

NANOZDRAVILA ZA LOKALNO ZDRAVLJENJE PARODONTALNE BOLEZNI

NANOMEDICINES FOR THE LOCAL TREATMENT OF PERIODONTAL DISEASE

AVTOR / AUTHOR:

Asist. Špela Zupančič, mag. farm.^{1*}
Doc. dr. Petra Kocbek, mag. farm.¹
Prof. dr. Milan Petelin, dr. dent. med.²
Prof. dr. Julijana Kristl, mag. farm¹

¹ Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko tehnologijo,
Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana

² Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta,
Katedra za ustne bolezni in parodontologijo,
Hrvatski trg 6, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
spela.zupancic@ffa.uni-lj.si

POVZETEK

Parodontalna bolezen je kronično vnetje obzobnih tkiv, ki vodi k razgradnji pozobnice, cementa in kosti zobiščnega odrastka, nastanku obzobnih žepov in izgubi zob. Trenutne smernice zdravljenja pogosto ne vodijo k želenim rezultatom, zato so aktualne raziskave novih terapevtskih pristopov in zdravil. V prispevku predstavljamo različne možnosti zdravljenja, kot so (I) zmanjšanje števila patogenih bakterij in vzpostavitev normalne ustne flore, (II) moduliranje imunskega odziva in (III) izboljšanje obnove poškodovanega tkiva, predvsem z dostavo ustreznih učinkovin v obliki nanozdravil, kot so liposomi, nanodelci in nanovlakna. Z nanozdravili lahko dosežemo daljše zadrževanje in prirejeno sproščanje učinkovin na tarčnem mestu, z nanovlakni pa lahko tudi pospešimo obnovo prizadetega obzobnega tkiva.

KLJUČNE BESEDE:

parodontalna bolezen, antibiotiki, nanodostavni sistemi, nanodelci, nanovlakna

ABSTRACT

Periodontal disease is a chronic inflammation of periodontal tissues resulting in destruction of the periodontal ligament, root cementum, and alveolar bone, formation of periodontal pockets and teeth loss. In numerous cases, the treatment according to the current guidelines does not lead to the desired outcome, and consequently, new approaches and medicines are under development. In this review article, different possible approaches are presented, which are (I) reduction of pathogen bacteria and establishment of a normal oral flora, (II) host modulation therapy, and (III) improvement of tissue regeneration mostly with nanomedicines, such as liposomes, nanoparticles, and nanofibers loaded with a drug. Nanomedicines can enable prolonged retention and controlled drug release at the targeted site; moreover, nanofibers can also increase periodontal disease regeneration.

KEYWORDS:

periodontal disease, antibiotics, nanodelivery systems, nanoparticles, nanofibers



1 UVOD

Parodontalna bolezen je kronično vnetje obzobnih tkiv, ki vodi k umiku dlesni, razgradnji pozobnice, cementa in kosti zobiščnega odrastka, nastanku obzobnih žepov, majavosti in izgubi zob (1). Tako v Sloveniji kot po svetu se število bolnikov z napredovano obliko parodontalne bolezni povečuje. Problematiko razširjenosti parodontalne bolezni v Sloveniji so pokazali tudi v raziskavi, izvedeni v Kliničnem centru Ljubljana, kjer so ugotovili, da bi bilo pri 98 % ljudi, starih od 35 do 85 let, treba opraviti luščenje in glajenje korenin in pri kar 47 % tudi parodontalno kirurško zdravljenje (2). Zdravljenje parodontalne bolezni ni pomembno zgolj z vidika zdravja ustne votline. Kronično vnetje obzobnih tkiv vpliva tudi na splošno zdravje, saj preko parodontalne rane v krvni obtok vdrejo številni mikrobi in vnetni mediatorji ter tako dosežejo oddaljene organe. Posledično je ta bolezen neposredno povezana s tveganjem za nastanek drugih bolezni, kot so kardiovaskularne motnje, pljučne bolezni, bolezni ledvic in težave med nosečnostjo (3, 4).

