



## Caso clínico

# Concentración de antioxidantes totales en saliva en un adulto de 55 años con enfermedad periodontal y tabaquismo crónico intenso. Caso clínico

*Concentration of total antioxidants in saliva in a 55-year-old adult with periodontal disease and severe chronic smoking. Case report*

Beatriz Hernández-Monjaraz<sup>1</sup> y Víctor Manuel Mendoza-Núñez<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Alumna del Doctorado en Ciencias Biológicas, UNAM.

<sup>2</sup> Profesor de tiempo completo titular "C" y tutor del Doctorado en Ciencias Biológicas, UNAM.

## RESUMEN

**Introducción.** El tabaquismo es uno de los mayores problemas de salud a nivel mundial, ya que es factor de riesgo de numerosas enfermedades, incluidas la enfermedad periodontal (EP). En este sentido, la capacidad antioxidante total (AOx) de la saliva juega un papel crucial para defender a los tejidos orales de los radicales libres que genera el humo del cigarro, por lo cual el objetivo de este manuscrito es medir los niveles AOx en saliva de un paciente fumador con EP. **Caso clínico.** Paciente masculino de 55 años, que presenta movilidad grado III en los incisivos central y lateral. A la anamnesis el paciente menciona ser fumador desde los 17 años y consumir alrededor de 20 cigarrillos desde entonces. A la exploración intrabucal, se observa que los dientes "12" y "11" tienen bolsas periodontales mayores a 7mm. En la tomografía se observa pérdida severa del hueso alveolar vestibular y palatino alrededor de dichos dientes. Al analizar la concentración de AOx del paciente (0.361 mmol/L) se observó una disminución estadísticamente significativa respecto a los valores reportados de pacientes no fumadores (0.648 ± 0.32 mmol/L). **Conclusión.** Nuestros hallazgos sugieren que el hábito crónico de fumar tabaco está relacionado con niveles bajos de antioxidantes en saliva y consecuentemente enfermedad periodontal y pérdida de hueso alveolar.

**Palabras clave:** Tabaquismo crónico intenso, antioxidantes totales en saliva, enfermedad periodontal, estrés oxidativo.

## ABSTRACT

**Introduction.** Smoking is one of the biggest health problems worldwide, since it is a risk factor for numerous diseases, including periodontal disease (PD). In this sense, the total antioxidant capacity of saliva plays a crucial role in defending oral tissues from free radicals generated by cigarette smoke. Hence, the objective of this manuscript is to measure the total antioxidant levels in saliva of a smoker patient with PD. **Case report.** A 55-year-old male patient with grade III mobility in the central and lateral incisors. In the anamnesis, the patient mentions being a smoker since he was 17 years old and consuming around 20 cigarettes since then. At the intraoral examination, it is observed that teeth "11" and "12" have periodontal pockets greater than 7mm. Severe loss of vestibular and palatal alveolar bone around these teeth is observed on tomography. When analyzing the level of antioxidants in the patient (0.361 mmol/L), a statistically significant decline was observed compared to the values of non-smokers (0.648 ± 0.32 mmol/L). **Conclusion.** Our findings suggest that chronic tobacco smoking is related to low levels of antioxidants in saliva, and consequently, to periodontal disease and alveolar bone loss.

**Key words:** Severe chronic smoking, total antioxidants in saliva, periodontal disease, oxidative stress.

**Correspondencia:** Víctor Manuel Mendoza-Núñez

Email: mendovic@unam.mx

Artículo recibido: 29 de julio del 2020

Artículo aceptado: 31 de agosto 2020

Hernández-Monjaraz B y Mendoza-Núñez VM. Niveles de antioxidantes en un paciente fumador con enfermedad periodontal.

Caso clínico. CyRS. 2022; 4(1):29-38

DOI: <https://doi.org/10.22201/fesz.26831422e.2022.4.1.4>



## INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal (EP) es una alteración crónica que inicia por la colonización de bacterias Gram negativas y se continua por la desregulación del sistema inmunológico.<sup>1</sup> Si bien se considera que las bacterias son el factor desencadenante, existen diversos factores de riesgo asociados como la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), la edad y en específico, el tabaquismo.<sup>2</sup>

El hábito de fumar tabaco es responsable de casi 9 millones de muertes anuales en todo el mundo, y sólo superado por la presión arterial sistólica alta,<sup>3</sup> ya que interrumpe el funcionamiento de casi todos los sistemas, incluyendo al sistema estomatognático.<sup>4</sup>

