaque, gingivitis and plaque bacteria vitality. *J Clin Periodontol* **17**, 292-297.
- Brex, M., Theilade, J. & Attstrom, R. (1980) Influence of optimal and excluded oral hygiene on early formation of dental plaque on plastic films. A quantitative and descriptive light and electron microscopic study. *J Clin Periodontol* **7**, 361-373.
- Bruno, J. F. & Bowers, G. M. (2000) Histology of a human biopsy section following the placement of a subepithelial connective tissue graft. *Int J Periodontics Restorative Dent* **20**, 225-231.
- Burke, J. F. (1971) Effects of inflammation on wound repair. *J Dent Res* **50**, 296-303.
- Bye, F. L., Caffesse, R. G. & Nasjleti, C. E. (1980) The effect of different plaque control modalities on the keratinizing potential of the sulcular epithelium in monkeys. *J Periodontol* **51**, 632-641. doi:10.1902/jop.1980.51.11.632.
- Caffesse, R. G., Burgett, F. G., Nasjleti, C. E. & Castelli, W. A. (1979a) Healing of free gingival grafts with and without periosteum. Part I. Histologic evaluation. *J Periodontol* **50**, 586-594. doi:10.1902/jop.1979.50.11.586.
- Caffesse, R. G., Karring, T. & Nasjleti, C. E. (1977) Keratinizing potential of sulcular epithelium. *J Periodontol* **48**, 140-146. doi:10.1902/jop.1977.48.3.140.
- Caffesse, R. G., Kon, S., Castelli, W. A. & Nasjleti, C. E. (1984) Revascularization following the lateral sliding flap procedure. *J Periodontol* **55**, 352-358. doi:10.1902/jop.1984.55.6.352.

- Caffesse, R. G., Kornman, K. S. & Nasjleti, C. E. (1980) The effect of intensive antibacterial therapy on the sulcular environment in monkeys. Part II: Inflammation, mitotic activity and keratinization of the sulcular epithelium. *J Periodontol* **51**, 155-161. doi:10.1902/jop.1980.51.3.155.
- Caffesse, R. G., Nasjleti, C. E. & Castelli, W. A. (1979b) The role of sulcular environment in controlling epithelial keratinization. *J Periodontol* **50**, 1-6. doi:10.1902/jop.1979.50.1.1.
- Caffesse, R. G., Nasjleti, C. E. & Kowalski, C. J. (1985) Carrageenan-induced inflammation and its effects on mitotic activity and keratinization of gingival epithelium. A histologic and autoradiographic study. *J Periodontol* **56**, 132-138. doi:10.1902/jop.1985.56.3.132.
- Caffesse, R. G., Nasjleti, C. J., Kowalski, C. J. & Castelli, W. A. (1982) The effect of mechanical stimulation on the keratinization of sulcular epithelium. *J Periodontol* **53**, 89-92. doi:10.1902/jop.1982.53.2.89.
- Canadian Advisory Board on Dentin, H. (2003) Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. *J Can Dent Assoc* **69**, 221-226.
- Canakci, C. F. & Canakci, V. (2007) Pain experienced by patients undergoing different periodontal therapies. *J Am Dent Assoc* **138**, 1563-1573.
- Carlsson, J., Grahnen, H. & Jonsson, G. (1975) Lactobacilli and streptococci in the mouth of children. *Caries Res* **9**, 333-339.
- Caton, J. G. & Greenstein, G. (1993) Factors related to periodontal regeneration. *Periodontol 2000* **1**, 9-15.
- Chang, P. C., Chung, M. C., Wang, Y. P., Chien, L. Y., Lim, J. C., Liang, K., Chong, L. Y., Kuo, Y. P., Chen, C. H. & Chiang, H. C. (2012) Patterns of diabetic periodontal wound repair: a study using micro-computed tomography and immunohistochemistry. *J Periodontol* **83**, 644-652. doi:10.1902/jop.2011.110325.

- Charles, C. H., Mostler, K. M., Bartels, L. L. & Mankodi, S. M. (2004) Comparative antiplaque and antigingivitis effectiveness of a chlorhexidine and an essential oil mouthrinse: 6-month clinical trial. *J Clin Periodontol* **31**, 878-884. doi:10.1111/j.1600-051X.2004.00578.x.
- Charles, C. H., Sharma, N. C., Galustians, H. J., Qaqish, J., McGuire, J. A. & Vincent, J. W. (2001) Comparative efficacy of an antiseptic mouthrinse and an antiplaque/antigingivitis dentifrice. A six-month clinical trial. *J Am Dent Assoc* **132**, 670-675.
- Checchi, L., Trombelli, L. & Nonato, M. (1992) Postoperative infections and tetracycline prophylaxis in periodontal surgery: a retrospective study. *Quintessence Int* **23**, 191-195.
- Chen, C. & Slots, J. (1999) Microbiological tests for *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000* **20**, 53-64.
- Cheng, G., Shi, Y., Sturla, S. J., Jalas, J. R., McIntee, E. J., Villalta, P. W., Wang, M. & Hecht, S. S. (2003) Reactions of formaldehyde plus acetaldehyde with deoxyguanosine and DNA: formation of cyclic deoxyguanosine adducts and formaldehyde cross-links. *Chem Res Toxicol* **16**, 145-152. doi:10.1021/tx025614r.
- Clark, R. A., Lin, F., Greiling, D., An, J. & Couchman, J. R. (2004) Fibroblast invasive migration into fibronectin/fibrin gels requires a previously uncharacterized dermatan sulfate-CD44 proteoglycan. *J Invest Dermatol* **122**, 266-277. doi:10.1046/j.0022-202X.2004.22205.x.
- Clark, W. B., Magnusson, I., Walker, C. B. & Marks, R. G. (1989) Efficacy of Perimed antibacterial system on established gingivitis. (I). Clinical results. *J Clin Periodontol* **16**, 630-635.
- Claydon, N., Hunter, L., Moran, J., Wade, W., Kelty, E., Mover, R. & Addy, M. (1996) A 6-month home-usage trial of 0.1% and 0.2% delmopinol mouthwashes (I). Effects on

- plaque, gingivitis, supragingival calculus and tooth staining. *J Clin Periodontol* **23**, 220-228.
- Collaert, B., Attstrom, R., De Bruyn, H. & Mover, R. (1992) The effect of delmopinol rinsing on dental plaque formation and gingivitis healing. *J Clin Periodontol* **19**, 274-280.
- Conway, E. M., Collen, D. & Carmeliet, P. (2001) Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovasc Res* **49**, 507-521.
- Cooke, B. E. & Armitage, P. (1960) Recurrent Mikulicz's aphthae treated with topical hydrocortisone hemisuccinate sodium. Double-blind controlled clinical trial. *Br Med J* **1**, 764-766.
- Corner, A. M., Brightman, V. J., Cooper, S., Yankell, S. L. & Malamud, D. (1990) Clinical study of a C31G containing mouthrinse: effect on salivary microorganisms. *J Clin Dent* **2**, 34-38.
- Corner, A. M., Dolan, M. M., Yankell, S. L. & Malamud, D. (1988) C31G, a new agent for oral use with potent antimicrobial and antiadherence properties. *Antimicrob Agents Chemother* **32**, 350-353.
- Cortellini, P. & Bowers, G. M. (1995) Periodontal regeneration of intrabony defects: an evidence-based treatment approach. *Int J Periodontics Restorative Dent* **15**, 128-145.
- Cortellini, P., Labriola, A., Zambelli, R., Prato, G. P., Nieri, M. & Tonetti, M. S. (2008) Chlorhexidine with an anti discoloration system after periodontal flap surgery: a cross-over, randomized, triple-blind clinical trial. *J Clin Periodontol* **35**, 614-620. doi:10.1111/j.1600-051X.2008.01238.x.
- Cortellini, P., Prato, G. P. & Tonetti, M. S. (1995) The modified papilla preservation technique. A new surgical approach for interproximal regenerative procedures. *J Periodontol* **66**, 261-266. doi:10.1902/jop.1995.66.4.261.

- Cortellini, P., Prato, G. P. & Tonetti, M. S. (1999) The simplified papilla preservation flap. A novel surgical approach for the management of soft tissues in regenerative procedures. *Int J Periodontics Restorative Dent* **19**, 589-599.
- Cortellini, P. & Tonetti, M. S. (2000) Focus on intrabony defects: guided tissue regeneration. *Periodontol 2000* **22**, 104-132.
- Cullinan, M. P., Powell, R. N., Faddy, M. J. & Seymour, G. J. (1997) Efficacy of a dentifrice and oral rinse containing sanguinaria extract in conjunction with initial periodontal therapy. *Aust Dent J* **42**, 47-51.
- Curtis, J. W., Jr., McLain, J. B. & Hutchinson, R. A. (1985) The incidence and severity of complications and pain following periodontal surgery. *J Periodontol* **56**, 597-601. doi:10.1902/jop.1985.56.10.597.
- Cutress, T. W., Powell, R. N., Kilisimasi, S., Tomiki, S. & Holborow, D. (1991) A 3-year community-based periodontal disease prevention programme for adults in a developing nation. *Int Dent J* **41**, 323-334.
- Daly, C. G. & Highfield, J. E. (1996) Effect of localized experimental gingivitis on early supragingival plaque accumulation. *J Clin Periodontol* **23**, 160-164.
- Damante, C. A., Greggi, S. L., Sant'ana, A. C. & Passanezi, E. (2004) Clinical evaluation of the effects of low-intensity laser (GaAlAs) on wound healing after gingivoplasty in humans. *J Appl Oral Sci* **12**, 133-136.
- Dastoor, S. F., Travan, S., Neiva, R. F., Rayburn, L. A., Giannobile, W. V. & Wang, H. L. (2007) Effect of adjunctive systemic azithromycin with periodontal surgery in the treatment of chronic periodontitis in smokers: a pilot study. *J Periodontol* **78**, 1887-1896. doi:10.1902/jop.2007.070072.
- Demolon, I. A., Persson, G. R., Ammons, W. F. & Johnson, R. H. (1994) Effects of antibiotic treatment on clinical conditions with guided tissue regeneration: one-year results. *J Periodontol* **65**, 713-717. doi:10.1902/jop.1994.65.7.713.

