بررسی مقایسه سطح هیدروکسی دی اکسی گوانوزین در بزاق بیماران با استوماتیت آفتی راجعه و افراد سالم

ندا امید پناه[۱]*، جلیل مومن بیت الهی[۲]، محمد گودرزی[۳]

[۱] استادیار گروه بیماری های دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

[۲] استادیار گروه بیماری های دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

[۳] دانشجوی دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تاریخ ارائه مقاله: ۹۶/۵/۲۹- تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۱۸

Comparison of 8-Hydroxy Deoxyguanosine Level in the Saliva between the Patients with Recurrent Aphthous Stomatitis and Healthy Individuals

Neda Omidpanah[1]*, Jalil Momen-Beitollahi[2], Mohamad Goodarzi[3]

[1] Department of Oral Medicine, School of Dentistry, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

[2] Department of Oral Medicine, School of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[3] General dentist, School of Dentistry, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

Received: 20 August 2017; Accepted: 9 September 2018

Introduction: Hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) is a product of DNA damage. Considering the role of oxidative stress in the etiopathogenesis of recurrent aphthous stomatitis, the present study aimed to evaluate the DNA damage caused by oxidative stress in these patients.

Materials and Methods: This case-control study was conducted on 30 patients with recurrent aphthous stomatitis and 30 healthy subjects. The subjects were matched in terms of age and gender. The inclusion criteria for enrollment were the absence of systemic diseases, no drug use, no tobacco and alcohol use, and no use of antioxidant supplements for the past 3 months. The inclusion criterion for recruitment in the study groups was the presence of a recurrent aphthous ulcer for a minimum of three times per year. Unstimulated saliva sampling was performed. Data were analyzed by t-student.

Conclusion: No significant difference was observed between the patients with recurrent aphthous stomatitis and healthy subjects regarding the level of 8-OHdG (P=0.427).

Key words: 8-OHdG, Recurrent Aphthous Stomatitis, Saliva, Oxidative Stress

***Corresponding Author: nomidpanah@kums.ac.ir , n.omidpanah@yahoo.com**

J Mash Dent Sch 2019; 42(4): 278-84.

چکیده

مقدمه: باتوجه به مطرح شدن نقش استرس اکسیداتیودر اتیوپاتوژنز استوماتیت آفتی راجعه، هدف مطالعه بررسی صدمه استرس اکسیداتیو به DNA را در این بیماری بود. محصول استرس اکسیداتیو به ۸DNA – هیدروکسی داکسی گوانوزین (8-OHdG) می باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه از نوع موردی-شاهدی (Case/control) می باشد. ۳۰ بیمار مبتلا به استوماتیت آفتی راجعه و ۳۰ فرد سالم که از نظر سن و جنس با هم همسان شده بوده اند، انتخاب شده اند. معیارهای ورود به مطالعه شامل نداشتن تاریخچه بیماری سیستمیک، نگرفتن دارو، عدم استعمال سیگار و الکل و عدم استفاده از مکمل آنتی اکسیدان در ۳ ماه گذشته بود. معیار ورود به گروه مورد عود حداقل سه بار در سال آفت بود. جمع آوری بزاق به صورت غیرتحریکی و تحلیل آماری با آزمون *t*-student انجام شد (P=۰/۰۵).

یافته ها: در این مطالعه در هر یک از دو گروه مورد و شاهد ۶۳/۲ درصد زن و ۳۶/۷ درصد مرد وجود داشت. میانگین و انحراف معیار سطح ۸-هیدروکسی داکسی گوانوزین بزاق بیماران در گروه بیماران ۱۲/۷۷±۳۸/۸۴ و در افراد سالم ۱۱/۷۸±۴۱/۲۸ بود که تفاوت معنی داری نداشتند. سطوح ۸ – هیدروکسی داکسی گوانوزین بزاق بیماران با استوماتیت آفتی راجعه و افراد سالم تفاوت آماری معنی داری نداشت (P=۰/۴۲۷).

کلمات کلیدی: ۸ - هیدروکسی داکسی گوانوزین، استوماتیت آفتی راجعه، بزاق، استرس اکسیداتیو.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۷ دوره ۴۲ / شماره ۴ : ۸۴-۲۷۸ .

