

UNIVERZITET U BEOGRADU

STOMATOLOŠKI FAKULTET

ALEKSANDRA D. POPOVAC

KORELACIJA IZMEĐU DENTALNOG I
PROTETSKOG STATUSA,
POLIMORFIZMA GENA ZA
APOLIPOPROTEIN E I ALCHAJMEROVE
BOLESTI

DOKTORSKA DISERTACIJA

BEOGRAD, 2018

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF DENTAL MEDICINE

ALEKSANDRA D. POPOVAC

CORRELATION BETWEEN DENTAL AND
PROSTHETIC STATUS,
APOLIPOPROTEIN E GENE
POLYMORPHISM AND ALZHEIMER
DISEASE

DOCTORAL DISSERTATION

BELGRADE, 2018

Mentor:

prof. dr Ivica Stančić

redovni profesor

Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet

Komentor:

prof. dr Nebojša Despotović

vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Članovi komisije:

1. prof. dr Ljiljana Tihaček Šojić
redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet
2. prof. dr Jelena Milašin
redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet
3. prof. dr Biljana Miličić
vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet
4. doc. dr Vesna Medić
docent
Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet
5. prof. dr Elka Stefanova
redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Zahvalnost

Rad na ovoj doktorskoj disertaciji trajao je 7 godina ali u tom poduhvatu nisam bila sama, i zbog toga imam potrebu i želju da pomenem sve one kojima sam zahvalna i koji su zaslužni što sam ovaj lični i profesionalni projekat završila.

Veliku zahvalnost dugujem dr Slavici Golubović, neurologu Gerontološkog centra Beograd koja mi je omogućila pristup pacijentima sa Alchajmerovom bolešću i pristanak njihovih članova porodice za učešće u istraživanju. Veoma sam zahvalna dr Milošu Petroviću i dr Jeleni Vukmirović koji su mi pomogli u posetama Gerontološkom centru, prikupljali uzorke i beležili podatke. Veoma sam zahvalna čitavom timu laboratorije za molekularnu genetiku Stomatološkog fakulteta koji su mi u toku mog dugotrajnog boravka tamo omogućili da se osećam kao deo tima, a posebno Nađi Nikolić koja me je uputila u metode genetske analize, do tada za mene nepoznatoj oblasti.

Veliku zahvalnost dugujem članovima komisije prof. dr Ljiljani Tihaček Šojić, prof. dr Jeleni Milašin, prof. dr Elki Stefanovoj, prof. dr Biljani Miličić i doc. dr Vesni Medić. Ove izvanredne profesorke su me usmeravale tokom celog procesa istraživanja i pisanja disertacije. Nijedna doktorska teza ne bi mogla da se realizuje bez mentora. Veoma sam zahvalna komentoru prof. dr Nebojši Despotoviću koji je učestvovao sa svojim savetima i predlozima od same ideje pa do finalnih izmena u pisanju disertacije. Pored dragocenih saveta, uvek je imao reč ohrabrenja koje su mi veoma značile. Mom dragom mentoru, prof. dr Ivici Stančiću, sam veoma zahvalna jer je pored usmeravanja u naučnom i stručnom pogledu uvek znao da mi pruži podršku u trenucima kada mi se činilo da ne idem u dobrom pravcu, i čiji optimizam mi je veoma značio.

Na kraju sam najviše zahvalna svojoj porodici. Ocu, majci i sestri koji su me uvek bezuslovno podržavali, suprugu Nenadu koji me je bodrio kada je bilo teško i bio glas razuma i mojoj dečici Čedomiru i Mariji koja su moja inspiracija i najjače pogonsko gorivo.

KORELACIJA IZMEĐU DENTALNOG I PROTETSKOG STATUSA, POLIMORFIZMA GENA ZA APOLIPOPROTEIN E I ALCHAJMEROVE BOLESTI

Rezime

Uvod. Alchajmerova bolest je najčešći uzrok demencije. S obzirom na promene u ponašanju i kognitivnim funkcijama sa jedne strane i njenu veliku učestalost sa druge strane, Alchajmerova bolest predstavlja sve veći sociološki problem u svetu. Dijagnoza se postavlja u toku vremenskog intervala na osnovu psiholoških testova i diferencijalne dijagnoze sa drugim tipovima demencije, a potvrda dijagnoze se može dobiti samo postmortem kada se specifični senilni plakovi i neurofibrilarna klupka identifikuju u mozgu. Ne postoji efikasna terapija za AB, kao ni jasna etiologija što stavlja ovo oboljenje u žižu naučnog interesovanja. Od faktora rizika za sada su, između ostalog, poznati godine starosti kao i nasledni faktor, a sa sigurnošću nije utvrđen nijedan faktor rizika iz okolne sredine.

Naučna osnova problema ove disertacije se sastoji u uticaju apolipoproteina E, oralnog zdravlja i nutritivnog statusa na Alchajmerovu bolest ali i njihovoj međusobnoj korelaciji i udruženom delovanju. Apolipoprotein E (apoE) učestvuje u metabolizmu lipoproteina, stabilizuje i održava njihov strukturni integritet, služi kao kofaktor u enzimskim reakcijama i kao ligand za lipoproteinske receptore, a uključen je i u reverzni transport holesterola. Pojava dve ili više formi nekog gena (alela) sa pojedinačnom učestalošću višom od 1% predstavlja genski polimorfizam. Kod apoE, polimorfizam je po tipu polimorfizma pojedinačnih nukleotida. ApoE gen ima tri kodominantna alela ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$, i $\epsilon 4$) odgovorna za sintezu tri proteinske izoforme: apoE2, E3 i E4. Postojanje tri alela apoE gena određuje postojanje 6 genotipova ($\epsilon 2/2$, $2/3$, $2/4$, $3/3$, $3/4$, $4/4$) i 6 različitih fenotipova: E $2/2$, E $2/3$, E $2/4$, E $3/3$, E $3/4$, E $4/4$. Apolipoprotein E4 predstavlja osnovni genetski faktor rizika kod kasnog javljanja („late-onset“) AB. Veza ishrane i zdravlja moždanih ćelija nije jasna ni dokazana. Neki

podaci govore da ishrana sa manje masti a bogata voćem i povrćem može da poveća zdravlje moždanih ćelija. Pojedine studije ukazuju da loše oralno zdravlje može biti značajan faktor rizika za nastanak AB. Potencijalni mehanizmi uticaja oralnih oboljenja na demenciju su preko inflamatornih medijatora koji se proizvode kao odgovor na periodonto-patogene ili preko diseminacije oralnih gram negativnih bakterija u mozak putem tranzitne bakterijemije.

Osnovni cilj istraživanja je utvrditi korelacije između dentalnog i protetskog statusa, polimorfizma za apolipoprotein E i Alchajmerove bolesti.

Materijal i metode. Istraživanje je dizajnirano kao opservaciona “case-control” studija. Pacijenti su podeljeni u 2 grupe: pacijenti sa ishodom - Alchajmerova bolest i pacijenti bez ishoda – pacijenti starije dobi bez demencije. U prvoj grupi pacijenata sa AB, kriterijum za uključanje u studiju je bio: dijagnostikovana Alchajmerova bolest u bilo kom stadijumu, mogućnost komunikacije tj. obavljanja intervjua sa članom porodice (starateljem), starost preko 65 godina, dentalni status nije značajno promenjen u poslednje 3 godine. Za grupu ispitanika bez demencije, učesnici u studiji su takođe birani konsektivnom metodom a kriterijumi za uključanje pacijenata u kontrolnu grupu: dokaz da pacijent nije dementan, starost preko 65 godina, dentalni status nije značajno promenjen u poslednje 3 godine.

Radi ostvarivanja ciljeva, vršena su sledeća ispitivanja:

1. analiza DNK;
2. analiza dentalnog i stomatoprotetskog statusa;
3. utvrđivanje nutritivnog statusa i
4. statistička obrada podataka

Proces analize DNK se može podeliti u 3 koraka:

- a) izolacija DNK iz uzoraka i priprema PCR smese; DNK je izolovana iz ćelija bukalne sluzokože dobijenih brisom. Izvodila se komercijalnim kitom za izolaciju DNK (PureLink™ Genomic DNA Mini Kit, Invitrogen).

b) PCR reakcija (Lančana reakcija polimeraze - Polymerase chain reaction). Lančana reakcija polimeraze je in vitro amplifikacija željene DNK sekvence i predstavlja imitaciju DNK replikacije (DNK udvajanja).

c) identifikacija PCR produkata. Ovaj postupak podrazumeva restrikcionu digestiju PCR produkata i analizu dužine restrikcionih fragmenata. Dužine restrikcionih fragmenata za različite alele apoE (izražene u baznim parovima) su sledeće:

E4 alel: 72, 48, 38, 35; E3 alel: 91, 48, 38, 35; E2 alel: 91, 83, 38. Na osnovu toga se beleži genotip ispitivanih uzoraka.

Radi analize dentalnog i protetskog statusa, vršio se stomatološki pregled i popunjavanje specijalno dizajniranih upitnika. Pregled je podrazumevao analizu broja prirodnih zuba, okludirajućih parova zuba kao i analizu prisustva i vrste zubnih nadoknada.

Analiza nutritivnog statusa je podrazumevala popunjavanje specijalno dizajniranih upitnika gde su beleženi podaci u vezi kvalitativnog i kvantitativnog unosa hrane. Ispitivanje kvalitativnog unosa hrane podrazumeva ispitivanje učestalosti unosa osnovnih vrsta namirnica, mesa ili ribe, voća i povrća, i mlečnih proizvoda. Pored toga, računao se BMI indeks, beležene su vrednosti serum albumina iz krvi, i u kojoj meri hrana koju pacijent prerađena kao i da li se ispitanik samostalno hrani. Za statističku analizu, ispitivani parametri su predstavljeni kao nominalne vrednosti. Značajnost razlike, na nivou $p < 0.05$ evaluiran koristeći hi kvadrat test. Takođe, logističkom regresionom analizom izdvajani su prediktori pojave demencije. Faktori koji su se univarijantnom analizom pokazali kao značajni ulaze u multivarijantni regresioni model, gde se ispituje nezavisnost uticaja svakog faktora koji se pokazao kao značajan, u prethodnom modelu. Univarijantnom i multivarijantnom regresionom analizom izračunava se i relativni rizik koji ima najviše značaja kao “mera povezanosti mogućeg uzroka i očekivane posledice” ($\exp(B)$) i on nam pokazuje koliko puta su ispitanici sa posmatranim faktorima rizika pod većom verovatnoćom pojave AB.

Rezultati. U istraživanju je učestvovalo 179 pacijenata, 116 sa dijagnozom Alchajmerove bolesti i 63 ispitanika bez demencije. Većina ispitanika je bilo ženskog pola, u braku (oženjen/udata), najčešće su završili samo osnovnu školu, i bili su starosti 65-74 godine. Najveću učestalost za apoE pokazuje genotip E3/E3. Najveći broj ispitanika imao je nijedan ili mali broj zuba (1-9). Većina ispitanika je imala dovoljan broj okludirajućih parova prednjih zuba a nedovoljan broj okludirajućih parova bočnih zuba. Među onima sa nedovoljnim brojem, najviše je onih bez zubnih nadoknada. Među onima koji ih imaju dovoljno, najviše je onih sa mobilnim zubnim nadoknadama. Najveći broj ispitanika nije imalo zubne nadoknade, a od onih koji imaju zubne nadoknade, najzastupljenije su bile totalne proteze.

Kad se uporede rezultati dementne i nedementne grupe ispitanika, uočava se da je genotip E3/E4 znatno zastupljeniji kod dementnih ispitanika. Osobe sa E4 alelom imaju 3 puta veći rizik da razviju Alchajmerovu bolest nego osobe bez ovog alela. Opšti dentalni status i broj zuba se ne razlikuje značajno među ovim grupama, dok kod broja okludirajućih parova zuba postoji statistička značajnost između dementnih i nedementnih ispitanika. Dementni ispitanici su imali mali broj okludirajućih parova zuba i to bez zubnih nadoknada. Osobe sa ukupno 8 i više okludirajućih parova zuba imaju 7 puta manji rizik za nastanak Alchajmerove bolesti nego osobe sa manjim brojem UOPZ. Dovoljan broj OPZ kod nedementnih poticao je od prisustva zubnih nadoknada, a ne od prirodnih zuba. Kad se navedeni faktori rizika izračunaju kao zbirni, rezultati pokazuju da osoba ima čak 10 puta veći rizik da razvije Alchajmerovu bolest ako je nosilac apoE4 alela i ima nedovoljno okludirajućih parova svih zuba nego ako nema ove činioce udružene.

Nije se pokazalo da su demetni pacijenti u većem procentu pothranjeni, ali su ispitanici sa demencijom učestalije konzumirali meso od nedementnih ispitanika kao i delimično usitnjenu (pasiranu) hranu. Univarijantna logistička regresiona analiza pokazuje značajnost parametara konzumiranje mesa, voća i povrća, vrednost serum albumina i konzistencija hrane za pojavu i razvoj AB. Povezanost dentalnog statusa i ishrane pokazala je da ispitanici koji su imali manje od 3 OP prednjih zuba, manje od 5 OP bočnih zuba i manje od 8 ukupno OPZ su najčešće konzumirali delimično usitnjenu ili

tečnu hranu. Kod ispitanika sa AB veća je povezanost broja OPZ i konzistencije hrane. Multivarijantnom logističkom regresijom kao prediktori razlike između ispitanika sa i bez AB izdvojili su se: bračni status, konzumiranje voća i povrća, konzumiranje mesa i ribe i konzistencija hrane koja se konzumira. Ovi faktori se mogu posmatrati kao samostalni, tj. nezavisni od ostalih.

Diskusija. Povezanost lošeg dentalnog statusa (mali broj zuba, mali broj OPZ) i demencije se može tumačiti na više načina. To su pre svega postojanje parodontalnih oboljenja, preko ishrane, uticaj dentalnog statusa u sklopu ostalih kofaktora (loš socioekonomski status, psihički problemi, genotip itd.) i preko veze oralnog i opšte zdravlja. Zbog rezultata koji govore o malom broju OPZ kao zavisnom faktoru, a sa druge strane konzumiranju pasirane hrane kao nezavisnom faktoru rizika za razvoj AB, veoma je važno sprovesti protetski tretman kod starih ljudi kada god je to potrebno. Tome u prilog govori i rezultat da je dovoljan broj OPZ poticao uglavnom od zubnih nadoknada a ne prirodnih zuba, a da i takvi okludirajući parovi koji su sastavljeni od mobilnih zubnih nadoknada mogu delovati kao protektivni faktor.

Zaključak. Nedovoljan broj okludirajućih parova zuba uz nepostojanje zubnih nadoknada zajedno sa postojanjem jednog apoE4 alela su udruženi faktori rizika za nastanak Alchajmerove bolesti u sklopu prisustva ostalih postojećih kofaktora.

Ključne reči: Alchajmerova bolest, apolipoprotein E, okludirajući parovi zuba.

Naučna oblast / Uža naučna oblast: Stomatologija / Gerontostomatologija.

Abstract

Introduction. Alzheimer disease is the most common cause of dementia. Having in mind changes in behavior and cognitive functions, but also its great incidence, Alzheimer disease represent increasingly sociological problem worldwide. Diagnosis is set during some time interval based on psychology tests and differential diagnosis with other dementia types, but its confirmation can be made only postmortem when senil plaques and neurofibrillar tangles are identified in brain tissue. There is neither efficient therapy for AD, nor clear ethiology, which is why scientists are very interested for it. Risk factors which are confirmed so far are age and genetic factor, and no risk factor from enviroment has been confirmed.

Scientific problem of this thesis is based on influence of apolipoprotein E, oral health and nutritive status on Alzheimer disease but also their mutual correlations and joint actions. Apolipoprotein E (apoE) participates in lipoprotein metabolism, stabilizes and maintains their structural integrity; it is cofactor in enzyme reactions, ligand for lipoprotein receptors, and it is involved in reversible cholesterol transport. Appearance of two or more forms of some gene (allele) with individual frequency more than 1% represents gene polymorphism. In apoE, polymorphism is single nucleotide type. ApoE has three codominant alleles ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$, i $\epsilon 4$) which are responsible for synthesis of three protein isoforms apoE2, E3 i E4. Having three alleles determinates 6 genotypes ($\epsilon 2/2$, $2/3$, $2/4$, $3/3$, $3/4$, $4/4$) and 6 phenotypes: E $2/2$, E2/3, E2/4, E3/3, E3/4, E4/4. Apolipoprotein E4 represents basic genetic risk factor in Alzheimer late-onset. Relationship between nutrition and brain cells health is neither clear nor proved. Some data indicate that nutrition with less fat and rich in fruits and vegetables can improve brain cells health. Some studies showed that bad oral health can be significant risk factor for Alzheimer disease development. Potential mechanisms of oral diseases influence on dementia are through inflammatory mediators which are produced as response to periodontal pathogens or through oral gram negative bacteria dissemination – transitory bacteremia.

The main **aim** of this study is to determine correlation between dental and prosthetic status, apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer disease.

Material and methods. Study was designed as observational case-control study. There were 2 groups of patients: patients with outcome – Alzheimer disease and patients without outcome – elderly patients without dementia. In first group of patients, inclusion criteria were: Alzheimer disease diagnosis in any stage, possibility for communication with family member, age over 65, and that dental status hasn't been changed significantly in last 3 years. For second group of patients, participants were also chosen with consecutive method, and inclusion criteria were: evidence that patient doesn't have dementia, age over 65, and that dental status hasn't been changed significantly in last 3 years.

In order to fulfill the research objectives, the following procedures were carried out:

1. DNA analysis;
2. Dental and prosthetic status analysis;
3. Nutritive status determination;
4. Statistical data analysis.

DNA analysis process can be divided into 3 steps:

- a) DNA isolation from samples and PCR mixture preparation; DNA was isolated from buccal mucosa cells obtained by swabs. It was carried out with commercial kit for DNA isolation (PureLink™ Genomic DNA Mini Kit, Invitrogen).
- b) PCR reaction (Polymerase chain reaction). Polymerase chain reaction is in vitro amplification of desired DNA sequence and represent imitation of DNA replication (DNA doubling).
- c) Identification of PCR products. This procedure implies restriction digestion of PCR products and analysis of restriction fragments length. Restriction fragments length for different apoE alleles (presented in base pairs) are: E4 allele: 72, 48, 38, 35; E3 allele: 91, 48, 38, 35; E2 allele: 91, 83, 38. Based on that, genotype of tested samples is recorded.

For dental and prosthetic status analysis, dental examination and filling out specially designed questionnaires were done. Dental examination implied number of teeth, occluding teeth pairs and presence and type of prosthetic restoration recording.

Nutritive status analysis implied filling out specially designed questionnaires where data were recorded about quantitative and qualitative food intake. Qualitative food intake implied examination of basic food type intake frequency such as meat or fish, fruits and vegetables and milk and dairy products. In addition, BMI index was calculated, serum albumin values were recorded, whether food was processed or hard and whether patient was able to eat by themselves.

For statistical analysis, tested parameters were represented as nominal values. The significance of the difference, at $p < 0.05$, was evaluated using a chi square test. Also, with logistic regression analysis predictors of dementia were calculated. Factors which were shown as significant with univariate regression analysis entered the multivariate regression model where each factor was examined as independent. With univariate and multivariate regression analysis relative risk was also calculated as „measure of the possible correlation of cause and consequence“ ($\exp(B)$) and it shows us how many times the subjects with observed risk factors are more likely to develop AD.

Results. In this study 179 patients participated, 116 with AD diagnosis and 63 participants without dementia. Most of the participants were female, married, had only primary school finished, and were 65-74 years old. Genotype E3/E3 was the most frequent. The most of the participants had none or small number of teeth (1-9). Most of the participants had enough number of front teeth occluding pairs and insufficient number of posterior occluding pairs. Among those with insufficient number of occluding teeth pairs, most of them were without dentures (fixed or removable). Among those with sufficient number of occluding teeth pairs, most of them had removable dentures. The most of the participants didn't have any dentures (fixed or removable), and among those who had, most frequent were complete dentures.

When results of group with and without dementia are compared, it can be seen that genotype E3/E4 is significantly more frequent in dementia group. Participants with E4 allele has 3 times bigger risk for AD than persons without this allele. General dental status and number of teeth hasn't differ much between groups with and without dementia but difference in occluding number of teeth pairs had statistical significance. Patients with dementia had insufficient number of occluding teeth pairs and no dentures. Participants with 8 or more total occluding teeth pairs had 7 times less risk for AD development than participants with fewer total number of occluding teeth pairs.

When the listed risk factors are calculated together, results showed that person have up to 10 times bigger risk for AD if he/she has apoE4 allele and has insufficient occluding teeth pairs compared to persons without these factors.

Participants with dementia haven't been undernourished, but it was showed that participants with dementia consumed meat more frequently and also consumed processed food more often than participants without dementia. Univariate logistic regression analysis showed that parameters meat, fruits and vegetables consumption, serum albumin values and food consistency were significant for AD development. Relationship between dental status and nutrition showed that participants who had less than 3 occluding teeth pairs of front teeth and less than 5 occluding teeth pairs of posterior teeth most frequently consumed processed, soft or liquid food. In patients with AD, the connection between number of occluding teeth pairs and food consistency was stronger than in patients without dementia.

Multivariate logistic regression analysis showed that predictors of difference between participants with and without AD are: marital status, fruits and vegetables consumption, meat consumption and food consistency. These factors can be considered as independent from others.

Discussion. Relationship between bad oral and dental status (small teeth number, small number of occluding teeth pairs) and dementia can be interpreted in several ways. These are periodontal disease, through nutrition, through dental status influence within other

cofactors (bad socioeconomic status, physiological problems, genotype etc.) and through relationship between oral and general health. Because of the results which are insufficient number of occluding teeth pairs as dependent risk factor for AD and on the other side processed and soft food consumption as independent risk factor for AD, it is very important to conduct prosthetic treatment in elderly patients whenever possible and needed. In addition, sufficient number of occluding teeth pairs was most frequently from removable dentures, which are therefore some kind of protective factor.

Conclusion. Insufficient number of occluding teeth pairs with no dentures (fixed or removable) and together with presence of one apoE4 allele are associated risk factors for Alzheimer disease development within other present cofactors.

Key words: Alzheimer disease, apolipoprotein E, occluding teeth pairs.

Scientific field: Dentistry, Geriatric dentistry

SADRŽAJ

1.	UVOD.....	1
1.1.	Alchajmerova bolest	1
1.1.1.	Oralno zdravlje i osnovni principi nege oralnog zdravlja osoba sa AB	4
1.2.	Apolipoprotein E i njegova veza sa Alchajmerovom bolešću	6
1.3.	Uloga nutritivnog statusa u razvoju Alchajmerove bolesti.....	10
1.4.	Uloga dentalnog statusa u razvoju Alchajmerove bolesti.....	12
2.	RADNA HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	15
3.	MATERIJAL I METODE	17
3.1.	Analiza DNK pacijenata	19
3.2.	Analiza dentalnog i protetskog statusa	26
3.3.	Analiza nutritivnog statusa	29
3.4.	Statistička obrada podataka.....	30
4.	REZULTATI	32
4.1.	Karakteristike ispitanika obe grupe.....	32
4.2.	Genotip, dentalni status i ishrana kod ispitanika sa i bez demencije.....	38
4.3.	Povezanost dentalnog statusa i ishrane.....	54
4.3.1.	Dentalni status i ishrana kod svih ispitanika	54
4.3.2.	Dentalni status i ishrana kod ispitanika sa i bez AB.....	60
4.4.	Multivarijantna regresiona analiza.....	68
5.	DISKUSIJA	70
6.	ZAKLJUČAK.....	86
7.	LITERATURA	88
8.	BIOGRAFIJA.....	100

1. UVOD

1.1. Alchajmerova bolest

Alchajmerova bolest je najčešći uzrok demencije. Ona predstavlja sedamnaesti uzrok smrti u svim uzrastima a peti uzrok smrti kod osoba preko 65 godina starosti. U toku razvoja Alchajmerove bolesti (AB) nervne ćelije progresivno propadaju i odumiru. Zbog toga, prenos informacija počinje da slabi jer se broj sinapsi smanjuje kako ćelije odumiru. Mozak sa uznapređovalom Alchajmerovom bolešću pokazuje dramatično smanjenje zapremine zbog gubitka ćelija i stvaranja velikih područja debrisa od mrtvih neurona.

Epidemiološki podaci govore da otprilike 13% ljudi preko 65 godina starosti i 45% ljudi preko 85 godina starosti imaju AB (Alzheimer's Association Report 2010). Alchajmerova bolest pogađa ljude na različite načine a najčešći simptom koji se pogoršava s vremenom je nesposobnost da pamte nove informacije. To je zato što gubitak nervnih ćelija obično počinje u regionima koji su uključeni u stvaranje novog pamćenja. U početnim fazama, osobe u svom poznatom kućnom okruženju mogu da okarakterišu simptome kao zaboravnost. Kako se oštećenje širi, pacijenti iskušavaju i druge teškoće:

- Gubitak memorije koji remeti svakodnevni život: osoba može da doživi kratkotrajan gubitak pamćenja i redovno zaboravlja skorije događaje, dogovore, imena i lica;
- Teškoće u planiranju i rešavanju problema;
- Poteškoće u razumevanju onoga što je rečeno;
- Teškoće u izvršavanju uobičajenih poslova kod kuće, na poslu ili u toku odmora (zbunjenost rutinskim postupcima kao što je rukovanje novcem, vožnja auta ili korišćenje mašine za pranje veša);
- Dezorjentisanost u vremenu i prostoru;

- Alchajmerova bolest – progresivno kognitivno propadanje;
- Sve učestalija nakon 65 godina starosti;
- Bez jasnih etioloških faktora i bez adekvatne terapije!
- Veliki zdravstveno-socijalno-ekonomski problem savremenog društva.

- Teškoće u razumevanju vizuelnih slika i prostornih odnosa;
- Novi problemi sa rečima u govoru i pisanju;
- Smanjeno rasuđivanje;
- Povlačenje sa posla ili socijalnih aktivnosti;
- Promene u raspoloženju i ličnosti u smislu uznemirenosti, razdražljivosti a nekad i apatije (www.alz.org).

U uznapredovaloj AB, pacijentima treba pomoć u kupanju, oblačenju, korišćenju toaleta, hranjenju i drugim dnevnim aktivnostima. Takođe u ovim fazama, osobe mogu da usvoje uznemireni obrazac ponašanja u smislu lutanja noću, gubljenja ili neadekvatnog ponašanja kao npr. svlačenja odeće u javnosti. U poslednjoj fazi bolesti, oni gube sposobnost komunikacije, ne prepoznaju članove svoje porodice i postaju kompletno funkcionalno zavisni. Članovi porodice obolelih od AB opisuju ovaj stadijum kao „život sa strancem“ ili kao da je osoba koju su poznavali umrla a da je samo telo ostalo. Nemogućnost kretanja u završnim fazama bolesti čini pacijente podložnije infekcijama, uključujući pneumoniju koja može biti fatalna (Terpenning et al., 2001).

Tip, stepen i napredovanje mentalnih promena se mogu veoma razlikovati. Obično je AB sporog toka, počinje sa manjim problemima u pamćenju a završava se ozbiljnim oštećenjem mozga. Bolest može da traje i do 20 godina, a najčešći uzrok smrti je infekcija.

Dijagnoza se postavlja u toku vremenskog intervala na osnovu psiholoških testova i diferencijalne dijagnoze sa drugim tipovima demencije, beležeći simptome u toku vremena i na osnovu rezultata kognitivnih testova i testova pamćenja. Potvrda dijagnoze se može dobiti samo postmortem kada se specifični senilni plakovi i neurofibrilarna klupka identifikuju u mozgu.

Ne postoji efikasna terapija za AB. Postoje mnogi tretmani u fazi ispitivanja ali ne postoje dokazi da je neki uspešan u usporavanju ili zaustavljanju propadanja moždanih ćelija. Sve je više dokaza da je zdravlje mozga blisko povezano sa sveukupnim

zdravljen srca i krvnih sudova. Neki podaci ukazuju da smanjenje kardiovaskularnih rizika, kao što je visok holesterol, dijabetes tipa 2, visok krvni pritisak, pušenje, povećana telesna težina i fizička neaktivnost mogu pomoći u odlaganju ili izbegavanju kognitivnog propadanja (Alzheimer's Association Report 2010).

Kada se AB javi kod osoba ispod 65 godina starosti, tada se smatra da je to „rani početak“ („early-onset“) za razliku od „kasnog početka“ („late-onset“) koji se razvija kod osoba preko 65 godina starosti.

Etiologija AB nije tačno utvrđena mada su utvrđeni neki faktori rizika. Oni uključuju:

- Godine starosti. Rizik od AB se povećava sa 1:1000 ispod 65 godina na 1:10 preko 65 godina i na čak 1:5 preko 80 godina starosti;
- Pozitivna porodična anamneza. Neke porodice imaju jaku povezanost sa demencijom ali i u porodicama gde ne postoji puno slučajeva demencije nasleđivanjem određenih gena povećava se mogućnost za razvoj AB;
- Oštećenje mozga. Ozbiljna povreda glave sa gubitkom svesti ili ponovljene povrede glave tokom života;
- Daunov sindrom. Otprilike 60% ljudi sa Daunovim sindromom koji dožive 50.godinu razviju AB, najviše zbog hromozomske aberacije;
- Herpes simplex. Smatra se da je delovanje ovog virusa povezano sa genetskim i hemijskim faktorima.

Generalno, sa sigurnošću nije utvrđen nijedan faktor rizika iz okolne sredine. AB se povezuje sa depresijom, traumama glave, kardiovaskularnim poremećajima, pušenjem i moždanim insultom (Hebert et al., 2004; Viswanathan et al., 2009). Korišćenje nesteroidnih anti-inflamatornih lekova se povezuje sa smanjenim rizikom od AB ali istraživanja nisu potvrdila ovu pretpostavku (Padala et al., 2010; Li et al., 2010). Statini, koji se koriste u lečenju hiperholesterolemije su dali rezultate u smislu smanjenja rizika od demencije kod dugotrajne upotrebe ove grupe lekova, ali prospektivne studije nisu uspele da pokažu statistički značajnu razliku (Haan, 2010). Takođe, pokazalo se da statini imaju pozitivan protektivni efekat samo kod pacijenata kod kojih se simptomi demencije još nisu pojavili, dok kod pacijenata sa manje ili više izraženim simptomima

demencije, upotreba statina može dovesti i do pogoršanja simptoma (Haan, 2010). Takođe, studija Li i saradnika pokazuju da su statini delotvorniji u prevenciji AB kod nosioca apoE4 alela kao i kod mladih osoba (Li et al., 2010). Diabetes i hiperinsulinemija su potencijalni faktori rizika i zbog toga su poslednjih godina predmet intenzivnih istraživanja (Padala et al., 2010).

Potrebno je naglasiti da priroda AB kao i njena rasprostranjenost je čine velikim socijalnim problemom u razvijenim zemljama ali i u zemljama u tranziciji. Pacijenti sa AB iziskuju posebnu negu, što je zahtevno kako za porodicu obolelog tako i za ceo zdravstveni sistem.

1.1.1. Oralno zdravlje i osnovni principi nege oralnog zdravlja osoba sa AB

Poznato je da oralno zdravlje propada kako AB napreduje. Značaj ovog uticaja naročito dolazi do izražaja u kasnijim stadijumima bolesti i vodi ka povećanju stepena gingivitisa, parodontopatije, većem broju karioznih i gangrenoznih zuba i većoj učestalosti ostalih oralnih patoloških stanja i problema (Chalmers et al., 2002). To podrazumeva i teškoće u nošenju proteza, nesposobnost da obavljaju procedure vezane za oralnu higijenu i nemogućnost da se podvrgnu stomatološkom tretmanu (The Authors Journal compilation 2006). Takođe, rizik od aspiracione pneumonije se značajno povećava oralnim faktorima kao što je perzistencija gangrenoznih korenova (radix relictata) i parodontopatija.

Faktori koji utiču na oralno zdravlje podrazumevaju: ozbiljnost i stadijum demencije, individualan nivo kognitivnog oštećenja i fizičke neposobnosti, prethodni problemi sa oralnim zdravljem, uticaj medikacije na usnu

duplju, naročito kserostomiju, znanje i stavovi prema oralnom zdravlju i negovateljima

- problemi oralnog zdravlja kod AB: gingivitis, parodontopatija, koronalni i cervikalni karijes, teškoće u nošenju proteza, protezni stomatitis, otežano obavljanje oralne higijene, otežana adaptacija kod izrade novih proteza, kserostomija usled medikamenata;
- protetski tretman oprezno ali nema striktnih kontraindikacija! nove proteze – preporuka tehnika kopiranja; potrebna podrška okoline zbog otežane adaptacije;
- bolje je kada zubne nadoknade već postoje jer se tako preveniraju poremećaji u ishrani i pogoršanje opšteg zdravlja.

kao i stavovi dentalnog tima o starenju i demenciji (nedostatak želje ili mogućnosti dentalnog tima da pruži adekvatnu oralnu negu) (Ghezzi et al., 2000). Najčešći lekovi koji se koriste kod AB imaju potencijal da izazovu kserostomiju, čije su komplikacije akumulacija plaka, parodontopatija, teškoće u nošenju proteza i karijes. Češće kontrole od strane stomatologa i korišćenje hlorheksidina i fluorida pomažu u prevenciji i kontroli razvoja karijesa. Takođe, lekovi koji se koriste kod AB i drugih demencija mogu uzrokovati glositis (antiholinesteraze) i mukozitis (antipsihotici) kao i gingivalnu hiperplaziju, oralne ulceracije, eritem multiforme i gubitak ukusa (antokonvulzivni lekovi) (Ettinger et al., 2000). Iako ne postoje dokazi da je Candida učestalija kod dementnih osoba, literaturni podaci govore da čak 50% osoba sa demencijom ima protezni stomatitis.

