

UNIVERZITET PRIVREDNA AKADEMIJA U NOVOM
SADU
STOMATOLOŠKI FAKULTET
PANČEVO

DOKTORSKA DISERTACIJA

*„Procena efikasnosti fibrina obogaćenog
trombocitima u terapiji gingivalnih recesija“*

dr stom. Tamara Ristić

Pančevo, april 2016. godine

UNIVERZITET PRIVREDNA AKADEMIJA U NOVOM
SADU
STOMATOLOŠKI FAKULTET
PANČEVO

DOKTORSKA DISERTACIJA

*„Procena efikasnosti fibrina obogaćenog
trombocitima u terapiji gingivalnih recesija“*

MENTOR

KANDIDAT

Dr sci. Bojan Jovičić, docent

dr stom. Tamara Ristić

Pančevo, april 2016. godine

UNIVERSITY BUSINESS ACADEMY IN NOVI SAD

SCHOOL OF DENTISTRY

PANČEVO

DOCTORAL DISSERTATION

*“Evaluation of platelet- rich fibrin efficiency
in gingival recession treatment”*

MENTOR

Dr sci. Bojan Jovičić, Associate Professor

CANDIDATE

dr Tamara Ristić

Pančevo, april 2016.

Mojoj porodici

*Zahvaljujem se mentoru, **Doc. dr Bojanu Jovičiću**, na savetima koje sam dobila tokom izrade ove disertacije.*

*Duboko poštovanje i posebnu zahvalnost dugujem mojoj profesorki i prijateljici **Prof. dr Milici Nedić** koja mi je svojom ogromnom energijom i znanjem otvorila vrata savremene parodontologije.*

*Zahvalna sam **Prof. dr Božidaru Dimitrijeviću** na konstruktivnim kritikama i savetima koji su mi bili od neprocenjivog značaja tokom izrade ovog rada.*

Najveću zahvalnost dugujem mojoj porodici zbog razumevanja, ljubavi i podrške koje imamo jedni za druge kroz sve uspone i padove.

UNIVERZITET PRIVREDNA AKADEMIJA U NOVOM SADU

NAZIV FAKULTETA : Stomatološki fakultet Pančevo

KLJUČNI PODACI O ZAVRŠNOM RADU

Vrsta rada:	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora:	Tamara Ristić
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje, institucija)	dr sci. Bojan Jovičić, docent, Stomatološki fakultet Pančevo, Univerzitet Privredna Akademija u Novom Sadu
PNaslov rada:	Procena efikasnosti fibrina obogaćenog trombocitima u terapiji gingivalnih recesija
Jezik publikacije (pismo):	Srpski (latinica)
Fizički opis rada:	Uneti broj: Stranica__140_____ Poglavlja__9_____ Referenci__215_____ Tabela__23_____ Slika__27_____ Grafikona__4_____ Priloga__4__(A,B,C,D)_____
Naučna oblast:	Stomatološke nauke
Predmetna odrednica, ključne reči:	Parodontologija Ključne reči: gingivalna recesija, transplantat vezivnog tkiva, fibrin obogaćen trombocitima i leukocitima, koronarno pomereni režanj
Izvod (apstrakt ili rezime) na jeziku završnog rada:	Mukogingivalne anomalije se ispoljavaju kao posledica anatomomorfoloških nepravilnosti u mukogingivalnom kompleksu parodontalnih tkiva i predstavljaju odstupanje od normalne dimenzije i morfologije u međusobnom odnosu gingive i

alveolarne mukoze, a takođe mogu biti povezane i sa deformitetima alveolarne kosti. S obzirom na veliku učestalost u humanoj populaciji, one predstavljaju značajan socioepidemiološki problem. Gingivalna recesija predstavlja najčešću mukogingivalnu anomaliju i nastaje usled morfoloških nepravilnosti u mukogingivalnom kompleksu. Gingivalna recesija ima uticaj na nastanak i prognozu parodontopatije i ukoliko se ne leči može da dovede do gubitka zuba. Odlikuje se gubitkom mekih i čvrstih tkiva u mukogingivalnom regionu, što dovodi do povećane osetljivosti ekspaniranog korena zuba na nadražaje i nepovoljnog estetskog izgleda. Terapija gingivalne recesije je hirurška. Realan cilj terapije gingivalne recesije jeste kompletno, predvidivo i u značajnom periodu vremena stabilno prekrivanje površine korena zuba. U hirurškom lečenju gingivalne recesije gornjih zuba najčešće korišćena terapijska metoda je transplantat vezivnog tkiva u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem i vertikalnim relaksacijama, koji predstavlja "zlatni standard". Nove terapijske procedure u lečenju gingivalnih recesija podrazumevaju koncept tkivnog inženjeringa, odnosno aktivne regeneracije. Korišćenje specifičnih faktora rasta zauzima centralno mesto u konceptu aktivne regeneracije. Faktori rasta su polipeptidni bioaktivni molekuli sa usko specijalizovanim ulogama u iniciranju i kontroli procesa tkivne reparacije i regeneracije. Jedna od najuspešnijih metoda koja se koristi u tretmanu gingivalnih recesija podrazumeva upotrebu membrane od fibrina bogatim trombocitima i leukocitima (L-PRF) i predstavlja autologni preparat dobijen centrifugiranjem krvi pacijenta. L-PRF je sazdan od matriksa autolognog fibrina u koji su ugrađene velike količine trombocita, skoro svih faktora rasta i leukocita. Zahvaljujući kompleksnoj arhitekturi i mehaničkim svojstvima mrežice razlikuje se od svih ostalih koncentrata trombocita, ima ulogu da stimuliše periferno zarastanje kosti preko periosta, da ubrza regeneraciju i remodelovanje mekih tkiva

i da se ponaša kao kompetitivna barijera koja će da onemogući kolonizaciju nepoželjnih tkiva na mestu hiruške rane.

U studiju je uključeno 20 pacijenata Klinike za parodontologiju i oralnu medicinu Vojnomedicinske akademije u Beogradu. Kriterijumi za uključivanje u studiju bili su bilateralno prisustvo izolovanih gingivalnih recesija klase I ili II po Miller-u na kaninusima ili premolarima gornje vilice. Primenjen je metod podeljenih usta ("split mouth"). Metodom slučajnog izbora, kod svakog ispitanika, nezavisno od grupe u kojoj pripada je određeno koja će strana (leva ili desna) predstavljati eksperimentalnu, a koja kontrolnu grupu. Eksperimentalnu grupu (PRF grupu) je činilo 20 pacijenata, odnosno 20 gingivalnih recesija (jedne polovine vilice) na kojima je urađena hirurška terapija koronarno pomerenog režnja u kombinaciji sa PRF membranom. Kontrolnu grupu (TVT grupu) je činilo istih 20 pacijenata tj. 20 gingivalnih recesija (suprotne polovine vilice) kod kojih je primenjena terapija koronarno pomerenog režnja sa transplantatom vezivnog tkiva sa periostom (TVT). Klinički parametri, kao što su vertikalna dimenzija gingivalne recesije (VDR), širina keratinizovane gingive (KG), nivo pripojnog epitela (NPE), gingivalni indeks (GI) i plak indeks (PI) evaluirani su pre terapije, šest meseci i dvanaest meseci nakon hirurške intervencije. Objektiviziranje postoperativnog procesa zarastanja vršeno je jednu, dve i tri nedelje nakon hirurške intervencije, pomoću indeksa tkivnog zarastanja (ITZ).

Uočeno je statistički značajno poboljšanje svih ispitivanih parametara (VDR, ŠKG, NPE) i u eksperimentalnoj i u kliničkoj grupi, šest i dvanaest meseci nakon hirurške intervencije, u odnosu na preoperativni nivo. Međugrupnim poređenjem dobijena je statistički značajna razlika u širini keratinizovane gingive u korist eksperimentalne grupe, dok ostali parametri nisu

	<p>pokazali statističku značajnost. Indeks tkivnog zarastanja, gingivalni indeks i plak indeks pokazuju povoljne, statistički značajne rezultate u obe grupe u odnosu na stanje pre intervencije.</p> <p>U terapiji gingivalnih recesija gornjih zuba obe procedure su dovele do statistički značajnog poboljšanja svih kliničkih parametara koji karakterišu gingivalnu recesiju, ali primenom PRF-a postiže se statistički značajno proširenje zone keratinizovane gingive i stabilan rezultat u periodu od jedne godine. Korišćenjem fibrina bogatim trombocitima i leukocitima izbegava se sekundarno operativno polje, smanjuje mogućnost komplikacija na donor mestu i obezbeđuje komforniji oporavak pacijenta.</p> <p>Navedene činjenice favorizuju primenu koronarno pomerenog režnja sa fibrinom obogaćenim trombocitima u terapiji gingivalnih recesija gornjih zuba, u odnosu na primenu koronarno pomerenog režnja u kombinaciji sa transplantatom vezivnog tkiva.</p>
<p>Datum odbrane:</p> <p>(Popunjava naknadno odgovarajuća služba)</p>	
<p>Članovi komisije:</p> <p>(titula, ime, prezime, zvanje, institucija)</p>	<p>Predsednik:</p> <p>Član:</p> <p>Član:</p>

Napomena:	Autor doktorske disertacije potpisao je sledeće Izjave: 1. Izjava o autorstvu, 2. Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada i 3. Izjava o korišćenju. Ove Izjave se čuvaju na fakultetu u štampanom i elektronskom obliku.
-----------	---

UNIVERSITY BUSINESS ACADEMY IN NOVI SAD

FACULTY: SCHOOL OF DENTISTRY PANČEVO

KEY WORD DOCUMENTATION

Document type:	Doctoral dissertation
Author:	dr Tamara Ristić
Menthor (title, first name, last name, position, institution)	dr sci. Bojan Jovičić, docent (Associate Professor), School of Dentistry Pančevo, University business Academy in Novi Sad
Title:	Evaluation of platelet- rich fibrin efficiency in gingival recession treatment
Language of text (script):	Serbian language (latin script)
Physical description:	Number of: Pages_____140_____ Chapters_____9_____ References__215_____ Tables_____23_____ Illustrations__27_____ Graphs_____4_____ Appendices__4__(A,B,C,D)_____
Scientific field:	Dentistry
Subject, Key words:	Periodontology Key words: Gingival recession, Connective tissue graft, Platelet-rich fibrin, Coronally advanced flap
Abstract (or resume) in the language of the text:	Mucogingival deformities result from anatomical and morphological irregularities in the mucogingival region. Gingival recession is the most common mucogingival deformity, and it represents a displacement of gingival margin apically from cement enamel junction. It presents itself with both a loss of soft and of hard tissues. The treatment of gingival recession is surgical. An

ideal goal of gingival recession treatment is complete restoration of lost periodontal tissues. Subepithelial connective tissue graft in combination with coronally advanced flap is most common therapeutic approach in treatment of maxillary recession. Modern approach to gingival recession treatment presupposes the concept of active regeneration and tissue engineering. Recent researches are being focused on the development of therapeutic alternatives which are easy to prepare, non-toxic or biocompatible to living tissues and economically cheap that might result in the local release of growth factors accelerating hard and soft tissue healing. Platelets play a crucial role in periodontal regeneration as they are reservoirs of growth factors and cytokines which are the key factors for regeneration of the bone and maturation of the soft tissue. Platelet-rich fibrin (L-PRF) with leucocytes is autologous platelet concentrate prepared from patient's own blood. PRF is a natural fibrin-based biomaterial prepared from an anticoagulant-free blood harvest without any artificial biochemical modification that allows obtaining fibrin membranes enriched with platelets and growth factors. Evidence from the literature suggests the potential role of PRF in periodontal regeneration and tissue engineering. The slow polymerization during centrifugation and fibrin-based structure makes PRF a good healing biomaterial which stimulates periodontal regeneration.

Twenty patients from Department of Periodontology, Military Medical Academy in Belgrade, have been enrolled in the study. Inclusion criterion was the bilateral presence of (Miller class I or II) localized, maxillary canine or premolar gingival recession defects. Split mouth design was used in the study. Twenty, randomly chosen, gingival recessions received therapy using coronally advanced flap with platelet rich fibrin (CAF + PRF) (experimental group) and the other 20 gingival recessions, on the other side of the mouth, received CAF with subepithelial connective tissue graft (SCTG) (control group). Clinical parameters such as gingival recession coverage (RC), keratinized tissue width (KG), clinical attachment level (CAL), gingival index (GI) and plaque index (PI) were recorded at

	<p>baseline, and six and twelve months postoperatively. Postoperative healing was evaluated through the healing index (HI), recorded at one, two and three weeks postop.</p> <p>In both groups, statistically significant improvement in all the parameters assessed was observed. Between groups, statistically significant improvement of keratinized tissue width was observed in experimental (PRF) group, while other parameters showed no statistically significant differences. Healing index, gingival index and plaque index showed statistically significant improvement six and twelve months after treatment compared to the baseline.</p> <p>Although both surgical approaches in maxillary tooth recession treatment result with statistically significant improvement of clinical parameters, utilization of coronally advanced flap with platelet-rich fibrin shows greater gain in obtained keratinized tissue width than coronally advanced flap with connective tissue graft. Use of PRF membrane in gingival recession treatment provided good clinical results, followed by enhanced wound healing and decreased patient discomfort due to avoidance of secondary surgical site.</p>
<p>Defended: (The faculty service fills later.)</p>	
<p>Thesis Defend Board: (title, first name, last name, position, institution)</p>	<p>President:</p> <p>Member:</p> <p>Member:</p>

Note:

The author of doctoral dissertation has signed the following Statements:

1. Statement on the authority,
2. Statement that the printed and e-version of doctoral dissertation are identical and
3. Statement on copyright licenses.

The paper and e-versions of Statements are held at the faculty.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	4
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	53
4. MATERIJAL I METOD.....	55
5. REZULTATI.....	65
6. DISKUSIJA.....	81
7. ZAKLJUČCI.....	101
8. LITERATURA.....	104
9. PRILOZI.....	125

I U V O D

Gingivalne recesije su definisane kao migracija ivice gingive apikalno u odnosu na gleđno cementnu granicu (**American Academy of Periodontology, 2001.**) Suštinski gingivalna recesija predstavlja degeneraciju mekih i čvrstih tkiva mukogingivalnog kompleksa koja nastaje pod uticajem etioloških faktora. One predstavljaju zdravstveni, funkcionalni i estetski problem a zbog svoje multikauzalnosti su među najučestalijim oboljenjima mukogingivalnog kompleksa. Osnovni i idealni cilj terapije gingivalnih recesija je restauracija anatomije mukogingivalnog kompleksa. Taj cilj predstavlja regeneraciju pojedinih izgubljenih parodontalnih tkiva u regionu gingivalne recesije. Pošto je idealni ishod terapije teško dostižan, često terapija gingivalne recesije ima za cilj prekrivanje eksponiranog korena zuba uz zadovoljavanje estetskih parametara i stabilan rezultat u dugom vremenskom periodu. Realan cilj terapije je prekrivanje eksponiranog korena zuba u potpunosti, augmentacija zone keratinizovane gingive i promenu biotipa gingive, kako bi ostvarili dugotrajnu stabilnost rezultata.

Moderna parodontologija podrazumeva razvoj hirurških metoda u terapiji gingivalnih recesija, sa željom da se postigne „restitutio ad integrum“.

Razvoj savremenih biomaterijala doprineo je većim očekivanjima u postignutim terapijskim rezultatima. Vreme u kome živimo i ekspanzija estetske hirurgije i estetske stomatologije postavili su pred terapeute mnogo veće zahteve, kao i veća očekivanja pacijenata, a među njima i pacijenata sa gingivalnim recesijama koji sve češće nisu zadovoljni postignutim estetskim rezultatima dosadašnjih terapijskih procedura.

Imajući u vidu da se u terapiji gingivalnih recesija i dalje primenjuju procedure koje prvenstveno imaju za cilj uspostavljanje zdravlja, poboljšanje funkcije i preventivno delovanje, dok se estetski ishodi hirurških procedura stavljaju na drugo mesto, pred terapeute se postavio novi izazov. Savremene hirurške tehnike u terapiji gingivalnih recesija upravo imaju za cilj da pored ispunjavanja funkcionalnih zahteva i kauzalnog delovanja, ispune i visoke estetske kriterijume pacijenata.

Za restituciju parodonticijuma potrebna je interakcija između epitelnih ćelija, gingivalnih fibroblasta, ćelija periodontalnog ligamenta i osteoblasta. Prekid vaskularizacije tokom zarastanja rane dovodi do formiranja fibrinskog ugruška, agregacije trombocita i otpuštanja faktora rasta u okolno tkivo zahvaljujući

signalima čiji su medijatori citokini (**Giannobile 1996.**) Trombociti takođe sekretuju fibrin, fibronektin i vitronektin koji se ponašaju kao matriks za vezivno tkivo i kao adhezivni molekuli za efikasniju ćelijsku migraciju (**Dohan 2006.**) Ovo je navelo istraživače na mogućnost korišćenja trombocita, kao terapijskog sredstva, u svrhu poboljšanja regeneracije i zarastanja tkiva. Fibrin obogaćen trombocitima (PRF), koji je prvi opisao **Choukroun 2000.** godine, predstavlja drugu generaciju trombocitnih koncentrata koji se dobijaju centrifugiranjem krvi pacijenta bez upotrebe antikoagulanasa i drugih biohemijskih modifikacija. Fibrin obogaćen trombocitima je ugrušak koga čini jak, prirodni fibrinski matriks, u kome su koncentrisani gotovo svi faktori rasta (**Dohan 2006.**) Zbog svoje kompleksne arhitekture i sastava predstavlja biomaterijal sa jedinstvenim mehaničkim svojstvima koji ga razlikuju od drugih trombocitnih koncentrata, kao što je PRP (plazma obogaćena trombocitima). Mnoge studije ukazuju da je zarastanje uz pomoć PRF-a mnogo brže i kvalitetnije (**Sharma 2011, Thorat 2011.**) PRF se smatra superiornim u odnosu na druge trombocitne koncentrate, pre svega u odnosu na PRP, zbog jednostavnosti i ekonomičnosti dobijanja (bez upotrebe bovinog trombina i drugih hemijskih modifikatora), takođe, i u odnosu na druge hirurške tehnike (u kojima se koriste autotransplantati) s obzirom da se izbegava sekundarno operativno polje (donor mesto). Zbog svih ovih prednosti PRF je regenerativni material koji je zauzeo jedno od vodećih mesta u parodontologiji i oralnoj hirurgiji, a naročito u terapiji gingivalnih recesija.

II PREGLED LITERATURE

2.1. Mukogingivalne anomalije

Mukogingivalne anomalije su posledica anatomo-morfoloških nepravilnosti u mukogingivalnom kompleksu parodontalnih tkiva. Ovaj kompleks čine slobodna i pripojna keratinizovana gingiva, alveolarna mukoza i mukogingivalna linija, kao granična linija. Pored nepravilnosti na nivou mekih tkiva, pojava mukogingivalnih anomalija objašnjava se i neodgovarajućim anatomo-morfološkim karakteristikama mineralizovanih tkiva (alveolarna kost i cement korena zuba) (**Dimitrijević, 2011.**)

Mukogingivane anomalije ispoljavaju se kao odsustvo ili uskost pripojne gingive, koronarna insercija frenuluma i plika, plitak vestibulum i lokalizovana ili generalizovana recesija gingive.

Značaj mukogingivalnih anomalija leži u činjenici da direktno ili indirektno utiču na nastanak, prognozu, progresiju i terapiju oboljenja potpornog aparata zuba. Na fiziološko stanje parodontcijuma značajan uticaj ima odnos između keratinizovane gingive i okolnih tkiva (alveolarne mukoze).

Sve mukogingivalne anomalije su u osnovi povezane redukovanom širinom pripojne gingive (nefunkcionalna pripojna gingiva). Međutim, ako su anatomske i funkcionalne odnose među ovim tkivima harmonični onda će i parodontcijum moći da se uspešno odupre delovanju nepovoljnih uticaja. Savremeni stav je da je svaka širina pripojne gingive funkcionalna (adekvatna) ukoliko je u stanju da se odupre vuči u blizini inseriranih mišića (**Stetler 1987.**)

Sa kliničkog aspekta, plastična mukogingivalna hirurgija (MGH) ima za cilj korekciju poremećenih odnosa u mukogingivalnom kompleksu parodontalnih tkiva. Pojam mukogingivalne hirurgije uveo je Friedman 1957. godine. Na predlog Milera (Miller) od 1993. godine umesto termina MGH, primenjuje izraz plastična parodontalna hirurgija (PPH).

2.1.1. Klasifikacija mukogingivalnih anomalija

Mukogingivalne anomalije se klasifikuju kao:

-urođene

-razvojne

-stečene

Urođene mukogingivalne anomalije uslovljene su genotipskim informacijama zapisanim na DNK. Neodgovarajući odnosi u okviru nasleđenih anato-morfoloških karakteristika mekih tkiva i koštanog tkiva alveolarnog nastavka, kao i položaj i veličina zuba su faktori koji utiču na formiranje urođenih mukogingivalnih anomalija. Ovoj grupi pripadaju mukogingivalne anomalije prouzrokovane nedostatkom ili uskoću fiksirane gingive i hereditarnim malformacijama vestibularne koštane lamele (dehiscencije i fenestracije). Urođene mukogingivalne anomalije su često prisutne kod osoba sa ortodontskim nepravilnostima, u smislu neodgovarajućeg položaja zuba u zubnom nizu i osoba koje nasleđuju velike zube od jednog roditelja a gracilne alveolarne nastavke od drugog roditelja.

Razvojne mukogingivalne anomalije su vezane za period smene mlečnih zuba sa stalnim i uslovljene su vestibularnijim položajem zametaka stalnih zuba. Takvi odnosi se zadržavaju i za vreme nicanja stalnih zuba što redukuje širinu keratinizovane gingive. Smatra se da oko 7% dece izlazi iz ovog perioda sa jasno izraženim mukogingivalnim anomalijama koja ugrožavaju zdravlje parodontijuma.

Stečene mukogingivalne anomalije nastaju, prvenstveno, kao posledica razaranja parodontalnih tkiva u toku parodontopatije a u manjem procentu kao posledica mehaničke traume neadekvatnom tehnikom pranja zuba ili primene čvrste četkice za zube (**Kassab 2003**). Takođe, neuravnoteženi okluzoartikulacioni odnosi mogu biti značajan etiološki faktor u nastanku stečenih mukogingivalnih anomalija.

Pojava svih mukogingivalnih anomalija je povezana sa „nefunkcionalnom pripojnom gingivom“, odnosno neadekvatnom, redukovanom širinom pripojne gingive. Dugo se pojam adekvatne širine pripojne gingive dovodio u vezu sa očuvanjem zdravlja parodontijuma kao dominantan faktor. Uska zona pripojne gingive dovođena je u

vezu sa inflamacijom gingive, pojačanom i olakšanom akumulacijom dentalnog plaka i ubrzanim gubitkom vezivno tkivnog pripoja zbog redukovane količine tkiva pripojne gingive. Pojedini autori su smatrali da je širina pripojne gingive manja od 1 mm nedovoljna (**Schluger 1977, Miyasato 1977**), dok su drugi smatrali da apiko-koronarna visina keratinizirane gingive mora iznositi 3 mm, da bi se očuvalo zdravlje parodontijuma (**Corn i sar. 1980**). Treća kategorija kliničara je zastupala biološki pristup koji je podrazumevao da je adekvatna širina pripojne gingive svaka koja sprečava prenošenje pokreta na ivicu gingive (**Stetler i sar. 1987**).

Prva ozbiljnija studija koja se bavila proučavanjem širine pripojne gingive i uticaja na zdravlje parodontijuma bila je studija **Langa i Loa (Löa) 1972.** godine. Rezultati studije pokazali su da i pored odsustva dentalnog plaka na površinama zuba ali gde je širina pripojne gingive iznosila manje od 2 mm, postoje znaci inflamacije gingive. Na osnovu tog zapažanja predloženo je da je 2 mm pripojne gingive dovoljno za održavanje zdravlja parodontijuma. Nasuprot tome **Miyasato i sar. (1977.)** i **Grevers (1977.)** pokazali su da ne postoji razlika u razvoju kliničkih znakova inflamacije u odnosu na širinu pripojne gingive manje od 1 mm ili veće od 2 mm. Pitanje da li je pripojna gingiva ključni faktor u očuvanju zdravlja parodontijuma ispitivali su **Wennström i Lindhe (1983.)** u svojoj studiji. U okviru istraživanja ispitivani su dentogingivalni kompleks sa uskom zonom pripojne gingive a sa druge strane kompleks sa čvrstom i širokom pripojnom gingivom. Uz svakodnevnu kontrolu dentalnog plaka adekvatnom oralnom higijenom, nije bilo kliničkih znakova inflamacije gingive što je histološki potkrepljeno bez obzira na širinu pripojne gingive. Međutim, kada je omogućena akumulacija dentalnog plaka klinički znaci inflamacije su bili jasnije izraženi u regionu gde je prisutna uska pripojna gingiva u odnosu na široku zonu keratinizirane gingive. Histološki gledano dentogingivalni kompleks koga čini uska pripojna gingiva je znatno tanji i sa tanjim keratinskim slojem. Ove morfološke razlike verovatno čine da je vaskularni sistem lako vidljiv sa bukalne strane, što može da utiče na utisak da je u zonama sa uskom fiksiranom gingivom klinički vidljivija inflamacija u odnosu na područja sa širokom i čvrstom fiksiranom gingivom.

Treba imati u vidu da veoma često, klinički znaci inflamacije nisu istovetni kao histološki nalaz u smislu ćelijskog infiltrata koji ukazuje na inflamatornu reakciju, što upućuje na eventualne greške u interpretaciji nalaza u zonama sa različitom širinom

pripojne gingive. To je uzeto u obzir kada je reč o istraživanju **Langa i Löe (1972.)** gde se ukazuje na značaj širine od 2 mm na zdravlje parodontijuma. Savremene referentne studije opovrgle su značaj dominantne uloge širine pripojne gingive u očuvanju zdravlja parodontijuma (**Lindhe i Nyman, 1980; Wenstrom 1996**). **De Tray i Bernimoulin (1980)**, zapažaju da se „dovoljna“ količina pripojne gingive ne može odrediti isključivo merenjem njene širine. Kod osoba sa zdravim parodontijumom, sa godinama se povećava širina pripojne gingive, osim prilikom prelaska mlečne u stalnu dentaciju kada se dešava suprotan proces. Povećanje širine pripojne gingive vremenom, rezultat je daljeg povećanja rastojanja između cementno gleđne granice i mukogingivalne linije. Na osnovu studije grupe autora (**Ainamo i sar. 1992.**), došlo se do zaključka da se širina pripojne gingive koriguje tokom rasta zuba i razvoja lica i vilica, bez ikakvih preduzetih terapijskih mera.

Ono što je neosporno o ulozi pripojne gingive jeste da gubitak pripojne gingive dovodi slobodnu gingivu u direktan kontakt sa pokretnom alveolarnom mukozom. To uslovljava vuču slobodne gingive od strane alveolarne mukoze pri velikom broju orofacijalnih funkcija kao što su govor, smeh, mastikacija. Kontinuirana vuča na slobodnu gingivu se prenosi na region pripojnog epitela što dovodi do oštećenja i odvajanja pripojnog epitela od zuba. Novonastali nepovoljni odnosi komplikuju se štetnim dejstvom dentalnog plaka, koji izaziva inflamaciju slobodne gingive. Time je odvajanje i oštećenje pripojnog epitela od cementa korena zuba izraženije (**Wennstrom 1983.**) Nastaje parodontalni džep, olakšava se akumulacija dentalnog plaka koja svojim visokim patogenim potencijalom pokreće i razvija mehanizme zapaljenja i posledičnu destrukciju tkiva. Time nastaje etiopatogenetski „circulus vitiosus“ sa lošom prognozom bolesti. Ovaj proces je uvod u nastanak recesije gingive, kao i širenje inflamacije u dublja parodontalna tkiva što rezultira intenzivnijom destrukcijom alveolarne kosti i posledičnim gubitkom zuba. S obzirom da je inflamacija presudan faktor u inicijalnom mehanizmu razvoja recesija očigledno da je kontrola dentalnog plaka vrlo bitna u prevenciji i zaustavljanju procesa recesije gingive.

Značaj mukogingivalnih anomalija se reflektuje i kroz samu terapiju parodontopatije. Kompletna i dugotrajna terapija parodontopatije i regeneracija izgubljenih tkiva se ne može postići bez prethodnog saniranja štetnog dejstva mukogingivalnih anomalija.

Pravovremeno saniranje nepovoljnih mukogingivalnih odnosa će stabilizovati pozitivne efekte terapije parodontopatije u dugom vremenskom period.

Epidemiološki gledano, najčešće anomalije koje se javljaju su:

- nedostatak ili uska fiksirana gingiva
- visoko inserirani frenulum i plike
- plitak vestibulum usta
- gingivalne recesije.

2.1.2. Učestalost gingivalnih recesija

Epidemiološki podatak da oboljenja potpornog aparata zuba koje karakteriše oštećenje pripojnog epitela 10 % čine recesije gingive dobio je **Albandar** u svojoj epidemiološkoj studiji iz **1999**.godine. Ova studija je rađena u SAD u periodu od 1988. do 1994.godine obuhvatajući 30 000 pacijenata iz različitih delova države i iz svih rasnih, socijalnih i kulturoloških sredina. Dobijen je rezultat koji ukazuje da 22,5 % pacijenata ima jednu ili više gingivalnih recesija dubine jednake ili veće od 3mm.

U ispitivanjima **Murray-a i sar.** 2000. godine, a koja su se bavila prevalencijom gingivalnih recesija, kod 70% ispitanika ustanovljena je jedna ili više recesija sa vertikalnom dimenzijom od 1 mm, a kod 15% ispitanika vrednost recesije iznosila je preko 4 mm. Ono što je zabrinjavajuće je da je starosna dob ispitanika bila između 16 i 26 godina.

Zaključak obe studije je da procentualna zastupljenost gingivalnih recesija raste sa godinama i dostiže svoj vrhunac između 30. i 41. godine života (**Kassab i sar. 2003**).

2.2. Etiopatogeneza gingivalne recesije

Kompleksnost etiologije gingivalnih recesija ogleda se u njihovoj multikauzalnosti. Faktori koji mogu doprineti u nastanku ovih stanja mogu biti urođeni i stečeni.

2.2.1. Urođeni faktori za nastanak gingivalnih recesija:

Sa stanovišta naslednih faktora koji utiču na nastanak gingivalnih recesija one mogu biti posledica:

- nedostatka pripojne gingive
- koronarno inseriranih frenuluma i plika
- urođenih anomalije alveolarne kosti (dehiscencije i fenestracije)
- ortodontskih anomalija (malokluzije i malpozicije zuba)
- neodgovarajućeg biotipa gingive (tanka, gracilna)
- prenaplašenih alveolarnih juga

U slučaju nedostatka pripojne gingive, prisutna je kontinuirana vuča alveolarne mukoze i u blizini inseriranih mišića koja se prenosi preko slobodne gingive na region pripojnog epitela uslovljavajući njegovo oštećenje. Oštećenjem pripojnog epitela olakšan je prodor štetnih noksi dentalnog plaka i širenja inflamacije u dublja tkiva parodontijuma. To ima za posledicu intenzivnu destrukciju vestibularne koštane lamele. Ako se uzme u obzir da je prosečna debljina vestibularne koštane lamele u interkaninom segmentu oko 0,20 mm jasno je da je njen gubitak jedan od bitnih faktora u posledičnom gubitku zuba.

Identičan mehanizam u patogenezi gingivalnih recesija imaju koronarno inserirani frenulumi i plike.

Urođene anomalije vestibularne koštane lamele, u vidu dehiscencija i fenestracija, su jedan od favorizujućih faktora u nastanku recesija gingive. Osealne anomalije ovog tipa najčešće su u regionu očnjaka i premolara. Nedostatak dela koštane lamele u

predelu dehiscencije uslovljava vezu gingive svojim značajnim delom preko cementa a ne preko kosti. Činjenica da je veza gingive za cement korena zuba neuporedivo slabija od veze gingive preko periosta za vestibularnu koštanu lamelu ukazuje na povećanu verovatnoću nastanka gingivalnih recesija kod pacijenata sa ovom vrstom anomalije, čak i bez udruženog dejstva dentalnog plaka. Neadekvatna tehnika pranja zuba ili impakcija hrane mogu, u nekim slučajevima, ledirati epitelni pripoj tako da dalje “povlačenje desni” ide ubrzanim, nepovoljnim tokom.

Malpozicija zuba, pogotovo vestibularnije pozicije zuba su skoro obavezno praćene dehiscencijama i fenestracijama ili izuzetno tankom vestibularnom koštanom lamelom. Ovakva kost pod uticajem inflamacije niskog intenziteta biva brzo resorbovana te se opet javlja isti etiopatogenetski put kao i u predhodnom slučaju. Uz inflamaciju, destrukcija tkiva znatno brže napreduje i uz često neadekvatnu tehniku pranja nastaje povlačenje desni ubrzanim tokom.

Fenotipski neodgovarajući biotip gingive koji se karakteriše tankom i gracilnom gingivom uz naglašene alveolarne juge takodje olakšava nastanak recesije. Koronarni pripoj frenuluma i plika deluje na sličan način jer favorizuje: kontinuiranu vuču mukoze, inflamaciju gingive, stvaranje parodontalnih džepova, destrukciju gingive i pojavu dijasteme.

2.2.2. Stećeni faktori za nastanak gingivalnih recesija

Gingivalne recesije u najvećem procentu nastaju kao posledica razaranja parodontalnih tkiva u toku parodontopatije. U znatno manjoj meri su zastupljene mehaničke povrede kao posledica loše tehnike pranja zuba (**Kassab, 2003.**) Pojavu recesije kao posledicu izbijanja virusnih infekcija iz grupe Herpes virusa opisuje **Pini Prato (2002.)** Traumatska okluzija zauzima posebno mesto u etiologiji stećenih gingivalnih recesija. Davne **1925.** god. **Stilman** ukazuje na dominantnu ulogu traumatskog kontakta u nastanku svih parodontalnih oboljenja, a posebno gingivalnih recesija (poznati kao Stilmanovi rascepi gingive). Kasnije studije opovrgle su dominantan značaj traumatske okluzije na nastanak gingivalnih recesija ali je potvrđen značajan uticaj na razvoj ove mukogingivalne anomalije (**Buhl, 1991**).

Kleber i Schenk 1989. nalaze da samo 18% zuba sa gingivalnom recesijom od ukupno pregledanih 4022 pacijenta pokazuje znake okluzalnog traumatizma.

Ono što je važno za ovu grupu mukogingivalnih anomalija je neraskidiva povezanost urođenih i stečenih faktora koji, udruženi, učestvuju u nastanku i progresiji oboljenja.