2 NASTANEK PARODONTALNE BOLEZNI

V ustni votlini je okoli 700 različnih vrst mikroorganizmov, ki so organizirani v biofilm. Izraz biofilm opisuje skupek mikroorganizmov, pritrjenih na površino in obdanih z zunajceličnimi izločki z namenom, da omogočajo selektivno naselitev bakterij, shranjevanje energije, izmenjavo hranil in genetskega materiala ter zaščito pred difuzijo zunanjih snovi (na primer antibiotikov). Biofilm, pritrjen na zobno površino, je sestavni del zobnih oblog. Iste vrste bakterij so lahko prisotne v biofilmu ljudi z zdravimi obzobnimi tkivi in tistih s parodontalno boleznijo, vendar pa je pri slednjih spremenjeno mikrobno ravnotežje, tako da prevladujejo parodontopatogeni mikroorganizmi, kar je glavni dejavnik za nastanek parodontalne bolezni (5). Zdravo telo obrani obzobna tkiva pred patogenimi mikroorganizmi z ustreznim imunskim odzivom. Pri parodontalni bolezni, ki je lahko posledica kroničnih bolezni, debelosti, kajenja ali genetskih sprememb, pa je imunski odziv prekomeren ali premajhen in posledično neučinkovit pri obrambi pred parodontopatogenimi mikroorganizmi, kar vodi v kronično vnetje. Aktivirani vnetni citokini, matriksne metaloproteaze, bakterijski encimi in osteoklasti razgrajujejo pozobnico in kost zobiščnega odrastka,



Slika 1: Shema prikazuje polovico zdravega zoba, kjer je (a) dlesni, (b) kost zobiščnega odrastka, (c) pozobnica, (d) cement in (e) dentin. Parodontalna bolezen je posledica (1) porušene mikrobne ravnoteže s prevlado patogenih mikroorganizmov, ki sprožijo imunski odziv. Kot posledica se najprej razvije (2) vnetje dlesni, ki nato lahko vodi v razgradnjo pozobnice, cementa in kosti zobiščnega odrastka, vidno kot (3) obzobni žep.

Figure 1: Schematic illustration showing a half of the tooth with marked (a) gingiva, (b) alveolar bone, (c) periodontal ligament, (d) root cementum, and (e) dentin. Periodontal disease is caused by (1) microbial shift in favor of pathogen bacteria, which stimulates the host immune response. This inflammation firstly results in (2) inflamed gingiva, which can lead to destruction of the periodontal ligament, cementum, and alveolar bone as can be seen as (3) periodontal pocket.

vidno kot obzobni žep, značilen za parodontalno bolezen (slika 1). Bakterije, ki se prehranjujejo z razgrajenimi deli obzobnih tkiv, se posledično hitreje razmnožujejo in sprožijo okrepljen imunski odziv, ki vodi v nadaljnjo ireverzibilno okvaro obzobnih mehkih in trdih tkiv (6).

3 ZDRAVLJENJE PARODONTALNE BOLEZNI

3.1 TRENUTNE SMERNICE

3.1.1 Mehanska odstranitev zobnih oblog

Osnova zdravljenja kroničnega parodontitisa je zmanjšanje števila parodontopatogenih bakterij v zobnih oblogah. Dokazano učinkovito je mehansko odstranjevanje zobnih oblog z luščenjem in glajenjem površine korenin, kar pa pri vseh pacientih ne vodi k trajnemu izboljšanju kljub standardnemu protokolu zdravljenja in rednim kontrolnim pre-

gledom. Vzrok za neuspešen izid je lahko rekolonizacija obzobnih žepov s parodontopatogenimi bakterijami iz drugih prizadetih mest v ustni votlini ali neočiščenih mest v obzobnih žepih (5, 7).

3.1.2 Protimikrobne učinkovine

V klinični praksi zlasti pri agresivnem parodontitisu in trdovratnih oblikah kroničnega parodontitisa priporočajo poleg mehanskega čiščenja še dodatno zdravljenje z antiseptiki in/ali protimikrobnimi učinkovinami. Med antiseptiki je najbolj razširjena uporaba klorheksidina, med protimikrobnimi učinkovinami pa tetraciklina, metronidazola ter kombinacije metronidazola z amoksicilinom in klavulansko kislino, ki je postala prvi izbor pri sistemski protimikrobni terapiji parodontalne bolezni (8). Za lokalno dostavo so najpogostejši tetraciklin, doksiciklin in minociklin (preglednica 1). Učinkovito zdravljenje po sistemskem vnosu ovira