U studiji kod osoba sa ranom demencijom, (Whittle et al., 1987) pronađeno je da je veća učestalost bezubih osoba, kao i da su proteze koje su oni koristili starije u poređenju sa protezama odgovarajuće populacije (starosne grupe ispitanika) bez demencije. Razlog tome može biti to što demencija može da utiče na sposobnost da osoba nosi protezu. Poremećaj pokreta kao što je disknezija, spazam mišića, loša koordinacija mišića, rigidna facijalna muskulatura, refleks usisavanja, redukovana salivarna funkcija, posturalna hipersalivacija i slaba mišićna kontrola ugrožavaju retenciju proteza i njihovu kontrolu što vodi ka njihovom labavljenju (Author Journal Compilation 2006).

Nove totalne proteze se rade u dva slučaja. Prvi je kad se proteze izgube a drugi kada osoba postane bezuba. U oba slučaja, osoba sa demencijom može imati teškoća u navikavanju na nove proteze iako je ranije uspešno nosila parcijalne proteze. Osobe moraju da se hrabre od strane negovatelja da bi istrajali u nošenju proteza. To je verovatnije da će se desiti kod osoba u kućnom okruženju i ako je negovatelj član porodice. Zamena totalnih proteza treba da se radi tehnikom kopiranja ili bar uzimanjem u obzir osobine starih proteza kao što su oblik dentalnog luka i prostor za jezik, uzimajući u obzir da su stare proteze uspešno nošene (Jelenković et al., 2013).

Iako navedeni podaci govore o teškoćama korišćenja zubnih nadoknada kod pacijenata sa AB, takođe nije mala populacija pacijenta sa AB koji koriste već postojeće zubne nadoknade, napravljene u vreme kada oni još nisu bili dementni. Iako su takve zubne nadoknade često dotrajale i sa znakovima oštećenja, pacijenti su dobro adaptirani na njih i koriste ih. To se naročito odnosi na fiksne zubne nadoknade, kao i mobilne zubne nadoknade koje imaju dobru retenciju, stabilizaciju i ne zahtevaju “pridržavanje” od strane mišića. To se pre svega odnosi na kompleksne proteze sa preciznim veznim elementima kao i skeletirane proteze sa dobro isplaniranom retencijom i stabilizacijom. Veoma je korisno da pacijenti sa AB koriste postojeće zubne nadoknade između ostalog i zbog prevencija poremećaja ishrane. Kao dodatak, uticaj dentalnog i stomatoprotetskog statusa na pojavu demencije se sve više nalazi u literaturi, a to je jedan od predmeta i ovog istraživanja.

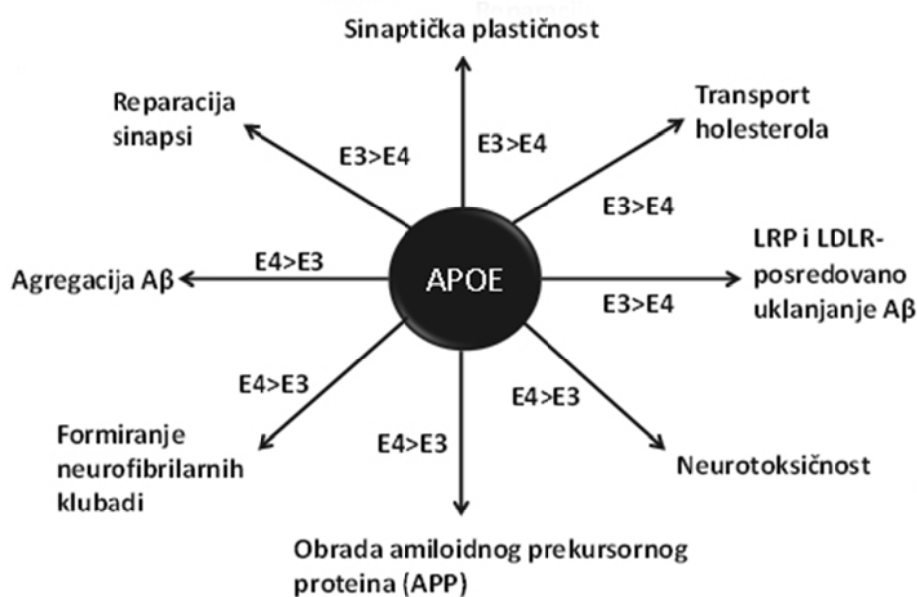
1.2. Apolipoprotein E i njegova veza sa Alchajmerovom bolešću

Apolipoprotein E (apoE) učestvuje u metabolizmu lipoproteina, stabilizuje i održava njihov strukturni integritet, služi kao kofaktor u enzimskim reakcijama i kao ligand za lipoproteinske receptore, a uključen je i u reverzni transport holesterola. ApoE je jedan od glavnih proteinskih konstituenata nekoliko lipoproteinskih klasa, posebno onih bogatih trigliceridima. Ima antiaterogena i antioksidativna svojstva. Najveća sinteza ApoE je u jetri (>75%), zatim u mozgu - astrociti sintetišu ApoE koji se nalazi u cerebrospinalnoj tečnosti, a neuroni ga sintetišu u uslovima stresa.

Varijacije u naslednoj osnovi koje se normalno sreću u populaciji zdravih ljudi nazivamo polimorfizmom. Pojava dve ili više formi nekog gena (alela) sa pojedinačnom učestalošću višom od 1% predstavlja genski polimorfizam. Aleli sa učestalostima manjim od 1% smatraju se retkim varijantama. Polimorfizmi su posledica mutacija koje mogu biti u vidu zamene jedne baze do variranja u segmentu od čak nekoliko stotina baza. Postoje tri osnovna tipa DNK polimorfizma: polimorfizam pojedinačnih nukleotida (engl. *Single Nucleotide Polymorphism*- SNP), polimorfizam broja uzastopnih ponovaka (engl. *Variable Number of Tandem Repeats*- VNTR) i inserciono/delecioni polimorfizam. Polimorfizam pojedinačnih nukleotida je najčešći

izvor genetičkih varijacija u ljudskom genomu i obuhvata oko 90% svih DNK polimorfizama. Nastaje usled mutacija tipa zamene jednog nukleotida drugim (tačkasta mutacija). Tranzicije su zamene bazom istog tipa (purinske baze: A→G ili G→A, pirimidinske baze: C→T ili T→C), dok su transverzije zamene bazom drugog tipa (purin u pirimidin ili obrnuto). Polimorfizam ApoE je po ovom tipu.

ApoE je monomerni glikoprotein molekulske mase 34 kDa koji se sastoji iz 299 amino kiselina. ApoE gen ima tri kodominantna alela ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$, i $\epsilon 4$) odgovorna za sintezu tri proteinske izoforme: apoE2, E3 i E4. Razlike u ove tri izoforme su ograničene na aminokiselinske ostatke 112 i 158 gde je prisutan ili cistein ili arginin: Apo-E2 (Cys112, Cys158), Apo-E3 (Cys112, Arg158) i Apo-E4 (Arg112, Arg158) (Mahley et al., 2000). Samo ta jedna razlika u aminokiselini na ove dve pozicije utiče na strukturu apoE izoforme i njegovu sposobnosti da veže lipide, receptore i beta-amiloid (Chen, et al., 2011) (slika 1). Postojanje tri alela apoE gena određuje postojanje 6 genotipova ($\epsilon 2/2$, $2/3$, $2/4$, $3/3$, $3/4$, $4/4$) i 6 različitih fenotipova: E $2/2$, E $2/3$, E $2/4$, E $3/3$, E $3/4$, E $4/4$. Gen za ApoE se nalazi na kratkom kraku hromozoma 19 (19q3.2), i ima četiri egzona i tri introna. Posmatrajući celokupnu ljudsku populaciju, alel $\epsilon 3$ je najzastupljeniji (60-90%), alel $\epsilon 4$ je zastupljen sa 10-20%, a alel $\epsilon 2$ sa 0-20%. Apolipoprotein E4 predstavlja osnovni genetski faktor rizika kod kasnog javljanja („late-onset“) AB. Ljudi koji su nasledili samo jedan $\epsilon 4$ alel imaju dvostruko do petostruko veće šanse da dobiju Alchajmerovu bolest. Takođe, frekvencija E4 alela je prema dosadašnjim istraživanjima značajno povećana kod pacijenata sa AB, čak i do blizu 40%. Za razliku od apoE4, E2 alel ima protektivnu ulogu protiv AB: rizik od AB ko osoba sa genotipom E2/E2 ili E2/E3 je manja nego kod onih genotipova E3/E3 (Farrer et al., 1997). Učestalost AB i prosečna starost za klinički početak bolesti su 91% i 68 godina kod E4 homozigota, 47% i 76 godina kod E4 heterozigota i 20% i 84 godina kod osoba koji nisu nosioci E4 alela (Corder et al., 1993) što ukazuje da apoE4 dramatično povećava rizik od razvoja AB i u ranijem životnom dobu. Iako vezu između apoE4 i AB potvrđuju mnogi literaturni podaci, ona se i dalje istražuje. Takođe, do sada nije poznat tačan mehanizam kojim apoE4 utiče na patogenezu bolesti ali se ta veza intenzivno istražuje i postoji nekoliko teorija. U sledećem delu teksta su objašnjene te teorije i navedeni noviji literaturni podaci o vezi apoE sa patologijom i patofiziologijom AB.



Slika 1. Funkcionalne razlike izoformi apoE.

Patološki, Aβ karakterišu dve mikroskopske lezije a to su senilni plakovi i neurofibrilarna klupka (neurofibrillary tangles - NFT). Obe vrste lezija moraju biti prisutne da bi se postavila dijagnoza AB post-mortem, i jedna se nikad ne javlja bez druge. Senilni plakovi su ekstracelularni depoziti beta-amiloida, koji predstavlja peptid sa 40-42 amino kiseline koji nastaje od prekursora amiloid proteina pomoću beta i gama sekretaza. Kada se jednom formira, beta-amiloid ima sklonost da se nakuplja u ekstracelularne strukture i tako formira senilne plakove. Agregati toksičnog beta-amiloidnih peptida u formi rastvorljivih oligomera, intraneuralnih beta-amiloida i amiloidnih plakova oštećuju sinapse i na kraju uzrokuju neurodegeneraciju i demenciju (Hardy et al., 2002). Studije pokazuju da apoE genotipovi značajno utiču na sposobnost beta-amiloida da formiraju senilne plakove i uzrokuju amiloidnu angiopatiju jer imaju različit efekat na metabolizam beta-amiloida, njegovu agregaciju i depoziciju. Formiranje senilnih plakova od beta-amiloida je obilnije kod apoE4 nosioca nego kod osoba koje nisu nosioci ovog alela (Kok et al., 2009; Polvikoski et al., 1995). Smatra se da je razlog što apoE4 vezuje beta-amiloid sa manjim afinitetom nego apoE3, što sugerise da je apoE4 manje efikasan u posredovanju razlaganja beta-amiloida. Takođe,

moguće je da apoE menja uklanjanje beta-amiloida iz mozga u sistemsku cirkulaciju transportovanjem beta-amiloida kroz krvno-moždanu barijeru. U tom smislu, apoE predstavlja smetnju u razlaganju beta-amiloida na krvno-moždanoj barijeri na izoformno-specifičan način (Apo-E4 > Apo-E3 i Apo-E2) (Deane et al., 2008).

Neurofibrilarna klupka (NFT) se primarno stvaraju od nakupljenog fosforilisanog tau proteina i klinički se pojavljuju ne samo kod AB nego i u drugim bolestima koje se zajedno nazivaju “tauopatije” (Trojanowski et al., 2000). Tau normalno funkcionise tako što pomaže da se održi stabilnost citoskeleta neurona tako što se vezuje za mikrotubule. Međutim, nakon hiperfosforilacije i posttranslacionog razlaganja, tau gubi sposobnost vezivanja za mikrotubule, što vodi u destabilizaciju citoskeleta a tau se međusobno grupišu u parove helikoidnih filamenata (“paired helical filaments – PHF”) (Alonso et al., 2001).

Bitan dokaz o uticaju apoE4 na patogenezu AB su podaci koji pokazuju da je apoE4 visoko podložan proteolizi u poređenju sa drugim izoformama apoE (Harris et al., 2003). Intraneuralno proteolitičko razlaganje apoE4 može da pomogne neuropatologiju i neurodegeneraciju u mozgu kod AB. Ovu teoriju takođe podržavaju podaci koji ukazuju na postojanje apoE4 fragmenata (14–20 kDa) u mozgu kod AB (Huang et al., 2001; Rohn et al., 2012). Razlaganje apoE4 je na dva različita dela, a svaki se izgleda lokalizuje na specifične patološke lezije. C-terminalni fragment se vezuje za beta-amiloid i lokalizovan je u plakovima, dok se N-terminalni fragment lokalizuje u okviru NFT. Navedeni N- i C- terminalne fragmente su neurotoksični u prirodi (Rohn, 2013).

- **apoE: uloge u** metabolizmu lipoproteina, kofaktor u enzimskim reakcijama, transportu holesterola i antioksidativnim procesima;
- Polimorfizam po tipu pojedinačnih nukleotida; tri kodominantna alela E2, E3 i E4 i 6 genotipova.
- Kod prisustva apoE4 veće je formiranje senilnih plakova a otežano njihovo razlaganje;
- ApoE4 je podložniji proteolizi što vodi ka smanjenju njegove funkcije; vodi ka gubitku njegove normalne funkcije.
- ApoE4 – povećan rizik za AB, aterosklerozu, bolest perifernih krvnih sudova i dijabetes tipa 2.

Proteoliza apoE4 vodi ka gubitku njegove normalne funkcije. Razlaganje apoE4 putem još neidentifikovane procedure može hipotetički da vodi ka gubitku funkcije apoE4 koja podrazumeva:

1. *poremećaj transporta holesterola*. Abnormalan metabolizam masti je veoma povezan sa patogenezom AB. U CNS-u, apo E posreduje u neuralnom transportu holesterola, koji je osnovna komponenta za aksonski rast, sinaptičke formacije i remodelovanje—što je sve ključalno za učenje, pamćenje i neuralno repariranje (Liu et al., 2013).
2. *poremećaj razlaganja beta-amiloida* u mozgu, proces koji je normalno potpomognut sa apoE.

Epidemiološke studije pokazuju da ApoE4 može sinergički da deluje sa nekim drugim faktorima rizika za AB kao što su ateroskleroza, bolest perifernih krvnih sudova i dijabetes tipa 2, tako da oni zajedno povećavaju rizik od AB (Haan et al., 1999; Peila et al., 2002).

1.3. Uloga nutritivnog statusa u razvoju Alchajmerove bolesti

Naučnici su se puno bavili vezom ishrane i zdravlja moždanih ćelija, ali su rezultati studija uglavnom neusaglašeni a često i protivrečni. Neki podaci govore da ishrana sa manje masti a bogata voćem i povrćem može da poveća zdravlje moždanih ćelija. Specifični nutritivni deficiti kao što je defitit vitamina B12 i folata su prepoznati kao važni potencijalni faktori rizika (Wang et al., 2001), a neki drugi dijetetski faktori kao što su kalorijski unos i konzumacija ribe se takođe impliciraju kao potencijalni modifikujući faktori za pojavu demencije (Luchsinger et al., 2004; Morris et al. 2003).

Oksidativni stres koji se može modifikovati nutritivnim režimom se povećava starenjem i može biti povezan sa AB. Ova zapažanja impliciraju potencijalno važnu ulogu dijetetskog

Potencijalna veza ishrane i demencije: vitamin B12, folati, vitamin C, karoteni i tokoferol smanjuju rizik. Unos zasićenih masti povećava a nezasićenih masti smanjuje rizik od AB

režima u nastanku i prevenciji AB. Depozicija beta amiloida redukuje koncentracije gvožđa i bakra što vodi formiranju hidrogen peroksida, oksidativnom stresu i neurološkom oštećenju. Antioksidanti koji su se ispitivali u sklopu ove veze su tokoferol (vitamin E), askorbinska kiselina (vitamin C) i karoteni. In vitro, vitamin E smanjuje beta amiloidima indukovanu lipidnu peroksidaciju i oksidativni stres (Nagano et al., 2004). Vitamin C blokira stvaranje nitrozamina preko redukcija nitrita ali takođe može uticati na sintezu kateholamina, dok karoten utiče na lipidnu peroksidaciju (Butterfield et al., 2002). U nekoliko studija su pronađene niske koncentracije antioksidanasa u krvi kod ljudi sa kognitivnim poremećajima (Rinaldi et al., 2003). Međutim, rezultati prospektivnih studija nisu pokazale da unos antioksidativnih vitamina može smanjiti rizik od AB. Pokazalo se da dugotrajno uzimanje suplemenata vitamin C i E smanjuje rizik od vaskularne demencije ali ne i od AB. Takođe, vitamin E unesen kroz ishranu ali ne i suplementni vitamin E smanjuje rizik od AB (Luchinger et al., 2004).

Smatra se da vitamini B6 i B12, folati i homocistein takođe mogu imati potencijalnu ulogu u razvoju AB. Ta uloga se zasniva na negativnoj ulozi homocisteina koji se smatra da doprinosi razvoju AB preko vaskularnih mehanizama ili kao neurotoksin (He et al., 2004), a deficit vitamina B6, B12 i folata rezultira njegovom povećanom koncentracijom. To je zbog toga što su folati i vitamin B12 potrebni za konverziju homocisteina u metionin a vitamin B6 za konverziju homocisteina u cistein. Međutim, studije na većem uzorku ljudi nisu dale ubedljive rezultate. U jednoj studiji je pokazano da je niska koncentracija folata povezana sa atrofijom cerebralnog korteksa ali nije bilo povezanosti sa vitaminima B6 i B12 (Snowdon et al., 2000).

Unos makronutrienata, pre svega masti može povećati ili smanjiti rizik od AB, uglavnom indirektno preko vaskularnih mehanizama. Unos nehidrogenizovanih masti (non-hydrogenated unsaturated fats), smanjen unos hidrogenizovanih i prerađenih masti (hydrogenated and saturated fats), i povećan unos masnih kiselina iz ribe ili povrća može smanjiti rizik od kardiovaskularnih bolesti i potencijalno smanjiti rizik i od AB preko vaskularnih mehanizama (Hu et al., 2002). Povećan unos prerađenih masti je povezan sa insulinskom rezistencijom i velikim koncentracijama insulina što može biti

faktor rizika za AB. Takođe, povećan unos holesterola povećava depoziciju beta-amiloida na animalnim modelima (Hardy et al., 1992). Smatra se da korišćenje lekova koji smanjuju koncentraciju holesterola (HMG CoA inhibitori - statini) mogu biti povezani sa smanjenim rizikom za AB. Takođe, i apoE učestvuje u metabolizmu lipida i modulira koncentraciju holesterola. U skladu sa tim, u nekim studijama je pokazano da nosioci E4 alela imaju povećane koncentracije holesterola u poređenju sa nosiocima E2 alela (Berglund et al., 2001).

Nekoliko prospektivnih studija je pokazalo vezu između unosa masti i rizika od AB ali mehanizam tog uticaja je nepoznat (Barberger-Gateau et al., 2002). U studiji Luchsingera i saradnika je pokazan udružen uticaj unosa masti i prisustva apoE4 alela, odnosno pokazano je da je najveći rizik za AB postojao kod ispitanika koji su imali povećan unos masti i bili nosioci apoE4 alela (Luchsinger et al., 2002).

1.4. Uloga dentalnog statusa u razvoju Alchajmerove bolesti

Bolesti stomatognatnog sistema imaju važnu ulogu ne samo u kvalitetu života već doprinose razvoju ozbiljnih oboljenja i mortalitetu kod gerijatrijskih pacijenata. Sve je više istraživanja koja potvrđuju vezu stanja oralnog zdravlja sa oboljenjima kao što su kardiovaskularna, nutritivni deficit, pneumonija i socijalna izolacija (U.S. Department of Health and Human Services, 2000). Zbog toga, gerijatrijski specijalisti treba da budu upoznati ne samo sa oralnim zdravljem svojih pacijenata već i na potencijalnu interakciju oralnih oboljenja i opšteg zdravlja.

Pojedine studije ukazuju da loše oralno zdravlje može biti značajan faktor rizika za nastanak AB (Kondo et al., 1994; Gatz et al., 2006). Iako mehanizam tog uticaja nije poznat i uglavnom su u pitanju case-control studije, ova veza je pokazana i predmet brojnih istraživanja. Potencijalni mehanizmi uticaja oralnih oboljenja na demenciju su preko inflamatornih medijatora koji se proizvode kao odgovor na periodonto-patogene (Stein et al., 2006; Loos, 2005). Ti medijatori zapaljenja mogu izazvati hroničnu sistemsku inflamaciju i neuropatologiju. Slične zaključke su izveli i autori studija koje su pokazale povezanost lošeg oralnog zdravlja i rizika za nastanak moždanog udara

(Joshipura et al., 2003). Drugi mogući mehanizam ove povezanosti je preko diseminacije oralnih gram negativnih bakterija u mozak putem tranzitne bakterijemije (Kamer et al., 2008). Oralne bakterije takođe mogu doći do moždanog tkiva i putem nervnih puteva, npr putem grana trigeminalnog nerva (Riviere et al., 2002) Kao razlog za taj zaključak navode rezultate ispitivanja moždanog tkiva post mortem kod obolelih od AB, gde su uočeni antigeni oralnih treponema češće nego kod pacijenata bez demencije.

Jedna od najvećih prospektivnih longitudinalnih studija o starenju je studija na opaticama u SAD koja je trajala 20 godina ("Nun study" – www.nunstudy.org). Ova studija je, pored mnogih dokaza vezanih za patofiziološke promene kod starenja, pružila najbolje dokaze o povezanosti

Loše oralno zdravlje, naročito mali broj zuba bez zubnih nadoknada povećava rizik za razvoj AB.

oralnog zdravlja i AB. Ispitivani su paralelno kognitivni status, oralno zdravlje i neuropatologija kroz autopsije post mortem. Ona je takođe praktično i jedina koja se bavila baš ovom tematikom. Osnovni cilj bio je da se ispita veza između gubitka zuba, demencije i neuropatologije. Rezultati su pokazali pozitivnu korelaciju između lošijeg dentalnog statusa i pojave AB, ali kod ispitanika koji nisu nosioci apoE4 alela (Stein et al., 2007). Ovaj rezultat je bio jedna od osnovnih polaznih tačaka za dizajniranje ovog istraživanja ove doktorske disertacije.

Takođe, postoje i druga istraživanja koja povezuju različite vidove kognitivne funkcije dentalnog statusa. Došlo se do zaključka da postoji pozitivna povezanost, ali postoji inkoherentnost u metodologiji, da bi se izveli generalni zaključci.

Povezanost lošeg oralnog zdravlja i većeg rizika od demencije je deo veze oralnog i opšteg zdravlja, pa tako postoje dokazi da loše oralno zdravlje povećava rizik od fizičkog disabiliteta i smrti (Shimazaki et al., 2001). Little i saradnici navode da je čak više izražen rizik od fizičke nemoći i smrti nego od demencije kod starih ljudi lošeg oralnog zdravlja, pre svega onih bezubih koji ne nose proteze (Little et al., 2009). Nosoci totalnih proteza u poređenju sa bezubim pacijentima bez proteza su imali nešto

manji rizik za pojavu demencije. Kao zaključak autori navode da je bezubost bez zubnih nadoknada faktor rizika za pogoršanje opšteg zdravlja starih ljudi (Kim et al., 2007, Ritchie et al., 2002).

2. RADNA HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Iz šire naučne osnove problematike predstavljene u uvodu, mogu se izneti sledeće najvažnije činjenice:

- Apolipoprotein E ima velikog uticaja na predispoziciju za razvoj AB, pre svega prisustvo alela E4;
- Loše oralno zdravlje, pre svega mali broj zuba bez prisustva zubnih nadoknada ima uticaja na predispoziciju za razvoj AB;
- Veći kalorijski unos i unos masti imaju uticaja na povećan rizik od pojave AB, dok unos neprerađenih masti, ribe vitamina B6, B12 i C kroz ishranu smanjuje taj rizik;
- Udruženi uticaj ishrane i genetskog statusa, odnosno oralnog i genetskog statusa na razvoj AB je malo ispitivan a pokazano je da je apoE4 modifikujući faktor navedenih veza (dentalni status i AB, kao i ishrana i AB).

Na osnovu ovih činjenica formirana je sledeća **radna hipoteza**:

Mali broj prirodnih zuba uz nepostojanje zubnih nadoknada, zajedno sa prisustvom jednog ili dva alela $\epsilon 4$ su statistički češća pojava kod pacijenata sa Alchajmerovom bolešću.

Osnovni cilj istraživanja:

Utvrđiti korelacije između dentalnog i protetskog statusa, polimorfizma za apolipoprotein E i Alchajmerove bolesti.

Bliži ciljevi:

1. Utvrđiti učestalost različitih alelnih formi i genotipova za polimorfizam u genu za apolipoprotein E u ispitivanoj grupi pacijenata i u kontrolnoj grupi, i ustanoviti da li postoji asocijacija između pojedinih genotipova i Alchajmerove bolesti.
2. Utvrđiti dentalni i protetski status i razlike u njima, kod pacijenata sa i bez Alchajmerove bolesti;

3. Utvrditi vezu između dentalnog/protetskog statusa i Alchajmerove bolesti;
4. Utvrditi nutritivni status i njegove razlike kod pacijenata sa i bez Alchajmerove bolesti;
5. Utvrditi vezu između nutritivnog statusa i Alchajmerove bolesti;
6. Utvrditi da li dentalni/protetski i nutritivni status deluju kao udruženi faktori rizika za nastanak AB;
7. Utvrditi da li dentalni/protetski status i specifični genotipovi ApoE gena mogu da se smatraju *udruženim* faktorom rizika/protektivnim faktorom u patogenezi Alchajmerove bolesti.

3. MATERIJAL I METODE

Istraživanje je dizajnirano kao opservaciona “case-control” studija. Pacijenti su podeljeni u 2 grupe: pacijenti sa ishodom - Alchajmerova bolest i pacijenati bez ishoda – pacijenti starije dobi bez demencije.

U prvoj grupi pacijenata sa AB, kriterijum za uključenje u studiju je bio:

- dijagnostikovana Alchajmerova bolest u bilo kom stadijumu;
- mogućnost komunikacije tj. obavljanja intervjua sa članom porodice (starateljem);
- starost preko 65 godina;
- dentalni status nije značajno promenjen u poslednje 3 godine (da nisu pretrpeli multiple ekstrakcije u skorije vreme ili da im je izrađena nova zubna nadoknada).

Pacijenti sa AB su uključivani u istraživanje konsektivno na Klinici za Neurologiju, KC Srbije kao i u okviru ustanove Gerontološki centar, Beograd, dom Bežanijska kosa i dom Voždovac.

Dijagnoza Alchajmerove bolesti je postavljena pre uključivanja ispitanika u studiju, od strane ordinirajućeg neurologa. Postavljanje moguće dijagnoze AB podrazumeva klinički pregled, psihološka testiranja i diferencijalna dijagnoza, odnosno dokaz o odsustvu kognitivnih poremećaja drugog porekla.

Od psiholoških testova najčešće se koristi mini mental test (rezultat manji od 24 upućuje na kognitivno oštećenje). Takođe treba da postoji deficit dve ili više kognitivnih oblasti, progresivno pogoršanje memorije, da nema poremećaja svesti i da pacijent ima preko 65 godina). Diferencijalna dijagnoza podrazumeva potvrdu odsustva sistemskih poremećaja i drugih poremećaja CNS-a koji mogu dovesti do progresivnog deficita memorije i kognitivne funkcije. Dodatak, odnosno delimična potvrda kliničkoj dijagnozi, uključuje progresivno umanjenje kognitivnih funkcija kao što su jezik (afazija), motorne sposobnosti (apraksija) i opažanje (agnozija), poremećene dnevne

aktivnosti, promene u uobičajenom obrascu ponašanja, kao i pozitivna porodična anamneza na AB. Laboratorijske analize se izvode samo u cilju isključenja drugih oboljenja i podrazumevaju nalaz normalne lumbalne tečnosti, kao i EEG sa uobičajenim ili nespecifičnim nalazom. Ne postoje specifične laboratorijske metode koje potvrđuju dijagnozu Alchajmerove bolesti. Dijagnoza uspostavljena na ovaj način se smatra da je 80% tačna, a definitivna potvrda ove dijagnoze se može postaviti samo post mortem histopatološkim nalazom moždanog tkiva.

Za grupu ispitanika bez demencije, učesnici u studiji su takođe birani konsektivnom metodom u ustanovama Institut za Gerijatriju KBC Zvezdara, Gerontološki centar Beograd (klubovi penzionera Stari Grad i Voždovac). Kriterijumi za uključenje pacijenata u kontrolnu grupu:

- dokaz da pacijent nije dementan (mini mental test sa skorom većim od 24 ili potvrda ordinirajućeg neurologa);
- starost preko 65 godina;
- dentalni status nije značajno promenjen u poslednje 3 godine (da nisu pretrpeli multiple ekstrakcije u skorije vreme ili da im je izrađena nova zubna nadoknada).

Istraživanje je vršeno u skladu sa Helsinškom deklaracijom o zaštiti ljudskih prava, sva ispitivanja su neinvazivna i uz pismenu saglasnost pacijenta lično ili njegovog staratelja. Etički odbor Stomatološkog fakulteta u Beogradu je dao saglasnost za obavljanje ove studije, broj rešenja 36/18.

Radi ostvarivanja ciljeva, vršena su sledeća ispitivanja:

1. analiza polimorfizama u APOE genu;
2. analiza dentalnog i stomatoprotetskog statusa;
3. utvrđivanje nutritivnog statusa i
4. statistička obrada podataka.

3.1. Analiza DNK pacijenata

Analiza DNK se radila u cilju utvrđivanja polimorfizama u genu za apolipoprotein E, odnosno određivanja genotipa pacijenata (E3/E3, E3/E2, E2/E2, E4/E4, E4/E3 ili E4/E2). DNK je izolovana iz ćelija bukalne sluzokože dobijenih brisom pomoću sterilne špatule za bris.

Proces analize DNK se može podeliti u 3 koraka:

- a) izolacija DNK iz uzoraka;
- b) PCR reakcija (Lančana reakcija polimeraze - Polymerase chain reaction) i na kraju
- c) identifikacija PCR produkata gel elektroforezom.

Izolacija genomske DNK iz bukalne sluzokože se izvodila komercijalnim kitom za izolaciju DNK (PureLink™ Genomic DNA Mini Kit, Invitrogen) a po uputstvu proizvođača. Uzorci su biti čuvani na -20°C do izolacije.

Postupak podrazumeva nekoliko postupaka koji se obavljaju sukcesivno. Površni sloj vate sa brisa se iseče makazama i stavi u sterilnu mikrotubu od 2mL. Tubice se predhodno obeleže prema rednim brojevima ispitanika. U svaku tubicu se dodaje po 15µL pufera (express extract buffer) i 2 µL enzima (proteinaza K). Zatim se u svaku tubicu dodaje vode do 300 µL (približno 283 µL). Tubice se zatim vorteksuju i inkubiraju 10min na 75°C da se obavi liza ćelija i 5min na 95°C da se inaktiviraju proteaze. Nakon toga se opet vorteksuju (2-3sek) a zatim i centrifugiraju (1min na 13000 obrtaja/min.). Nakon ovog postupka se iz tubica izvuče pipetom supernatant u nove obeležene tubice. U njima nakon ove procedure ima 1.5mL izolata koji sadrži DNK. Uzorak izolovane DNK čuvati na -20°C do upotrebe. Koncentracija i čistoća genomske DNK, na osnovu kojih se određuje količina uzorka DNK koji se stavlja u PCR reakciju, određeni su direktnim očitavanjem sa spektrofotometra (BioPhotometer, Eppendorf), a kvalitet izolovane DNK je proveren puštanjem uzoraka (5µL izolovane DNK + 1µL boje) na 1,5% agaroznom gelu. Dobijena DNK se dalje koristi za PCR reakciju.

Lančana reakcija polimeraze je in vitro amplifikacija željene DNK sekvence i predstavlja imitaciju DNK replikacije (DNK udvajanja). Ponavljanje cikličnih promena temperature, koji se sastoje iz denaturacije DNK, hibridizacije prajmera i ekstenzije hibridizovanih prajmera DNK polimerazom, stvara amplifikate željene sekvence čiji se broj eksponencijalno uvećava. Reakcija je lančana i eksponencijalna, jer novosintetisani lanci DNK postaju matrice za sintezu DNK u narednim ciklusima. Tako se željeni fragment DNK za nekoliko sati može umnožiti u 10^6 - 10^9 kopija. PCR reakciona smeša sadrži komponente neophodne za in vitro DNK sintezu:

- DNK uzorak-matrica, koja se umnožava, mora biti jednolančana, denaturisana DNK. Jedan od uslova uspešne PCR reakcije jeste i čistoća i optimalna koncentracija matrice, jer u suprotnom može doći do smanjene efikasnosti reakcije;
- Graničnike, prajmere (eng. primers)-sintetičke jednolančane oligonukleotide komplementarne krajevima sekvence koja se umnožava, a koji su neophodni za započinjanje sinteze DNK od strane polimeraze.
- Dezoksi-nukleotide (dNTP)-gradivne elemente DNK, u ekvimolarnim koncentracijama. Koncentracija svakog dNTP-a u reakcionoj smeši je obično 200 μ M. Veoma je važno imati jednake koncentracije svakog dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) jer razlika u koncentraciji samo jednog dNTP-a dramatično povećava nivo pogrešne ugradnje.
- Taq DNK polimerazu-termostabilnu DNK polimerazu koja katalizuje ugradnju dNTP-ova po principu komplementarnosti sa DNK matricom, 5'-3' DNK zavisna DNK polimeraza, bez 3'-5' egzonukleazne aktivnosti. Optimalna temperatura za rad ovog enzima je 72°C, na kojoj ugrađuje 150 nukleotida u sekundi. Obično se koristi 1-1.5 U Taq DNA polimeraze za reakcionu smešu zapremine 50 μ L. Povećana koncentracija ovog enzima može dovesti do sinteze nespecifičnih produkata. Ali, ako su u reakcionoj smeši prisutni inhibitori reakcije (nečista DNK...) potrebno je dodati veću koncentraciju Taq DNA Polimeraze (2-3U) kako bi se obezbedio bolji prinos amplifikata.
- MgCl₂ -Taq polimeraza za svoj rad zahteva ove jone a oni dodatno stabilizuju dNTP-ove, prajmere i matricu. Malo Mg²⁺ jona smanjuje prinos PCR produkata, a previše povećava prinos nespecifičnih produkata i povećava šansu

za ugradnju pogrešnog nukleotida. Preporučeni opseg koncentracije $MgCl_2$ je 1-4mM, u zavisnosti od uslova reakcije.