---

* مولف مسؤول، نشانی: کرمانشاه، خیابان شریعتی، دانشکده دندانپزشکی، تلفن: ۰۹۱۸۸۳۹۵۷۵۱

E-mail: nomidpanah@kums.ac.ir , n.omidpanah@yahoo.com

مقدمه

استوماتیت‌آفتی‌راجعه (Recurrent aphthous stomatitis) یکی از شایعترین زخم های التهابی و عودکننده حفره دهان است.[۱] که شیوع آن بین جمعیت‌های مختلف از ۲ تا ٦٦ درصد گزارش شده است.[۲-۱] افراد مبتلا معمولاً ٤-۲ بار در سال دچار آفت می شوند که پس از ۸-۵ روز هم بهبود می یابد.[۳] ضایعات آفتی بر طبق طبقه‌بندی Stanley به ۳ شکل مختلف دیده می‌شوند: زخم‌های آفتی مینور، زخم‌های آفتی ماژور و زخم‌های هرپتی فرم[٤]؛ زخم‌های آفتی مینور ۸۰ درصد ضایعات را تشکیل می دهند.[۵]

اتیولوژی RAS ناشناخته است. ولی عوامل مستعدکننده زیادی شانس ابتلا به این بیماری را افزایش می‌دهند. در پزشکی مدرن، فاکتورهایی مثل ارث، بیماری‌های میکروبی دهان، ابنورمالیتی ایمونولوژیک، اختلالات میکرو واسکولار، کمبود عناصر معدنی، دیسکرازی اندو کرین و دیسفانکشن معده‌ای-روده‌ای، در ارتباط با RAS شناخته شده است.[۹-۵] این فاکتورها می‌تواند تعادل سیستم آنتی اکسیدان را بهم بزند و تشکیل رادیکال‌های آزاد را تسریع کند.[۱۰]

رادیکال‌های آزاد مولکول‌هایی با یک جفت الکترون جفت نشده می باشد که قادرند در سلول تغییرات شیمیایی گوناگون ایجاد کنند و به پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و نوکلئوتیدها در بافت صدمه بزنند.[۱۲و۱۱] رادیکال‌های آزاد همراه با یون‌های فلزی می‌توانند به زنجیره DNA باند شوند و به طور مستقیم با اسیدهای نوکلئیک وارد واکنش شده و باعث صدمه به DNA و شکست آن شوند که ممکن است نتایج موتاژنیک داشته باشد. اثر دیگر رادیکال آزاد بر DNA فعال شدن سیستم‌های متابولیک خاص به عنوان مثال اندونوکلئاز وابسته به کلسیم است که باعث شکاف زنجیره DNA می‌شود. DNA صدمه دیده ایمونوژنیک می‌شود و باعث تولید اتو آنتی‌بادی می‌گردد.[۱۳] سطح ۸-هیدروکسیداکسی گوانوزین (8-OHdG) برای ارزیابی صدمه DNA استفاده شده است. این امکان هست که سیتوتوکسیتی از طریق اکسیداتیو استرس بوسیله کشف G 8-OHd اثبات شود. بنابراین از آن به عنوان بیومارکر صدمه اکسیداتیو استفاده شده است.[۱٤]

مطالعات مختلف با بررسی سطح 8-OHdG در مایعات بدن نظیر ادرار، پلاسما و بزاق، افزایش آن را در شرایط پاتولوژیک مختلف مانند سرطان‌ها[۱۷-۱۵]، بیماری‌های عصبی[۱۹و۱۸]، دیابت[۲۱و۲۰]، آلزایمر[۲۲]، بیماری‌های قلبی-عروقی و صدمات ایسکمیک[۲٤-۲۲] و شرایط التهابی مزمن[۲۵] نشان داده اند. بعضی از انواع بیماری‌های التهابی، مخصوصاً بیماری‌های پریودنتال، در ارتباط با کاهش شرایط آنتی اکسیدان بزاقی و افزایش صدمه اکسیداتیو در داخل حفره دهان می باشد.[۲٦]