- Demolon, I. A., Persson, G. R., Moncla, B. J., Johnson, R. H. & Ammons, W. F. (1993) Effects of antibiotic treatment on clinical conditions and bacterial growth with guided tissue regeneration. *J Periodontol* **64**, 609-616. doi:10.1902/jop.1993.64.7.609.
- Dentino, A. R., Ciancio, S. G., Bessinger, M., Mather, M. A., Cancro, L. & Fischman, S. (1995) Effect of a baking soda-peroxide dentifrice on post-surgical wound healing. *Am J Dent* **8**, 125-127.
- DePaola, L. G., Minah, G. E., Elias, S. A., Eastwood, G. W. & Walters, R. A. (1990) Clinical and microbial evaluation of treatment regimens to reduce denture stomatitis. *Int J Prosthodont* **3**, 369-374.
- DePaola, L. G., Overholser, C. D., Meiller, T. F., Minah, G. E. & Niehaus, C. (1989) Chemotherapeutic inhibition of supragingival dental plaque and gingivitis development. *J Clin Periodontol* **16**, 311-315.
- Dilling, W.J. & Hallam, S. (1936). Dental Materia Medica, Pharmacology and Therapeutics, 3rd edn. London: Cassell & Company.
- Dogan, S., Gunay, H., Leyhausen, G. & Geurtsen, W. (2003) Effects of low-concentrated chlorhexidine on growth of *Streptococcus sobrinus* and primary human gingival fibroblasts. *Clin Oral Investig* **7**, 212-216. doi:10.1007/s00784-003-0226-3.
- Duss, C., Lang, N. P., Cosyn, J. & Persson, G. R. (2010) A randomized, controlled clinical trial on the clinical, microbiological, and staining effects of a novel 0.05% chlorhexidine/herbal extract and a 0.1% chlorhexidine mouthrinse adjunct to periodontal surgery. *J Clin Periodontol* **37**, 988-997. doi:10.1111/j.1600-051X.2010.01609.x.
- Edel, A. (1974) Clinical evaluation of free connective tissue grafts used to increase the width of keratinised gingiva. *J Clin Periodontol* **1**, 185-196.
- Edel, A. & Faccini, J. M. (1977) Histologic changes following the grafting of connective tissue into human gingiva. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* **43**, 190-195.

- Egli, U., Vollmer, W. H. & Rateitschak, K. H. (1975) Follow-up studies of free gingival grafts. *J Clin Periodontol* **2**, 98-104.
- Eide, B., Lie, T. & Selvig, K. A. (1983) Surface coatings on dental cementum incident to periodontal disease. I. A scanning electron microscopic study. *J Clin Periodontol* **10**, 157-171.
- Eley, B. M. (1999) Antibacterial agents in the control of supragingival plaque--a review. *Br Dent J* **186**, 286-296.
- Elmore, J. G. & Horwitz, R. I. (1995) Oral cancer and mouthwash use: evaluation of the epidemiologic evidence. *Otolaryngol Head Neck Surg* **113**, 253-261.
- Elworthy, A., Greenman, J., Doherty, F. M., Newcombe, R. G. & Addy, M. (1996) The substantivity of a number of oral hygiene products determined by the duration of effects on salivary bacteria. *J Periodontol* **67**, 572-576. doi:10.1902/jop.1996.67.6.572.
- Engler, W. O., Ramfjord, S. P. & Hiniker, J. J. (1966) Healing following simple gingivectomy. A tritiated thymidine radioautographic study. I. Epithelialization. *J Periodontol* **37**, 298-308.
- Eren, K., Ozmeric, N. & Sardas, S. (2002) Monitoring of buccal epithelial cells by alkaline comet assay (single cell gel electrophoresis technique) in cytogenetic evaluation of chlorhexidine. *Clin Oral Investig* **6**, 150-154. doi:10.1007/s00784-002-0168-1.
- Eriksen, H. M., Nordbo, H., Kantanen, H. & Ellingsen, J. E. (1985) Chemical plaque control and extrinsic tooth discoloration. A review of possible mechanisms. *J Clin Periodontol* **12**, 345-350.
- Farina, R., Simonelli, A., Rizzi, A., Pramstraller, M., Cucchi, A. & Trombelli, L. (2013) Early postoperative healing following buccal single flap approach to access intraosseous periodontal defects. *Clin Oral Investig* **17**, 1573-1583. doi:10.1007/s00784-012-0838-6.

- Fejerskov O, Kidd E, Nyvad B, Baelum V. Dental Caries. The disease and its clinical management. 2nd ed. 2008, Blackwell Munksgaard, Oxford, UK.
- Feres, M., Haffajee, A. D., Allard, K., Som, S., Goodson, J. M. & Socransky, S. S. (2002) Antibiotic resistance of subgingival species during and after antibiotic therapy. *J Clin Periodontol* **29**, 724-735.
- Fickl, S., Kebschull, M., Schupbach, P., Zuh, O., Schlagenhauf, U. & Hurzeler, M. B. (2011) Bone loss after full-thickness and partial-thickness flap elevation. *J Clin Periodontol* **38**, 157-162. doi:10.1111/j.1600-051X.2010.01658.x.
- Fine, D. H. (1988) Mouthrinses as adjuncts for plaque and gingivitis management. A status report for the American Journal of Dentistry. *Am J Dent* **1**, 259-263.
- Fine, D. H., Furgang, D., Lieb, R., Korik, I., Vincent, J. W. & Barnett, M. L. (1996) Effects of sublethal exposure to an antiseptic mouthrinse on representative plaque bacteria. *J Clin Periodontol* **23**, 444-451.
- Fine, D. H., Furgang, D., Sinatra, K., Charles, C., McGuire, A. & Kumar, L. D. (2005) In vivo antimicrobial effectiveness of an essential oil-containing mouth rinse 12 h after a single use and 14 days' use. *J Clin Periodontol* **32**, 335-340. doi:10.1111/j.1600-051x.2005.00674.x.
- Fine, D. H., Markowitz, K., Furgang, D., Goldsmith, D., Charles, C. H., Lisante, T. A. & Lynch, M. C. (2007a) Effect of an essential oil-containing antimicrobial mouthrinse on specific plaque bacteria in vivo. *J Clin Periodontol* **34**, 652-657. doi:10.1111/j.1600-051X.2007.01096.x.
- Fine, D. H., Markowitz, K., Furgang, D., Goldsmith, D., Ricci-Nittel, D., Charles, C. H., Peng, P. & Lynch, M. C. (2007b) Effect of rinsing with an essential oil-containing mouthrinse on subgingival periodontopathogens. *J Periodontol* **78**, 1935-1942. doi:10.1902/jop.2007.070120.

- Firatli, E., Unal, T., Onan, U. & Sandalli, P. (1994) Antioxidative activities of some chemotherapeutics. A possible mechanism in reducing gingival inflammation. *J Clin Periodontol* **21**, 680-683.
- Fischman, S. L. (1997) The history of oral hygiene products: how far have we come in 6000 years? *Periodontol 2000* **15**, 7-14.
- Flemingson, Emmadi, P., Ambalavanan, N., Ramakrishnan, T. & Vijayalakshmi, R. (2008) Effect of three commercial mouth rinses on cultured human gingival fibroblast: an in vitro study. *Indian J Dent Res* **19**, 29-35.
- Flores-de-Jacoby, L. & Mengel, R. (1995) Conventional surgical procedures. *Periodontol 2000* **9**, 38-54.
- Flotra, L., Gjermo, P., Rolla, G. & Waerhaug, J. (1971) Side effects of chlorhexidine mouth washes. *Scand J Dent Res* **79**, 119-125.
- Francetti, L., del Fabbro, M., Testori, T. & Weinstein, R. L. (2000) Chlorhexidine spray versus chlorhexidine mouthwash in the control of dental plaque after periodontal surgery. *J Clin Periodontol* **27**, 425-430.
- Francis, J. R., Hunter, B. & Addy, M. (1987) A comparison of three delivery methods of chlorhexidine in handicapped children. I. Effects on plaque, gingivitis, and toothstaining. *J Periodontol* **58**, 451-455. doi:10.1902/jop.1987.58.7.451.
- Froum, S. J., Coran, M., Thaller, B., Kushner, L., Scopp, I. W. & Stahl, S. S. (1982) Periodontal healing following open debridement flap procedures. I. Clinical assessment of soft tissue and osseous repair. *J Periodontol* **53**, 8-14. doi:10.1902/jop.1982.53.1.8.
- Fujimoto, K., Kiyosaki, T., Mitsui, N., Mayahara, K., Omasa, S., Suzuki, N. & Shimizu, N. (2010) Low-intensity laser irradiation stimulates mineralization via increased BMPs in MC3T3-E1 cells. *Lasers Surg Med* **42**, 519-526. doi:10.1002/lsm.20880.

- Gaffar, A., Volpe, A. & Lindhe, J. (1992). Recent advances in plaque / gingivitis control. In: Embery, G. & Rolla, C., eds. *Clinical and Biological Aspects of Dentifrices*. Oxford: Oxford University Press, pp. 229-248.
- Gavish, L., Perez, L. S., Reissman, P. & Gertz, S. D. (2008) Irradiation with 780 nm diode laser attenuates inflammatory cytokines but upregulates nitric oxide in lipopolysaccharide-stimulated macrophages: implications for the prevention of aneurysm progression. *Lasers Surg Med* **40**, 371-378. doi:10.1002/lsm.20635.
- Gjeramo, P., Baastad, K. L. & Rolla, G. (1970) The plaque-inhibiting capacity of 11 antibacterial compounds. *J Periodontal Res* **5**, 102-109.
- Gjeramo, P., Rolla, G. & Arskaug, L. (1973) Effect on dental plaque formation and some in vitro properties of 12 bis-biguanides. *J Periodontal Res Suppl* **12**, 81-92.
- Goldman, R. S., Abelson, D. C., Mandel, I. D. & Chilton, N. W. (1974) The effect of various disclosants on plaque accumulation in human subjects. *J Periodontal Res* **9**, 381-385.
- Goldman H.M., Cohen D. Periodontal therapy sixth edition. 1980, 640-660.
- Gordon, J. M., Lamster, I. B. & Seiger, M. C. (1985) Efficacy of Listerine antiseptic in inhibiting the development of plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol* **12**, 697-704.
- Green, R. J., Usui, M. L., Hart, C. E., Ammons, W. F. & Narayanan, A. S. (1997) Immunolocalization of platelet-derived growth factor A and B chains and PDGF- α and β receptors in human gingival wounds. *J Periodontal Res* **32**, 209-214.
- Greenstein, G. (1999) Povidone-iodine's effects and role in the management of periodontal diseases: a review. *J Periodontol* **70**, 1397-1405. doi:10.1902/jop.1999.70.11.1397.
- Greenstein, G. & Caton, J. G. (1993) Biodegradable barriers and guided tissue regeneration. *Periodontol 2000* **1**, 36-45.
- Grieb, G., Steffens, G., Pallua, N., Bernhagen, J. & Bucala, R. (2011) Circulating fibrocytes--biology and mechanisms in wound healing and scar formation. *Int Rev Cell Mol Biol* **291**, 1-19. doi:10.1016/B978-0-12-386035-4.00001-X.