- Pufer-obezbeđuje optimalnu aktivnost DNK polimeraze.
- Vodu.

Receptura za PCR za apoE je bila sledeća:

- Voda 12 μ L;
- Pufer 2.5 μ L (proteinaza K);
- $MgCl_2$ 1 μ L;
- dNTP 1 μ L;
- DMSO 2.5 μ L;
- BSA 0.5 μ L;
- Prajmer 1 1 μ L;
- Prajmer 2 1 μ L i
- Taq polimeraza 0.2 μ L.

Prajmeri su oligonukleotidi koji se vezuju za specifične sekvence u apoE genu i određuju početak i kraj pcr amplifikata. Ukupna količina PCR smese je bila 22 μ L po uzorku uz dodatak 3 μ L DNK.

PCR reakcija se odvija u mikrotubi zapremine 0,2-0,5 μ L i zasniva se na cikličnim temperaturnim promenama. Jedan ciklus se sastoji iz tri koraka:

- denaturacija DNK-raskidanje vodoničnih veza između komplementarnih lanaca na temperaturi 94°C-95°C kako bi nastali jednolancani molekuli DNK koji služe kao matrice;
- hibridizacija prajmera sa matricom (aniling prajmera) - vezivanje graničnika za komplementarnu sekvencu lanca matrice na optimalnoj temperaturi u rasponu 42°C- 65°C;
- elongacija prajmera-ugradnja nukleotida na 3' krajevima prajmera katalizovana DNK zavisnom DNK polimerazom u prisustvu Mg^{2+} na optimalnoj temperaturi (72°C).

Program PCR za apoE vršen je u sledećim temperaturnim i vremenskim koracima:

- 95°C 5min;
- 95°C 30 sekundi;
- 61°C 45 sekundi – ova temperature je radi eliminacije nespecifičnosti koje su se pojavile u rezultatima povećana na 63°C pa na 65°C.
- 72°C 45 sekundi;
- 72°C 5min (slika 2).



Slika 2. Pripremljena smesa u aparatu za PCR.

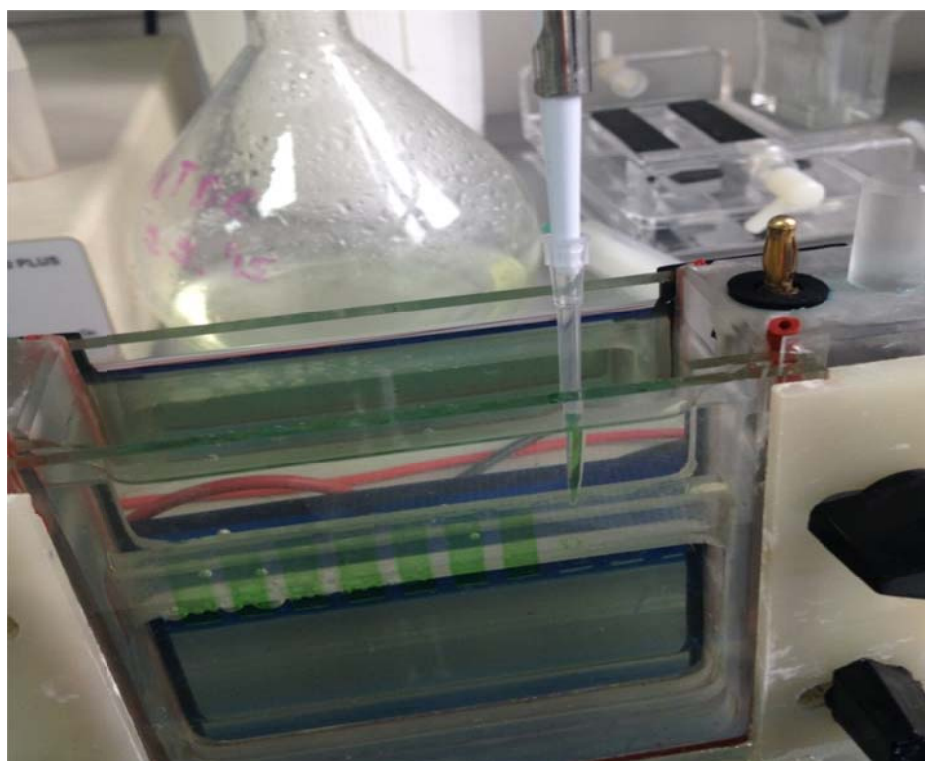
Ponavljanje ovih ciklusa 25-40 puta rezultira u eksponencijalnom umnožavanju željenog segmenta DNK. Veoma često se pre temperaturnih ciklusa u reakciju uvodi i inicijalna denaturacija, 5-10min na 94°-95°C radi kompletne denaturacije DNK matrice, a po završetku temperaturnih ciklusa i finalna elongacija na 72°C u trajanju 5-15 minuta pri čemu dolazi do kompletiranja parcijalno sintetisanih PCR produkata.

Nakon PCR postupka, vršena je njegoa provera. Po 8 μ L DNK produkta pomešanog sa bojom je plasirano u bunariće napravljene u 10% poliakrilamidnom gelu a zatim puštana elektroforeza. Elektroforeza je trajala dok ne istekne boja (ceo postupak

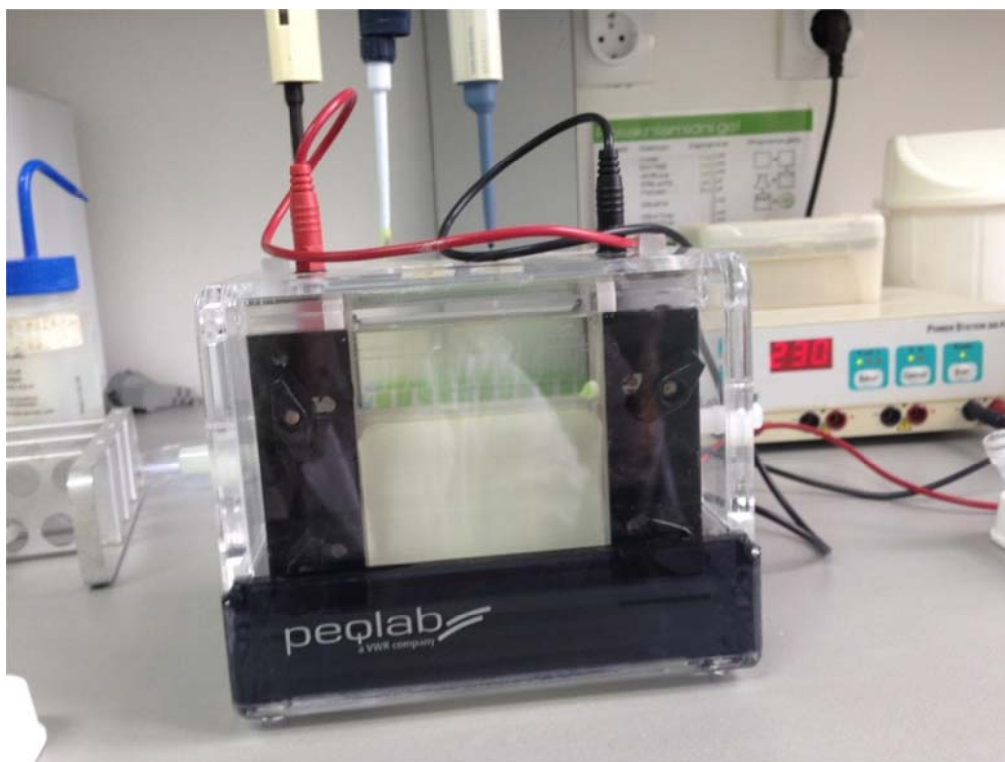
pravljenja gela i uključivanje elektroforeze je veoma sličan detaljnije dole opisanoj elektroforezi kod restrikcije). Zatim se gel vadi iz stakala i stavlja u etidijum-bromid gde stoji nekoliko minuta, a nakon toga se gel postavlja na postolje gde se posmatra pod UV svetlošću i upoređuje sa DNK markerom postavljenim u prvi ili poslednji bunar. Tek ako se analizom traka na gelu utvrdi da je postupak PCR uspeo, može se preći na sledeću fazu restrikcije. Ako postupak nije uspeo (najčešće se to vidi kao veoma nejasan, “zamrljan” uzorak ili uzorak sa nespecifičnostima), PCR mora da se ponovi (slike 3. i 4.).

Receptura za PAA gel:

- 3.90ml destilovane vode;
- 5xTBE 1.30ml;
- 40% Aa 1.30 ml;
- 10% APS 46 μ L I
- Temed 8.4 μ L.



Slika 3. Nalivanje PCR produkta u „bunariće“ na PAA gelu.



Slika 4. Provera PCR-a na PAA gelu.

Identifikacija amplifikovanog produkta podrazumeva restrikcionu digestiju PCR produkata i analizu dužine restrikcionihih fragmenata. Restrikcioni enzimi su prečišćeni iz bakterija i spadaju u grupu nukleazaendonukleaze koje imaju sposobnost da prepoznaju specifične sekvence na dsDNK dužine 4-6 baznih parova, tzv mesta prepoznavanja ili restrikciona mesta i da iseku DNK molekul u okviru ili veoma blizu tih specifičnih sekvenci. Restrikciona mesta se nasleđuju po Mendelovim pravilima i spadaju u normalne polimorfizme poznate kao polimorfizmi dužine restrikcionihih fragmenata (eng. *Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP*).

Smesa za restrikciju za apoE se pravila po sledećoj recepturi:

- 16 μ L destilovane vode;
- 1 μ L pufera (green buffer) i
- 0.5 μ L HHA enzima.

U navedenu smesu od ukupno 17.5 μ L se dodaju kompletni PCR produkt, a zatim se inkubira na 37°C 30min.

DNK se posle restrikcije nanosi na poliakrilamidni ili agarozni gel kroz koji protiče jednosmerna struja, a restrikcioni fragmenti se međusobno mogu razdvojiti na osnovu dužine: fragmenti različite dužine će zauzimati različite položaje na gelu u odnosu na elektrodu ka kojoj se kreću.

Za proveru amplifikacije i genotipizaciju posle digestije restrikcionim enzimima, u ovom istraživanju koristio se 10% poliakrilamidni gel sa 10% glicerola. Elektroforeza na poliakrilamidnom gelu je vertikalna elektroforeza. Poliakrilamidni gel je baziran na ko-polimerizaciji akrilamida i bis-akrilamida. Polimerizacijom monomera akrilamida nastaju dugački lanci polimera a bis-akrilamid umrežava lance polimera (tzv „kros-linker“) i to u prisustvu inicijatora i katalizatora reakcije amonijumpersulfata (APS) i N, N, N', N'-tetrametilendiamina (TEMED). Za razdvajanje fragmenata DNK koristi se nenedaturišući poliakrilamidni gel, a ovo je jedna od najboljih metoda za razdvajanje nukleinskih kiselina jer ima mnogo veću rezoluciju u odnosu na agarozni gel.

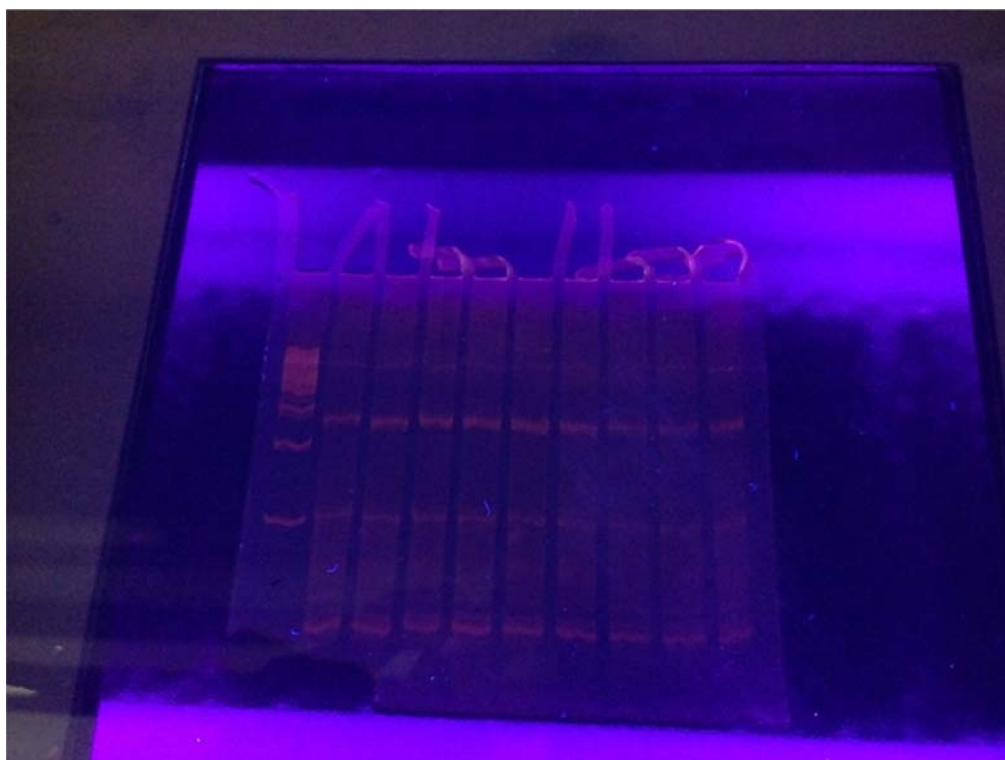
Receptura za gel sa 10% glicerola:

- 4.20 ml destilovane vode;
- 5xTBE 0.75 ml;
- 40% Aa (akril-amid) 1.90 ml:
- 10% APS 6.74 μ L;
- Temed 12.5 μ L i
- Glycerol 0.75 ml.

Postupak podrazumeva nekoliko sukcesivnih koraka. U staklenu graduisanu epruvetu se dodavaju komponente gela, s tim što se APS i TEMED dodaju na kraju i sve se lagano lagano promeša. Gel se nalije u već formirane staklene 'sendviče' a zatim se postave češljići i gel ostavi da polimerizuje (45min-1h). Nakon toga se nalije 1XTBE u unutrašnju i spoljašnju kadicu elektroforeze. Kada gel polimerizuje, 'sendviči' se postave u aparat za elektroforezu (BlueVertical 102, Serva Electrophoresis GmbH). Na kraju se češljev odstrane, a uzorci se naliju u formirane bunariće (10 μ L uzorka + 2 μ L boje). Voltaža i struja se podešavaju na osnovu uputstva proizvođača, a elektroforeza teče dok donja boja ne iscuri sa gela. Kada boja iscuri sa gela, on se potopi u rastvor

etidijum – bromide, gde stoji 10min. Nakon vađenja gela iz ovog rastvora, vrši se njegova analiza gela u na UV svetlosti u mračnoj komori (UVsolo, Whatman Biometra system, thermal video printer).

Dužine restrikcionih fragmenata za različite alele apoE (izražene u baznim parovima) su sledeće: E4 alel:72,48,38,35; E3 alel: 91,48,38,35; E2 alel: 91,83,38. Na osnovu toga se beleži genotip ispitivanih uzoraka (slika 5).



Slika 5. Izgled gela nakon potapanja u etidijum-bromid posmatran u mračnoj komori pod UV lampom.

3.2. Analiza dentalnog i protetskog statusa

Radi analize dentalnog i protetskog statusa, vršio se stomatološki pregled i popunjavanje specijalno dizajniranih upitnika. Pregled se vršio stomatološkim ogledalcetom na dnevnoj svetlosti i podrazumevao je analizu broja prirodnih zuba, okludirajućih parova zuba kao i analizu prisustva i vrste zubnih nadoknada. U upitnik je radi analize podataka beleženo:

1. Dentalni status sa mogućim varijantama:

- Bezubost;
- Krezubost;
- pun zubni niz;
- kombinacija jedne krezube a druge bezube vilice;
- kombinacija punog zubnog niza u jednoj a krezubosti u drugoj vilici i
- kombinacija jedne bezube vilice a u drugoj pun zubni niz.

2. Broj anteriornih okludirajućih parova zuba (okludirajući parovi prednjih zuba - OPPZ). Kod ove varijable kao i kod ostalih sa okludirajućim parovima zuba, posmatrao se broj ali i vrsta OPZ, odnosno da li su formirani od prirodnih zuba ili sa zubnim nadoknadama. Najveći broj OPPZ je 6. Moguće varijante za ovu varijablu su:

- 0-2 OPPZ sa prirodnim zubima ili fiksnim zubnim nadoknadama;
- 3-6 OPPZ sa prirodnim zubima ili fiksnim zubnim nadoknadama;
- 0-2 OPPZ sa mobilnim zubnim nadoknadama;
- 3-6 OPPZ sa mobilnim zubnim nadoknadama;
- 0-2 OPPZ sa kombinacijom prirodnih zuba i mobilnim zubnim nadoknadama i
- 3-6 OPPZ sa kombinacijom prirodnih zuba i mobilnim zubnim nadoknadama.

3. Broj posteriornih okludirajućih parova zuba (okludirajući parovi bočnih zuba - OPBZ). Najveći broj OPBZ je 8. Moguće varijante za ovu varijablu su:

- 0-4 OPBZ sa prirodnim zubima ili fiksnim zubnim nadoknadama;
- 5-8 OPBZ sa prirodnim zubima ili fiksnim zubnim nadoknadama;
- 0-4 OPBZ sa mobilnim zubnim nadoknadama;
- 5-8 OPBZ sa mobilnim zubnim nadoknadama;
- 0-4 OPBZ sa kombinacijom prirodnih zuba i mobilnim zubnim nadoknadama i

- 5-8 OPBZ sa kombinacijom prirodnih zuba i mobilnim zubnim nadoknadama.
4. Ukupan broj okludirajućih parova zuba (UBOPZ). Najveći broj UBOPZ je 14. Moguće varijante za ovu varijablu su:
- 0-7 UBOPZ sa prirodnim zubima ili fiksnim zubnim nadoknadama;
 - 8-14 UBOPZ sa prirodnim zubima ili fiksnim zubnim nadoknadama;
 - 0-7 UBOPZ sa mobilnim zubnim nadoknadama;
 - 8-14 UBOPZ sa mobilnim zubnim nadoknadama;
 - 0-7 UBOPZ sa kombinacijom prirodnih zuba i mobilnim zubnim nadoknadama i
 - 8-14 UBOPZ sa kombinacijom prirodnih zuba i mobilnim zubnim nadoknadama.
5. Broj prirodnih zuba. U prirodne zube su se računale i fiksne zubne nadoknade. Moguće varijante za ovu varijablu su:
- 0 zuba;
 - 1-9 zuba;
 - 10-19 zuba i
 - 20 i više prirodnih zuba.
6. Postojanje zubnih nadoknada. Kod ove varijable je pored vrste beležen i kvalitet zubne nadoknade u smislu da li lekar procenjuje da li je još uvek funkcionalna, kao i dužina trajanja zubne nadoknade. Međutim, varijante za ovu varijablu su samo sledeće:
- Nema zubne nadoknade;
 - Gornja i/ili donja totalna proteza;
 - Gornja i/ili donja parcijalna pločasta proteza;
 - Gornja i/ili donja parcijalna skeletirana proteza;
 - Gornja i/ili donja kompleksna proteza;

- Fiksne zubne nadoknade (nije se uzimala u obzir samo jedna solo kruna. Postojanje fiksne zubne nadoknade na 2 ili više zuba se uzimao u obzir);
- U jednoj vilici totalna proteza a u drugoj parcijalna pločasta proteza;
- U jednoj vilici totalna proteza a u drugoj parcijalna skeletirana proteza;
- U jednoj vilici totalna proteza a u drugoj fiksna zubna nadoknada;
- U jednoj vilici parcijalna pločasta a u drugoj parcijalna skeletirana proteza;
- U jednoj vilici totalna proteza u druga vilica je bezuba bez zubne nadoknade.

3.3. Analiza nutritivnog statusa

Analiza nutritivnog statusa se vršila se razgovorom sa ispitanicima ili njihovim starateljima u slučaju dementnih pacijenata. U specijalno dizajnirane upitnike su beleženi podaci u vezi kvalitativnog i kvantitativnog unosa hrane. Ispitivanje kvalitativnog unosa hrane podrazumeva ispitivanje učestalosti unosa osnovnih vrsta namirnica, mesa ili ribe, voća i povrća, i mlečnih proizvoda. Za svaku od ovih kategorija namirnica, beleženo je da li ispitanik unosi ređe (do 3 puta nedeljno) ili češće (4 puta nedeljno ili više). Pored toga, računao se BMI indeks dobijanjem podataka o pacijentovoj težini i visini što je vrsta kvantitativnog ispitivanja unosa hrane. Prema zvaničnom stavu SZO, pothranjenost postoji kada je BMI ispod 18.5. Međutim, korisna je kategorija „rizik za pothranjenost“ koju uvode mnogi naučnici, jer upozorava na potencijalno pogoršanje stanja kod ovih osoba. Tako je pothranjenost beležena kada je BMI ispod 18.5, rizik za pothranjenost kada je BMI 18.5-20.0, normalna uhranjenost 20-24.9, prekomerna uhranjenost 25-29.9, gojaznost preko 30.

Takođe, radi objektivnih pokazatelja nutritivnog statusa, beležene su vrednosti serum albumina dobijenih iz krvi, u smislu da li su u okviru referentnih vrednosti (35-52g/L) ili su snižene. Pored navedenih varijabli, kao deo dijetetskih navika, beleženo je da li je i u kojoj meri hrana koju pacijent prerađena (varijante: čvrsta hrana, pasirana hrana, tečna hrana), kao i da li se ispitanik samostalno hrani (samostalno se hrani, delimična asistencija, potpuna asistencija).

Pored navedenih kategorija vezanih za dentalni status, beleženo je da li pacijent ima hronična oboljenja i koliko ih je. Kod pacijenata sa AB, ona se nije računala. Varijante za ovu varijablu su: bez oboljenja, do 2 hronična oboljenja, 3 ili više hroničnih oboljenja. Pošto su svi ispitanici u studiji regrutovani u okviru medicinskih institucija, moglo se na osnovu zdravstvenih kartona doći do podataka o dijagnozama njihovih hroničnih oboljenja i medikamentoznoj terapiji koju primaju.

3.4. Statistička obrada podataka

Za statističku analizu, ispitivani parametri su predstavljeni kao nominalne vrednosti. Značajnost razlike, na nivou $p < 0.05$ evaluiran koristeći hi kvadrat test. Nakon utvrđivanja postojanja ili ne-postojanja statistički značajne razlike u učestalosti parametara iz grupe genotip, dentalni status i ishrana između dementnih i nedementnih ispitanika, rađena je logistička regresiona analiza. Logističkom regresionom analizom izdvajani su prediktori pojave demencije. Cilj ove analize je bio da se definišu parametri razlika između ispitanika sa i bez demencije, odnosno da se definišu oni parametri koji bi ukazali na visok rizik mogućeg pojavljivanja demencije. Prvi deo logističke regresione analize jeste univarijantna logistička regresija kojom se ispituje moguća razlika između ispitanika sa i bez demencije u svakom od posmatranih faktora ponaosob. Faktori koji su se univarijantnom analizom pokazali kao značajni ulaze u multivarijantni regresioni model, gde se ispituje nezavisnost uticaja svakog faktora koji se pokazao kao značajan, u prethodnom modelu. Statistički značajan uticaj faktora dobijen univarijantnom analizom objašnjava uticaj tog faktora na pojavu posmatranog poremećaja, ali u prisustvu svih ostalih faktora. Multivarijantnom (višestrukom) logističkom regresionom analizom izdvajaju se faktori koji su sa

nezavisnim uticajem na pojavu AB. Univarijantnom i multivarijantnom regresionom analizom izračunava se i relativni rizik koji ima najviše značaja kao “mera povezanosti mogućeg uzroka i očekivane posledice” ($\exp(B)$) i on nam pokazuje koliko puta su ispitanici sa posmatranim faktorima rizika pod većom verovatnoćom pojave AB. Faktori rizika posmatrani kod pojave demencije bili su: bračni status, pol, obrazovanje, ustanova, godine starosti, genotip, dentalni status, broj okludirajućih parova zuba, prisustvo zubnih nadoknada, broj prirodnih zuba, hronična oboljenja, BMI index, samostalna ishrana, konzumiranje mesa, voća i povrća i mlečnih proizvoda.

4. REZULTATI

4.1. Karakteristike ispitanika obe grupe

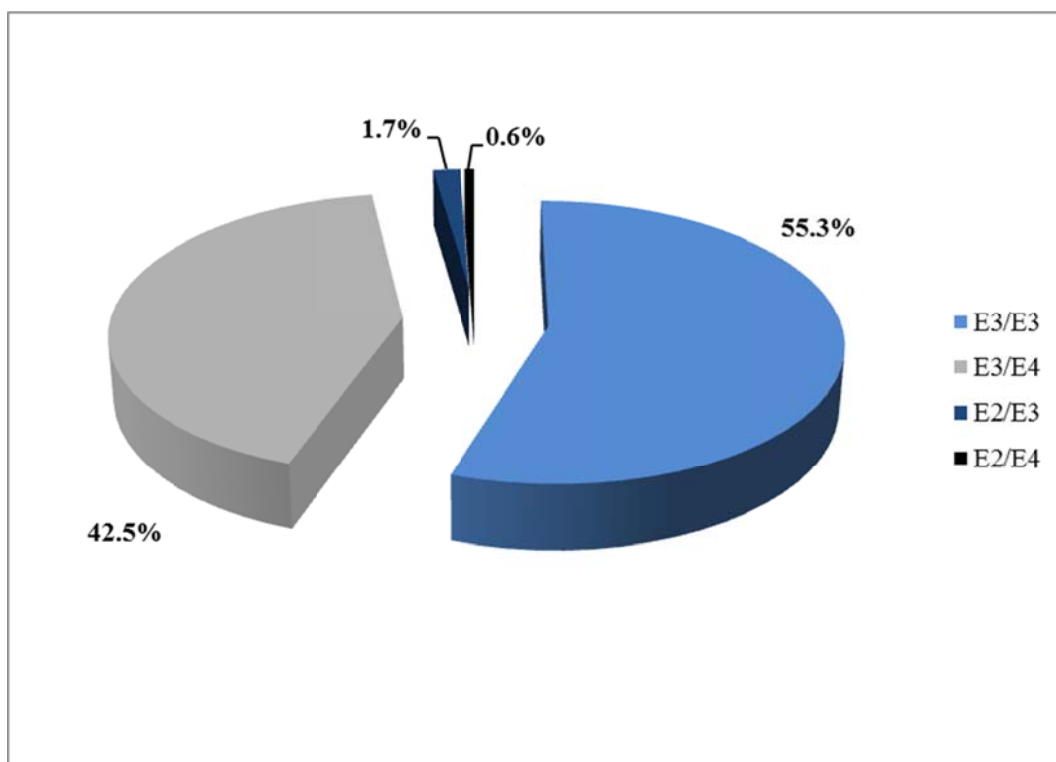
U istraživanju je učestvovalo 179 pacijenata, 116 sa dijagnozom Alchajmerove bolesti i 63 ispitanika bez demencije. Opšte karakteristike ispitanika su prikazane u tabeli 1. Većina ispitanika je bilo ženskog pola, sa prebivalištem u sopstvenom stanu sa ili bez tuđe pomoći. Takođe, većina ispitanika je bilo u braku (oženjen/udata), najčešće su završili samo osnovnu školu, i bili su starosti 65-74 godine.

Tabela 1. *Opšte karakteristike ispitanika obe grupe.*

Karakteristike		Učestalost
Pol	Muški	37.4%
	Ženski	62.6%
Starost	Rana starost	49.2%
	Srednja starost	41.9%
	Duboka starost	8.9%
Bračni status	Oženjen/udata	60.9%
	Razveden/a	7.3%
	Udovac/ica	30.2%
	Neoženjen/neudata	1.7%
Obrazovanje	4 razreda	5.0%
	8 razreda	38.0%
	Srednja škola	31.8%
	Viša škola	10.1%
	Fakultet	15.1%
Ustanova	Kuća	46.4%
	Starački dom/bolnica	53.6%

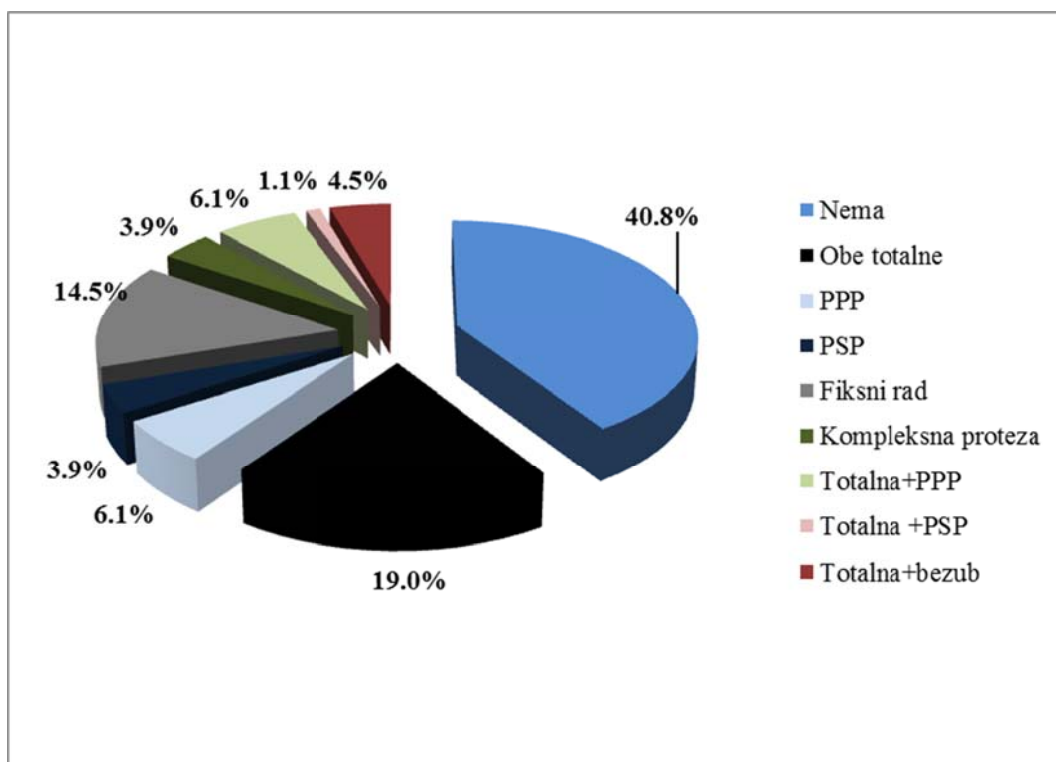
Među dementnim ispitanicima, gotovo dvostruko je više onih kojima je Alchajmerova bolest dijagnostikovana pre manje od 3 godine u trenutku realizacije istraživanja (63%) od onih kojima je dijagnoza postavljena pre 3 godine i više.

Genetski status dobijen analizom DNK prikazan je u grafikonu 1. Najveću učestalost za apoE pokazuje genotip E3/E3. Kod nijednog ispitanika nije pronađen homozigot za apoE4 alel (E4/E4), a samo kod jednog ispitanika genotip E2/E4.

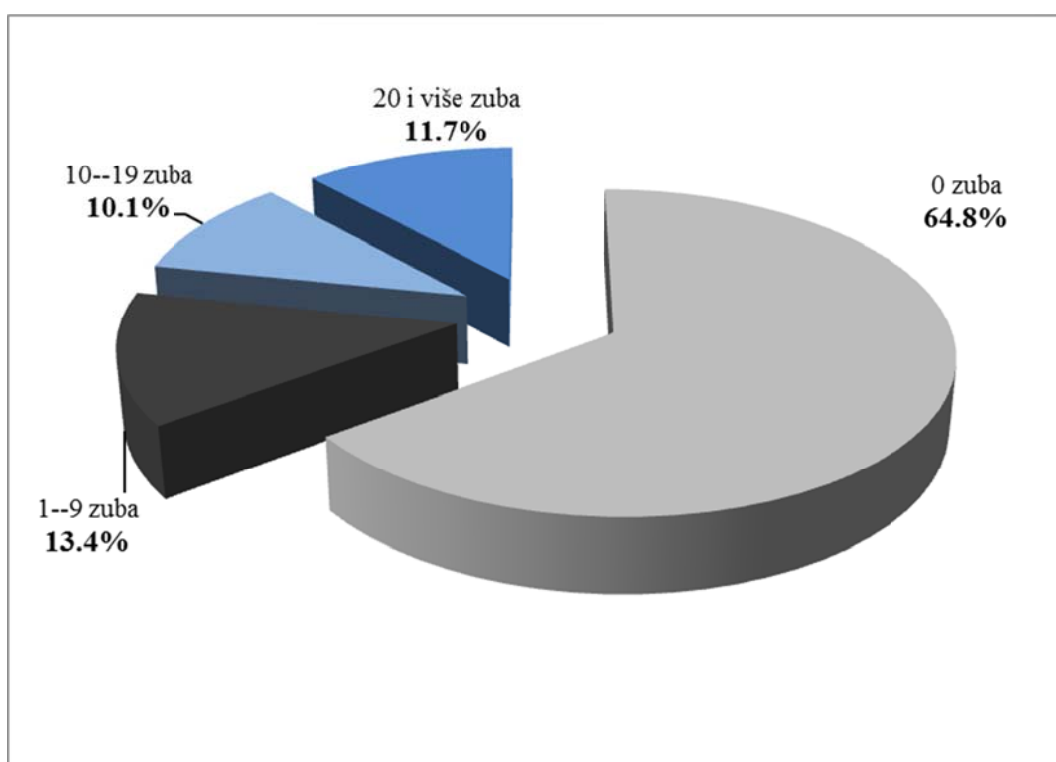


Grafikon 1. Učestalost genotipa za apoE.