2.2.3. Značaj gingivalnih recesija

Gingivalne recesije predstavljaju kompleksan funkcionalan ali i estetski problem. One su praćene gubitkom kako mekog, tako i koštanog tkiva, odnosno alveolarne koštane lamele. To je progresivan patološki proces gde spontano, bez terapijskog tretmana, ne može doći do izlečenja pa ni do remisije. Oboljenje je progresivnog toka i za krajnji rezultat ima gubitak zuba. U slučajevima gde je već formirana gingivalna recesija, jedan od problema je olakšana akumulacija dentalnog plaka i njegovo otežano uklanjanje, što potencira dalju inflamaciju. Zbog preosetljivosti korena zuba na mehaničke, hemijske i termičke nadražaje javljaju se neprijatne senzacije. Ogolićen koren je prijemčivo tlo za nastanak karijesa, što dodatno komplikuje uspešnost lečenja. Pored svih problema koji nastaju kao posledica povlačenja desni, estetska komponenta nije zanemarljiva budući da se ove anomalije najčešće javljaju u predelu estetske zone. Pacijenti se najčešće iz tog razloga javljaju parodontologu. Obzirom da se javlja kod mladih osoba, rešavanje problema recesija predstavlja veliki izazov.

Rekonstruktivna mukogingivalna hirurgija u rešavanju problema gingivalnih recesija ima za cilj:

- zaustavljanje daljeg razaranja parodontalnih struktura
- omogućavanje povoljnih uslova za adekvatnu kontrolu plaka
- eliminaciju neprijatnih senzacija
- sprečavanje pojave karijesa korena zuba i cervikalne abrazije
- rešavanje negativne estetske komponente

2.3. Klasifikacija gingivalnih recesija

Gingivalne recesije se dele na lokalizovane ili izolovane i generalizovane ili multiple. Izolovane recesije se najčešće uočavaju u regionu gornjih očnjaka i premolara, donjih premolara i palatinalnih površina gornjih prvih molara. Kod generalizovanih recesija obuhvaćene su sve grupe zuba. Stav da je nasleđe kao etiološki faktor vezana za nastanak multiplih recesija, a da su izolovane recesije po pravilu stečene, dugo je vladao u naučnim krugovima. Moderna saznanja su dovela da se ovaj stav u potpunosti odbaci. Naime, najveći procenat gingivalnih recesija nastaje pod uticajem naslednih faktora ali je progresija oboljenja ona koja je najviše vezana za stečene faktore.

Za potrebe epidemioloških studija, zbog preciznijeg sagledavanja problema gingivalnih recesija, komparaciju kliničkih parametara kao i za određivanje terapijske procedure, predložena je relevantna klasifikacija.

Sullivan i Atkins (1968) klasifikuju recesije kroz četiri morfološke kategorije:

- plitka i uska
- plitka i široka
- duboka i uska
- duboka i široka

Klinički primenjivija i preciznija je klasifikacija koju je ustanovio **Miller (1985)** i podrazumeva sledeće:

- klasa I – gingivalna recesija koja ne doseže mukogingivalnu liniju i ne postoji gubitak u mekim i čvrstim parodontalnim tkivima u interdentalnom regionu.
- klasa II– gingivalna recesija koja doseže mukogingivalnu liniju i ne postoji gubitak mekih i čvrstih parodontalnih tkiva u interdentalnom regionu.
- klasa III– gingivalna recesija koja doseže mukogingivalnu liniju i postoji gubitak mekih i čvrstih parodontalnih tkiva u interdentalnom regionu
- klasa IV– gingivalna recesija koja doseže mukogingivalnu liniju i postoji značajan gubitak mekih i čvrstih parodontalnih tkiva u interdentalnom regionu.

Klasifikacija po Milleru je sveobuhvatnija obzirom da pored kliničkih karakteristika recesije obuhvata i stanje mekog i koštanog tkiva kao i prognozu ishoda nakon primenjene terapije. Među najsavremenijim je i klasifikacija koju je predložio **Pini Prato 2010.** godine, koja je bazirana na prisustvu ili odsustvu cementno-gleđne granice i prisustva abrazije zuba. A **2011.** godine **Carnio i sar.** uvode klasifikaciju koja uzima u obzir nivo interproksimalnog kliničkog pripoja.

2.4. Hirurške rekonstruktivno-regenerativne metode

Osnovni i idealni cilj terapije gingivalnih recesija je potpuna restauracija anatomije mukogingivalnog kompleksa (**Trombelli, 1999.**) dakle, kompletno prekrivanje ekspaniranog korena zuba zdravim gingivalnim tkivom i kosti, uz odgovarajuće estetske rezultate, u što dužem vremenskom periodu. Obzirom na decenije istraživanja iz oblasti mukogingivalne hirurgije i ogromno iskustvo stečeno u tom radu danas se teži kompletnoj regeneraciji svih izgubljenih parodontalnih kako mekih tako i čvrstih tkiva u regionu recesije. Pošto je ovaj cilj teško dostižan, često terapija gingivalne recesije ima za cilj kompletno prekrivanje ogoljenog korena zuba uz zadovoljavanje estetskih parametara i stabilan rezultat u dugom vremenskom periodu. Realan cilj terapije je prekrivanje ogoljenog korena zuba u potpunosti, augmentacija zone keratinizovane gingive i povećanje tkivne debljine, kako bi ostvarili dugotrajnu stabilnost rezultata. U tu svrhu primenjene su razne hirurške metode, koje se stalno modifikuju i usavršavaju. Osnovni problem u zbrinjavanju gingivalne recesije je stvaranje novog vitalnog tkiva preko avaskularne površine korena zuba, naročito u prvih nekoliko dana od hirurške procedure.

Prvi ozbiljniji pokušaj u rešavanju problema gingivalnih recesija je tehnika lateralno pomerenog režnja kod koga je problem ishrane režnja rešen zahvaljujući sopstvenim, nelediranim krvnim sudovima (peteljlkasti režanj). Uspeh ove tehnike je bio ograničen, pre svega zbog čestih recidiva i uske zone indikacija. Sličan problem javio se i kod koronarno pomerenog režnja.

Uvođenjem slobodnih transplantata, resortivnih i neresorptivnih membrana i faktora rasta otvoreno je novo poglavlje u hiruškoj terapiji gingivalnih recesija.

2.4.1. Tehnike transpozicionih reznjeva

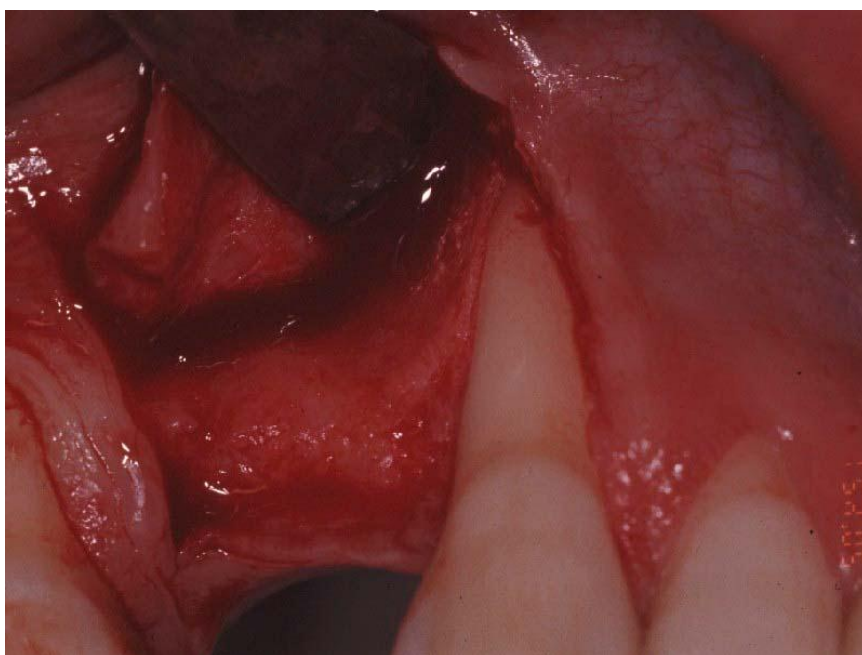
U ove tehnike spadaju:

- Lateralno pozicionirani režanj
- Režanj od dve papile
- Koronarno pozicionirani režanj

Lateralno pozicionirani režanj

Lateralno pozicionirani režanj je prva opisana hirurška tehnika transpozicionih reznjeva u parodontologiji kojom se rešavao problem gingivalne recesije. Opisali su je **Grupe i Warren 1956**. Ova procedura se zasniva na mobilizaciji peteljkastog reznja pune debljine i njegovom lateralnom pozicioniranju iz susednog regiona (lateralno od recesije gingive) u region gingivalne recesije. Režnjem koji je lateralno pomeren od svog ležišta se prekriva ogoljeni koren zuba, a režanj se fiksira u novom položaju.

Prosečno, prekrivenost ogoljenog korena zuba primenom ove hirurške tehnike iznosi oko 60%, što nije sjajan rezultat (**Caffesse 1984, Guinard 1978.**) Razlog tome bi mogao biti prenaplašeno pomeranje gingivalnog tkiva lateralno. Bitno je naglasiti da se indikacije za primenu ove tehnike prvenstveno odnose na izuzetno uske gingivalne recesije pri čemu lateralno od recesije mora da postoji regija kvalitetne pripojne gingive dovoljne širine. Osnovni problem kod ovako dizajniranog reznja je ekspozicija alveolarne kosti u regiji donor mesta. Zbog deperiostiranja kosti posle transpozicije reznja ugrožena je ishrana kosti donor mesta. Najveći problem je eventualna ekspozicija dehiscencija ili fenestracija na vestibularnog koštanoj lameli. Kako bi se prevazišao ovaj problem **Grupe 1966**. vrši modifikaciju tehnike u smislu kombinacije reznja polu debljine i pune debljine kako bi se izbegao nastanak neželjene recesije u donor regiji. (Slike 1 i 2)



Slika br. 1: Lateralno pomereni režanj u kombinaciji sa transplantatom vezivnog tkiva sa periostom- odignut režanj



Slika br. 2: Lateralno pomereni režanj u kombinaciji sa transplantatom vezivnog tkiva sa periostom- postavljeni šavovi

Režanj od dve papile

Cohen i Ross prvi opisuju ovu tehniku **1968**. Tehnika se zasniva na preparisanju dva režnja polu debljine, sa mezijalne i distalne strane gingivalne recesije. Nakon preparacije i imobilizacije, režnjevi se lateralno pomeraju jedan ka drugom i međusobno spajaju hirurškim šavovima, te tako formiraju trapezoidni režanj kojim se prekriva gingivalna recesija. Autori su opisali da tehnika daje rezultat od 85% prekrivenosti ogoljenog korena zuba. Sa druge strane, upotreba ove tehnike je moguća samo u slučajevima kada postoji dovoljna dimenzija keratinizovanog gingivalnog tkiva mezijalno i distalno od gingivalne recesije ali se njome prevazilazi problem plitkog vestibuluma. (Slike 3 i 4.)



Slika br. 3: Režanj od dve papile u kombinaciji sa TVT sa periostom- odignut režanj



Slika br. 4: Režanj od dve papile u kombinaciji sa TVT sa periostom -postavljeni šavovi

Koronarno pozicionirani režanj

U literaturi je opisano više različitih pristupa koronarnom pozicioniranju gingivalnog tkiva. Svaki se zasniva na elastičnosti oralne sluzokože i mogućnosti njenog koronarnog pomeranja i prekrivanja gingivalnih recesija (**Harvey 1965, Wennstrom 1996.**) Osnovne razlike u hirurškim pristupima zasnivaju se na debljini i dizajnu režnja.

Najčešće upotrebljavana tehnika zasniva se na preparaciji trapezoidnog režnja pune debljine u regionu gingivalne recesije. Dizajn flapa se zasniva na formiranju dve vertikalne relaksacione incizije, koje polaze od ivice gingive mezijalno i distalno od regiona gingivalne recesije, a završavaju se u alveolarnoj mukozii (međusobno su spojene sulkusnom incizijom) (Sl. br. 2). Nakon elevacije, vrši se mobilizacija trapezoidnog režnja oštrim presecanjem periosta, u najapikalnijem delu režnja, kako bi bilo moguće izvršiti njegovo koronarno pomeranje bez tenzije. Nakon mobilisanja, izvodi se fiksiranje režnja najčešće u nivou gleđno-cementne granice (ili čak koronarnije) hirurškim šavovima i na taj način se ostvaruje prekrivanje ogoljenog korena zuba. Ova tehnika je primenjiva u terapiji kako izolovanih tako i multiplih

recesija (**Bernimoulin 1975.**) Kontraindikacija za ovu vrstu reznja je postojanje velikih defekata gingive i tanak tkivni biotip okolnog tkiva.

Tarnow 1986 je opisao semilunarni koronarno repositionirani flap za prekrivanje ogoljenog korena zuba. Indikovana je kod širokih i plitkih izolovanih recesija gingive i to u maksili. Tehnika se sastoji od semilunarne incizije koja prati konturu ivice gingive i izvodi se 5-6 mm apikalno od ivice gingive. Druga incizija je sulkusna. Oštrom disekcijom, kroz sulkus, mobilise se rezanj poludebljine do primarne, semilunarne, incizije. Krucijalno je da se incizija završava minimum 3 mm od interdentalnih papila kako bi se omogućila odgovarajuća ishrana reznja. Rezanj se pozicionira koronarno i fiksira ukrštenim madrac šavom u regionu gledno-cementne granice. Ova tehnika je veoma jednostavna za izvođenje, ali nije primenjiva za terapiju multiplih recesija zbog kompromitovanja ishrane flapa.

Zuccelli i de Sanctis 2000. opisuju koronarno pozicionirani rezanj sa specifičnim dizajnom flapa u terapiji kako izolovanih tako i generalizovanih gingivalnih recesija. Prednost ove tehnike je to što zahvaljujući dizajnu omogućava optimalnu adaptaciju reznja u koronarnom položaju. Dizajn flapa se zasniva na formiranju tzv. hirurških papila koje se orijentišu u odnosu na centralnu, tj. najveću gingivalnu recesiju. Mezijalno od centralne recesije hirurške papile su orijentisane apiko-distalno, dok su distalno od centralne recesije hirurške papile orijentisane apiko-mezijalno. Sve hirurške papile su međusobno spojene sulkusnim incizijama. Nakon odizanja reznja pune debljine vrši se mobilisanje reznja presecanjem periosta. Dizajn flapa ne podrazumeva formiranje vertikalnih relaksacionih incizija, te se flap dodatno proširuje mezijalno i distalno kako bi bilo moguće izvršiti njegovo koronarno pozicioniranje bez tenzije. Nakon toga rezanj se pozicionira hirurškim šavovima.

Koronarno pozicionirani rezanj u terapiji gingivalnih recesija je jednostavan za izvođenje i pruža mogućnost istovremenog tretiranja generalizovanih recesija. Nedostaci ove terapijske procedure su prvenstveno činjenica da je za njeno izvođenje neophodno da postoji pozitivan gingivalni biotop i dovoljna zona keratinizovane gingive apikalno od gingivalne recesije. Nije zanemarljiv ni visok procenat recidiva gledajući dugoročne rezultate. Uočeno je da u terapiji gingivalne recesije ne zubima donje vilice, pogotovo u regionima gde pored gingivalne recesije postoji i plitak vestibulum, ova tehnika daje lošije rezultate u odnosu na druga terapijska rešenja.



Slika br.5: Koronarno pomereni režanj uz primenu GTR principa - odignut režanj



Slika br. 6: Koronarno pomereni režanj uz primenu GTR principa - postavljena membrana



Slika br.7: Koronarno pomereni režanj uz primenu GTR principa – postavljeni šavovi

Tehnike primene autotransplantata mekog tkiva

Dominantan problem u terapiji recesija gingive je premošćavanje avaskularne površine eksponiranog korena zuba vitalnim gingivalnim tkivom kao i postizanje reparacije i/ili regeneracije parodontijuma u tom segmentu. Primena autotransplantata mekog tkiva uvedena je u upotrebu, jer se pored prekrivanja ogoljenog korena zuba postiže i augmentacija keratinizovane gingive. U ovu grupu spadaju slobodni mukozni autotransplantat i transplantat vezivnog tkiva.

Značajan napredak je postignut primenom slobodnih autotransplantata vezivnog tkiva sa ili bez periosta. Međutim, i dalje je postojao problem vaskularizacije odnosno ishrane transplantata koji je postavljen preko površine korena. Da bi se postigli dobri terapijski rezultati sam region prijema mora da zadovolji sledeće kriterijume:

- da ima sposobnost brze revaskularizacije slobodnog transplantata
- da svojim krvnim sudovima omoguće stvaranje nove mreže sa krvnim sudovima iz transplantata

– sposobnost značajne difuzije hranljivih materija iz mesta prijema u tkivo slobodnog transplantata izvan sistema krvnih sudova (**Bruno 2000.**)

Kada je reč o preživljavanju transplantata potrebno je uzeti u obzir fenomen premošćavanja (bridging) koji je u linearnoj korelaciji sa širinom recesije i revaskularnim kapacitetom transplantata i tkiva na mestu prijema.

Slobodni mukozni auto-transplantat (SMAT) u terapiji recesije gingive

Tu hiruršku proceduru u praksu uvode **Nabers 1966.** a zatim i **Sullivan i Atkins 1968.** godine. Ovim postupkom je moguće u istom aktu rešiti problem uske pripojne i keratinizovane gingive, produbiti vestibulum usta i eliminisati izolovanu recesiju gingive (Sl. br. 8). Metoda je indikovana u terapiji plitkih recesija u donjoj vilici i predelu gde postoji odsustvo ili insuficijentna pripojna gingiva (Miller, Klase II). Zbog nepovoljnog estetskog efekta nije preporučljiva za zbrinjavanje recesija maksilarnih zuba.

Slobodni mukozni autotransplantat (SMAT) predstavlja deo palatinalnog tkiva sastavljen od lamine epithelialis i tanke zone lamine proprie. Autotransplantat se uzima sa nepca od najdistalnijeg regiona do kojeg se pružaju ruge palatine pa do distalne ravni poslednjeg molara. Njegova debljina, optimalno, treba da iznosi 1,5 mm. Debljina transplantata bitno utiče na ponašanje u toku reparacije u postoperativnom periodu.

Pomenuta tehnika podrazumeva:

-Pripremu mesta prijema transplantata:

Priprema mesta prijema transplantata u regiji gingivalne recesije i insuficijentne zone keratinizovane gingive započinje horizontalnom incizijom po mukogingivalnoj liniji. Nakon toga se oštrom disekcijom prepariše režanj polu debljine koji se apikalno pomera i pozicionira subperiostalnim šavom, tako da na mestu prijema transplantata ostaje alveolarna kost prekrivena intaktnim periostom.

-Uzimanje slobodnog transplantata iz donor regije:

Donor mesto je regija sluzokože tvrdog nepca od distalne ravni drugog molara do palatinalnih nabora. Na ovaj način se izbegavaju ruge palatine, i povreda velikih krvnih sudova. Prvo se izvodi horizontalna incizija udaljena 2-3 mm od ivice gingive, zatim se krajevi incizije spoje tako što se vrhom hirurškog noža na nepcu napravi željeni oblik transplantata. Nakon toga se oštrom disekcijom odvaja transplantat od podloge vodeći računa da njegova debljina bude konstantna celom njegovom dužinom (1.5 mm). Pozicioniranje i fiksiranje slobodnog transplantata na primajuću regiju se vrši pojedinačnim šavovima, pri čemu se vodi računa da transplantat bude čvrsto priljubljen za periost kako bi bila omogućena adekvatna ishrana.

Najvažniji problem odnosi se na prehranu i preživljavanje transplantata u centralnom regionu koji se nalazi iznad avaskularnog korena zuba. Proces zarastanja prolazi kroz tri faze. Inicijalna faza u periodu od prva tri dana od operacije zasniva se na ishrani koja se odvija na bazi avaskularne difuzije hranljivih sastojaka iz periosta i okolnog vitalnog vezivnog tkiva. To je tzv. fenomen plazmatske cirkulacije. Faze revaskularizacije traje oko 3 dana i podrazumeva fibrovaskularnu invaziju transplantiranog tkiva od strane vitalnog tkiva sa mesta prijema transplantata. Kapilari iz okoline mesta prijema transplantata proliferišu u vezivno tkivo transplantata da bi formirali mrežu novih kapilara i anastomoza. Do desetog dana bivaju revaskularizovani i centralni delovi transplantata kada se uspostavlja adekvatna ishrana. Posle faze revaskularizacije nastupa maturaciona faza (od 11 do 42 dana). Ona se odnosi na proces sazrevanja vezivnog tkiva, redukciju broja krvnih sudova i pojačanu keratinizaciju epitelnog sloja. Veoma bitan podatak je da epitel trpi određene degenerativne i nekrotične promene. Već četvrtog dana uočava se novi sloj epitela iz okolnih regiona, ali slobodni transplantat zadržava svoju strukturu, odnosno keratinizovani epitel. To znači da lamina propria vezivnog tkiva sadrži genotipske determinante razvoja epitela oralne mukoze. Ovaj podatak je bio uvod u primenu transplantata vezivnog tkiva u mukogingivalnoj hirurgiji. Integracija transplantata završava se za dve nedelje a zarastanje 8. nedelje nakon operacije. Zbog estetskih nedostataka uzrokovanih morfološkim razlikama transplantata i okolnog tkiva, indikacije za primenu SMAT-a su znatno sužene.

– Uticaj anatomo-morfoloških karakteristika eksponiranog korena zuba na opstanak autotransplantata:

Konveksitet eksponiranog korena bitno utiče na remodelaciju gingive u tretiranoj regiji. Prenaglašen konveksitet onemogućava intiman kontakt transplantata i površine korena kao i perifernih delova tkiva. Time nastaju prazni prostori što onemogućava adekvatnu ishranu transplantata. Zbog toga je često neophodno smanjiti konveksitet korena mehaničkom obradom čime se smanjuje i meziodistalni promer a to je preduslov za process zarastanja. Uz sve ovo obavezno je i uklanjanje nekrotičnog cementa sa površine korena čime se eliminiše i veliki deo endotoksina. Preostali deo cementa se čuva jer je bogat kolagenim vlaknima.

– Kondicioniranje eksponiranog korena:

Kako bi se poboljšali uslovi za formiranje novog vezivno-tkivnog pripoja između kolagenih vlakana cementa korena zuba i vezivnih vlakana transplantata što je objavljeno u istraživanjima **Allena (1985.)** koristio se prezasićeni rastvor ,Ph 1, limunske kiseline kao i 24% EDTA (etilendiaminotetrasirćetna kiselina) za kondicioniranje detoksikaciju cementa (**Cortellini 1993.**) Najnovija istraživanja su ove postupke zanemarila s obzirom da nemaju značajni uticaj na histološke i kliničke rezultate. **Caffesseova** studija iz **2000.** godine je ovo potvrdila. Kondicioniranjem tetraciklinima, pored antimikrobnog dejstva, postiže se regulacija adsorpcije plazma proteina, povećava adhezija krvnog ugruška i stimuliše depozicija kolagena na površinu korena, odnosno utiče na zarastanje zone hirurškee rane, što je **Bouchard** objavio **1997.** godine u svojoj studiji.

– Uticaj anatomo-morfoloških karakteristika recesija gingive na preživljavanje autotransplantata :

Duboke i široke recesije najnepovoljnije su za premošćavanje jer je preživljavanje transplantata uslovljeno i ograničeno dimenzijama avaskularne površine korena. U ovom slučaju je kolateralna mezijalna i distalna cirkulacija neadekvatna a cirkulacija iz apikalnog regiona je suviše udaljena. Rezultat je najčešće nekroza centralnog dela transplantata jer snabdevanje novoformiranog tkiva krvlju dostiže svega 2 mm u širini. U slučaju plitkih i širokih recesija cirkulacija iz lateralnih regiona je nedovoljna ali iz apikalne zone je sasvim zadovoljavajuća. Kod dubokih a uskih defekata prognoza je najbolja jer kolateralna cirkulacija iz lateralnih područja, zbog malog

raspona, omogućava odličnu ishranu. Sa terapijskog aspekta najpovoljnije su plitke a uske recesije jer je površina koju treba adekvatno ishraniti vrlo mala.

– Debljina autotransplantata i značaj lamine proprie:

Lamina propria je deo transplantiranog tkiva preko koje se ostvaruje veza sa vaskularizovanim tkivom mesta prijema putem plazmatske cirkulacije ili vaskularnim anastomozama. Da bi se ostvarila kvalitetnija veza, neophodno je da lamina propria bude što bolje očuvana, jer to omogućava bržu ishranu. Takođe, tanak sloj submukoze kao biobarijere na transplantatu, omogućava repopulaciju zone ćelijama periodontalnog porekla, jer mezenhimalno tkivo periodontalnog i koštanog porekla jedino ima sposobnost regeneracije pripojnog epitela (aparata) što je izneto u studiji **Nymana 1980.** godine.

Ni jedna do danas opisana hirurška procedura ne uspeva da, poput slobodnog mukoznog autotransplantata, na tako efikasan način i u tako dugačkom vremenskom periodu reši problem insuficijentne zone keratinizovane gingive. Međutim, opisana tehnika ima i svoje nedostatke, a to su:

- Nepostizanje zadovoljavajućeg uspeha u prekrivanju ogoljenog korena zuba, pa se ovom tehnikom uspešno mogu tretirati samo uske i plitke gingivalne recesije.
- Loši estetski rezultati. Epitel sa palatuma iako je histološki istovetan ipak ima drugačiju boju od gingive.
- Povećana mogućnost pojave krvarenja donor regiona
- Kontrakcija transplantata

Pored svega navedenog slobodni mukozni autotransplantat predstavlja anahronu metodu u terapiji recesija gingive ali je zlatni standard u proširenju insuficijentne zone keratinizovane gingive što je i glavna indikacija za primenu ove tehnike.



Slika br.8: Slobodni mukogingivalni autotransplantat. Ljubaznošću dr sci. M.Bajića

Autotransplantat vezivnog tkiva (TVT)

Najznačajniji pomak u rekonstruktivnoj mukogingivalnoj hirurgiji načinjen je uvođenjem transplantata vezivnog tkiva. **Langer i Langer 1985.** prvi put primenjuju autogeni transplantat vezivnog tkiva u terapiji gingivalnih recesija. Navedeni autori su pomoću autogenog transplantata vezivnog tkiva uzetog sa nepca i trapeziodnog režnja polu debljine preparisanog u regionu gingivalne recesije vršili prekrivanje ogoljenog korena zuba.

Histološka kompatibilnost sluzokože tvrdog nepca i gingive nametnula je ideju o upotrebi subepitelijalnog transplantata vezivnog tkiva palatuma u terapiji mukogingivalnih anomalija. Veliki značaj se posvećuje pored estetski prihvatljivih rezultata, stvaranju novog vezivno tkivnog pripoja i promeni biotipa gingive.

TVT primarno ima efekat tkivne biomembrane sa višestrukom ulogom i pozitivnim uticajem na proces regeneracije parodontijuma. Efekat biomembrane obezbeđuje uslove za repopularizaciju hirurške regije ćelijskim elementima prvenstveno iz periodoncijuma. Istovremeno transplatat onemogućava nepovoljno interponiranje epitela između korena zuba i novoformiranog vezivnog tkiva.

TVT je i augmentacioni material. Bitna karakteristika transplantata je brza biointegracija sa okolnim tkivom što u velikoj meri utiče na ishod primenjene procedure. Kao početak integracije smatra se značajna fibrovaskularna invazija iz okolnog tkiva i difuzija hranljivih sastojaka odnosno fenomen plazmatske cirkulacije. Uočeno je da u prva dva dana zonu demarkacije karakteriše tanki koagulum. Organizacijom koaguluma počinje vaskularizacija transplantata iz periostalnog pleksusa, subperiostalnog pleksusa i tkiva režnja. Kompletna vaskularizacija nastaje oko 14. dana. Nakon četiri nedelje tkivo je potpuno identično kao i okolno tkivo, što su u svojoj studiji pokazali **Guiha i Caffesse 2001.** godine. Može se slobodno naglasiti da dominantnu ulogu u preživljavanju transplantata ima izražena fibrovaskularna invazija a nakon toga se ispoljavaju biološki efekti primene transplantata a to je i prekrivanje eksponirane površine korena zuba novim tkivom.

Sledeća bitna činjenica je da se transplatat uzima sa palatuma iz regiona mastikatorne sluzokože, gde lamina epitelijalis pripada pločasto slojevitom tipu sa orožnjavanjem a konstantni impuls za keratinizaciju epitela dolazi isključivo iz lamine proprie i on je genotipom determinisan. Odatle i transplatat vezivnog tkiva nosi sa sobom impulse za keratinizaciju. Time se indukuju epitel u regionu recesije da orožava čime se pored prekrivanja dobija i proširenje zone keratinizovane gingive i menja biotip gingive.

Autotransplatat vezivnog tkiva sa periostom (TVT)

Primenom transplantata veziva sa periostom prvi put se na ozbiljniji način posvećuje pažnja usmerenijoj i intenzivnijoj regeneraciji tkiva. Terapijski efekti pri primeni TVT-a sa periostom su znatno povoljniji. To je razumljivo s obzirom da je periost

visokodiferencirano tkivo mezenhimalnog porekla i ima važnu ulogu u biologiji koštanog tkiva. Dva su bitna sloja u histološkoj građi periosta:

– spoljašnji, koji se nastavlja na laminu propriju gingive i siromašan je ćelijskim elementima. Sastoji se od gusto postavljenih kolagenih vlakana.

– unutrašnji, kambijalni sloj, postavljen direktno preko alveolarne kosti sa velikim brojem krvnih i limfnih sudova i nervnim vlaknima. U ovom sloju pronađene su progenitorne mezenhimalne ćelije koje imaju osteogeni potencijal, što je naučno potvrđeno. Iz ove činjenice proizilaze očekivanja vezana za formiranje koštanog tkiva u regionu recesije. Međutim, i postojanje koštanih supstanci u periostu kao što su koštani morfogenetski proteini (među njima i BMP-2) mogu da indukuju stvaranje nove kosti, stimulišući diferencijaciju nezrelih mezenhimalnih ćelija u osteoprogenitorne ćelije. BMP (koštani morfogenetski protein) je supstanca koja poseduje osteoinduktivne sposobnosti i ima krucijalnu ulogu u rastu i diferencijaciji ćelija. To su grupa srodnih proteina, koje je otkrio Maršal Urist 1965 godine. Poznati su po tome da poseduju jedinstvenu mogućnost da indukuju stvaranje hrskavice i kosti. Regulišući angiogenetske peptide kao VEGF (vaskularni endotelijalni faktor rasta) na primer, utiče na angiogenetsku aktivnost, vezujući se za endotelijalne ćelije stimulišući migraciju i stvaranje krvnih sudova. BMP aktivira ćelijske efekte kroz heterotetrameričku kiselinu tj. preko treonin kinaze receptora i intracelularnih signalnih proteina. To je ekstracelularni molekul iz velike porodice faktora rasta koji se odnosi naročito na TGF- β 1 (transformišući faktor rasta) super familiju a dobijen je iz bovine kosti. Primenom rekombinacije humanih formi gena iz bovinih izvora, dobijeno je više od 15 oblika BMP-a. Najveća komercijalni uspeh je postignut sa rh BMP-2 (institut za genetiku, Cambridge, Ma) i rh BMP-7 (OP-1, Stryker Biotech). Primenom TVT-a očekuje se blokiranje proliferacije epitelnih ćelija sa ivice hirurške rane u dublja parodontalna tkiva što bi trebalo da obezbedi formiranje normalnog pripojnog epitela.

Hirurške tehnike primene TVT-a u terapiji gingivalnih recesija

Prvu hiruršku tehniku u terapiji izolovane recesije gingive uz primenu TVT-a dizajnirali su Langer i Langer. Tehnika se sastoji u odizanju režnja polu debljine u regionu gingivalne recesije. Nakon uzimanja vezivnotkivnog transplantata sa nepca, transplantat se pozicionira preko ogoljenog korena zuba i fiksira pojedinačnim hirurškim šavovima. Zatim se, kada je transplantat fiksiran, reponira režanj polu debljine tako da najkoronarniji deo transplantata ostaje nepokriven reponiranim režnjem. Isti autori su objavili da je prosečna prekrivenost ogoljenog korena zuba primenom ove tehnike 80%, što je u tom trenutku bio fenomenalan rezultat. Ova tehnika se pokazala manje uspešnom u terapiji dubokih i širokih recesija upravo zbog činjenice da deo transplantata koji leži na avaskularnoj površini korena zuba ostaje nepokriven režnjem, te nije u potpunosti moguće obezbediti adekvatnu ishranu za transplantat u potpunosti. Stoga se indikacije za primenu ove tehnike odnose na terapiju gingivalnih recesija I i II klase po Milleru, kod kojih vertikalna dimenzija recesije nije veća od 3 mm.

Raetzke 1985. uvodi tzv. tehniku koverta (envelope technique) kojom se izbegava preparisanje trapezoidnog režnja sa vertikalnim relaksacionim incizijama već se u regionu gingivalne recesije preparira režanj polu debljine tako što se oštrom disekcijom kroz gingivalni sulkus formira ležište za autotransplantat vezivnog tkiva. Transplantat se zatim postavi u ležište kao u kovertu, odakle potiče i naziv procedure. Treba naglasiti da ispreparisani režanj polu debljine ne prekriva transplantat u potpunosti već da i ovde najkoronarniji deo transplantata ostaje eksponiran, te da je u slučajevima dubokih i širokih recesija teško postići potpuno prekrivanje ogoljenog korena zuba.

Nelson 1987. opisuje tehniku kojom se pomoću trapezoidnog režnja pune debljine kombinovanog od dve susedne papile koje okružuju gingivalnu recesiju u potpunosti prekriva subepitelijalni transplantat vezivnog tkiva prethodno pozicioniran preko ogoljenog korena zuba, dok **Harris 1992.** usavršava ovu tehniku. Tehnika se zasniva na primeni prethodno opisane tehnike režnja od dve papile po **Cohen-u i Ross-u iz 1968.** kojim se u potpunosti prekriva transplantat vezivnog tkiva fiksiran preko ogoljenog korena zuba. Autor objavljuje da je ovom tehnikom ostvarena prosečna

prekrivenost korena zuba od čak 97%. Indikacije za ovu tehniku predstavljaju gingivalne recesije I i II klase po Milleru sa izraženom vertikalnom dimenzijom recesije (većom od 5 mm), ali je neophodno da u okolini gingivalne recesije postoji dovoljna količina keratinizovanog tkiva.

Pomak u primeni transplantata vezivnog tkiva pravi **Allen 1994**. On naime usavršava Roetzkeovu envelope tehniku tako što uvodi da se nakon preparacije ležišta i fiksiranja transplantata u odgovarajućem položaju transplantat pokriva u potpunosti. Na sličan način Allen usavršava "Langer i Langer" tehniku gde predlaže upotrebu trapezoidnog reznja pune debljine i njegovo koronarno pozicioniranje, kako bi se u potpunosti prekrilo autogeni transplantat vezivnog tkiva i na taj način obezbedila bolja ishrana koronarnih delova transplantata. Rezultati koje je autor dobio izmenom Langer i Langer tehnike su evidentni i govore u prilog unapređenju tehnike (dobijena je prosečna prekrivenost eksponiranog korena zuba 89-95%). Hirurška procedura se bazira na formiranju dve relaksacione kose incizije koje polaze od aproksimalnih projekcija gledno cementne granice ogoljenog korena zuba. Nakon toga se kose incizije spajaju sulkusnom incizijom i odiže se trapezoidni reznj pune debljine. Presecanjem periosta u najapikalnijim delovima trapezoidnog reznja se omogućava relaksacija i koronarno repositioniranje reznja kojim se u potpunosti pokriva prethodno pozicioniran i fiksiran transplantat vezivnog tkiva na ogoljenoj površini korena zuba. Slike 18,19,25,26 (Poglavlje: Prilozi).