- Griffin, T. J., Cheung, W. S., Zavras, A. I. & Damoulis, P. D. (2006) Postoperative complications following gingival augmentation procedures. *J Periodontol* **77**, 2070-2079. doi:10.1902/jop.2006.050296.
- Guglielmetti, M. R., Rosa, E. F., Lourencao, D. S., Inoue, G., Gomes, E. F., De Micheli, G., Mendes, F. M., Hirata, R. D., Hirata, M. H. & Pannuti, C. M. (2014) Detection and quantification of periodontal pathogens in smokers and never-smokers with chronic periodontitis by real-time polymerase chain reaction. *J Periodontol* **85**, 1450-1457. doi:10.1902/jop.2014.140048.
- Gunsolley, J. C. (2006) A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. *J Am Dent Assoc* **137**, 1649-1657.
- Gusberti, F. A., Sampathkumar, P., Siegrist, B. E. & Lang, N. P. (1988) Microbiological and clinical effects of chlorhexidine digluconate and hydrogen peroxide mouthrinses on developing plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol* **15**, 60-67.
- Gynther, G. W., Kondell, P. A., Moberg, L. E. & Heimdahl, A. (1998) Dental implant installation without antibiotic prophylaxis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **85**, 509-511.
- Hamilton IR, Bowden GHW. Fluoride effects on oral bacteria. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA, editors. Fluoride in dentistry. Copenhagen: Munksgaard; 1996; 230-51.
- Hamp, S. E., Rosling, B. & Lindhe, J. (1975) Effect of chlorhexidine on gingival wound healing in the dog. A histometric study. *J Clin Periodontol* **2**, 143-152.
- Harris, R. J. (1999) Human histologic evaluation of root coverage obtained with a connective tissue with partial thickness double pedicle graft. A case report. *J Periodontol* **70**, 813-821. doi:10.1902/jop.1999.70.7.813.
- Hasturk, H., Nunn, M., Warbington, M. & Van Dyke, T. E. (2004) Efficacy of a fluoridated hydrogen peroxide-based mouthrinse for the treatment of gingivitis: a randomized clinical trial. *J Periodontol* **75**, 57-65. doi:10.1902/jop.2004.75.1.57.

- Hecht, S. S., McIntee, E. J. & Wang, M. (2001) New DNA adducts of crotonaldehyde and acetaldehyde. *Toxicology* **166**, 31-36.
- Heitz, F., Heitz-Mayfield, L. J. & Lang, N. P. (2004) Effects of post-surgical cleansing protocols on early plaque control in periodontal and/or periimplant wound healing. *J Clin Periodontol* **31**, 1012-1018. doi:10.1111/j.1600-051X.2004.00606.x.
- Helms, J. A., Della-Fera, M. A., Mott, A. E. & Frank, M. E. (1995) Effects of chlorhexidine on human taste perception. *Arch Oral Biol* **40**, 913-920.
- Hiatt, W. H., Stallard, R. E., Butler, E. D. & Badgett, B. (1968) Repair following mucoperiosteal flap surgery with full gingival retention. *J Periodontol* **39**, 11-16. doi:10.1902/jop.1968.39.1.11.
- Hillam, D. G. & Hull, P. S. (1977) The influence of experimental gingivitis on plaque formation. *J Clin Periodontol* **4**, 56-61.
- Hinz, B. (2007) Formation and function of the myofibroblast during tissue repair. *J Invest Dermatol* **127**, 526-537. doi:10.1038/sj.jid.5700613.
- Hirata, S., Kitamura, C., Fukushima, H., Nakamichi, I., Abiko, Y., Terashita, M. & Jimi, E. (2010) Low-level laser irradiation enhances BMP-induced osteoblast differentiation by stimulating the BMP/Smad signaling pathway. *J Cell Biochem* **111**, 1445-1452. doi:10.1002/jcb.22872.
- Hoang, T., Jorgensen, M. G., Keim, R. G., Pattison, A. M. & Slots, J. (2003) Povidone-iodine as a periodontal pocket disinfectant. *J Periodontal Res* **38**, 311-317.
- Horwitz, J., Machtei, E. E., Peled, M. & Laufer, D. (2000) Amine fluoride/stannous fluoride and chlorhexidine mouthwashes as adjuncts to surgical periodontal therapy: a comparative study. *J Periodontol* **71**, 1601-1606. doi:10.1902/jop.2000.71.10.1601.
- Horz, H. P., Vianna, M. E., Gomes, B. P. & Conrads, G. (2005) Evaluation of universal probes and primer sets for assessing total bacterial load in clinical samples: general

- implications and practical use in endodontic antimicrobial therapy. *J Clin Microbiol* **43**, 5332-5337. doi:10.1128/JCM.43.10.5332-5337.2005.
- Imrey, P. B., Chilton, N. W., Pihlstrom, B. L., Proskin, H. M., Kingman, A., Listgarten, M. A., Zimmerman, S. O., Ciancio, S. G., Cohen, M. E., D'Agostino, R. B. & et al. (1994) Recommended revisions to American Dental Association guidelines for acceptance of chemotherapeutic products for gingivitis control. Report of the Task Force on Design and Analysis in Dental and Oral Research to the Council on Therapeutics of the American Dental Association. *J Periodontol Res* **29**, 299-304.
- James, W. C. & McFall, W. T., Jr. (1978) Placement of free gingival grafts on denuded alveolar bone. Part I: clinical evaluations. *J Periodontol* **49**, 283-290. doi:10.1902/jop.1978.49.6.283.
- Javed, F., Al-Rasheed, A., Almas, K., Romanos, G. E. & Al-Hezaimi, K. (2012) Effect of cigarette smoking on the clinical outcomes of periodontal surgical procedures. *Am J Med Sci* **343**, 78-84. doi:10.1097/MAJ.0b013e318228283b.
- Jenkins, S., Addy, M. & Newcombe, R. (1991a) Triclosan and sodium lauryl sulphate mouthwashes (I). Effects on salivary bacterial counts. *J Clin Periodontol* **18**, 140-144.
- Jenkins, S., Addy, M. & Newcombe, R. G. (1994) Dose response of chlorhexidine against plaque and comparison with triclosan. *J Clin Periodontol* **21**, 250-255.
- Jenkins, S., Addy, M. & Newcome, R. (1991b) Triclosan and sodium lauryl sulphate mouthrinses. (II). Effects of 4-day plaque regrowth. *J Clin Periodontol* **18**, 145-148.
- Jenkins, S., Addy, M. & Wade, W. (1988) The mechanism of action of chlorhexidine. A study of plaque growth on enamel inserts in vivo. *J Clin Periodontol* **15**, 415-424.
- Jervoe-Storm, P. M., AlAhdab, H., Semaan, E., Fimmers, R. & Jepsen, S. (2007) Microbiological outcomes of quadrant versus full-mouth root planing as monitored by real-time PCR. *J Clin Periodontol* **34**, 156-163. doi:10.1111/j.1600-051X.2006.01035.x.

- Kalaga, A., Addy, M. & Hunter, B. (1989) Comparison of chlorhexidine delivery by mouthwash and spray on plaque accumulation. *J Periodontol* **60**, 127-130. doi:10.1902/jop.1989.60.3.127.
- Karring, T., Cumming, B. R., Oliver, R. C. & Loe, H. (1975a) The origin of granulation tissue and its impact on postoperative results of mucogingival surgery. *J Periodontol* **46**, 577-585. doi:10.1902/jop.1975.46.10.577.
- Karring, T., Lang, N. P. & Loe, H. (1975b) The role of gingival connective tissue in determining epithelial differentiation. *J Periodontal Res* **10**, 1-11.
- Karring, T., Ostergaard, E. & Loe, H. (1971) Conservation of tissue specificity after heterotopic transplantation of gingiva and alveolar mucosa. *J Periodontal Res* **6**, 282-293.
- Kelstrup, J., Holm-Pedersen, P. & Poulsen, S. (1978) Reduction of the formation of dental plaque and gingivitis in humans by crude mutanase. *Scand J Dent Res* **86**, 93-102.
- Khadra, M., Lyngstadaas, S. P., Haanaes, H. R. & Mustafa, K. (2005) Effect of laser therapy on attachment, proliferation and differentiation of human osteoblast-like cells cultured on titanium implant material. *Biomaterials* **26**, 3503-3509. doi:10.1016/j.biomaterials.2004.09.033.
- Khullar, S. M., Brodin, P., Barkvoll, P. & Haanaes, H. R. (1996) Preliminary study of low-level laser for treatment of long-standing sensory aberrations in the inferior alveolar nerve. *J Oral Maxillofac Surg* **54**, 2-7; discussion 7-8.
- Kidd, E. A. & Wade, A. B. (1974) Penicillin control of swelling and pain after periodontal osseous surgery. *J Clin Periodontol* **1**, 52-57.
- Kim, H. K., Kim, J. H., Abbas, A. A., Kim, D. O., Park, S. J., Chung, J. Y., Song, E. K. & Yoon, T. R. (2009) Red light of 647 nm enhances osteogenic differentiation in mesenchymal stem cells. *Lasers Med Sci* **24**, 214-222. doi:10.1007/s10103-008-0550-6.