Posmatrajući dentalni status, uočava se da je najveći broj ispitanika krezub i bezub (36.9% i 33.5%) (grafikon 2). S obzirom da je pojam krezubost širok, i podrazumeva i ispitanike sa vrlo malim kao i sa većim brojem zuba, pregledom dobijenih podataka o učestalosti broja zuba (grafikon 3), dobija se da najveći broj ispitanika ima nijedan ili mali broj zuba (1-9), ukupno 62.6%. Zato se može reći da je najveći broj ispitanika bezub i krezub sa malim brojem zuba.

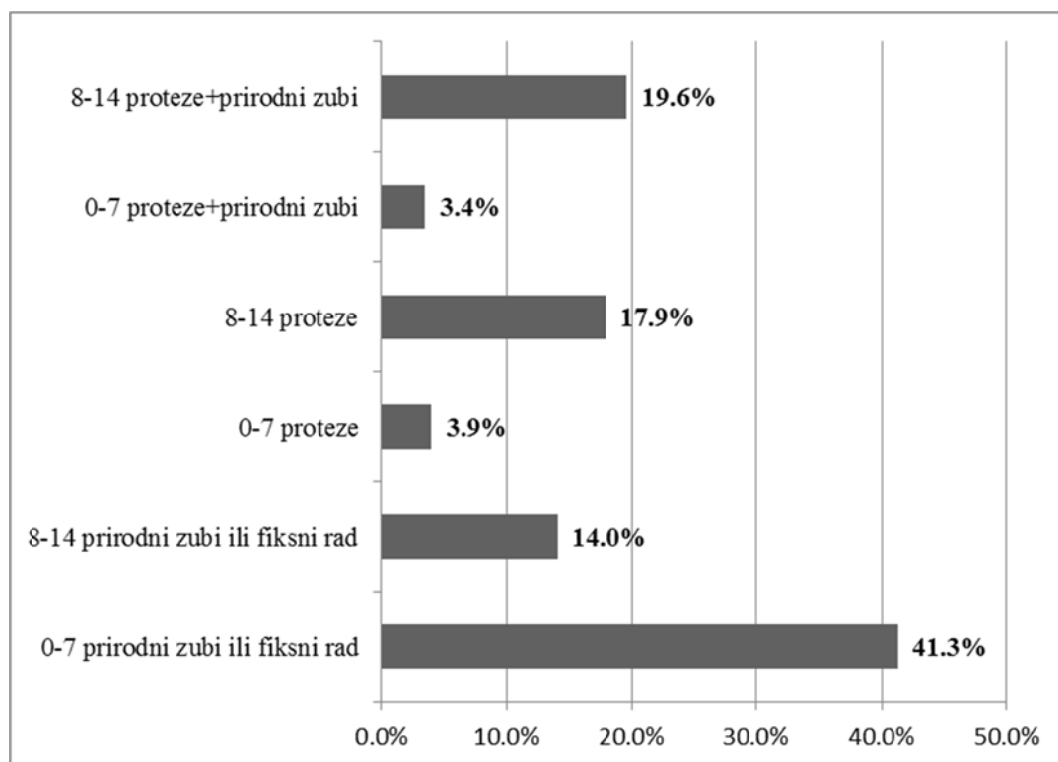


Grafikon 2. Učestalost dentalnog statusa kod ispitanika obe grupe.



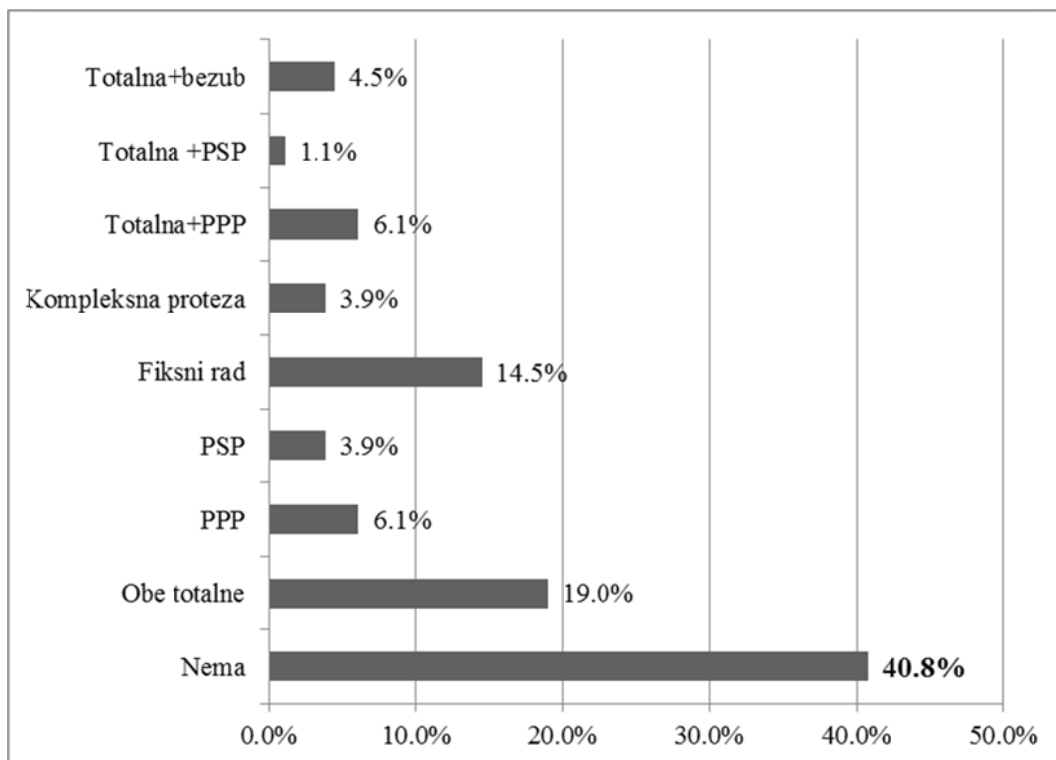
Grafikon 3. Učestalost broja prirodnih zuba kod ispitanika obe grupe.

U sklopu funkcionalne analize dentalnog statusa, ispitivan je broj okludirajućih parova zuba (OPZ). Najveći mogući broj okludirajućih parova zuba u frontalnom regionu je 6, u bočnom 8 a ukupno 14. Takođe, u skladu sa prisustvom zubnih nadoknada, beležena je vrsta tih okludirajućih parova, odnosno da li su od prirodnih zuba i/ili fiksnih zubnih nadoknada ili su od mobilnih zubnih nadoknada. Uočava se da preko polovine ispitanika ima dovoljan broj okludirajućih parova prednjih zuba (OPPZ), većinom od prirodnih zuba ili fiksnih nadoknada. Među onima koji nemaju dovoljan broj OPPZ većina je ispitanika bez zubnih nadoknada. Preko polovine ispitanika nema dovoljan broj okludirajućih parova bočnih zuba (OPBZ) (0-4). Među onima koji ih imaju, najviše je onih sa mobilnim zubnim nadoknadama. Kada se pogleda ukupan broj okludirajućih parova zuba (grafikon 4.), uočava se samo malo veći procenat ispitanika sa njihovim nedovoljnim brojem u odnosu sa one sa dovoljnim brojem. Među onima sa nedovoljnim brojem, najviše je onih bez zubnih nadoknada. Kod ispitanika sa dovoljnim ukupnim brojem OPZ (8-14), približno je podjednaka učestalost onih bez zubnih nadoknada, onih sa mobilnim zubnim nadoknadama i onih kod kojih se kombinuju prirodni zubi ili fiksni rad sa mobilnom zubnom nadoknadom.



Grafikon 4. Ukupan broj okludirajućih parova zuba kod ispitanika obe grupe.

Iako je navedeno da najveći broj ispitanika je bezub ili krezub sa malim brojem zuba, najveći broj ispitanika nije imalo zubne nadoknade (40.8%). Od onih koji imaju zubne nadoknade, najzastupljenije su bile totalne proteze (grafikon 5). One su uglavnom bile stare preko 10 godina i u velikom procentu su zahtevale neku vrstu korekture ili reparature. Bez obzira na to, čini se da su pacijenti bili dobro adaptirani na svoje mobilne zubne nadoknade, i u najvećem procentu su ih koristili. Sledeći po zastupljenosti su bile fiksne zubne nadoknade. I to su kao i proteze u najvećem procentu bile stare zubne nadoknade, često sa znacima frakture keramike ali sa uglavnom očuvanim međuviličnim odnosima. Samo 10% ispitanika je imalo parcijalnu protezu (pločastu ili skeletiranu), što govori da se stari ljudi mnogo ređe odlučuju na rehabilitaciju krezubosti u odnosu na bezubost mobilnim zubnim nadoknadama.

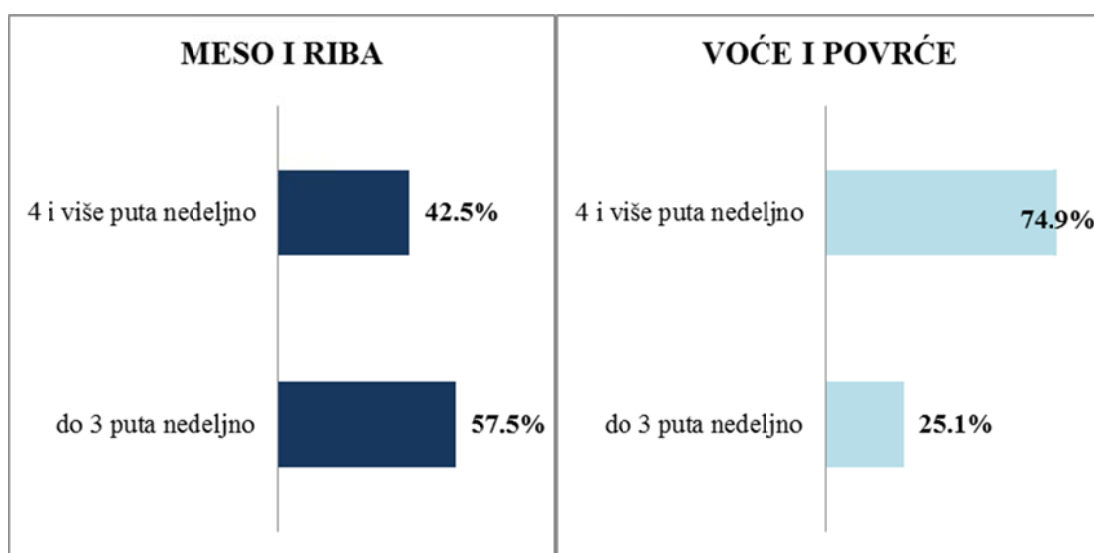


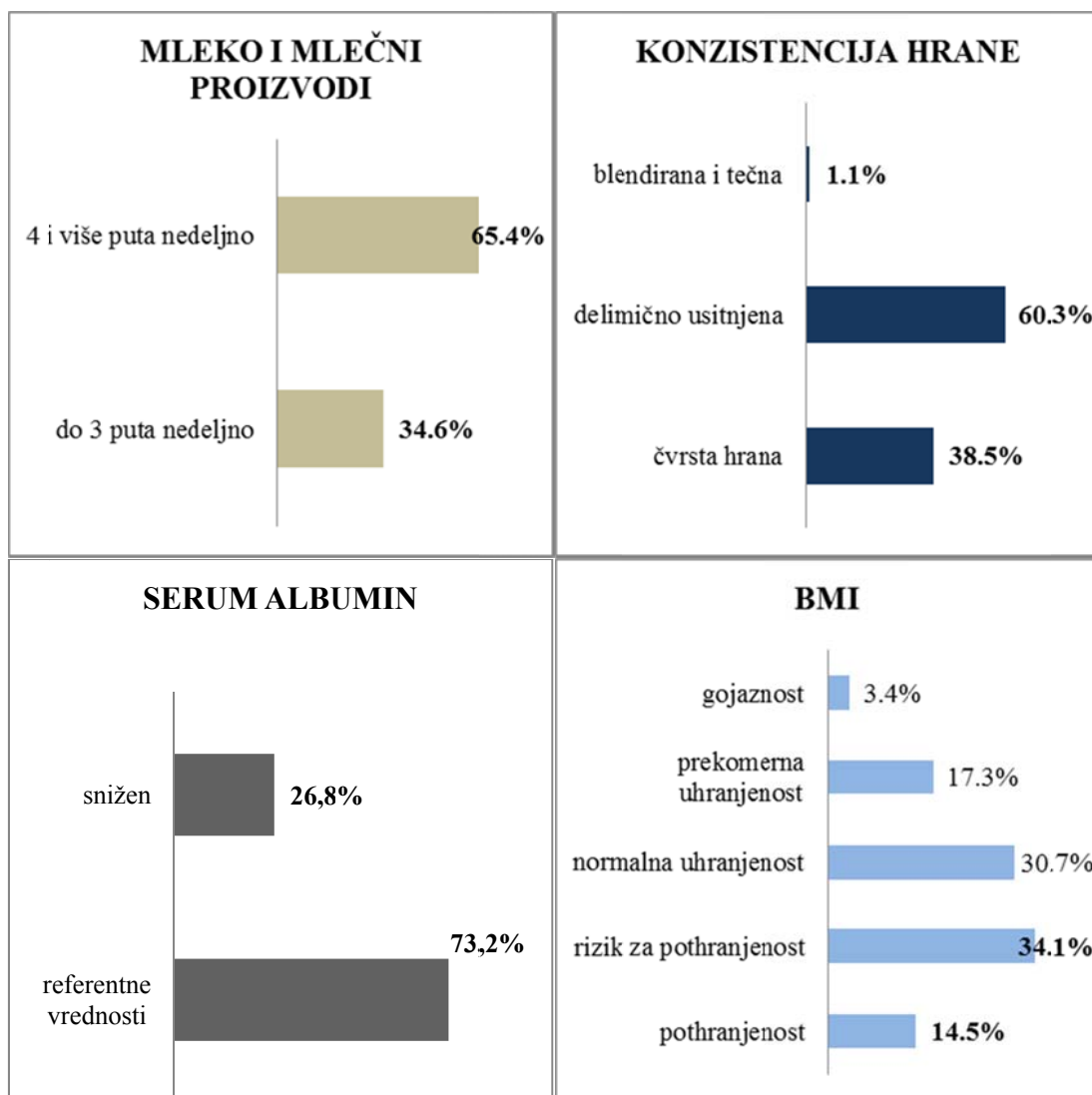
Grafikon 5. Zastupljenost zubnih nadoknada kod ispitanika.

Najveći broj ispitanika je prijavilo jedno ili dva hronična oboljenja (57.5%), a kod pacijenata sa Alchajmerovom bolešću se ona nije računala. Preko 3 hronična oboljenja je prijavilo 19.6% ispitanika.

Kvantitativno ispitivanje nutritivnog statusa (grafikon 6.) je podrazumevalo računanje body-mass indeksa i mogućnost samostalnog hranjenja. Uvodeći kategoriju „rizik od pothranjenosti“, nađeno je 34.1% ovakvih pacijenata, što je više od očekivanog, i zajedno sa brojem pothranjenih (14.5%) čini gotovo polovinu ispitanika. Preko 50% ispitanika se samostalno hranilo, a kod 24.6% njih je bila potrebna potpuna asistencija u ishrani od strane negovatelja. Vrednosti serum albumina kao objektivnog pokazatelja uhranjenosti, su bile unutar referentnih vrednosti kod većine ispitanika, dok je kod nešto više od četvrtine ispitanika ta vrednost bila snižena.

Kvalitativno ispitivanje hrane (grafikon 6.) je podrazumevalo beleženje učestalosti konzumacije pojedinih kategorija hrane kao što su meso ili riba, voće i povrće i mleko ili mlečni proizvodi. Ispitanici su u najvećem procentu konzumirali češće (4 i više puta nedeljno) voće i povrće (74.9%) i mleko i mlečne proizvode (65.4%), dok su meso u 57.5% slučajeva konzumirali do 3 puta nedeljno. Ribu su ispitanici jako retko konzumirali, najčešće jednom mesečno ili ređe pa je ova kategorija od dalje označena samo kao konzumacija mesa. Najveći broj ispitanika je konzumirao delimično usitnjenu hranu (pasiranu ili sitnije iseckanu, zavisno od konzistencije i vrste hrane) – 60.3%, manji broj njih čvrstu hranu (38.5%) a najmanji broj tečnu ili blendiranu hranu.





Grafikon 6. Kvalitativni i kvantitativni parametri ishrane kod ispitanika obe grupe.

4.2. Genotip, dentalni status i ishrana kod ispitanika sa i bez demencije

Upoređivanje ispitanika dementne i nedementne grupe prema karakteristikama pol, godine starosti, obrazovanje, ustanova i bračni status prikazani su u tabeli 2. Nađeno je da su pacijenti bez demencije češće u braku, sa statistički značajnom razlikom, odnosno da su pacijenti sa Alchajmerovom bolešću češće bez partnera bilo da su razvedeni, neoženjeni/neudati ili udovci/udovice. Ako se zanemare druge kategorije osim “oženjen/udata” i “nije oženjen/udata”, gde zapravo spadaju sve ostale kategorije (razveden, udovac/udovica, neoženjen/neudata), dobijaju se sledeći rezultati.

Oženjen/udata je statistički značajno češći status kod nedementnih ispitanika (54.3% prema 74.6%) sa statističkom značajnošću od $p=0.006$.

Tabela 2. Opšte karakteristike ispitanika – upoređivanje učestalosti između grupa sa i bez demencije.

Opšte karakteristike ispitanika		Ispitanici sa AB	Ispitanici bez demencije	p vrednost
Broj ispitanika		116	63	
Pol	Muški	33.6%	44.4%	p= 0.196
	Ženski	66.4%	55.6%	
Starost	Rana starost	52.6%	42.9%	p= 0.295
	Srednja starost	38.8%	47.6%	
	Duboka starost	8.6%	9.5%	
Bračni status	Oženjen/udata	53.4%	74.6%	p= 0.004
	Razveden/a	7.8%	6.3%	
	Udovac/ica	36.2%	19.0%	
	Neoženjen/neudata	2.6%	0%	
Obrazovanje	4 i 8 razreda	47.4%	34.9%	p= 0.339
	Srednja škola	28.4%	38.1%	
	Viša škola	7.8%	14.3%	
	Fakultet	16.4%	12.7%	
Ustanova	Kuća	37.1%	63.5%	p= 0.001
	Starački dom/bolnica	62.9%	36.5%	

Iako je nešto više ispitanika muškog pola prisutno u nedementnoj a ženskog u dementnoj grupi ispitanika, statističke analize (chi square tests) pokazuju da nema značajne razlike u učestalosti polova između ove dve grupe ispitanika.

Iako je među dementnim ispitanicima nešto veća učestalost onih sa 4 ili 8 razreda osnovne škole, a među ispitanicima bez demencije više onih sa završenom srednjim i viškom školom, chi-square tests ne dokazuju statističku značajnost. Drugim rečima, nije pokazano da su nedementni pacijenti imali značajno više obrazovanje od dementnih.

Veći broj ispitanika koji su bili smešteni u staračkom domu ili bolnici su imali Alchajmerovu bolest u odnosu na ispitanike koji su živeli u sopstvenom domu, sa statističkom značajnošću. Međutim, to se ne može smatrati značajnim podatkom s obzirom da je Gerijatrijski centar Beograd i biran za ovo istraživanje kao ustanova koja ima kapacitet za smeštaj lica sa ovim oboljenjem. Drugim rečima, na osnovu ovog istraživanja ne može se zaključiti da je smeštaj u ustanovama za dugotrajno zbrinjavanje starih ljudi bio faktor rizika za oboljevanje od Alchajmerove bolesti.

Rezultati pokazuju da se starost ispitanika ne razlikuje značajno između dementnih i nedementnih ispitanika. Nešto su zastupljeniji ispitanici u ranoj starosti kod dementnih i ispitanici u srednjoj starosnoj grupi kod nedementnih, ali statistički testovi nisu pokazali značajnost. Univarijantna logistička regresiona analiza potvrđuje statističku značajnost za varijablu bračni status (tabela 3).

Tabela 3. *Univarijantna logistička regresiona analiza (ispitanici sa AB vs ispitanici bez demencije) za parametre vezane za opšte karakteristike ispitanika.*

Posmatrani parametri	expB (95%CI)	P
Pol	0.633 (0.338-1.187)	0.154
Starost	1.286 (0.803-2.058)	0.295
Bračni status	0.591 (0.412-0.846)	0.004
Obrazovanje	1.141 (0.871-1.494)	0.339
Ustanova	0.339 (0.179-0.640)	0.001

95%CI - 95% Interval poverenja; p- verovatnoća grupe;

Iako je najviše ispitanika sa genotipom E3/E3, znatno je veći procenat nedementnih ispitanika sa ovim genotipom nego onih sa demencijom (tabela 4). Takođe, genotip E3/E4 je znatno zastupljeniji kod dementnih ispitanika. Genotipovi E2/E3 i E2/E4 su generalno malo zastupljeni, i skoro podjednako između dementnih i nedementnih. Razlike u zastupljenosti genotipova E3/E3 i E3/E4 između dementnih i nedementnih ispitanika je statistički značajna ($p=0.000$). Drugim rečima, genotip E3/E4 je značajno učestaliji kod dementnih ispitanika. Ako se rezultati prikažu na drugi način, na osnovu toga da li ispitanik ima ili nema genotip E3/E3 kao najčešći tip genotipa, dobija se da je postojanje ovog genotipa statistički značajno češće kod ispitanika bez demencije, i to sa značajnošću $p=0.000$. Takođe, ako se postojanje alela E4, kao potencijalni prediktor pojave Alchajmerove bolesti, prikaže kao varijabla, dobija se njena statistički značajno veća učestalost kod dementnih ispitanika (52.6% prema 25.4%) sa vrednošću $p=0.000$. Univarijantnom logističkom regresionom analizom se faktor genotip potvrđuje kao značajan prediktor za razvoj AB. Tačnije, **osobe sa E4 alelom imaju 3 puta veći rizik da razviju Alchajmerovu bolest** nego osobe bez ovog alela (tabela 5).

Tabela 4. Razlike u učestalosti genotipova kod ispitanika sa i bez AB.

	Ispitanici sa AB	Ispitanici bez demencije	p vrednost
Genotip	E3/E3	44.8%	0.000
	E3/E4	52.6%	
	E2/E4	0.9%	
	E2/E3	1.7%	

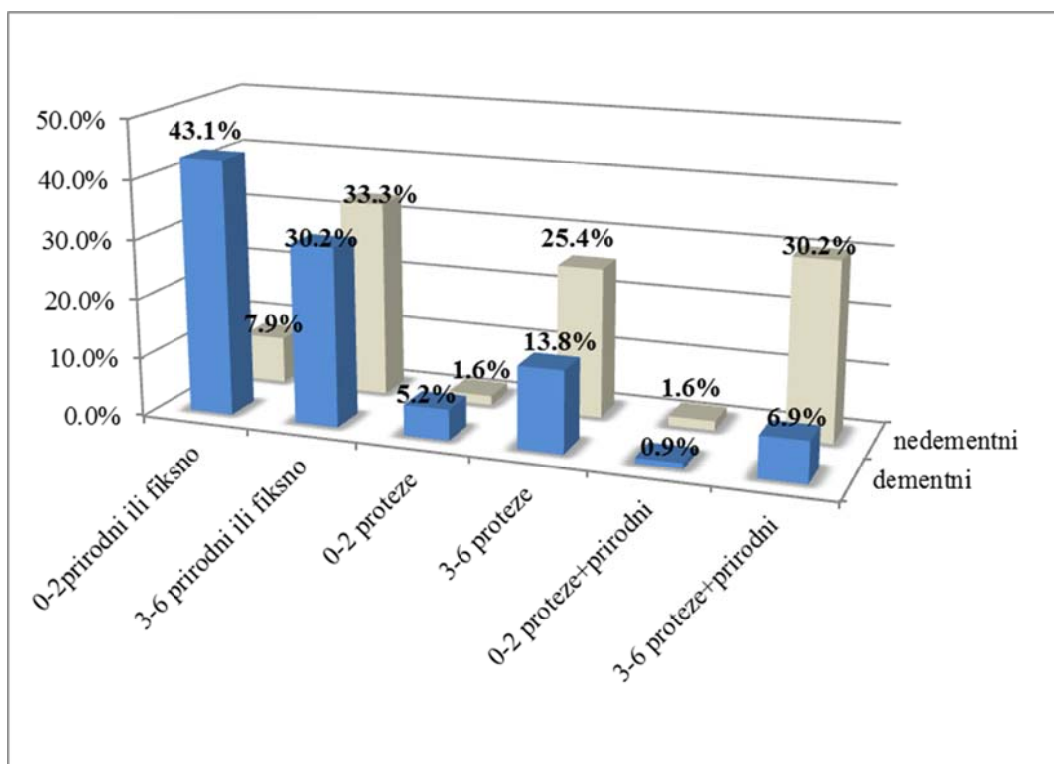
Tabela 5. Univarijantna logistička regresiona analiza (ispitanici sa AB vs ispitanici bez demencije) za parametar genotip.

Posmatrani parametri	expB (95%CI)	P
Genotip	0.314 (0.165-0.599)	0.000
Prisustvo E3/E3	0.311 (0.160-0.605)	0.001
Prisustvo E4 alela	3.258 (1.660-6.394)	0.001

95%CI - 95% Interval poverenja; p- verovatnoća grupe;

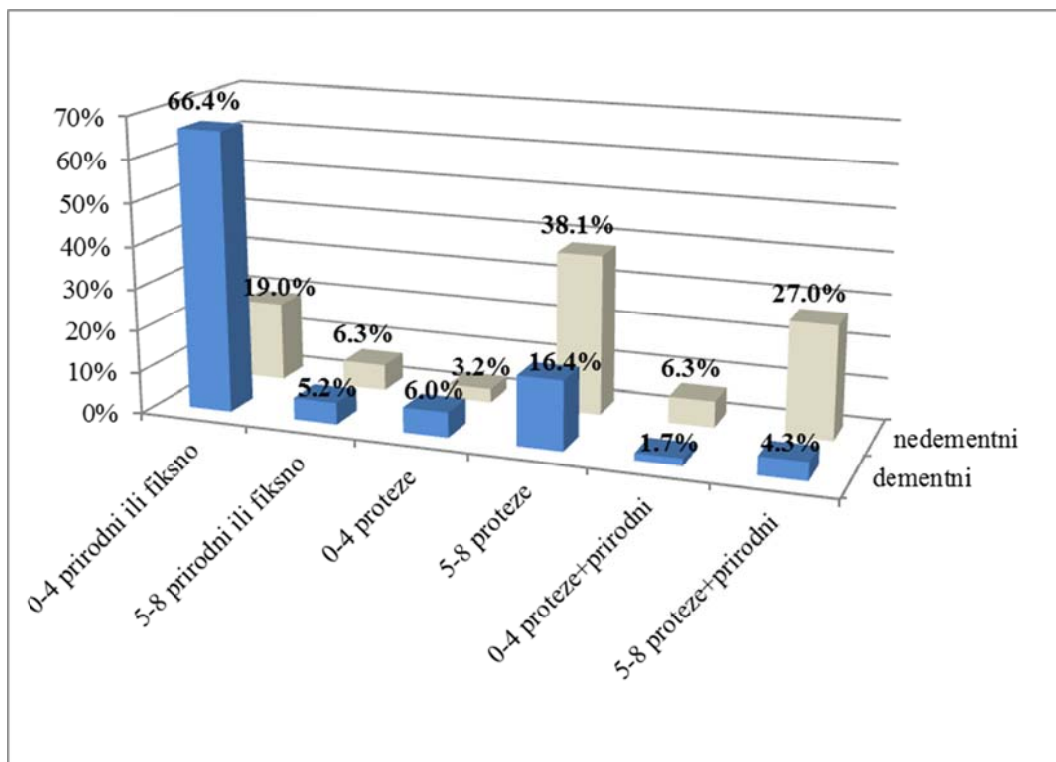
Opšti dentalni status se ne razlikuje značajno među grupama dementnih i nedementnih ispitanika. Približno je ista učestalost bezubih (34.5% prema 31.7%), krezubih (37.9% prema 34.9%) i ispitanika sa punim zubnim nizom (2.6% orema 3.2%) između ove dve grupe ispitanika. Da nema statističke značajnosti potvrđuju i chi-square tests ($p=0.315$).

Za razliku od opšteg dentalnog statusa, kod broja okludirajućih parova zuba postoji statistička značajnost između dementnih i nedementnih ispitanika. Kod broja okludirajućih parova prednjih zuba (grafikon 7.), uočljivo je veća zastupljenost njihovog malog broja (0-2) sa prirodnim zubima ili fiksnim nadoknadama kod dementnih. Takođe, prisutan je veći procenat onih sa dovoljnim brojem OPPZ (3-6) sa protezama i sa kombinacijom proteza i prirodnim zubima kod nedementnih ispitanika. Značajno manji broj OPPZ kod dementnih potvrđuju i chi square tests sa vrednošću $p=0.000$. Ako se zanemari prisustvo zubnih nadoknada, već se rezultati posmatraju samo u smislu da li ispitanik ima preko 3 OPPZ ili nema, dobija se da je značajno učestaliji broj ispitanika sa preko 3 OPPZ u grupi nedementnih (50.0% prema 88.9%) sa statističkom značajnošću $p=0.000$.



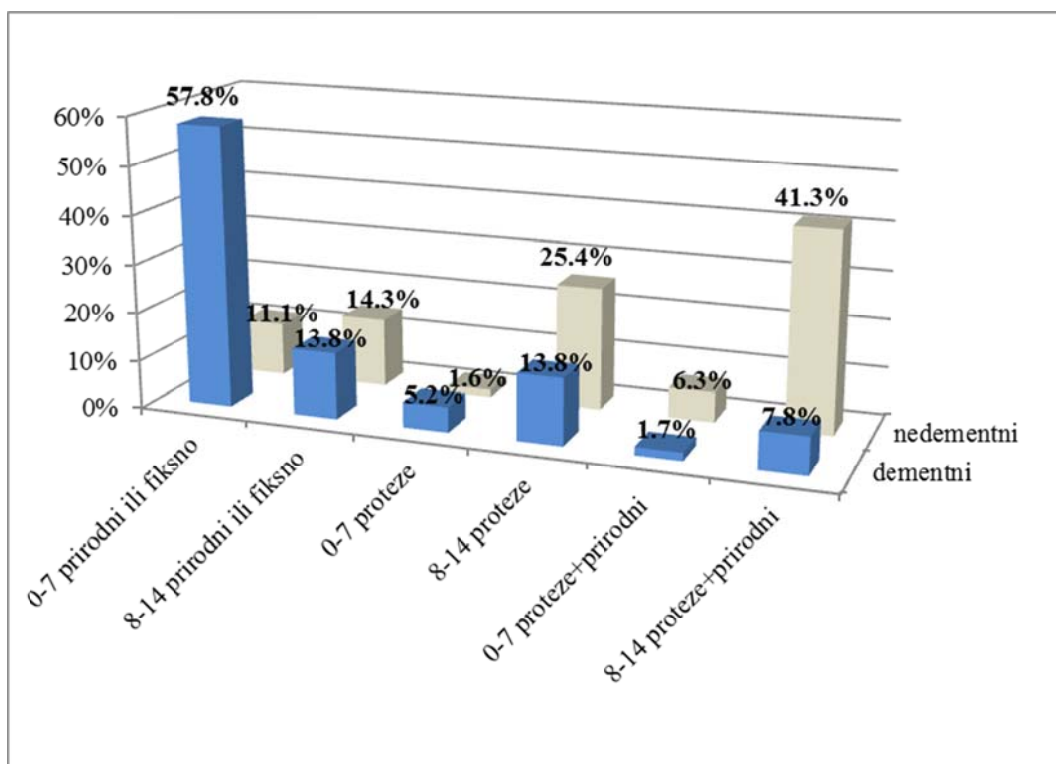
Grafikon 7. Upoređivanje OPPZ između dementnih i nedementnih ispitanika.

Kod okludirajućih parova bočnih zuba (grafikon 8.), uočljivo je veći procenat onih sa njihovim nedovoljnim brojem sa prirodnim zubima ili fiksnim nadoknadama, kod dementnih ispitanika. Takođe, veća je zastupljenost dovoljnog broja OPBZ kod nedementnih ispitanika, naročito onih sa protezama i onih sa kombinacijom proteze i prirodnih zuba. I ovde statističku razliku potvrđuje p vrednost sa iznosom $p=0.000$. Kao dodatak, kada se zanemari prisustvo zubnih nadoknada, i posmatra da li ispitanik ima ili nema 5 i više OPBZ, dobija se još veća diskrepanca u odnosu na okludirajuće parove prednjih zuba. Tačnije, u grupi ispitanika bez demencije, 71.4% ima preko 5 OPBZ, dok je učestalost takvih ispitanika sa demencijom samo 24.1%. Vrednost statističke značajnosti je takođe $p=0.000$.



Grafikon 8. Upoređivanje OPZ između dementnih i nedementnih ispitanika.