Zabalegui i saradnici 1999. dodatno usavršavaju Raetzkeovu "envelope" tehniku prilagođavajući je tretmanu multiplih gingivalnih recesija. Njihovom tehnikom se bez vertikalnih incizija i bez presecanja interdentalnih papila uspešno prepariše reznj poludebljine u regionu multiplih gingivalnih recesija koji se zatim koronarno pozicionira preko transplantata vezivnog tkiva. Autori ovu tehniku nazivaju "tunnel tehnika" zbog specifičnog načina preparisanja reznja polu debljine. Hirurška tehnika se bazira na međusobnom povezivanju više envelope reznjeva polu debljine i na taj način se formira tkivni tunnel ispod intaktnih interdentalnih papila, bez vertikalnih relaksacionih incizija kojim se u potpunosti pokriva prethodno pozicioniran transplantat vezivnog tkiva. Autori naglašavaju da je na ovaj način ostvarena prosečna prekrivenost korena od 91.6% uz odlične estetske rezultate.

Za uzimanje transplantata vezivnog tkiva iz donor regiona na palatumu najčešće se koriste dve hirurške tehnike:

Jedna je tzv. trap door tehnika ili tehnika poklopca (**Harris 1992.**) Ovom tehnikom se nakon preparisanja i odvajanja tkivnog poklopca, kojeg čine epitel i deo lamine proprie, pristupa vezivnom tkivu palatuma. Prvo se formira horizontalna incizija paralelna sa ivicom gingive, a zatim se sa krajeva prve incizije preparišu dve vertikalne incizije ka medijalnoj liniji nepca. Pod direktnom kontrolom oka, tupom disekcijom, uzima se vezivno tkivo zajedno sa periostom. Nakon toga se vraća tkivni poklopac i rana se ušiva pojedinačnim šavovima per primam intentionem. Bitno je da tkivni poklopac sadrži u sebi dovoljno lamine proprie iz koje će se ostvariti regeneracija donor regije. Mane ove tehnike su potencijalno krvarenje operativnog polja i kompromitovanje ishrane zbog postojanja vertikalnih incizija. Slike br:16,17,20,21,22.23.24 (Poglavlje:Prilozi).

Druga tehnika je opisana od strane **Hurtzeler i Wenga 1999.** i naziva se "tehnika jedne incizije". Ovom tehnikom se preparišu samo jedna horizontalna incizija paralelna sa ivicom gingive. Dužina incizije zavisi od željenih dimenzija TVT-a. Nakon toga kroz napravljenu inciziju se preparišu režanj polu debljine paralelna sa zubnim nizom vodeći računa da taj isti režanj bude dovoljne debljine. Vezivno tkivni transplantat zajedno sa periostom se zatim odiže sa koštane podloge, a režanj se reponira i ušije pojedinačnim šavovima. Ova tehnika je komplikovanija za izvođenje ali daje manje komplikacija u postoperativnom periodu.

Sve tehnike primene transplantata vezivnog tkiva spadaju u tzv. bilaminarne tehnike (**Zucchelli 2003.**) zbog činjenice da se autogeni transplantat vezivnog tkiva postavlja na ispreparisano ležište na alveolarnom grebenu i preko ogoljenog korena zuba, a zatim se sa vestibularne strane slobodni transplantat vezivnog tkiva prekriva režnjem pune ili polu debljine, u zavisnosti od hirurške tehnike. Samo na ovaj način je moguće ostvariti adekvatnu ishranu i zarastanje slobodnog autogenog transplantata vezivnog tkiva.

Pri prekrivanju eksponiranog korena zuba transplantatom vezivnog tkiva koji sadrži periost, prethodi mehanička obrada eksponiranog cementa korena zuba kojom se uklanja nekrotični sloj cementa korena zuba, kako bi se ostvarili uslovi za regeneraciju (**Harris 1994, Fukazawa 1994, Pasquinelli 1995, Bruno 2000**). Da bi

se ostvarila adekvatna revaskularizacija potrebno je u toku hirurške intervencije izvršiti intimno i pravilno fiksiranje transplantata uz površinu cementa korena zuba, kako se prilikom zarastanja ne bi formirao hematoma. Prisustvo hematoma onemogućava penetraciju krvnih sudova u tkivo transplantata.

2.5. Regenerativne procedure

Prema načinu na koji pokušavamo da postignemo regeneraciju tkiva, regenerativne procedure možemo podeliti na:

- Pasivne
- Biomimetičke
- Aktivne

Pasivnim regenerativnim procedurama se ne utiče direktno na regeneraciju, već se samo omogućavaju uslovi za ciljanu regeneraciju izgubljenih parodontalnih tkiva. Ovoj grupi pripadaju sve tehnike usmerene tkivne regeneracije (GTR).

Biomimetičkim regenerativnim procedurama se pokušavaju imitirati uslovi koji su postojali u organizmu prilikom odontogeneze i razvoja parodontalnih tkiva. Ovim konceptom se organizam sam navodi na regeneraciju izgubljenih tkiva. Upotreba Amelogenina (fetalni bioaktivni molekul) se svrstava u ovu grupu regenerativnih procedura.

Aktivnim regenerativnim procedurama regeneracija je stimulirana direktnim delovanjem na osnovne faktore regeneracije. Primena acelularnih tkivnih nosača, faktora rasta, i živih ćelijskih linija, kao i njihova međusobna kombinacija spada u tehnike aktivne regeneracije.

2.5.1. Tehnike usmerene tkivne regeneracije (GTR)

Usmerena tkivna regeneracija (eng. Guided Tissue Regeneration- GTR) se pojavila kao sledeći korak u parodontološkoj terapiji i terapiji mukogingivalnih anomalija. Novi cilj terapije definisan je kao kompletna anatomo-morfološka i histološka restitucija izgubljenih tkiva u regionu defekta, što se ne odnosi samo na meka tkiva već i na koštano i cementno tkivo. **Melcher** je u svojoj studiji iz **1976.** prvi objasnio

princip usmerene tkivne regeneracije, činjenicom da terapijski ishod zavisi od redosleda događaja u periodu postoperativnog zarastanja. Koncept je zasnovan na naučnoj činjenici da od svih parodontalnih tkiva, samo koštano tkivo i tkivo periodontalnog ligamenta (**Karring 1975.**) poseduju nediferencirane progenitorne ćelije. Ove ćelije imaju sposobnost naknadne diferencijacije u osteoblaste i cementoblaste- ćelije koje mogu da formiraju novu kost, novi cement i novi funkcionalni pripoj (**Gottlow 1986.**) Ostala tkiva nemaju ovu sposobnost. Ovaj koncept ima za cilj da se upravo ćelijama periodontalnog i koštanog tkiva omogući da prve okupiraju prostor parodontalne rane. To se jedino postiže ukoliko se spreči proliferacija i zauzimanje tog prostora od strane ćelija drugih parodontalnih tkiva, pre svega epitela koji ima najveći regenerativni potencijal. Dakle, neophodno je progenitornim ćelijama omogućiti da se prve nasele u predeo parodontalne rane kako bi imale dovoljno prostora i vremena da ostvare regeneraciju. Stoga se usmerena tkivna regeneracija odnosi na formiranje prostora za progenitorne ćelije upotrebom barijera, odnosno membrana postavljenih između flapa i cementa korena zuba koje imaju za cilj da fizički zaustave epitelnu proliferaciju dublje u parodontalnu ranu. Zbog toga tehnike usmerene tkivne regeneracije spadaju u pasivne regenerativne tehnike.

Da bi bila uspešan promoter u okviru GTR-a membrana mora da zadovolji nekoliko uslova:

- mora da bude postojana kako bi mogla da bude dovoljno efikasan čuvar prostora za progenitorne ćelije, što znači da bude sposobna da zadrži potrebnu formu u dužem vremenskom periodu (6 – 8 nedelja) i otporna na pritisak okolnog tkiva.
- mora da limitira proliferaciju ćelijskih elemenata, a da omogućava propustljivost za nutritivne i makromolekule. Ova karakteristika se naziva celularna okluzivnost.
- mora da pokazuje sposobnost tkivne biointegracije i biokompatibilnosti kako ne bi došlo do imunog tkivnog odgovora u pravcu odbacivanja membrane.

Indikacije za primenu hirirških postupaka koji su zasnovani na konceptu GTR procedure u terapiji gingivalnih recesija su veoma uske i odnose se na manje recesije kako u vertikalnoj tako i u horizontalnoj dimenziji. Pogodnost je što se prilikom jednog zahvata mogu zbrinuti multiple recesije susednih zuba. Kontraindikovano je primenjivati ovaj koncept kod nepostojanja adekvatne širine keratinizovane gingive i

postojanja neadekvatnog biotipa gingive. Koristi se u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem. (Slike br. 5, 6 i 7.)

2.5.2. Tehnike biomimetike

Biomimetika ili biomimikrija je istraživanje funkcionisanja prirodnog modela i pokušaj njegovog oponašanja i eksploatacije u nauci i praksi (**Vincent 2006.**) Pionir ovog koncepta bio je **Modika** koji sa saradnicima **2000.** godine prvi koristi protein rasta, amelogenin, u okviru operacije koronarno pomerenog režnja u terapiji recesije gingive.

Biomimetičkim terapijskim principima se pokušavaju oponašati uslovi u organizmu koji su postojali prilikom razvoja parodontalnih tkiva, i na taj način stimulisati organizam na regeneraciju. U parodontalnoj plastičnoj hirurgiji u biomimetičke svrhe se koristi Amelogenin.

Amelogenin je gleđni protein poreklom iz ameloblasta čija je visoka koncentracija u organizmu zabeležena tokom odontogeneze u periodu cementogeneze i formiranja periodoncijuma. Koncept biomimetike se u slučaju primene amelogenina sastoji u indukovanju visoke koncentracije veštački dobijenog amelogenina (Emdogain®, Straumann, Švajcarska) u parodontalnoj rani. Tako bi se imitirali uslovi koji su postojali u toku cementogeneze i formiranja periodoncijuma, pa se sledstveno očekuje diferencijacija pluripotentnih ćelija u cementoblaste, fibroblaste i osteoblaste. Ustanovljeno je da amelogenin dovodi do povećanja koncentracije faktora rasta poreklom iz trombocita (PDGF) koji inhibira proliferaciju epitela što doprinosi regeneraciji dubljih parodontalnih tkiva. Amelogenin stimuliše proliferaciju i rast fibroblasta poreklom iz periodoncijuma.

Primene amelogenina podrazumeva mehaničku instrumentalizaciju ogoljenog korena zuba, kondicioniranje eksponiranog korena zuba rastvorom EDTA kako bi se uklonio razmazni sloj i nanošenje preparata na prethodno pripremljen koren zuba. Nakon nanošenja preparata vrši se koronarno repozicioniranje, ranije ispreparisanog, trapezoidnog režnja pune debljine i fiksiranje režnja u nivou (ili koronarnije od) gleđno cementne granice. Interesantno je da su histološki rezultati različitih studija

koje su ispitivale primenu amelogenina dvojaki. Neke studije (**Heijl 1997, Rasperini 2000, 2011.**) potvrđuju postizanje regeneracije u parodonticijumu, dok druge studije opovrgavaju ostvarivanje regeneracije nakon upotrebe amelogenina (**Mc Guire 2003, Modica 2000.**)

2.5.3. Tehnike aktivne regeneracije i tkivnog inženjeringa

Aktivna regeneracija i tkivni inženjering predstavljaju deo rekonstruktivnog hirurškog koncepta i temelje se na savremenim saznanjima iz opšte medicine, hirurgije, molekularne i celularne biologije, hemije i fiziologije. Prvi put se spominje u okviru periodontalne regeneracije u radovima Langer i sar. 1993. godine. To je interdisciplinarno polje nauke koje primenjuje principe i metode koji vode ka razvoju bioloških zamenika koji obnavljaju, potpomažu i vraćaju funkciju oštećenog tkiva ili organa.

Koncept aktivne regeneracije baziran je na stavu da se regenerativni potencijal svakog tkiva može unaprediti isključivo delovanjem na četiri osnovna faktora regeneracije:

- progenitorne (stem) ćelije
- polipeptidne faktore rasta
- neoangiogenezu
- ekstracelularni matriks

Relativno nizak nivo regeneracije parodontalnih tkiva kao i napredak na polju celularne i molekularne biologije uslovio je primenu intracelularnih stimulatora diferencijacije i multiplikacije određenih ćelijskih grupa kao nosioca koncepta aktivne regeneracije. Decenijama unazad, mnogi pokušaji pronalaska specifičnog materijala koji bi doveo do novog kliničkog i histološkog pripoja, rezultirali su samo reparacijom. Parodontalna reparacija odnosi se na zarastanje koje ne dozvoljava postizanje originalne morfologije i funkcionalne restauracije tkiva. Nasuprot tome pod regeneracijom podrazumevamo potpuno obnavljanje oštećenog tkiva proliferacijom i diferencijacijom prvobitnih parenhimnih elemenata. Parodontalna regeneracija se karakteriše kompletnom nadoknadom parodontalnih tkiva, što podrazumeva stvaranje

novе kosti, novog vezivnotkivnog pripoja posredstvom funkcionalno orijentisanih kolagenih vlakana u odnosu na novoformirani cement. Regeneracija je fenomen koji zahteva uzajamno delovanje više procesa koji su vremenski usklađeni. Proces parodontalnog zarastanja je najkompleksniji proces u ljudskom telu. Čelije epitela, gingive, periodoncijuma, vezivnog tkiva, cementa i kosti su u suštini osnova stvaranja novog pripoja na avaskularnoj i avitalnoj površini korena zuba. Zarastanje je otežano i činjenicom da je parodontalno tkivo kao jedan otvoren kompleks stalno izložen bakterijskoj kontaminaciji. Dodatak kompleksnosti čine okluzalne transverzalne i aksijalne sile koje utiču na stabilnost zarastanja rane. U prirodnim okolnostima rana obično zarasta u vidu reparacije tj. ožiljka, a primenom tkivnog inženjeringa stvaramo uslove za regeneraciju. Da li će oštećeno tkivo zarastati putem reparacije ili regeneracije zavisi od dva ključna faktora: posedovanja odgovarajućih tipova ćelija i prisustva ili odsustva signala neophodnih za regrutovanje i stimulaciju tih ćelija. Bez obzira što su klinički efekti kod većine primenjenih hirurških procedura postignuti, podaci koje su dobijene na osnovu histoloških analiza pokazuju izuzetno nizak nivo regenerativnog potencijala parodontalnih tkiva.

Restitutio ad integrum je idealni cilj svih rekonstruktivnih zahvata a smatra se da ga je moguće postići udruženim delovanjem aktuelnih hirurških metoda i aktivne tkivne regeneracije .

Tkivni inženjering, odnosno aktivna regeneracija u parodontalnoj plastičnoj hirurgiji, podrazumeva primenu tri terapijske metode:

1. Primenu bioaktivnih acelularnih tkivnih nosača
2. Primena specifičnih faktora rasta
3. Primena živih ćelijskih linija.

Primena bioaktivnih acelularnih tkivnih nosača

Primena bioaktivnih acelularnih tkivnih nosača podrazumeva primenu alograftova, koji su dobijeni procesuiranjem tkiva humanog porekla, iz koga su posebnom vrstom obrade eliminisani svi ćelijski elementi, koji mogu biti potencijalni antigeni, kako bi se izbegla imunološka reakcija tipa stranog tela. Nakon odstranjivanja ćelijskih komponenata ostaje ekstracelularni matriks koji služi kao potka za fibrovaskularnu invaziju i regeneraciju tkiva domaćina čime su dobijeni alograftovi za upotrebu u koštanoj i mekotkivnoj regeneraciji. Acelularni dermalni matriks (Alloderm®, Life Cell, USA) predstavlja preparat koji se dobija bioprocusuiranjem vezivnog tkiva kadavera. Na taj način se iz vezivnog tkiva odstranjuju sve antigene komponente i dobija potka kojom treba da se ostvari regeneracija u parodontijumu. Mnoge studije su se bavile upotrebom ovog materijala u terapiji gingivalnih recesija i uspeh terapije se ogleda u prosečnoj prekrivenosti korena zuba između 66 % i 99% (**De Souza 2008, Harris 2000, Novaes 2008, Scarano 2009.**) Komplikacije primene ovih preparata ogledaju se u stvaranju tzv. “sekundarnog gingivalnog sulkusa” koji je posledica kompromitovane ishrane reznja u apikalnoj regiji.

Primena specifičnih faktora rasta

Korišćenje specifičnih faktora rasta zauzima centralno mesto u konceptu aktivne regeneracije. Faktori rasta su polipeptidni bioaktivni molekuli sa usko specijalizovanim ulogama u iniciranju i kontroli procesa tkivne reparacije i regeneracije. Svoje dejstvo ostvaruju vezujući se za specifične receptore na ćelijskoj membrane čime se omogućava aktivacija tirozin-kinaze i oslobađa se “messenger” molekul koji potom aktivira specifičnu grupu gena. Efekat je ili morfogeni ili mitogeni.

Postoji obilje različitih faktora rasta koji obavljaju svoje uloge u regenerativnim procesima u organizmu, ali su za parodontalnu regeneraciju najvažniji PDGF (faktor

rasta poreklom iz trombocita), TGF- β (transformišući faktor rasta beta), VEGF (vaskuloendotelijalni faktor rasta) i drugi. Brojne studije (**Lynch 1989, Wang 1994, Petrungaro 2001, Okuda 2003, Wai 2004, Griffin 2004.**) su potvrdile uticaj faktora rasta na stimulaciju, proliferaciju i diferencijaciju progenitornih ćelija parodontijuma, kao i na supresiju epitelne proliferacije, što predstavlja osnovne postulate regeneracije parodontijuma.

Evidentirani osnovni faktori rasta PDGF, TGF- β super familije, IGF (isulin like growth factor), VEGF (vascular endothelial growth factor) se nalaze u prirodnim rezervoarima, a to su alfa granule trombocita. Dakle, centralnu ulogu u iniciranju i regulaciji procesa regeneracije i reparacije imaju trombociti. Znajući da su trombociti ćelijska grupa koja prva deluje na mestu svakog oštećenja ovo je sasvim razumljivo.

Na mestu oštećenja trombociti aktiviraju faktori aktivacije kako bi učestvovali u formiranju koagulumu. Aktivirani i pozicionirani u koagulumu trombociti počinju da otpuštaju hemotaksične molekule kojim koncentrišu makrofage i pluripotentne stem ćelije u region oštećenja. Nakon makrofagne aktivnosti fagocitoze oštećenih delova tkiva započinje proces regeneracije koji je pod direktnom kontrolom polipeptidnih molekula oslobođenih iz alfa granula trombocita. Ovi faktori rasta, prvenstveno iz PDGF i TGF superfamilija u najranijim fazama regeneracije imaju mitogenu ulogu te utiču na multipliciranje mitotičkih deoba stem ćelija regiona.

Nakon postizanja dovoljnog broja stem ćelija ovi faktori rasta, posebno TGF (transforming growth factor), deluju morfogeno, što znači da utiču na diferencijaciju stem ćelija u pravcu različitih ćelijskih grupa: osteoblasti, fibroblasti, cementoblasti...Ove grupe ćelija su nosioci tkivne neogeneze. Od vitalnog značaja je i neoangiogeneza za koju je zaslužan VEGF koga najintenzivnije proizvode makrofagi.

Ekstracelularni matriks je produkt aktivnosti fibroblasta čije prisustvo i kvantitet zavise od faktora rasta PDGF i TGF. Nedovoljni regenerativni potencijal humane populacije je rezultat insuficijentne koncentracije najvažnijih faktora rasta kao i njihovog prekratkog delovanja in situ.

Ovakav stav inicirao je primenu plazme bogate trombocitima (PRP-platelet rich plasma) u rekonstruktivnoj mukogingivalnoj hirurgiji kao i primenu nove generacije

trombocitnog koncentrata- fibrina koncentrovanog trombocitima (PRF-platelet rich fibrin).

Plazma obogaćena trombocitima (PRP-platelet rich plasma)

Da bi se uticalo na povećanje regenerativnog potencijala, koji zavisi od koncentracije faktora rasta i trajanja njihove aktivnosti, primenjuje se plazma obogaćena trombocitima (PRP). Plazma bogata trombocitima je zapremina autologne plazme koja ima koncentraciju trombocita iznad normalne (**Marx 1999, 2001.**) Pošto je naučni dokaz zarastanja koštanog i mekog tkiva postavljen korišćenjem PRP sa 1,000,000 pločica u mikrolitru, ova koncentracija trombocita u zapremini od 5 ml plazme je danas radna definicija za PRP. Plazma bogata trombocitima je autologni izvor faktora rasta koji kontrolišu zarastanje rane i ima aktivnu ulogu u regeneraciji parodonticijuma (**Green 1998**).

Dobija se iz 35-50 ml krvi. Njenim centrifugiranjem i separacijom ćelijskih elemenata stvara se 300-400% više trombocita u odnosu na normalnu krv (**Weibrich 2002.**) Ovaj koncentrat poseduje sve konstituente krvi koji su odgovorni za rast i procese zarastanja i aplikuje se direktno u hiruršku ranu (Ca^{2+}) (**Martin 1992, Marx 2004**). Zgrušavanje krvi aktivira trombocite, koji počinju da trenutno izlučuju svoje faktore rasta. U toku 10 minuta oni izluče 70 % svojih zaliha faktora rasta a za 60 minuta i do 90 %. Aktivacija PRP-a se vrši samo u trenutku primene, a zbog svoje uloge u procesu hemostaze, trombociti postaju deo fizičkog ugruška krvi. Iz tog razloga PRP može biti dobijena samo iz antikoagulirane krvi (**Marx 1999.**) Da bi se predočila efikasnost koncentrata trombocita u pogledu zarastanja rana, dovoljan je podatak da normalni krvni ugrušak nakon vađenja zuba (kao primer) sadrži oko 94% eritrocita, 6% trombocita i nešto manje od 1% leukocita. A nasuprot tome, PRP sadrži 94% trombocita, 5% eritrocita i 1% leukocita. Time se dobija i mnogostruko veći broj specifičnih faktora rasta čime se značajno unapređuje reparatorni i regenerativni potencijal određenih tkiva. Krvni ugrušak je sastavljen od fibrina, fibronektina i vitronektina koji su neophodni za ćelijsku migraciju u procesu osteokondukcije, epitelizacije rane i oseointegracije. PRP sadrži samo neke iste koncentracije ovih adhezionih molekula kao kod normalnog krvnog ugruška (**Anitua 2001.**) Zbog toga

PRP nije fibrinski lepak. Povoljna primena PRP se ogleda u dva efekta: stvaranja PDGF i TGF, koji nastaju kao degranulati trombocita i uticaja PDGF i TGF u ranim fazama regeneracije pre drugih faktora rasta. Na osnovu literaturnih podataka, može se zaključiti da primena PRP ima znatan uticaj na koštano-tkivnu regeneraciju u periodu od šest nedelja od intervencije. U ovom periodu, ispoljava se uticaj PRP na proliferaciju mezenhimalnih stem ćelija i preosteoblasta ali ne treba zaboraviti da PRP nije substituent BMP-u (bone morphogenetic protein) i nije osteoinduktivna supstanca. Opravdanost primene PRP se ogleda u:

- Sigurnosti – u pitanju je krv pacijenta, čime se eliminiše rizik prenošenja bolesti
- Lakoća i jednostavnost primene
- Nema potrebe za specijalizovanim osobljem
- Dostupnost, brzina primene i ekonomska prihvatljivost

Faktori rasta deluju na autokrini način i to direktnim dejstvom na sekretorne ćelije i parakrini način dejstvom na susedne ćelije. Kao prirodan izvor, trombociti sadrže veliki broj različitih faktora rasta kao PDGF, TGF beta i IGF, što ukazuje na njihovu centralnu ulogu u inicijaciji procesa regeneracije. Trombociti nastaju citoplazmatskom fragmentacijom megakariocita u koštanoj srži. Žive oko 7–10 dana i za to vreme su vrlo metabolički aktivni jer u svojim partikulama aktivno sintetišu faktore rasta i secerniraju ih u koagulaciji krvi. U svojoj citoplazmi sadrže vezikule odnosno magacinske granule i to lizosomalne (sadrže autodigestivne enzime), granule velike gustine (sekretuju adenzin difosfat –ADP) i alfa granule (**Aghaloo 2002.**) U alfa granulama se nalaze upakovani faktori rasta u inaktivnoj formi. Dokazani faktori rasta u granulama su tri izomera trombocitnog porekla, faktor rasta PDGF (PDGF aa, PDGF bb, PDGF ab), dva izomera transformišućeg faktora rasta beta (TGF beta 1 i TGF beta 2), superfamilije vaskularni endotelijalni faktor rasta (VEGF) i epitelijalni faktor (EGF). Pored ovih prisutni su i adhezivni molekuli vitronektina koji su neophodni za osteokondukciju i oseointegraciju. Faktori rasta poput PDGF aa, PDGF bb i PDGF ab imaju dva aktivna položaja i zovu se dimeri. Oni se vezuju za receptore koji se nalaze na površini membrane ciljane ćelije i aktiviraju membranske receptore koji imaju intracitoplazmatski deo i zbog toga se često nazivaju transmembranski receptori. Dva susedna transmembranska receptora dovode do aktivacije dominantnog intracitoplazmatskog signala prenosnim proteinima. Taj prenosni protein se odvaj

od membrane i putuje ka jedru kroz citoplazmu gde otključava specifične delove gena koji regulišu ćelijske funkcije- mitozu, kolagen sintezu i dr. Faktori rasta su prirodni proteini koji deluju preko normalnih genskih mehanizama i normalnog povratnog kontrolnog sistema. Ovim se objašnjava zašto egzogena aplikacija faktora rasta pa čak i u većim količinama ne može da podrži prekomernu reakciju kao što je benigni ili maligni tumorski rast.

Najznačajniji faktori rasta su:

PDGF (platelet derived growth factors)

Faktori rasta poreklom iz trombocita otkriveni su kasnih osamdesetih godina prošlog veka od strane Lyncha i sar. Inicijalno je izolovan iz humanih trombocita a kasnije je pronađen i u nekim selektovanim kulturama ćelija. U cirkulaciji je transportovan u granulama kao PDGF bb ili kao PDGF ab. PDGF a i b geni su izloženi i u normalnim i u malignim ćelijama gde deluju kao lokalni regulatori ćelijskog rasta. To je dimer molekulske težine od 30.000 daltona u vidu dva polipeptidna lanca kao produkti odvojenih gena. Izolovana su tri izomera trombocitnog porekla kao homodimerne forme – PDGF-aa i PDGF-bb i heterodimerne forme – PDGF-ab. To su tzv. hormoni prirodnog zarastanja rane. Gde god postoji povreda mekog ili koštanog tkiva tu su i PDGF. Sekretovani od strane trombocita u prvi mah imaju važnu ulogu u inicijalnom zarastanju rane, dok u kasnijim fazama sekretovani od strane makrofaga, utiču na ostale faktore rasta i ćelija koje stimulušu fibroblastičnu i osteoblastičnu funkciju. Takođe i osteoblasti su u stanju da produkuju PDGF ali samo A lanac. Mnogi autori su u svojim istraživanjima primenjivali PDGF-bb u cilju pokretanja migracije i proliferacije fibroblasta periodontalnog ligamenta. Utvrdili su da PDGF bb ima uticaj na stvaranje nove kosti i pokretanje periodontalne regeneracije in vivo (**Gruber 2002, Choi 2005, Vogel 2006, Uggeri 2007.**) Glavni su mitogeni za mezenhimalne i endotelijalne ćelije. Smatra se da je izomer PDGF ab predominantni faktor u PRP-u najverovatnije zbog svoje veze sa PDGF α receptorima i kao takav inhibira migtaciju endotelijalnih ćelija. PDGF bb ima stimulatvni efekat na proliferaciju mezenhimalnih stem ćelija dok je taj podatak za izomer PDGF ab nepoznat. Ovo je krucijalni faktor za migraciju mezenhimalnih stem ćelija. U koncentraciji od 0,001–1,0 ng/ml pokazuje izrazit uticaj na hemotaksu. Osam puta je hemotaktični efekat jači u odnosu na BMP 2 i BMP 4.

TGF (transforming growth factor family)

Dva bitna predstavnika ove grupe su TGF α i TGF β . TGF β je glavni regulator ćelijske replikacije i diferencijacije. U okviru TGF β postoje tri podgrupe faktora i to TGF β -1, TGF β -2 i TGF β -3. TGF β forme imaju multiple regulatorne uloge u sintezi, održavanju i promenljivosti ekstracelularnog matriksa. TGF β je hemotaksičan i mitogen za fibroblaste i cementoblaste, podržava akumulaciju fibroblasta i proces fibroze u toku zarastanja rane. Takođe, jedna od funkcija je i modulacija ostalih faktora kao što je PDGF, TGF α , EGF (epitelijalni faktor rasta) i FGF (fibroblastni faktor rasta), i to na osnovu menjanja ćelijskog odgovora ili putem indukcije njihove ekspresije. U studiji **Oatesa 1993.** komparirana je mitogena aktivnost TGF beta sa interleukinom-1 i PDGF koji je poreklom iz fibroblasta periodontalnog ligamenta. Utvrdili su da je TGF β relativno slab mitogen za periodontalne ćelije u poređenju sa PDGF, uz pretpostavku da TGF β može indirektno stimulisati DNA sintezu. Može da deluje inhibitorno ili stimulatивно na osteoblaste, zavisno od koncentracije, prisustva ćelija-preosteoblasta i stadijuma diferencijacije osteoblasta.

IGF (insulin like growth factor)

Faktor rasta sličan insulinu je veoma bitan činilac i potentan faktor za vaskularne endotelijalne ćelije što ima za posledicu stvaranje novih krvnih sudova. Takođe stimuliše mitozu više vrsta ćelija kao što su hondrociti, osteociti, fibroblasti. IGF-I se sekretuju tokom organizovanja koaguluma zajedno sa drugim faktorima. Oates u studiji in vitro ukazuje da IGF-I znatno povećava ćelijsko preživljavanje fibroblasta iz periodontalnog ligamenta u odnosu na fibroblaste poreklom iz gingive istovremeno stimulišu proliferaciju i diferencijaciju osteoblasta.

EGF (endothelial growth factor)

Endotelni faktor rasta je snažan mitogen za mezodermalne i endotelijalne ćelije. Utiče na diferencijaciju različitih vrsta ćelija. Pod uticajem trombina mitogeni uticaj na endotelijalne ćelije može biti potenciran. Hemotaktičan je za fibroblaste i endotelijalne ćelije. Zajedno sa drugim citokinima ili izolovano, učestvuje u procesu zarastanja. Na osnovu dosadašnjeg iskustva, smatra se da više različitih faktora sa faktorima trombocitnog porekla u PRP-u, učestvuju zajedno u migraciji i proliferaciji endotelijalnih i mezenhimalnih stem ćelija, kao i na osteogenu diferencijaciju

mezenhimalnih stem ćelija. PDGF i TGF kao primarni faktori rasta u najranijim fazama regeneracije utiču na multipliciranje mitotičkih deoba stem ćelija u regionu.

VEGF(vascular endothelial growth factor)

VEGF proizvode makrofagi i zadužen je za angiogenezu. Njegova stimulacija zavisi od PDGF i TGF-a kao i pada koncentracije O₂ ispod 20 µL/g. Ovo je bitno jer ukoliko ne postoji odgovarajuća angiogeneza, nema ni stvaranja vitalnog tkiva.

Fibrin obogaćen trombocitima (engl. PRF-platelet rich fibrin)

Fibrin, koji je aktivirana forma fibrinogena, je nerastvorljivi, fibrilarni molekul koji je prisutan ne samo u plazmi već i u alfa granulama trombocita. On igra glavnu ulogu u agregaciji trombocita tokom hemostaze a takođe ima ulogu i u angiogenezi.

Fibrinogen je poslednji supstrat u reakcijama koagulacije. Budući da je rastvorljiv protein, fibrinogen se transformiše u fibrin pomoću trombina i tako čini potku u formi mrežice koja igra ključnu ulogu pri zarastanju oštećenog mesta (**Dvorak 1987, Choukroun 2006.**)

Fibrin obogaćen trombocitima (PRF) je autologni preparat nastao centrifugiranjem krvi pacijenta, a sastoji se od trombocita i faktora rasta u formi fibrinske membrane, bez dodataka antikogulanasa i drugih veštačkih agenasa. Tehniku PRF-a su 2001. godine razvili Choukroun i saradnici, i predstavlja drugu generaciju autolognog koncentrata trombocita koja se koristi za ubrzanje zarastanja i regeneracije mekog i tvrdog tkiva (**Dohan 2006, Sunita Raja 2008.**)

Za razliku od PRP-a, PRF je sazdan od matriksa autolognog fibrina u koji su ugrađene velike količine trombocita i skoro svih faktora rasta. Zahvaljujući kompleksnoj arhitekturi i mehaničkim svojstvima mrežice razlikuje se od svih ostalih koncentrata trombocita (**Chandran 2014.**)

U parodontalnoj hirurgiji PRF ima ulogu da stimuliše periferno zarastanje kosti preko periosta, da ubrza regeneraciju i remodelovanje mekih tkiva i da se ponaša kao kompetitivna barijera koja će da onemogući kolonizaciju nepoželjnih tkiva na mestu hirurške rane.

PRF ima značajnu ulogu u stimulaciji ćelijske proliferacije i diferencijacije u in vitro uslovima: fibroblasta, ćelija periodoncijuma, endotelnih ćelija, osteoblasta, hondrocita, mezenhimalnih stem ćelija... (Dohan 2009, 2010.) I dalje postoji izvesna doza skepse vezana za koštanu regeneraciju budući da je to dugotrajan proces. Pozitivan efekat PRF-a na osteogenezu je temeljno opisivan u in vitro uslovima. Međutim, klinička i laboratorijska istraživanja su vrlo kontraverzna u demonstriranju pozitivnog efekta PRF-a na koštanu regeneraciju. Nasuprot tome, pozitivni efekti na meka tkiva su vrlo temeljno dokazani, kako in vitro, tako i u kliničkim studijama (Knapen 2015).