- Kim, Y. D., Kim, S. S., Hwang, D. S., Kim, S. G., Kwon, Y. H., Shin, S. H., Kim, U. K., Kim, J. R. & Chung, I. K. (2007) Effect of low-level laser treatment after installation of dental titanium implant-immunohistochemical study of RANKL, RANK, OPG: an experimental study in rats. *Lasers Surg Med* **39**, 441-450. doi:10.1002/lsm.20508.
- Kirakodu, S. S., Govindaswami, M., Novak, M. J., Ebersole, J. L. & Novak, K. F. (2008) Optimizing qPCR for the Quantification of Periodontal Pathogens in a Complex Plaque Biofilm. *Open Dent J* **2**, 49-55. doi:10.2174/1874210600802010049.
- Kiyosaki, T., Mitsui, N., Suzuki, N. & Shimizu, N. (2010) Low-level laser therapy stimulates mineralization via increased Runx2 expression and ERK phosphorylation in osteoblasts. *Photomed Laser Surg* **28 Suppl 1**, S167-172. doi:10.1089/pho.2009.2693.
- Klingberg, F., Hinz, B. & White, E. S. (2013) The myofibroblast matrix: implications for tissue repair and fibrosis. *J Pathol* **229**, 298-309. doi:10.1002/path.4104.
- Kolaczowska, E. & Kubes, P. (2013) Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol* **13**, 159-175. doi:10.1038/nri3399.
- Kon, S., Caffesse, R. G., Castelli, W. A. & Nasjleti, C. E. (1984) Revascularization following a combined gingival flap-split thickness flap procedure in monkeys. *J Periodontol* **55**, 345-351. doi:10.1902/jop.1984.55.6.345.
- Kon, S., Novaes, A. B., Ruben, M. P. & Goldman, H. M. (1969) Visualization of the microvascularization of the healing periodontal wound. IV. Mucogingival surgery: full thickness flap. *J Periodontol* **40**, 441-456. doi:10.1902/jop.1969.40.8.441.
- Kon, S., Pustiglioni, F. E., Novaes, A. B., Ruben, M. P. & de Araujo, N. S. (1978) Split thickness flap, apically replaced, with protected linear periosteal fenestration: a clinical and histological study in dogs. *J Periodontol* **49**, 174-180. doi:10.1902/jop.1978.49.4.174.

- Kononen, E., Asikainen, S., Alaluusua, S., Kononen, M., Summanen, P., Kanervo, A. & Jousimies-Somer, H. (1991) Are certain oral pathogens part of normal oral flora in denture-wearing edentulous subjects? *Oral Microbiol Immunol* **6**, 119-122.
- Kononen, E., Asikainen, S. & Jousimies-Somer, H. (1992a) The early colonization of gram-negative anaerobic bacteria in edentulous infants. *Oral Microbiol Immunol* **7**, 28-31.
- Kononen, E., Jousimies-Somer, H. & Asikainen, S. (1992b) Relationship between oral gram-negative anaerobic bacteria in saliva of the mother and the colonization of her edentulous infant. *Oral Microbiol Immunol* **7**, 273-276.
- Kornman, K.S. (1986). Anti-microbial agents. In: Loe, H. & Kleinman, D.V., eds. Dental Plaque Control Measures and Oral Hygiene Practices. Oxford: IRL Press, pp. 121-142.
- Kornman, K. S., Crane, A., Wang, H. Y., di Giovine, F. S., Newman, M. G., Pirk, F. W., Wilson, T. G., Jr., Higginbottom, F. L. & Duff, G. W. (1997a) The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* **24**, 72-77.
- Kornman, K. S., Page, R. C. & Tonetti, M. S. (1997b) The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000* **14**, 33-53.
- Kornman, K. S. & Robertson, P. B. (2000) Fundamental principles affecting the outcomes of therapy for osseous lesions. *Periodontol 2000* **22**, 22-43.
- Kreisler, M., Christoffers, A. B., Willershausen, B. & d'Hoedt, B. (2003) Effect of low-level GaAlAs laser irradiation on the proliferation rate of human periodontal ligament fibroblasts: an in vitro study. *J Clin Periodontol* **30**, 353-358.
- Kubert, D., Rubin, M., Barnett, M. L. & Vincent, J. W. (1993) Antiseptic mouthrinse-induced microbial cell surface alterations. *Am J Dent* **6**, 277-279.
- Kyriazis, T., Gkrizioti, S., Mikrogeorgis, G., Tsalikis, L., Sakellari, D., Lyroudia, K. & Konstantinides, A. (2012) Crestal bone resorption after the application of two periodontal surgical techniques: a randomized, controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* **39**, 971-978. doi:10.1111/j.1600-051X.2012.01928.x.

- Lachenmeier, D. W., Gumbel-Mako, S., Sohnus, E. M., Keck-Wilhelm, A., Kratz, E. & Mildau, G. (2009) Salivary acetaldehyde increase due to alcohol-containing mouthwash use: a risk factor for oral cancer. *Int J Cancer* **125**, 730-735. doi:10.1002/ijc.24381.
- Lang, N. P., Catalanotto, F. A., Knopfli, R. U. & Antczak, A. A. (1988) Quality-specific taste impairment following the application of chlorhexidine digluconate mouthrinses. *J Clin Periodontol* **15**, 43-48.
- Lang, N. P., Cumming, B. R. & Loe, H. (1973) Toothbrushing frequency as it relates to plaque development and gingival health. *J Periodontol* **44**, 396-405. doi:10.1902/jop.1973.44.7.396.
- Lang, N. P., Joss, A., Orsanic, T., Gusberti, F. A. & Siegrist, B. E. (1986) Bleeding on probing. A predictor for the progression of periodontal disease? *J Clin Periodontol* **13**, 590-596.
- Lang, N.P. & Newman, H.N. (1997). Consensus report of session II. In: Lang, N.P., Karring, T. & Lindhe, J., eds. Proceedings of the 2nd European Workshop on Periodontology. Chemicals in Periodontics. Berlin: Quintessence Verlag, pp. 192–200.
- Lang, N. P. & Ramseier-Grossmann, K. (1981) Optimal dosage of chlorhexidine digluconate in chemical plaque control when applied by the oral irrigator. *J Clin Periodontol* **8**, 189-202.
- Langebaek, J. & Bay, L. (1976) The effect of chlorhexidine mouthrinse on healing after gingivectomy. *Scand J Dent Res* **84**, 224-228.
- Laugisch, O., Ramseier, C. A., Salvi, G. E., Hagi, T. T., Burgin, W., Eick, S. & Sculean, A. (2016) Effects of two different post-surgical protocols including either 0.05 % chlorhexidine herbal extract or 0.1 % chlorhexidine on post-surgical plaque control, early wound healing and patient acceptance following standard periodontal surgery and implant placement. *Clin Oral Investig* **20**, 2175-2183. doi:10.1007/s00784-016-1713-7.
- Leonhardt, A., Bergstrom, C., Krok, L. & Cardaropoli, G. (2006) Healing following ultrasonic debridement and PVP-iodine in individuals with severe chronic periodontal disease:

- a randomized, controlled clinical study. *Acta Odontol Scand* **64**, 262-266.
doi:10.1080/00016350600613625.
- Levy, B. M., Taylor, A. C. & Bernick, S. (1969) Relationship between epithelium and connective tissue in gingival inflammation. *J Dent Res* **48**, 625-629.
- Leyes Borrajo, J. L., Garcia, V. L., Lopez, C. G., Rodriguez-Nunez, I., Garcia, F. M. & Gallas, T. M. (2002) Efficacy of chlorhexidine mouthrinses with and without alcohol: a clinical study. *J Periodontol* **73**, 317-321. doi:10.1902/jop.2002.73.3.317.
- Li, W. T., Leu, Y. C. & Wu, J. L. (2010) Red-light light-emitting diode irradiation increases the proliferation and osteogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells. *Photomed Laser Surg* **28 Suppl 1**, S157-165. doi:10.1089/pho.2009.2540.
- Lie, T. & Selvig, K. A. (1975) Formation of an experimental dental cuticle. *Scand J Dent Res* **83**, 145-152.
- Lin, Y. H. & Gillam, D. G. (2012) The Prevalence of Root Sensitivity following Periodontal Therapy: A Systematic Review. *Int J Dent* **2012**, 407023. doi:10.1155/2012/407023.
- Lindhe, J. (1981) [Periodontitis can be treated, but it is necessary that the dentists admit their limitations]. *Nor Tannlaegeforen Tid* **91**, 357-358.
- Lindhe, J. & Echeverria, J. (1994) Consensus report of session II. In: European Workshop on Periodontology: 1st Proceedings of the 1st European Workshop on Periodontology, eds. Lang, N. P. & Karring, T., pp. 210–14. London: Quintessence Publishing Co. Ltd.
- Lindhe, J., Lang, N.P. & Karring T. (1998) Clinical Periodontology and Implant Dentistry. 3rd edition: Blackwell Munksgaard.
- Lindhe, J., Lang, N.P. & Karring, T. (2008) Clinical Periodontology and Implant Dentistry. 5th edition: Blackwell Munksgaard.
- Lindhe, J., Lang, N.P., Berglundh, T., Giannobile, W.V., Sanz, M. (2015) Clinical Periodontology and Implant Dentistry. 6th edition: Blackwell Wiley.

- Listgarten, M. A. (1976) Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscopic study. *J Periodontol* **47**, 1-18. doi:10.1902/jop.1976.47.1.1.
- Listgarten, M. A. (1994) The structure of dental plaque. *Periodontol 2000* **5**, 52-65.
- Listgarten M. Formation of dental plaque and other biofilms; In Newman HN, Wilson M, ed. Dental Plaque Revisited: Oral Biofilms in Health and Disease. Cardiff, BioLine, 1999; 187–210.
- Loe, H. & Schiott, C. R. (1970) The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *J Periodontal Res* **5**, 79-83.
- Loe, H., Theilade, E. & Jensen, S. B. (1965) Experimental Gingivitis in Man. *J Periodontol* **36**, 177-187. doi:10.1902/jop.1965.36.3.177.
- Long, S. S. & Swenson, R. M. (1976) Determinants of the developing oral flora in normal newborns. *Appl Environ Microbiol* **32**, 494-497.
- Lorenz, K., Bruhn, G., Heumann, C., Netuschil, L., Brex, M. & Hoffmann, T. (2006) Effect of two new chlorhexidine mouthrinses on the development of dental plaque, gingivitis, and discolouration. A randomized, investigator-blind, placebo-controlled, 3-week experimental gingivitis study. *J Clin Periodontol* **33**, 561-567. doi:10.1111/j.1600-051X.2006.00946.x.
- Machtei, E. E. & Schallhorn, R. G. (1995) Successful regeneration of mandibular Class II furcation defects: an evidence-based treatment approach. *Int J Periodontics Restorative Dent* **15**, 146-167.
- Majzoub, Z., Landi, L., Grusovin, M. G. & Cordioli, G. (2001) Histology of connective tissue graft. A case report. *J Periodontol* **72**, 1607-1615. doi:10.1902/jop.2001.72.11.1607.
- Mandel, I. D. (1988) Chemotherapeutic agents for controlling plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol* **15**, 488-498.