U skladu sa navedenim rezultatima, slična je situacija i kod ukupnog broja okludirajućih parova zuba (grafikon 9). Najveća razlika uočava se kod nedovoljnog broja OPZ sa prirodnim zubima, gde je značajno veća zastupljenost kod dementnih kao i kod dovoljnog broja OPZ sa protezama i kombinacijom mobilnih zubnih nadoknada i prirodnih zuba gde je značajno veća zastupljenost kod nedementnih. I ovde razlike potvrđuje vrednost $p=0.000$. Drugim rečima, dementni ispitanici su imali mali broj okludirajućih parova zuba i to bez zubnih nadoknada. Ako se kao i kod OPPZ i OPBZ zanemari prisustvo zubnih nadoknada, dobija se značajno veća učestalost preko 8 UBOPZ kod nedementnih ispitanika (34.5% prema 79.4%) sa statističkom značajnošću $p=0.000$.



Grafikon 9. Upoređivanje UBOPZ između dementnih i nedementnih ispitanika.

Ako se uporede dementni i nedementni pacijenti i UBOPZ sa ili bez zubnih nadoknada, a nevezano za vrstu zubnih nadoknada, dobijaju se sledeći rezultati. Ispitanici bez demencije su učestalije imali preko 8 UBOPZ sa zubnim nadoknadama (31.0% prema 73.0%), dok su ispitanici sa demencijom imali češće nedovoljan UBOPZ (ispod 8) bez zubnih nadoknada (52.6% prema 11.1%). Za ove razlike u grupama dementnih i nedementnih ispitanika postoji i statistička značajnost $p=0.006$. Treba i dodati, da u skladu sa rezultatima, pacijenti starije dobi obe grupe (i dementni i nedementni) koji nemaju zubne nadoknade veoma retko imaju dovoljan broj OPZ. Kod dementnih je taj procenat 3.4% a kod nedementnih 6.3%.

Da su parametri vezani za broj okludirajućih parova zuba značajni kao prediktori za nastanak AB, pokazuje i univarijantna logistička regresiona analiza u tabeli 6. Tačnije, **osobe sa 3 i više okludirajućih parova prednjih zuba kao i sa 5 i više okludirajućih parova bočnih zuba imaju čak 8 puta manji rizik za razvoj Alchajmerove bolesti** nego osobe sa manjim brojem okludirajućih parova zuba. **Osobe sa ukupno 8 i više okludirajućih**

parova zuba imaju 7 puta manji rizik za nastanak Alchajmerove bolesti nego osobe sa manjim brojem UOPZ.

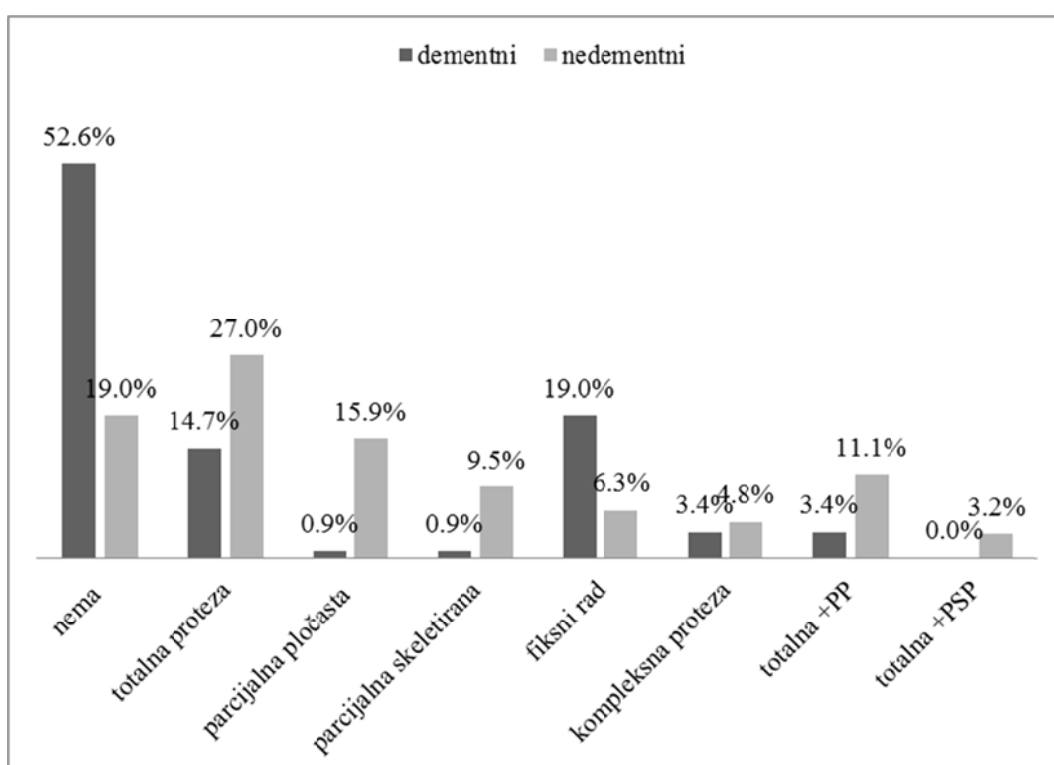
Tabela 6. Univarijantna logistička regresiona analiza (ispitanici sa AB vs ispitanici bez demencije) za parametre vezane za dentalni i protetski status.

Posmatrani parametri	expB (95%CI)	P
Dentalni status	1.138 (0.885-1.463)	0.315
Broj OP prednjih zuba	1.671 (1.373-2.033)	0.000
Broj OP bočnih zuba	1.871 (1.529-2.289)	0.000
Ukupan broj OPZ	1.857 (1.533-2.249)	0.000
Broj prirodnih zuba	1.105 (0.830-1.472)	0.493
Prisustvo zubnih nadoknada	1.118 (0.996-1.254)	0.058
Broj OPPZ preko 3	8.000 (3.365-19.018)	0.000
Broj OPBZ preko 5	7.857 (3.931-15.705)	0.000
Ukupan broj OPZ preko 8	7.308 (3.556-15.018)	0.000
Zubne nadoknade i broj OPZ	0.545 (0.352-0.844)	0.006

95%CI - 95% Interval poverenja; p- verovatnoća grupe;

Iz navedenih rezultata, može se sumirati da pacijenti sa Alchajmerovom bolešću imaju značajno manji, odnosno nedovoljan broj okludirajućih parova zuba i to bez zubnih nadoknada. Takođe, ispitanici bez demencije, imaju veći broj okludirajućih parova zuba ali sa mobilnim ili fiksnim zubnim nadoknadama kao i sa njihovom kombinacijom. Dovoljan broj okludirajućih parova zuba sa prirodnim zubima, odnosno bez zubnih nadoknada približan je kod dementnih i nedemetnih ispitanika u sve tri grupe (i prednjih i bočnih i ukupno). Iz toga se može zaključiti da **dovoljan broj OPZ kod nedementnih potiče od prisustva zubnih nadoknada a ne od prirodnih zuba.**

Kada je reč o prisustvu zubnih nadoknada (grafikon 10.), primetno je da ispitanici sa demencijom u većem procentu nemaju zubne nadoknade (52.6% dementnih prema 19% nedementnih). Ispitanici bez demencije u većem procentu su imali totalne proteze, parcijalne pločaste proteze, parcijalne skeletirane proteze, kao i totalne proteze u kombinaciji sa parcijalnim pločastim protezama. Jedino se kod fiksnih zubnih nadoknada primećuje veća učestalost kod dementnih u odnosu na nedementne pacijente (19.0% prema 6.3%). Ova razlika u zastupljenosti zubnih nadoknada, međutim, nije statistički značajna ($p=0.055$).

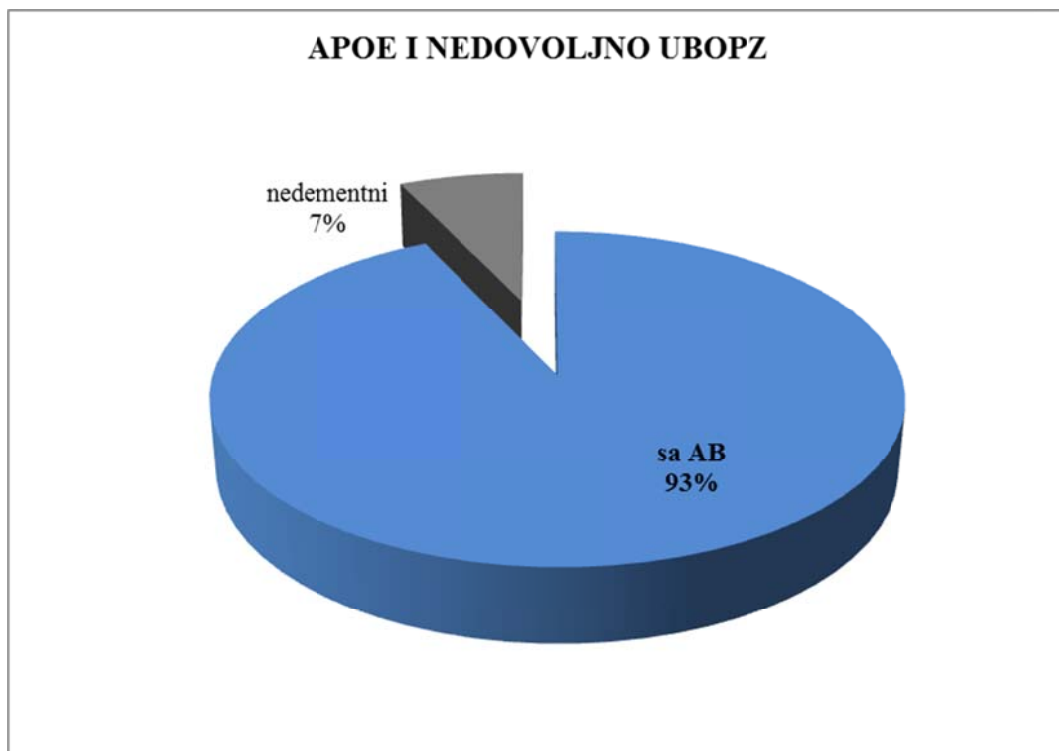


Grafikon 10. Prisustvo zubnih nadoknada kod dementnih i nedementnih ispitanika.

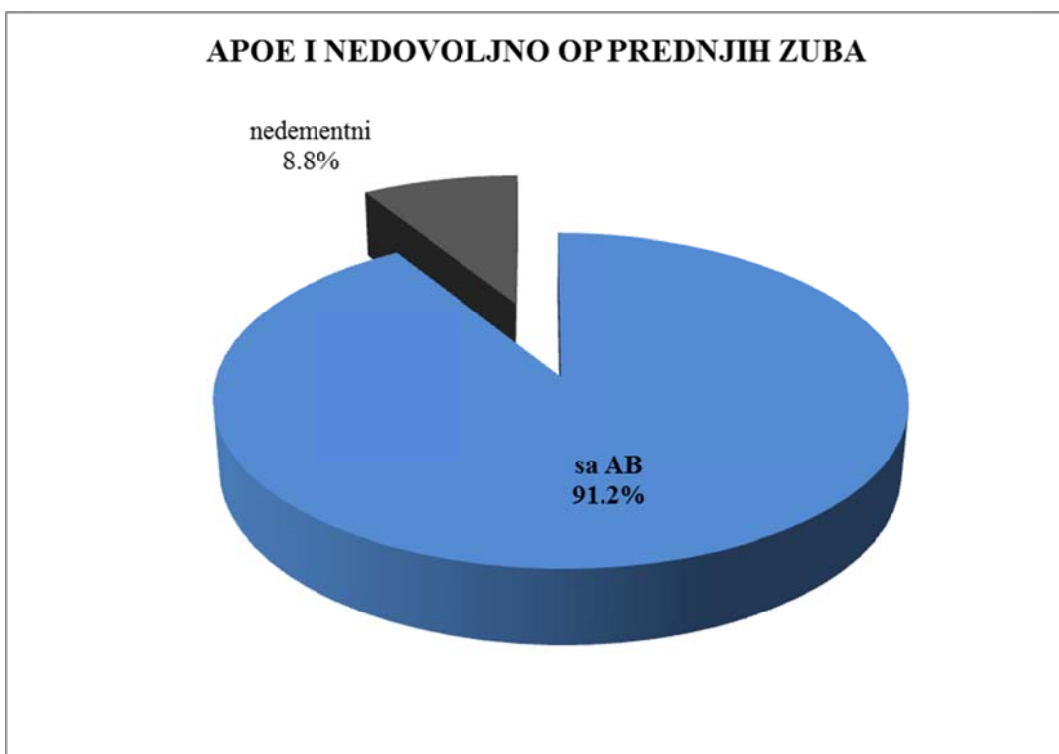
Ipak, ovaj podatak se ne može izolovano posmatrati nego u kontekstu ostalih parametara vezanih za dentalni i protetski status. Tako, iako prisustvo zubnih nadoknada nije statistički značajno različito između grupa dementnih i nedementnih ispitanika, važno je da je varijabla „zubne nadoknade i broj OPZ“ ima statističku značajnost, potvrđenu i logističkom regresionom analizom (tabela 6).

Kada je u pitanju broj prirodnih zuba, ispitanici su gotovo izjednačeni u kategorijama sa 0 zuba, a i „20 i više zuba“ je učestalost približna između dementnih i nedementnih. Kategorija sa malim brojem zuba (1-9) je učestalija kod dementnih (32.8% prema 22.2%), dok je kategorija „10-19 zuba“ učestalija kod ispitanika bez demencije (15.5% prema 33.3%). Međutim, ni ovde nije dokazana statistički značajna razlika ($p=0.494$).

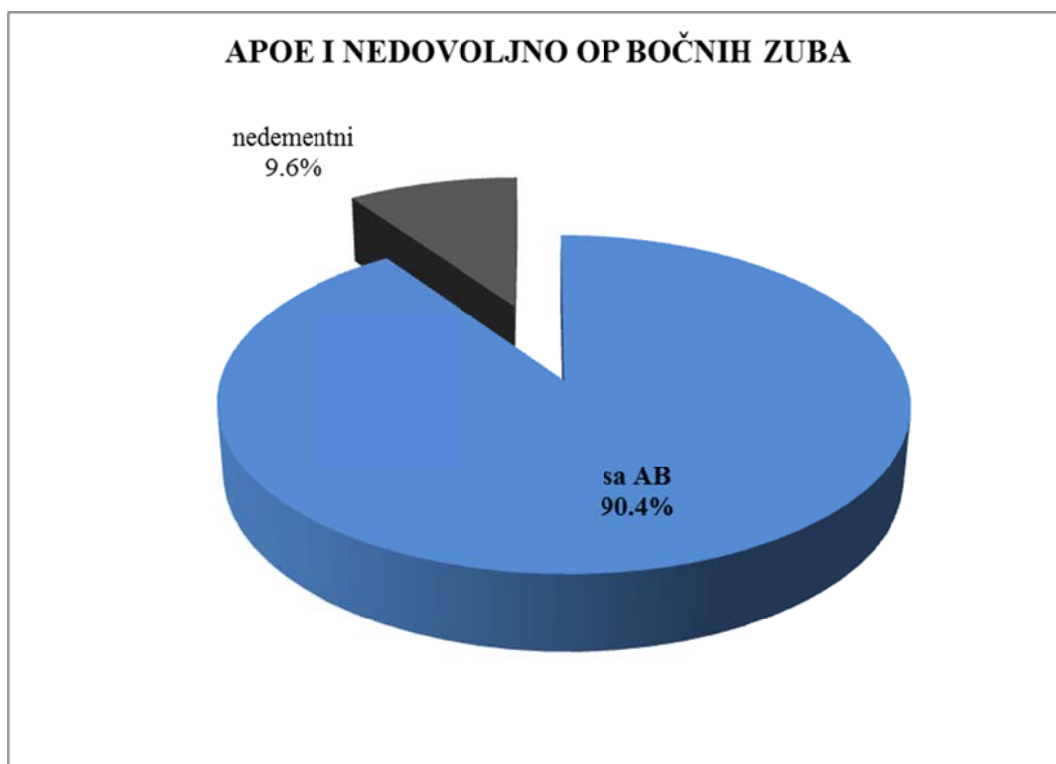
Kako bi se utvrdio udruženi rizik dentalnih parametara i genotipa za pojavu demencije, urađeni su posebni testovi. Kako je predhodnim analizama pronađeno da je najznačajniji uticaj od dentalnih parametara ima broj okludirajućih parova zuba, uzeti su parametri „ukupan broj OPZ“, „dovoljan broj OP prednjih zuba“ i „dovoljan broj OP bočnih zuba“ a od genotipa „prisustvo/odsustvo apoE4 alela“. Tako je nađeno da od ukupnog broja ispitanika koji imaju E4 alel a nemaju dovoljno OPZ velika većina onih sa demencijom (grafikoni 11, 12 i 13), što potvrđuje i značajna statistička razlika sa vrednošću $p=0.000$ za sve tri kategorije. Statističku značajnost potvrđuje i univarijantna logistička regresiona analiza, što je prikazano u tabeli 7. Tačnije, **osoba ima čak 10 puta veći rizik da razvije Alchajmerovu bolest ako je nosilac apoE4 alela i ima nedovoljno okludirajućih parova svih zuba** nego ako nema ove činioce udružene. Ako je **osoba nosilac apoE4 alela i ima manje od 3 okludirajućih parova prednjih zuba ima 7 puta veći rizik da razvije Alchajmerovu bolest** nego da nema udružene ove činioce. Takođe, **ako je osoba nosilac apoE4 alela i ima manje od 5 okludirajućih parova bočnih zuba ima 8 puta veći rizik da razvije AB** u poređenju sa osobama koje nemaju udružene ove faktore.



Grafikon 11. Zastupljenost dementnih i nedementnih ispitanika sa apoE4 i nedovoljno **UBOPZ**.



Grafikon 12. Zastupljenost dementnih i nedementnih ispitanika sa apoE4 i nedovoljno **OP prednjih zuba**.



Grafikon 13. Zastupljenost dementnih i nedementnih ispitanika sa apoE4 i nedovoljno OP bočnih zuba.

Tabela 7. Univarijantna logistička regresiona analiza za udruženo prisustvo apoE4 alela i nedovoljno okludirajućih parova zuba.

Posmatrani parametri	expB (95%CI)	P
ApoE4 i nedovoljno ukupno OPZ	10.526 (3.104-35.694)	0.000
ApoE4 i nedovoljno OP prednjih zuba	7.294 (2.131-24.962)	0.002
ApoE4 i nedovoljno OP bočnih zuba	7.901 (2.948-21.177)	0.000

95%CI - 95% Interval poverenja; p- verovatnoća grupe;

Interesatno je da su pacijenti sa Alchajmerovom bolešću imali manje hroničnih oboljenja u poređenju sa nedementnim ispitanicima. Onih koji nisu prijavili nijedno hronično oboljenje je u grupi dementnih bilo 29.3% dok je kod nedementnih taj procenat 11.1%. Takođe do 2 hronična oboljenja je bio češći nalaz kod nedementnih

(53.4% prema 65.1%), kao i 3 i više oboljenja (17.2% prema 23.8%). Razlike u podacima imaju i statističku značajnost ($p=0.015$).

Upoređivanje svih varijabli vezanih za ishranu između dementnih i nedementnih ispitanika je prikazano u tabeli 8. Iako je gotovo polovina od ukupnog broja ispitanika imala nizak BMI index, odnosno bila u kategoriji „pothranjenost“ i „rizik za pothranjenost“, nema statistički značajne razlike između dementnih i nedementnih ispitanika. Drugim rečima, nije se pokazalo da su demetni pacijenti u većem procentu pothranjeni. Čak je u kategoriji „pothranjenost“, veća bila učestalost kod nedementnih, dok je kod rizika za pothranjenost nešto je veća učestalost kod dementnih ali opet, bez statističke značajnosti. Normalna uhranjenost je bila podjednako učestala u obe grupe ispitanika, a prekomerno uhranjeni i gojazni pacijenti su bili učestaliji kod nedementnih ispitanika.

Samostalna ishrana je bila učestaila kod ispitanika bez demencije, delimična asistencija kod dementnih ispitanika, ali je zato potpuna asistencija u ishrani bila zastupljenija kod nedementnih ispitanika. Ove razlike između dementnih i nedementnih ispitanika nemaju statističku značajnost.

Kada je u pitanju poređenje u kvalitativnoj ishrani, statističke razlike postoje u konzumiranju mesa. Ispitanici sa demencijom su učestalije konzumirali meso od nedementnih ispitanika sa statističkom značajnošću od $p=0.01$. Ispitanici sa demencijom češće su konzumirali i voće i povrće od nedementnih ispitanika ali ovde sa veoma malom statističkom značajnošću ($p=0.022$). Mleko i mlečne proizvode, prema ovom istraživanju, ispitanici starije dobi su najviše konzumirali i to u približno jednakoj zastupljenosti kod dementnih i nedementnih ispitanika.

Što se tiče konzistencije hrane, nedementni ispitanici su učestalije konzumirali čvrstu hranu dok su dementni češće konzumirali delimično usitnjenu (pasiranu) hranu, i to sa statističkom razlikom.

Iako su predhodni rezultati pokazali da dementni pacijenti nisu statistički učestalije pothranjeni, vrednosti serum albumina govore da je kod njih statistički značajno češća pojava sniženih vrednosti u odnosu na referentne. Univarijantna logistička regresiona analiza pokazuje značajnost parametara konzumiranje mesa, voća i povrća, vrednost serum albumina i konzistencija hrane za pojavu i razvoj AB (tabela 9).

Tabela 8. Razlike u učestalosti parametara vezanih za ishranu između ispitanika sa i bez AB.

Posmatrani parametri		Ispitanici sa AB	Ispitanici bez demencije	p vrednost
BMI	Pohranjenost	13.8%	15.9%	0.485
	Rizik za pothranjenost	37.1%	28.6%	
	Normalna uhranjenost	30.2%	31.7%	
	Prekomerna uhranjenost	16.4%	19.0%	
	gojaznost	2.6%	4.8%	
Samostalna ishrana	Samostalno	49.1%	57.3%	0.778
	Delimična asistencija	23.3%	11.1%	
	Potpuna asistencija	27.6%	31.7%	
Meso/riba	Do 3 puta nedeljno	50.9%	69.8%	0.01
	4 i više puta nedeljeno	49.1%	30.2%	
Voće/povrće	Do 3 puta nedeljno	19.8%	34.9%	0.022
	4 i više puta nedeljno	80.2%	65.1%	
Mlečni proizvodi	Do 3 puta nedeljno	35.3%	33.3%	0.460
	4 i više puta nedeljno	64.7%	66.7%	
Serum albumini	Unutar referentnih vrednosti	66.4%	85.7%	0.004
	Snižen	33.6%	14.3%	
Konzistencija hrane	Čvrsta	31.0%	52.4%	0.004
	Delimično usitnjena	67.2%	47.6%	
	Tečna	1.7%	0%	

Tabela 9. Univarijantna logistička regresiona analiza (ispitanici sa AB vs ispitanici bez demencije) za parametre vezane za ishranu.

Posmatrani parametri	expB (95%CI)	P
BMI	1.111 (0.827-1.493)	0.485
Samostalna ishrana	0.950 (0.667-1.354)	0.778
Meso/riba	0.447 (0.233-0.856)	0.015
Voće/povrće	0.461 (0.231- 0.919)	0.028
Mlečni proizvodi	1.093 (0.572-2.089)	0.787
Serum albumini	0.329 (0.147-0.735)	0.007
Konzistencija hrane	0.403 (0.217-0.749)	0.004

95% CI - 95% Interval poverenja; p- verovatnoća grupe;

4.3. Povezanost dentalnog statusa i ishrane

Povezanost parametara dentalnog statusa i ishrane je računata najpre kod svih ispitanika nezavisno da li imaju demenciju ili ne, a nakon toga i zasebno za ove dve grupe ispitanika.

4.3.1. Dentalni status i ishrana kod svih ispitanika

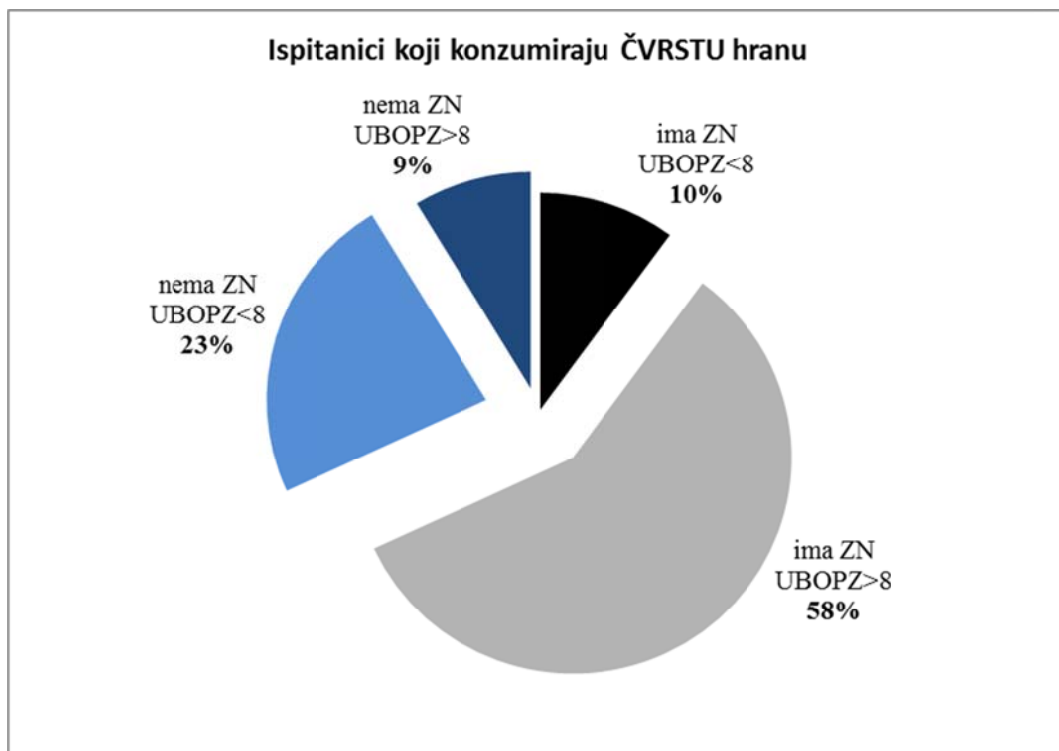
Kada se uporedi broj okludirajućih parova zuba i konzistencija hrane koja se konzumira, dobiju se sledeći rezultati. Za sve tri kategorije OPZ (broj OP prednjih zuba preko 3, broj OP bočnih zuba preko 5 i ukupan broj OPZ preko 8) postoji statistički značajna razlika, s tim što je razlika najmanje značajna kod okludirajućih parova bočnih zuba (tabela 10). Drugim rečima, ispitanici koji su imali manje od 3 OP prednjih zuba, manje od 5 OP bočnih zuba i manje od 8 ukupno OPZ su najčešće konzumirali delimično usitnjenu ili tečnu hranu. Tako na primer, samo 38.5% ispitanika koji su imali manje od

8 OPZ su konzumirali čvrstu hranu a svi ostali (61.4%) su konzumirali delimično usitnjenu i tečnu.

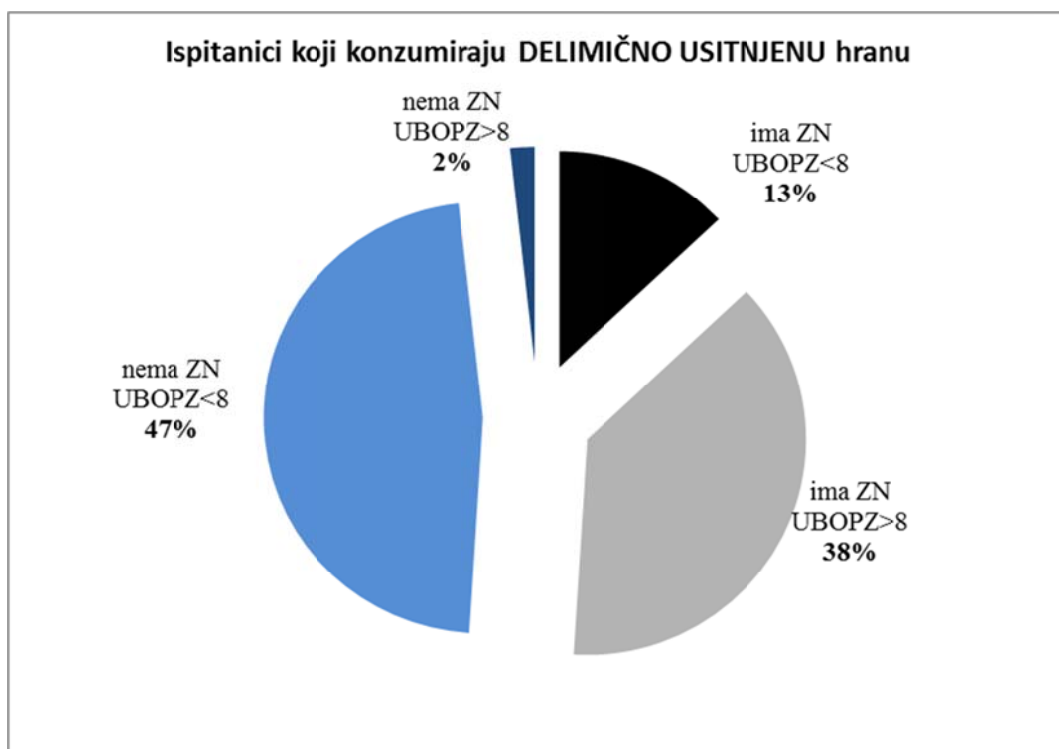
Tabela 10. Vrednosti statističke značajnosti za upoređivanje broja OPZ i konzistencije hrane.

Posmatrani parametri	Učestalost	p vrednost
UBOPZ 8 i više/konzistencija hrane	Čvrsta hrana 38.5% Delimično usitnjena 60.3% Tečna 1.1%	0.001
Broj OP prednjih zuba 3 i više/konzistencija hrane	Čvrsta hrana 38.5% Delimično usitnjena 60.3% Tečna 1.1%	0.001
Broj OP bočnih zuba 5 i više/konzistencija hrane	Čvrsta hrana 38.5% Delimično usitnjena 60.3% Tečna 1.1%	0.046

Izgleda da to da li su OPZ porekla od prirodnih zuba ili od zubnih nadoknada nije od značaja za konzistenciju hrane jer ukrštanje varijable „zubne nadoknade i ukupan broj OPZ“ i konzistencija hrane nisu dali statistički značajnu razliku ($p=0.478$). Tako na primer, među ispitanicima koji su imali zubne nadoknade i UBOPZ preko 8, gotovo je podjednaka učestalost onih koji su konzumirali čvrstu i usitnjenu hranu (48.8% onih koji su konzumirali čvrstu a 50% onih koji su konzumirali delimično usitnjenu hranu). Drugim rečima, **za konzistenciju hrane važniji je podatak da li postoji ili ne dovoljan broj OPZ a ne kog su oni porekla**. Učestalost broja okludirajućih parova zuba i prisustva zubnih nadoknada kod ispitanika koji su konzumirali čvrstu i delimično usitnjenu hranu je prikazana u grafikonima 14 i 15.

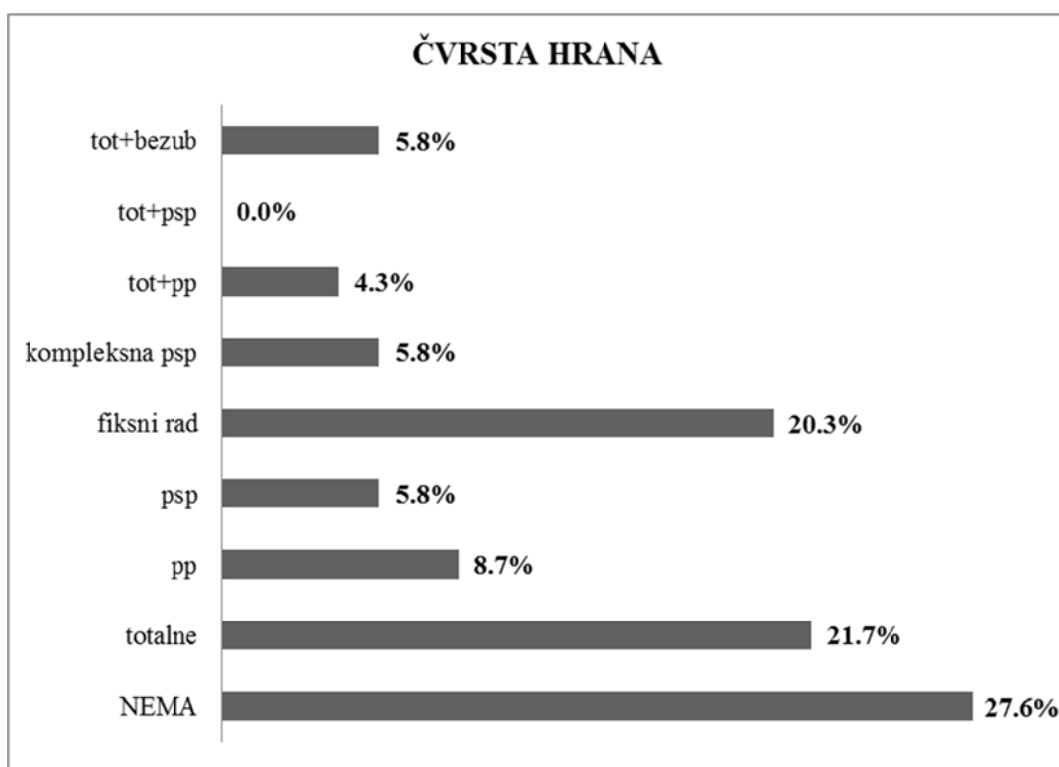


Grafikon 14. Učestalost prisustva zubnih nadoknada i ukupnog broja OPZ kod ispitanika koji konzumiraju čvrstu hranu.