Za razliku od PRP gelova koji se u mukogingivalnoj hirurgiji koriste kao hiruški adjuvanti, PRF predstavlja membranu, sačinjenu od snažnog fibrinskog matriksa kojom se lako manipulira (kao mekotkivnim graftom). PRF membrana se može krojiti i ušivati, što joj daje veliki opseg korišćenja. Za razliku od PRP gelova kod kojih se faktori rasta gotovo trenutno odpuštaju, PRF membrana oslobađa faktore rasta i matriksne proteine u dužem vremenskom periodu (preko 7 dana). PRF membrane su zbog svojih pozitivnih efekata ("USER FRIENDLY"-jednostavni su za pripremu i manipulaciju, ekonomski isplativi ...) u veoma kratkom periodu uspele da zasene terapijske efekte PRP gelova. (Dohan 2006, Uggeri 2007, Sunitha 2008, He 2009.) (Tab. br.1)

Tabela 1. Prednosti fibrina obogaćenog trombocitima u odnosu na plazmu obogaćenu trombocitima i nedostaci fibrina obogaćenog trombocitima

Prednosti PRF-a u odnosu na PRP	Nedostaci PRF-a
-nema biohemijskog manipulisanja krvlju pacijenta	-nemogućnost dobijanje velike količine membrane

<p>-pojednostavljena i jeftinija procedura dobijanja koncentrata (ne koriste se goveđi trombin i antikoagulansi)</p> <p>-postepeno odpuštanje faktora rasta</p> <p>-efikasnija migracija i proliferacija ćelija</p> <p>-povoljan efekat na imuni sistem</p>	<p>-zahteva brzu manipulaciju, zbog nedostatka antikoagulansa</p>
---	---

Razlikuju se dve familije PRF-a koje postoje u čvrstoj formi (gusti fibrinski biomaterijali u obliku ugruška ili membrane)

P PRF (engl. pure platelet rich fibrin) – bez leukocita

L PRF (engl. leukocyte platelet rich fibrin)- sa leukocitima

U literaturi vezanoj za PRF, u parodontalnoj i oralnoj hirurgiji, vrlo često je nejasno koji od ovih tipova PRF-a je korišćen, zbog nedostatka koncenzusa vezanog za preciznu terminologiju (**Dohan 2010**). **Del Corso 2012**. navodi samo jednu publikaciju u kojoj je precizirano da je korišćen P PRF dok je u većini publikacija koje se tiču primene u stomatologiji korišćen L PRF.

Osnovni parametar koji je uzet u razmatranje prilikom procene efikasnosti je koncentracija trombocita. Različita tehnologija obrade krvi rezultira i različitim koncentracijama trombocita. U parodontalnoj, oralnoj i maksilofacijalnoj hirurgiji koncentracija trombocita izgleda da ne igra veliku ulogu jer su u pitanju relativno velika otvorena hiruška polja sa obilnim krvarenjem te je zbog toga koncentracija trombocita u svakom slučaju razblažena u odnosu na početnu (**Weibrich 2002, 2003, 2005**). Mnogo veću ulogu imaju arhitektura fibrina i koncentracija leukocita (**Clark 2001, Van Hinsbergh 2001, Martin 2005**.) Do sada, niko nije dokazao da parametar koncentracije trombocita značajno menja kliničke ishode ove vrste terapije.

Primena živih ćelijskih linija

Primena živih ćelijskih linija predstavlja biološki inženjering tkiva, gde se primenom živih ćelija i bioaktivnih molekula pokušava ostvariti regeneracija (**Mc Guire 2011.**) Ćelijska kultura predstavlja laboratorijski postupak za izolovanje i održavanje specifičnog tipa ćelija u in vivo uslovima. Izolovanje ćelija se vrši iz odgovarajućih organa ili tkiva, a nakon izolovanja vrši se gajenje ćelija i razvijanje ćelijskih kultura. Upotreba živih ćelijskih linija pronašla je svoju primenu u parodontalnoj plastičnoj hirurgiji i u terapiji gingivalnih recesija sa ciljem da se metodama bioinženjeringa napravi adekvatan živi ćelijski materijal koji će indukovati regeneraciju izgubljenih parodontalnih tkiva. Iz tog razloga, pravljene su napore da se formira autogena ćelijska kultura fibroblasta, koja će služiti kao zamena za autogeni transplantat vezivnog tkiva. Ćelijska kultura fibroblasta se formira iz malih isečaka vezivnog tkiva samog pacijenta. Primena fibroblasta je najprihvatljivija, imajući u vidu da su fibroblasti osnovna ćelija vezivnog tkiva koja vrši sintezu kolagena i ekstracelularnog matriksa.

Pini Prato 2000. prvi opisuje gajenje autogenih humanih fibroblasta na trodimenzionalnom matriksu, a isti autor u drugoj studiji iz **2003.** histološki dokazuje stvaranje keratinizovane gingive nakon implantacije grafta sastavljenog od autogene ćelijske kulture fibroblasta na trodimenzionalnom matriksu od hidroksiapatita. Drugi autori su se bavili tkivnim inženjeringom tako što su autogene ćelijske kulture fibroblasta zasađivali na jednoslojnu ili dvoslojnu membranu od kolagena (**Momose 2002, Milinković 2011.**) i rezultati ovih studija pokazuju uspeh u proširenju zone keratinizovane gingive.

2.6. Savremeni koncept klasifikacije trombocitnih koncentrata

Upotreba trombocitnih koncentrata u poslednjih petnaest godina se dramatično povećala u mnogim hirurškim oblastima, posebno oralnoj, parodontalnoj i maksilofacijalnoj hirurgiji. Literatura koja se bavi ovom problematikom je obimna ali su objavljeni rezultati često kontradiktorni. Uočljiv je problem interpretacije i klasifikacije postojećih podataka zbog nepostojanja konzensusa u vezi sa

terminologijom, formom preparata, tehnikom preparacije i mogućnostima aplikacije **(Dohan Ehenfest 2013.)**

Nakon što je **Marks 1998.** objavio studiju o efektima trombocitnih koncentrata u rekonstrukciji kosti, počela je pomama za faktorima rasta. Termin „PRP“ (plazma bogata trombocitima), udružen sa konceptom faktora rasta, se proširio i ubrzo postao izraz koji se koristio za najrazličitije tehnike preparacije **(Del Corso 2012, Simonpieri 2012.)** Kako se za pripremu plazme bogate trombocitima koriste različiti protokoli tako počinje i velika konfuzija, vrlo često bez objašnjenja o karakterizaciji i arhitekturi koncentrata **(Mazzuco 2009.)** Zavedeni konceptom regeneracije faktorima rasta ključna uloga fibrina je potpuno zapostavljena, kao da 30 godina istraživanja hirurških adjuvanasa na bazi fibrina nije ni postojalo **(Weibrich 2001, 2002.)** Kao rezultat dobijena su brojna istraživanja o plazmi bogatoj trombocitima, čije su osobine ispitivane u in vitro i in vivo uslovima, čiji su rezultati kontradiktorni, kontraverzni i komplikovani za interpretaciju. U stomatologiji je to dovelo do opšteg utiska da plazma bogata trombocitima nije ono što se očekivalo **(Del Corso 2012, Simonpieri 2012.)** Paralelno sa razvitkom koncepta plazme bogate trombocitima, nekoliko godina kasnije, počinje da se razvija i druga generacija materijala inicijalno nazvana „PRF“ (fibrin obogaćen trombocitima). Zbog svojih odličnih osobina i jednostavnosti pripreme, vrlo brzo je prihvaćen u mogim hirurškim granama **(Dohan Ehrenfest 2010, Tunali 2013, Zumstein 2012.)**

Kako se u literaturi o PRP i PRF-u uvek javljao problem vezan za terminologiju i klasifikaciju (kao i za zapostavljene parametre kao što su koncentracija leukocita i arhitektura fibrina) mnogi autori su počeli da ističu potrebu za savremenom i preciznom klasifikacijom.

Dohan Ehrenfest i sar. su **2009.** godine objavili klasifikacioni sistem koji je potvrđen internacionalnim konsenzusom **(Dohan Ehrenfest, 2012.)**

Najsavremenija klasifikacija je iz 2013. godine i predložila ju je POSEIDO organizacija (Periodontology, Oral surgery, Esthetic and Implant Dentistry Open) za čiju osnovu je koristila klasifikaciju iz 2009. godine. U okviru ove klasifikacije, svi proizvodi su pregrupisani u opšti termin „ trombocitni koncentrat“, bez obzira na formu i ćelijski sadržaj. Takođe, podvučena je uloga koncentracije leukocita i arhitekture fibrina u potencijalnim kliničkim efektima **(Dohan Ehrenfest, 2013.)**

Ističu se četiri porodice koncentrata , na osnovu sadržaja leukocita i fibrina. Tečne trombocitne suspenzije su označene kao „PRP“ (sa ili bez leukocita) i čvrste trombocitne koncentrate, sa izraženom fibrinskom arhitekturom- „PRF“ (sa ili bez leukocita). Ova klasifikacija je prikazana u šemi br.1. i ima za cilj da olakša i uputi autore i čitaocima u tekuću situaciju i ukaže na perspektivu trombocitnih koncentrata koji se koriste u hirurgiji.

Šema br.1 Klasifikacija trombocitnih koncentrata (**Dohan Ehrenfest, 2013.**)

Klasa trombocitnoog koncentrata i terminologija	Metod dobijanja (generičko ime, kompanija, grad, država)
P-PRP (Pure Platelet Rich Plasma), Pre aktivacije (P-PRP gel , posle aktivacije)	AP - Cell separator PRP (experimental) - Vivostat PRF (Vivolution, Allerød, Denmark)
	MP - PRGF/Endoret (Preparation or Plasma Rich in Growth Factors, BTI BioTechnology Institute, Vitoria, Spain) - E-PRP (Eye Platelet-rich Plasma, experimental) - Nahita PRP (Nahita, Navarra, Spain)
L-PRP (Leukocyte- and Platelet-Rich Plasma), Pre aktivacije (L-PRP gel , posle aktivacije)	AP - PCCS PRP (Platelet Concentrate Collection System, 3I, Palm Beach Gardens, FL, USA) - SmartPreP PRP (Harvest Corp, Plymouth, MA, USA) - Magellan PRP (Magellan APS (Autologous Platelet Separator), Medtronic, Minneapolis, MN, USA) - Angel PRP (Angel Whole Blood Processing System (AWBPS), Sorin Group, Mirandola, Italy) - GPS PRP (Gravitational Platelet Separation System, Biomet Biologic, Warsaw, IN, USA)

	MP	<ul style="list-style-type: none"> - Friadent PRP (Friadent-Schütze, Vienna, Austria) - Curasan PRP (Curasan, Kleinostheim, Germany) - Regen PRP (Regen Laboratory, Mollens, Switzerland) - Plateltex PRP (Plateltex, Prague, Czech Republic) - Ace PRP (Surgical Supply and Surgical Science Systems, Brockton, MA, USA)
P-PRF (Pure Platelet Rich Fibrin) – fibrin obogaćen trombocitima bez leukocita	MP	Fibrinet PRFM (Cascade Medical, Wayne, NJ, USA)
L-PRF (Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin) – fibrin obogaćen trombocitima i leukocitima	MP	<ul style="list-style-type: none"> - Intra-Spin L-PRF (Intra-Lock, Boca Raton, FL, USA) - Titanium-prepared PRF (experimental)

U poslednjih nekoliko godina, u literaturi se nailazi na termin A-PRF (advanced platelet rich fibrin) tj. “poboljšani” fibrin obogaćen trombocitima. Ovaj termin se takođe odnosi na trombocitni koncentrat sa izraženom fibrinskom arhitekturom ali se u odnosu na L-PRF razlikuje u protokolu dobijanja (**Ghanaati, 2014.**) Metodologija dobijanja standardnog PRF ugruška je takva da se autologna krv centrifugira na 2700 obrtaja u minuti, tokom 12 minuta dok se za dobijanje A-PRF-a krv centrifugira na manjim brzinama -1500 obrtaja u minuti i tokom dužeg vremenskog perioda -14 minuta. Nove studije pokazuju da je ovakvom promenom protokola povećan broj trombocita u fibrinskom matriksu a monocitno/makrofagna aktivacija pojačana (**Ghanaati, 2014.**)

2.7. Faktori koji utiču na ishod terapije gingivalnih recesija

Ishod terapije gingivalnih recesija zavisi of više faktora. Mogu se podeliti u tri grupe (Šema br. 2):

1. Anatomske faktori:

Ovoj grupi faktora pripadaju anatomske specifičnosti i karakteristike gingivalne recesije i samog zuba. To su: tip recesije, stepen destrukcije alveolarne kosti, vertikalna dimenzija recesija, biotip gingivalnog tkiva, lokacija zuba na kome je prisutna recesija. Uspešna terapija gingivalne recesije može se očekivati u slučajevima kada postoji recesija I ili II klase po Milleru sa malom vertikalnom dimenzijom recesije (**Miller 1985.**) Ustanovljeno je da je predvidljiviji ishod terapije gingivalnih recesija na zubima gornje vilice (**Trombelli 1995.**) Posebna pažnja posvećena je gingivalnom biotipu. Došlo se do zaključka da deblji gingivalni biotip daje bolje terapijske rezultate, prvenstveno zbog veće zapremine tkiva (više kolagena i ekstracelularnog matriksa) i bolje vaskularizacije debljeg gingivalnog tkiva koji promovisu bolje zarastanje tkiva (**Hwang 2006.**)

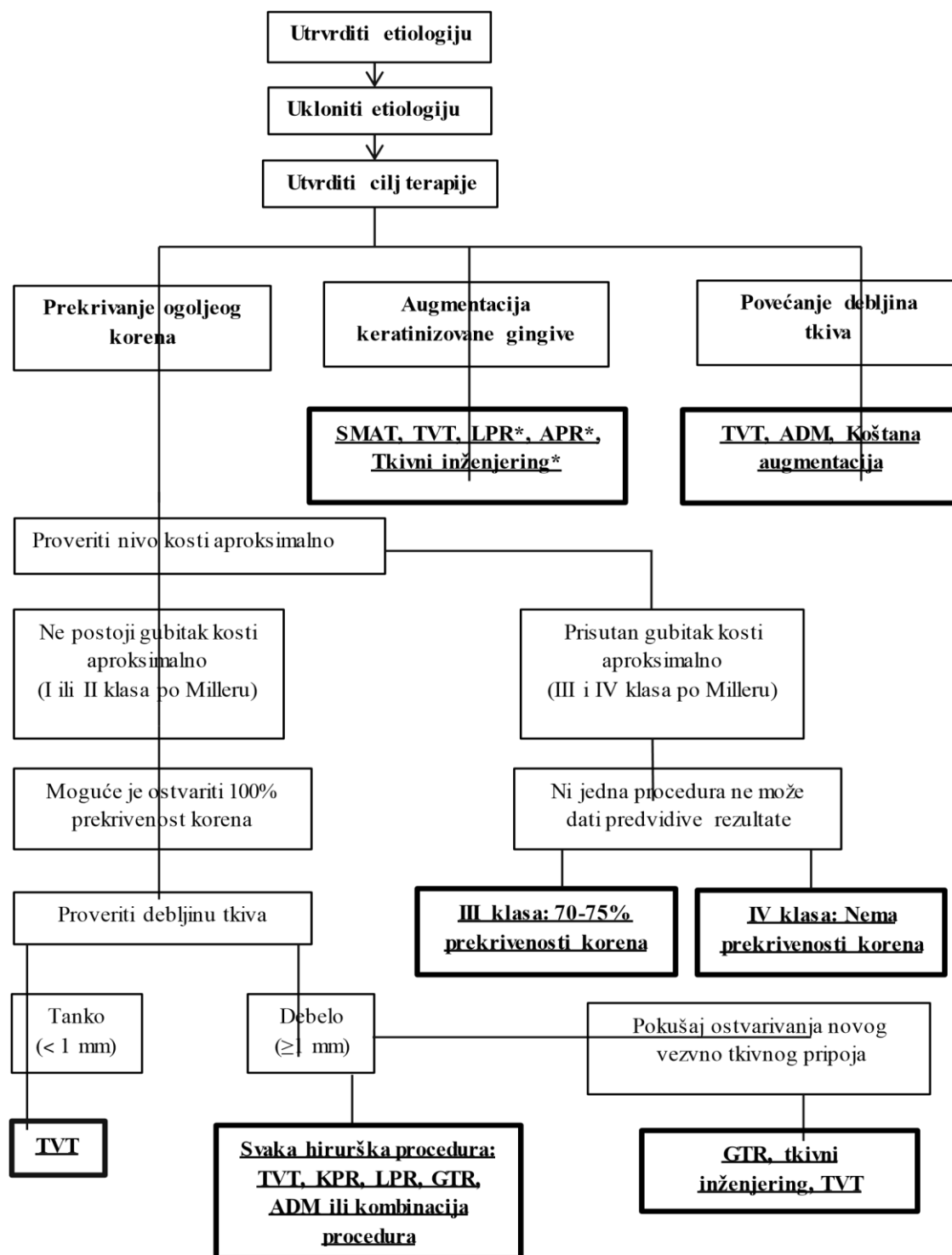
2. Navike i zdravstveno stanje pacijenta:

Ovde je reč o karakteristikama samog pacijenta, a to su oralna higijena, pušenje, prisustvo endokrinopatija ili imunodeficijencija, i psihološki profil pacijenta. Loša oralna higijena i neadekvatna tehnika pranja zuba su neki od etioloških faktora nastanka gingivalne recesije i samo njihovim eliminisanjem možemo očekivati uspeh hirurške terapije (**Wennstrom 1996.**) Pušenje kao faktor rizika u terapiji gingivalnih recesija je osetljiva tema prevažodno zbog rasprostranjenosti te pojave u populaciji. Brojni autori su ukazali da se kod pušača ispoljavaju slabiji terapijski rezultati (**Zucchelli 1998, Trombelli 1997, Martins 2006, Erley 2006.**) dok se u literaturi mogu pronaći radovi koji opovrgavaju prethodnu tvrdnju (**Harris 1994.**) Endokrinopatije, a posebno Diabetes mellitus, predstavljaju realan faktor koji negativno utiče na ishod hirurške terapije gingivalnih recesija, shodno mikrovaskularnim i imunološkim promenama koje ova bolest uzrokuje. Psihološki profil pacijenta odnosi se prvenstveno na odnos realnih mogućnosti terapije shodno kliničkoj situaciji i nerealnih očekivanja pacijenta.

3. Hirurški faktori:

Ovde se ne misli na izbor hirurške metode, nego na faktore koji utiču na izvođenje svake hirurške tehnike, a to su: kliničko iskustvo hirurga, tenzija režnja i kondicioniranje površine korena zuba. Iako su neke hirurške metode komplikovanije od drugih, te za izvođenje zahtevaju određenu hiruršku veštinu, kliničko iskustvo hirurga ne igra presudnu ulogu u ishodu terapije ukoliko se ispoštuju hirurški protokoli vezani za određenu intervenciju. Takođe, poređenje različitih tehnika kondicioniranja ogoljenog korena zuba nije pokazalo značajna klinička poboljšanja u odnosu na rezultate dobijene izostavljanjem ove procedure (**Oles 1985, Ibbott 1985, Trombelli 1996, Caffesse 2000.**) Sa druge strane, ukoliko prilikom ušivanja postoji izražena tenzija flapa, dolazi do negativnih terapijskih rezultata i recidiva (**Pini Prato 2000.**)

Šema 2. Pravilan izbor terapijske procedure u terapiji gingivalnih recesija, Leong i Wang 2011.



III CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Radna hipoteza ovog istraživanja je da se u terapiji izolovanih recesija gingive primenom membrane od fibrina bogatim trombocitima i leukocitima (L PRF) u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem postižu značajno bolji klinički rezultati u odnosu na primenu autotransplantata vezivnog tkiva (TVT) sa periostom u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem.

Iz postavljene hipoteze proizašao je cilj ovog istraživanja. Cilj je da se izvrši uporedna analiza efekata primene membrane fibrina obogaćenog trombocitima i leukocitima (L-PRF) u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem i autotransplantata vezivnog tkiva (TVT) sa periostom u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem, u terapiji izolovanih recesija gingive.

U ostvarenju cilja i potvrde radne hipoteze bilo je potrebno:

- Utvrditi vrednosti vertikalne dimenzije recesije, širine keratinizirane gingive i nivoa pripojnog epitela u kontrolnoj grupi
- Utvrditi vrednosti vertikalne dimenzije recesije, širine keratinizirane gingive i nivoa pripojnog epitela u eksperimentalnoj grupi.
- Utvrditi klinički uticaj L PRF-a na proces zarastanja primenom indeksa tkivnog zarastanja (ITZ)
- Utvrditi klinički uticaj TVT sa periostom na proces zarastanja primenom indeksa tkivnog zarastanja (ITZ)
- Izvršiti komparativnu analizu kliničkih rezultata primenjenih hirurških procedura u zbrinjavanju gingivalnih recesija.

IV MATERIЈAL I METOD

U cilju dobijanja što verodostojnijih podataka o efektima primenjenih mukogingivalnih, plastičnohirurških procedura u regionu recesije, formiran je metodološki koncept. Ovaj koncept je obuhvatio kliničko istraživanje sprovedeno kao klinička, komparativna, prospektivna studija.

4.1. Ispitanici

Istraživanjem je obuhvaćeno 20 osoba, nepušača, oba pola, uzrasta između 18-35 godina. Osnovni uslov za uključivanje u studiju je bilo prisustvo bilateralnih recesija gingive u regiji kaninusa i premolara, koje po Milerovoj klasifikaciji odgovaraju I i II klasi gingivalnih recesija, sa vidljivom gleđno-cementnom granicom.

Svi pacijenti su lečeni i observirani na klinici za stomatologiju Vojnomedicinske akademije (VMA) u Beogradu. Pacijenti su bili upoznati sa planom istraživanja, što su potvrdili pismenim pristankom.

Korišćeni su evidencioni istraživački kartoni u kojima su sadržani opšti podaci o ispitanicima, kompletna anamneza, kao i analize kliničkih parametara. Svi podaci su temeljno evaluirani radi objektivizacije postojećeg stanja parodontijuma i procene uspeha primenjenih hirurških rekonstruktivnih zahvata.

4.2. Kliničko istraživanje

Za obavljanje kliničkog istraživanja dobijena je saglasnost etičkog odbora, kao i potpisana saglasnost svakog pacijenta koji je učestvovao u istraživanju.

Ispitanici su ispunjavali sledeće kriterijume:

-prisustvo bilateralnih gingivalnih recesija u regionu premolara ili kaninusa gornje vilice;

-gingivalne recesije su pripadale I i II klasi po Milerovoj klasifikaciji, sa vidljivom cementno-gleđnom granicom, na bukalnoj strani.

Pored prisustva gingivalnih recesija, bilo je neophodno da pacijenti ispune i druge lokalne i opšte kriterijume kako bi učestvovali u studiji.

Lokalni kriterijumi :

- Odsustvo oboljenja potpornog aparata zuba;
- Odsustvo karijesa korena na zubima koji će biti podvrgnuti hirurškom zahvatu;
- Odsustvo klinastih erozija i miloliza
- Zubi koji će biti podvrgnuti zahvatu moraju biti intaktni i očuvanog vitaliteta;
- Zubi koji će biti podvrgnuti zahvatu moraju biti bez konzervativnih i protetskih nadoknada.
- Dobar nivo oralne higijene

Opšti kriterijumi:

- Dobro opšte zdravstveno stanje;
- Odsustvo sistemskih i imunoloških oboljenja;
- ukoliko su u pitanju pacijenti ženskog pola da su van perioda trudnoće i laktacije

Maksimalno je poštovan kriterijum da gingivalni defekti budu sa što većim stepenom morfološke sličnosti u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi. Ispitivanje je bazirano na takozvanom „split mouth“ dizajnu. Metodom slučajnog izbora, kod svakog ispitanika nezavisno od grupe u kojoj pripada je određeno koja će strana (leva ili desna) predstavljati eksperimentalnu, a koja kontrolnu grupu.

Eksperimentalnu grupu (PRF grupu) je činilo 20 pacijenata, odnosno 20 gingivalnih recesija (jedne polovine vilice) na kojima je urađena hirurška terapija koronarno pomerenog režnja u kombinaciji sa PRF membranom.

Kontrolnu grupu (TVT grupu) je činilo istih 20 pacijenata tj. 20 gingivalnih recesija (suprotne polovine vilice) kod kojih je primenjena terapija koronarno pomerenog režnja sa transplantatom vezivnog tkiva sa periostom (TVT).

Kod svih pacijenata su primenjene mere kauzalne terapije parodontopatije, sa ciljem smirivanja eventualnih znakova inflamacije gingive. Pacijenti su bili motivisani, detaljno upoznati i obučeni pravilnom održavanju oralne higijene.

4.2.1. Kliničko stanje parodontcijuma

Sva merenja su izvedena pre početka terapije, a potom šest, odnosno dvanaest meseci nakon hirurškog zahvata, parodontalnom sondom. Procena stanja parodontalnih tkiva kao i obima i tipa recesije izvedena je utvrđivanjem sledećih parametara:

-Vertikalna dimenzija recesije (VDR) - predstavlja udaljenost cementno gleđne granice od nivoa ivice gingive

-Širina keratinizirane gingive (ŠKG) - predstavlja udaljenost ivice gingive od mukogingivalne linije

-Nivo pripojnog epitela (NPE) - definiše se kao udaljenost cementno gleđne granice od koronarnog kraja pripojnog epitela

Radi objektiviziranja kliničkog stanja parodontcijuma i procene efekata primenjenih hirurških procedura korišćen je indeks tkivnog zarastanja (ITZ) (**Landry, 1988.**)

Šema br.3.

Šema br. 3: Indeks tkivnog zarastanja (ITZ)

ITZ	Stanje	Boja gingive	Odgovor na palpaciju	Granulaciono tkivo	Ivica incizije
1	Vrlo loše	>50% crvena	Krvarenje supuracija	Prisutno	Nije epitelizovana gubitak epitela ispod linije incizije
2	Loše	>50% crvena	Krvarenje	Prisutno	Nije epitelizovana sa eksponiranim vezivnim tkivom
3	Dobro	>25% <50% crvena	Nema krvarenja	Nema	Nije eksponirano vezivno tkivo
4	Vrlo dobro	<25% crvena	Nema krvarenja	Nema	Nije eksponirano vezivno tkivo
5	Odlično	100% ružičasta	Nema krvarenja	Nema	Nije eksponirano vezivno tkivo

Nivo oralne higijene je verifikovan primenom plak indeksa (PI) po Silness – Loe-u dok je klinička procena stanja gingive utvrđena primenom gingivalnog indeksa (GI) po Loe-Silness-u (**Dimitrijević 2011.**)

Postupak dobijanja fibrina obogaćenog trombocitima (PRF)

Klasičan postupak dobijanja PRF-a je razvio **Choukroun 2000.** godine u Francuskoj kako bi se izbegao zakon o zabrani manipulacije krvlju veštačkim agensima izdat od strane francuskog Ministarstva zdravlja. Ovaj postupak ne zahteva ni dodavanje antikoagulanasa a ni bovinog trombina (niti bilo kojeg trećeg agensa) već isključivo čistu, centrifugiranu vensku krv.

Protokol dobijanja PRF se mora poštovati kako bi se dobio odgovarajući kvalitet i kvantitet fibrinskog matriksa, leukocita, trombocita i faktora rasta. Postupak je veoma jednostavan, što olakšava upotrebu u svakodnevnoj praksi.

Uzet je uzorak venske krvi bez dodataka antikoagulansa, pomoću "BUTTERFLY" igle 24 G i epruvete od 10 ml. Krv se momentalno centrifugira na 2700 obrtaja u minutu, tokom 12 minuta. Zbog nedostatka antikoagulansa, trombociti se aktiviraju čim krv dođe u kontakt sa epruvetom što započinje kaskadnu reakciju koagulacije. Zbog toga, manipulacija krvlju mora biti brza, te od nje zavisi uspeh postupka. Ukoliko se manipulacija odvija sporo fibrin će se difuzno polimerizovati u epruveti što će dovesti do stvaranja premalog, nekonzistentnog ugruška. (**Dohan 2006.**) U ovom istraživanju korišćena je centrifuga "PRF DUO Choukroun"TM sa pripadajućim setom: kutijom, vakutanerom i epruvetama.

Posle centrifugiranja dobija se produkt koji se sastoji iz tri, lako uočljiva, sloja. Gornji sloj se sastoji od acelularnog supernatanta- plazme siromašne trombocitima (PPP-platelet poor plasma, engl.), fibrinski ugrušak bogat trombocitima se nalazi u sredini, dok donji sloj čine ćelije crvene krvne loze. Tako dobijeni fibrinski ugrušak se zajedno sa prikačenim slojem crvenih krvnih zrnaca uklanja iz epruvete, da bi se ovaj, potonji, sloj potom uklonio 2mm ispod linije koja ih razdvaja. Uklanjanjem fluida zarobljenog u fibrinskom matriksu dobija se veoma otporna, autologna fibrinska membrana. Pomoću PRF boksa se vrši kompresija i drenaža dobijenog preparata kako bi se formirala membrana željenog oblika i debljine. Slike br: 9 i 10 (Poglavlje:Prilozi).

PRF se tokom centrifugiranja polimerizuje prirodno i polako, a koncentracije trombina koje deluju na fibrinogen su gotovo fiziološke usled izostanka dodatog

bovinog trombina. Ovaj aspekt je krucijalan za utvđivanje trodimenzionalne organizacije fibrinske mreže. Fibrile fibrina mogu da se organizuju na dva različita biohemijska načina:

-u formi zgusnutih tetramolekularnih ili bilateralnih spojeva i

-u formi povezanih trimolekularnih ili ekvilateralnih spojeva (**Mosesson 2001.**)

Bilateralni spojevi su sastavljeni i od visoke koncentracije trombina što omogućava zadebljavanje fibrinskih polimera te dovodi do stvaranja veoma rigidne fibrinske mreže. Nasuprot tome, mesta sa niskom koncentracijom trombina su ona na ekvilateralnim spojevima. Na tim mestima se uspostavlja fina arhitektura fibrinske mrežice koja je pogodna da se u nju ugrade koncentrovani faktori rasta i omogući migracija ćelija (**Dohan 2006.**) Ovakva trodimenzionalana arhitektura ugruška daje potrebnu rigidnost (u smislu otpornosti) ali i elastičnost i fleksibilnost (neophodnu za manipulaciju tkivom).

Alfa granule trombocita, ugrađenih u fibrinsku mrežicu, sadrže faktore rasta :

PDGF, VEGF, EGF (**Su 2009.**) Zahvaljujući svojim svojstvima (diferencijacija stem ćelija, hemotksa i aktivacija fibroblasta, osteoblasta, angiogeneza) koja su već objašnjena u prethodnim poglavljima (**Dohan 2006.**), faktori rasta imaju važnu ulogu u regeneraciji parodonticijuma. PRF ima i odbrambenu ulogu zahvaljujući prisustvu leukocita i otpuštanju citokina kao što su IL-1, IL-4, IL-6, TNF alfa.

4.2.2. Hirurške tehnike primenjene u istraživanju

Kod kontrolne grupe (TVT grupa) primenjena je hirurška tehnika koronarno pomeřenog režnja pune debljine sa transplantatom vezivnog tkiva sa periostom (Allenova tehnika), koja predstavlja "zlatni standard" plastične mukogingivalne hirurgije u terapiji gingivalnih recesija. Površinska anestezija sa 2% benzokainom je aplikovana pre lokalne anestezije (2% lidokain sa adrenalinom 1: 50000). Nakon anesteziranja hirurškog regiona, izvedene su odgovarajuće incizije u zoni recesije. Kosim i vertikalnim incizijama koje polaze od gleđno cementne granice ka alveolarnoj mukozi bilateralno od recesije i koje su spojene sulkusnom incizijom, je

omogućeno odizanje trapezoidnog reznja pune debljine. Na ovaj način postiže se potpuno eksponiranje ogoljenog korena zuba, kao i defekta alveolarne kosti. Potom je izvedena ciljana bilateralna deepitelizacija vestibularnih papila interdentalne gingive, radi postizanja što veće kontaktne površine s koronarno pozicioniranim reznjem. U cilju mobilizacije mukoperiostalnog reznja i stvaranja uslova za njegovo koronarno pozicioniranje (bez tenzije), u apikalnoj zoni reznja izvedeno je presecanje periosta. Potom je eksponirana površina korena zuba bila mehanički obrađena uklanjanjem sloja promenjenog, nekrotičnog cementa, koji je bio eksponiran postojanjem recesije gingive. Ujedno je smanjen konveksitet eksponiranog dela korenske površine. Na ovaj način je u potpunosti pripremljeno mesto prijema transplantata vezivnog tkiva s periostom. Slike br: 18,19,25,27 (Poglavlje: Prilozi).

Autotransplantat vezivnog tkiva sa periostom uzet je iz regiona palatuma u predelu premolara tzv. "trap door" tenikom. Tehnika se sastoji od dve paralelne incizije na 2 do 3 mm od ivice slobodne gingive palatinalno. Prva incizija ide do alveolarne kosti a druga je paralelna sa površinom alveolarnog nastavka spajajući se na krajevima sa prvom incizijom. Tupom disekcijom transplantat veziva sa periostom se odvaja od koštane podloge i oštrom disekcijom u apikalnoj regiji rane mobiliše od podloge.

Nakon uzimanja transplantata, donor mesto je u potpunosti zatvoreno pojedinačnim šavovima. Nakon ove faze, eksponirani koren zuba, kao i deo koštane površine u regionu recesije, su prekriveni transplantatom, s periostom orjentisanim ka korenu i alveolarnoj kosti. Transplantat je fiksiran na mestu prijema pojedinačnim šavovima. Po fiksiranju, transplantat je u potpunosti prekriven koronarno pozicioniranim reznjem pune debljine, koji je fiksiran pojedinačnim šavovima (4,0 silk). Dve nedelje nakon hirurške intervencije, uklonjene su suture. Slike br: 16,17,20,21,22,23,24 (Poglavlje: Prilozi).

U eksperimentalnoj grupi (PRF grupi) takodje je primenjena Alenova tehnika koronarno pozicioniranog reznja, identičnim postupkom kao i kod kontrolne grupe. Mehanička obrada površine korena je urađena na identičan način. Razlika je u tome što je umesto transplantata vezivnog tkiva sa periostom korišćena membrana fibrina obogaćenog trombocitima (PRF). Zbog toga što je PRF membrana dobijena centrifugiranjem autologne krvi pacijenta (kao što je prethodno opisano), kod eksperimentalne grupe nije bilo potrebe za stvaranjem drugog hirurškog polja - donor

mesta. PRF membrana je na mestu prijema fiksirana madrac šavom i nakon toga prekrivena koronarno pozicioniranim režnjem pune debljine koji je fiksiran pojedinačnim suturama. Kao i kod kontrolne grupe, šavovi su uklonjeni nakon dve nedelje. U post-operativnom periodu pacijenti su se pridržavali posebnog režima ishrane i održavanja oralne higijene kako ne bi kompromitovali stabilnost šavova. Slike br: 11,12,13 (Poglavlje: Prilozi).

4.3. Statistička analiza

Podaci iz eksperimenta pripremljeni su za statističku analizu unošenjem u računarsku bazu podataka (Excel softverski paket). Podaci dobijeni statističkim analizama prikazani su tabelarno sa uključenim statističkim parametrima neophodnim za donošenje zaključaka u vezi ovih istraživanja.