Se ha observado que el tabaquismo eleva el riesgo de casi todas las afecciones a este sistema y disminuye las posibilidades de que muchos tratamientos dentales tengan éxito.<sup>5</sup>

En este sentido, la exposición al humo del tabaco afecta la respuesta del sistema inmune oral ante la biopelícula dental, aumenta la producción de IL-8, TNF- $\alpha$  y disminuye los niveles de antioxidantes.<sup>6</sup>

Los antioxidantes totales o capacidad antioxidante total (AOx), es un marcador bioquímico que muestra la capacidad antioxidante sérica global contra los radicales libres y estrés oxidativo (EOx) que se producen en el estallido respiratorio de los polimorfonucleares estimulados<sup>7</sup> y probablemente, su funcionamiento está alterado en los pacientes con EP.

En este caso clínico se analiza la relación del hábito crónico de fumar con la EP y los niveles de AOx en un paciente adulto de 55 años de edad.

## CASO CLÍNICO

Paciente masculino de 55 años que se presenta al servicio de odontología de la Clínica Universitaria para la



Figura 1. Se observa pérdida severa de la inserción clínica. La profundidad al sondeo es mayor a 10 mm. a) Vista vestibular, b) Vista palatina



Figura 2. Medición de la profundidad al sondeo del resto de dientes. Se presenta sangrado gingival y bolsas periodontales mayores a 4mm en promedio.b) Vista palatina

Atención a la Salud (CUAS) “Los Reyes” por presentar movilidad dental.

Entre los antecedentes heredofamiliares de mayor importancia se puede señalar padre con hipertensión arterial, quien falleció a causa de un accidente vascular cerebral. Madre con DM2, hipertensión arterial, artritis, enfermedad de Alzheimer y EP.

Respecto a los antecedentes personales patológicos, el paciente reportó presentar hipertensión arterial, crisis convulsivas, dislipidemia y apnea del sueño desde hace más de un década.

Refiere como hábito nocivo fumar alrededor de 20 cigarrillos diarios desde los 17 años de edad.

En la exploración bucal, se observan tejidos blandos, paladar, piso de boca, lengua e istmo de las fauces, sin

alteraciones. Caries de primer y segundo grado en todos los molares. Higiene oral regular, presenta acumulo de biopelícula dental, pero no de cálculo. EP severa y generalizada, con movilidad grado III y movilidad grado III en los dientes “11” y “12”, además de pérdida de los dientes “18”, “26” y “28” a causa de ésta.

Para realizar el diagnóstico, se decide hacer el sondeo, con sonda tipo Goldman, de los dientes con movilidad (Figura 1) y de los demás dientes (Figura 2), para determinar el grado de pérdida de la inserción.

Se observa sangrado al sondeo tanto en dientes inferiores como superiores. En los dientes “11” y “12” hay bolsas tan profundas que no alcanzan a ser medidas por la sonda, así que se considera que son mayores a 10 mm.

Además, se realizó una tomografía volumétrica tipo cone beam (TVCB) y recolectaron muestras de saliva para



determinar la capacidad antioxidante total (AOx). En este sentido, se midió la formación de radicales 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS+) a través de un kit comercial (*Randox Laboratories, Ltd., Crumlin Co., Reino Unido*). Los antioxidantes presentes suprimieron la tinción verde azulada del catión ABTS+, que es proporcional al nivel de concentración de AOx. La cinética de reacción se midió utilizando una técnica colorimétrica en un autoanalizador Vitalab Eclipse Merck (Dieren, Países Bajos).<sup>8</sup>

En la química sanguínea se corroboró dislipidemia e hiperglucemia. En cuanto a la AOx, se observó una disminución estadísticamente significativa en comparación con la población sana (Cuadro 1).

Al analizar la TVCB, se observa pérdida de hueso alveolar tanto en la arcada superior como en la inferior, lo cual corresponde a lo que se observa clínicamente. De forma local, hay pérdida severa de hueso en el diente "11" y "12" (Figura 3).