slabo prodiranje protimikrobnih učinkovin v obzobna tkiva, zato potrebujemo za doseganje terapevtskih koncentracij učinkovine v obzobnem tkivu velik odmerek (150–500 mg/8 h), ki pogosto prizadene črevesno floro bolnika in lahko vodi k nastopu drugih neželenih učinkov, na primer alergij. Če protimikrobna učinkovina doseže bakterije v koncentraciji, manjši od minimalne inhibitorne koncentracije, pa lahko povzroči razvoj odpornih vrst mikroorganizmov (5, 7). Zato je želeno lokalno dajanje protimikrobnih učinkovin, vendar imajo trenutno registrirana zdravila za lokalno zdravljenje, ki so v obliki vlaken, trakov in poltrdnih farmacevtskih oblik (preglednica 1), določene slabosti, kot so časovno zamudna mehanska pritrditev, prekratek čas zadrževanja na mestu delovanja, potreba po odstranitvi, če dostavni sistem ni biorazgradljiv, in omejeno prodiranje učinkovine v obzobne žepe in dentinske kanalčke (9).

Preglednica 1: Najpogosteje uporabljane protimikrobne učinkovine, vgrajene v dostavne sisteme za lokalno uporabo, in registrirana zdravila za lokalno zdravljenje parodontalne bolezni (10).

Table 1: The most frequently used antibiotics incorporated into local delivery systems, and marketed formulations for the local treatment of periodontal disease (10).

Protimikrobna učinkovina	Dostavni sistem	Registrirano zdravilo in proizvajalec
Tetraciklin	nebiorazgradljivo vlakno polimerni nanodelci nanovlakna nanovlakna s polimernimi nanodelci	<i>Actisite</i> , Alza Corporation, ZDA / / /
Doksiciklin	gel polimerosomi nanosfere adsorbirane na 3D ogrodje	<i>Atridox</i> , Atrix Laboratories, ZDA / /
Minociklin	mazilo mikrosfere liposomi polimerni nanodelci	<i>Dentomycin</i> , Henry Schein UK Holdings Ltd., Velika Britanija <i>Arestin</i> , OraPharma, Inc., Horsham, ZDA / /
Metronidazol	gel polimerosomi polimerni nanodelci nanovlakna	<i>Elyzol 25% Dental Gel</i> , Colgate – Palmolive Ltd, Velika Britanija / / /
Ciprofloksacin	nanovlakna	/



3.1.3 Korektivna faza in podporno zdravljenje

Če po začetnem zdravljenju parodontalne bolezni ostanejo globoki obzobni žepi, jih kirurško obravnava specialist parodontolog. Takšen način zdravljenja ima ob ustreznem vzdrževanju ustne higijene dobro uspešnost, v kombinaciji z rednimi pregledi in vzdrževalno terapijo pa se hitrost izgube prirastišča še dodatno zmanjša. Pri agresivnem parodontitisu in trdovratnih oblikah kroničnega parodontitisa pa je tak pristop zdravljenja lahko le prehodni in kratkotrajni (11). Tako je cilj razvoja novih zdravil in terapevtskih pristopov dolgoročno izboljšanje in vzpostavitev pogojev za popolno ozdravitev parodontalne bolezni.

3.2 SODOBNI TRENDI

Zdravljenje parodontalne bolezni je težavno zaradi njene kompleksnosti. Kljub temu je znanost privedla do novih odkritij na področju patofiziologije parodontalne bolezni, ki nakazujejo tri potencialne pristope za zdravljenje z zdravili: (I) zmanjšati število patogenih bakterij in vzpostaviti normalno ustno floro, (II) modulirati imunski odziv in (III) izboljšati regeneracijo poškodovanega tkiva (slika 1) (5, 12).