Deskriptivne statistike rezultata dobijenih u ovom istraživanju dobijene su korišćenjem MEANS i UNIVARIATE procedura statističkog paketa SAS (**SAS Institute 2010**) za sve ispitivane osobine. Srednja vrednost i modus (najčešća vrednost) su prikazani kao mere centralne tendencije. Standardna greška, interkvartilni opseg i koeficijent varijacije su prikazani kao apsolutne i relativne mere disperzije. Takođe, prikazana je veličina uzorka za svaku grupu i izračunate su minimalne i maksimalne vrednosti i procentualna zastupljenost ovih vrednosti za odgovarajuće grupe uzoraka.

U analizama testiranja razlika u variranju osobina korišćena su dva pristupa.

Za analize rezultata ispitivanja tri osobine (vertikalne dimenzije recesije- VDR , širine keratinizovane gingive-ŠKG, nivoa pripojnog epitela- NPI) primenjene su neparametarske analize značajnosti razlika. Multivarijantna analiza (Wilks lambda test) je korišćena radi testiranja razlika srednjih vrednosti sve tri osobine zajedno u dva tretmana (terapija fibrinom bogatim trombocitima (PRF) i terapija transplantatom vezivnog tkiva (TVT)) procedurom RANK i GLM (**SAS Institute 2010**). Pošto su dobijene statistički značajne razlike dva tretmana u ovoj analizi, dalje su rađene pojedinačne analize svake osobine. Značajnost razlika srednjih vrednosti dva tretmana pojedinačnih osobina je testirana Wilcoxon-ovim testom (NPAR1WAY procedura (SAS Institute 2010)). Pošto je svaki od tri parametra praćen tokom tri perioda vremena

u svakom tretmanu testirane su razlike srednjih vrednosti ta tri perioda korišćenjem Wilcoxon-ovog "Signed Rank" testa.

Za statističku analizu i procenu promena gingivalnog i plak indeksa korišćen je studentov t test.

Svi testovi rađeni su na nivou pouzdanosti od $p < 0.05$. Statističke razlike smatraju se značajnim kada je određena dobijena vrednost veća od kritične.

V REZULTATI

Rezultati ovog istraživanja obrađeni su ranije navedenim statističkim metodama a prikazani su pomoću odgovarajućih tabela i grafikona.

U okviru ove kliničke studije istraživanje je sprovedeno na 20 pacijenata podeljenih u dve grupe. U eksperimentalnoj grupi praćeni su rezultati hirurške procedure koronarno pomerenog režnja sa fibrinom obogaćenim trombocitima (PRF) u rešavanju problema izolovane recesije. U kontrolnoj grupi evaluirani su efekti primene transplantata vezivnog tkiva (TVT) u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem.

Efekti primenjenih rekonstruktivnih hirurških metoda procenjivani su pomoću kliničkih parametara pre hirurške intervencije (nultog dana), šestog i dvanaestog meseca od intervencije.

Svi pacijenti su završili istraživanje. Nije bilo slučajeva dehiscencije šavova u operativnim regijama. Terapijske efekte u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi verifikovali smo objektivnim parametrima: vertikalnom dimenzijom recesije, širinom keratinizovane gingive i nivoom pripojnog epitela.

5.1. Vrednosti parametara u eksperimentalnoj (PRF) grupi

Vertikalna dimenzija recesije (PRF)

Vertikalna dimenzija recesije predstavlja udaljenost gingivalne ivice od gleđnocementne granice. Prosečna vrednost VDR u grupi tretiranoj fibrinom obogaćenim trombocitima u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem pre hirurškog zahvata iznosila je $4,95 \pm 0,22$ mm. Nakon prvog observacionog perioda, šestog meseca od intervencije, zabeležena je statistički signifikantna redukcija ($S=105$, $p < 0,01$) vrednosti VDR parametra $0,30 \pm 0,13$ mm. Dvanestog meseca od intervencije prosečna vrednost VDR je iznosila $0,35 \pm 0,11$ mm, što je takođe statistički signifikantno u odnosu na stanje pre terapije ($S = 105$, $p < 0,01$). Razlika prosečnih promena između vrednosti VDR 6. i 12. meseca nije statistički značajna ($S = 1,5$, $p > 0,05$). Tabele br.2 i 3.

Tabela br.2: Vrednosti VDR u PRF grupi

VDR	PRF									
	N	Srednja vrednost	Najčešća vrednost	Std. greška	Najviša vrednost	%	Najniža vrednost	%	interk v. opseg	Koef. varij.
0	20	4.95	5	0.22	6	35	3	10	2	20
6	20	0.30	0	0.13	2	5	0	75	0.5	190
12	20	0.35	0	0.11	1	35	0	65	1	140

Tabela br.3: Statistička značajnost promene vrednosti VDR u PRF grupi tokom vremena

VDR	PRF	
	S statistika	P
0-6	105	0.0001
0-12	105	0.0001
6-12	-1.5	1.0000

Širina keratinizovane gingive (ŠKG)

Širina keratinizovane gingive predstavlja merenu vrednost udaljenosti ivice gingive od mukogingivalne linije. Radi se o veoma značajnom parametru za kvalitetnu procenu efekata primenjene terapije. Srednja vrednost ŠKG izmerena u eksperimentalnoj (PRF) grupi pre intervencije iznosila je $1,65 \pm 0,23$ mm. Nakon šest meseci zabeleženo je proširenje zone keratinizovane gingive i ova vrednost je iznosila $3,90 \pm 0,22$ mm, što je statistički značajno ($S=105$, $p < 0,01$). Dvanaestog meseca od intervencije vrednost ŠKG se povećava na $4.35 \pm 0,19$ mm, što je statistički

signifikantno u odnosu na vrednosti pre terapije ($S= 105$, $p<0,01$). Razlika prosečnih vrednosti ŠKG dvanaestog i šestog meseca je takođe statistički značajna ($S= 22,5$; $p<0,05$) Tabele br.4 i 5..

Tabela br.4: Vrednosti ŠKG u PRF grupi

PRF										
ŠKG	N	Srednja vrednost	Najčešća vrednost	Std. greška	Najviša vrednost	%	Najniža vrednost	%	interkv. opseg	Koef. varij.
0	20	1.65	1.00	0.23	4	5	0	10	1	63
6	20	3.90	4	0.22	6	5	2	5	1.5	25
12	20	4.35	4	0.19	6	10	3	15	1	17

Tabela br.5: Statistička značajnost promene vrednosti ŠKG u PRF grupi tokom vremena

ŠKG	PRF	
	S statistika	P
0-6	-105	0.0001
0-12	-105	0.0001
6-12	-22.5	0.0195

Nivo pripojnog epitela (NPE)

Nivo pripojnog epitela predstavlja merenu udaljenost glednocementne granice od dna parodontalnog džepa. Ovaj parametar objektivno opisuje nivo i stepen razaranja parodontalnih tkiva.

Srednja vrednost NPE u PRF grupi, pre intervencije, je iznosila $5,9\pm 0,24$ mm. Nakon šest meseci od hirurške intervencije srednja vrednost ovog parametra je smanjena na

1,95±0,11 mm, što je i statistički značajno (S=105,p<0,01). Dvanaestog meseca od intervencije ustanovljeno je povećanje ove vrednosti u odnosu na stanje šestog meseca. Prosečna vrednost NPE dvanaestog meseca je iznosila 2,15±0,08 mm. U odnosu na vrednosti pre tretmana i ovaj rezultat pokazuje statističku značajnost (S=05, p<0,01). Razlika promena između dvanaestog i šestog meseca, međutim, nije statistički značajna (S=7, p>0,05).Tabele br.6 i 7.

Tabela br.6: Vrednosti NPE u PRF grupi

NPE	PRF									
	N	Srednja vrednost	Najčešća vrednost	Std. greška	Najviša vrednost	%	Najniža vrednost	%	interkv. opseg	Koef. varij.
0	20	5.9	5	0.24	8	5	4	5	2	18
6	20	1.95	2	0.11	3	10	1	15	0	26
12	20	2.15	2	0.08	3	15	2	85	0	17

Tabela br.7: Statistička značajnost promene vrednosti NPE u PRF grupi tokom vremena

NPE	PRF	
	S statistika	P
0-6	105	0.0001
0-12	105	0.0001
6-12	-7	0.2188

5.2 Vrednosti parametara u kontrolnoj (TVT) grupi

Vertikalna dimenzija recesije

Prosečne vrednosti vertikalne dimenzije recesije, u grupi tretiranoj transplantatom vezivnog tkiva (TVT) u kombinaciji sa koronarno pozicioniranim režnjem, pre hirurške intervencije su iznosile $4,2 \pm 0,22$ mm. Nakon šest meseci ova vrednost se smanjuje na $0,45 \pm 0,13$ mm i ova razlika pokazuje statističku značajnost ($S=105, p<0,01$). Posle dvanaest meseci srednja vrednost VDR iznosila je $0,65 \pm 0,15$ mm. I ova razlika pokazuje statističku značajnost u odnosu na stanje pre intervencije ($S=105, p<0,01$). Razlika vrednosti VDR između dvanaestog i šestog meseca nema statističku vrednost ($S=-9, p>0,05$). Tabele br.8 i 9.

Tabela br.8: Vrednosti VDR u TVT grupi

TVT										
VDR	N	Srednja vrednost	Najčešća vrednost	Std. greška	Najviša vrednost	%	Najniža vrednost	%	interkv. opseg	Koef. varij.
0	20	4.2	4	0.22	6	15	3	25	1.5	24
6	20	0.45	0	0.13	2	5	0	60	1	134
12	20	0.65	0	0.15	2	10	0	45	1	103

Tabela br.9: Statistička značajnost promene vrednosti VDR u TVT grupi tokom vremena

VDR	TVT	
	S statistika	P
0-6	105	0.0001
0-12	105	0.0001
6-12	-9	0.2891

Širina keratinizovane gingive (ŠKG)

Prosečna vrednost širine keratinizovanog tkiva u kontrolnoj grupi pre mukogingivalnog hirurškog zahvata iznosila je $1,65 \pm 0,24$ mm. Šest meseci kasnije evidentirano je statistički značajno uvećanje širine keratinizovane gingive od $3,15 \pm 0,15$ mm ($S=74,5$; $p<0,01$). Nakon dvanaest meseci srednja vrednost je iznosila $3,20 \pm 0,12$ mm, što je, takođe statistički značajno u odnosu na stanje pre intervencije ($S=76,5$; $p<0,01$). Razlika između prosečnih vrednosti nakon 6 i nakon 12 meseci nije pokazala statističku značajnost ($S=-1,5$; $p>0,05$). Tabele 10 i 11.

Tabela br.10: Vrednosti ŠKG u TVT grupi

ŠKG	TVT									
	N	Srednja vrednost	Najčešća vrednost	Std. greška	Najviša vrednost	%	Najniža vrednost	%	interkv. opseg	Koef. varij.
0	20	1.65	2	0.24	4	5	0	15	1	66
6	20	3.15	3	0.15	4	25	1	5	0.5	21
12	20	3.20	3	0.12	4	25	2	5	0.5	16

Tabela br. 11: Statistička značajnost promene vrednosti ŠKG u TVT grupi tokom vremena

ŠKG	TVT	
	S statistika	P
0-6	-74.5	0.0004
0-12	-76.5	0.0001
6-12	-1.5	1.0000

Nivo pripojnog epitela (NPE)

Srednja vrednost nivoa propojnog epitela unutar TVT grupe, pre hirurškog zahvata bila je $5,75 \pm 0,19$ mm. Evidentirana je statistički značajna redukcija ($S=105$, $p<0,01$) srednjih vrednosti ovog parametra šest meseci kasnije, koja je iznosila $2,25 \pm 0,12$ mm. Posle dvanaest meseci ova vrednost je iznosila $2,35 \pm 0,11$ mm i u odnosu na stanje pre terapije pokazuje statističku značajnost ($S=105$, $p<0,01$). Razlika srednjih vrednosti između 12. i 6. meseca ne pokazuje statističku signifikantnost ($S=-3,5$; $p>0,05$). Tabele 12 i 13.

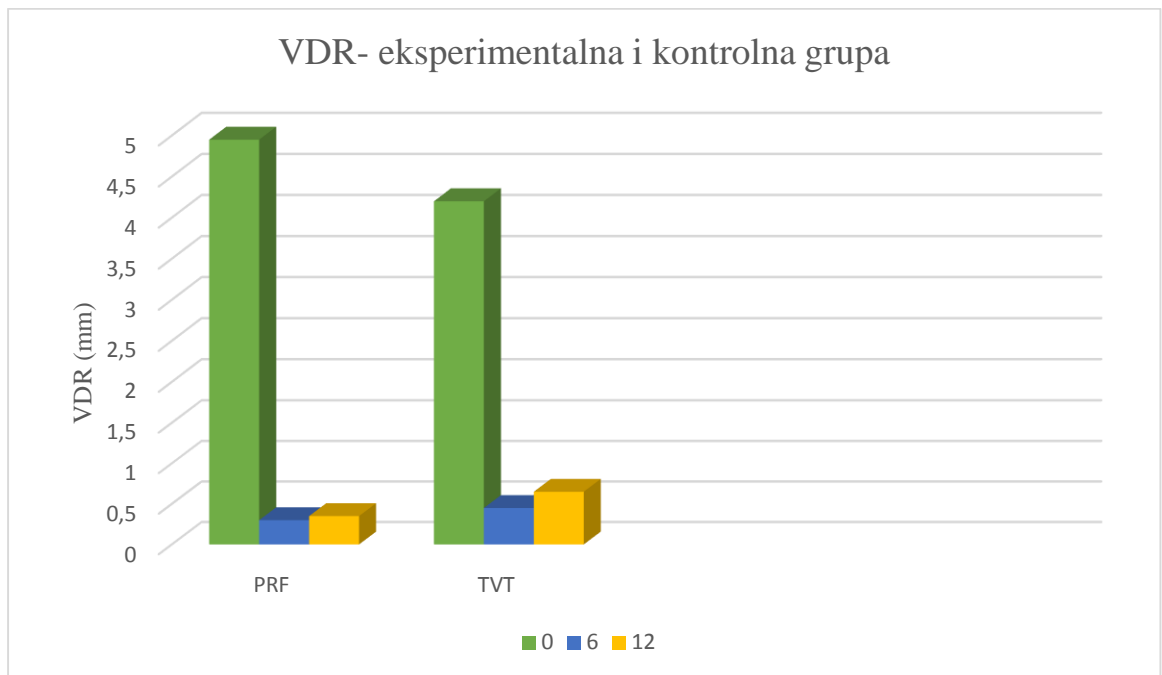
Tabela br.12: Vrednosti NPE u TVT grupi

NPE	TVT									
	N	Srednja vrednost	Najčešća vrednost	Std. greška	Najviša vrednost	%	Najniža vrednost	%	interkv. opseg	Koef. varij.
0	20	5.75	6	0.19	7	20	4	5	1	15
6	20	2.25	2	0.12	3	30	1	5	1	24
12	20	2.35	2	0.11	3	35	2	65	1	21

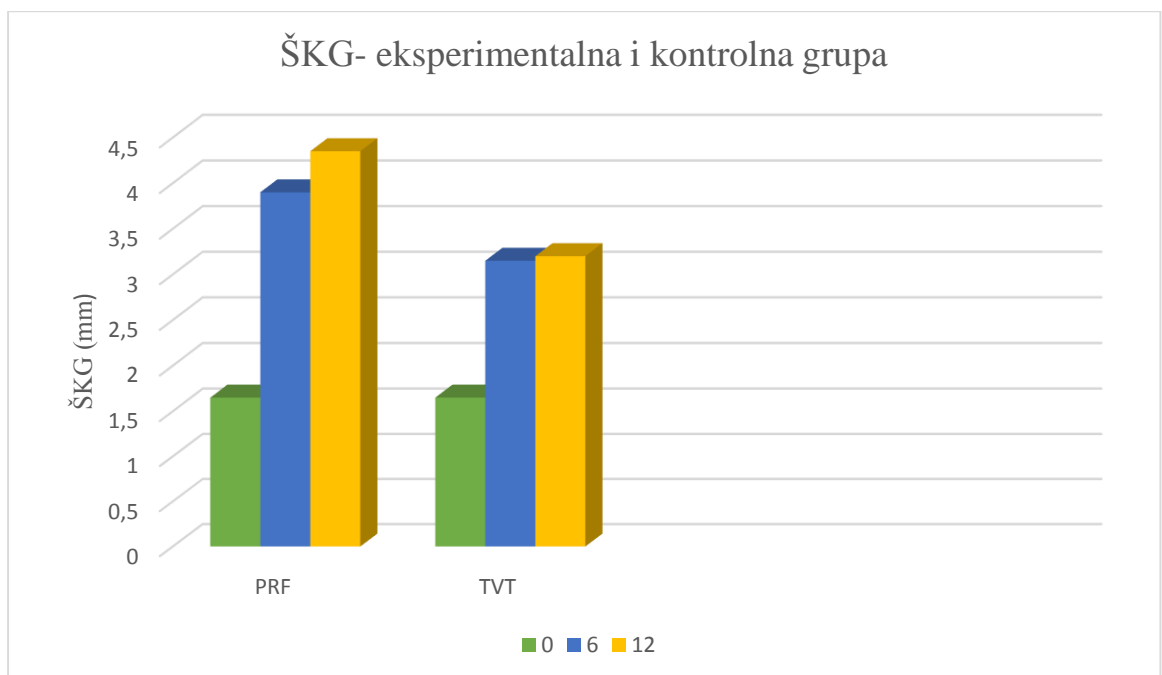
Tabela br. 13: Statistička značajnost promene vrednosti NPE u TVT grupi tokom vremena

NPE	TVT	
	S statistika	P
0-6	105	0.0001
0-12	105	0.0001
6-12	-3.5	0.6875

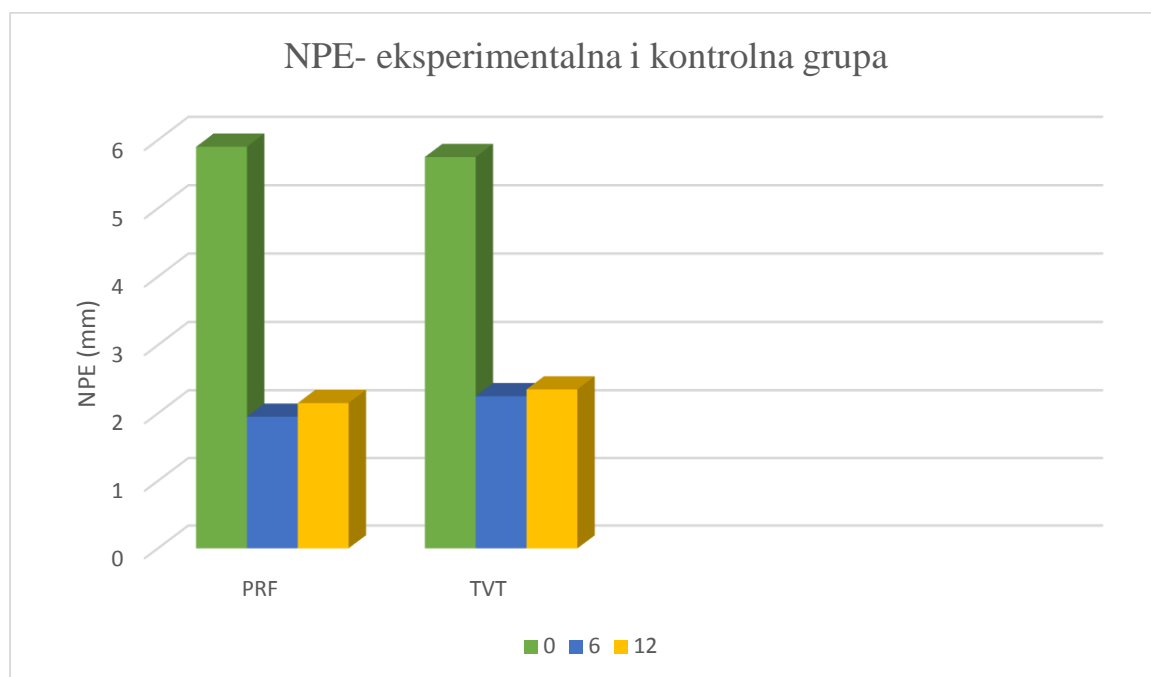
Grafikon br.1: Srednje vrednosti vertikalne dimenzije recesije u eksperimentalnoj (PRF) i kontrolnoj (TVT) grupi 0, 6. i 12. meseca od intervencije



Grafikon br. 2 : Srednje vrednosti širine keratinizovane gingive u eksperimentalnoj (PRF) i kontrolnoj (TVT) grupi 0, 6. i 12. meseca od intervencije



Grafikon br.3: srednje vrednosti nivoa pripojnog epitela u eksperimentalnoj (PRF) i kontrolnoj (TVT) grupi 0, 6. i 12. meseca od intervencije



5.3. Komparacija prosečnih promena vrednosti parametara između eksperimentalne i kontrolne grupe

Poređenjem prosečnih promena vrednosti vertikalne dimenzije recesije nakon šest meseci od intervencije ne uočavamo statističku značajnost ($S=381$, $p>0,05$) između rezultata u kontrolnoj (TVT) i eksperimentalnoj (PRF) grupi. Statistička signifikantnost se ne zapaža ni nakon dvanaest meseci od intervencije ($S=363$, $p>0,05$). Tabela br.14.

Tabela br.14: Statistička značajnost promene vrednosti VDR tokom vremena između eksperimentalne i kontrolne grupe

	VDR	
	statistika	P
6. mesec	381	0.3612
12. mesec	363	0.1597

Proširenje zone keratinizovane gingive u eksperimentalnoj (PRF) grupi je u proseku veće nego u kontrolnoj (TVT) grupi. Ta razlika pokazuje statističku značajnost i nakon šest meseci (S=499, p<0,05) i nakon dvanaest meseci od intervencije (S=551, p<0,01). Tabela br.15.

Tabela br.15: Statistička značajnost promene vrednosti ŠKG tokom vremena između eksperimentalne i kontrolne grupe

	ŠKG	
	statistika	P
6. mesec	499	0.0127
12. mesec	551	0.0002

Komparacijom prosečnih promena vrednosti za nivo pripojnog epitela između TVT i PRF grupe nisu dobijeni statistički značajni podaci razlike efekata ove dve terapije, ni nakon šest meseci (S=385, p>0,05) ni nakon dvanaest meseci (S=370, p>0,05).

Tabela br.16.

Tabela br.16: Statistička značajnost promene vrednosti NPE tokom vremena između eksperimentalne i kontrolne grupe

	NPE	
	statistika	P
6. mesec	358	0.0915
12. mesec	370	0.1623

Rezultati multivarijantne analize o razlikama između dva tretmana na osnovu tri osobine zajedno prikazani su u tabeli br.17.

Tabela br.17: Statistička značajnost razlika između tretmana na osnovu tri osobine zajedno

	F vrednost	P
VDR6 - ŠKG6 - NPE6	4.44	0.0093
VDR12 – ŠKG12 – NPE12	13.05	0.0001

Ovi podaci (Wilks Lambda Test) pokazuju da kada posmatramo tri svojstva zajedno dobijamo statistički značajnu razliku između dva tretmana tj. eksperimentalne i kontrolne grupe. Pošto smo statistički značajne razlike između dve grupe posle 6 meseci dobili samo u poređenju širina keratinizovane gingive očigledno je da samo ova osobina doprinosi ukupno značajnim razlikama ova dva tretmana. Isto važi i za osobine merene posle 12 meseci ($P < 0.05$).

5.4. Indeks tkivnog zarastanja

Objektivna procena izgleda tkiva u fazi ranog zarastanja izvedena je pomoću indeksa tkivnog zarastanja. Sedmog dana nakon hirurške intervencije u okviru eksperimentalne (PRF) grupe evidentirana je vrednost ITZ $3,15 \pm 0,22$. Četrnaestog dana ova vrednost raste na $4,25 \pm 0,16$, da bi 21. dana iznosila $4,85 \pm 0,08$. Komparacijom srednjih promena vrednosti u okviru eksperimentalne grupe, primećena je statistička značajnost između svih observacionih intervala (između 7. i

14. dana $S=-60, p<0,01$; između 7. i 21. dana $S=-85,5, p<0,01$; između 14. i 21. dana $S=-33, p<0,05$) Tabela 18 i 19.

Tabela br.18: Vrednosti ITZ u PRF grupi

ITZ	PRF									
	N	Srednja vrednost	Najčešća vrednost	Std. greška	Najviša vrednost	%	Najniža vrednost	%	interkv. opseg	Koef. varij.
7	20	3.15	3	0.22	5	10	1	5	1	31
14	20	4.25	4	0.16	5	40	3	15	1	17
21	20	4.85	5	0.08	5	85	4	15	0	7

Tabela br.19: Statistička značajnost razlika ITZ-a u PRF grupi u različitim vremenskim intervalima

ITZ	PRF	
	S statistika	P
7-14	-60	0.0001
14-21	-33	0.0010
7-21	-85.5	0.0001

U okviru kontrolne (TVT) grupe sedmog dana od hirurške intervencije zabeležena je vrednost indeksa tkivnog zarastanja od $2,55\pm 0,15$. Posle sedam dana (14. dana) ova vrednost je iznosila $3,75\pm 0,10$, a 21. dana vrednost ITZ se popela na $4,55\pm 0,11$. Statističkom obradom podataka dobijena je informacija da je promena razlika vrednosti u sva tri intervala, u okviru kontrolne grupe, statistički signifikantna (između 7. i 14. dana $S=-85,5, p<0,01$; između 7. i 21. dana $S=-105, p<0,01$; između 14. i 21. dana $S=-60, p<0,01$). Tabele 20 i 21.

Tabela br.20: Vrednosti ITZ u TVT grupi

TVT										
ITZ	N	Srednja vrednost	Najčešća vrednost	Std. greška	Najviša vrednost	%	Najniža vrednost	%	interkv. opseg	Koef. varij.
7	20	2.55	3	0.15	4	5	1	5	1	27
14	20	3.75	4	0.10	4	75	3	25	0.5	12
21	20	4.55	5	0.11	5	55	4	45	1	11

Tabela br.21: Statistička značajnost razlika ITZ-a u TVT grupi u različitim vremenskim intervalima

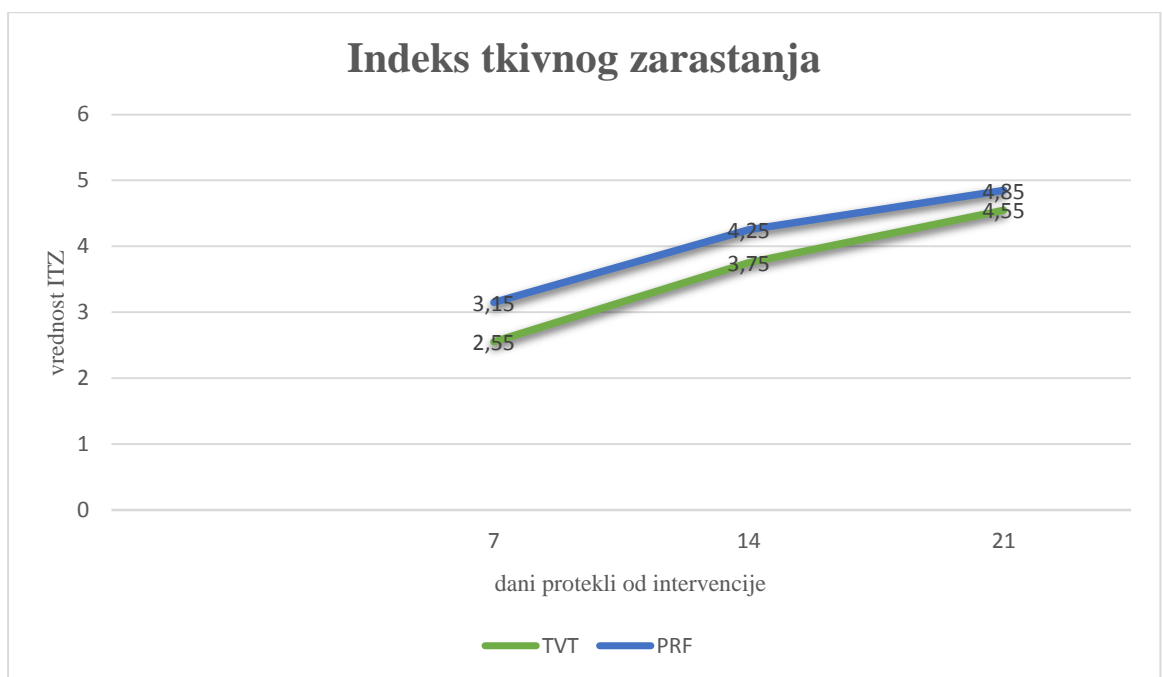
ITZ	TVT	
	S statistika	P
7-14	-85.5	0.0001
14-21	-60	0.0001
7-21	-105	0.0001

Međugrupnom komparacijom srednjih promena vrednosti nije uočena statistički značajna razlika indeksa tkivnog zarastanja ni za jedan observacioni period. Rezultati su prikazani u tabeli br.22.

Tabela br.22: Statistička značajnost razlika promena vrednosti ITZ-a između eksperimentalne i kontrolne grupe

	ITZ	P
	statistika	
7. dan	483	0.0388
14. dan	490	0.0187
21. dan	470	0.0495

Grafikon br.4: Promena prosečnih vrednosti ITZ-a tokom vremena u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi



5.5 Plak indeks (Pi) i gingivalni indeks (Gi)

Za kompletnu procenu efekata primenjenih mukogingivalnih hirurških procedura u rešavanju problema izolovanih gingivalnih recesija veoma su važna sledeća dva parametra: nivo oralne higijene je verifikovan primenom plak indeksa (PI) po Silness – Loe-u dok je klinička procena stanja gingive utvrđena primenom gingivalnog indeksa (GI) po Loe-Silness-u.

U okviru eksperimentalne (PRF) grupe zabeležena je statistički značajna redukcija vrednosti plak indeksa za $1,04 \pm 0,45$ ($p < 0,01$) kao i gingivalnog indeksa $1,26 \pm 0,37$ ($p < 0,01$), nakon 12 meseci od hirurške intervencije.

Slična tendencija evidentirana je i u okviru kontrolne (TVT) grupe. Godinu dana nakon hirurške procedure evidentirano je smanjenje srednje vrednosti plak indeksa od $0,98 \pm 0,31$ dok je redukcija srednjih vrednosti gingivalnog indeksa iznosila $1,22 \pm 0,41$.

Komparacijom promena vrednosti Gi i Pi između eksperimentalne i kontrolne grupe nije se došlo do statistički značajnih podataka. Tabela br. 23.

Tabela br.23: Statistička značajnost promena srednjih vrednosti Gi i Pi

Δ	Δ PRF	Δ TVT	T	p
Pi	$1,04 \pm 0,45$	$0,98 \pm 0,31$	1,21	$> 0,05$
Gi	$1,26 \pm 0,37$	$1,22 \pm 0,41$	1,11	$> 0,05$

*studentov t test

VI DISKUSIJA

U toku razvoja parodontopatije destrukcija parodontalnog tkiva, u najvećem broju slučajeva, uslovljava nastanak izolovanih ali mnogo češće generalizovanih recesija gingive. Njihov značaj se ogleda u funkcionalnim i estetskim posledicama do kojih dovodi. Ne sme se zaboraviti činjenica da ukoliko se ne sanira, gingivalna recesija postaje jedan od favorizujućih faktora koji dovode do progresije patološkog procesa u parodontcijumu. Iz tog razloga neophodno je blagovremeno sprovesti odgovarajuću terapiju gingivalne recesije.

Opisane su mnogobrojne terapijske procedure i različiti principi u terapiji gingivalnih recesija. Ono što je zajedničko svim terapijskim procedurama je namera da se postigne regeneracija izgubljenih parodontalnih tkiva u regionu zuba sa gingivalnom recesijom. Ovaj cilj terapije je u svakodnevnoj kliničkoj praksi i dalje teško dostižan, prvenstveno zbog mnogobrojnih faktora i okolnosti koje utiču na njegovo ostvarivanje, ali isto tako, predstavlja ideal u čijem pravcu idu stremljenja u savremenoj parodontologiji. Zbog toga je postizanje regeneracije izgubljenih parodontalnih tkiva, u svakoj kliničkoj situaciji, zadatak koji savremena parodontologija nameće kao utimativni cilj.

U realnim kliničkim situacijama se nastoji postizanju maksimuma koji se ogleda u eliminaciji gingivalne recesije uz ispunjavanje zadovoljavajućih estetskih zahteva i ostvarivanje stabilnih i dugotrajnih rezultata. Ni ovaj, realan cilj, nije uvek ostvariv ali je lakše dostižan, zbog ograničenja i specifičnosti koji gingivalna recesija nosi sa sobom. Tu se prvenstveno misli na anatomske karakteristike gingivalne recesije ali i specifičnosti regiona zuba na kome se ispoljava. Uzimajući u obzir sva ova ograničenja dolazi se do zaključka da nije svaka terapijska procedura primenjiva u svakoj kliničkoj situaciji, i da se cilj ne može ostvariti svakom hirurškom tehnikom, u svakom kliničkom slučaju.

Pored svih prethodno opisanih hirurških principa, u terapiji gingivalnih recesija zuba gornje vilice najčešće se primenjuju bilaminarne tehnike među kojima se izdvaja transplantat vezivnog tkiva u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem (Langer & Langer 1985., Allen 1994.). **Chambrone 2010.** predstavlja ovu tehniku kao metodu izbora u rešavanju problema gingivalne recesija na zubima gornje vilice u odnosu na druge terapijske pristupe. Ovaj stav uslovljen je rezultatima nekoliko meta-analiza. Međutim, navedena tvrdnja je i dalje predmet diskusija - postoje oni koji je podržavaju kao i oni koji je osporavaju. Ono što je neosporno jesu rezultati dobijeni

evaluacijom brojnih meta-analiza i preglednih radova u kojima su upoređivani rezultati ostvareni različitim terapijskim pristupima u terapiji gingivalne recesije koji govore u prilog tezi da je primena transplantata vezivnog tkiva u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem **metoda izbora u terapiji gingivalnih recesija ("zlatni standard")**.

Chambrone i saradnici u preglednom radu iz **2008.** analiziraju rezultate 23 randomizovane kliničke studije u kojima se transplantat vezivnog tkiva upoređuje sa brojnim procedurama koje se primenjuju u terapiji gingivalne recesije (koronarno pomereni režanj, koronarno pomereni režanj u kombinaciji sa Amelogeninom, acelularni dermalni matriks u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem, slobodni mukozni autotransplantat, tehnike usmerene tkivne regeneracije, primena plazme bogate trombocitima). Klinički parametri koji su analizirani u ovoj studiji su redukcija gingivalne recesije, prosečna prekrivenost ogoljenog korena zuba, promena u širini keratinizovane gingive i nivou pripojnog epitela. Rezultati ukazuju da u pogledu redukcije gingivalne recesije, prosečne prekrivenosti ogoljenog korena zuba, kao i proširenja zone keratinizovane gingive primena transplantata vezivnog tkiva daje statistčki značajno bolje rezultate nego ostale procedure, te da se sa pravom može smatrati za tzv. **zlatni standard** u terapiji gingivalnih recesija.