## DISCUSIÓN

La EP es la alteración bucodental de mayor prevalencia durante el proceso de envejecimiento que afecta los tejidos que rodean a los dientes, propiciando la pérdida de dichos órganos y comprometiendo la masticación, la digestión y la estética, además de constituir un factor de riesgo de enfermedades sistémicas entre las que destacan las cardiopatías y la enfermedad de Alzheimer.<sup>9,10</sup> En 2010 se informó que la prevalencia de la EP a nivel mundial, oscilaba entre el 20% y el 50%, con predominio en las personas mayores de 50 años y se espera que la prevalencia aumente en las próximas décadas, debido a la transición demográfica.<sup>11</sup>

Si bien la EP tiene diversos factores de riesgo, el tabaquismo crónico es uno de los principales, ya que la quema o el calentamiento del tabaco genera muchos productos químicos que alteran la homeostasis de los tejidos de diferente forma. En primer lugar, el

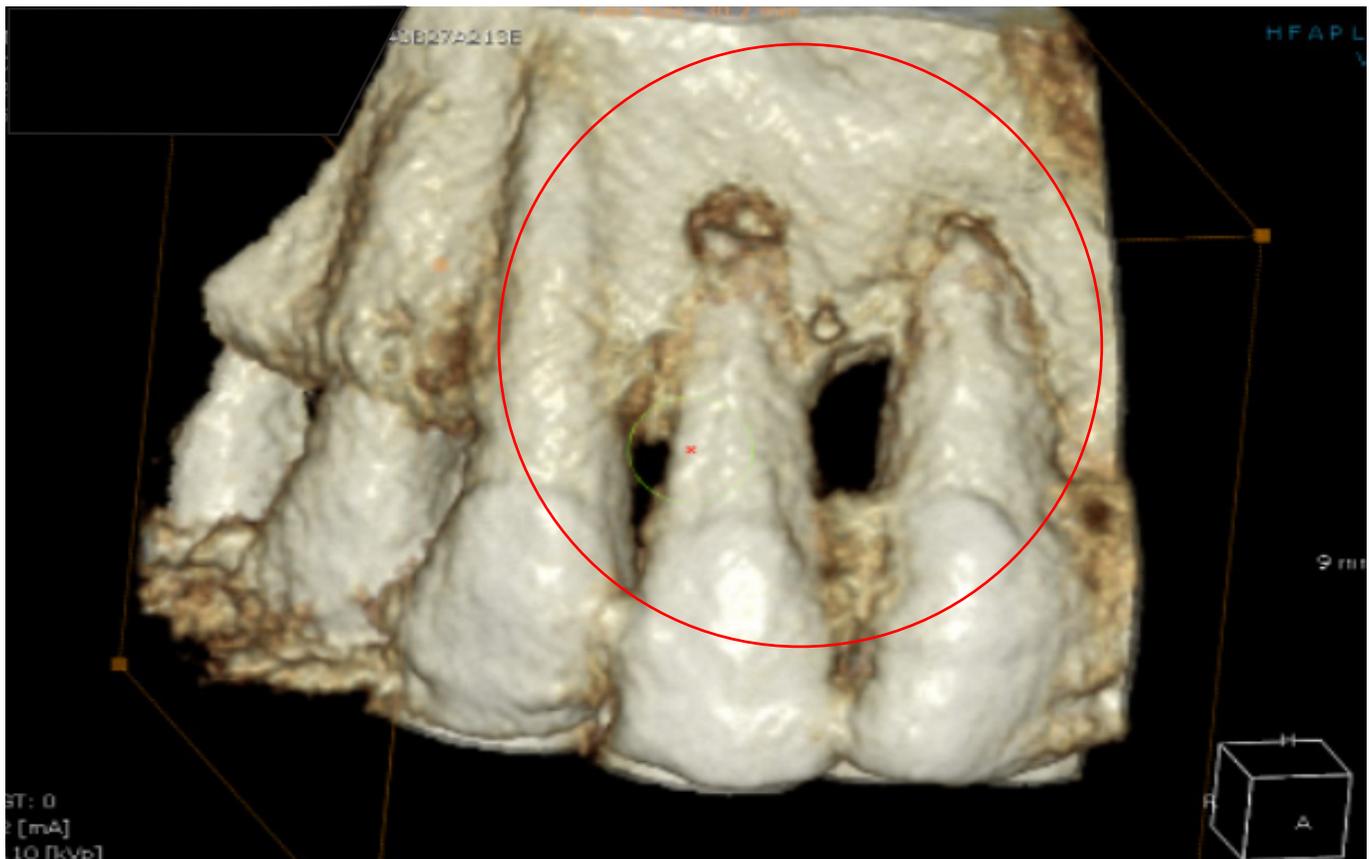


Figura 3. Tomografía volumétrica cone-beam donde se observa la pérdida severa de hueso alveolar entre el central y el lateral (círculo)