در بدن سیستم‌های خاصی برای مقابله با آسیب‌های حاصل از رادیکال‌های آزاد وجود دارند که به نام سیستم آنتی اکسیدان معروف اند. بزاق به عنوان اولین خط دفاعی علیه رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند و به عنوان یک وسیله تشخیصی برای بسیاری از بیماری‌های سیستمیک و دهان مطرح است.[۲۷] مطالعات زیادی ارتباط بین اکسیداتیو استرس و شیوع RAS را گزارش کردند. Saral و همکارانش[۲۸] نشان دادند که قابلیت انتی‌اکسیدان غیرآنزیمی (ویتامین‌های E,C،A) در بزاق مبتلایان به RAS در مقایسه با افراد سالم پایین تر اما سطوح MDA (محصول صدمه استرس اکسیداتیو به لیپیدها) در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود. Babaee و همکاران[۲۹] در بیماران با RAS سطح بزاقی MDA را به طور قابل توجهی بالاتر از افراد سالم گزارش کردند.[۲۹] Karin caoalu و

همکاران[۳۰] با بررسی آنزیم‌های آنتی اکسیدان بزاقی بالا بودن سطوح سوپراکسید دسموتاز، کاتالازو پایین تر بودن سطوح گلوتاتیون پراکسیداز را در مبتلایان به RAS نسبت به افراد سالم گزارش کردند. در این مطالعه بر آن شدیم که اثر استرس اکسیداتیو بر DNA در RAS را ارزیابی کنیم.

مواد و روش‌ها

در مجموع ٦٠ نفر در این مطالعه مورد-شاهدی شرکت داده شدند. نمونه‌ها شامل ۳۰ بیمار مبتلا به استوماتیت آفتی راجعه به عنوان گروه مورد و ۳۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل مراجعه‌کنندگان به بخش بیماری‌های‌دهان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران انتخاب شده‌اند. افراد از نظر سن و جنس همسان شده بودند. مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران تایید شد. پس از توضیح پروتکل مطالعه برای همه شرکت‌کنندگان، رضایت‌نامه کتبی آگاهانه از هرکدام از شرکت‌کنندگان اخذ شد.

معیارهای ورود به مطالعه شامل تاریخچه کلاسیک آفت (عود ۳ بار در سال) و زخم راجعه دهانی براساس تاریخچه و یافته‌های بالینی بیمار و معیارهای خروج از مطالعه شامل وجود هرگونه بیماری سیستمیک یا مصرف هرگونه داروی سیستمیک، مصرف سیگار و الکل، مصرف مکمل تغذیه‌ای در ۳ ماه گذشته، وجود هرگونه ضایعه دهانی یا مخاطی و پوستی دیگر و وجود بیماری پریودنتال بود.

اطلاعات دموگرافیک، تاریخچه کامل پزشکی و تاریخچه بیماری در پرسشنامه ای ثبت شد. نمونه گیری از بیماران بین ساعت ۹ صبح و ۱۳ بعد از ظهر با استفاده از روش Spiting انجام شد. از بیمار درخواست شد که ۹۰ دقیقه از خوردن و آشامیدن اجتناب کند. سپس میزان حداقل ۵ سی‌سی بزاق غیرتحریکی جمع‌آوری شد. نمونه‌ها تا زمان آنالیز در یخچال با دمای ۲۰ – درجه سانتیگراد نگهداری شدند. بعد از انتخاب ۳۰ فرد مبتلا به استوماتیت آفتی راجعه، ۳۰ فرد سالم نیز انتخاب شدند. هر فرد شاهد، به صورتی که از نظر سن و جنس مشابه یکی از افراد گروه مورد باشد انتخاب می شد. به این ترتیب دو گروه شاهد و مورد از نظر سن و جنس به صورت جفتی همسان شدند. بزاق‌های جمع آوری شده در (دور) ۲۰۰۰g برای ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع شناور در ۲۰- °C تا زمان آنالیز نگهداری شد. بررسی ایمونوآنزیمومتریک برای اندازه‌گیری ۸-هیدروکسیداکسی گوانوزین با استفاده از کیت الیزا (USA, Michigon, AnnArbor) انجام شد. سطح 8-OHdG بزاقی براساس دستورالعمل کارخانه سازنده تعیین شد. در این روش از انتی بادی مونوکلونال با اختصاصیت بالا به عنوان آنتی بادی اولیه استفاده شد، توسط کیت الیزا رقابتی اندازه گیری انجام شد.