Kako bismo naučno potvrdili tezu da je transplantat vezivnog tkiva zlatni standard u terapiji gingivalnih recesija moramo da uporedimo dostupne naučne rezultate dobijene primenom transplantata vezivnog tkiva sa rezultatima dobijenim primenom ostalih hirurških terapijskih procedura koje se primenjuju u terapiji gingivalnih recesija.

1. Koronarno pomereni režanj je hirurška procedura koja se u najvećoj meri koristi kao supstituciona terapija za transplantat vezivnog tkiva u zbrinjavanju gingivalnih recesija. Iako se primenom koronarno pomerenog režnja postižu zadovoljavajući klinički rezultati (**Zucchelli 2000., 2009.**) nepohodno je da se ispune odgovarajući anatomorfološki preduslovi koji karakterišu samu gingivalnu recesiju kako bi navedena terapijska procedura dala zadovoljavajuće rezultate. Ti preduslovi su: recesije I klase po Milleru sa vertikalnom dimenzijom manjim od 4 mm, debljina gingivalnog tkiva veća od 0,8 mm, i zadovoljavajuća širina pripojne gingive u regionu apikalno od recesija (**Allen 1989., Baldi 1999., Huang 2005.**) Kada se ispune ovi uslovi, koronarno

promereni reżanj može da dovede do uspeha u prekrivanju ogoljenog korena zuba. Problem primene koronarno pomerenog reżnja u terapiji gingivalnih recesija nastaje kada ovi preduslovi nisu ispunjeni. Primena transplantata vezivnog tkiva ne zahteva da ti isti preduslovi budu ispunjeni da bi se postigli zadovoljavajući rezultati zato što transplantat vezivnog tkiva ima sposobnost da pozitivno menja gingivalni biotip i dovodi do proširenja zone keratinizovane gingive (**Edel 1974.**) Rezultati meta-analiza i preglednih radova zaključuju da je primena koronarno pomerenog reżnja inferiorna u proširivanju zone keratinizovane gingive i zadebljanju gingivalnog tkiva u odnosu na primenu transplantata vezivnog tkiva u terapiji gingivalnih recesija (**Chambrone 2008., 2010.**)

2. Usmerena tkivna regeneracija (GTR) je koncept koji je prvi opisao **Melcher 1976.** i koji se zasniva na pasivnoj regeneraciji u parodontijumu. Cilj GTR procedura je da se primenom membrana kao bioloških barijera obezbedi optimalan prostor za usmerenu regeneraciju izgubljenih parodontalnih tkiva. Iako ovaj koncept sjajno zvuči u teoriji njegova praktična primena je pokazala najveći nedostatak u pravilnom aplikovanju i fiksiranju membrane, te očuvanju njene stabilne pozicije dugotrajno u periodu zarastanja - membrana mora biti intimno priljubljena uz površinu korena zuba tokom celog perioda zarastanja. Takođe, prilikom primene tehnika GTR-a je neophodno da postoji pozitivan gingivalni biotip, tj. da mora da postoji odgovarajuću debljina trapezoidnog reżnja kako bi bila omogućena adekvatna ishrana reżnja. U suprotnom može doći do njegove nekroze pošto se primenom membrane gubi vaskularizacija reżnja iz alveolarne kosti (**Tuzum 2003.**) Poređenja kliničkih rezultata dobijenih primenom GTR sa rezultatima dobijenih primenom TVT jasno stavlja do znanja da TVT dovodi do većeg stepena prekrivenosti korena zuba, dok samo TVT ostvaruje promenu gingivalnog biotipa (**Oates 2003., Rocuzzo 2002.**)
3. Acelularni dermalni matriks (Alloderm[®], Life Cell, SAD) je svoju primenu u terapiji gingivalnih recesija našao kao zamena za transplantat vezivnog tkiva. Međutim, rezultati uporednih studija ukazuju da TVT u kombinaciji sa koronarno pomerenim reżnjem daje bolje rezultate od Alloderma kombinovanog sa koronarno pomerenim reżnjem (**Chambrone 2008., 2010.**)

Povoljniji rezultati nastali upotrebom TVT se ogledaju u pozitivnoj promeni biotipa gingive.

4. Primena Amelogenina u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem pune debljine ima za cilj da se biomimetičkim principima ostvari regeneracija izgubljenih parodontalnih tkiva. Dokazano je pozitivno dejstvo Amelogenina na povećanje koncentracije PDGF faktora rasta u parodontalnoj rani i sledstvena inhibicija proliferacije epitela (**Melloni 1999., Sculean 2000.**) Međutim, klinički rezultati iz dostupnih meta-analiza govore u prilog upotrebe TVTa, jer Amelogenin u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem pune debljine ipak nije u stanju da dovede do zadebljanja gingivalnog tkiva, proširenja zone keratinizovane gingive i ostvarivanja sekundarnog prekrivanja u istoj meri kao TVT (**Chambrone 2010.**) Pored toga je neophodno da se prilikom primene Amelogenina u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem ispune svi oni preduslovi za uspešan ishod hirurške terapije koji važe i za primenu samog koronarno pomerenog režnja.
5. Tkivni inženjering i terapija živim ćelijskim linijama je još uvek grana parodontologije koja je u povoju, i do danas sve humane studije koje se bave ovom terapijskom procedurom su svoja istraživanja bazirale na kliničkim rezultatima, dok se na histološke rezultate još uvek čeka. Rezultati kliničkih studija favorizuju primenu transplantata vezivnog tkiva.

Posebno je opisana problematika dugotrajnosti postignutih kliničkih rezultata primenom navedenih hirurških procedura. U ove svrhe je veoma važno izdvojiti radove Randal Harrisa koji se bavio ovom problematikom (**Harris 2002.**) Značaj navedenih istraživanja se ogleda u tome što je sve navedene hirurške intervencije sprovodio jedan isti hirurg (RH) pa je tako isključen uticaj obučenosti hirurga na ishod hirurške intervencije. Evaluirani su dugotrajni efekti primene transplantata vezivnog tkiva (TVT), acelularnog dermalnog matriksa (ADM) i usmerene tkivne regeneracije (GTR). Sve tri procedure su rađene u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem. Kratkotrajni rezultati u ovim studijama su evaluirani 3 meseca nakon intervencije, a dugotrajni rezultati su procenjivani nakon 18 meseci od intervencije (TVT grupa i ADM grupa), odnosno 25 meseci od intervencije (GTR

grupa). U TVT grupi ustanovljeno je da se tokom vremena prosečna prekrivenost ogoljenog korena zuba statistički značajno poboljšala. Nakon 3 meseca je iznosila 97.1% a nakon 18 meseci 98.4%. U ADM grupi prosečna prekrivenost ogoljenog korena zuba je iznosila 91.7% nakon 3 meseca, dok se 18 meseci od hirurške intervencije prosečna prekrivenost korena zuba smanjila na 87.0%. Najveće promene su zabeležene u GTR grupi, 3 meseca nakon intervencije prosečna prekrivenost ogoljenog korena zuba u ovoj grupi je iznosila 92.3%, dok je 25 meseci od intervencije zabeležen statistički značajan pad prosečne prekrivenosti korena zuba na 58.8%. Razlog za ovako superiorne dugotrajne rezultate dobijene primenom transplantata vezivnog tkiva leži u fenomenu sekundarnog prekrivanja ili creeping attachmenta, koji je svojstven primeni transplantata vezivnog tkiva ali i slobodnog mukoznog autotransplantata u terapiji gingivalnih recesija.

Creeping attachment je pojam koji je prvi u literaturi opisao **Goldman 1964.**, a radi se o odloženoj postoperativnoj migraciji tkiva periodontalnog porekla u koronarnom smeru, čime se dodatno ostvaruje odloženo prekrivanje korena zuba. Sekundarno prekrivanje u proseku iznosi 0,89 mm i najizraženije je 12 meseci od hirurške intervencije (**Bell 1978.**, **Matter 1976.**) Ovaj fenomen je prvo primećen kod primene slobodnog mukoznog autotransplantata, ali je izražen i kod primene transplantata vezivnog tkiva. Činjenica da se creeping attachment ne javlja pri primeni koronarno pomerenog režnja, samog ili u kombinaciji sa drugim hirurškim tehnikama (Acelularni dermalni matriks, GTR, Amelogenin, Fibrin bogat trombocitima) predstavlja jednu od prednosti primene vezivnog tkiva u terapiji gingivalnih recesija.

Histološka analiza terapijskog efekta navedenih hirurških procedura ima za cilj da utvrdi u kojoj meri je ostvarena regeneracija u parodontijumu. Ranije je navedeno da je „restitutio ad integrum“ idealni cilj terapije gingivalne recesije, a taj idealni cilj moguće je potvrditi samo histološki. Važno je istaći da ne postoji relevantna meta-analiza koja se bavi ovom problematikom, te su naučni podaci uglavnom rezultat prikaza jednog ili više slučajeva.

- **Pasquinelli 1995.** objavljuje formiranje nove kosti i novog vezivno tkivnog pripoja na donjem premolaru sa gingivalnom recesijom vertikalne dimenzije 6 mm tretiranom transplantatom vezivnog tkiva.
- **Bruno i Bowers 2000.** potvrđuju formiranje nove kosti, novog cementa i novog periodoncijuma u apikalnim regionima gingivalne recesije tretirane transplantatom

vezivnog tkiva, dok je u najvećem regionu prekrivenog korena zuba zabeležena vezivno tkivna adhezija (prisustvo vezivno tkivnih vlakana koja nisu funkcionalno orijentisana) i zarastanje po tipu dugačkog pripojnog epitela.

- **Majzoub i saradnici 2001** u svojoj studiji utvrđuju zarastanje nakon primene transplantata vezivnog tkiva po tipu dugačkog pripojnog epitela bez ostvarene regeneracije.
- **Goldstein i saradnici 2001.** U svojoj studiji potvrđuju ostvarivanje regeneracije nakon primene transplantata vezivnog tkiva sa periostom uz formiranje novog cementa, novog periodoncijuma, nove kosti i funkcionalno orijentisanog vezivnotivnog pripoja.
- **Harris 1999.** u svojoj studiji ukazuje na zarastanje po tipu dugačkog pripojnog epitela bez ostvarene regeneracije, nakon primene transplantata vezivnog tkiva u terapiji 2 gingivalne recesije vertikalne dimenzije manje od 3 mm.
- Isti autor u drugoj studiji iz 1999. histološki potvrđuje regeneraciju nakon primene transplantata vezivnog tkiva u terapiji gingivalne recesije koja ima vertikalnu dimenziju 5 mm. Autor pretpostavlja da na uspeh regeneracije utiče regenerativni potencijal samog domaćina, a taj parametar je, za sada, naučno neuporediv i neproverljiv.
- **Cortellini i saradnici 1993.** objavljuju ostvarenu regeneraciju nakon primene tehnika usmerene tkivne regeneracije (GTR) uz upotrebu neresorptivne membrane. Autori navode formiranje novog cementa, novog periodontalnog ligamenta i nove kosti, ali nije prisutna funkcionalna (perpendikularna) orijentacija vezivno tkivnih vlakana.
- **Vincenzi i saradnici 1998.**, kao i **Parma-Benfenati i Tinti 1998.** potvrđuju ostvarenu regeneraciju nakon primene GTR u terapiji gingivalne recesije.
- **Harris** u svojoj studiji iz **2001.** je utvrdio da nije ostvarena regeneracija u terapiji gingivalnih recesija GTR procedurom, uz upotrebu resorptivne membrane, ni u jednom od 4 slučaja.
- **Richardson i Maynard 2002.**, kao i **Cummings i saradnici 2005.** objavljuju histološke rezultate postignute primenom acelularnog dermalnog matriksa u terapiji gingivalne recesije. Ni u jednom slučaju nije postignuta regeneracija, već je ostvareno zarastanje po tipu fibrozne apozicije uz koren zuba.

- **Heijl i saradnici 1997.** potvrđuju formiranje novog cementa, novog periodontalnog ligamenta i nove kosti nakon primene Amelogenina u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem pune debljine u terapiji gingivalne recesije.
- **Rasperini i saradnici 2000.** histološki potvrđuju regeneraciju u parodontijumu nakon primene transplantata vezivnog tkiva u kombinaciji sa Amelogeninom i koronarno pomerenim režnjem.
- **McGuire i saradnici 2009.** upoređuju histološke rezultate dobijene primenom transplantata vezivnog tkiva u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem sa rezultatima postignutim primenom PDGF-BB i beta trikalcijum fosfata u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem. Autori zaključuju da primenom transplantata vezivnog tkiva nije postignuta regeneracija, već zarastanje po tipu dugačkog pripojnog epitela. Sa druge strane, nakon primene PDGF-BB i beta trikalcijum fosfata u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem došlo je do formiranja nove kosti, novog periodoncijuma i novog cementa.

Shodno navedenim kliničkim i histološkim rezultatima, primena transplantata vezivnog tkiva predstavlja metodu izbora u terapiji gingivalnih recesija na zubima gornje vilice.

U literaturi su od 1985. (**Langer 1985.**) do danas opisane različite hirurške tehnike primene transplantata vezivnog tkiva, ali se u terapiji gingivalnih recesija na zubima gornje vilice ipak najčešće primenjuje transplantat vezivnog tkiva u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem pune debljine, uz primenu vertikalnih relaksacionih incizija (**Allan 1994.**)

Takođe, iako brojni rezultati govore u prilog primeni transplantata vezivnog tkiva, u terapiji gingivalne recesije na zubima donje vilice danas se i dalje primenjuje slobodni mukozni autotransplantat (SMAT). Razlozi za to svoje opravdanje nalaze u kliničkim specifičnostima gingivalne recesije na zubima donje vilice, a posebno na donjim incizivima. Te specifičnosti se ogledaju u anatomorfološkim karakteristikama koje često prate gingivalnu recesiju na donjim zubima, kao što su: nedostatak pripojne gingive, prisustvo koronarno inseriranog frenuluma donje usne, plitak vestibulum, tanak gingivalni biotip, prenaplašena mišićna vuča. Kao što se može da zaključiti iz prethodno navedenog, gingivalna recesija na donjim zubima je često

udružena sa drugim mukogingivalnim anomalijama što umnogome otežava hiruršku rekonstrukciju gingivalnog defekta. Sofisticirane plastično-hirurške tehnike često u takvim uslovima ne daju očekivane rezultate pa je primena slobodnog mukoznog autotransplantata i dalje često korišćen terapijski postupak, najviše radi proširenja insuficijentne zone keratinizovane gingive.

U poslednjoj deceniji fokus istraživanja se prebacio na terapijske procedure koje su jednostavne za pripremu, netoksične, biokompatibilne i ekonomične a ujedno indukuju lokalno otpuštanje faktora rasta i time ubrzavaju zarastanje i regeneraciju čvrstih i mekih tkiva. Choukroun i saradnici su pioniri PRF protokola koji se primenjuje u parodontologiji, oralnoj i maksilofacijalnoj hirurgiji. Fibrin obogaćen trombocitima (PRF) predstavlja autologni fibrinski matriks koji sadrži citokine i faktore rasta poreklom iz trombocita, kao i leukocite. U literaturi su prikazani mnogi pozitivni efekti terapije PRF-om, pre svega u in vitro istraživanjima. Istraživanja koja su fokusirana na efekte PRF-a na koštanu regeneraciju pokazuju da PRF promoviše obnavljanje kosti preko sledećih mehanizama:

- Prema **Changu i sar. (2010.)**, PRF promoviše ekspresiju protein kinaze (p-ERK) I stimuliše produkciju osteoprotegerina koji uzrokuje proliferaciju osteoblasta.
- **Dohan i sar. 2009.** sprovode istraživanje u kome elektronskom mikroskopijom kulture osteoblasta sa PRF-om potvrđuju da PRF indukuje diferencijaciju osteoblasta, a u kombinaciji sa leukocitima i njihovu proliferaciju. 2010. godine dokazuju i pozitivan uticaj L-PRF-a na proliferaciju humanih osteogenih mezenimalnih stem ćelija u kome posebno naglašavaju uticaj leukocita (**Dohan 2010.**)
- **Huang i sar. 2010.** dokazuju da PRF stimuliše osteogenetsku diferencijaciju ćelija humane dentalne pulpe tako što reguliše ekspresiju osteoprotegrina i alkalne fosfataze.
- **Sun i saradnici 2015.** su istraživali efekte PRF-a na biološke karakteristike osteoblasta dokazujući da utiče na povećanje nivoa i ekspresije alkalne fosfataze, kolagena tipa 1 i osteoprotegerina.

- Koristeći histomorfometrijsku analizu i kompjuterizovanu tomografiju **Acar i sar. 2015.** pokazuju da PRF sam, a i u kombinaciji sa hidroksiapatitom ili beta-trikalcijum fosfatom, dovodi do značajnog povećanja u formiranju nove kosti, kako u 4. nedelji, tako i u 10. nedelji od hiruškog zahvata.
- **Sanchez i sar. 2003.** su u eksperimentalnoj studiji poredili uticaj plazme bogate trombocitima i fibrina bogatog trombocitima na proliferaciju i diferencijaciju osteoblasta. Zaključili su da je afinitet osteoblasta prema PRF-u superiorniji u odnosu na PRP.

U literaturi su opisani i efekti PRF-a i na ostala parodontalna tkiva. PRF membrane tokom vremena otpuštaju faktore rasta (α granule trombocita), pre svega PDGF i TGF, koji promovišu regeneraciju parodoncijuma (**Su 2009.**) PDGF receptori se nalaze u gingivi, periodontalnom ligamentu i cementu. Ovaj faktor rasta aktivira fibroblaste i osteoblaste promovišući sintezu proteina (**Giannobile 1996.**) **Dohan i sar. 2009.** u svojoj in vitro studiji dolaze do zaključka da PRF membrane indukuje značajnu i kontinuiranu stimulaciju proliferacije svih ćelija parodoncijuma.

- **Tsai i sar. 2009.** u svom istraživanju dolaze do zaključka da PRF indukuje proliferaciju ćelija periodontalnog ligamenta i osteoblasta a suprimira proliferaciju ćelija oralnog epitela.
- Tokom jednogodišnje prospektivne studije **Diss i sar. 2008.** dokazuju da fibrinski matiks PRF –a direktno promoviše angiogenezu.
- **Schar i sar. 2015.** mere količinu i koncentraciju otpuštenih faktora rasta u periodu od 28 dana, poredeći L-PRF i L-PRP. Nalaze da L-PRF indukuje stvaranje značajno veće količine TGF- β 1 (transformišući faktor rasta), tokom dužeg vremenskog perioda i da jače indukuje ćelijsku migraciju.

Zbog svega navedenog smo u našoj studiji pokušali da evaluiramo i uporedimo rezultate dobijene primenjujući hiruršku tehniku koja se podrazumeva kao “ zlatni standard” (TVT) u terapiji izolovanih recesija gingive na zubima gornje vilice sa savremenom hiruškom procedurom koja podrazumeva korišćenje fibrina obogaćenog trombocitima (PRF) , koja je u literaturi opisana kao naprednija zbog rezultata koje omogućava i jednostavnosti primene.

Naše istraživanje je bazirano na takozvanom „split mouth“ dizajnu. Metodom slučajnog izbora, kod svakog ispitanika nezavisno od grupe u kojoj pripada je određeno koja će strana (leva ili desna) predstavljati eksperimentalnu, a koja kontrolnu grupu. Eksperimentalnu grupu (PRF grupu) je činilo 20 pacijenata, odnosno 20 gingivalnih recesija (jedne polovine vilice) na kojima je urađena hirurška terapija koronarno pomerenog režnja u kombinaciji sa PRF membranom. Kontrolnu grupu (TVT grupu) je činilo istih 20 pacijenata tj. 20 gingivalnih recesija (suprotne polovine vilice) kod kojih je primenjena terapija koronarno pomerenog režnja sa transplantatom vezivnog tkiva sa periostom (TVT). Poštovan je kriterijum da se u okviru iste grupe nalaze pacijenti sa maksimalnom sličnošću karakteristika gingivalnih recesija kako bi rezultati bili što verodostojniji.

Isti klinički parametri su evaluirani u obe grupe pacijenata i to su: redukcija vertikalne dimenzije recesije (VDR), proširenje zone keratinizovane gingive (ŠKG), promena vrednosti nivoa pripojnog epitela (NPE), vrednosti plak indeksa (PI), gingivalnog indeksa (GI) i analiza indeksa tkivnog zarastanja (ITZ).

U kontrolnoj grupi pacijenata srednje vrednosti vertikalne dimenzije recesije umanjene su, statistički značajno, sa $4,20 \pm 0,22$ mm na $0,45 \pm 0,13$ mm šest meseci nakon intervencije, a posle 12 meseci na $0,65 \pm 0,15$ mm. U eksperimentalnoj grupi, gde su gingivalne recesije tretirane promenom fibrina obogaćenog trombocitima, srednje vrednosti vertikalne dimenzije recesije (VDR) umanjene su, statistički značajno, sa $4,95 \pm 0,22$ mm na $0,30 \pm 0,13$ mm, šest meseci nakon hirurške intervencije a posle 12 meseci na $0,35 \pm 0,11$ mm, i ova promena je statistički značajna u odnosu na početno stanje. Iako ne postoji statistička značajnost u promeni srednje vrednosti vertikalne dimenzije recesije nakon 6 i nakon 12 meseci od hirurške intervencije ni u eksperimentalnoj ni u kontrolnoj grupi, bolji rezultat koji je uočen 6 meseci nakon hirurške intervencije se pripisuje fenomenu sekundarnog prekrivanja (creeping attachment), a posebno je izražen u kontrolnoj grupi. Reč je o posleoperativnoj koronarnoj migraciji gingivalne ivice u regiji tretirane recesije koju je prvi put opisao **Goldman 1964**. Na osnovu dobijenih rezultata ne možemo isključiti ni mogućnost da se ovaj fenomen, do sada rezervisan isključivo za slobodni mukozni autotransplantat i transplantat vezivnog tkiva (**Nelson 1987, Borghetti 1994.**), dogodio i u PRF grupi. Činjenica je i da pojava sekundarnog prekrivanja ni u kom

slučaju nije klinički visoko predvidljiv fenomen. Verovatno je kvantitativna karakteristika ovog fenomena vezana za individualne biološke karakteristike i potencijale regionalnog tkiva.

Kada je u pitanju promena širine keratinizovane gingive, u eksperimentalnoj grupi došlo je do statistički značajnog porasta srednje vrednosti širine keratinizovane gingive (ŠKG) sa $1,65 \pm 0,23$ mm na $3,90 \pm 0,22$ mm nakon šest meseci od hirurške intervencije, a na $4,35 \pm 0,19$ mm godinu dana nakon operacije. Zapažamo i da postoji statistički značajna razlika u proširenju keratinizovane gingive između šestog i dvanaestog meseca od intervencije. U kontrolnoj grupi pacijenata takođe je zabeležena statistički značajna promena srednje vrednosti ŠKG, koja se iznosila $1,65 \pm 0,24$ mm preoperativno, odnosno $3,15 \pm 0,15$ mm nakon šest meseci. Posle dvanaest meseci srednja vrednost širine keratinizovane gingive je bila $3,20 \pm 0,12$ mm a statistički značajna razlika u odnosu na 6. mesec nije zabeležena. Postoji statistički značajna razlika u srednjim vrednostima ŠKG između eksperimentalne i kontrolne grupe, kako 6. meseca tako i posle 12. meseca, što ukazuje na to da je tehnika koronarno pomerenog režnja u kombinaciji sa fibrinom obogaćenim trombocitima efikasnija u proširenju zone keratinizovane gingive.

Uticaj primenjenih mukogingivalnih rekonstruktivnih procedura na promenu širine keratinizovane gingive u regionu tretiranih recesija gingive ima veliki uticaj na procenu krajnjih efekata terapije. U grupi gingivalnih recesija tretiranih transplantatom vezivnog tkiva u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem nakon godinu dana postignuto je prosečno proširenje keratinizovane gingive od 1,55 mm a u grupi recesija tretiranih koronarno pomerenim režnjem u kombinaciji sa fibrinom obogaćenim trombocitima 2,70mm. Postoje razni stručni stavovi vezani za genezu širenja keratinizovanog tkiva u region tretirane recesije. U grupi kod koje se koristio transplantat vezivnog tkiva sa periostom ovaj fenomen se može objasniti time da vezivno tkivo uzeto iz regiona palatuma ima genotipom determinisan potencijal da indukuje keratinizaciju epitelnih ćelija režnja koji ga prekriva (**Karring 1975.**) Podatak vezan za ovu osobinu direktno objašnjava uvećanje širine keratinizovanog tkiva u kontrolnoj grupi. Histološki je verifikovano (**Ouhazoun 1995.**) da lamina propria palatinalnog porekla može indukovati dodatnu keratinizaciju regionalnog epitela. Ovaj podatak podrazumeva da submukoza ovu osobinu apsolutno ne

poseduje. **Harris 2004.** U svojoj studiji vrši histološku evaluaciju transplantata vezivnog tkiva upotrebljenih u sanaciji recesija gingive. Istraživanje pokazuje da transplantat vezivnog tkiva procentualno čini 73,5% lamina propria a 26,5% submukoza (prosečne vrednosti). Prava lamina propria je u najvećem obimu prisutna u koronarnim delovima transplantata dok submukoza dominira delovima bližim medijalnoj liniji nepca. Rezultati tretiranih regiona kod kojih je upotrebljen tkivo transplantata sa dominantnom laminom propriom potvrđuju signifikantno veće proširenje keratinizovanog tkiva u odnosu na slučajeve gde je dominantna submukozna komponenta. Jedan od neočekivanih rezultata studije je bilo prisustvo epitela u, čak, 80% uzetih transplantata. **Brunova** studija iz **2000.** godine ukazuje na nepostojanje histoloških i kliničkih negativnih implikacija epitelne kontaminacije TVT-a, osim činjenice da se za njega mnogo preciznije, može koristiti pojam “predominantno vezivno tkivni transplantat”.

Postavlja se pitanje uloge periosta, s obzirom da se najveći procenat TVT-a uzima zajedno sa njim. Navedene histološke studije su nepodeljene po zaključku: tri nedelje nakon hirurškog zahvata periost je histološki potpuno neprepoznatljiv, dezintegrisan i zamenjen vezivnim tkivom lamine propriae. Zaključujemo da je njegova uloga na postoperativne procese zanemarljiva.

Podatak koji se vezuje za najintenzivnije proširenje keratinizovane gingive postignuto u grupi recesija saniranih fibrinom obogaćenim trombocitima u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem je imao odlučujući značaj za potvrdu radne hipoteze. Ovaj deo se odnosio na pokušaj unapređenja regenerativnog potencijala parodontalnih tkiva u okviru terapije gingivalnih recesija. Statistički značajno proširenje keratinizovane gingive, u odnosu na stanje pre terapije kao i u odnosu na kontrolnu grupu, postignuto u eksperimentalnoj grupi daje nam za pravo da kažemo da je ovaj efekat posledica unapređenja regeneracije na nivou cementa i periodoncijuma. Pozitivni regenerativni efekti PRF-a objašnjavaju se, ranije opisanom, specifičnom strukturom i arhitekturom fibrinskog matriksa, ulogom faktora rasta i leukocita. Brojne in vitro i in vivo studije su ovaj regenerativni efekat dokazale (**Dohan 2009, Su 2009, Tzai 2009, Saluja 2011, Chandran 2014...**) Pošto je regeneracija isključivo histološki pojam ova tvrdnja se jedino tako može i dokazati. **Choukroun** je u svojoj histološkoj studiji iz **2006.** pokazao da nema statistički značajne razlike u

koštanoj regeneraciji pilikom augmentacije poda sinusa sa i bez upotrebe PRF-a. Međutim, vreme zarastanja i regeneracije tkiva je bilo upola skraćeno u PRF grupi.

U eksperimentalnoj grupi, srednja vrednost nivoa pripojnog epitela (NPE) se statistički značajno promenila sa $5,90 \pm 0,24$ mm (pre operacije) na $1,95 \pm 0,11$ mm šest meseci nakon hirurgije a na $2,15 \pm 0,08$ mm posle godinu dana. I u kontrolnoj grupi je uočena statistički značajna promena srednje vrednosti NPE koja je iznosila $5,75 \pm 0,19$ mm preoperativno, odnosno $2,25 \pm 0,12$ mm šest meseci nakon hirurške intervencije, odnosno $2,35 \pm 0,11$.

Ne postoji statistički značajna razlika u srednjim vrednostima NPE između eksperimentalne i kontrolne grupe što ukazuje da su obe primenjivane hirurške tehnike podjednako efikasne u poboljšanju vrednosti nivoa pripojnog epitela.

Anaizirajući rezultate opisane u komparativnoj analizi promena vrednosti između eksperimentalne i kontrolne grupe kada se posmatraju sva tri svojstva zajedno (VDR, ŠKG, NPE) dobili smo statistički značajnu razliku između ova dve metode korišćene u terapiji gingivalnih recesija. Ovakav rezultat je dobijen najviše zahvaljujući izrazitom proširenju zone keratinizovane gingive u eksperimentalnoj grupi. Ovaj podatak je u ovom istraživanju bio od izuzetnog značaja obzirom da se ovaj pristup bazirao na stavu da je značajno proširenje keratinizovanog tkiva prporatni efekat unapređenih regenerativnih procesa parodontalnih tkiva.

U histološkom nalazu uspešno sanirane gingivalne recesije transplantatom vezivnog tkiva dominira naglašen, dugačak pripojni epitel, potpuni nedostatak cementogeneze, zanemarljiva apikalna koštana regeneracija i izuzetno uska zona vezivnotkivnog pripoja. Taj poseban oblik vezivno tkivnog pripoja se u stručnim krugovima navodi kao *vezivnotkivna adhezija*. Ona se u odnosu na klasičan vezivnotkivni pripoj karakteriše nefunkcionalno orijentisanim kolagenim vlaknima. Preciznije, periodontalna vlakna u okviru vezivno tkivnog pripoja zauzimaju paralelnu poziciju u odnosu na površinu korena zuba (**Weng 1998.**) Histološkom analizom evidentirana je i insuficijencija neocementogeneze. Autori, naglašavaju nizak nivo regeneracije cementa koji ima veliki značaj u formiranju zdravog vezivnotkivnog pripoja. Prisustvo dugačkog pripojnog epitela predstavlja jedan od najvećih problema sa stanovišta regeneracije ali i stabilnosti postignutih rezultata.

U literaturi i dalje ne postoji validna histološka studija koja bi razjasnila sve efekte terapije fibrinom obogaćenim trombocitima. U nedostatku podataka vezanih za histološku analizu vezivnotkivnog pripoja prilikom primene PRF-a treba uzeti u obzir studiju koju je objavio **Yukne 2004.**, u kojoj je prvi put histološki evaluiran efekat primene plazme obogaćene trombocitima, s obzirom da i PRF i PRP pripadaju trombocitim koncentratima bogatim faktorima rasta. U histološkom nalazu dominira odsustvo dugačkog pripojnog epitela a evidentna je i regeneracija acelularnog cementa koja prati formiranje široke zone novog funkcionalnog, vezivnotkivnog pripoja. Ovakvi nalazi imaju veliku ulogu u obezbeđivanju stabilnosti postignutih rezultata. Koštana regeneracija je i dalje insuficijentna. Na osnovu poznavanja mehanizama celularnih interakcija kao i dejstva polipeptidnih faktora rasta iz PRP-a (pa tako i PRF-a) može se zaključiti da je odsustvo dugačkog pripojnog epitela direktna posledica činjenice da PDGF u visokim koncentracijama suprimira epitelnu proliferaciju (**Okuda 2003.**) **Saygin 2000.** ukazuje na činjenicu da TGF i PDGF stimulišu cementogenezu koja je takođe evidentirana u histološkom nalazu. **Eren 2015.** u svojoj histološkoj studiji u kojoj analizira primenu PRF i TVT u terapiji gingivalnih recesija nalazi da u slučaju PRF-a dolazi do ranije neoangiogeneze i maturacije tkiva zahvaljujući vaskularno-endotelijalnom faktoru rasta.

Rekonstrukcijom tkiva postignutom primenom obe terapijske procedure korišćene u ovom istraživanju omogućeni su povoljniji uslovi za kontrolu plaka nego što su bili pre hirurške intervencije. Ovaj nalaz se najeksplicitnije vidi kroz statistički značajnu redukciju plak indeksa (za $1,04 \pm 0,45$ u eksperimentalnoj i $0,98 \pm 0,31$ u kontrolnoj grupi). Dobra kontrola dentalnog plaka u regonu recesije se odrazila i na statistički značajnu redukciju vrednosti gingivalnog indeksa (za $1,26 \pm 0,45$ u eksperimentalnoj a za $1,22 \pm 0,41$ u kontrolnoj grupi). Prilikom međugrupnog poređenja nije bilo statistički značajnih razlika. Ova činjenica ukazuje da je kod svih pacijenata uspostavljena pravilna kontrola plaka i kontrola gingivalne inflamacije. Adekvatna kontrola plaka i eliminacija inflamacije gingive u regionu tretirane recesije direktno utiču na stabilnost rezultata. Ovo je bio jedan od primarnih ciljeva terapije.

Veliki značaj u objektivizaciji postignutih rezultata imala je evaluacija indeksa tkivnog zarastanja (ITZ). Kroz ITZ su klinički verifikovani nivoi zarastanja u prve tri

nedelje od intervencije. U eksperimentalnoj grupi prosečna vrednost indeksa tkivnog zarastanja (ITZ) nakon 7 dana iznosila je $3,15 \pm 0,22$; nakon 2 nedelje $4,25 \pm 0,16$; dok je tri nedelje nakon hirurške intervencije prosečna vrednost indeksa tkivnog zarastanja u eksperimentalnoj grupi iznosila $4,85 \pm 0,08$. U kontrolnoj grupi prosečna vrednost ITZ nakon 7 dana iznosila $2,55 \pm 0,15$; nakon 2 nedelje $3,75 \pm 0,10$; dok je tri nedelje nakon hirurške intervencije prosečna vrednost indeksa tkivnog zarastanja u kontrolnoj grupi iznosila $4,55 \pm 0,11$. U svim intervalima su razlike bile statistički značajne u okviru grupa dok međugrupnim poređenjem nisu evidentirane statistički značajne razlike, iako su nominalno razlike bile u korist PRF grupe. Može se zaključiti da se obema tehnikama postigao povoljan tkivni odgovor i dobro zarastanje. U eksperimentalnij grupi primećeno je da je klinički nalaz praćen manjim nivoom subjektivnih nelagodnosti. Ovo je zasigurno posledica nedostatka sekundarnog hirurškog lokaliteta kod pacijenata kod kojih je primenjena ova regenerativna procedura. Takođe, ovo se može objasniti i visokostimulativnim dejstvom faktora rasta iz koncentrata trombocita na reparatorne procese kao i na intenziviranu sintezu kolagena tipa 1 u regionu rane (**Choukroun 2006.**) **Eren 2015.** sprovodi interesantno istraživanje u kome meri nivo matriksne metaloproteinaze (MMP-8, MMP-9), inhibitora metalopeptidaze (TIMP-1) i interleukina 1β (IL- 1β) gingivalnoj tečnosti tokom zarastanja hiruških polja gingivalnih recesija tretiranih ili KPR sa PRF-om ili KPR sa TVT-om. Autor nalazi da je u prvim danima zarastanja nivo TIMP-1 značajno veći u PRF grupi dok su nivoi MMP-8, MMP-9 i IL- 1β suprimirani. Autor navodi da u kasnijim fazama zarastanja ovi parametri ne pokazuju statističku značajnost.