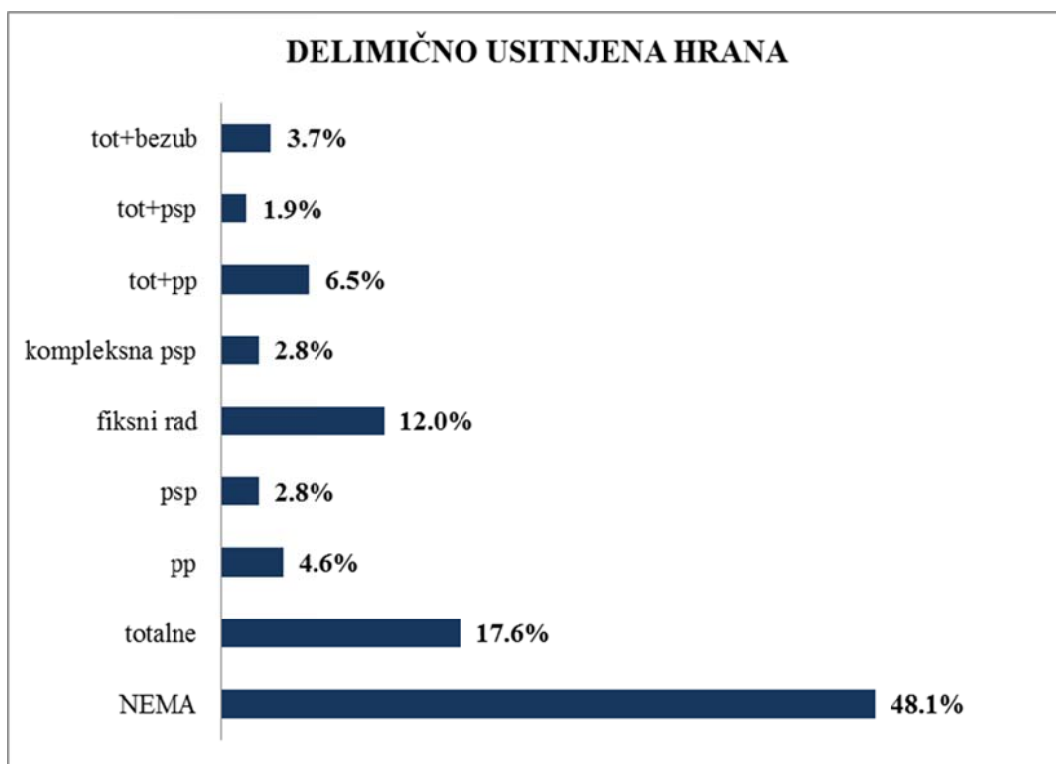


Grafikon 15. Učestalost prisustva zubnih nadoknada i ukupnog broja OPZ kod ispitanika koji konzumiraju delimično usitnjenu hranu.

Kada se uporedi prisustvo zubnih nadoknada i konzistencija hrane koju su ispitanici konzumirali, nađeno je da ne postoji statistički značajna razlika ($p=0.165$). Tačnije, kod ispitanika koji su konzumirali čvrstu hranu kada se sabere učestalost svih zubnih nadoknada dobija se da je njihova ukupna učestalost 72.4%, odnosno u mnogo većem procentu su imali neke zubne nadoknade nego što su bili bez njih. Kod ispitanika koji su konzumirali delimično usitnjenu hranu gotovo su izjednačeni ispitanici koji su imali zubne nadoknade (51.9%) u odnosu na one koji ih nisu imali (48.1%). Učestalost prisustva različitih zubnih nadoknada kod ispitanika koji su konzumirali čvrstu i delimično usitnjenu hranu su prikazani na grafikonima 16 i 17.



Grafikon 16. Učestalost zubnih nadoknada kod ispitanika koji su konzimirali čvrstu hranu.



Grafikon 17. Učestalost zubnih nadoknada kod ispitanika koji su konzumirali delimično usitnjenu hranu.

Upoređivanjem broja prirodnih zuba i konzistencije hrane, dobijeno je da ispitanici sa manjim brojem zuba jedu usitnjenu i pasiranu hranu (tabela 11). Tako na primer, od svih ispitanika sa 1-9 zuba, njih 76.9% jede mekšu, pasiranu hranu a njih 23.1% čvrstu hranu. Isto tako, od ukupnog broja ispitanika sa 20 i više zuba, njih 60.7% jede čvrstu hranu a ostatak pasiranu. Ove razlike daju i statističku značajnost od $p=0.009$.

Tabela 11. Učestalost broja zuba kod ispitanika koji su konzumirali čvrstu i delimično usitnjenu hranu.

Broj zuba	Ispitanici koji konzumiraju ČVRSTU hranu	Ispitanici koji konzumiraju DELIMIČNO USITNJENU hranu
0	30.4%	36.1%
1-9	17.4%	35.2%
10-19	27.5%	18.5%
20 i više	24.6%	10.2%

Ako se uporede kvalitativni i kvantitativni parametri ishrane dobijaju se sledeći rezultati (tabele 12, 13 i 14). Ispitanici koji su konzumirali meso do 3 puta nedeljno i uglavnom su bili pothranjeni ili u riziku za pothranjenost. To potvrđuje i statistička značajnost $p=0.000$. Slična je situacija i sa konzumiranjem voća i povrća i mlečnih proizvoda. Oni koji su konzumirali ređe ove namirnice su u većem procentu bili nedovoljno uhranjeni. Statistička značajnost za voće i povrće je $p=0.001$ a za mlečne proizvode $p=0.026$. S obzirom da se kod konzumacije mesa i ribe na osnovu intervjua sa ispitanicima najčešće radi o konzumaciji mesa a jako malo o konzumaciji ribe, može se reći da je veza najjača između konzumacije mesa i BMI.

Tabela 12. *Stepen uhranjenosti za različitu učestalost konzumacije mesa. $p=0.000$*

Učestalost konzumacije	Pothranjenost	Rizik za pothranjenost	Normalna uhranjenost	Prekome-rna uhranjenost	Gojaznost
Do 3 puta nedeljno	24.3%	45.6%	21,4%	6.8%	1.9%
4 i više puta nedeljno	1.3%	18.4%	43.4%	31.6%	5.3%

Tabela 13. *Stepen uhranjenosti za različitu učestalost konzumacije voća i povrća. $p=0.001$*

Učestalost konzumacije	Pothranjenost	Rizik za pothranjenost	Normalna uhranjenost	Prekome-rna uhranjenost	Gojaznost
Do 3 puta nedeljno	22.2%	46.7%	22.2%	8.9%	0%
4 i više puta nedeljno	11.9%	29.9%	33.6%	20.1%	4.5%

Tabela 14. *Stepen uhranjenosti za različitu učestalost konzumacije mleka i mlečnih proizvoda. p= 0.026*

Učestalost konzumacije	Pothranjenost	Rizik za pothranjenost	Normalna uhranjenost	Prekome-rna uhranjenost	Gojaznost
Do 3 puta nedeljno	21%	37.1%	29%	9.7%	3.2%
4 i više puta nedeljno	11.1%	32.5%	31.6%	21.4%	3.4%

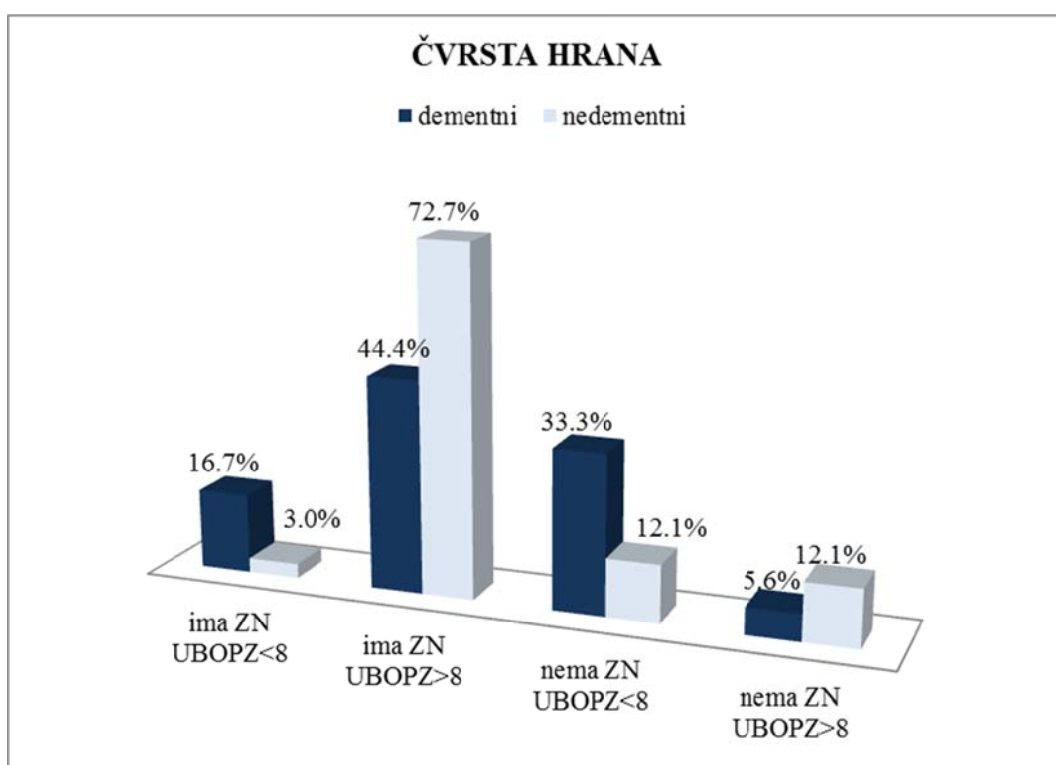
4.3.2. Dentalni status i ishrana kod ispitanika sa i bez AB

Kada se u analizi broja OPZ i konzistenciji hrane razdvoje dementni i nedementni ispitanici dobijaju se sledeće razlike. **Kod ispitanika sa AB veća je povezanost broja OPZ i konzistencije hrane.** Za broj OP prednjih zuba i konzistenciju hrane vrednost p je iznosila 0.003, za broj OP bočnih zuba i konzistenciju hrane vrednost p=0.220 a za ukupan broj OPZ p vrednost je 0.037 (tabela 15).

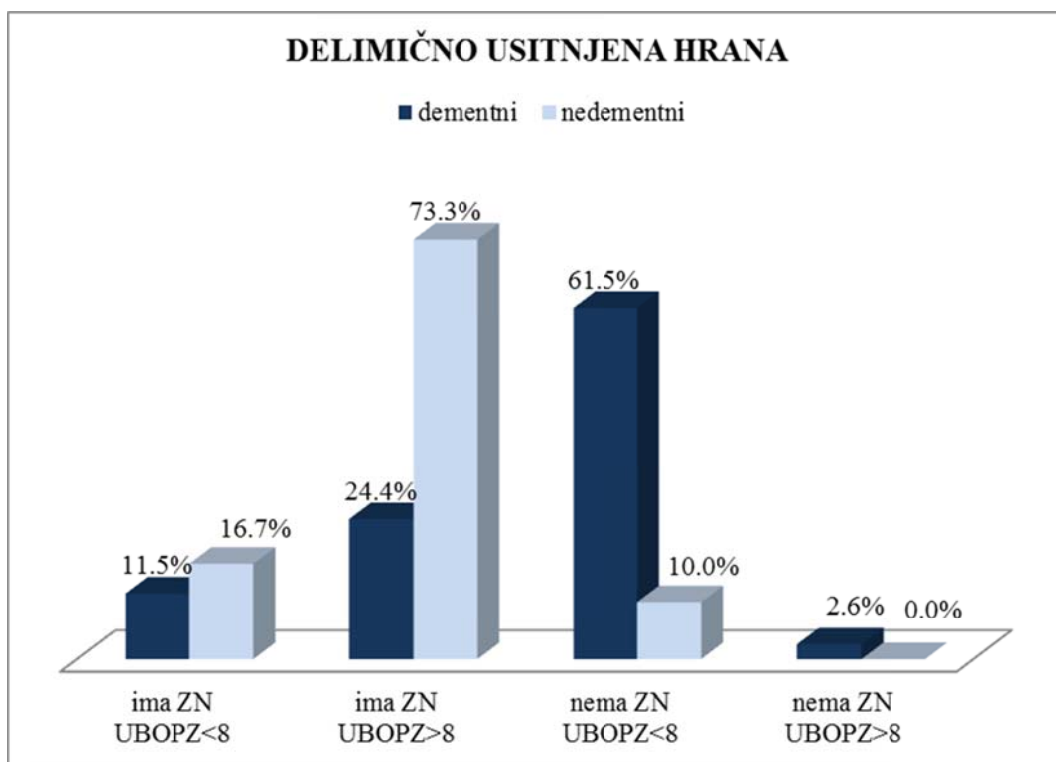
Kod upoređivanja veze između ukupnog broja OPZ i prisustva zubnih nadoknada kod ispitanika sa i bez AB, ne dobija se statistička značajnost, a kad se grupe dementnih i nedementnih razdvoje, p vrednost za dementne ispitanike kod ove statističke operacije iznosi 0.09 a za nedementne ispitanike 0.207. Kod ispitanika koji konzumiraju čvrstu hranu, i među dementnim i nedementnim ispitanicima je najviše onih koji imaju zubne nadoknade i UBOPZ je 8 i više (44% dementnih i 72.7% nedementnih). **Kod ispitanika koji konzumiraju čvrstu hranu a nemaju zubne nadoknade i imaju nedovoljno OPZ više je dementnih ispitanika** (33% prema 12.1%). Dementni ispitanici koji konzumiraju delimično usitnjenu hranu najčešće su oni koji nemaju zubne nadoknade i UBOPZ manje od 8 (61.5%). Nedementni ispitanici koji su konzumirali delimično usitnjenu hranu najčešće su pak imali zubne nadoknade i UBOPZ preko 8 (73.3%) (grafikoni 18 i 19.).

Tabela 15. Učestalost konzumacije različito prerađene hrane kod ispitanika sa i bez demencije koji imaju UBOPZ 8 i više.

	Čvrsta hrana	Delimično usitnjena hrana	Tečna hrana
Ispitanici SA AB koji imaju UBOPZ>8	31%	67.2%	1.8%
Ispitanici BEZ AB koji imaju UBOPZ>8	52.4%	47.6%	0%

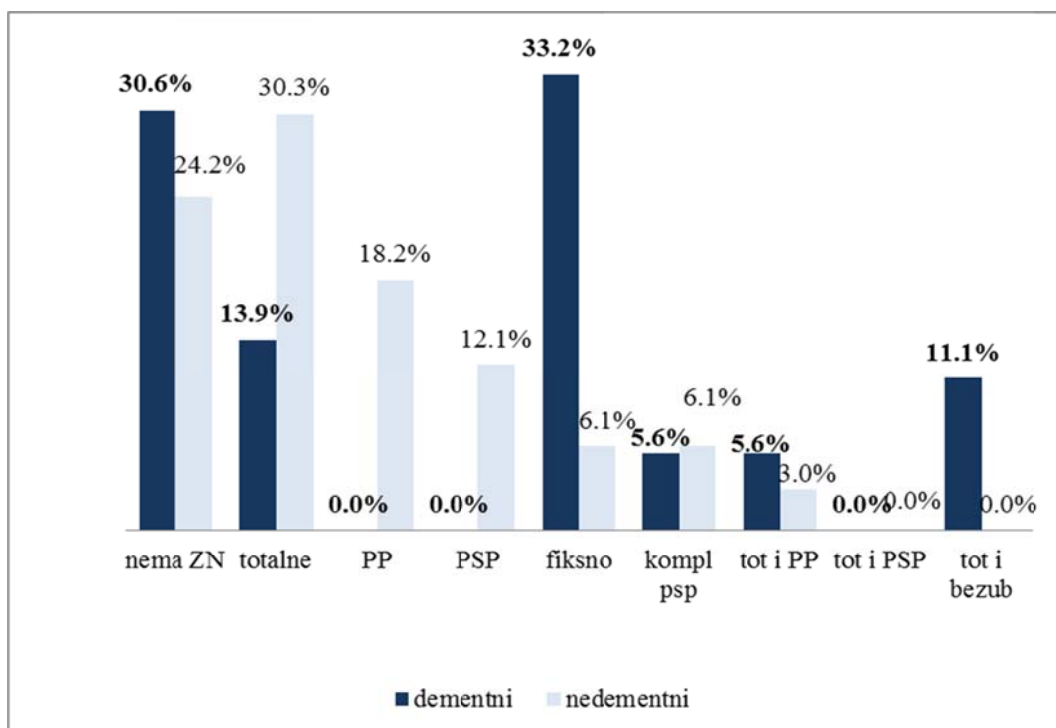


Grafikon 18. Učestalost UBOPZ i prisustva zubnih nadoknada kod ispitanika sa i bez AB koji konzumiraju čvrstu hranu.

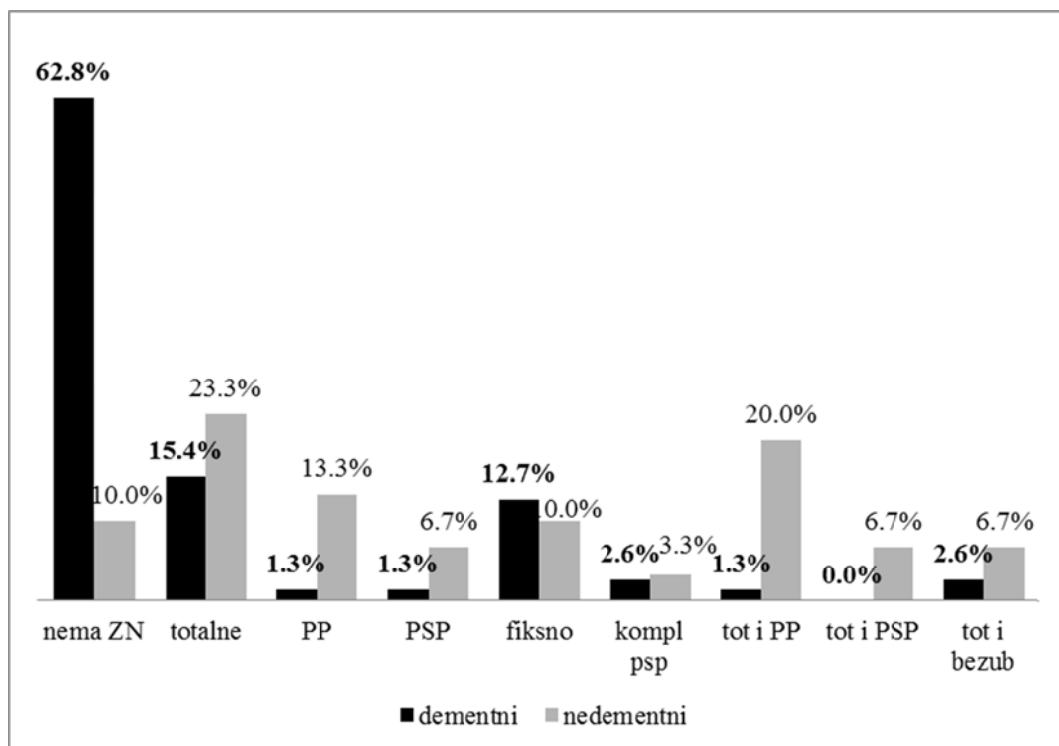


Grafikon 19. Učestalost UBOPZ i prisustva zubnih nadoknada kod ispitanika sa i bez AB koji konzumiraju delimično usitnjenu hranu.

Iako kod svih ispitanika zajedno nije pokazana veza između postojanja zubnih nadoknada i konzistencije hrane, ta veza je pokazana kod dementnih i nedementnih ispitanika posebno i to sa statističkom razlikom od $p=0.001$ za dementne i $p=0.003$ za nedementne ispitanike (grafikoni 20 i 21.). Kod dementnih ispitanika koji su konzumirali čvrstu hranu najveću zastupljenost imaju fiksne zubne nadoknade (33.2%). Ukupna zastupljenost mobilnih zubnih nadoknada u ovoj grupi ispitanika je nešto preko 20% a gotovo trećina dementnih ispitanika koji su jeli čvrstu hranu (30.6%) nisu imali zubne nadoknade. Nedementni ispitanici koji su konzumirali čvrstu hranu su imali veću zastupljenost mobilnih zubnih nadoknada a naročito totalnih proteza. Dementni ispitanici koji su konzumirali delimično usitnjenu hranu su u najvećem procentu bili bez zubnih nadoknada (62.8%), dok je preko 60% nedementnih ispitanika koji su konzumirali delimično usitnjenu hranu imalo mobilne zubne nadoknade.

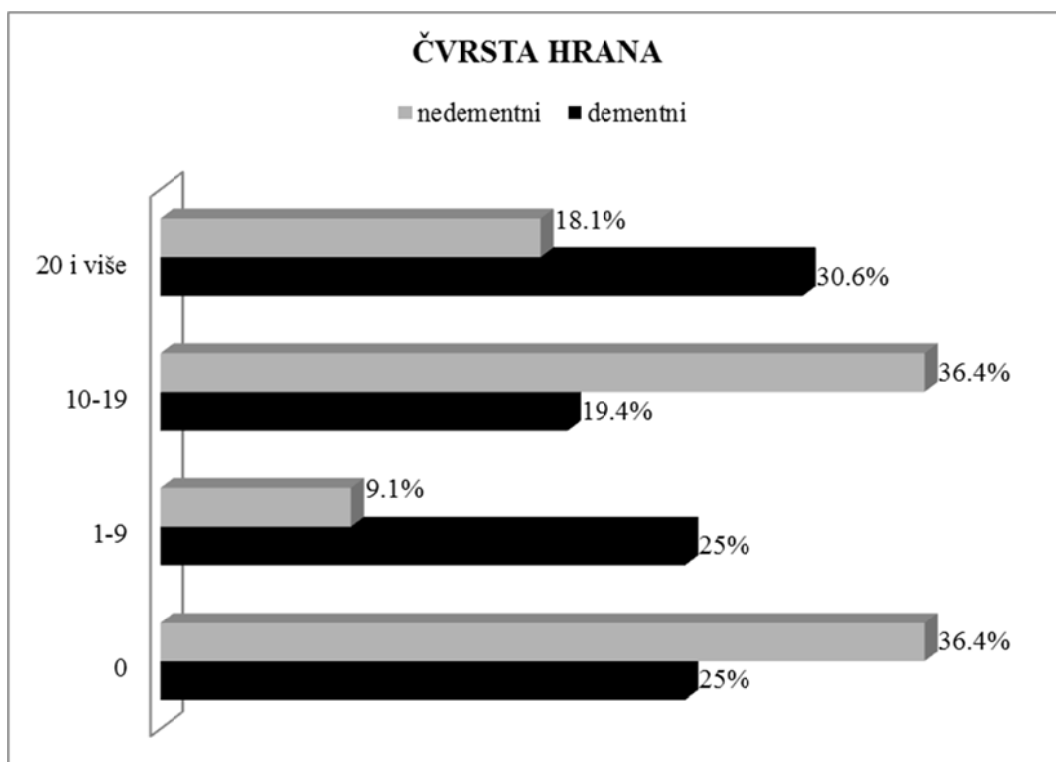


Grafikon 20. Zastupljenost zubnih nadoknada kod dementnih i nedementnih ispitanika koji su konzumirali **čvrstu** hranu.

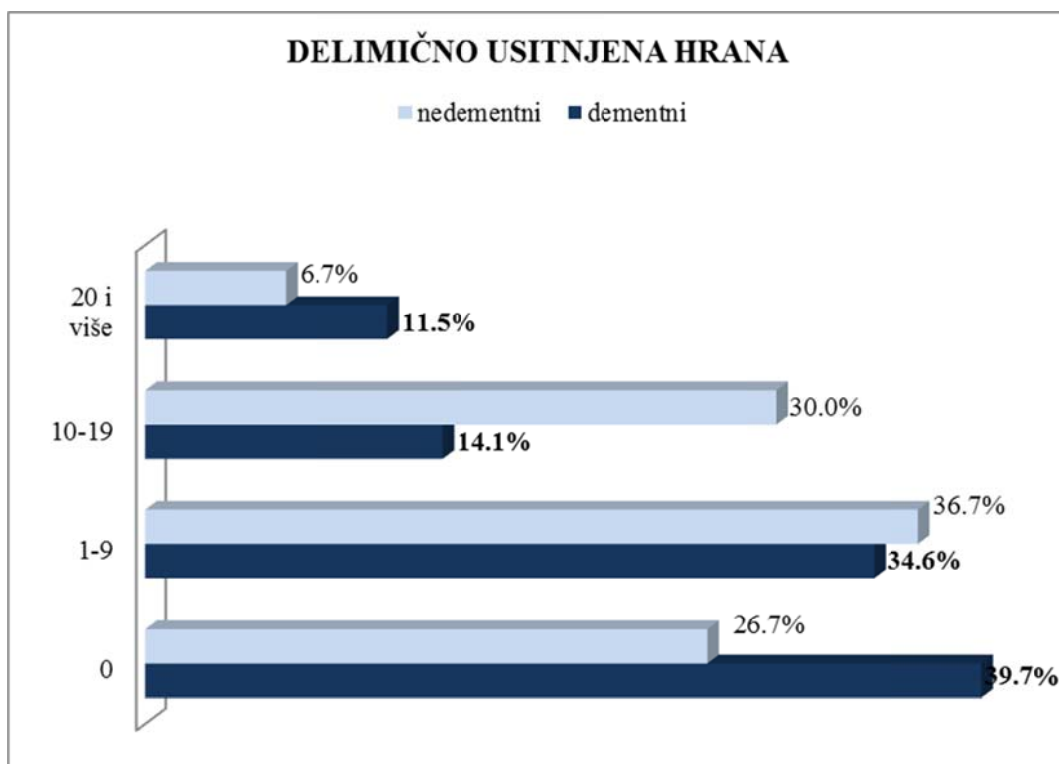


Grafikon 21. Zastupljenost zubnih nadoknada kod dementnih i nedementnih ispitanika koji su konzumirali **delimično usitnjenu** hranu.

Veza broja prirodnih zuba i konzistencije hrane je pokazana kod svih ispitanika zajedno a kada se razvoje demetnri i nedemetnri ispitanici javlja se samo kod demetnrih (grafikoni 22. i 23.). Tako je statistička značajnost za ovu vezu kod demetnrih ispitanika $p=0.010$, a kod nedemetnrih $p=0.457$. Kod ispitanika koji su konzumirali čvrstu hranu, veća je učestalost nedemetnrih ispitanika u kategorijama 10-19 zuba i ispitanika bez zuba. Kod ispitanika koji su konzumirali delimično usitnjenu hranu veća učestalost demetnrih ispitanika u kategorijama 20 i više zuba i bezubih ispitanika.



Grafikon 22. Učestalost broja zuba kod demetnrih i nedemetnrih ispitanika koji su konzumirali čvrstu hranu.



Grafikon 23. Učestalost broja zuba kod dementnih i nedementnih ispitanika koji su konzumirali delimično usitnjenu hranu.

Dobijeno je da kvalitativni unos hrane utiče na stepen uhranjenosti i gojaznosti kod svih ispitanika u svim kategorijama hrane. Kada se razdvoje ispitanici sa i bez AB, dobija se da je ova veza jača kod dementnih ispitanika, zbog manje vrednosti p a i zbog toga što za mlečne proizvode i serum albumine nije pokazana značajna povezanost sa BMI kod nedementnih ispitanika (tabele 16, 17 18 i 19).

Tabela 16. Učestalost različitih kategorija uhranjenosti (BMI) kod ispitanika koji su konzumirali meso češće ili ređe. Učestalost je prikazana odvojeno za dementne ispitanike (sive ćelije) i nedementne ispitanike (bele ćelije). Prikazane vrednosti su u procentima.

Konzumacija mesa/ BMI	Pothranjenost		Rizik za pothranjenost		Normalna uhranjenost		Prekomerna uhranjenost		Gojaznost		DEMENTNI p=0.000 NEDEMENTNI p=0.000
	Dementni	Nedementni	Dementni	Nedementni	Dementni	Nedementni	Dementni	Nedementni	Dementni	Nedementni	
Do 3 puta nedeljno	25.4	22.7	49.2	48.9	18.6	25	6.8	6.8	0	4.5	
4 i više puta nedeljno	1.8	0	24.6	0	42.1	47.4	26.3	47.4	5.2	5.3	

Tabela 17. Učestalost različitih kategorija uhranjenosti (BMI) kod ispitanika koji su konzumirali voće i povrće češće ili ređe. Učestalost je prikazana odvojeno za dementne ispitanike (sive ćelije) i nedementne ispitanike (bele ćelije). Prikazane vrednosti su u procentima.

Konzumacija voća i povrća/ BMI	Pothranjenost		Rizik za pothranjenost		Normalna uhranjenost		Prekomerna uhranjenost		Gojaznost		DEMENTNI p=0.020 NEDEMENTNI p=0.017
	Dementni	Nedementni	Dementni	Nedementni	Dementni	Nedementni	Dementni	Nedementni	Dementni	Nedementni	
Do 3 puta nedeljno	21.7	22.7	52.2	40.9	17.4	27.3	8.7	9.1	0	0	
4 i više puta nedeljno	11.8	12.2	33.3	22	33.3	34.1	18.3	24.4	3.2	7.3	

Tabela 18. Učestalost različitih kategorija uhranjenosti (BMI) kod ispitanika koji su konzumirali mleko i mlečne proizvode češće ili ređe. Učestalost je prikazana odvojeno za dementne ispitanike (sive ćelije) i nedementne ispitanike (bele ćelije). Prikazane vrednosti su u procentima.

Konzumacija mlečnih proizvoda/ BMI	Pothranjenost		Rizik za pothranjenost		Normalna uhranjenost		Prekomerna uhranjenost		Gojaznost		DEMENTNI p=0.000 NEDEMENTNI p=0.375
	Dementni	Nedementni	Dementni	Nedementni	Dementni	Nedementni	Dementni	Nedementni	Dementni	Nedementni	
Do 3 puta nedeljno	24.4	14.3	46.3	19	24.4	38.1	2.4	23.8	2.4	4.8	
4 i više puta nedeljno	8	16.7	32	33.3	33.3	28.6	24	16.7	2.7	4.8	

Tabela 19. Učestalost različitih kategorija uhranjenosti (BMI) kod ispitanika koji su imali vrednost serum albumina unutar referentnih vrednosti i snižen. Učestalost je prikazana odvojeno za dementne ispitanike (sive ćelije) i nedementne ispitanike (bele ćelije). Prikazane vrednosti su u procentima.

Serum albumini / BMI	Pothranjenost		Rizik za pothranjenost		Normalna uhranjenost		Prekomerna uhranjenost		Gojaznost		DEMENTNI p=0.000 NEDEMENTNI p=0.094
	Dementni	Nedementni	Dementni	Nedementni	Dementni	Nedementni	Dementni	Nedementni	Dementni	Nedementni	
Unutar referentnih vrednosti	7.8	16.7	22.1	22.2	41.6	33.3	24.7	22.2	3.9	5.6	
Snižen	25.6	11.1	66.7	66.7	7.7	22.2	0	0	0	0	

4.4. Multivarijantna regresiona analiza

Kao što je objašnjeno u poglavlju Metode, faktori koji su se univarijantnom analizom pokazali kao značajni ulaze u multivarijantni regresioni model, gde se ispituje nezavisnost uticaja svakog faktora koji se pokazao kao značajan, u prethodnom modelu. Univarijantnom regresionom analizom kao statistički značajni izdvojili su se:

- bračni status;
- ustanova u kojoj ispitanik boravi;
- prisustvo hroničnih oboljenja;
- konzumiranje mesa i ribe;
- konzumiranje voća i povrća;
- konzistencija hrane koja se konzumira;
- vrednost serum albumina;
- prisustvo E3/E3 genotipa;
- prisustvo E4 alela;
- broj okludirajućih parova prednjih zuba preko 3;
- broj okludirajućih parova bočnih zuba preko 5;
- ukupan broj OPZ preko 8 i
- zubne nadoknade i broj OPZ i
- prisustvo apoE4 i UBOPZ ispod 8.

Svi ovi faktori su ušli u multivarijantni regresioni model. Multivarijantnom logističkom regresijom kao prediktori razlike između ispitanika sa i bez AB izdvojili su se: bračni status, konzumiranje voća i povrća, konzumiranje mesa i ribe i konzistencija hrane koja se konzumira (tabela 17). To konkretno znači da su oni koji su u braku pod manjim rizikom za nastanak AB, kao i oni koji konzumiraju meso, voće i povrće manje od 4 puta nedeljeno, a takođe i oni koji jedu čvrstu hranu. S obzirom da je u pitanju multivarijantna logistička regresija, ovi faktori se mogu posmatrati kao samostalni, tj. nezavisni od ostalih.

Tabela 20. Multivarijantna logistička regresiona analiza.