3.2.1 Vzpostavitev normalne ustne flore

Znano je, da so bakterije v biofilmu dobro zaščitene pred prodiranjem protiteles in protimikrobnih učinkovin in so zato bolj odporne na njih. Posledično je treba izbrati pravo protimikrobno učinkovino in jo lokalno dostaviti v dovolj veliki koncentraciji, tako da bi se sproščala 7 do 14 dni. Alternativa podpornemu antibiotičnemu zdravljenju je tudi fotodinamična terapija, kjer ciljano lokalno dostavimo fotosenzibilizator, ki se veže na bakterijsko celično steno in ob aktivaciji z lasersko svetlobo povzroči propad bakterij (13). Ker je pomanjkanje koristnih bakterij v zobnem biofilmu lahko enako problematično kot presežek parodontopatogenih, je trenutno raziskovanje usmerjeno k lokalni dostavi probiotikov, tj. mikroorganizmov, ki koristno vplivajo na zdravje gostitelja, tako da nadomestijo ali inhibirajo rast parodontopatogenih bakterij. Posledično bi lahko z rekolonizacijo obzobnih žepov in okoliških tkiv s probiotiki pripomogli k trajni vzpostavitvi uravnoteženega mikrobnege razmerja v biofilmu (5, 10).

3.2.2 Modulacija imunskega odziva

Ker je eden od ključnih dejavnikov za nastanek kronične parodontalne bolezni neustrezen bolnikov imunski odgovor, so aktualne raziskave različnih skupin učinkovin za okrepitev imunskega sistema in zaviranje razgradnje ob-

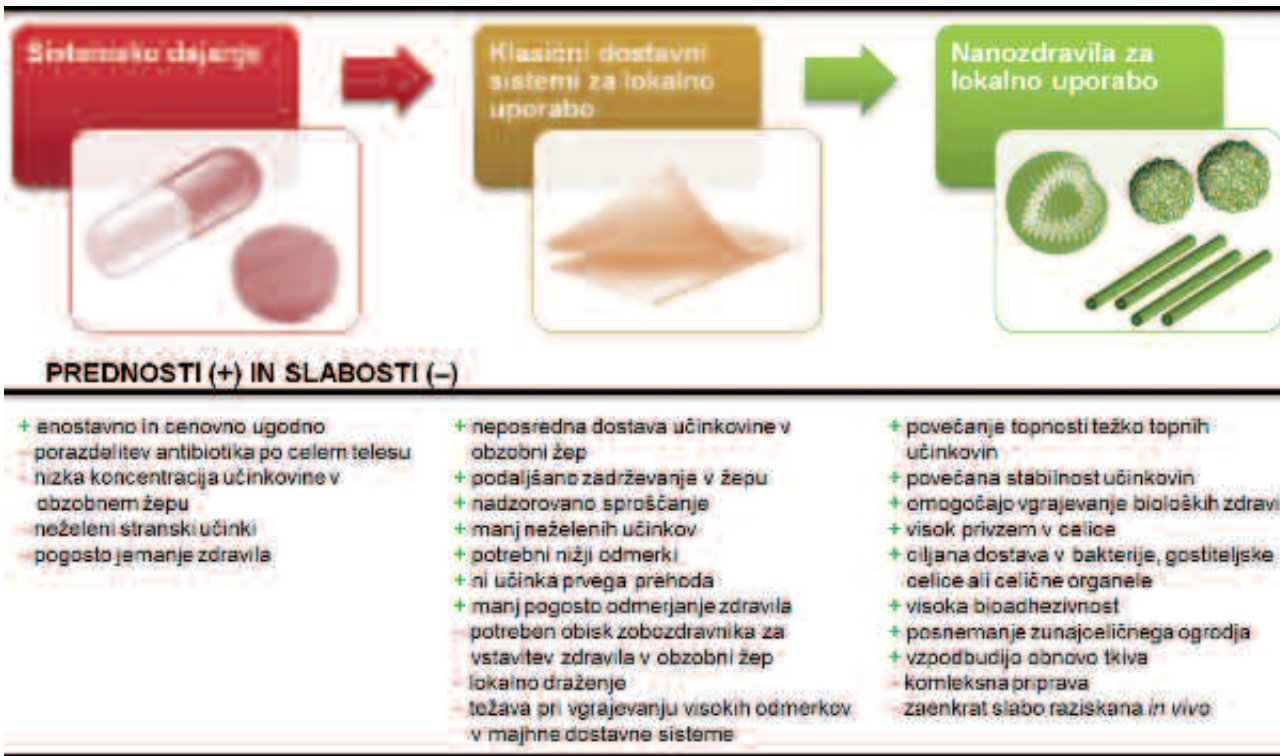
zobnega tkiva. Primeri takšnih učinkovin so doksiciklin, član skupine tetraciklinov, ki v majhnih odmerkih zavira matriksne metaloproteaze, ki razgrajujejo zunajcelično ogrodje (na primer kolagen I in fibronektin), znižata raven protivnetnih citokinov (IL-1, TNF-A), zavirata aktivnost encima NO sintetaze in fosfolipaze. Bifosfonati zavirajo resorpcijo kosti, nesteroidni antirevmatiki zmanjšajo vnetje in antioksidanti pripomorejo k vzpostavitvi oksidativnega ravnotežja (10, 14).