- Mantovani, A., Biswas, S. K., Galdiero, M. R., Sica, A. & Locati, M. (2013) Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. *J Pathol* **229**, 176-185. doi:10.1002/path.4133.
- Mariotti, A. J. & Rumpf, D. A. (1999) Chlorhexidine-induced changes to human gingival fibroblast collagen and non-collagen protein production. *J Periodontol* **70**, 1443-1448. doi:10.1902/jop.1999.70.12.1443.
- Marsh, P. D. & Bradshaw, D. J. (1995) Dental plaque as a biofilm. *J Ind Microbiol* **15**, 169-175.
- Martin, P. (1997) Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science* **276**, 75-81.
- Maruniak, J., Clark, W. B., Walker, C. B., Magnusson, I., Marks, R. G., Taylor, M. & Clouser, B. (1992) The effect of 3 mouthrinses on plaque and gingivitis development. *J Clin Periodontol* **19**, 19-23.
- Mascarenhas, A. K., Allen, C. M. & Moeschberger, M. L. (2002) The association between Viadent use and oral leukoplakia--results of a matched case-control study. *J Public Health Dent* **62**, 158-162.
- Mashimo, P. A., Yamamoto, Y., Slots, J., Park, B. H. & Genco, R. J. (1983) The periodontal microflora of juvenile diabetics. Culture, immunofluorescence, and serum antibody studies. *J Periodontol* **54**, 420-430. doi:10.1902/jop.1983.54.7.420.
- Matsson, L. & Attstrom, R. (1979) Histologic characteristics of experimental gingivitis in the juvenile and adult beagle dog. *J Clin Periodontol* **6**, 334-350.
- McCulloch, C. A. (1993) Basic considerations in periodontal wound healing to achieve regeneration. *Periodontol 2000* **1**, 16-25.
- McKinney, J. E. & Wu, W. (1985) Chemical softening and wear of dental composites. *J Dent Res* **64**, 1326-1331.
- Meneghin, A. & Hogaboam, C. M. (2007) Infectious disease, the innate immune response, and fibrosis. *J Clin Invest* **117**, 530-538. doi:10.1172/JCI30595.

- Mester, A. F., Snow, J. B., Jr. & Shaman, P. (1991) Photochemical effects of laser irradiation on neuritic outgrowth of olfactory neuroepithelial explants. *Otolaryngol Head Neck Surg* **105**, 449-456.
- Miller, J. T., Shannon, I. L., Kilgore, W. G. & Bookman, J. E. (1969) Use of a water-free stannous fluoride-containing gel in the control of dental hypersensitivity. *J Periodontol* **40**, 490-491. doi:10.1902/jop.1969.40.8.490.
- Mombelli, A., Zappa, U., Bragger, U. & Lang, N. P. (1996) Systemic antimicrobial treatment and guided tissue regeneration. Clinical and microbiological effects in furcation defects. *J Clin Periodontol* **23**, 386-396.
- Moran, J. & Addy, M. (1984) The effect of surface adsorption and staining reactions on the antimicrobial properties of some cationic antiseptic mouthwashes. *J Periodontol* **55**, 278-282. doi:10.1902/jop.1984.55.5.278.
- Moran, J., Addy, M. & Newcombe, R. (1988) A clinical trial to assess the efficacy of sanguinarine-zinc mouthrinse (Veadent) compared with chlorhexidine mouthrinse (Corsodyl). *J Clin Periodontol* **15**, 612-616.
- Moran, J., Addy, M., Wade, W., Milson, S., McAndrew, R. & Newcombe, R. G. (1995) The effect of oxidising mouthrinses compared with chlorhexidine on salivary bacterial counts and plaque regrowth. *J Clin Periodontol* **22**, 750-755.
- Moran, J., Pal, D., Newcombe, R. & Addy, M. (1991) Comparison of a phenolic and a 0.2% chlorhexidine mouthwash on the development of plaque and gingivitis. *Clin Prev Dent* **13**, 31-35.
- Mormann, W., Schaer, F. & Firestone, A. R. (1981) The relationship between success of free gingival grafts and transplant thickness. Revascularization and shrinkage--a one year clinical study. *J Periodontol* **52**, 74-80. doi:10.1902/jop.1981.52.2.74.
- Mosely, L. H. & Finseth, F. (1977) Cigarette smoking: impairment of digital blood flow and wound healing in the hand. *Hand* **9**, 97-101.

- Mosely, L. H., Finseth, F. & Goody, M. (1978) Nicotine and its effect on wound healing. *Plast Reconstr Surg* **61**, 570-575.
- Moslemi N, Heidari, M, Fekrazad R, Nokhbatolfoghahaie H, Yaghobee S, Shamshiri A, et al. (2014) Evaluation of the effect of 660nm low power laser on pain and healing in palatal donor site: a randomized controlled clinical trial. *J Dent Med-Tehran Univ Med Sci*, 27(1): 71-7.
- Murphy, K. G. (1995) Postoperative healing complications associated with Gore-Tex Periodontal Material. Part I. Incidence and characterization. *Int J Periodontics Restorative Dent* **15**, 363-375.
- Nadkarni, M. A., Martin, F. E., Jacques, N. A. & Hunter, N. (2002) Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. *Microbiology* **148**, 257-266. doi:10.1099/00221287-148-1-257.
- Nasjleti, C. E., Caffesse, R. G. & Kowalski, C. J. (1984) Dextran-induced inflammation and its effect on keratinized gingival epithelium in monkeys. *J Periodontol* **55**, 531-535. doi:10.1902/jop.1984.55.9.531.
- Niedner, R. (1997) Cytotoxicity and sensitization of povidone-iodine and other frequently used anti-infective agents. *Dermatology* **195 Suppl 2**, 89-92.
- Noguerol, B., Sanz, M., Follana, M. & Bascones, A. (1991) Eficacia de un cepillo dental ultrasuave en el período postoperatorio de la cirugía periodontal. *Periodoncia* **1**, 52-63.
- Novaes, A. B., Kon, S., Ruben, M. P. & Goldman, H. M. (1969) Visualization of the microvascularization of the healing periodontal wound. 3. Gingivectomy. *J Periodontol* **40**, 359-371. doi:10.1902/jop.1969.40.6.359.
- Novak, M. L. & Koh, T. J. (2013) Macrophage phenotypes during tissue repair. *J Leukoc Biol* **93**, 875-881. doi:10.1189/jlb.1012512.

- Nowzari, H., MacDonald, E. S., Flynn, J., London, R. M., Morrison, J. L. & Slots, J. (1996) The dynamics of microbial colonization of barrier membranes for guided tissue regeneration. *J Periodontol* **67**, 694-702. doi:10.1902/jop.1996.67.7.694.
- Nowzari, H., Matian, F. & Slots, J. (1995) Periodontal pathogens on polytetrafluoroethylene membrane for guided tissue regeneration inhibit healing. *J Clin Periodontol* **22**, 469-474.
- Nyman, S., Lindhe, J. & Rosling, B. (1977) Periodontal surgery in plaque-infected dentitions. *J Clin Periodontol* **4**, 240-249.
- O'Leary, T. J., Drake, R. B. & Naylor, J. E. (1972) The plaque control record. *J Periodontol* **43**, 38. doi:10.1902/jop.1972.43.1.38.
- Oliver, R. C., Loe, H. & Karring, T. (1968) Microscopic evaluation of the healing and revascularization of free gingival grafts. *J Periodontal Res* **3**, 84-95.
- Olsson, H., Asklow, B., Johansson, E. & Slotte, C. (2012) Rinsing with alcohol-free or alcohol-based chlorhexidine solutions after periodontal surgery. A double-blind, randomized, cross-over, pilot study. *Swed Dent J* **36**, 91-99.
- Orsini, M., Orsini, G., Benlloch, D., Aranda, J. J., Lazaro, P. & Sanz, M. (2004) Esthetic and dimensional evaluation of free connective tissue grafts in prosthetically treated patients: a 1-year clinical study. *J Periodontol* **75**, 470-477. doi:10.1902/jop.2004.75.3.470.
- Ouhayoun, J. P., Goffaux, J. C., Sawaf, M. H., Shabana, A. H., Collin, C. & Forest, N. (1990) Changes in cytokeratin expression in gingiva during inflammation. *J Periodontal Res* **25**, 283-292.
- Overholser, C. D., Meiller, T. F., DePaola, L. G., Minah, G. E. & Niehaus, C. (1990) Comparative effects of 2 chemotherapeutic mouthrinses on the development of supragingival dental plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol* **17**, 575-579.

- Ozawa, Y., Shimizu, N., Kariya, G. & Abiko, Y. (1998) Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. *Bone* **22**, 347-354.
- Ozcelik, O., Cenk Haytac, M., Kunin, A. & Seydaoglu, G. (2008a) Improved wound healing by low-level laser irradiation after gingivectomy operations: a controlled clinical pilot study. *J Clin Periodontol* **35**, 250-254. doi:10.1111/j.1600-051X.2007.01194.x.
- Ozcelik, O., Cenk Haytac, M. & Seydaoglu, G. (2008b) Enamel matrix derivative and low-level laser therapy in the treatment of intra-bony defects: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* **35**, 147-156. doi:10.1111/j.1600-051X.2007.01176.x.
- Ozturan, S., Durukan, S. A., Ozcelik, O., Seydaoglu, G. & Haytac, M. C. (2011) Coronally advanced flap adjunct with low intensity laser therapy: a randomized controlled clinical pilot study. *J Clin Periodontol* **38**, 1055-1062. doi:10.1111/j.1600-051X.2011.01774.x.
- Pack, P. D. & Haber, J. (1983) The incidence of clinical infection after periodontal surgery. A retrospective study. *J Periodontol* **54**, 441-443. doi:10.1902/jop.1983.54.7.441.
- Pan, P., Barnett, M. L., Coelho, J., Brogdon, C. & Finnegan, M. B. (2000) Determination of the in situ bactericidal activity of an essential oil mouthrinse using a vital stain method. *J Clin Periodontol* **27**, 256-261.
- Pandya, D., Manohar, B., Mathur, L. K. & Shankarapillai, R. (2012) "Liver clot" - a rare periodontal postsurgical complication. *Indian J Dent Res* **23**, 419-422. doi:10.4103/0970-9290.102244.
- Papaioannou, W., Vassilopoulos, S., Vrotsos, I., Margaritis, V. & Panis, V. (2016) A comparison of a new alcohol-free 0.2% chlorhexidine oral rinse to an established 0.2% chlorhexidine rinse with alcohol for the control of dental plaque accumulation. *Int J Dent Hyg* **14**, 272-277. doi:10.1111/idh.12182.