**Cuadro 1. Resultados de biometría hemática, química sanguínea y actividad antioxidante total en saliva**

<b>Biometría Hemática</b>			
PRUEBA	RESULTADO		VALORES DE REFERENCIA
Hemoglobina	17.0 g/dL		M: 12.8 - 17.3 g/dL H: 13.2 - 17.5 g/dL
Hematocrito	53 %		M: 40 - 54 % H: 41 - 55 %
Leucocitos	5000 cel/mm <sup>3</sup>		4550 - 10150 cel/mm <sup>3</sup>
Eritrocitos	6.3 X 10 <sup>6</sup> cel/mm <sup>3</sup>		M: 4.3 - 6.0 X 10 <sup>6</sup> cel/mm <sup>3</sup> H: 4.8 - 6.7 X 10 <sup>6</sup> cel/mm <sup>3</sup>
CMHG	35 %		32 - 36 %
<b>Química Sanguínea</b>			
PRUEBA	RESULTADO		VALORES DE REFERENCIA
Glucosa	<b>215</b>	mg/dL	63 - 117 mg/dL
Urea	44	mg/dL	20 -45 mg/dL
Creatinina	0.82	mg/dL	0.4 - 1.5 mg/dL
Ácido úrico	3.02	mg/dL	M: 2.1 - 6.7 mg/dL H: 3.0 - 8.0 mg/dL
Colesterol	<b>325</b>	mg/dL	168 - 239 mg/dL
Triglicéridos	<b>206</b>	mg/dL	70 - 200 mg/dL
HDL-c	70	mg/dL	42 - 77 mg/dL
Albúmina	4.9	g/dL	3.5 - 5.3 mg/dL
<b>Nivel de antioxidantes en saliva</b>			
PRUEBA	RESULTADO		VALORES DE REFERENCIA
AOx	0.361	mmol/L	0.648 ± 0.32 mmol/L

CMHG: Concentración de hemoglobina corpuscular media; HDL-c: Lipoproteína de alta densidad; AOx: Concentración de antioxidantes totales en saliva



humo del cigarrillo promueve la inflamación crónica<sup>12</sup> y contribuye a una menor tensión de oxígeno en la bolsa periodontal,<sup>13</sup> lo cual causa que la respuesta vascular, sea menos eficiente y, por ende, que la respuesta inmunológica esté disminuida.<sup>14,15</sup>

El tabaquismo causa diversos cambios en la inmunidad que conducen a una mayor inflamación constitutiva, respuestas deterioradas a los patógenos y funciones suprimidas de las células inmunes antitumorales.<sup>12</sup> Además, altera la composición de la biopelícula dental aumentando la probabilidad de que colonicen bacterias periodontopatogénicas y que sean más difíciles de eliminar, en comparación con los no fumadores.<sup>16,17</sup> En este sentido, se ha observado que *Porphyrromonas gingivalis*, una de las bacterias más asociadas a la EP grave, es resistente a dosis muy altas de humo de cigarrillo y componentes del tabaco.<sup>18</sup>

Asimismo, el tabaquismo parece disminuir la capacidad reparadora de las células periodontales como los fibroblastos, los osteoblastos y los cementoblastos; lo que reduce la capacidad de formar tejido nuevo e impide potencialmente la respuesta a la terapia periodontal, además de generar alteración en el epitelio de unión lo que causa que la profundidad al sondeo sea mayor y que se presenten ulceraciones.<sup>19,20</sup>

En el presente caso clínico el paciente presentaba una profundidad al sondeo muy grande (más de 10 mm), lo cual concuerda con un metaanálisis donde se compararon los índices periodontales de fumadores y no fumadores y se observó que, en los cinco estudios analizados, los pacientes fumadores tuvieron una profundidad al sondeo mayor que los no fumadores (3.297 (95%CI: [2.142-4.454],  $p = 0.001$ ).<sup>21</sup>