Parametri	Exp (B)	CI	P
Bračni status-oženjen	0.322	0.127-0.817	0.017
Ustanova	0.693	0.274-1.751	0.438
Hronična oboljenja	1.473	0.743-2.919	0.267
Voće/povrće	0.225	0.072-0.708	0.011
Meso/riba	0.222	0.078-0.628	0.005
Konzistencija hrane	0.269	0.110-0.661	0.004
Serum albumini	0.356	0.102-1.251	0.107
E3/E3 genotip	3.814	0.165-88.070	0.403
Prisustvo E4 alela	10.214	0.436-239.094	0.149
BOPPZ preko 3	1.551	0.363-6.632	0.554
BOPBZ preko 5	2.845	0.688-11.758	0.149
UBOPZ preko 8	2.356	0.414-13.427	0.334
Zubne nadoknade i BOPZ	0.681	0.371-1.249	0.214

Exp(B)- relativni količnik verovatnoće; CI- interval poverenja; p-verovatnoća grupe

5. DISKUSIJA

Povezanost opšteg i oralnog zdravlja je mnogo puta dokazana a i logična s obzirom da je usna duplja neodvojiv deo kraniofacijalnog sistema koji je krucijalan u etiologiji patogenezi mnogih oboljenja i stanja. Poznato je da je kod starih ljudi povezanost patoloških stanja neizbežna pa tako lekar specijalista gerijatrije mora da prepozna osnovne simptome oralnih oboljenja i stanja a i stomatolog koji leči pacijente starije dobi treba da prepozna alarmantne simptome oboljenja orofacijalne regije, malnutriciju, kognitivne poremećaje itd. Međutim, patološka stanja i oboljenja u usnoj duplji kao faktori rizika za opšta oboljenja se još uvek istražuju. Alchajmerova bolest ima sve veći socioekonomski ali i psihološki uticaj na pojedinca, porodicu i zdravstveni sistem. Zbog toga su velika ulaganja u istraživanja koja bi mogla da bar delimično utiču na prevenciju ovog oboljenja. Istraživanja u tom smislu vrše se u sferi nutricije, genetskih ispitivanja, preventivne medikamentozne terapije i načina života. Takođe ne zaostaju ni istraživanja o vezi oralnog zdravlja i kognitivnih funkcija, što će detaljnije biti opisano u ovom poglavlju. Istraživanja se najčešće vrše u smislu povezanosti broja zuba i kognitivnih funkcija kao i parodontopatije, periodontopatogena i demencije. Ono što se do sada nije ispitivalo je upravo udružena povezanost odnosno uticaj oralnog statusa i genetskog faktora na pojavu AB.

Rezultati koji se tiču ispitanika obe grupe pokazuju da je obrazovni nivo nizak, i da je najveći broj ispitanika ima 4 ili 8 razreda osnovne škole (ukupno 43%). Niži nivo obrazovanja je bio očekivan, mada možda ne u ovolikom procentu. Ne treba, ipak, zaboraviti da se radi o starijim generacijama, rođenim 20-tih, 30-tih godina kada nije postojao trend obrazovanja, naročito ne kod ženskog pola koji je u ovoj studiji učestaliji. U citiranoj literaturi, obrazovanje je uglavnom bilo slično u međusobnom poređenju a više nego u našoj studiji, kao kod Stewart et al. (2008) u populaciji SAD, gde je prosečna vrednost godina školovanja ispitanika 12.8, u populaciji Norveške 11.4 godina (Berdghal et al., 2007) a u populaciji Japana 12 godina (Takata et al., 2009).

Analiza DNK polimorfizama je pokazala da je najveći broj ispitanika imao genotip E3/E3 ali da je i velika učestalost ispitanika koji su nosioci E4 alela (43%). Većina

literaturnih podataka se slaže da je najčešći genotip E3/E3 ali učestalost E4 alela varira od populacije do populacije. U populaciji žena u SAD (Little et al., 2009) je najčešći bio E3/E3 genotip sa preko 60% učestalosti, dok je E4 bio prisutan kod 23.7% ispitanica, ali je takođe bilo i 1.5% onih sa E4/E4 genotipom koji nisu nađeni u našem istraživanju. U velikoj studiji takođe u SAD kod ženskog pola (opaticice- NUN study, Stein et al., 2007), samo 20% njih su bile nosioci E4 alela. Takođe u populaciji starih ljudi u Norveškoj, E4 alel je bio prisutan kod 15.8% ispitanika. Skorija studija na našoj populaciji je pokazala učestalost E3/E4 genotipa od 25%. Veća učestalost apoE4 alela u našem istraživanju se može objasniti izborom ispitanika. Naime, u ovoj studiji su konsekutivno birani ispitanici sa demencijom (kojih je bilo više nego onih bez demencije) a u navedenim studijama su birani ispitanici starije dobi bez obzira na postojanje demencije.

Najveći broj ispitanika u obe grupe su bili bezubi ili krezubi sa malim brojem prirodnih zuba, 62.6% njih. S obzirom da i veći broj zuba ne garantuje dobru funkcionalnost, jer zubi mogu da budu nepovoljno raspoređeni, potrebno je uporediti ove podatke sa brojem okludirajućih parova zuba. Ti podaci su pokazali takođe loše stanje, ali nešto bolje kod prednjih zuba u odnosu na bočne zube. Međutim, imajući u vidu da prednji zubi nisu predodređeni za finu obradu bolusa, kao i da su zbog manje površine paradoncijuma i njihovog nagiba skloni preopterećenju, može se reći da dovoljan broj OP prednjih zuba ne doprinosi očuvanju i funkcionalnosti stomatognatnog sistema. Takođe, pokazalo se da dovoljan broj OP prednjih zuba nije poticao od zubnih nadoknada nego od prirodnih zuba, a dovoljan broj OP bočnih zuba najčešće od mobilnih zubnih nadoknada. U skladu sa tim, rezultati pokazuju i da najveći broj ispitanika nema nikakve zubne nadoknade, a oni koji ih imaju, najčešće imaju totalne proteze. Literaturni podaci pokazuju svakako bolje stanje po pitanju broja zuba kod starih ljudi u odnosu na ovo istraživanje. Krezubi pacijenti su zastupljeni među starijom populacijom svuda u svetu, ali učestalost bezubih je mnogo veća na našem podneblju. U Japanu (Shimazaki et al., 2001) na velikoj populaciji nađeno je da je učestalost bezubih starih ljudi 36%, ali je taj broj značajno veći u staračkim domovima gde ta učestalost ide do 55.2%. Time se može „opravdati“ i velika učestalost bezubih u ovom istraživanju jer su 53% ispitanika bili rezidenti staračkog doma. U populaciji Francuske, gotovo da

nema bezubih ispitanika bez proteza (Arrive et al., 2012). Međutim, broj krezubih ispitanika je dosta veliki, a samo 24% ispitanika je imalo nadoknađene zube u obe vilice. Takođe, čak 45% ispitanika nije imalo dovoljan broj OP bočnih zuba. Veća zastupljenost totalnih proteza u poređenju sa ostalim zubnim nadoknadama može se objasniti socijalnom podrškom u smislu da zdravstveno osiguranje uglavnom pokriva izradu ove zubne nadoknade. Međutim, to ne objašnjava činjenicu da je veliki broj ispitanika sa 10 i manje zuba a samo 10% ispitanika je imalo parcijalne proteze (pločaste i skeletirane). Znači da se stari ljudi češće odlučuju za ekstrakciju zuba nego za lečenje i tako lako dospevaju u stanje bezubosti a za nadoknadu zuba se odlučuju tek u tom stanju, odnosno kada su im potrebne totalne proteze.

Pri kvantitativnom ispitivanju nutritivnog statusa nađeno je da je gotovo polovina ispitanika prema standardima SZO neuhranjena ili je u riziku za pothranjenost. Kod 26.8% ispitanika je i snižena vrednost serum albumina pokazala pothranjenost. Ako se pogledaju rezultati kvalitativnog ispitivanja dijetetskog režima, vidi se da jedino konzumiranje mesa i ribe kod većine ispitanika ređe (do 3 puta nedeljno), što bi moglo objasniti lošiji nutritivni status. Međutim, poznato je da i vegetarijanski način ishrane ne vodi ka pothranjenosti nužno, već je verovatnije da je u pitanju nedovoljan kalorijski unos usled poteškoća u žvakanju i gutanju.

Kada se posmatraju rezultati upoređivanja dementnih i dementnih ispitanika, sledeći podaci su dominantni. Bračni status „oženjen/udata“ statistički je značajno češći kod ispitanika bez demencije, što je potvrđeno u univarijantnoj analizi regresije. To bi se moglo objasniti većom usamljenošću kao posledicom gubitka partnera što naročito teško pada starim osobama. To dalje može da vodi u socijalne poteškoće i izolaciju, a sve to može biti okidač za razvoj različitih bolesti uključujući i demenciju. U istraživanju Takata i saradnika (2009), nalazi se da je dentalni status po nekim parametrima bolji kod starih ljudi sa partnerom (broj zdravih zuba i broj zuba uopšte), ali je nađeno da bračni status nije uticao na kognitivnu funkciju. A ima i istraživanja koji se slažu sa našim rezultatima i izvode zaključak da stari ljudi koji nisu u braku imaju veće šanse da obole od AB u poređenju sa onima koji su u bračnoj zajednici (Sundström et al., 2013).

Rezultati su pokazali da se obrazovni nivo nije statistički značajno razlikovao kod grupa dementnih i nedementnih ispitanika. Isto su našli Kim i saradnici (2007), Takata i saradnici (2009). Međutim u većini istraživanja na populaciji SAD je nađeno da je nivo obrazovanja tzv. “zaštitni faktor” u razvoju kognitivnih poremećaja, kao što to npr pokazuje studija Then i saradnika (2015) koji su našli da je veći rizik za razvoj demencije kod niže obrazovanih, a najviše kod onih sa manje od 9 godina školovanja. Međutim, ima i suprotnih mišljenja. Tako su van Oijen i saradnici (2007) našli da je rizik od AB čak veći kod onih sa većim obrazovanjem a sa subjektivnim tegobama vezanim za memoriju. Takođe, u dva istraživanja je nađeno da je prisustvo apoE4 alela modifikujući faktor u asocijaciji između obrazovanja i demencije. Vermeiren et al. (2013) su našli da je apoE4 bio jači predisponirajući faktor kod obrazovanih nego kod onih sa nižim obrazovanjem, a Overgaard et al. (2015) su našli pozitivnu vezu višeg nivoa obrazovanja i odsustva demencije ali samo kod onih koji nisu nosioci apoE4 alela.

Statistički značajno veća učestalost alela apoE4 kod dementnih ispitanika je bila očekivana. To je pokazano u mnogim istraživanjima, kao što su Stein et al. (2007), Little et al. (2009), Corder et al. (1993), Mayeux et al. (1998). Takođe, apoE4 je pokazan kao faktor rizika i za druga oboljenja kao što su kardiovaskularna, ali mehanizam delovanja još nije u potpunosti utvrđen. Homozigoti imaju još veće šanse da im se javi AB nego heterozigoti za apoE4 i to u ranijem dobu, a nosioci barem jednog apoE4 alela imaju veću učestalost izraženijih simptoma od nenosilaca (Little et al., 2009; van der Flier et al., 2015). Takođe, neka istraživanja (Lindebergh et al., 2015) pokazuju da nosioci apoE4 ispoljavaju teškoće u svakodnevnom funkcionisanju čak i kada nemaju demenciju. Packard et al. (2007) su takođe pokazali da kod nedementnih nosilaca apoE4 alela postoje lošije kognitivne sposobnosti i izraženije pogoršanje u periodu od 3 godine, naročito u smislu memorije. To govori da apoE definitivno ima ulogu u kognitivnim procesima na više nivoa. U prilog tome idu i rezultati istraživanja Wang et al. (2015) koja govore o strukturnim promenama na moždanom tkivu kod nedementnih homozigota za apoE4 koje podrazumevaju regionalno kortikalno istanjivanje i povećanje amiloida. Zbog ovih promena, autori zaključuju da će se kod ovih ispitanika najverovatnije javiti demencija, samo je u trenutku sprovođenja istraživanja nisu imali.

Conejero-Goldberg i saradnici (2015) su takođe ispitivali moždano tkivo obolelih od AB kod nosilaca apoE4, i pronašli su različite molekularne alteracije koje su posledica nespecifičnih neugodegenerativnih promena. Xiao et al. (2015) su kod nosilaca apoE4 alela pronašli manji volumen hipokampusu, smanjenu amplitudu nisko-frekventnih fluktuacija u levom hipokampusu i smanjenu funkcionalnu povezanost hipokampusu sa medijalnim frontalnim, parijetalnim i lateralnim temporalnim kortikalnim regionima. U revijalnom radu Belinson i Michaelson, (2009) opisuju najčešće rezultate do kojih se došlo u istraživanjima o strukturalnim i funkcionalnim promenama u mozgu, tačnije o patološkim fenotipovima vezanim za apoE4. To su poremećena neuronalna plasičnost, aktivacija amiloidne kaskade i stimulacija inflamacije moždanog tkiva. Aktivacija amiloidne kaskade rezultira akumulacijom beta-amiloida i apoE u hipokampalnim, septalnim i entorinalnim neuronima koji onda degenerišu. Sve je ovo uočeno kod apoE4 transgenih miševa a nije uočeno kod apoE3 miševa.

Razlike u dentalnom statusu između dementnih i nedementnih ispitanika su jasne ali i različite u odnosu na podatke dobijene u drugim regionima. Opšti dentalni status nije pokazao statističku razliku jer je veliki a približno podjednak broj bezubih i krezubih u obe grupe ispitanika. Ni broj zuba nije pokazao značajnu razliku, iako je postojala razlika u smislu veće učestalosti malog broja zuba kod dementnih ispitanika. Takođe, prisustvo zubnih nadoknada kao takvo takođe nije pokazalo značajnu razliku u učestalosti. Najveća razlika između ove dve grupe ispitanika je u broju okludirajućih parova zuba, pa se tako statistički značajna razlika u smislu manjeg broja OPZ kod dementnih uočava i kod prednjih, bočnih i ukupnih OPZ. Ako se detaljnije pogleda, kod sve tri varijable (OPPZ, OPBZ i UBOPZ) je jasno da dementni češće nemaju dovoljan broj OPZ i to bez zubnih nadoknada, a da nedementni imaju dovoljan broj OPZ ali sa zubnim nadoknadama, najčešće mobilnim, odnosno da kod nedementnih ispitanika dovoljan broj OPZ potiče od zubnih nadoknada a ne od prirodnih zuba. Ovaj podatak je veoma značajan, jer ako se na osnovu rezultata zaključi da je mali broj OPZ jedan od faktora rizika za pojavu demencije, činjenica da nedementni dovoljan broj OPZ uspostavljaju pomoću zubnih nadoknada, govori u prilog mogućeg predupređivanja ovog faktora rizika blagovremenom nadoknadom zuba. Čak zbog podatka da su češće u pitanju mobilne zubne nadoknade, može se zaključiti da u smislu prevencije AB nije

neophodno da zubne nadoknade budu vrhunskih funkcionalnih karakteristika sa većom mastikacionom silom kao što su fiksne zubne nadoknade. Weyant i saradnici (2004) su pokazali da nije bilo statistički značajne razlike u kongitivnoj funkciji između nosioca totalnih, parcijalnih proteza i fiksnih zubnih nadoknada kod nedementnih ispitanika.

Najveći broj inostranih studija koristi samo broj prirodnih zuba kao pokazatelj stanja oralnog zdravlja, ali znajući da zbog potencijalno lošeg raspored prisutnih zuba, samo broj zuba ne može odražavati funkcionalnost orofacijalnog sistema. Kod većine studija koji su koristili broj zuba kao parametar dentalnog statusa, dobijeni rezultati govore u prilog da dementni ispitanici imaju manji broj zuba što se ne poklapa sa rezultatima ove studije. Ipak, kako se videlo u drugom delu rezultata, kod dementnih je jača veza između broja zuba i konzistencije hrane koja se konzumira, a opet konzistencija hrane se pokazao kao jak faktor rizika za nastanak AB, pa se tako broj zuba i u ovom istraživanju može svrstati kao indirektni faktor rizika. Kondo et al. (1994) kao i Arrive et al.(2012) su zaključili da je gubitak broja zuba jedan od značajnih faktora rizika za razvoja AB, naročito broj zuba ispod 11. U Nun studiji, međutim, dobijeno je da je veći broj zuba protektivni faktor za pojavu AB ali samo kod nenosioca apoE4. Autori zaključuju da je E4 toliko jak prediktor AB da modulira uticaj dentalnog statusa na razvoj demencije. Kim i saradnici (2007) su zaključili da mali broj zuba povećava rizik od nastanka demencije ali da je taj rizik naročito jak kod ispitanika koji nemaju zubne nadoknade, što se donekle može povezati sa našim rezultatima, kao i podatak od Nordenram et al. (1996) da su demenetni i nedementni ispitanici bili u sličnom procentu bezubi ali da su dementni mnogo ređe koristili proteze. Kao dodatak, u nekim istraživanjima na nedementnim ispitanicima (Takata et al., 2009; Bergdahl et al., 2007), zaključeno je da ispitanici sa većim brojem zuba pokazuju bolje rezultate u kognitivnim ispitivanjima.

Neki autori su uključili i druge parametre oralnog zdravlja osim broja zuba, pa su tako Stewart i saradnici (2008) našli čak jaču povezanost između gubitka parodontalnog pripoja, gingivalnog krvarenja i kognitivnih funkcija nego između broja zuba i kognitivnih funkcija. Shimazaki et al. (2001) su na većem uzorku dobili da je mali broj zuba bez zubnih nadoknada faktor rizika za pogoršanje opšteg zdravlja, a kao deo toga i

za mentalne poremećaje u smislu demencije. Takođe, postoje dokazi o povezanosti lošeg stanja oralnog zdravlja i drugih opštih oboljenja. Syrjala i saradnici (2010) su našli da su ispitanici sa malim brojem zuba pod većim rizikom da obole od kardiovaskularnih oboljenja, jer su kod njih znatno učestaliji faktori rizika za KVS oboljenja kao što su nizak nivo HDL holesterola, visok nivo triglicerida i visok BMI.

Povezanost lošeg dentalnog statusa (mali broj zuba, mali broj OPZ) i demencije se može tumačiti na više načina. To su:

- Postojanje parodontalnih oboljenja;
- Preko ishrane;
- Uticaj dentalnog statusa u sklopu ostalih kofaktora (loš socioekonomski status, psihički problemi, genotip itd.) i
- Preko veze oralnog i opšte zdravlja.

Iako mnoge studije koje pokazuju povezanost dentalnog statusa i demencije ne daju sigurno objašnjenje o razlozima povezanosti AB i parodontopatije, sve je više onih koji ovu vezu pripisuju inflamaciji koja potiče od parodontopatije, koja, pored karijesa predstavlja najčešći razlog gubitka zuba. Suština objašnjenja patogeneze AB (opisana u poglavlju Uvod) je takođe inflamacija, odnosno progresivni proces inflamacije moždanog tkiva koji kulminira neurodegeneracijom (Kamer et al., 2001). Do sada nije pronađen odgovarajući lokalni inflamatorni faktor koji bi mogao da inicira inflamaciju u mozgu. Moguće je da inflamacija može biti indukovana patološkim promenama tipičnim za AB kao što su senilni plakovi, tau protein i neurofibrilarne pločice, ili komponente od degenerisanih neurona (Akiyama et al., 2000). Ove patološke promene stimulišu glija ćelije da produkuju proinflamatorne citokine kao što su tumor nekrosis faktor (TNF), interleukin (IL1, IL6) i inflamatorni reaktivni proteini kao što je C-reaktivni protein. Povišeni proinflamatorni citokini i CRP mogu dalje da deluju parakrino ili autokrino tako što stimulišu glija ćelije da dalje proizvode dodatne proinflamatorne molekule. Tako nastaje pozitivna povratna sprega u kojoj inflamatorni medijatori igraju dvostruku ulogu tako što stimulišu glija ćelije i aktiviraju molekularne puteve, što sve vodi ka neurodegeneraciji (Kamer et al., 2001; Stein et al., 2006; Kronfol et al., 2000). I neke kliničke studije su pokazale ulogu inflamacije u patogenezi AB, pre svega CRP.

Pokazalo se da povećani CRP povećava rizik od razvoja AB ali i drugih kognitivnih poremećaja (Engelhart et al., 2004; Yaffe et al., 2004). Sa druge strane, nekoliko bakterijskih patogena je dokazano da deluju direktno kao okidači ili kao kofaktori u etiologiji i razvoju AB. Neke studije su pokazale prisustvo *Chlamydia pneumoniae* i spiroheta *Borrelia burgdorferi* u moždanom tkivu pacijenata sa AB (Balin et al., 1998; Miklossy et al., 2006; Ellen et al., 2005). Spirohete su takođe prisutne i u usnoj duplji, kao što je *Treponema denticola*. Ovi podaci ukazuju da bakterije, uključujući i periodontopatogene bakterije mogu da napadnu mozak. Tačan mehanizam bakterijske invazije nije poznat, ali se pretpostavlja da mogu doći sistemskom cirkulacijom ili putem perifernih nerava. *T. denticola* je pronađena u trigeminalnim ganglijama, pa se pretpostavlja da periodontopatogene bakterije mogu da koriste oba načina prodiranja u mozak.

U parodontopatiji, inflamatorni proces kreće od gingive ali prodire u dublja parodontalna tkiva i stvarajući parodontalne džepove kao rezultat gubitka parodontalnog ligamenta i gubitka alveolarne kosti. Ukupna površina inflamiranih parodontalnih džepova kod srednje i teške parodontopatije se procenjuje na 8-20 cm², pa tako parodontopatija može biti značajan izvor inflamatornih medijatora i medijatora nastalih iz patogena. Osim spomenute *T.denticole*, u parodontopatiji, značajnu ulogu imaju *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythensis*, *Porphyromonas gingivalis*, i sve imaju sposobnost tkivne invazije. Imuni odgovor domaćina na ove patogene rezultira alteracijom lokalne vaskularizacije, generisanju inflamatornog odgovora i sekrecijom proinflamatornih citokina kao što su IL-1, IL-6 i TNF. Pokazano je takođe da kod većine obolelih od parodontopatije postoji povišen nivo CRP (Craig et al., 2003) Poznato je da periodontopatogeni uzrokuju oboljenja i drugih organa pored mozga, kao što su pneumonija i endocarditis (Scannapieco et al., 2003; Zijlstra et al., 1992; Pucar et al., 2007). Bakterijski endotoksini takođe mogu ući u sistemsku cirkulaciju i izazvati različite patološke procese na udaljenim mestima. U cirkulaciju ulaze i citokini kao odgovor organizma na infekciju. Zajedno, ovi mehanizmi izazivaju mnoge sistemske poremećaje sa inflamatornom osnovom, pa mnogi naučnici smatraju umerenu i izraženu parodontopatiju kao faktor rizika za pojavu i razvoj AB.

Kao dodatak, neki autori smatraju da infekcije počev od detinjstva mogu imati uticaj na mozak u smislu kumulativnog delovanja. Kao objašnjenje navode da mozak svoju finalnu maturaciju doživljava u detinjstvu pa čak i u ranoj adolescenciji, pa tako oralna oboljenja u ranom uzrastu takođe mogu da doprinesu oštećenju mozga. Imajući u vidu postojanje juvenilne parodontopatije, ovo objašnjenje ima naučnu potporu.

Povezanost lošeg oralnog statusa i demencije preko ishrane podrazumeva uticaj dentalnog statusa na ishranu a zatim uticaj tipa ishrane na pojavu i razvoj AB. Povezanost dentalnog statusa i ishrane potvrđena je mnogobrojnim studijama. Pre svega se misli na konzistenciju hrane kao i tip hrane a manje na kalorijski unos (Ueno et al., 2008, Sheiham et al., 2001). U prilog ovom objašnjenju može biti i rezultat ovog istraživanja da dementni ispitanici imaju značajno češće snižen serum albumin. A kako ovi ispitanici takođe imaju značajno manji broj OPZ, može se indirektno zaključiti da loš dentalni status utiče na kvalitativni aspekt ishrane a da on dalje potencijalno deluje na kognitivni proces i demenciju.

Veza dentalnog statusa i demencije se može posmatrati i u okviru "šire slike", odnosno da je toj vezi doprinose drugi faktori kao što su stres, nizak socioekonomski status, depresija. Ovi faktori se naročito spominju jer loš dentalni status može upravo da odražava njihovo postojanje.

Neki autori smatraju da broj zuba i postojanje zubnih nadoknada ne treba uzimati kao faktor sam po sebi, nego da je prosto deo dobrog ili lošeg opšteg zdravlja. Tačnije, da u mnogim istraživanjima ispitanici sa većim brojem zuba su imali i manji broj hroničnih oboljenja pa i bolje opšte zdravlje.

Postavlja se pitanje da li se na osnovu rezultata ove studije može dati prednost jednoj od navedenih teorija veze zuba i demencije. Odgovor je da se ne može sa sigurnošću reći. Priroda povezanosti bi svakako mogla biti preko parodontopatije jer se zna da je velika učestalost ovog oboljenja u našoj populaciji, mada nije uzimana anamneza o razlogu gubitka zuba. Takođe, veza bi mogla biti i preko ishrane naročito zbog potvrde o

povezanosti dentalnog statusa i konzistencije hrane a sa druge strane potvrde o jakom uticaju konzumiranja pasirane i meke hrane na pojavu AB.

Na osnovu rezultata studije Berdhal i saradnika (2008), nudi se i drugačije tumačenje povezanosti apoE4, demencije i dentalnog statusa. Naime, oni su pronašli da je znatno veća učestalost apoE4 alela kod bezubih ispitanika nego kod krezubih i onih sa punim zubnim nizom, a sve su u pitanju nedementni ispitanici. Na taj način, može se razmišljati da je veza oralnog zdravlja i demencije upravo ide preko apoE4, odnosno da osobe nosioci ovog alela imaju veze predispozicije da postanu bezubi a u odvojenom ili delimično zajedničkom mehanizmu apoE4 utiče i na razvoj demencije.

Dobijeni rezultati pokazuju povezanost nekih parametara ishrane i demencije. Nije u pitanju kalorijski unos, jer BMI nije pokazao značajnu razliku između dementnih i nedementnih ispitanika. Parametri koji su pokazali statističku značajnost su učestalost konzumiranja mesa, voća i povrća kao i vrednost serum albumina. U literaturi se uglavnom spominje niži BMI kod dementnih kao posledica lošijeg žvakanja, gutanja i nesamostalnosti u hranjenju kao i ređu gojaznost kod njih (Garrouste-Orgeas et al., 2004; Nordenram et al., 1996). U istraživanju Nordenram i saradnika pokazano je da ispitanici sa AB imaju veću potrebu za prerađenom hranom, što je slučaj i sa našim rezultatima, ali za razlika je što oni nisu našli značajnu razliku u vrednostima serum albumina između dementnih i nedementnih starih ljudi. Mnoge studije su ispitivale ishranu i pojavu demencije, i na bazi rezultata su date i mnoge preporuke za ishranu. Međutim, većina istraživanja suštinski daju veoma različite rezultate pa uz nedoslednost u metodologiji, teško je dati neke pouzdane preporuke za ishranu radi predupređenja demencije. Radi upoređivanja sa našim rezultatima, interesantna su istraživanja koja govore o unosu masti. Generalno, visok unos prerađenih i zasićenih masti je povezan sa visokim rizikom od AB (Sparks et al., 2002). Takođe, neke studije su pokazale da češće unošenje masti životinjskog porekla povećava rizik od AB (Luchsinger et al., 2004). To se donekle mogu povezati sa rezultatima ovog istraživanja jer ispitanici nisu precizirali o kom mesu je reč, pa je moguće da je veliki deo ukupnog nedeljenog unosa mesa potiče od masti i/ili mesnih prerađevina sa većim sadržajem masti a svakako su svi ispitanici složni u veoma malom ili nikakvom unosu ribe. Kao dodatak, pokazano je da

neki lekovi koji snižavaju nivo holesterola (statini) mogu da deluju preventivno na pojavu AB. Međutim, neki autori koji su ispitali ovu oblast zaključuju da su statini efikasni i kod nosioca apoE4 alela (Li et al., 2010), dok drugi navode da je pozitivan uticaj statina samo kod onih koji nisu nosiocu apoE4 alela (Haan et al., 2010;), a to objašnjavaju time što apoE4 podiže nivo LDL holesterola (“lošeg” holesterola), pa to često modifikuje vaskularne faktore u demenciji.

Dobijeni rezultati o povezanosti dentalnog/protetskog i nutritivnog statusa su donekle očekivani. Očekivano je da ispitanici koji imaju manji broj OPZ češće jedu usitnjenu i pasiranu hranu. To je i jedan od glavnih žalbi pacijenata koji dođu sa željom da izrade zubne nadoknade. Interesantno je da za konzistenciju hrane nije tako važno da li OPZ potiču od prirodnih zuba ili zubnih nadoknada. Međutim, ovaj uticaj postoji kada se grupe dementnih i nedementnih ispitanika posmatraju posebno. Značajan je i podatak da je veza broja OPZ i konzistencije hrane izraženija kod dementnih ispitanika.

Takođe, iako je predhodno pokazano da broj prirodnih zuba nije najbitniji pokazatelj oralnog zdravlja, on ima veliki značaj za konzistenciju hrane koja se konzumira. Taj uticaj je pokazan kod svih ispitanika zajedno, a kada se grupe razdvoje, veza postoji samo kod dementnih. U literaturi najčešće je dobijena veza funkcionalnog dentalnog statusa i konzistencije hrane, s tim što su različiti parametri dentalnog statusa posmatrani. Nordenram i saradnici (1996) su dobili da je broj zuba i broj OPZ imao uticaja za konzistenciju hrane ali ne i za nutritivni deficit, što je delimično slično sa našim rezultatima jer su ovde dementni ispitanici imali značajno snižen serum albumin. Hildebrandt i saradnici (1997) su našli da manji broj OPZ rezultira izbegavanju mesa, tvrdih namirnica kao što je sveže voće i povrće kao i suve hrane. Takođe su našli slične razlike između onih sa prirodnih zubima i protezama. Slično su rezultati Sheiham i saradnika (2001) koji su našli pozitivnu korelaciju između broja zuba i kvalitativnog izbora hrane, odnosno da su ispitanici sa 20 i više zuba konzumirali više proteina, kalcijuma i vitamina. Međutim, ima i studija koje su pokazale da nema značajne razlike između izbora hrane kod nosioca proteza i onih koji imaju prirodne zube (Ritchie et al, 2002). Slično tome, Moynihan i saradnici (2000) su našli da nakon protetske rehabilitacije mobilnim zubnim nadoknadama dolazi do povećanog unosa masti ali ne i

voća i povrća, pa zaključuju da protetska rehabilitacija ne utiče značajno na kvalitativni unos hrane. Mojon i saradnici (1999) su slično našim rezultatima, našli da je loš oralni status u funkcionalnom smislu povezan sa nutritivnim deficitom, što je naročito izraženo kod starih i funkcionalno zavisnih ljudi. U istraživanju Ueno i saradnika (2010) nađeno je da su ispitanici sa većim brojem prirodnih zuba ali i većim brojem OPZ imali veću žvačnu efikasnost. To govori u prilog mogućnosti da žvaću čvršću hranu.

Iako u literaturi najčešće postoje podaci da kvalitativni unos hrane uglavnom ne korelira sa kvantitativnim unosom hrane, u ovom istraživanju je to slučaj. Ređa konzumacija svih namirnica a najviše mesa, daje povećan rizik od neuhranjenosti, naročito kod dementnih ispitanika. Sa druge strane, kako je dobijen podatak da češći unos mesa predstavlja faktor rizika za pojavu AB, nameće se potreba detaljnijeg ispitivanja o tipu namirnica koje ispitanici konzumiraju, odnosno koje su to vrste mesa, kako su obrađene, koliko unose vitamin, koje vrste masti koriste itd. Perera i saradnici (2012) su zaključili da mali broj zuba korelira sa neuhranjenošću ali da veći broj zuba nije povezan sa gojaznošću.

Ako sumiramo najvažnije rezultate ovog dela istraživanja, možemo reći da postoji jača veza dentalnog/protetskog statusa i ishrane kod dementnih, ispoljenu kod veze OPZ, prisustva zubnih nadoknada kao i broja prirodnih zuba sa konzistencijom hrane. S obzirom da je logistička regresiona analiza pokazala da konzistencija hrane predstavlja jak i nezavistan faktor rizika za razvoj AB, ovi dentalni parametri dodatno dobijaju na značaju. Imajući u vidu sve navedene korelacije, može se reći da ovi rezultati idu u prilog teoriji da je uticaj dentalnog statusa na demenciju verovatno preko ishrane, mada se ni ostale teorije ne mogu isključiti.

Može se reći da su najvažniji rezultati dobijeni logističkom regresionom analizom. Ovim analizama se izračunava da li su neki parametri i u kojoj meri su faktor rizika za ishod neke pojave ili oboljenja što je u ovom slučaju Alchajmerova bolest. Kao što je detaljnije objašnjeno u predhodnim poglavljima, univarijantnom logističkom regresijom se ispitivao svaki pojedinačni faktor ponaosob. Faktori koji su se pokazali kao značajni u ovoj analizi imaju uticaj na pojavu AB ali u prisustvu svih ostalih faktora. Konkretno,

manju mogućnost za pojavu AB imaju osobe koje su u braku, žive u svojoj kući, imaju manje od 3 hronična oboljenja, konzumiraju meso, voće i povrće manje od 4 puta nedeljno, jedu čvrstu hranu, imaju serum albumin unutar referentnih vrednosti, imaju E3/E3 genotip, i imaju dovoljan broj okludirajućih parova zuba. Ovi parametri se ne mogu posmatrati izolovano kao faktori rizika već samo u prisustvu ostalih faktora.

Najvažnije što je pokazala univarijantna regresiona analiza je značajnost udruženog genetskog i dentalnog statusa u nastanku AB. Kod nosioca apoE4 se rizik sa 3 puta povećava čak na 10 puta kada se na genetski status „doda“ i nedovoljan broj OPZ. To znači da bi nosioci apoE4 alela dodatno morali da vode računa o svom oralnom zdravlju i da blagovremeno nadoknađuju izgubljene zube.

Faktori koji su se univarijantnom analizom pokazali kao značajni ušli su u multivarijantni regresioni model, gde se ispitivala nezavisnost uticaja svakog faktora. Tako je dobijeno da su faktori: bračni status- neoženjen/neudata, razveden/a, udovac/ica, konzumiranje mesa, voća i povrća 4 puta nedeljno i više, konzumiranje pasirane i meke hrane nezavisni faktori rizika za pojavu AB. Drugim rečima, ovi faktori uvek predstavljaju rizik, nezavisno od prisustva ostalih.