- Papapanou, P. N., Sellen, A., Wennstrom, J. L. & Dahlen, G. (1993) An analysis of the subgingival microflora in randomly selected subjects. *Oral Microbiol Immunol* **8**, 24-29.
- Paraskevas, S., Versteeg, P. A., Timmerman, M. F., Van der Velden, U. & Van der Weijden, G. A. (2005) The effect of a dentifrice and mouth rinse combination containing amine fluoride/stannous fluoride on plaque and gingivitis: a 6-month field study. *J Clin Periodontol* **32**, 757-764. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00750.x.
- Parks, W. C. (1999) Matrix metalloproteinases in repair. *Wound Repair Regen* **7**, 423-432.
- Pasquinelli, K. L. (1995) The histology of new attachment utilizing a thick autogenous soft tissue graft in an area of deep recession: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* **15**, 248-257.
- Paster, B. J., Olsen, I., Aas, J. A. & Dewhirst, F. E. (2006) The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontol 2000* **42**, 80-87. doi:10.1111/j.1600-0757.2006.00174.x.
- Penugonda, B., Settembrini, L., Scherer, W., Hittelman, E. & Strassler, H. (1994) Alcohol-containing mouthwashes: effect on composite hardness. *J Clin Dent* **5**, 60-62.
- Pfeifer, J. S. (1965) The Reaction of Alveolar Bone to Flap Procedures in Man. *Periodontics* **3**, 135-140.
- Poggi, P., Rodriguez y Baena, R., Rizzo, S. & Rota, M. T. (2003) Mouthrinses with alcohol: cytotoxic effects on human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontol* **74**, 623-629. doi:10.1902/jop.2003.74.5.623.
- Pontefract, H., Hughes, J., Kemp, K., Yates, R., Newcombe, R. G. & Addy, M. (2001) The erosive effects of some mouthrinses on enamel. A study in situ. *J Clin Periodontol* **28**, 319-324.
- Potente, M., Gerhardt, H. & Carmeliet, P. (2011) Basic and therapeutic aspects of angiogenesis. *Cell* **146**, 873-887. doi:10.1016/j.cell.2011.08.039.

- Pourzarandian, A., Watanabe, H., Ruwanpura, S. M., Aoki, A. & Ishikawa, I. (2005a) Effect of low-level Er:YAG laser irradiation on cultured human gingival fibroblasts. *J Periodontol* **76**, 187-193. doi:10.1902/jop.2005.76.2.187.
- Pourzarandian, A., Watanabe, H., Ruwanpura, S. M., Aoki, A., Noguchi, K. & Ishikawa, I. (2005b) Er:YAG laser irradiation increases prostaglandin E production via the induction of cyclooxygenase-2 mRNA in human gingival fibroblasts. *J Periodontol Res* **40**, 182-186. doi:10.1111/j.1600-0765.2005.00789.x.
- Powell, C. A., Mealey, B. L., Deas, D. E., McDonnell, H. T. & Moritz, A. J. (2005) Post-surgical infections: prevalence associated with various periodontal surgical procedures. *J Periodontol* **76**, 329-333. doi:10.1902/jop.2005.76.3.329.
- Pretty, I. A., Edgar, W. M., Smith, P. W. & Higham, S. M. (2005) Quantification of dental plaque in the research environment. *J Dent* **33**, 193-207. doi:10.1016/j.jdent.2004.10.017.
- Pustigliani, F. E., Kon, S., Novaes, A. B. & Ruben, M. P. (1975) Split thickness flap, apically replaced, with protected linear periosteal fenestration. *J Periodontol* **46**, 742-744. doi:10.1902/jop.1975.46.12.742.
- Quirynen, M., Avontroodt, P., Peeters, W., Pauwels, M., Coucke, W. & van Steenberghe, D. (2001) Effect of different chlorhexidine formulations in mouthrinses on de novo plaque formation. *J Clin Periodontol* **28**, 1127-1136.
- Quirynen, M., Dekeyser, C. & van Steenberghe, D. (1991) The influence of gingival inflammation, tooth type, and timing on the rate of plaque formation. *J Periodontol* **62**, 219-222. doi:10.1902/jop.1991.62.3.219.
- Quirynen, M., Marechal, M. & van Steenberghe, D. (1990) Comparative antiplaque activity of sanguinarine and chlorhexidine in man. *J Clin Periodontol* **17**, 223-227.
- Quirynen, M., Soers, C., Desnyder, M., Dekeyser, C., Pauwels, M. & van Steenberghe, D. (2005) A 0.05% cetyl pyridinium chloride/0.05% chlorhexidine mouth rinse during

- maintenance phase after initial periodontal therapy. *J Clin Periodontol* **32**, 390-400. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00685.x.
- Quirynen, M., Teughels, W., De Soete, M. & van Steenberghe, D. (2002) Topical antiseptics and antibiotics in the initial therapy of chronic adult periodontitis: microbiological aspects. *Periodontol 2000* **28**, 72-90.
- Ramfjord, S. F. & Costich, E. R. (1968) Healing after exposure of periosteum on the alveolar process. *J Periodontol* **39**, 199-207.
- Rateitschak, K. H., Egli, U. & Fringeli, G. (1979) Recession: a 4-year longitudinal study after free gingival grafts. *J Clin Periodontol* **6**, 158-164.
- Rees, T. D. & Orth, C. F. (1986) Oral ulcerations with use of hydrogen peroxide. *J Periodontol* **57**, 689-692. doi:10.1902/jop.1986.57.11.689.
- Reheman, A., Gross, P., Yang, H., Chen, P., Allen, D., Leytin, V., Freedman, J. & Ni, H. (2005) Vitronectin stabilizes thrombi and vessel occlusion but plays a dual role in platelet aggregation. *J Thromb Haemost* **3**, 875-883. doi:10.1111/j.1538-7836.2005.01217.x.
- Reilkoff, R. A., Bucala, R. & Herzog, E. L. (2011) Fibrocytes: emerging effector cells in chronic inflammation. *Nat Rev Immunol* **11**, 427-435. doi:10.1038/nri2990.
- Renton-Harper, P., Addy, M., Moran, J., Doherty, F. M. & Newcombe, R. G. (1996) A comparison of chlorhexidine, cetylpyridinium chloride, triclosan, and C31G mouthrinse products for plaque inhibition. *J Periodontol* **67**, 486-489. doi:10.1902/jop.1996.67.5.486.
- Ribeiro, D. A., Bazo, A. P., da Silva Franchi, C. A., Marques, M. E. & Salvadori, D. M. (2004) Chlorhexidine induces DNA damage in rat peripheral leukocytes and oral mucosal cells. *J Periodontol Res* **39**, 358-361. doi:10.1111/j.1600-0765.2004.00759.x.
- Ricardo Palmier Teles & Flavia Rocha Fonseca Teles. (2009) Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control? *Braz Oral Res* **23**, (Spec Iss 1):39-48.

- Roberts, W. R. & Addy, M. (1981) Comparison of the in vivo and in vitro antibacterial properties of antiseptic mouthrinses containing chlorhexidine, alexidine, cetylpyridinium chloride and hexetidine. Relevance to mode of action. *J Clin Periodontol* **8**, 295-310.
- Rolla, G., Kjaerheim, V. & Waaler, S.M. (1997) The role of antiseptics in secondary prevention. In: Lang, N.P., Karring, T. & Lindhe, J., eds. Proceedings of the 2nd European Workshop on Periodontology. Chemicals in Periodontics. Berlin: Quintessence, pp. 120-130.
- Rosling, B., Hellstrom, M. K., Ramberg, P., Socransky, S. S. & Lindhe, J. (2001) The use of PVP-iodine as an adjunct to non-surgical treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* **28**, 1023-1031.
- Rosling, B., Nyman, S. & Lindhe, J. (1976a) The effect of systematic plaque control on bone regeneration in infrabony pockets. *J Clin Periodontol* **3**, 38-53.
- Rosling, B., Nyman, S., Lindhe, J. & Jern, B. (1976b) The healing potential of the periodontal tissues following different techniques of periodontal surgery in plaque-free dentitions. A 2-year clinical study. *J Clin Periodontol* **3**, 233-250.
- Sagel, P. A., Lapujade, P. G., Miller, J. M. & Sunberg, R. J. (2000) Objective quantification of plaque using digital image analysis. *Monogr Oral Sci* **17**, 130-143.
- Sakurai, Y., Yamaguchi, M. & Abiko, Y. (2000) Inhibitory effect of low-level laser irradiation on LPS-stimulated prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 in human gingival fibroblasts. *Eur J Oral Sci* **108**, 29-34.
- Santagata, M., Guariniello, L., Prisco, R. V., Tartaro, G. & D'Amato, S. (2014) Use of subepithelial connective tissue graft as a biological barrier: a human clinical and histologic case report. *J Oral Implantol* **40**, 465-468. doi:10.1563/AAID-JOI-D-11-00109.