3.2.3 Regeneracija poškodovanega tkiva

Pri kirurškem postopku za regeneracijo obzobnih tkiv pod mukoperiostalno krpo namestijo membrano, ki preprečuje apikalno migracijo hitro rastočih epitelijskih celic, da imajo celice prisotne v kosti, cementu in pozobnici dovolj časa za obnovo. Če ta membrana ni biorazgradljiva, jo je potrebno kasneje kirurško odstraniti, kar je za bolnika neprijetno. Idealna membrana za regeneracijo obzobnih tkiv mora biti biokompatibilna, podobna zunajceličnemu ogrodju, da omogoča hitrejšo migracijo in razmnoževanje celic, dovolj trdna in čvrsta v prvih mesecih obnove, kasneje pa se mora razgraditi (15).

4 NANOZDRAVILA

Nanozdravila so kompleksni sistemi z velikostjo od nekaj do več sto nanometrov, ki so namenjeni za zdravljenje, lajšanje, preprečevanje ali odkrivanje bolezni. Navadno so sestavljeni iz učinkovine ali kombinacije učinkovin, vgrajenih v nanodostavne sisteme. Predstavljajo novost in še neizkoriščen potencial za učinkovitejše zdravljenje parodontalne bolezni z lokalnim ciljanjem in nadzorovanim sproščanjem antibiotikov, probiotikov in protivnetnih učinkovin. Le-ta se dlje časa zadržijo v obzobnem žepu in povečajo možnosti za obnovo obzobnih tkiv. Bistvena značilnost nanodostavnih sistemov je njihova nanometrsko velikost, ki je primerljiva velikostnemu redu bioloških molekul in struktur, zato lahko z njimi vstopajo v neposredne interakcije. Odras nanovelikosti so njihove specifične fizikalno-kemijske lastnosti, kot so večja (bio)adhezivnost in površinska reaktivnost v primerjavi z istimi materiali večjih dimenzij. Njihove lastnosti so odvisne tudi od vrste materiala, iz katerega je nanodostavni sistem izdelan. Z izborom materiala, ki mora biti biokompatibilen in netoksičen, lahko spreminjamo bioadhezivnost, mehanske lastnosti in profil razgradnje dostavnega



Slika 2: Napredek v zdravljenju parodontalne bolezni: od sistemskih protimikrobnih učinkovin do nanozdravil za lokalno dostavo.

Figure 2: Progress of periodontal disease treatment: from systemic administration of antibiotics to nanocarriers for local delivery.

sistema ter mehanizem sproščanja vgrajene učinkovine. Zelo obetavni nanodostavni sistemi za zdravljenje parodontalne bolezni so liposomi, polimerni nanodelci, in nanovlakna (preglednica 1), ki omogočajo vgrajevanje hidrofilnih in lipofilnih nizkomolekularnih učinkovin ter biomakromolekul ali celo celic (10). Nanodelci ali liposomi v disperziji bi se lahko po vstavitvi v obzobni žep hitro izplavili, zato jih je potrebno vgraditi v končno farmacevtsko obliko. Poleg vgradnje nanodelcev ali liposomov v bioadhezivne filme in vsadke je možno uporabiti tudi termoreverzibilni hidrogel. Prednosti le-tega so, da je pri sobni temperaturi tekoč in tako enostaven za dajanje v obzobni žep, ki pa tvori pri višji temperaturi (34–37 °C) zelo viskozen gel, ki se zadržuje dlje in sprošča počasneje (10, 16). Slika 2 prikazuje prednosti in slabosti nanozdravil za zdravljenje parodontalne bolezni.