مقدار 8-OHdG به صورت نانوگرم/میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS آنالیز شد. تفاوت در سطوح 8-OHdG بین گروه مورد و کنترل با استفاده از Paired T-test ارزیابی شد. تفاوت معنی‌دار کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد ($P<۰/۰۵$).

یافته‌ها

در این مطالعه ٦٠ فرد (۳۰ بیمار مبتلا به افت و ۳۰ فرد کنترل سالم) مورد بررسی قرار گرفتند؛ که شامل ۱۹ زن و ۱۱ مرد بودند که طیف سنی بین ٦٠-٢٤ سال داشتند (متوسط سن: ۳۷ سال)؛ دو گروه از نظر سن و جنس کاملاً همسان بودند. نتایج حاصل از مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS با ویرایش ۱۱/۵ به دست آمد. نتایج حاصل از مطالعه نشان می داد که میزان 8-OHdG در گروه بیماران

مبتلا به آفت و افراد کنترل تفاوت معنی دار آماری نداشت (P=۰/٤۲۷).

جدول ۱ : میانگین و انحراف معیار هیدروکسی داکسی گوانزین 8-OHdG بین استوماتیت افتی راجعه و افراد سالم

استوماتیت افتی راجعه انحراف معیار± میانگین	کنترل انحراف معیار ± میانگین	P-value
۳۸/۸٤±۱۲/۷۷	٤۱/۲۸±۱۱/۷۸	۰/٤۲۷

بحث

با وجود آنکه آفت دهانی شایعترین زخم التهابی در داخل حفره دهان است ولی اتیولوژی آن همچنان ناشناخته است. به طور کلی در شرایط التهابی میزان استرس اکسیداتیو در بدن افزایش می یابد. خوشبختانه سلول برای مقابله با این اثرات مضر استرس اکسیداتیو می‌تواند فاکتورهای دفاع گوناگون خود را افزایش دهد. مثال‌های شایع فاکتورهای دفاع اکسیداتیو شامل گلوتاتیون، سوپراکسیددسموتاز، کاتالاز، NADPH دهیدروژناز و ... است.[۳۲و۳۱] به هر حال اگر فاکتورهای دفاعی غیرکافی یا فاکتورهای آسیب‌رسان غالب باشند بیماری می تواند اتفاق بیفتد.

جمع‌آوری بزاق، آسان، غیرتهاجمی و کم هزینه است. در مطالعات متعدد انواع ترکیبات بزاقی به عنوان مارکر بیماری‌ها مورد بررسی قرار گرفته‌اند. ارزیابی وضعیت استرس اکسیداتیو در مایع بزاق می تواند به‌عنوان یک روش برای تشخیص، پیگیری و درمان برخی از بیماری‌ها باشد.[۳۳] تغییرات سطح آنتی‌اکسیدان بزاق در بیماری‌های دهانی و سیستمک از جمله بیماری‌های پریودنتال[۳٤]، پوسیدگی دندان[۳۵]، لیکن‌پلان[۳٦] و لوپوس اریتماتوز[۳۷] گزارش شده است.

در مطالعه حاضر 8-OHdG بزاقی در بیماران با RAS و افراد سالم مورد ارزیابی قرار گرفت. طبق جستجوی انجام شده اندازه‌گیری صدمه استرس اکسیداتیو به پروتئین و لیپیدها انجام شده است ولی مطالعه ای که صدمه استرس اکسیداتیو به DNA را ارزیابی کرده باشد در دسترس نبود. بنظر می‌رسد مطالعه موجود از اولین موارد بررسی تغییرات 8-OHdG در بیماران آفتی باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بین 8-OHdG بزاقی بیماران افتی و سالم تفاوتی وجود ندارد. همچنین Caglyan و همکاران[۳۷] تفاوت قابل توجهی از نظر ظرفیت انتی اکسیدان، شاخص استرس اکسیداتیو و فعالیت میلوپراکسیدازبین مبتلایان بهRAS و افراد سالم نیافتند و به این نتیجه رسیدند که استرس اکسیداتیو در بروز RAS اثر ندارد. Momen-Beitollahi و همکارانش[۳۸] تفاوت معنی‌داری از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدان بزاقی در دو گروه RAS و افراد سالم پیدا نکردند.[۳۸]

Khademi و همکاران[۳۹] نیز مقدار مالون دی الدهید (MDA) و ویتامین‌های آنتی اکسیدان E,C،A بزاق در دو گروه RAS و افراد سالم را مشابه گزارش کردند.