- Sanz-Moliner, J. D., Nart, J., Cohen, R. E. & Ciancio, S. G. (2013) The effect of an 810-nm diode laser on postoperative pain and tissue response after modified Widman flap surgery: a pilot study in humans. *J Periodontol* **84**, 152-158. doi:10.1902/jop.2012.110660.
- Sanz, M. & Giovannoli, J. L. (2000) Focus on furcation defects: guided tissue regeneration. *Periodontol 2000* **22**, 169-189.
- Sanz, M. & Herrera, D. (1998) Role of oral hygiene during the healing phase of periodontal therapy. In: Proceedings of the European Workshop on Mechanical Plaque Control – Status of the Art and Science of Dental Plaque Control, eds. Lang, N. P., Attstrom, R. & Loe, H., pp. 248–267. Berlin: Quintessence Verlag.
- Sanz, M., Newman, M. G., Anderson, L., Matoska, W., Otomo-Corgel, J. & Saltini, C. (1989) Clinical enhancement of post-periodontal surgical therapy by a 0.12% chlorhexidine gluconate mouthrinse. *J Periodontol* **60**, 570-576. doi:10.1902/jop.1989.60.10.570.
- Sawyer, R. G. & Pruett, T. L. (1994) Wound infections. *Surg Clin North Am* **74**, 519-536.
- Saxer, U. P., Mormann, W., Firestone, A. R. & Eltink, B. (1982) Plaque control with chlorhexidine and D-301, a quaternary ammonium compound. *J Clin Periodontol* **9**, 162-169.
- Saxton, C. A. (1973) Scanning electron microscope study of the formation of dental plaque. *Caries Res* **7**, 102-119.
- Saygun, I., Karacay, S., Serdar, M., Ural, A. U., Sencimen, M. & Kurtis, B. (2008) Effects of laser irradiation on the release of basic fibroblast growth factor (bFGF), insulin like growth factor-1 (IGF-1), and receptor of IGF-1 (IGFBP3) from gingival fibroblasts. *Lasers Med Sci* **23**, 211-215. doi:10.1007/s10103-007-0477-3.
- Scherer, W., Gultz, J., Lee, S. S. & Kaim, J. (1998) The ability of an herbal mouthrinse to reduce gingival bleeding. *J Clin Dent* **9**, 97-100.

- Schiott, C. R., Loe, H., Jensen, S. B., Kilian, M., Davies, R. M. & Glavind, K. (1970) The effect of chlorhexidine mouthrinses on the human oral flora. *J Periodontal Res* **5**, 84-89.
- Schreier, H., Erdos, G., Reimer, K., Konig, B., Konig, W. & Fleischer, W. (1997) Molecular effects of povidone-iodine on relevant microorganisms: an electron-microscopic and biochemical study. *Dermatology* **195 Suppl 2**, 111-116.
- Segreto, V.A., Collins, E.M., Beiswanger, B.B., de la Rosa, M., Isaacs, R.L., Lang, N.P., Mallet, M.E. & Meckel, A.H. (1986) A comparison of mouthwashes containing two concentrations of chlorhexidine. *J Periodontal Research* **21** (Suppl 16), 23-32.
- Semlali, A., Chakir, J., Goulet, J. P., Chmielewski, W. & Rouabhia, M. (2011) Whole cigarette smoke promotes human gingival epithelial cell apoptosis and inhibits cell repair processes. *J Periodontal Res* **46**, 533-541. doi:10.1111/j.1600-0765.2011.01370.x.
- Shapiro, S., Giertsen, E. & Guggenheim, B. (2002) An in vitro oral biofilm model for comparing the efficacy of antimicrobial mouthrinses. *Caries Res* **36**, 93-100. doi:57866.
- Sharma, N., Charles, C. H., Lynch, M. C., Qaqish, J., McGuire, J. A., Galustians, J. G. & Kumar, L. D. (2004) Adjunctive benefit of an essential oil-containing mouthrinse in reducing plaque and gingivitis in patients who brush and floss regularly: a six-month study. *J Am Dent Assoc* **135**, 496-504.
- Sharma, N. C., Charles, C. H., Qaqish, J. G., Galustians, H. J., Zhao, Q. & Kumar, L. D. (2002) Comparative effectiveness of an essential oil mouthrinse and dental floss in controlling interproximal gingivitis and plaque. *Am J Dent* **15**, 351-355.
- Sherwin, M. A. & Gastwirth, C. M. (1990) Detrimental effects of cigarette smoking on lower extremity wound healing. *J Foot Surg* **29**, 84-87.
- Shi, C. & Pamer, E. G. (2011) Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nat Rev Immunol* **11**, 762-774. doi:10.1038/nri3070.

- Shiloah, J. & Patters, M. R. (1994) DNA probe analyses of the survival of selected periodontal pathogens following scaling, root planing, and intra-pocket irrigation. *J Periodontol* **65**, 568-575. doi:10.1902/jop.1994.65.6.568.
- Shimizu, N., Mayahara, K., Kiyosaki, T., Yamaguchi, A., Ozawa, Y. & Abiko, Y. (2007) Low-intensity laser irradiation stimulates bone nodule formation via insulin-like growth factor-I expression in rat calvarial cells. *Lasers Surg Med* **39**, 551-559. doi:10.1002/lsm.20521.
- Shimizu, N., Yamaguchi, M., Goseki, T., Shibata, Y., Takiguchi, H., Iwasawa, T. & Abiko, Y. (1995) Inhibition of prostaglandin E2 and interleukin 1-beta production by low-power laser irradiation in stretched human periodontal ligament cells. *J Dent Res* **74**, 1382-1388.
- Sissons, C. H., Wong, L. & Cutress, T. W. (1996) Inhibition by ethanol of the growth of biofilm and dispersed microcosm dental plaques. *Arch Oral Biol* **41**, 27-34.
- Slots, J., Research, S. & Therapy, C. (2004) Systemic antibiotics in periodontics. *J Periodontol* **75**, 1553-1565. doi:10.1902/jop.2004.75.11.1553.
- Sobouti, F., Rakhshan, V., Chiniforush, N. & Khatami, M. (2014) Effects of laser-assisted cosmetic smile lift gingivectomy on postoperative bleeding and pain in fixed orthodontic patients: a controlled clinical trial. *Prog Orthod* **15**, 66. doi:10.1186/s40510-014-0066-5.
- Socransky, S. S. & Haffajee, A. D. (2005) Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000* **38**, 135-187. doi:10.1111/j.1600-0757.2005.00107.x.
- Socransky, S. S. & Manganiello, S. D. (1971) The oral microbiota of man from birth to senility. *J Periodontol* **42**, 485-496. doi:10.1902/jop.1971.42.8.485.
- Solomon, A., Lavie, V., Ben-Bassat, S., Belkin, M. & Schwartz, M. (1991) New surgical approach to overcome the inability of injured mammalian axons to grow within their environment. *J Neural Transplant Plast* **2**, 243-248. doi:10.1155/NP.1991.243.

- Southard, S. R., Drisko, C. L., Killoy, W. J., Cobb, C. M. & Tira, D. E. (1989) The effect of 2% chlorhexidine digluconate irrigation on clinical parameters and the level of *Bacteroides gingivalis* in periodontal pockets. *J Periodontol* **60**, 302-309. doi:10.1902/jop.1989.60.6.302.
- Southern, E. N., McCombs, G. B., Tolle, S. L. & Marinak, K. (2006) The comparative effects of 0.12% chlorhexidine and herbal oral rinse on dental plaque-induced gingivitis. *J Dent Hyg* **80**, 12.
- Staffileno, H., Jr. & Levy, S. (1969) Histologic and clinical study of mucosal (gingival) transplants in dogs. *J Periodontol* **40**, 311-319. doi:10.1902/jop.1969.40.6.311.
- Staffileno, H., Levy, S. & Gargiulo, A. (1966) Histologic study of cellular mobilization and repair following a periosteal retention operation via split thickness mucogingival flap surgery. *J Periodontol* **37**, 117-131. doi:10.1902/jop.1966.37.2.117.
- Stahl, S. S. (1976) Gingival repair potential. *J Oral Med* **31**, 104-110.
- Stein, A., Benayahu, D., Maltz, L. & Oron, U. (2005) Low-level laser irradiation promotes proliferation and differentiation of human osteoblasts in vitro. *Photomed Laser Surg* **23**, 161-166. doi:10.1089/pho.2005.23.161.
- Stralfors, A. (1961). In: Muhlemann, H.R. & Konig, K.G., eds. Caries Symposium. Berne: Hans Huber, p.154.
- Tan, W. C., Krishnaswamy, G., Ong, M. M. & Lang, N. P. (2014) Patient-reported outcome measures after routine periodontal and implant surgical procedures. *J Clin Periodontol* **41**, 618-624. doi:10.1111/jcpe.12248.
- Taubman, M. A. & Smith, D. J. (1976) Immune components in dental plaque. *J Dent Res* **55 Spec No**, C153-162.
- Ten Cate. Oral Histology. Fifth edition. 2001: 65.
- Ten Napel, J. H., Theilade, J., Matsson, L. & Attstrom, R. (1985) Ultrastructure of developing subgingival plaque in beagle dogs. *J Clin Periodontol* **12**, 507-524.

- Tenenbaum, H., Dahan, M. & Soell, M. (1999) Effectiveness of a sanguinarine regimen after scaling and root planing. *J Periodontol* **70**, 307-311. doi:10.1902/jop.1999.70.3.307.
- Theilade, E., Wright, W. H., Jensen, S. B. & Loe, H. (1966) Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J Periodontal Res* **1**, 1-13.
- Thoma, D. S., Hammerle, C. H., Cochran, D. L., Jones, A. A., Gorlach, C., Uebersax, L., Mathes, S., Graf-Hausner, U. & Jung, R. E. (2011) Soft tissue volume augmentation by the use of collagen-based matrices in the dog mandible -- a histological analysis. *J Clin Periodontol* **38**, 1063-1070. doi:10.1111/j.1600-051X.2011.01786.x.
- Tipton, D. A. & Dabbous, M. K. (1995) Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontol* **66**, 1056-1064. doi:10.1902/jop.1995.66.12.1056.
- Todkar, R., Sheikh, S., Byakod, G. & Muglikar, S. (2012) Efficacy of chlorhexidine mouthrinses with and without alcohol - a clinical study. *Oral Health Prev Dent* **10**, 291-296.
- Tomasek, J. J., Haaksma, C. J., Schwartz, R. J. & Howard, E. W. (2013) Whole animal knockout of smooth muscle alpha-actin does not alter excisional wound healing or the fibroblast-to-myofibroblast transition. *Wound Repair Regen* **21**, 166-176. doi:10.1111/wrr.12001.
- Tonetti, M. S., Gerber, L. & Lang, N. P. (1994) Vascular adhesion molecules and initial development of inflammation in clinically healthy human keratinized mucosa around teeth and osseointegrated implants. *J Periodontal Res* **29**, 386-392.
- Tuby, H., Maltz, L. & Oron, U. (2007) Low-level laser irradiation (LLLI) promotes proliferation of mesenchymal and cardiac stem cells in culture. *Lasers Surg Med* **39**, 373-378. doi:10.1002/lsm.20492.
- Van der Weijden, G. A., Ten Heggeler, J. M., Slot, D. E., Rosema, N. A. & Van der Velden, U. (2010) Parotid gland swelling following mouthrinse use. *Int J Dent Hyg* **8**, 276-279. doi:10.1111/j.1601-5037.2009.00419.x.