4.1 LIPOSOMI

Liposomi so prvi nanodostavni sistem, registriran za klinično uporabo. So vezikli, ki jih sestavlja eden ali več fosfolipidnih dvoslojev, ki so med seboj ločeni z enakim številom vodnih prostorov. Raziskovalci so dokazali, da lahko z liposomi

dostavimo antibiotik v dentinske kanalčke, zmanjšamo razgradnjo tkiva s ciljano dostavo učinkovine v makrofage, povečamo topnost težko topnih učinkovin in uspešno zaščitimo in dostavimo encim, superoksid dismutazo, v obzobne žepe z namenom zmanjšanja vnetja. Vgradnja plazmidne DNA v liposome v kombinaciji z uporabo ultrazvoka se je pokazala kot ustreznna metoda za vnos genov v celice, ki pripomorejo k obnovi tkiva (10, 17).

4.2 POLIMERNI NANODELCI

Polimerni nanodelci so koloidni delci ogrodnega tipa. Za zdravljenje parodontalne bolezni kot izhodni material najpogosteje uporabljamo hitosan, ki ima že sam protimikrobne in protivnetne lastnosti. Njegova kationska narava, ki je posledica prisotnosti amino skupin v strukturi, je primerna za tvorbo kompleksov z anionskimi učinkovinami ali biomolekulami, kot sta DNA ali siRNA za gensko zdravljenje, ki jih lahko uporabili za zmanjšanje vnetja ali za obnovo obzobnega tkiva. Prav tako imajo nanodelci iz hitosana večjo afiniteto do bakterij kot do bolnikovih celic, kar omogoča ciljano dostavo fotosenzibilizatorja pri fotodinamski terapiji. Dokazali so tudi, da polimerni nanodelci lažje

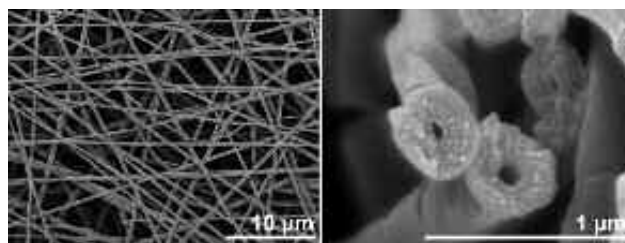
penetrirajo v biofilm kot večji delci in da omogočajo 14-dnevno nadzorovano sproščanje protimikrobnih učinkovin, če so izdelani iz ustreznega polimera (10).

4.3 NANOVLAKNA

Polimerna nanovlakna so ena izmed najsodobnejših oblik nanodostavnih sistemov. To so trdna vlakna nanometrskega premera, teoretično neomejene dolžine, z izredno veliko površino na enoto mase in veliko poroznostjo. Poleg tega jih odlikuje večja fleksibilnost in mehanska trdnost v primerjavi s katero koli drugačno obliko enakega materiala (18, 19). V namen zdravljenja parodontalne bolezni so že izdelali nanovlakna s skorajda vsemi protimikrobnimi učinkovinami, ki jih uporabljamo za zdravljenje parodontalne bolezni. Bioadhezivnost omogoča zadrževanje nanovlaken v obzobnih žepih in preprečuje njihovo izplavljanje z gingivalno tekočino (10). Nanovlakna so torej nosilci učinkovine, ki jo lahko nadzorovano sproščajo v obzobnem žepu, poleg tega pa s svojo strukturo posnemajo osnovne gradnike zunajceličnega ogrodja, kot so kolagenska in elastinska vlakna, in tako potencialno spodbujajo obnovo poškodovanega tkiva (18). Številne raziskave o vplivu materiala, trdnosti, urejenosti in debeline nanovlaken na rast, adhezijo in migracijo celic so pokazale, da morajo biti za uspešno obnovo tkiva navedeni parametri čim bolj podobni strukturnim elementom zunajceličnega ogrodja tkiva (20, 21). Biorazgradljiva membrana iz nanovlaken ima tako velik potencial za uporabo pri kirurških posegih (15). Raziskovalci so v nanovlakna vgradili tudi rastne dejavnike, na njih nasadili matične celice in ugotovili pospešeno obnovo obzobnega tkiva (22, 23).