Ovi rezultati su donekle očekivani ali sa pojedinim neočekivanim delovima. Kao prvo, nije se očekivao toliki, odnosno, nezavisni uticaj načina ishrane. Izgleda da prečesto konzumiranje svih vrsta hrane povećava rizik od pojave demencije. Međutim, kako kvalitativno ispitivanje ishrane nije detaljno sprovedeno, ovi rezultati mogu biti dobra početna pozicija za dalje ispitivanje ishrane kao činioca u razvoju AB. Takođe, bilo je očekivano da su faktori vezani za genotip nezavisni. U Nun studiji se navodi da je prisustvo apoE4 alela modifikujući faktor veze zuba i demencije, drugim rečima, genotip je jak i nezavistan faktor (Stein et al., 2007). U ostalim studijama koje pokazuju vezu apoE4 i demencije se ne precizira da li je prisustvo E4 nezavistan ili se ispoljava zajedno sa ostalim kofaktorima. Sa druge strane, ovakav rezultat može biti ohrabrujući u smislu da vođenjem računa tj. relativnoj kontroli drugih parametara kao što je ishrana i dentalni status možemo uticati na ispoljavanje apoE4 fenotipa. Takođe, bez obzira što se nijedan faktor vezan za stanje zuba i protetski status nije pokazao kao nezavistan, važan

je podatak da je nezavistan faktor konzumiranje mekane i pasirane hrane. Imajući u vidu da je konzumiranje takve ishrane gotovo uvek povezano sa nedovoljnim brojem okludirajućih parova zuba, odnosno nemogućnošću da se čvrsta hrana sažvaće, faktori vezani za broj OPZ još više dobijaju na značaju. Kada je reč o povezanim faktorima, neka istraživanja pokazuju da nivo unosa masti zajedno sa postojanjem apoE4 alela utiče na rizik od AB (Berglund, 2001; Petot et al., 2003). Može se reći da je naša studija u saglasnosti sa ovim rezultatima, jer iako je čest unos mesa i životinjske masti i nezavistan faktor za razvoj AB, on je istovremeno i udružen sa ostalima, uključujući i prisustvo apoE4.

Ako posmatramo konzumaciju mekane, pasirane hrane kao nezavistan faktor rizika za razvoj AB, treba reći da u literaturi postoje određeni podaci na tu temu iako ograničeni. Očigledno je da postoje neki mehanizmi koji povezuju žvakanje i kognitivnu funkciju. Interesantno je spomenuti i preporuke pedijataru da deci što ranije treba dati tvrdu hranu jer to između ostalog i podstiče razvoj mozga. Verovatno da sličan mehanizam koji bi potencijalno podsticao razvoj mozga kod dece pri žvakanju tvrde i čvrste hrane postoji i u vezi žvakanja tvrde i nepasirane hrane kao zaštitnog faktora za kognitivno propadanje. Autori ovih istraživanja nude objašnjenje da žvakanje povećava količinu krvi koja dotiče u mozak i na taj način ga stimuliše i prevenira gubitak memorije (Sakamoto et al., 2009; Onozuka, et al., 2002).

Kako su i nedovoljan broj OPZ i genotip potvrdili značajnost u univarjantnoj logističkoj regresiji, može se zaključiti da loš dentalni i protetski status zajedno sa prisustvom jednog alela E4 rezultiraju povećanim rizikom za nastanak AB ali u sklopu ostalih kofaktora.

Na kraju treba napomenuti neka ograničenja ove studije. Sam dizajn studije tipa case-control imaju nešto manju naučnu vrednost u odnosu na prospektivne studije ali treba napomenuti da su upravo ove studije puno puta u novijoj istoriji nauke dale veoma značajne podatke. Tačnije, one su polazna tačka za utvrđivanje povezanosti između određenog rizika i ishoda a u narednim studijama se utvrđuje priroda te povezanosti.

Uključivanje ispitanika sa Alchajmerovom bolešću je bilo na osnovu standardnih dijagnostičkih postupaka u oblasti neurologije, a dijagnoza se smatra 80% tačna, jer se tačna dijagnoza ove bolesti može postaviti samo post mortem histopatološkim nalazom moždanog tkiva. To podrazumeva da je moguće da je u istraživanje uključen i neki pacijent koji nije zapravo imao ovu dijagnozu već neki drugi oblik demencije. Najčešći tip demencije pored Alchajmerove bolesti je vaskularna demencija a nešto ređa demencija sa Lewijevim telima. Iako svaku demenciju karakterišu kognitivno i funkcionalno propadanje, ima nekih razlika između navedenih tipova. Problemi sa memorijom i jezikom su tipični za AB, dok su kod vaskularne demencije kognitivne funkcije teže oštećene kao i promene u ličnosti i ponašanju (Kalaria, 2002). Od raspoložive literature jedino je kod Nun study vršena autopsija ispitanica pa je tako bilo moguća definitivna potvrda dijagnoze. U svim ostalim istraživanjima je dijagnoza „verovatna klinička“ kao i u ovom istraživanju, pa je rizik da je uključen i neki ispitanik sa drugom vrstom demencije uobičajen za ove tipove istraživanja.

DNK je izolovana iz brisa bukalne sluzokože, što danas predstavlja veoma čest metod s obzirom na neinvazivnost u poređenju sa uzimanjem uzorka krvi a veoma velike pouzdanosti. U studijama Little et al, NUN study i Berdghal et al. korišćeni su uzorci krvi, ali se mora napomenuti da su te studije deo velikih naučnih projekata, neki i sa preko 100000 učesnika i da uzorkovanje krvi nije bilo samo za izolaciju DNK, već i za druge analize (nivo hormona, inflamatorni markeri itd.). Konkretno za izolaciju DNK nije pokazano da je savremenim metodama pozudanija metoda uzorkovanja krvi nego izolacija iz brisa sluzokože.

Većina istraživanja koja je ispitivala opšti dentalni status i njegovu povezanost sa kognitivnim statusom je uključivala broj zuba (Kim et al., 2007; Berdghal et al., 2007; Takata et al., 2009). Samo istraživanja koja su se odnosila i na žvačnu funkciju su ispitivala okludirajuće parove zuba (Nordenram et al., 1996; Ueno et al., 2008). U ovom istraživanju je bio cilj da se ispita i jedan i drugi način prikazivanja dentalnog statusa kako bi se utvrdilo koji pokazuje bolju povezanost sa Alchajmerovom bolešću. Takođe, znajući da postojanje okludirajućih parova sa prirodnim zubima, fiksnim ili mobilnim

zubnim nadoknadama nije isto u funkcionalnom smislu, ispitivanje dentalnog statusa je uključilo i kvalitativno ispitivanje okludirajućih parova zuba.

Na osnovu dobijenih rezultata, mogu se formirati određene preporuke stručnoj javnosti. Genetska ispitivanja su sve češća, a rezultati tih studija polako prestaju da budu interesantni samo za nauku. Već postaje praksa da se ljudi na osnovu porodičnog rizika testiraju na određene onkogene. Zato bi trebalo, na osnovu mnogobrojnih studija koje pokazuju da su nosioci apoE4 alela u većem riziku za razvoj AB, da se ljudi u srednjem i starijem životnom dobu testiraju na ovaj alel, naročito ako u porodici postoji ova dijagnoza. Takođe, i terapija AB ide u pravcu genetike jer su se ostali medikamentozni tretmani pokazali neuspešni. Mogući farmakološki pristupi su kao što su modulacija apoE nivoa, poremećaj interakcije apoE-beta-amiloid, stimulacija konverzije apoE4 u apoE3 i blokiranje apoE fragmentacije su na eksperimentalnom nivou dali obećavajuće rezultate.

Zbog rezultata koji govore o malom broju OPZ kao zavisnom faktoru a sa druge strane konzumiranju pasirane hrane kao nezavisnom faktoru rizika za razvoj AB, veoma je važno sprovesti protetski tretman kod starih ljudi kada god je to potrebno. Tome u prilog govori i rezultat da je dovoljan broj OPZ poticao uglavnom od zubnih nadoknada a ne prirodnih zuba a da i takvi okludirajući parovi koji su sastavljeni od mobilnih zubnih nadoknada mogu delovati kao protektivni faktor. Poznato je da kada se demencija već razvije svakako teže sprovesti bilo kakav stomatološki tretman a i adaptacija na nove zubne nadoknade može biti otežana. Zato je preporuka da se protetski tretman sprovede pre nego što se demencija razvije. Ako se ovo poveže sa predhodnom preporukom, bilo bi idealno da ako se već utvrdi da neki pacijent ima apoE4 alel, kod njega je dodatno važno uspostaviti dobru žvačnu funkciju, i zbog potencijalnog preventivnog delovanja dovoljnog broja OPZ a i zbog prevencije malnutricije. Tome doprinosi i rezultat da je veza dentalnog i nutritivnog statusa jača kod dementnih, što bi značilo da nedostatak funkcionalne denticije više ugrožava ovu populaciju od nedementnih.

6. ZAKLJUČAK

Osnovni zaključak istraživanja:

Nedovoljan broj okludirajućih parova zuba uz nepostojanje zubnih nadoknada zajedno sa postojanjem jednog apoE4 alela su udruženi faktori rizika za nastanak Alchajmerove bolesti u sklopu prisustva ostalih postojećih kofaktora.

Ostali zaključci:

1. Prisustvo apoE4 alela i genotip E3/E4 je statistički značajno učestaliji kod ispitanika sa Alchajmerovom bolešću.
2. Ispitanici sa Alchajmerovom bolešću imaju značajno manji broj okludirajućih parova zuba i to bez zubnih nadoknada, ali nemaju značajno manji broj prirodnih zuba.
3. Nedovoljan broj okludirajućih parova zuba uz nepostojanje zubnih nadoknada je faktor rizika za razvoj Alchajmerove bolesti uz postojanje ostalih kofaktora.
4. Ispitanici sa Alchajmerovom bolešću imaju značajno smanjene vrednosti serum albumina, značajno češće konzumiraju meso, voće i povrće kao i pasiranu i mekanu hranu.
5. Konzumiranje mesa 4 puta nedeljno i više, konzumiranje mekane i pasirane hrane su nezavisni faktori rizika a niske vrednosti serum albumina zavistan faktor rizika za razvoj Alchajmerove bolesti.
6. Mali broj okludirajućih parova zuba i konzumiranje mekane hrane su faktori rizika za nastanak Alchajmerove bolesti. Veza između dentalnog/protetskog i nutritivnog statusa je naročito izražena kod ispitanika sa Alchajmerovom bolešću, pa se može smatrati da je uticaj dentalnog statusa na Alchajmerovu bolest preko ishrane.

7. Nedovoljan broj okludirajućih parova zuba uz postojanje genotipa E3/E4 se mogu smatrati udruženim faktorima rizika za razvoj Alchajmerove bolesti.

7. LITERATURA

1. A Sheiham and Steele J. Does the condition of the mouth and teeth affect the ability to eat certain foods, nutrient and dietary intake and nutritional status amongst older people? *Public Health Nutrition* 2001; 4(3):797- 803.
2. Akiyama H, Barger S, Barnum S, Bradt B, Bauer J, Cole GM. Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2000; 21:383–421.
3. Alonso A, Zaidi T, Novak M, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Hyperphosphorylation induces self-assembly of tau into tangles of paired helical filaments/straight filaments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001; 98: 6923–6928.
4. Alzheimer's Association Report 2010 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia* 6. 2010; 158–194.
5. Arrivé E, Letenneur L, Matharan F, Laporte C, Helmer C, Barberger-Gateau P, Miquel JL, Dartigues JF. Oral health condition of French elderly and risk of dementia: a longitudinal cohort study 2012; 40(3): 230–238.
6. Balin BJ, Gerard HC, Arking EJ, Appelt DM, Branigan PJ, Abrams JT. Identification and localization of *Chlamydia pneumoniae* in the Alzheimer's brain. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 1998;187:23– 42.
7. Barberger-Gateau P, Letenneur L, Deschamps V, Peres K, Dartigues JF, Renaud S. Fish, meat, and risk of dementia: cohort study. *BMJ* 2002; 325: 932–33.
8. Belinson H, Michaelson DM. Pathological Synergism Between Amyloid- β and Apolipoprotein E4 – The Most Prevalent Yet Understudied Genetic Risk Factor for Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease* 2009; 17: 469–481.
9. Bergdahl M, Bergdahl J, Nyberg L, Nilsson L. Difference in apolipoprotein E type 4 allele (APOE ϵ 4) among dentate and edentulous subjects. *Gerodontology* 2008; 25(3):179–186.
10. Bergdahl M, Habib R, Bergdahl J et al. Natural teeth and cognitive function in humans. *Scand J Psychol* 2007; 48: 557–565.

11. Berglund L. The APOE gene and diets—food (and drink) for thought. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 669–70.
12. Butterfield DA, Castegna A, Drake J, Scapagnini G, Calabrese V. Vitamin E and neurodegenerative disorders associated with oxidative stress. *Nutr Neurosci* 2002; 5: 229–39.
13. Chalmers, JM, Carter, KD, Spencer, AJ. Caries incidence and increments in community-living older adults with and without dementia. *Gerodontology* 2002; 19: 80–94
14. Chen J, Li Q, Wang J. Topology of human apolipoprotein E3 uniquely regulates its diverse biological functions. *Proc. Natl Acad. Sci.* 2011; 108:14813–14818.
15. Conejero-Goldberg C, Hyde TM, Shufen C, Herman MM, Kleinman JE, Davies P, Goldberg TE, Chen S. Cortical Transcriptional Profiles in APOE4 Carriers with Alzheimer's Disease: Patterns of Protection and Degeneration. *Journal of Alzheimer's Disease* 2015; 48 (4): 969-978.
16. Corder EH et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993; 261: 921–923.
17. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993;261(5123):921-3.
18. Craig RG, Yip JK, So MK, Boylan RJ, Socransky SS, Haffajee AD. Relationship of destructive periodontal disease to the acute-phase response. *J Periodontol* 2003;74:1007–16
19. Deane R. ApoE isoform-specific disruption of amyloid β peptide clearance from mouse brain. *J. Clin. Invest.* 2008; 118: 4002–4013.
20. Ellen RP, Galimanas VB. Spirochetes at the forefront of periodontal infections. *Periodontol* 2000 2005;38: 13–32.

21. Engelhart MJ, Geerlings MI, Meijer J, Kiliaan A, Ruitenberg A, van Swieten JC. Inflammatory proteins in plasma and the risk of dementia: the rotterdam study. *Arch Neurol* 2004;61 :668 –72.
22. Ettinger RL. Dental management of patients with Alzheimer’s disease and other dementias. *Gerodontology* 2000; 17: 8–16.
23. Farrer LA. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease: a meta-analysis. *JAMA* 1997; 278: 1349–1356.
24. Garrouste-Orgeas M, Troch G, Azoulay E, Caubel A, de Lassence A, Cheval C, Montesino L, Thuong M, Vincent F, Cohen Y, Timsit JF. Body mass index. An additional prognostic factor in ICU patients *Intensive Care Med* (2004) 30:437–443.
25. Gatz M, Mortimer JA, Fratiglioni L. Potentially modifiable risk factors for dementia in identical twins. *Alzheimer Dement* 2006; 2:110-17.
26. Ghezzi E, Ship JA, Arbor A. Dementia and oral health. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000; 89: 2–5.
27. Grubiša I. Genetički marketi oksidativnog stresa kod bolesnika sa manifestnim dijabetesom tipa 2 i aterosklerozom. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet. Beograd 2013.
28. Haan MN, Shemanski L, Jagust WJ, Manolio TA, Kuller L. The role of APOE ε4 in modulating effects of other risk factors for cognitive decline in elderly persons. *JAMA* 1999; 282: 40–46.
29. Haan MN. Can Statins Prevent Dementia in Older Adults? *Journal of the American Geriatrics Society* 2010; 58(7): 1393–1394.
30. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer’s disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002; 297:353–356.

31. Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 1992; 256: 184–85.
32. Harris FM, Brecht WJ, Xu Q, Tesseur I, Kekonius L, Wyss-Coray T, Fish JD, Masliah E, Hopkins PC, Searce-Levie K. Carboxyl-terminal-truncated apolipoproteinE4 causes Alzheimer's disease-like neurodegeneration and behavioral deficits in transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003; 100: 10966–10971.
33. He K, Merchant A, Rimm EB, et al. Folate, vitamin B6, and B12 intakes in relation to risk of stroke among men. *Stroke* 2004; 35: 169–74.
34. Hebert LE, Scherr PA, Bienias JL, Bennett DA, Evans DA. State-specific projections through 2025 of Alzheimer's disease prevalence. *Neurology* 2004; 62:1645.
35. Hildebrandt GH, Dominguez BL, Schork MA, Loesche WJ. Functional units, chewing, swallowing, and food avoidance among the elderly. *J Prosthet Dent* 1997; 77:588-595.
36. Hu FB, Willett WC. Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *JAMA* 2002; 288: 2569–78.
37. Huang Y, Liu XQ, Wyss-Coray T, Brecht WJ, Sanan DA, Mahley RW. Apolipoprotein E fragments present in Alzheimer's disease brains induce neurofibrillary tangle-like intracellular inclusions in neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001; 98: 8838–8843.
38. Jelenković A, Stančić I, Tihacek Šojić Lj, Živković R, Miličić B. A preliminary evaluation of normative and realistic needs for prosthetic treatment among frail elderly patients in Serbia. *Journal of Dental Sciences* 2013; 8, 15-20
39. Joshipura KJ, Hung HC, Rimm EB, Willett WC, Ascherio A. Periodontal disease, tooth loss, and incidence of ischemic stroke. *Stroke* 2003; 34(1):47-52.

40. Kalaria R. Similarities between Alzheimer's disease and vascular dementia. *J Neurol Sci* 2002; 203–204:29–34. Review
41. Kamer AR, Craig RG, Dasanayake AP, Brys M, Glodzik-Sobanska L, de Leon MJ. Inflammation and Alzheimer's disease: Possible role of periodontal diseases. *Alzheimer's & Dementia* 2008; 4: 242–250.
42. Kamer AR, McGeer PL, McGeer EG. Inflammation, autotoxicity and Alzheimer disease. *Neurobiol Aging* 2001; 22:799–809.
43. Kim JM, Stewart R, Prince M, Kim SW, Yang SJ, Shin IS, Yoon JS. Dental health, nutritional status and recent-onset dementia in a Korean community population. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* 2007; 22: 850–855.
44. Kok E. Apolipoprotein E-dependent accumulation of Alzheimer disease-related lesions begins in middle age. *Ann. Neurol.* 2009; 65:650–657.
45. Kondo K, Niino M, Shido K. A case-control study of Alzheimer's disease in Japan: significance of life-styles. *Dementia* 1994; 5(6): 314-26.
46. Kronfol Z, Remick DG. Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. *Am J Psychiatry* 2000; 157 (5):683-94.
47. Li G, Shofer JB, Rhew IC, Kukull WA, Peskind ER, McCormick W, Bowen JD, Schellenberg GD, Crane PK, Breitner JCS, Larson EB. Age-Varying Association Between Statin Use and Incident Alzheimer's Disease. *J Am Geriatr Soc* 2010; 58:1311–1317.
48. Lindbergh CA, Puente AN, MacKillop J, Faraco C, Brown C, Terry D, Mewborn C, Miller LS. ApoE-e4 allele status is associated with functional limitations in community-dwelling older adults. *Alzheimer's & Dementia* 2015; 11 (7): P659.
49. Little DM, Crooks VC, Petitti DB, Chiu V, Schellenberg GD, Slezak JM, Jacobsen SJ. Mortality, Dementia, and Apolipoprotein E Genotype in Elderly White Women in the United States. *J Am Geriatr Soc* 2009; 57:231–236.

50. Liu CC, Kanekiyo T, Xu H, Bu G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nat. Rev. Neurol.* 2013; 9:106–118.
51. Loos BG. Systemic markers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol* 2005; 76: (11 supplement): 2106-15.
52. Luchsinger JA, Mayeux R. Dietary factors and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2004; 3: 579–587.
53. Luchsinger JA, Tang MX, Shea S, Mayeux R. Caloric intake and the risk of Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2002; 59: 1258–63
54. Mahley RW, Rall SC Jr. Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2000; 1:507–537.
55. Mayeux R, Saunders AM, Shea S, et al. Utility of the apolipoprotein E genotype in the diagnosis of Alzheimer's disease: Alzheimer's Disease Centers Consortium on Apolipoprotein E and Alzheimer's Disease. *N Engl J Med* 1998; 338(8):506-11.
56. Miklossy J, Kis A, Radenovic A, Miller L, Forro L, Martins R, et al. Beta-amyloid deposition and Alzheimer's type changes induced by *Borrelia* spirochetes. *Neurobiol Aging* 2006; 27:2 28 –36.
57. Mojon P, Budtz-Jorgensen E, Rapin C.H. Relationship between oral health and nutrition in very old people. *Age and ageing* 1999; 28: 463-468.
58. Morris MC, Evans DA, Bienias JL. Consumption of fish and n-3 fatty acids and risk of incident Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 2003; 60: 940–946.
59. Moynihan PJ, Butler TJ, Thomason JM, Jepson NJA. Nutrient intake in partially dentate patients: the effect of prosthetic rehabilitation *Journal of Dentistry* 2000; 28:557–563.
60. Nagano S, Huang X, Moir RD, Payton SM, Tanzi RE, Bush AI. Peroxidase activity of cyclooxygenase-2 (COX-2) cross-links {beta}-amyloid (A{beta}) and

- Generates A β -COX-2 hetero-oligomers that are increased in Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 2004; 279: 14673–78.
61. Nordenram G, Ryd-Kjellen E, Johansson G, Nordstrom G, Winblad B. Alzheimer's disease, oral function and nutritional status. *Gerodontology* 1996; 13(1): 9-16.
 62. Oijen M, Jong FJ, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MMB. Subjective memory complaints, education, and risk of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia* 2007; 3 (2) : 92-97.
 63. Onozuka M, Fujita M, Watanabe K, Hirano Y, Niwa M, Nishimura K. Mapping brain region activity during chewing: a functional magnetic resonance imaging study. *J Dent Res* 2002; 81:743-746.
 64. Overgaard SM, Przybelski SA, Machulda MM, Mielke MM, Knopman DS, Lowe VJ, Petersen RC, Jack CR, Vemuri P. Evidence of reduced neuronal plasticity to education in ApoE- ϵ 4 carriers. *Alzheimer's & Dementia* 2015; 11 (7): P195.
 65. Packard CJ, Westendorp RGJ, Stott DJ, Caslake MJ, Murray HM, Shepherd J, Blauw GJ, Murphy MB, Bollen E L.E.M., Buckley BM, Cobbe SM. Association Between Apolipoprotein E4 and Cognitive Decline in Elderly Adults *Journal of the American Geriatrics Society* 2007; 55 (11):1777–1785.
 66. Padala KP, Padala PR, Potter JF. Statins: A Case for Drug Withdrawal in Patients With Dementia. *Journal of the American Geriatrics Society* 2010; 58 (6): 1214–1216.
 67. Peila R, Rodriguez BL, Launer LJ. Type 2 diabetes, APOE gene, and the risk for dementia and related pathologies: the Honolulu-Asia Aging Study. *Diabetes* 2002; 51: 1256–1262.
 68. Petot GJ, Traore F, Debanne SM, Lerner AJ, Smyth KA, Friedland RP. Interactions of apolipoprotein E genotype and dietary fat intake of healthy older persons during mid-adult life. *Metabolism* 2003; 52: 279–81

69. Polvikoski T. et al. Apolipoprotein E, dementia, and cortical deposition of β -amyloid protein. *N. Engl. J. Med.* 1995; 333: 1242–1247.
70. Pucar A, Milašin J, Leković V, Vukadinović M, Ristić M, Putnik S, Kenney EB. Correlation between atherosclerosis and periodontal putative pathogenic bacterial infections in coronary and internal mammary arteries. *J Periodontol.* 2007;78(4):677-82.
71. R. Perera and Ekanayake L. Relationship between nutritional status and tooth loss in an older population from Sri Lanka. *Gerodontology* 2012; 29: e566–e570.
72. Rinaldi P, Polidori MC, Metastasio A. Plasma antioxidants are similarly depleted in mild cognitive impairment and in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2003; 24: 915–19.
73. Ritchie CS, Joshipura K, Hung H-C, Douglass CW. Nutrition as a Mediator in the Relation between Oral and Systemic Disease: Associations between Specific Measures of Adult Oral Health and Nutrition Outcomes. *CROBM* 2002 13: 291.
74. Riviere GR, Riviere KH, Smith KS. Molecular and immunological evidence of oral *Treponema* in the human brain and their association with Alzheimer's disease. *Oral Microbiol Immunol* 2002; 17(2):113-8.
75. Rohn TT, Catlin LW, Coonse KG, Habig JW. Identification of an amino-terminal fragment of apolipoprotein E4 that localizes to neurofibrillary tangles of the Alzheimer's disease brain. *Brain Res.* 2012, 1475: 106–115.
76. Rohn TT. Proteolytic Cleavage of Apolipoprotein E4 as the Keystone for the Heightened Risk Associated with Alzheimer's Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2013; 14: 14908-14922.
77. Sakamoto K, Nakata H, Kakigi R. 2009. The effect of mastication on human cognitive processing: a study using event-related potentials. *Clin Neurophysiol.* 2009;120(1):41-50.

78. Scannapieco FA, Bush RB, Paju S. Associations between periodontal disease and risk for nosocomial bacterial pneumonia and chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:54–69.
79. Sheiham A, Steele J.G, Marcenes W, Lowe C, Finch S, Bates C.J, Prentice A, Walls A.W.G. The Relationship among Dental Status, Nutrient Intake, and Nutritional Status in Older People . *J Dent Res* 2001; 80: 408.
80. Shimazaki Y, Soh I, Saito T, Yamashita Y, Koga T, Miyazaki H, Takehara T. Influence of Dentition Status on Physical Disability, Mental Impairment, and Mortality in Institutionalized Elderly People. *J Dent Res* 2001; 80: 340-345.
81. Snowdon DA, Tully CL, Smith CD, Riley KP, Markesbery WR. Serum folate and the severity of atrophy of the neocortex in Alzheimer disease: findings from the Nun study. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 993–98.
82. Sparks DL, Martins R, Martin T. Cholesterol and cognition: rationale for the AD cholesterol-lowering treatment trial and sex-related differences in beta amyloid accumulation in the brains of spontaneously hypercholesterolemic Watanabe rabbits. *Ann NY Acad Scis* 2002; 977: 356–66.
83. Stein P, Scheff S, Dawson DR. Alzheimer’s disease and periodontal disease: mechanisms underlying a potential bidirectional relationship. *Grand Rounds Oral Systemic Med* 2006; 1:14-24.
84. Stein SP, Desrosiers M, Jean Donegan S, Yepes JF, Kryscio RJ. Tooth loss, dementia and neuropathology in the Nun Study. *JADA* 2007; 138 (10):1314-22.
85. Stewart R, Sabbah W, Tsakos G, D’aiuto F, Watt RG. Oral Health and Cognitive Function in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) *Psychosomatic Medicine* 2008; 70: 936–941.
86. Sundström A, Westerlund O, Mousavi-Nasab H, Adolfsson R, Nilsson LG. Relationship between marital and parental status and risk of dementia and Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia* 2013; 9 (4): P631.

87. Syrjala A-MH, Ylostalo P, Hartikainen S, Sulkava R, Knuuttila M. Number of teeth and selected cardiovascular risk factors among elderly people. *Gerodontology* 2010; 27: 189–192.
88. Takata Y, Ansai T, Soh I, Sonoki K, Awano S, Hamasaki T, Yoshida A, Ohsumi T, Toyoshima K, Nishihara T, Takehara T. Cognitive function and number of teeth in a community dwelling elderly population without dementia. *Journal of Oral Rehabilitation* 2009; 36: 808–813
89. Terpenning MS, Taylor GW, Lopatin DE, Kerr CK, Dominguez BL, Loesche WJ. Aspiration pneumonia: dental and oral risk factors in an older veteran population. *J Am Geriatr Soc* 2001; 49: 557–589.
90. The Authors Journal compilation. Oral health of people with dementia. *Gerodontology* 2006; 23 (Suppl. 1): 3–32.
91. Then FS, Luck T, Villringer A, Angermeyer MC, Riedel-Heller SG. Compression of dementia morbidity by higher education. *Alzheimer's & Dementia* 2015; 11 (7): P201.
92. Trojanowski JQ, Lee VM. “Fatal attractions” of proteins. A comprehensive hypothetical mechanism underlying Alzheimer’s disease and other neurodegenerative disorders. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000, 924, 62–67.
93. U.S. Department of Health and Human Services. Oral Health in America: A Report of the Surgeon General. Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Dental and Craniofacial Research, National Institutes of Health, 2000.
94. Ueno M, Yanagisawa T, Shinada K, Ohara S, Kawaguchi Y. Masticatory ability and functional tooth units in Japanese adults. *Journal of Oral Rehabilitation* 2008; 35: 337–344.
95. van der Flier WM, Smits L, van der Vlies A, Koedam E, Bouwman F, Reuling I, Pijnenburg YAL, Schelten P. Early onset ApoE-ε4-negative Alzheimer’s disease

- patients show faster cognitive decline on non-memory domains. *Alzheimer's & Dementia* 2015; 11 (7) Supplement: P168.
96. Vermeiren APA, Bosma H, Visser PJ, Zeegers MP, Graff C, Ewers M, Frisoni GB, Frölich L, Hampel H, Jones RW, Kehoe PG, Lenoir H, Minthon L, Nobili FM, Olde Rikkert M, Rigaud A, Scheltens P. The Association Between APOE ϵ 4 and Alzheimer-type Dementia Among Memory Clinic Patients is Confined to those with a Higher Education. The DESCRIPA Study. *Journal of Alzheimer's Disease* 2013; 35 (2): 241-246.
 97. Viswanathan A, Rocca WA, Tzourio C. Vascular risk factors and dementia: how to move forward? *Neurology* 2009; 72:368–74.
 98. Wang HX, Wahlin A, Basun H et al. Vitamin B(12) and folate in relation to the development of Alzheimer's disease. *Neurology* 2001; 56: 1188–1194.
 99. Wang Xiao, Wang Jinhui, He Yi, Li Huiying, Yuan Huishu, Evans Alan, Yu Xin, He Yong, Wang Huali. Apolipoprotein E ϵ 4 Modulates Cognitive Profiles, Hippocampal Volume, and Resting-State Functional Connectivity in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2015, Vol. 45 Issue 3, p781-795. 15p.
 100. Weyant RJ, Pandav RS, Plowman JL, Ganguli M. Medical and Cognitive Correlates of Denture Wearing in Older Community-Dwelling Adults. *J Am Geriatr Soc* 2004; 52:596–600.
 101. Whittle JG, Sarll DW, Grant AA, Worthington HV. The dental health of the elderly mentally ill: preliminary report. *Br Dent J* 1987; 162: 381–383.
 102. www.nunstudy.org
 103. www.alz.org
 104. Yaffe K, Kanaya A, Lindquist K, Simonsick EM, Harris T, Shorr RI. The metabolic syndrome, inflammation, and risk of cognitive decline. *JAMA* 2004; 292:2237– 42.

105. Zijlstra EE, Swart GR, Godfroy FJ, Degener JE. Pericarditis, pneumonia and brain abscess due to a combined Actinomyces–Actinobacillus actinomycetemcomitans infection. *J Infect* 1992; 25:83–7.

8. BIOGRAFIJA

Mr sc. stom. Aleksandra Popovac rođena je 27.12.1980.godine u Beogradu. Završila je Devetu beogradsku gimnaziju i muzičku školu "Stanislav Binički". Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je 1999, a diplomirala 2005. godine sa prosečnom ocenom 9,67. U toku i nakon studija dobila je više nagrada i stipendija među kojima se ističu stipendija ministarstva prosvete Republike Srbije, Nagrada Stomatološkog fakulteta za najboljeg studenta, Stipendija Republičke fondacije za razvoj naučnog i umetničkog podmlatka, Nagradna stipendija vlade Kraljevine Norveške, Stipendija Gradskog sekretarijata za socijalnu i dečiju zaštitu, zlatna medalja sa likom Nikole Tesle u oblasti pronalazaštva. Dr Popovac upisala je poslediplomske studije iz oblasti stomatološke protetike akademske 2005/06. godine a magistarsku tezu pod nazivom "Uticaj oralnog zdravlja na kvalitet života pacijenata starije dobi" uspešno je odbranila 2009 godine. Specijalistički ispit iz oblasti stomatološke protetike je položila u julu 2014 godine sa odličnom ocenom.

Dr Aleksandra Popovac je objavila 80 radova, od čega je 9 objavljeno u časopisima sa SCI liste, 9 u nacionalnim časopisima, 62 saopštenja na domaćim i međunarodnim skupovima, kao i 4 mentorstva na studentskim naučno-istraživačkim radovima. Od 2010.godine je zaposlena na Klinici za stomatološku protetiku kao asistent za bazične stomatološke nauke a od januara 2018.godine kao asistent za kliničke stomatološke nauke.

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora ALEKSANDRA POPOVAC

Broj indeksa 4003/2009

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

KORELACIJA IZMEĐU DENTALNOG I PROTETSKOG STATUSA,
POLIMORFIZMA GENA ZA APOLIPOPROTEIN E I ALCHAJMEROVE BOLESTI

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis autora

U Beogradu, 25.05.2018.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora ALEKSANDRA POPOVAC

Broj indeksa 4003/2009

Studijski program doktorske studije

Naslov rada

KORELACIJA IZMEĐU DENTALNOG I PROTETSKOG STATUSA,
POLIMORFIZMA GENA ZA APOLIPOPOTEIN E I ALCHAJMEROVE BOLESTI

Mentor prof. dr Ivica Stančić

Komentor prof. dr Nebojša Despotović

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la radi pohranjena u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis autora

U Beogradu, 25.04.2018.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

KORELACIJA IZMEĐU DENTALNOG I PROTETSKOG STATUSA,
POLIMORFIZMA GENA ZA APOLIPOPROTEIN E I ALCHAJMEROVE BOLESTI

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci.
Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

Potpis autora

U Beogradu, 25.05.2018.

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.