Esta gran profundidad al sondeo puede deberse a la alteración del equilibrio REDOX que causa el tabaquismo, tanto en el cuerpo como en la boca.<sup>22</sup> El aumento de radicales libres y la disminución de AOx culmina en un daño oxidativo en los tejidos gingivales, el ligamento periodontal y el hueso alveolar, además de disminuir la defensa inmunológica contra las bacterias de la biopelícula dental y disminución de la velocidad de la cicatrización de heridas.<sup>13</sup>

Los antioxidantes neutralizan los radicales libres y protegen a las células normales de la oxidación.<sup>23</sup> En

este sentido, en nuestro estudio observamos que la AOx en saliva del paciente analizado (0.361mmol/L) es significativamente menor que lo reportado para personas sanas no fumadores (0.648± 0.32 mmol/L), lo cual sugiere que la exposición crónica a la combustión del tabaco al fumar, incrementa los niveles de radicales libres, por lo que la AOx no es suficiente para neutralizarlos, ya que la actividad permanente de AOx se traduce clínicamente en una disminución estadísticamente significativa.

Este resultado concuerda con otros estudios como el de Munther *et al.* (2019), donde se observó que los fumadores tenían menos concentración de antioxidantes totales que los pacientes no fumadores (fumadores 0.48±0.02, no fumadores 0.51±0.02 mmol/L);<sup>24</sup> y el trabajo del grupo de Çetin *et al.* (2009), quienes mostraron que los fumadores tienen niveles significativamente más bajos de enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y paraoxonasa) y niveles más altos de productos de estrés oxidativo (malondialdehído, óxido nítrico) que los no fumadores.<sup>25</sup>

Si bien, nuestros resultados concuerdan con otros como el de Mortazavi *et al.* (2020),<sup>26</sup> también hay otros estudios que muestran que los niveles de antioxidantes en saliva son significativamente mayores en los fumadores que en los no fumadores<sup>27</sup> o que incluso no hay diferencias significativas de antioxidantes en saliva de pacientes fumadores y no fumadores,<sup>28</sup> estas discrepancias pueden ser debidas a que el estrés oxidativo es un proceso dinámico, en el que inicialmente se presenta una mayor respuesta antioxidante, la cual se agota paulatinamente por la cronicidad del proceso.

Como se puede ver, aunque se ha propuesto que la saliva es una buena fuente de biomarcadores pronósticos para afecciones del tejido periodontal,<sup>29</sup> aún existen discrepancias que pueden deberse a variables no controladas como la cantidad de cigarrillos, edad y sexo de los pacientes, tipo de tabaco, años de consumo, hábitos dietéticos y los diferentes métodos de medición de los antioxidantes. Por lo cual, es recomendable realizar estudios con un mayor tamaño de muestra y que estas variables sean consideradas. En general, la actividad de los AOx de la saliva es más efectiva en personas de mediana edad y se debilita con la edad y la cronicidad de la exposición

del factor pro-oxidante. En los ancianos observamos una disminución progresiva en la eficiencia de los sistemas antioxidantes a nivel sistémico y un aumento de la actividad de las enzimas antioxidantes salivales, como la superóxido dismutasa, que puede indicar una reacción local del cuerpo al aumento de la producción de las especies reactivas de oxígeno (EROS).<sup>30</sup>

Por otra parte, en el caso clínico presentado, la disminución en la concentración de los AOx puede deberse tanto al EOx provocado por el tabaquismo aunado a la EP. Se ha reportado una concentración baja de AOx en pacientes con EP en comparación con pacientes sanos, debido a los efectos dañinos de las EROS.<sup>31,32</sup> También se ha reportado que después de un tratamiento periodontal o de hacer ejercicio, los niveles de AOx en pacientes con EP fueron mayores.<sup>33,34</sup>

Dado que este desequilibrio REDOX puede estar afectando el metabolismo y reparación del hueso alveolar, puede ser que la destrucción avanzada que presenta nuestro paciente esté explicada, en parte, por el EOx que genera el humo del cigarro.<sup>35</sup>

En una cohorte prospectiva, se encontró que una historia de tabaquismo se asoció con una densitometría ósea más baja (tanto del hueso cortical como el trabecular) en comparación a cuando el paciente no fumaba y esto sigue un patrón dosis-respuesta, es decir, entre más tiempo de ser fumador, mayor será la pérdida ósea. El fumar está asociado con las características de salud ósea, y los fumadores a mayor edad, pueden tener un riesgo adicional de pérdida ósea acelerada.<sup>36</sup>