- Van der Weijden, G. A., Timmerman, M. F., Reijerse, E., Mantel, M. S. & Van der Velden, U. (1995) The effectiveness of an electronic toothbrush in the removal of established plaque and treatment of gingivitis. *J Clin Periodontol* **22**, 179-182.
- van der Weijden, G. A., Timmerman, M. F., Reijerse, E., Snoek, C. M. & van der Velden, U. (1996) Toothbrushing force in relation to plaque removal. *J Clin Periodontol* **23**, 724-729.
- Van Strydonck, D. A., Slot, D. E., Van der Velden, U. & Van der Weijden, F. (2012) Effect of a chlorhexidine mouthrinse on plaque, gingival inflammation and staining in gingivitis patients: a systematic review. *J Clin Periodontol* **39**, 1042-1055. doi:10.1111/j.1600-051X.2012.01883.x.
- van Winkelhoff, A. J., Herrera, D., Oteo, A. & Sanz, M. (2005) Antimicrobial profiles of periodontal pathogens isolated from periodontitis patients in The Netherlands and Spain. *J Clin Periodontol* **32**, 893-898. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00782.x.
- Wachtel, H., Schenk, G., Bohm, S., Weng, D., Zuhr, O. & Hurzeler, M. B. (2003) Microsurgical access flap and enamel matrix derivative for the treatment of periodontal intrabony defects: a controlled clinical study. *J Clin Periodontol* **30**, 496-504.
- Wade, W. G. (2011) Has the use of molecular methods for the characterization of the human oral microbiome changed our understanding of the role of bacteria in the pathogenesis of periodontal disease? *J Clin Periodontol* **38 Suppl 11**, 7-16. doi:10.1111/j.1600-051X.2010.01679.x.
- Waerhaug, J. Microscopic demonstration of tissue reaction incident to removal of subgingival calculus. *J Periodontol* 1999;26:26-29.
- Walker, C. B., Tyler, K. Z., Low, S. B. & King, C. J. (1987) Penicillin-degrading enzymes in sites associated with adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* **2**, 129-131.
- Wang, M., McIntee, E. J., Cheng, G., Shi, Y., Villalta, P. W. & Hecht, S. S. (2000) Identification of DNA adducts of acetaldehyde. *Chem Res Toxicol* **13**, 1149-1157.

- Watnick, P. & Kolter, R. (2000) Biofilm, city of microbes. *J Bacteriol* **182**, 2675-2679.
- Watts, A. & Addy, M. (2001) Tooth discolouration and staining: a review of the literature. *Br Dent J* **190**, 309-316. doi:10.1038/sj.bdj.4800959a.
- Weber, C. E., Li, N. Y., Wai, P. Y. & Kuo, P. C. (2012) Epithelial-mesenchymal transition, TGF-beta, and osteopontin in wound healing and tissue remodeling after injury. *J Burn Care Res* **33**, 311-318. doi:10.1097/BCR.0b013e318240541e.
- Weiland, B., Netuschil, L., Hoffmann, T. & Lorenz, K. (2008) Substantivity of amine fluoride/stannous fluoride following different modes of application: a randomized, investigator-blind, placebo-controlled trial. *Acta Odontol Scand* **66**, 307-313. doi:10.1080/00016350802310947.
- Wennstrom, J. (1983) Regeneration of gingiva following surgical excision. A clinical study. *J Clin Periodontol* **10**, 287-297.
- Wennstrom, J. & Lindhe, J. (1983) Role of attached gingiva for maintenance of periodontal health. Healing following excisional and grafting procedures in dogs. *J Clin Periodontol* **10**, 206-221.
- Wennstrom, J., Lindhe, J. & Nyman, S. (1981) Role of keratinized gingiva for gingival health. Clinical and histologic study of normal and regenerated gingival tissue in dogs. *J Clin Periodontol* **8**, 311-328.
- Westfelt, E., Nyman, S., Lindhe, J. & Socransky, S. (1983a) Use of chlorhexidine as a plaque control measure following surgical treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol* **10**, 22-36.
- Westfelt, E., Nyman, S., Socransky, S. & Lindhe, J. (1983b) Significance of frequency of professional tooth cleaning for healing following periodontal surgery. *J Clin Periodontol* **10**, 148-156.

- Whitaker, E. J., Pham, K., Feik, D., Rams, T. E., Barnett, M. L. & Pan, P. (2000) Effect of an essential oil-containing antiseptic mouthrinse on induction of platelet aggregation by oral bacteria in vitro. *J Clin Periodontol* **27**, 370-373.
- Wikesjo, U. M., Crigger, M., Nilveus, R. & Selvig, K. A. (1991) Early healing events at the dentin-connective tissue interface. Light and transmission electron microscopy observations. *J Periodontol* **62**, 5-14. doi:10.1902/jop.1991.62.1.5.
- Wilderman, M. N. & Wentz, F. M. (1965) Repair of a Dentogingival Defect with a Pedicle Flap. *J Periodontol* **36**, 218-231.
- Wilkins, E. M. (1999) Clinical Practice of the Dental Hygienist, 8th edn. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins (Chapter 17)
- Wilson, W., Taubert, K. A., Gewitz, M., Lockhart, P. B., Baddour, L. M., Levison, M., Bolger, A., Cabell, C. H., Takahashi, M., Baltimore, R. S., Newburger, J. W., Strom, B. L., Tani, L. Y., Gerber, M., Bonow, R. O., Pallasch, T., Shulman, S. T., Rowley, A. H., Burns, J. C., Ferrieri, P., Gardner, T., Goff, D., Durack, D. T., American Heart Association Rheumatic Fever, E., Kawasaki Disease, C., American Heart Association Council on Cardiovascular Disease in the, Y., American Heart Association Council on Clinical, C., American Heart Association Council on Cardiovascular, S., Anesthesia, Quality of, C. & Outcomes Research Interdisciplinary Working, G. (2007) Prevention of infective endocarditis: guidelines from the American Heart Association: a guideline from the American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease Committee, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Council on Clinical Cardiology, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. *Circulation* **116**, 1736-1754. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.183095.

- Winn, D. M., Blot, W. J., McLaughlin, J. K., Austin, D. F., Greenberg, R. S., Preston-Martin, S., Schoenberg, J. B. & Fraumeni, J. F., Jr. (1991) Mouthwash use and oral conditions in the risk of oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res* **51**, 3044-3047.
- Wojcicki, C. J., Harper, D. S. & Robinson, P. J. (1987) Differences in periodontal disease-associated microorganisms of subgingival plaque in prepubertal, pubertal and postpubertal children. *J Periodontol* **58**, 219-223. doi:10.1902/jop.1987.58.4.219.
- Wood, D. L., Hoag, P. M., Donnenfeld, O. W. & Rosenfeld, L. D. (1972) Alveolar crest reduction following full and partial thickness flaps. *J Periodontol* **43**, 141-144. doi:10.1902/jop.1972.43.3.141.
- Wu, C. D. & Savitt, E. D. (2002) Evaluation of the safety and efficacy of over-the-counter oral hygiene products for the reduction and control of plaque and gingivitis. *Periodontol 2000* **28**, 91-105.
- Wu, J. Y., Wang, Y. H., Wang, G. J., Ho, M. L., Wang, C. Z., Yeh, M. L. & Chen, C. H. (2012) Low-power GaAlAs laser irradiation promotes the proliferation and osteogenic differentiation of stem cells via IGF1 and BMP2. *PLoS One* **7**, e44027. doi:10.1371/journal.pone.0044027.
- Wu, X., Dmitriev, A. E., Cardoso, M. J., Viers-Costello, A. G., Borke, R. C., Streeter, J. & Anders, J. J. (2009) 810 nm Wavelength light: an effective therapy for transected or contused rat spinal cord. *Lasers Surg Med* **41**, 36-41. doi:10.1002/lsm.20729.
- Wynder, E. L., Kabat, G., Rosenberg, S. & Levenstein, M. (1983) Oral cancer and mouthwash use. *J Natl Cancer Inst* **70**, 255-260.
- Wynn, T. A. & Ramalingam, T. R. (2012) Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nat Med* **18**, 1028-1040. doi:10.1038/nm.2807.
- Yusof, W. Z. (1990) Oral mucosal ulceration due to hexetidine. *J N Z Soc Periodontol*, 12-13.
- Zambon, J. J. & Haraszthy, V. I. (1995) The laboratory diagnosis of periodontal infections. *Periodontol 2000* **7**, 69-82.

- Zambon, J. J., Reynolds, H., Fisher, J. G., Shlossman, M., Dunford, R. & Genco, R. J. (1988) Microbiological and immunological studies of adult periodontitis in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol* **59**, 23-31. doi:10.1902/jop.1988.59.1.23.
- Zimmer, S., Korte, P., Verde, P., Ohmann, C., Naumova, E. & Jordan, R. A. (2015) Randomized controlled trial on the efficacy of new alcohol-free chlorhexidine mouthrinses after 8 weeks. *Int J Dent Hyg* **13**, 110-116. doi:10.1111/idh.12111.
- Βραχόπουλος, Θ.Π. & Πεπελάση, Ε. (2003) Ο ρόλος της οστεΐνης στις επουλωτικές και αναπλαστικές διεργασίες του περιοδοντίου. *Οδοντοστοματολογική Πρόοδος*; 57:57-269.
- Καρούσης, Ι.Κ. (2015) Επίδραση της Ακτινοβολίας Nd:YAG Laser στη Βιολογική Συμπεριφορά των Οστεοβλαστών που καλλιεργούνται σε Επιφάνειες Τιτανίου, Ερευνητική Μονογραφία.