Guler و همکاران[٤۰] در مطالعه ای، به بررسی سطح 8-OHdG و آنتی اکسیدان در بزاق کودکان تحت ارتودنسی ثابت پرداختند. این بیومارکرها یک و سه ماه بعد از درمان ارزیابی شدند. این مطالعه به دلیل بررسی اثر ژنوتوکسیسیته وسیتوتوکسیسیته کامپوزیت‌ها جهت چسباندن براکت انجام شد. نتیجه آن‌ها نشان داد که دستگاه‌های ارتودنسی ثابت که با کامپوزیت باند می شوند باعث افزایش سطح 8-OHdG به عنوان مارکر سیتوتوکسیسیته نمی شود.

Honda و همکارانش[٤۱] با فرض 8-OHdG به عنوان مارکر مهم برای ارزیابی صدمه اکسیداتیو DNA، با بررسی

بیماران دچار بدخیمی‌های خونی به این نتیجه رسیدند که میزان 8-OHdG ادرار این افراد در مقایسه با افراد سالم افزایش یافته است. Kitada و همکارانش[۴۲] آسیب اکسیداتیو DNA در اشکال مختلف بیماری‌های کبدی را محرز دانستند و افزایش 8-OHdG را در این بیماران گزارش کردند. با توجه به مطالعات ذکر شده به نظر می‌رسد بیماری‌های سیستمیک و انواع سرطان‌ها با کاهش قدرت دفاع آنتی اکسیدانی بدن می توانند باعث صدمه به DNA شوند. در این مطالعه تفاوت معنی دار آماری بین سطوح هیدروکسیدکسی گوانوزین (8-OHdG) در بیماران با استوماتیت آفتی راجعه و افراد سالم پیدا نشد، پس می توانیم بگوئیم ممکن است صدمه استرس اکسیداتیو در بیماران RAS نتواند به آسیب DNA منجر شود. بنابراین با وجود مقالات ضد و نقیض در مورد نقش اتیولوژی استرس اکسیداتیو در بروز RAS مطالعه ای با تعداد نمونه بیشتر پیشنهاد می‌گردد. از طرفی به دلیل وجود عوامل مداخله کننده پیشنهاد می شود در مطالعات بعدی سطح 8-OHdG در بیماران RAS در دو فاز بهبودی و فعال سنجیده شود.

تشکر و قدر دانی

مقاله برگرفته از پایان نامه به شماره ۷۲۶ تخصصی می‌باشد. از همکاری و حمایت مالی معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم‌پزشکی تهران سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

1. .Shulman JD. An exploration of point, annual, and lifetime prevalence in characterizing recurrent aphthous stomatitis in USA children and youths. Journal Oral Pathology Medicine 2004; 33(9): 558-66.
2. Axéll T, Henricsson V. The occurrence of recurrent aphthous ulcers in an adult: Swedish population. Acta Odontologica Scandinavica 1985; 43(2): 121-5.
3. Fahmy MS. Recurrent aphthous ulcerations in a mixed Arab community. Community dentistry Oral Epidemiology 1976; 4(4): 160-4.
4. Miller MF, Ship II, Ram C. A retrospective study of the prevalence and incidence of recurrent aphthous ulcers in a professional population, 1958-1971. Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology 1977; 43(4): 532-7.
5. Koybasi S, Parlak AH, Serin E, Yilmaz F, Serin D. Recurrent aphthous stomatitis: Investigation of possible etiologic factors. American Journal Otolaryngology 2006; 27(4): 229-32.
6. .McCullough MJ, Abdel-Hafeth S, Scully C. Recurrent aphthous stomatitis revisited; clinical features, associations, and new association with infant feeding practices? Journal Oral Pathology Medicine 2007; 36(10): 615-20.
7. Stanley HR. Aphthous lesions. Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology 1972; 33(3): 407-16.
8. Porter S, Scully C, Pedersen A. Recurrent aphthous stomatitis. Critical Reviews Oral Biology Medicine 1998; 9(3): 306-21.
9. Burgan SZ, Sawair FA, Amarin ZO. Hematologic status in patients with recurrent aphthous stomatitis in Jordan. Saudi Medical Journal 2006; 27(3): 381-4.
10. Khan NF, Saeed M, Chaudhary S, Khan N. Haematological parameters and recurrent aphthous stomatitis. J Coll Physicians Surg Pak 2013; 23(2): 124-7.
11. Arikan S, Durusoy C, Akalin N, Haberal A, Seckin D. Oxidant/antioxidant status in recurrent aphthous stomatitis. Oral Diseases 2009; 5(7): 512-5.
12. Saral Y, Coskun BK, Ozturk P, Karatas F, Ayar A. Assessment of salivary and serum antioxidant vitamins and lipid peroxidation in patients with recurrent aphthous ulceration. Tohoku Journal Experimental Medicine 2005; 206(4): 305-12.
13. Kalkan G, Yigit S, Karakus N, Baş Y, Seçkin HY. Association between interleukin 4 gene intron 3 VNTR polymorphism and recurrent aphthous stomatitis in a cohort of Turkish patients. Gene 2013; 527(1): 207-10.
14. Karasneh J, Bani-Hani M, Alkhateeb A, Hassan A, Alzoubi F, Thornhill M. TLR2, TLR4 and CD86 gene polymorphisms in recurrent aphthous stomatitis. Journal Oral Pathology Medicine 2015; 44(10): 857-63.
15. Al-Omiri MK, Karasneh J, Lynch E. Psychological profiles in patients with recurrent aphthous ulcers. International Journal Oral Maxillofacial Surgery 2012; 41(3): 384-8.