Con respecto a la edad de inicio del tabaquismo, el paciente inició con la adicción al tabaco desde temprana edad, cuyo factor pro-oxidante explica la destrucción severa del tejido. Esta hipótesis concuerda con algunos estudios que han informado del efecto perjudicial del tabaquismo sobre los parámetros óseos basales<sup>37,38</sup> y en las ganancias óseas<sup>39</sup> a edades tempranas. Sin embargo; hay otros estudios que concluyen que la edad de inicio no es un factor clave para comprender el vínculo entre el comportamiento de fumar y la salud ósea más adelante en la vida.<sup>36</sup> Para conocer esta relación, será necesario realizar

estudios de cohortes en adultos mayores que investiguen esta relación.

Por otra parte, los tejidos periodontales en fumadores tienden a presentar un mayor grosor del epitelio de unión y de la encía marginal, en comparación con los no fumadores,<sup>40</sup> aunado a la calcificación de la biopelícula dental, lo que resulta en la formación de cálculo dental, que es la principal causa de destrucción del tejido periodontal.<sup>41,42</sup> Al respecto, el caso clínico presentado no mostraba acumulo de cálculo, sino únicamente gran acumulo de biopelícula dental. Es probable que la formación de cálculo no sea uno de los factores, en este caso, que causó la pérdida de hueso alveolar.

Finalmente, comprender los mecanismos específicos por los cuales el tabaco perjudica la salud periodontal, proporcionará nuevos objetivos terapéuticos importantes.

## CONCLUSIÓN

El tabaquismo crónico intenso (más de 20 cigarrillos por día) está relacionado con niveles de antioxidantes totales bajos en saliva, enfermedad periodontal y pérdida de hueso alveolar.

## AGRADECIMIENTOS

El manuscrito fue revisado y editado en el Programa para la Investigación Bibliográfica Científica sobre Salud (PIBCIS) de la FES Zaragoza, UNAM.

## REFERENCIAS

1. Fenesy KE. Periodontal disease: an overview for physicians. Mt Sinai J Med. 1998; 65(5-6):362-369.
2. Genco RJ, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. Periodontol 2000. 2013; 62(1): 59-94. doi: 10.1111/j.1600-0757.2012.00457.x.
3. GBD 2019 Risk Factors Collaborators. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. Lancet. 2020; 396(10258): 1223-1249. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30752-2.



4. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (US) Office on Smoking and Health. The Health Consequences of Smoking—50 Years of Progress: A Report of the Surgeon General. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention (US); 2014.
5. Winn DM. Tobacco use and oral disease. *J Dent Educ.* 2001; 65(4): 306-312.
6. Palmer RM, Wilson RF, Hasan AS, Scott DA. Mechanisms of action of environmental factors--tobacco smoking. *J Clin Periodontol.* 2005; 32 Suppl 6: 180-195. doi: 10.1111/j.1600-051X.2005.00786.x.
7. Sculley DV, Langley-Evans SC. Salivary antioxidants and periodontal disease status. *Proc Nutr Soc.* 2002; 61(1): 137-143. doi: 10.1079/pns2001141.
8. Mendoza-Núñez VM, Ruiz-Ramos M, Sánchez-Rodríguez MA, Retana-Ugalde R, Muñoz-Sánchez JL. Aging-related oxidative stress in healthy humans. *Tohoku J Exp Med.* 2007; 213(3): 261-268. doi: 10.1620/tjem.213.261.
9. Nazir M, Al-Ansari A, Al-Khalifa K, Alhareky M, Gaffar B, Almas K. Global Prevalence of Periodontal Disease and Lack of Its Surveillance. *ScientificWorldJournal.* 2020; 2020: 2146160. doi: 10.1155/2020/2146160.
10. Reynolds I, Duane B. Periodontal disease has an impact on patients' quality of life. *Evid Based Dent.* 2018; 19(1): 14-15. doi: 10.1038/sj.ebd.6401287.
11. Tonetti MS, Bottenberg P, Conrads G, Eickholz P, Heasman P, Huysmans MC *et al.* Dental caries and periodontal diseases in the ageing population: call to action to protect and enhance oral health and well-being as an essential component of healthy ageing - Consensus report of group 4 of the joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 2017; 44 (Suppl 18): S135-S144. doi: 10.1111/jcpe.12681.
12. Lee J, Taneja V, Vassallo R. Cigarette smoking and inflammation: cellular and molecular mechanisms. *J Dent Res.* 2012; 91(2): 142-149. doi: 10.1177/0022034511421200
13. Sanz M, Teughels W; Group A of European Workshop on Periodontology. Innovations in non-surgical periodontal therapy: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol.* 2008; 35(8 Suppl): 3-7. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01256.x.
14. Hanioka T, Tanaka M, Ojima M, Takaya K, Matsumori Y, Shizukuishi S. Oxygen sufficiency in the gingiva of smokers and non-smokers with periodontal disease. *J Periodontol.* 2000; 71(12):1846-1851. doi: 10.1902/jop.2000.71.12.1846.
15. Buduneli N, Scott DA. Tobacco-induced suppression of the vascular response to dental plaque. *Mol Oral Microbiol.* 2018;33(4): 271-282. doi: 10.1111/omi.12228.
16. Feres M, Bernal M, Matarazzo F, Favari M, Duarte PM, Figueiredo LC. Subgingival bacterial recolonization after scaling and root planing in smokers with chronic periodontitis. *Aust Dent J.* 2015; 60(2):225-232. doi: 10.1111/adj.12225.
17. Joshi V, Matthews C, Aspiras M, de Jager M, Ward M, Kumar P. Smoking decreases structural and functional resilience in the subgingival ecosystem. *J Clin Periodontol.* 2014; 41(11): 1037-1047. doi: 10.1111/jcpe.12300.
18. Bagaitkar J, Daep CA, Patel CK, Renaud DE, Demuth DR, Scott DA. Tobacco smoke augments *Porphyromonas gingivalis*-*Streptococcus gordonii* biofilm formation. *PLoS One.* 2011; 6(11): e27386. doi: 10.1371/journal.pone.0027386.
19. Kallala R, Barrow J, Graham SM, Kanakaris N, Giannoudis PV. The in vitro and in vivo effects of nicotine on bone, bone cells and fracture repair. *Expert Opin Drug Saf.* 2013; 12(2): 209-233. doi: 10.1517/14740338.2013.770471.
20. Chaffee BW, Couch ET, Vora MV, Holliday RS. Oral and periodontal implications of tobacco and ni-