Upoređujući rezultate koji su postignuti u kontrolnoj grupi (koristeći koronarno pomereni režanj u kombinaciji sa transplantatom vezivnog tkiva) sa referentnim metaanalizama i preglednim redovima uočava se usaglašavanje u postignutim rezultatima.

Roccuzzo and al. 2002. su metaanalizom ustanovili da se primenom transplantata vezivnog tkiva u kombinaciji sa Allanovom tehnikom 6 meseci posle operacije postiže redukcija gingivalne recesije za 3.10 mm uz procenat prekrivenosti korena između 61.7 i 95.6 % i poboljšanje vrednosti nivoa pripojnog epitela za 3.01 mm.

Oates and al. 2003. su meta analizom ustanovili da se primenom transplantata vezivnog tkiva 6 meseci posle operacije postiže redukcija gingivalne recesije za 2.68 ± 0.45 mm uz procenat prekrivenosti korena od 77.9%, proširenje keratinizovanog tkiva za 1.52 ± 0.62 mm i poboljšanje vrednosti nivoa pripojnog epitela za 2.62 ± 0.68 mm.

Da Silva i saradnici 2004 primenom transplantata vezivnog tkiva u terapiji gingivalnih recesija ostvaruju prosečnu prekrivenost ogoljenog korena zuba od 75.3%. uz prosečno smanjenje VDR za 3.16 ± 0.86 mm, i prosečno poboljšanje vrednosti NPE za 2.53 ± 1.14 mm. Autori objavljuju da je prosečna vrednost širine keratinizovane gingive pre intervencije iznosila 2.79 ± 0.93 mm, a da 6 meseci nakon intervencije iznosi 3.35 ± 0.71 mm.

Bittencourt i saradnici 2006. su primenom transplantata vezivnog tkiva u terapiji gingivalnih recesija ostvarili prosečno smanjenje VDR za 2.05 ± 0.52 mm, i prosečno poboljšanje vrednosti NPR za 1.79 ± 0.56 mm. Autori objavljuju da je prosečna vrednost širine keratinizovane gingive pre intervencije iznosila 3.30 ± 0.81 , a da 6 meseci nakon intervencije iznosi 4.45 ± 1.11 mm. Autori navode da su ostvarili prosečnu prekrivenost ogoljenog korena zuba od $96,10 \% \pm 7.69 \%$.

Keceli i saradnici u svom radu iz **2008.** primenom Allanove tehnike postižu prosečnu prekrivenost ogoljenog korena zuba od 86.4%.

Hui-Yuan Ko i Hsein-Kun Lu 2010. su metaanalizom ustanovili da se TVT standardnom tehnikom postiže redukcija gingivalne recesije za 2.58 mm, uz proširenje keratinizovanog tkiva za 1.28 mm i poboljšanje vrednosti nivoa pripojnog epitela za 1.74 mm.

Chambrone i saradnici su u preglednom radu iz **2010.** analizirali rezultate 24 randomizovane kliničke studije, i na osnovu podataka dostupnih u pregledanim studijama autori su utvrdili da se primenom transplantata vezivnog tkiva u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem ostvaruje prosečna prekrivenost ogoljenog korena zuba od 97.3%.

Do danas, publikovano je samo nekoliko istraživanja čija je metodologija ista kao u ovom istraživanju (u kome je analizirana primena fibrina obogaćenog trombocitima u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem, i upoređivana sa transplantatom vezivnog tkiva u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem, koji se smatra “zlatnim standardom”). **Eren i sar. 2014.** nalaze da su obe metode podjednako uspešne u saniranju gingivalnih recesija sa prosečnom prekrivenošću korena od 92,7% (PRF) i 94,2% (TVT), značajnim prosečnim smanjenjem nivoa pripojnog epitela i proširenjem keratinizovane gingive. Nije ustanovljena statistička značajnost poredeći ove dve tehnike ni za jedan mereni parameter. Autori predlažu PRF sa KPR kao alternativu korišćenju transplantata vezivnog tkiva. **Aleksić 2010.** kao jedinu statistički značajnu razliku između ova dva tretmana dobija proširenje zone keratinizovane gingive i bolje rezultate indeksa tkivnog zarastanja u PRF grupi.

Janković 2012. dolazi do istih rezultata.

Istraživanje slično našem sproveli su **Janković i sar. 2010.** poredeći PRF u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem (KPR) i protein gleđnog matriksa (Emdogain[®]) u kombinaciji sa KPR. U PRF grupi došlo je do prosečnog smanjenja VDR od $3,05 \pm 0,76$ mm dok je u Emdogain grupi prosečno smanjenje iznosilo $2,75 \pm 0,61$ mm. Prosečno povećanje ŠKG dobijeno PRF metodom je iznosilo $0,17 \pm 0,28$ mm a u Emdogain grupi $0,60 \pm 0,41$ mm. Dobijena je statistička značajnost u korist Emdogain grupe. Analizirajući rezultate za ITZ, Janković i sar. dolaze do zaključka da je PRF metoda superiornija kada se govori o kvalitetu zarastanja i oporavku pacijenta.

U radu objavljenom **2015.** godine **Thamaraiselvan i sar.** upoređuju efekte samog koronarno pomerenog režnja i KPR u kombinaciji sa PRF-om. Nalaze da su obe metode uspešne u tretmanu izolovanih gingivalnih recesija ali da ne postoji statistička značajnost između ove dve metode čak ni u pogledu proširenja keratinizovane gingive. Istraživanje **Gupte i sar. 2015.** je u saglasnosti sa prethodnim - ne dobijaju statistički značajnu razliku, poredeći ove dve tehnike, ni u jednom parametru istraživanja.

Padma i sar. 2013. poredeći iste metode zbrinjavanja gingivalnih recesija kao i Thamaraiselvan, dolaze do potpuno oprečnih rezultata. Oni dobijaju statističku značajnost u korist PRF metode i kada se govori o prekrivenosti korena i o povećanju širine keratinizovane gingive.

Aroca i sar. 2009. Nalaze da je PRF u kombinaciji sa KPR pokazao statistički značajne rezultate u pogledu zadebljanja gingive te promene biotipa dok za ostale parametre nije dobijena statistička značajnost u odnosu na KPR bez PRF-a.

Keceli i sar 2015. porede efekte PRF-a sa KPR i dodatkom TVT-a, i KPR u kombinaciji samo sa TVT-om. Došli su do rezultata koji govore da nema međjugrupnih statističkih razlika kada su u pitanju ŠKG, NPE, VDR. Jedina statistički značajna razlika je bila u debljini dobijenog tkiva u korist PRF grupe, što ne iznenađuje, s obzirom na metodološki koncept primenjen u istraživanju.

Istraživanja u kojima su autori poredili efekte terapije PRF-a i TVT-a su uglavnom koherentna po pitanju dobijenih rezultata. Većina autora se slaže da su obe metode podjednako efikasne u procentu prekrivenosti korena, smanjenju vertikalne dimenzije recesije i smanjenju nivoa pripojnog epitela. Ono što su mnogi autori u svojim istraživanjima objavili, a što predstavlja krucijalnu razliku između ova dva tretmana je proširenje zone keratinizovane gingive u regionu tretirane recesije. Ne treba zaboraviti ni da je indeks tkivnog zarastanja u skoro svim istraživanjima pokazao statistički značajnu razliku, u prilog tretmana fibrinom obogaćenim trombocitima, što mnogo govori o regenerativnim potencijalima PRF-a. Veći komfor pacijenta i odsustvo bola i neprijatnosti u postoperativnom periodu primenom KPG sa PRF-om su takođe elementi u kojima su sve studije saglasne. Rezultati dobijeni u ovoj studiji su u saglasnosti sa rezultatima većine autora koji su se bavili ovom problematikom.

Eventulane diskrepance u dobijenim rezultatima vodeći autori iz ove oblasti objašnjavaju razlikama u metodološkom pristupu dobijanja PRF membrane. **Dohan i sar. 2014.** objavljuju seriju od tri vrlo obimna istraživanja na temu uticaja karakteristika centrifuge i protokola centrifugiranja na kvalitet PRF ugruška i membrane. Oni analiziraju koliko nepoželjne vibracije same centrifuge pri različitim brzinama rotacije utiču na kvalitet dobijenog supstrata. Izdvajaju Intra-Spin (Intra-Lock, Boca Raton, FL,USA) centrifugu kao najstabilniju na svim brzinama rotacije. Dohan naglašava da je velika mana dosadašnje literature to što ovaj parameter nikada nije uzet u obzir. Dohanove studije ilustruju da karakteristike centrifuge (posebno vibracije) direktno utiču na arhitekturu i ćelijski sadržaj L-PRF membrane. Opisuju da se korišćenjem centrifuge koje imaju visok stepen vibracija dobija ugrušak sa oštećenom ili čak uništenom ćelijskom populacijom, vrlo slabih i tankih fibrinskih vlakana i to dokazuju svetlosnom mikroskopijom kao i SEM (scanning electron microscopy) procedurom (**Pinto 2014.**) Autori upozoravaju da se tako dobijeni ugrušci

ne mogu zvati L-PRF-om, jer im nedostaje kvalitetan i raznovrstan ćelijski sadržaj umrežen u jak fibrinski matriks.

Biološka vrednost L-PRF-a se ogleda upravo u jakom i postepenom otpuštanju faktora rasta koja je dodatno indukovana i od strane leukocita. Oštećenje svih ćelija upotrebom neodgovarajućih centrifuga postavlja pitanje vrednosti biološkog i kliničkog potencijala ovako dobijenih ugrušaka.

VII ZAKLJUČCI

- Tehnika primene fibrina obogaćenog trombocitima u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem je podjednako uspešna u terapiji gingivalnih recesija gornjih zuba kao i tehnika primene transplantata vezivnog tkiva u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem, koja se smatra “zlatim standardom”, izuzev kada govorimo o proširenju zone keratinizovane gingive u predelu tretirane gingivalne recesije.
- Primenom fibrina obogaćenog trombocitima u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem ostvaruje se statistički značajno veće proširenje zone keratinizovane gingive u regionu tretirane recesije u odnosu na primenu transplantata vezivnog tkiva u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem.
- Primenom oba hirurška postupka omogućena je rekonstrukcija mukogingivalnog defekta. Dobijene su statistički značajne razlike u povećanju širine keratinizovane gingive, smanjivanju vertikalne dimenzije recesije, smanjivanju vrednosti nivoa pripojenog epitela, smanjenju vrednosti gingivalnog i plak indeksa. Utvrđena je i visoka predvidljivost rezultata primenjenih hirurških postupaka.
- Obe tehnike su pokazale statistički značajnu promenu vrednosti indeksa tkivnog zarastanja. U pogledu karakteristika tkivnog zarastanja, kao i boje, konture i površinske strukture tkiva u operisanim regionima, ne favorizujemo ni jednu od ove dve tehnike kao superiornu.
- Primenom fibrina obogaćenog trombocitima u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem smanjene su postoperativne subjektivne nelagodnosti s obzirom na odsustvo sekundarnog hirurškog polja.
- Ove tvrdnje ukazuju na moguću promenu trenutne naučne paradigme o terapiji gingivalnih recesija na gornjim zubima i nameću primenu fibrina obogaćenog trombocitima u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem kao metodu izbora u terapiji gingivalnih recesija, I i II klase po Mileru, u gornjoj vilici.

-Primena fibrina obogaćenog trombocitima u kombinaciji sa koronarno pomerenim režnjem sa pravom može da se svrsta u napredne terapijske procedure jer se njenom primenom unapređuje dosadašnja naučna i klinička doktrina u terapiji gingivalnih recesija.

VIII LITERATURA

1. Acar AH, Yolcu Ü, Gül M, Keleş A, Erdem NF, Altundag Kahraman S. Micro-computed tomography and histomorphometric analysis of the effects of platelet-rich fibrin on bone regeneration in the rabbit calvarium. *Arch Oral Biol.* 2015 Apr; 60 (4):606-14.
2. Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects:a pilot study. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60(10)1176-81.
3. Ainamo A, Bergenholtz A, Hugoson A, Ainamo J. Location of the mucogingival junction 18 years after apically repositioned flap surgery. *J Clin Periodontol* 1992; 19:49-52.
4. Albandar A. Kingman C. Gingival recession, gingival bleeding and dental calculus in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *J Periodontol* 1999; 70:30-43.
5. Aleksić Z, Janković S, Dimitrijević B, Divnić-Resnik T, Milinković I, Leković V. The use of platelet-rich fibrin membrane in gingival recession treatment. *Srp Arh Celok Lek.* 2010 Jan-Feb; 138 (1-2):11-8.
6. Allen AL. Use of the supraperiosteal envelope in soft tissue grafting for root coverage. I. Rationale and technique. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1994; 14:216-227.
7. Allen AL. Use of the supraperiosteal envelope in soft tissue grafting for root coverage. II. Clinical results. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1994; 14:302-315.
8. Allen EP, Gainza SC, Farthing GG. Improved technique for localized ridge augmentation. *J Periodontol* 1985; 56:195-199.
9. Allen MP, Miller PD Jr. Coronal positioning of existing gingiva: Short term results in the treatment of shallow marginal tissue recession. *J Periodontol* 1989; 60: 316–319
10. Anltua E. The use of plasma-rich growth factors in oral surgery. *Pract Proced Aesthet Dent* 2001; 13:487-493.
11. The American Academy of Periodontology. *Glossary of Periodontal Terms*, 4th ed. Chicago: The American Academy of Periodontology; 2001:49
12. Aroca S, Keglevich T, Barbieri B, Gera I, Etienne D. Clinical evaluation of a modified coronally advanced flap alone or in combination with a platelet-rich

- fibrin membrane for the treatment of adjacent multiple gingival recessions: a 6-month study. *J Periodontol.* 2009 Feb; 80(2):244-52
13. Baldi C, Pini Prato G, Pagliaro U, et al. Coronally advanced lap procedure for root coverage. Is lap thickness a relevant predictor to achieve root coverage? A 19-case series. *J Periodontol* 1999; 70: 1077–1084.
 14. Bell LA, Valluzzo TA, Garnick JJ, and Pennel BM: The presence of "creeping attachment" in human gingiva. *J Periodontol* 1978; 49: 513, 1978
 15. Bernimoulin JP, Lusher B. Muhelmann HR: Coronally repositioned periodontal flap. Clinical evaluation after 1 year. *J Clin Periodontol.* 1975; 2:1-13.
 16. Bittencourt S, Del Peloso Ribeiro E, Sallum EA, Sallum AW, Nociti Jr FH, Casati MZ. Comparative 6-month clinical study of a semilunar coronary positioned flap and subepithelial connective tissue graft for the treatment of gingival recession. *Journal of Periodontology* 2006; 77: 174–81.
 17. Bouchard P, Nilveus R, Etienne D. Clinical evaluation of tetracycline HLC conditioning in the treatment of gingival recessions. A comparative study. *J Periodontol* 1997; 68:262-269.
 18. Borghetti A, Gardella J. Thick gingival autograft for the coverage of gingival recession. Clinical evaluation. *Int J Priodontics Restorative Dent* 1990; 10:216-229.
 19. Bruno JF, Bowers GM. Histology of a human biopsy section following the placement of a subepithelial connective tissue graft. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2000; 20:225-231.
 20. Buhl S. Does occlusal overload lead to periodontal recession? *ZWR* 1991; 11:854-859.
 21. Caffesse RG, De la Rosa M, Graza M, Munne-Travers A, Mondragon JC, Weltman R. Citric acid demineralization and subepithelial connective tissue grafts. *J Periodontol* 2000;71 :586-572.
 22. Caffesse, RG, Kon, S, Castelli, WA, Nasjleti, CE. Revascularization following the lateral sliding flap procedure. *J Periodontol.* 1984; 55. 352-359.
 23. Chang IC, C.H. Tsai, Y.C. Chang. Platelet-rich fibrin modulates the expression of extracellular signal-regulated protein kinase and

osteoprotegerin in human osteoblasts *J Biomed Mater Res A*, 95 (2010), pp. 327–332

24. Chambrone L, Chambrone D, Pustiglioni FE, Chambrone LA & Lima LA (2008) Can subepithelial connective tissue grafts be considered the gold standard procedure in the treatment of Miller Class I and II recession-type defects? *Journal of Dentistry* 36, 659–671.
25. Chambrone L, Chambrone D, Pustiglioni FE, Chambrone LA & Lima LA (2008) Can subepithelial connective tissue grafts be considered the gold standard procedure in the treatment of Miller Class I and II recession-type defects? *Journal of Dentistry* 36, 659–671.
26. Chambrone L, Faggion CM Jr, Pannuti CM, Chambrone LA. Evidence-based periodontal plastic surgery: an assessment of quality of systematic reviews in the treatment of recession-type defects. *J Clin Periodontol* 2010; 37: 1110–1118.
27. Chambrone L, Sukekava F, Araujo MG, Pustiglioni FE, Chambrone LA, Lima LA. Root-coverage procedures for the treatment of localized recession-type defects: A Cochrane systematic review. *J Periodontol* 2010; 81:452-478.
28. Chandran P, Sivadas A. Platelet-rich fibrin: its role in periodontal regeneration. *Saudi Journal for Dental Research* 2014; 5:117-122.
29. Choi, B.H.; Zhu, S.J.; Kim, B.Y.; Huh, J.Y.; Lee, S.H.; Jung, J.H. Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: an in vitro study. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 2005, 34(4), 420-424.
30. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. PRF: an opportunity in peri-implantology. *Implantodontie* 2000; 42:55-62.
31. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate, Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101:E56-60.
32. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin: second generation of platelet concentrate, part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101:299-303.

33. Cohen DW, Ross SE. The double papillae repositioned flap in periodontal therapy. *J Periodontol*. 1968 Mar; 39(2):65-70.
34. Cohen DW, Ross SE. The double papillae repositioned flap in periodontal therapy. *J Periodontol*. 1968 Mar; 39(2):65-70
35. Cortellini P, Clauser C, Pini Prato G. Histologic assessment of new attachment following the treatment of human buccal recession by means of a guided tissue regeneration procedure. *J Periodontol* 1993; 64:387-391
36. Cortellini P, Clauser C, Pini Prato GP. Histologic assessment of new attachment following the treatment of a human buccal recession by means of guided tissue regeneration procedure. *J Periodontol* 1993; 64:387-391.
37. Cummings LC, Kaldahl WB, Allen EP. Histologic evaluation of autogenous connective tissue and acellular dermal matrix grafts in humans. *J Periodontol* 2005; 76: 178–186.
38. De Souza SL, Novaes AB Jr, Grisi DC, Taba M Jr, Grisi MF, de Andrade PF. Comparative clinical study of a subepithelial connective tissue graft and acellular dermal matrix graft for the treatment of gingival recessions: six- to 12-month changes. *J Int Acad Periodontol*. 2008 Jul; 10(3):87-94.
39. Da Silva RC, Joly JC, de Lima AF, Tatakis DN. Root coverage using the coronally positioned flap with or without a subepithelial connective tissue graft. *J Periodontol* 2004; 75:413-419.
40. De Tray E, Bernimoulin J. Influence of free gingival grafts on the health of the marginal gingiva. *J Clin Periodontol* 1980; 7:381-393.
41. Del Corso M, Vervelle A, Simonpieri A, Jimbo R, Inchingolo F, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Current Knowledge and Perspectives for the Use of Platelet-Rich Plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF) in Oral and Maxillofacial Surgery Part 1: Periodontal and Dentoalveolar Surgery. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 2012; 13:1207-30.
42. Dimitrijević B, urednik. *Klinička parodontologija*. 1. izdanje. Beograd: Zavod za udžbenike, 2011.
43. Diss A, D.M. Dohan, J. Mouhyi, P. Mahler. Osteotome sinus floor elevation using Choukroun's platelet-rich fibrin as grafting material: a 1-year

- prospective pilot study with microthreaded implants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 105 (2008) 572e9
44. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, *et al*. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate, part I: technological concept and evolution *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: E37–E44
 45. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, *et al*. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101:51-55
 46. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, *et al*. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate, Part III: Leucocytes activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101:E51-5.
 47. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, *et al*. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006; 101(3):45-50. *Restorative Dent*.
 48. Dohan Ehrenfest DM, Diss A, Odin G, Doglioli P, Hippolyte MP, Charrier JB. In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes, and maxillofacial osteoblasts in primary cultures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009; 108(3):341-52.
 49. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*. 2009; 27(3):158-67.
 50. Dohan Ehrenfest DM, Doglioli P, de Peppo GM, Del Corso M, Charrier JB. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way. *Arch Oral Biol*. 2010 Mar; 55(3):185-94.
 51. Dohan Ehrenfest DM, Sammartino G, Shibli JA, Wang HL, Zou DR, Bernard JP. Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates

- (Platelet-Rich Plasma - PRP, or Platelet-Rich Fibrin - PRF): the international classification of the POSEIDO. POSEIDO. 2013; 1(1):17-27.
52. Dohan Ehrenfest, D.M.; Bielecki, T.; Del Corso, M.; Inchingolo, F.; Sammartino, G. Shedding light in the controversial terminology for platelet-rich products: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), platelet-leukocyte gel (PLG), preparation rich in growth Factors (PRGF), classification and commercialism. *J. Biomed. Mater. Res. A* 2010, 95(4), 1280-1282.
53. Dohan Ehrenfest, D.M.; Diss, A.; Odin, G.; Doglioli, P.; Hippolyte, M.P.; Charrier, J.B. In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes, and maxillofacial osteoblasts in primary cultures. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod* 2009, 108(3), 341-352.
54. Dohan Ehrenfest, D.M.; Doglioli, P.; de Peppo, G.M.; Del Corso, M.; Charrier, J.B. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way. *Arch. Oral Biol* 2010, 55(3), 185-194.
55. Dohan Ehrenfest, D.M.; Lemo, N.; Jimbo, R.; Sammartino, G. Selecting a relevant animal model for testing the in vivo effects of Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): Rabbit tricks and traps. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod* 2010, 110(4), 413-416.
56. Dohan Ehrenfest DM, Kang BS, Del Corso M, Nally M, Quirynen M, Wang HL, Pinto NR. The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors and fibrin architecture of a Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) clot and membrane. Part 1: evaluation of the vibration shocks of 4 models of table centrifuges for L-PRF. *POSEIDO*. 2014;2(2):129-39.
57. Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Kang BS, Lanata N, Quirynen M, Wang HL, Pinto NR. The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors and fibrin architecture of a Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) clot and membrane. Part 3: comparison of the growth factors content and slow release between the original L-PRF and the modified A-PRF (Advanced Platelet-Rich Fibrin) membranes. *POSEIDO*. 2014;2(2):155-66

58. Dvorak HF, Harvey VS, Estrella P, Brown LF, McDonagh J, Dvorak AM. Fibrin containing gels induce angiogenesis. Implications for tumor stroma generation and wound healing. *Lab Invest* 1987; 57:673-86.
59. Edel, A. (1974) Clinical evaluation of free connective tissue grafts used to increase the width of keratinized gingiva. *Journal of Clinical Periodontology* 1, 185– 196.
60. Eren G, Kantarcı A, Sculean A, Atilla G. Vascularization after treatment of gingival recession defects with platelet-rich fibrin or connective tissue graft. *Clin Oral Investig*. 2015 Dec 23. [Epub ahead of print]
61. Eren G, Tervahartiala T, Sorsa T, Atilla G. Cytokine (interleukin-1beta) and MMP levels in gingival crevicular fluid after use of platelet-rich fibrin or connective tissue graft in the treatment of localized gingival recessions. *J Periodontal Res*. 2015 Oct 8. [Epub ahead of print]
62. Eren G, Atilla G. Platelet-rich fibrin in the treatment of localized gingival recessions: a split-mouth randomized clinical trial. *Clin Oral Investig*. 2014 Nov; 18 (8):1941-8.
63. Erley KJ, Swiec GD, Herold R, Bisch FC, Peacock ME. Gingival recession treatment with connective tissue grafts in smokers and non-smokers. *J Periodontol*. 2006 Jul; 77(7):1148-55.
64. Fukazawa E, Nishimura K. Superficial cemental curettage: Its efficacy in promoting improved cellular attachment on human root surfaces previously damaged by periodontitis. *J Periodontol* 1994; 65:168-176.
65. Gervers A. Width of attached gingiva and vestibular depth in relation to gingival health. Thesis, University of Amsterdam 1977;
66. Ghanaati S, Booms P, Orłowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, Landes C, Sader R, Kirkpatrick C, Choukroun J. Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *J Oral Implantol*. 2014 Dec; 40(6):679-89.
67. Giannobile WV. Periodontal tissue engineering by growth factors. *Bone* 1996; 19(Suppl.1):23S-37S.
68. Giannobile WV, Hernandez RA, Finkelman RD. Comparative effects of platelet- derived growth factor-BB and insulin-like growth factor-I, individually and in combination on periodontal regeneration in *Macaca fascicularis*. *J Periodontal Res* 1996; 31:301

69. Goldman H, Shluger S. Periodontal therapy, 3rd edition. St. Louis, C.V.Mosby Co. 1964: 560.
70. Goldstein M, Boyan BD, Cochran DL, Schwartz Z: Human histology of new attachment after root coverage using subepithelial connective tissue graft. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 657–662.
71. Gottlow, J, Nyman, S, Karring, T, Lindhe. J. Treatment of localized gingival recessions with coronally displaced flaps and citric acid. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol.* 1986; 13:57-63.
72. Green DM, Klink B. Platelet gel as an intraoperatively procured platelet-based alternative to fibrin glue. *Plast Reconstr Surg* 1998Apr; 101(4):1161-2.
73. Griffin TJ, Cheung WS. Treatment of gingival recession with a platelet concentrate graft: a report of two cases. *The International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry.* 2004. 24, 589–595
74. Gruber, R.; Varga, F.; Fischer, M.B.; Watzek, G. Platelets stimulate proliferation of bone cells: involvement of platelet-derived growth factor, microparticles and membranes. *Clin. Oral Implants Res.*, 2002, 13(5), 529-535.
75. Grupe J, Warren R. Repair of a gingival defect by a sliding flap operation. *J Periodontol.* 1956; 27: 290-295.
76. Grupe J. Modified technique for the sliding flap operation. *J Periodontol.* 1966; 37:491-495.
77. Guiha R, el Khodeiry S, Mota L, Caffesse R. Histological evaluation of healing and revascularization of the subepithelial connective tissue graft. *J Periodontol* 2001;
78. Guinard EA, Caffesse RG, Treatment of localized gingival recessions. Part I Lateral sliding flap. *J Periodontol.* 1978; 49:351-356.
79. Guinard, E. A, Caffesse. R. G. Treatment of localized gingival recessions (III). Comparison on results obtained with lateral sliding and coronally repositioned flaps. *J Periodontol.* 1978; 99: 457- 461.
80. Gupta S, Banthia R, Singh P, Banthia P, Raje S, Aggarwal N. Clinical evaluation and comparison of the efficacy of coronally advanced flap alone and in combination with platelet rich fibrin membrane in the treatment of Miller Class I and II gingival recessions. *Contemp Clin Dent.* 2015 Apr-Jun; 6(2):153-60.

81. Hall WB. The current status of mucogingival problems and their therapy. *J Periodontol* 1981; 52:569-575.
82. Harris RJ. A comparative study of root coverage obtained with an acellular dermal matrix versus a connective tissue graft. Results of 107 recession defects in 50 consecutively treated patients. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2000; 20:51-59.
83. Harris RJ. Acellular dermal matrix used for root coverage: 18-month follow-up observations. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2002; 22:156-163
84. Harris RJ. GTR for root coverage: Long-term follow-up. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2002; 22:55-61.
85. Harris R. Histologic evaluation of connective tissue graft in humans. *J Periodontics Restorative Dent*.2004; 23:575-583.
86. Harris RJ. Human histologic evaluation of root coverage obtained with a connective tissue with partial thickness double pedicle graft. A case report. *J Periodontol* 1999; 70:813-821.
87. Harris RJ. Root coverage with connective tissue grafts: an evaluation of short- and long term results. *J Periodontol* 2002; 73: 1054-1059
88. Harris RJ. Successful root coverage: A human histologic evaluation of a case. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1999; 19:439-447.
89. Harris RJ. The connective tissue and partial thickness double pedicle graft: A predictable method of obtaining root coverage. *J Periodontol* 1992; 63:477-486
90. Harris RJ. The connective tissue with partial thickness double pedicle graft: The results of 100 consecutively treated defects. *J Periodontol*. 1994; 65:448-461.
91. Harvey PM. Management of advanced periodontitis. I. Preliminary report of a method of surgical reconstruction. *N Z Dent J*. 1965 Jul; 61(285):180-7157.
92. He L, Lin Y, Hu X, Zhang Y, Wu H. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108:707-13.
93. Heijl L, Heden G, Svärdröm G, Östgren A. Enamel matrix derivative (Emdogain) in the treatment of intrabony periodontal defects. *J Clin Periodontol* 1997; 24(Part 2): 705-714.

94. Heijl L. Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. A case report. *J Clin Periodontol.* 1997 Sep; 24:693-6.
95. Huang LH, Neiva RE, Wang HL. Factors affecting the outcomes of coronally advanced lap root coverage procedure. *J Periodontol* 2005; 76:1729–1734
96. Huang FM, S.F. Yang, J.H. Zhao, Y.C. Chang. Platelet-rich fibrin increases proliferation and differentiation of human dental pulp cells. *J Endod*, 36 (2010), p. 1628e32
97. Hürzeler MB, Weng D. A single-incision technique to harvest subepithelial connective tissue grafts from the palate. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1999 Jun; 19(3):279-87.
98. Hwang D, Wang HL. Flap thickness as a predictor of root coverage: A systematic review. *J Periodontol* 2006; 77:1625-1634
99. Ibbott CG, Oles RD, Lavery WH. Effects of citric acid treatment on autogenous free graft coverage of localized recession. *J Periodontol* 1985; 56:662-665. *Implantodontie* 2000; 42: 55–62
100. Jankovic S, Aleksic Z, Klokkevold P, Lekovic V, Dimitrijevic B, Kenney EB, Camargo P. Use of platelet-rich fibrin membrane following treatment of gingival recession: a randomized clinical trial. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2012 Apr; 32(2):e41-50.
101. Janković S, Aleksić Z, Milinković I, Dimitrijević B. The coronally advanced flap in combination with platelet-rich fibrin and enamel matrix derivative in the treatment of gingival recession: a comparative study. *Eur J Esthet Dent* 2010 Autumn; 5(3):260-73.
102. Karring T, Cumming BR, Oliver RC, Loe H. The origin of granulation tissue and its impact on postoperative results of mucogingival surgery. *J Periodontol.* 1975; 36:577-585.
103. Kassab MM, Cohen RE. The etiology and prevalence of gingival recession. *J Am Dent Assoc* 2003; 134:220-225.
104. Keceli HG, Sengun D, Berberoglu A, Karabulut E. Use of platelet gel with connective tissue grafts for root coverage: A randomized-controlled trial. *J Clin Periodontol* 2008; 35:255-262.

105. Keceli HG, Kamak G, Erdemir EO, Evginer MS, Dolgun A. The Adjunctive Effect of Platelet-Rich Fibrin to Connective Tissue Graft in the Treatment of Buccal Recession Defects: Results of a Randomized, Parallel-Group Controlled Trial. *J Periodontol.* 2015 Nov; 86(11):1221-30.
106. Kleber BM, Schenk HJ. Etiology of gingival recession. *Dtsch Zahnarztl Z* 1989; 44:845-848.
107. Knapen M, Gheldof D, Drion P, Layrolle P, Rompen E, Lambert F. Effect of Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) on Bone Regeneration: A Study in Rabbits. *Clinical Implant Dentistry and Related Research.* 2015; 17(S1) S1:143–152.
108. Ko HY, Lu HL. Systematic Review of the Clinical Performance of Connective Tissue Graft and Guided Tissue Regeneration in the Treatment of Gingival Recessions of Miller's Classification Grades I and II. *J Exp Clin Med* 2010; 2(2):63–71
109. Landry RG, Turnbull RS, Howley T. Effectiveness of benzydamine HCl in the treatment of periodontal post-surgical patients. *Res Clinic Forums* 1988; 10:105-118.
110. Lang NP, Loe H. The relationship between the width of keratinized gingiva and gingival health. *J Periodontol* 1972; 43:623-627.
111. Langer B, Langer L. Subepithelial connective tissue graft technique for root coverage. *J Periodontol.* 1985; 56:715-720.
112. Langer B, Langer L. Subepithelial connective tissue graft technique for root coverage. *J Periodontol.* 1985; 56:715-720
113. Lindhe J, Nyman S. Alterations of the position of the marginal soft tissue following periodontal surgery. *J Clin Periodontol* 1980; 7:525-655.
114. Lynch SE, Williams RC, Polson AM, et al. A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. *J Clin Periodontol* 1989; 16:545-8.
115. Majzoub Z, Landi L, Grusovin MG, Cordioli G. Histology of connective tissue graft. A case report. *J Periodontol* 2001; 72:1607-1615.
116. Martin P, Hopkinson-Wooley J, McCluskey J. Growth factors and cutaneous wound repair. *Prog Growth Factor Res* 1992; 4(1):25.
117. Martin, P.; Leibovich, S.J. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends Cell Biol.*, 2005, 15(11), 599-607.

118. Martins AG, Andia DC, Sallum AW, Sallum EA, Casati MZ, Nociti Júnior FH. Smoking may affect root coverage outcome: a prospective clinical study in humans. *J Periodontol.* 2004 Apr; 75(4):586-91
119. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998; 85(6):638-46.
120. Marx RE. Platelet -rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent* 2001; 10(4):225-228.
121. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg* 2004;62:489-496.
122. Marx RE. Platelet-rich plasma: a source of multiple autologous growth factors for bone grafts. In: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE (eds.) *Tissue engineering: Applications in maxillofacial surgery and periodontics.* Chicago: Quintessence, 1999; 71-82.
123. Matter J, Cimasoni G. Creeping attachment after free gingival grafts. *J Periodontol* 1976; 47:574-579.
124. Mazzucco L, Balbo V, Cattana E, Guaschino R, Borzini P. Not every PRP-gel is born equal. Evaluation of growth factor availability for tissues through four PRP-gel preparations: Fibrinet, RegenPRP-Kit, Plateltex and one manual procedure. *Vox Sang.* 2009; 97(2):110-8.
125. McGuire MK, Nunn M. Evaluation of human recession defects treated with coronally advanced flaps and either enamel matrix derivative or connective tissue. Part 1: Comparison of clinical parameters. *J Periodontol.* 2003 Aug; 74(8):1110-25.
126. McGuire MK, Scheyer ET, Nevins M, Neiva R, Cochran DL, Mellonig JT, Giannobile WV, Bates D. Living Cellular Construct for Increasing the Width of Keratinized Gingiva. Results from a Randomized, Within-Patient, Controlled Trial. *J Periodontol.* 2011 Oct; 82(10):1414-2
127. Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissue. *J Periodontol.* 1976;47 :256-259.
128. Mellonig JT. Enamel matrix derivative for periodontal reconstructive surgery: Technique and clinical and histologic case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1999; 19:8-19.