16. Gallo CdB, Mimura MAM, Sugaya NN. Psychological stress and recurrent aphthous stomatitis. Clinics 2009; 64(7): 645-8.
17. Picek P, Buljan D, Andabak Rogulj A, Stipetić-Ovčarićek J, Čatić A, Pleština S, et al. Psychological status and recurrent aphthous ulceration. Collegium Antropologicum 2012; 36(1): 157-9.
18. Murroy RK GD, Moyes PA, Rodwell VW. Harper's biochistry. 3th ed. 1993.
19. Mahan LK SS. Krause's food, nutrition and diet therapy. 11th ed. Elsevier; 2004.
20. Haliwell B JMCG. Free radicals in biology and medicine: Oxford University Press Inc; 2002.
21. Cheng KC, Cahill DS, Kasai H, Nishimura S, Loeb LA. 8-Hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage ,causes G----T and A----C substitutions. Journal of Biological Chemistry 1992; 267(1): 166-72.
22. Kasai H. Chemistry-based studies on oxidative DNA damage: formation, repair, and mutagenesis 1, 2. Free Radical Biology Medicine 2002; 33(4): 450-6.
23. Scandalios J. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. Brazilian Journal Medical Biological Research 2005; 38(7): 995-1014.
24. Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine: Oxford University Press, USA; 2015.
25. Matsui A, Ikeda T, Enomoto K, Hosoda K, Nakashima H, Omae K, et al. Increased formation of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine, in human breast cancer tissue and its relationship to GSTP1 and COMT genotypes. Cancer Letters 2000; 151(1): 87-95.
26. Yano T, Shoji F, Baba H, Koga T, Shiraishi T, Orita H, et al. Significance of the urinary 8-OHdG level as an oxidative stress marker in lung cancer patients. Lung Cancer 2009; 63(1): 111-4.
27. KikuchiA, Takeda A, Onodera H, Kimpara T, Hisanaga K, Sato N, et al. Systemic increase of oxidative nucleic acid damage in Parkinson's disease and multiple system atrophy. Neurobiology Disease 2002; 9(2): 244-8.
28. Long JD, Matson WR, Juhl AR, Leavitt BR, Paulsen JS, Investigators P-H, et al. 8OHdG as a marker for Huntington disease progression. Neurobiology Disease 2012; 46(3): 625-34.
29. Ihara Y, Toyokuni S, Ichida K, Odaka H. Hyperglycemia causes oxidative stress in pancreatic beta-cells of GK rats, a model of type 2 diabetes. Diabetes 1999; 48(4): 927.
30. Wu LL, Chiou C-C, Chang P-Y, Wu JT. Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. Clinica Chimica Acta 2004; 339(1): 1-9.
31. MecocciP, Polidori MC, Cherubini A, Ingegni T, Mattioli P, Catani M, et al. Lymphocyte oxidative DNA damage and plasma antioxidants in Alzheimer disease. Archives Neurology 2002; 59(5): 794-8.
32. Cordis GA, Maulik G, Bagchi D, Riedel W, Das DK. Detection of oxidative DNA damage to ischemic reperfused rat hearts by 8-hydroxydeoxyguanosine formation. Journal Molecular Cellular Cardiology 1998; 30(10): 1939-44.
33. Kono Y, Nakamura K, Kimura H, Nishii N, Watanabe A, Banba K, et al. Elevated levels of oxidative DNA damage in serum and myocardium of patients with heart failure. Circulation Journal 2006; 70(8): 1001-5.
34. Watanabe E, Matsuda N, Shiga T, Kajimoto K, Ajiro Y, Kawarai H, et al. Significance of 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine levels in patients withidiopathic dilated cardiomyopathy. Journal of Cardiac Failure 2006; 12(7): 527-32.
35. Takane M, Sugano N, Iwasaki H, Iwano Y, Shimizu N, Ito K. New biomarker evidence of oxidative DNA damage in whole saliva from clinically healthy and periodontally diseased individuals. Journal Periodontology 2002; 73(5): 551-4.
36. Tomofuji T, Azuma T, Kusano H, Sanbe T, Ekuni D, Tamaki N, et al. Oxidative damage of periodontal tissue in the rat periodontitis model: effects of a high-cholesterol diet. FEBS letters 2006; 580(15): 3601-4.
37. Arunachalam R, Reshma AP, Rajeev V, Kurra SB, Prince MRJ, Syam N. Salivary 8-Hydroxydeoxyguanosine – a valuable indicator for oxidative DNA damage in periodontal disease. Saudi Journal Dental Research 2015; 6(1): 15-20.
38. Terao J, Nagao A. Antioxidative effect of human saliva on lipid peroxidation. Agricultural Biological Chemistry 1991; 55(3): 869-72.
39. Avci E, Akarslan Z, Erten H, Coskun-Cevher S. Oxidative stress and cellular immunity in patients with recurrent aphthous ulcers. Brazilian Journal Medical Biological Research 2014; 47(5): 355-60.
40. Momen-Beitollahi J, Mansourian A, Momen-Heravi F, Amanlou M, Obradov S, Sahebjamee M. Assessment of salivary and serum antioxidant status in patients with recurrent aphthous stomatitis. Med Oral patol Oral Cir Bucal 2010; 15(4): 557-61.
41. Bagan J, Saez G, Tormos C, Gavalda C, Sanchis JM, Bagan L, et al. Oxidative stress and recurrent aphthous stomatitis. Clinical Oral Investigations 2014; 18(8): 1919-23.