5 TRENUTNE RAZISKAVE NANOZDRAVIL ZA ZDRAVLJENJE PARODONTALNE BOLEZNI

V sklopu projekta na Univerzi v Ljubljani, Fakulteti za farmacijo, v katerega je bila profesorica Saša Baumgartner zelo vpletena s svojimi idejami vse od zasnove, razvijamo in raziskujemo nanovlakna za zdravljenje parodontalne bolezni s ciljanim vnosom učinkovin v obzobne žepce. Doslej smo razvili različna polimerna nanovlakna z vgrajenimi protimikrobnimi in protivnetnimi učinkovinami, kot so metronidazol, ciprofloksacin in resveratrol, jih fizikalno ovrednotili in dokazali, da sta za podaljšano sproščanje učinkovin ključna izbor polimerov oziroma kombinacija le-teh in izbor



Slika 3: Mreža dvoslojnih nanovlaken (levo) in prerez nanovlaknen po sproščanju, med katerim se je hidrofilni polimer raztopil in difundiral v medij ter za seboj pustil votlo sredico v hidrofobni ovojnici (desno). **Figure 3:** Core-shell nanofiber mat (left) and the cross-section of nanofibers after release study (right). A hollow core in the hydrophobic shell was formed due to dissolution and diffusion of hydrophilic polymer to the medium.

metode za izdelavo nanovlaken (24–26). Pripravimo lahko eno- ali dvoslojna nanovlakna, ki omogočajo vgradnjo hidrofilne učinkovine v sredico; s hidrofobnim polimerom v ovojnici pa lahko nadzorujemo sproščanje v časovnem obdobju od 3 do 28 dni (24, 25). Primer takšnih dvoslojnih vlaknen prikazuje slika 3. Pogoji v obzobnem žepu se precej razlikujejo od pogojev, ki jih lahko dosežemo pri standardnih *in vitro* metodah za vrednotenje sproščanja, zato razvijamo nov model, s katerim bi *in vitro* bolje ponazarjali obzobni žep. Za testiranje učinkovitosti pripravljenih nanovlaken bomo razvili modelni biofilm, katerega mikrobiološko sestavo bomo predhodno določili na vzorcih zdravih in bolnih prostovoljcev.

6 SKLEP

S trenutno uveljavljenim načinom zdravljenja parodontalne bolezni v določenih primerih ne dosežemo zaustavitve bolezni in primerne regeneracije obzobnih tkiv, zato moramo razvijati nove metode in zdravila. Nanozdravila omogočajo vgradnjo tako nizkomolekularnih učinkovin kot biomakromolekul, njihovo ciljano dostavo v bakterije, celice ali celične organele. Poleg tega lahko z nanozdravili dosežemo prirejeno sproščanje učinkovin na tarčnem mestu, z nanovlakni pa lahko izboljšamo tudi obnovo prizadetega obzobnega tkiva. Velik izziv v prihodnosti predstavljajo klinični preizkusi učinkovitosti in varnosti nanozdravil ter prenos njihove priprave iz laboratorijskega v industrijsko merilo.

7 ZAHVALA

Avtorji se zahvaljujemo Ministrstvu za izobraževanje, znanost in šport Republike Slovenije in Javni agenciji za raziskovalno dejavnost RS za finančno podporo programa P1-0189 in projekta J1- 6746.