- cotine products. *Periodontol 2000*. 2021; 87(1):241-253. doi: 10.1111/prd.12395.
21. Pesce P, Menini M, Ugo G, Bagnasco F, Dioguardi M, Troiano G. Evaluation of periodontal indices among non-smokers, tobacco, and e-cigarette smokers: a systematic review and network meta-analysis. *Clin Oral Investig*. 2022. doi: 10.1007/s00784-022-04531-9.
22. Chang CH, Han ML, Teng NC, Lee CY, Huang WT, Lin CT, Huang YK. Cigarette Smoking Aggravates the Activity of Periodontal Disease by Disrupting Redox Homeostasis- An Observational Study. *Sci Rep*. 2018; 8(1):11055. doi: 10.1038/s41598-018-29163-6.
23. Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000*. 2007; 43: 160-232. doi: 10.1111/j.1600-0757.2006.00178.x.
24. Munther S. The effects of cigarette smoking and exercise on total salivary antioxidant activity. *Saudi Dent J*. 2019; 31(1): 31-38. doi: 10.1016/j.sdentj.2018.09.002.
25. Çetin A, Muhtaroglu S, Saraymen R, Öztürk A, Muderris I. Smoking-induced bone defects may be due to oxidative damage in postmenopausal women. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*. 2009; 29(4): 851–858.
26. Mortazavi H, Ghasemi A, Vatankhah MR. Comparison of salivary total antioxidant levels in male smokers and non-smokers according to their personality types. *Dent Med Probl*. 2020; 57(2): 145-148. doi: 10.17219/dmp/114440
27. Nagler RM. Altered salivary profile in heavy smokers and its possible connection to oral cancer. *Int J Biol Markers*. 2007; 22(4): 274-280. doi: 10.5301/jbm.2008.5347.
28. Charalabopoulos K, Assimakopoulos D, Karkabounas S, Danielidis V, Kiortsis D, Evangelou A. Effects of cigarette smoking on the antioxidant defence in young healthy male volunteers. *Int J Clin Pract*. 2005; 59(1):25–30.
29. Novakovic N, Todorovic T, Rakic M, Milinkovic I, Dozic I, Jankovic S, Aleksic Z, Cakic S. Salivary antioxidants as periodontal biomarkers in evaluation of tissue status and treatment outcome. *J Periodontol Res*. 2014; 49(1): 129-136. doi: 10.1111/jre.12088.
30. Maciejczyk M, Zalewska A, Ładny JR. Salivary Antioxidant Barrier, Redox Status, and Oxidative Damage to Proteins and Lipids in Healthy Children, Adults, and the Elderly. *Oxid Med Cell Longev*. 2019; 2019: 4393460. doi: 10.1155/2019/4393460.
31. Sculley DV, Langley-Evans SC. Periodontal disease is associated with lower antioxidant capacity in whole saliva and evidence of increased protein oxidation. *Clin Sci (Lond)*. 2003; 105(2): 167-172. doi: 10.1042/CS20030031.
32. Chapple IL, Mason GI, Garner I, Matthews JB, Thorpe GH, Maxwell SR, Whitehead TP. Enhanced chemiluminescent assay for measuring the total antioxidant capacity of serum, saliva and crevicular fluid. *Ann Clin Biochem*. 1997; 34 ( Pt 4): 412-421. doi: 10.1177/000456329703400413.
33. Mendoza-Núñez VM, Hernández-Monjaraz B, Santiago-Osorio E, Betancourt-Rule JM, Ruiz-Ramos M. Tai Chi exercise increases SOD activity and total antioxidant status in saliva and is linked to an improvement of periodontal disease in the elderly. *Oxid Med Cell Longev*. 2014; 2014: 603853. doi: 10.1155/2014/603853.
34. Nisha S, Bettahalli Shivamallu A, Prashant A, Yadav MK, Gujjari SK, Shashikumar P. Role of nonsurgical periodontal therapy on leptin levels and total antioxidant capacity in chronic generalised periodontitis patients - A clinical trial. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2022; 12(1): 68-73. doi: 10.1016/j.jobcr.2021.10.002.
35. Melhus H, Michaëlsson K, Holmberg L, Wolk A, Ljunghall S. Smoking, antioxidant vitamins, and the risk of hip fracture. *J Bone Miner Res*. 1999; 14(1): 129-135. doi: 10.1359/jbmr.1999.14.1.129.
36. Marques EA, Elbejjani M, Gudnason V, Sigurdsson G, Lang T, Sigurdsson S *et al*. Cigarette smoking



and hip volumetric bone mineral density and cortical volume loss in older adults: The AGES-Reykjavik study. *Bone*. 2018; 108: 186-192. doi: 10.1016/j.bone.2018.01.014.

37. Lorentzon M, Mellström D, Haug E, Ohlsson C. Smoking is associated with lower bone mineral density and reduced cortical thickness in young men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92(2): 497-503. doi: 10.1210/jc.2006-1294.

38. Eleftheriou KI, Rawal JS, James LE, Payne JR, Loosemore M, Pennell DJ, World M, Drenos F, Haddad FS, Humphries SE, Sanders J, Montgomery HE. Bone structure and geometry in young men: the influence of smoking, alcohol intake and physical activity. *Bone*. 2013; 52(1): 17-26. doi: 10.1016/j.bone.2012.09.003.

39. Rudäng R, Darelid A, Nilsson M, Nilsson S, Mellström D, Ohlsson C, Lorentzon M. Smoking is associated with impaired bone mass development in

young adult men: a 5-year longitudinal study. *J Bone Miner Res*. 2012; 27(10): 2189-2197. doi: 10.1002/jbmr.1674.

40. Prakash P, Rath S, Mukherjee M, Malik A, Boruah D, Sahoo NK *et al*. Comparative evaluation of the marginal gingival epithelium in smokers and nonsmokers: a histomorphometric and immunohistochemical study. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2014; 34(6):781-786. doi: 10.11607/prd.1823.

41. Tomar SL, Asma S. Smoking-attributable periodontitis in the United States: findings from NHANES III. National Health and Nutrition Examination Survey. *J Periodontol*. 2000; 71(5): 743-751. doi: 10.1902/jop.2000.71.5.743.

42. Henemyre CL, Scales DK, Hokett SD, Cuenin MF, Peacock ME, Parker MH *et al*. Nicotine stimulates osteoclast resorption in a porcine marrow cell model. *J Periodontol*. 2003; 74(10):1440-1446. doi: 10.1902/jop.2003.74.10.1440.