129. Milinković I. Klinička evaluacija primene autogene ćelijske kulture fibroblasta u terapiji gingivalnih recesija. Doktorska disertacija, Beograd 2011.
130. Miller PD. A classification of marginal tissue recession. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1985; 5:9-13.
131. Miller PD. A classification of marginal tissue recession. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1985; 5:9-13
132. Miyasato M, Crigger M, Elelberg J. Gingival condition in areas of minimal and appreciable width of keratinized gingiva. *J Clin Periodontol* 1977; 4:200-209.
133. Modica F, Del Pizzo M, Rocuzzo M, Romagnoli R. Coronally advanced flap for the treatment of buccal gingival recessions with and without enamel matrix derivative. A split-mouth study. *J Periodontol*. 2000 Nov; 71(11):1693-8.
134. Momose M, Murata M, Kato Y, Okuda K, Yamazaki K, Shinohara C, Yoshie H. Vascular endothelial growth factor and transforming growth factor-alpha and -beta1 are released from human cultured gingival epithelial sheets. *J Periodontol*. 2002 Jul; 73(7):748-53.
135. Mosesson MW, Siebenlist KR, Meh DA. The structure and biochemical features of fibrinogen and fibrin. *Ann NY Acad Sci* 2001; 936:11-30.
136. Murray T, Raghad H, Angela RC. Pack. The prevalence and intraoral distribution of periodontal attachment loss in a Bith Cohort of 26-year olds. *J Periodontol* 2000.; 71 :1840-1845.
137. Nabers, C.L. (1966). Free gingival grafts. *Periodontics* 4, 244–245.
138. Nelson SW. The subpedicle connective tissue graft. A bilaminar reconstructive procedure for the coverage of denuded root surfaces. *J Periodontol*. 1987 Feb; 58 (2):95102
139. Novaes AB Jr, de Barros RR. Acellular dermal matrix allograft. The results of controlled randomized clinical studies. *J Int Acad Periodontol*. 2008 Oct; 10(4):123-9.
140. Nyman S, Karring T, Lindhe J, Planten S. Healing following implantation of periodontitis affected roots into gingival connective tissue. *J Clin Periodontol* 1980; 7:394-401.
141. Oates T, Robinson M, Gunsolley J. Surgical Therapies for the Treatment of Gingival Recession. A Systematic Review. *Ann Periodontol*, 2003; 8: 303-320.

142. Oates TW, Rouse CA, Cochran DL. Mitogenic effects of growth factors on human periodontal ligament cells in vitro. *J Periodontol* 1993; 64(2):142-148.
143. Okuda K, Kawase T, Momose M, et al. Platelet-rich plasma contains high levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor- β and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro. *J Periodontol*. 2003; 74:849-857.
144. Oles RD, Ibbott CG, Lavery WH. Effects of citric acid treatment on pedicle flap coverage of localized recession. *J Periodontol* 1985; 56:259-261.
145. Ouhazoun JP, Khattab R, Serfaty R. Chemically separated connective tissue graft. Clinical application and histological evaluation. *J Periodontol* 1993; 64:734-738.
146. Padma R, Shilpa A, Kumar PA, Nagasri M, Kumar C, Sreedhar A. A split mouth randomized controlled study to evaluate the adjunctive effect of platelet-rich fibrin to coronally advanced flap in Miller's class-I and II recession defects. *J Indian Soc Periodontol*. 2013 Sep; 17(5):631-6.
147. Parma-Benfenati S, Tinti C. Histologic evaluation of new attachment utilizing a titanium-reinforced barrier membrane in a mucogingival recession defect: A case report. *J Periodontol* 1998; 69 :834-839
148. Pasquinelli KL. 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* 1995; 15:248-257.
149. Pasquinelli KL. 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* 1995; 15:248-257.
150. Petrungraro, P. S. Using platelet-rich plasma to accelerate soft tissue maturation in esthetic periodontal surgery. *Compendium Contin Educ Dent*. 2001. 22, 729–746.
151. Pini Prato G, Pagliaro U, Baldi C, et al. Coronally advanced flap procedure for root coverage. Flap with tension versus flap without tension: A randomized controlled clinical study. *J Periodontol* 2000; 71:188- 201.
152. Pini Prato GP, Rotundo R, Magnani C, Soranzo C, Muzzi L, Cairo F. An autologous cell hyaluronic acid graft technique for gingival augmentation: a case series. *J Periodontol*. 2003 Feb; 74(2):262-7.

153. Pini Prato GP, Rotundo R, Magnani C, Soranzo C. Tissue engineering technology for gingival augmentation procedures: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2000 Dec; 20(6):552-9.
154. Pini Prato, Rotundo R, Magnani C. Viral etiology of gingival recession. *J Periodontol* 2002; 73:110-114.
155. Pini-Prato G, Baldi C, Pagliaro U, et al. Coronally flap procedure for root coverage. Treatment of root surface: Root planning versus polishing. *J Periodontol* 1999;70 :1064-1076.
156. Pinto NR, Pereda A, Jiménez P, Del Corso M, Kang BS, Wang HL, Quirynen M, Dohan Ehrenfest DM. The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors and fibrin architecture of a Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) clot and membrane. Part 2: macroscopic, photonic microscopy and Scanning Electron Microscopy analysis of 4 kinds of L-PRF clots and membranes. *POSEIDO.* 2014;2(2):141-54.
157. Raetzke PB. Covering localized areas of root exposure employing the „envelope“ technique. *J Periodontol* 1985; 56:397-402.
158. Rasperini G, Rocuzzo M, Francetti L, Acunzo R, Consonni D, Silvestri M. Subepithelial connective tissue graft for treatment of gingival recessions with and without enamel matrix derivative: a multicenter, randomized controlled clinical trial. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2011 Apr; 31(2):133-9.
159. Rasperini G, Silvestri M, Schenk RK, Nevins ML. Clinical and histologic evaluation of human gingival recession treated with a subepithelial connective tissue graft and enamel matrix derivative (Emdogain): a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2000 Jun; 20(3):269-75.
160. Rasperini G, Silvestri M, Schenk RK, Nevins ML. Clinical and histologic evaluation of human gingival recession treated with a subepithelial connective tissue graft and enamel matrix derivative (Emdogain): a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2000 Jun; 20(3):269-75.
161. Richardson CR, Maynard JG. Acellular dermal graft: A human histologic case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2002; 22:21–29.
162. Rocuzzo M, Bunino M, Needleman I, Sanz M. Periodontal plastic surgery for treatment of localized gingival recessions: A systematic review. *J Clin Periodontol*, 2002; 29: 178-194

163. Saluja H, Dehane V, Mahindra U. Platelet-rich fibrin: A second generation platelet concentrate and a new friend of oral and maxillofacial surgeons. *Ann Maxillofac Surg* 2011; 1:53-7.
164. Sanchez AR, P.J. Sheridan, L.I. Kupp. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 18 (2003), pp. 93–103
165. SAS Institute, Inc. 2010. *The SAS System for Windows*, release 9.3., Cary (NC): SAS Institute
166. Saygin NE, Tokiyasu Y, Giannobile WV, Somerman MJ. Growth factors regulate expression of mineral associated genes in cementoblasts. *J Periodontol* 2000; 71:1591-1600.
167. Scarano A, Barros RR, Iezzi G, Piattelli A, Novaes AB Jr. Acellular dermal matrix graft for gingival augmentation: a preliminary clinical, histologic, and ultrastructural evaluation. *J Periodontol*. 2009 Feb; 80(2):253-9.
168. Sculean A, Donos N, Windisch P, Chiantella GC. Clinical and histologic evaluation of human intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2000; 20:374-381.
169. Schär MO, Diaz-Romero J, Kohl S, Zumstein MA, Nesic D. Platelet-rich concentrates differentially release growth factors and induce cell migration in vitro. *Clin Orthop Relat Res*. 2015 May; 473(5):1635-43.
170. Sharma A, Pradeep AR. Treatment of 3 wall intrabony defects in patients with chronic periodontitis with autologous platelet rich fibrin: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol* 2011; 82(12):1705-12.
171. Simonpieri A, Del Corso M, Vervelle A, Jimbo R, Inchingolo F, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 2: Bone graft, implant and reconstructive surgery. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012; 13(7):1231-56.
172. Stetler KJ, Bissada NF. Significance of the width of keratinized gingiva on the periodontal status. *J Periodontol* 1987; 58:671-696.
173. Stillman PR. Early clinical evidences of disease in the gingiva and pericementum. *J Dent Res* 1925; 3 :25-31.

174. Su CY, Kuo YP, Tseng YH, Su CH, Burnouf T. In vitro release of growth factors from platelet rich fibrin (PRF): a proposal to optimize the clinical applications of PRF
175. Sullivan HC, Atkins JH. Free autogenous gingival grafts.III Utilization of grafts in the treatment of gingival recession. *J Periodontol* 1968; 6:152-160.
176. Sun XL, Zhou YM, Zhao JH, Zheng L, Yang TT. The effect of platelet-rich fibrin on biologic characteristics of osteoblasts. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2015 Feb; 24(1):61-4.
177. Sunitha R, Munirathnam N. Platelet-rich fibrin: Evolution of a second generation platelet concentrate. *Indian J Dent Res* 2008; 19:42-6.
178. Sunitha Raja V, Munirathnam Naidu E. Platelet rich fibrin: evolution of a second-generation platelet concentrate. *Indian J Dent Res*. 2008; 19 (1):42-48.
179. Su CY, Kuo YP, Tseng YH, C.H. Su, T. Burnouf. In vitro release of growth factors from platelet rich fibrin (PRF): a proposal to optimize the clinical applications of PRF. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* .2009; 10:856–861.
180. Thamaraiselvan M, Elavarasu S, Thangakumaran S, Gadagi JS, Arthie T. Comparative clinical evaluation of coronally advanced flap with or without platelet rich fibrin membrane in the treatment of isolated gingival recession. *J Indian Soc Periodontol*. 2015 Jan-Feb; 19(1):66-71.
181. Tarnow DP: Semilunar coronally repositioned flap. *J Clin Periodontol* 1986; 13:182
182. Tozum TF, Dini FM. Treatment of adjacent gingival recessions with subepithelial connective tissue grafts and the modified tunnel technique. *Quintessence Int*. 2003; 34:7-113.
183. Thorat M, Pradeep AR, Pallavi B. Clinical effects of autologous platelet rich fibrin in the treatment of intra bony defects:a controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2011; 38(10):925-32.
184. Trombelli L, Scabbia A, Wikesjo UM, Calura G. Fibrin glue application in conjunction with tetracycline root conditioning and coronally positioned flap procedure in the treatment of human gingival recession defects. *J Clin Periodontol* 1996; 23:861-867.

185. Trombelli L, Scabbia A. Healing response of gingival recession defects following guided tissue regeneration procedures in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol*. 1997 Aug; 24(8):529-33.
186. Trombelli L, Schincaglia GP, Scapoli C, Calura G. Healing response of human buccal gingival recessions treated with expanded polytetrafluoroethylene membranes. A retrospective report. *J Periodontol* 1995; 66:14-22.
187. Trombelli L. Periodontal regeneration in gingival recession defects. *Periodontol* 2000 1999; 19:138–150.
188. Tunali M, Ozdemir H, Kucukodaci Z, Akman S, Firatli E. In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): a new platelet concentrate. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2013; 51(5):438-43.
189. Tsai CH, S.Y. Shen, J.H. Zhao, Y.C. Chang. Platelet-rich fibrin modulates cell proliferation of human periodontally related cells in vitro. *J Dent Sci*, 4 (2009), p. 130e5
190. Uggeri J, Belletti S, Guizzardi S, Poli T, Cantarelli S, Scandroglio R, et al. Dose-dependent effects of platelets on activities of human osteoblasts. *J Periodontol* 2007; 78:1985-91.
191. Uggeri, J.; Belletti, S.; Guizzardi, S.; Poli, T.; Cantarelli, S.; Scandroglio, R.; Gatti, R. Dose-dependent effects of platelet gel releasate on activities of human osteoblasts. *J. Periodontol.*, 2007, 78(10), 1985-1991
192. Van Hinsbergh, V.W.; Collen, A.; Koolwijk, P. Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2001, 936, 426-437.
193. Vincent, Julian F.V.; Bogatyreva, Olga A., Bogatyrev, Nikolaj R., Bowyer, Adrian, Pahl, Anja-Karina (21 August 2006). "Biomimetics: its practice and theory". *Journal of the Royal Society Interface* 3 (9): 471–482.
194. Vincenzi G, De Chiesa A, Trisi P. GTR using a resorbable membrane in gingival recession type defects: A histologic case report in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1998; 18:24-33.
195. Vogel, J.P.; Szalay, K.; Geiger, F.; Kramer, M.; Richter, W.; Kasten, P. Platelet-rich plasma improves expansion of human mesenchymal stem cells and retains differentiation capacity and in vivo bone formation in calcium phosphate ceramics. *Platelets*, 2006, 17(7), 462-469.

196. Wai S, Cheung and Terrence J. Griffin A Comparative Study of Root Coverage With Connective Tissue and Platelet Concentrate Grafts: 8-Month Results. *J Periodontol.* 2004; 75:1678-1687.
197. Wang HL, Pappert TD, Castelli WA, Chiego DJ Jr, Shyr Y, Smith BA. The effect of platelet-derived growth factor on the cellular response of the periodontium: An autoradiographic study on dogs. *J Periodontol.* 1994; 65:429-36.
198. Weng D, Hurzeler MB, Quinones CR, Pechstadt B, Mota L, Caffese RG. Healing patterns in recession defects treated with e PTFE and with free connective tissue grafts. A histological and histometric study in the beagle dog. *J Clin Periodontol* 1998; 25:238-245.
199. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler WE. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J Craniomaxillofac Surg.* 2002; 30(2):97-102.
200. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G. Growth factor levels in the platelet-rich plasma produced by 2 different methods: curasan-type PRP kit versus PCCS PRP system. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2002; 17(2):184-90.
201. Weibrich G, Kleis WK, Kunz-Kostomanolakis M, Loos AH, Wagner W. Correlation of platelet concentration in platelet-rich plasma to the extraction method, age, sex, and platelet count of the donor. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001; 16(5):693-9.
202. Weibrich G, Kleis WK. Curasan PRP kit vs. PCCS PRP system. Collection efficiency and platelet counts of 2 different methods for the preparation of platelet-rich plasma. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13(4):437-443.
203. Weibrich, G.; Kleis, W.K.; Buch, R.; Hitzler, W.E.; Hafner, G. The Harvest Smart PRePTM system versus the Friadent-Schutze platelet-rich plasma kit. *Clin. Oral Implants Res.*, 2003, 14(2), 233-239.
204. Weibrich, G.; Kleis, W.K.; Hitzler, W.E.; Hafner, G. Comparison of the platelet concentrate collection system with the plasma-richin-growth-factors kit to produce platelet-rich plasma: a technical report. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, 2005, 20(1), 118-123. Clark, R.A. Fibrin and wound healing. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2001, 936, 355-367.
205. Wennstrom JL, Lindhe J. Plaque induced gingival inflammation in the absence of attached gingiva in dogs. *J Clin Periodontol* 1983b; 10:266-276.

206. Wennstrom JL, Lindhe J. The role of attached gingiva for maintenance of periodontal health. Healing following excisional and grafting procedures in dogs. *J Clin Periodontol* 1983a; 10:206-221.
207. Wennstrom JL, Zucchelli G. Increased gingival dimensions. A significant factor for successful outcome of root coverage procedures? A 2-year prospective clinical study. *J Clin Periodontol* 1996; 23:770-777.
208. Yukna RA, Melloning JT. The performance of PRP in gingival recession treatment. Histological study. *J Dent Res* 2004;83:152-154.
209. Zabalegui I, Sicilia A, Cambra J, Gil J, Sanz M. Treatment of multiple adjacent gingival recessions with the tunnel subepithelial connective tissue graft: A clinical report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1999; 19:199-206.
210. Zucchelli G, Amore C, Sforza NM, Montebugnoli L, De Sanctis M: Bilaminar techniques for the treatment of recession-type defects. A comparative clinical study. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 862–870.
211. Zucchelli G, Clauser C, De Sanctis M, Calandriello M. Mucogingival versus guided tissue regeneration procedures in the treatment of deep recession type defects. *J Periodontol*. 1998 Feb; 69(2):138-45.
212. Zucchelli G, De Sanctis M. Treatment of multiple recession-type defects in patients with esthetic demands. *J Periodontol*. 2000 Sep; 71(9):1506-14.
213. Zucchelli G, De Sanctis M. Treatment of multiple recession-type defects in patients with esthetic demands. *J Periodontol*. 2000 Sep; 71(9):1506-14.
214. Zucchelli G, Mele M, Mazzotti C, Marzadori M, Montebugnoli L, De Sanctis M. Coronally advanced flap with and without vertical releasing incisions for the treatment of multiple gingival recessions: A comparative controlled randomized clinical trial. *J Periodontol* 2009;80: 1083-1094
215. Zumstein MA, Berger S, Schober M, Boileau P, Nyffeler RW, Horn M, Dahinden CA. Leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) for long-term delivery of growth factor in rotator cuff repair: review, preliminary results and future directions. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012; 13(7):1196-206

IX PRILOZI

A



Slika br. 9: Epruveta sa krvlju pacijenta nakon centrifugiranja



Slika br.10: PRF membrana dobijena centrifugiranjem autologne venske krvi



Slika br.11: Gingivalna recesija pre hirurške terapije tehnikom primene PRF-a



Slika br.12: pozicioniranje PRF membrane



Slikabr.13 : Izgled tretirane recesije šest meseci nakon hirurške terapije (PRF)



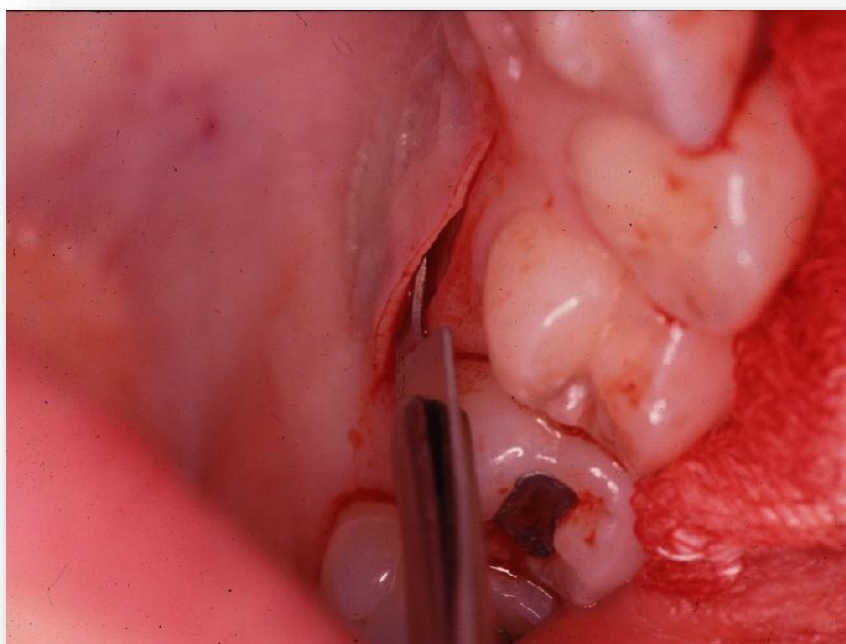
Slika br.14: Izgled gingivalne recesije pre hirurške terapije tehnikom TVT-a sa periostom u kombinaciji sa KPR



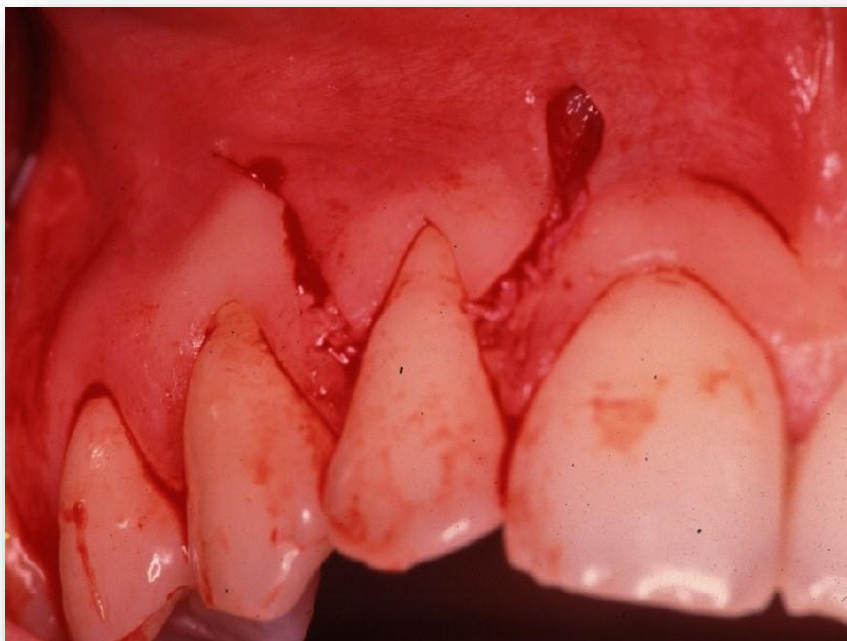
Slika br: 15: Izgled gingivalne recesije pre hirurške terapije tehnikom TVT-a sa periostom u kombinaciji sa KPR- VDR



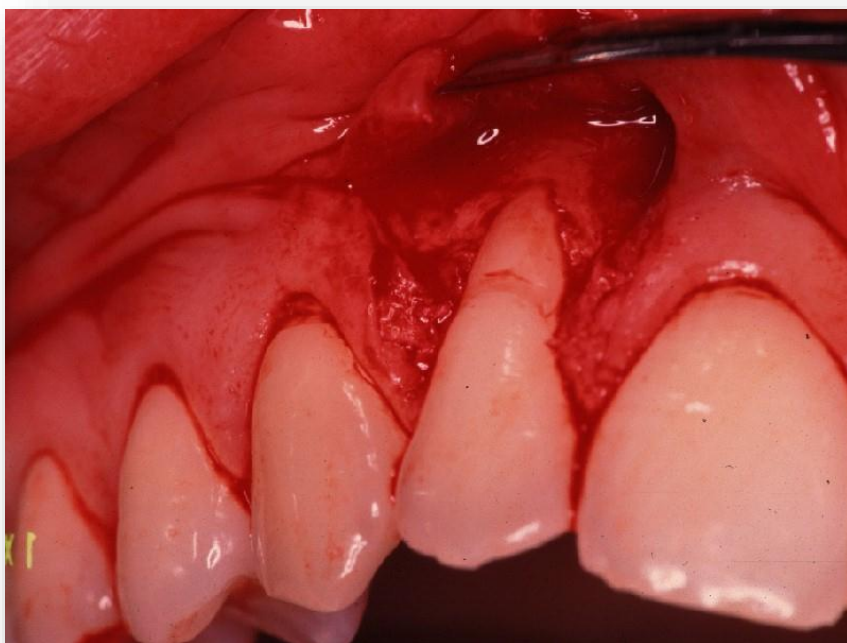
Slika br. 16: Region donor mesta pre hirurške intervencije



Slika br. 17: Transplantat vezivnog tkiva - „trap door“ tehnika - incizija



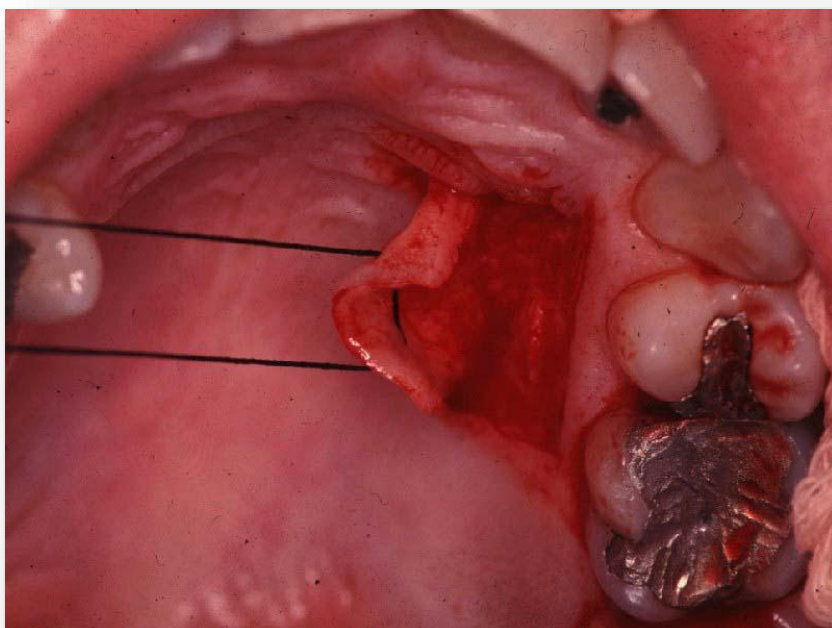
Slika br. 18: Koronarno pomereni režanj u kombinaciji sa TVT sa periostom-
incizija



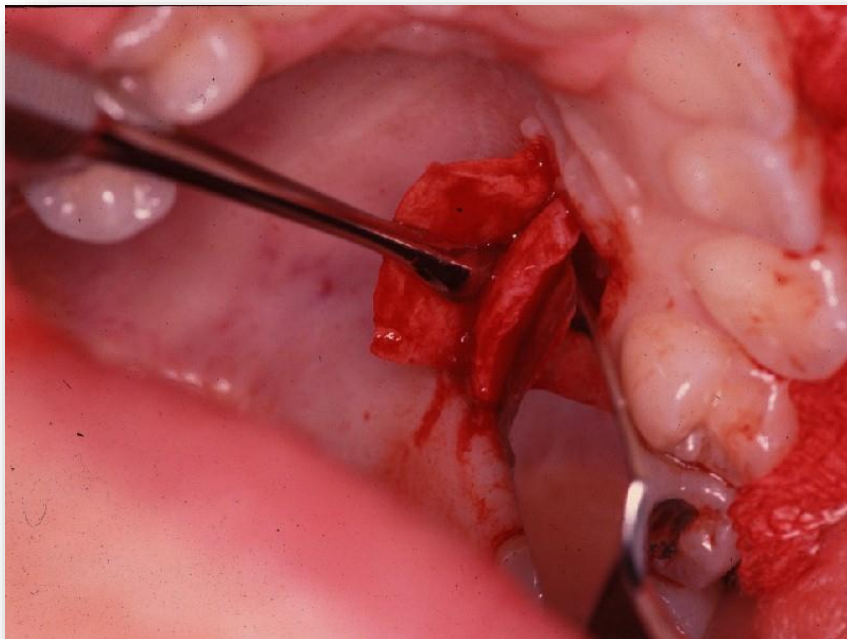
Slika br. 19: Koronarno pomereni režanj u kombinaciji sa TVT sa periostom-
odignut režanj



Slika br. 20: Transplantat vezivnog tkiva - „trap door“ tehnika - disekcija



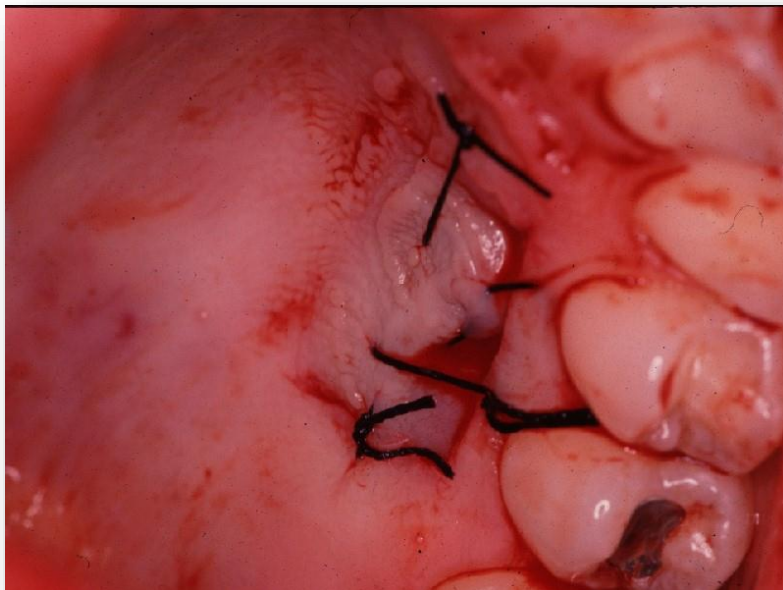
Slika br. 21: Transplantat vezivnog tkiva - „trap door“ tehnika- odizanje tkivnog poklopca



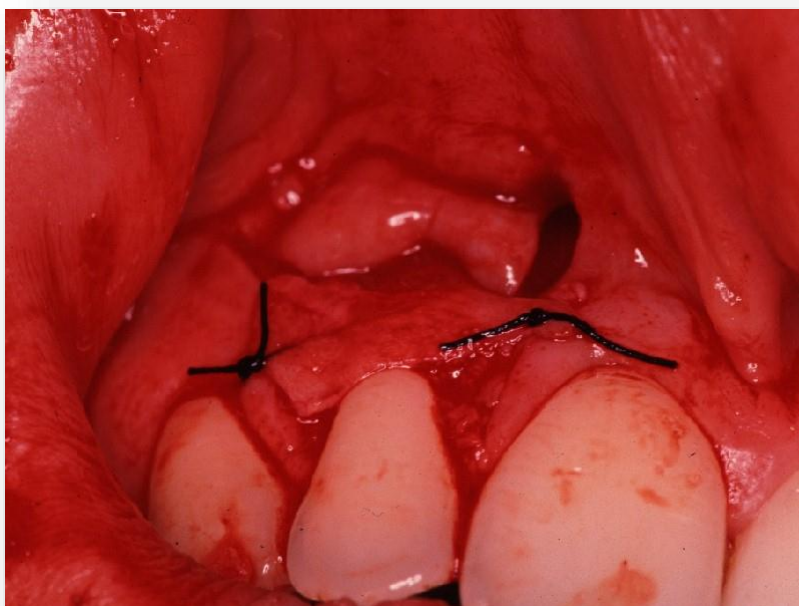
Slika br. 22: Transplantat vezivnog tkiva - „*trap door*“ tehnika- uzimanje autotransplantata



Slika br.23: Transplantat vezivnog tkiva



Slika br. 24: Transplantat vezivnog tkiva - „trap door“ tehnika- postavljeni šavovi



Slika br. 25: Koronarno pomereni režanj u kombinaciji sa TVT sa periostom-
pozicioniran TVT



Slika br. 26: Koronarno pomereni režanj u kombinaciji sa TVT sa periostom-postavljeni šavovi



Slika br.27 : Izgled gingivalne recesije 6 meseci nakon hirurške terapije tehnikom TVT-a u kombinaciji sa KPR

B

OBRAZAC PRISTANKA

Objašnjene su mi informacije i razjašnjene dileme vezane za ovo kliničko ispitivanje. Pročitao/la sam i razumeo/la sam ovu izjavu o pristanku. Na sva moja pitanja je odgovoreno na zadovoljavajući način. Dobrovoljno pristajem da učestvujem u ovom kliničkom ispitivanju i pristajem na izdavanje moje medicinske dokumentacije na način kako je objašnjeno u ovom pristanku. Ne odričem se svojih zakonskih prava potpisom ovog obrasca. Dobiću potpisani i datirani primerak pristanka.

Ispitanik

Ime i prezime	Potpis	Datum
---------------	--------	-------

Zakonom ovlašćeni punomoćnik (prema potrebi)

Ime i prezime	Potpis	Datum
---------------	--------	-------

Osoba koja je dobila pristanak (istraživač)

Ime i prezime	Potpis	Datum
---------------	--------	-------

Svedok* (po potrebi)

Ime i prezime	Potpis	Datum
---------------	--------	-------

*Svedok nije potreban, osim u slučaju da ispitanik nije u mogućnosti da čita (npr. slepilo ili nepismenost), ili u slučaju da je navedeno u planu ispitivanja. Ako je svedok prisutan, on mora nadgledati celokupan postupak potpisivanja informisanog pristanka.

C

SKRAĆENICE U TEKSTU

PRF- Platelet-rich fibrin; fibrin obogaćen trombocitima;

PRP- Platelet-rich plasma; plazma bogata trombocitima;

GI - Gingivalni indeks;

VDR – Vertikalna dimenzija recesije;

GR - Gingivalna recesija;

ITZ - Indeks tkivnog zarastanja;

ŠKG - Širina keratinizovane gingive ;

KPR - Koronarno pomereni režanj;

NPE - Nivo pripojnog epitela;

PI - Plak indeks;

PDGF - faktor rasta poreklom iz trombocita;

TGF - Transformišući faktor rasta;

TVT - Transplantat vezivnog tkiva;

VEGF - Vaskularni endotelijani faktor rasta.

ADM – Acelularni dermalni matriks

EMD – Enamel matrix derivative; Protein rasta porekla ameloblasta- Amelogenin

GTR – Guided tissue regeneration; Usmerena tkivna regeneracija

D

BIOGRAFIJA

Dr Tamara Ristić

2010.- Saradnik na projektu Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj br. TR34021 “Dobijanje ekstrakata lekovitog bilja i propolisa u različitim vrstama rastvarača sa specifičnim antibakterijskim dejstvom”

2009.- Asistent na klinici za parodontologiju i oralnu medicinu Stomatološkog fakulteta u Pančevu

2008.-2010 .Saradnik na projektu Ministarstva za nauku tehnološki razvoj br.TR21045 “Uticaj životne sredine Pančeva na stanje oralnih tkiva stanovnika”

2008. Saradnik na projektu Stomatološkog fakulteta u Beogradu

2008. Saradnik u nastavi na katedri za histologiju i embriologiju Stomatološkog fakulteta u Beogradu (volonterski)

OBRAZOVANJE:

2012.- kurs: Allergan medical aesthetics programme regarding facial aesthetics and techniques

2011.- 2014. Zdravstvene specijalističke studije iz parodontologije i oralne medicine; položila specijalistički ispit sa ocenom 10.

2009.- Doktorske studije na Stomatološkom fakultetu u Pančevu

2007.- 2009. Doktorske studije na Stomatološkom fakultetu u Beogradu

2000.-2007. Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, diplomirala sa prosečnom ocenom 9,19

1996.-2000. Treća Beogradska gimnazija

1988.-1996. Ogljedna osnovna škola “Vladislav Ribnikar”

STRANI JEZICI:

Francuski jezik (tečno)

Engleski jezik (tečno)