8 LITERATURA

1. Savage A, Eaton KA, Moles DR et al. A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease. *J Clin Periodontol* 2009; 36(6): 458-467.
2. Skalerič E, Petelin M, Kovač - Kavčič M et al. Potrebe po parodontalnem zdravljenju pri prebivalcih Ljubljane 20 let po prvem pregledu. *Zobozdrav Vestn* 2008; 63: 63-66.
3. Kshirsagar AV, Moss KL, Elter JR et al. Periodontal disease is associated with renal insufficiency in the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Am J Kidney Dis* 2005; 45(4): 650-657.
4. Bartova J, Sommerova P, Lyuya-Mi Y et al. Periodontitis as a risk factor of atherosclerosis. *J Immunol Res* 2014; 2014: 636893.
5. Berezow AB, Darveau RP. Microbial shift and periodontitis. *Periodontol* 2000 2011; 55(1): 36-47.
6. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends Immunol* 2014; 35(1): 3-11.
7. Iqbal Z, Jain N, Jain GK et al. Dental therapeutic systems. *Recent Pat Drug Deliv Formul* 2008; 2(1): 58-67.
8. Feres M, Figueiredo LC, Soares GMS et al. Systemic antibiotics in the treatment of periodontitis. *Periodontol* 2000 2015; 67(1): 131-186.
9. Jain N, Jain GK, Javed S et al. Recent approaches for the treatment of periodontitis. *Drug Discov Today* 2008; 13(21-22): 932-943.
10. Zupančič Š, Kocbek P, Baumgartner S et al. Contribution of Nanotechnology to Improved Treatment of Periodontal Disease. *Curr Pharm Des* 2015; 21(22): 3257-3271.
11. Skalerič U, Gašperšič R. Vrstni red stomatološkega zdravljenja s poudarkom na parodontalnem zdravljenju. *Zobozdrav Vestn* 2005; 60: 175-181.
12. Sowmya S, Bumgardener JD, Chennazhi KP et al. Role of nanostructured biopolymers and bioceramics in enamel, dentin and periodontal tissue regeneration. *Prog Polym Sci* 2013; 38(10-11): 1748-1772.
13. Petelin M, Perkic K, Seme K et al. Effect of repeated adjunctive antimicrobial photodynamic therapy on subgingival periodontal pathogens in the treatment of chronic periodontitis. *Lasers Med Sci* 2015; 30(6): 1647-1656.
14. Dentino A, Lee S, Mailhot J et al. Principles of periodontology. *Periodontol* 2000 2013; 61(1): 16-53.
15. Bottino MC, Thomas V, Schmidt G et al. Recent advances in the development of GTR/GBR membranes for periodontal regeneration - a materials perspective. *Dent Mater* 2012; 28(7): 703-721.
16. Matanović MR, Kristl J, Grabnar PA. Thermoresponsive polymers: insights into decisive hydrogel characteristics, mechanisms of gelation, and promising biomedical applications. *Int J Pharm* 2014; 472(1-2): 262-275.
17. Petelin M, Pavlica Z, Ivanusa T et al. Local delivery of liposome-encapsulated superoxide dismutase and catalase suppress periodontal inflammation in beagles. *J Clin Periodontol* 2000; 27(12): 918-925.
18. Pelipenko J, Kocbek P, Kristl J. Critical attributes of nanofibers: preparation, drug loading, and tissue regeneration. *Int J Pharm* 2015; 484(1-2): 57-74.
19. Rošič R, Kocbek P, Pelipenko J et al. Nanofibers and their biomedical use. *Acta Pharm* 2013; 63(3): 295-304.
20. Jankovic B, Pelipenko J, Skarabot M et al. The design trend in tissue-engineering scaffolds based on nanomechanical properties of individual electrospun nanofibers. *Int J Pharm* 2013; 455(1-2): 338-347.
21. Pelipenko J, Kocbek P, Govedarica B et al. The topography of electrospun nanofibers and its impact on the growth and mobility of keratinocytes. *Eur J Pharm Biopharm* 2013; 84(2): 401-411.
22. Bertoncelj V, Pelipenko J, Kristl J et al. Development and bioevaluation of nanofibers with blood-derived growth factors for dermal wound healing. *Eur J Pharm Biopharm* 2014; 88(1): 64-74.
23. Prosecka E, Rampichova M, Litvinec A et al. Collagen/hydroxyapatite scaffold enriched with polycaprolactone nanofibers, thrombocyte-rich solution and mesenchymal stem cells promotes regeneration in large bone defect in vivo. *J Biomed Mater Res A* 2015; 103(2): 671-682.
24. Zupančič Š, Sinha-Ray S, Sinha-Ray S et al. Controlled Release of Ciprofloxacin from Core-Shell Nanofibers with Monolithic or Blended Core. *Mol Pharmaceutics* 2016.
25. Zupančič Š, Sinha-Ray S, Sinha-Ray S et al. Long-Term Sustained Ciprofloxacin Release from PMMA and Hydrophilic Polymer Blended Nanofibers. *Mol Pharmaceutics* 2016; 13(1): 295-305.
26. Zupančič Š, Baumgartner S, Lavrič Z et al. Local delivery of resveratrol using polycaprolactone nanofibers for treatment of periodontal disease. *J Drug Deliv Sci Tec* 2015; 30: 408-416.