42. BilgiliSG, Ozkol H, Takci Z, Ozkol HU, Karadag AS, Aslan M. Assessment of the serum paraoxonase activity and oxidant/antioxidant status in patients with recurrent aphthous stomatitis. International Journal Dermatology 2013; 52(10): 1259-64.
43. Lunec J, Holloway KA, Cooke MS, Faux S, Griffiths HR, Evans MD. Urinary 8-oxo-2′-deoxyguanosine: redox regulation of DNA repair *in vivo*? Free Radical Biology Medicine 2002; 33(7): 875-85.
44. Honda M, Yamada Y, Tomonaga M, Ichinose H, Kamihira S. Correlation of urinary 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine (8-OHdG), a biomarker of oxidative DNA damage, and clinical features of hematological disorders: A pilot study. Leukemia Research 2000; 24(6): 461-8.
45. Kitada T, Seki S, Iwai S, Yamada T, Sakaguchi H, Wakasa K. In situ detection of oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in chronic human liver disease. Journal Hepatology 2001; 35(5): 613-8.
46. Canakci CF, Cicek Y, Yildirim A, Sezer U, Canakci V. Increased Levels of 8-Hydroxydeoxyguanosine and Malondialdehyde and its Relationship with Antioxidant Enzymes in Saliva of Periodontitis Patients. European Journal Dentistry 2009; 3(2): 100-6.
47. Agha-Hosseini F, Mirzaii-Dizgah I, Farmanbar N, Abdollahi M. Oxidative stress status and DNA damage in saliva of human subjects with oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma. Journal Oral Pathology Medicine 2012; 41(10): 736-40.