



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Анђела Д. Милојевић Шамановић

**Повезаност оксидационог стреса и
периапикалних лезија код хипертензивних
пацова**

докторска дисертација

Крагујевац, 2022



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Anđela D. Milojević Šamanović

**Povezanost oksidacionog stresa i periapikalnih
lezija kod hipertenzivnih pacova**

doktorska disertacija

Kragujevac, 2022



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Andjela D. Milojevic Samanovic

**Association of oxidative stress and periapical
lesions in hypertensive rats**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2022

ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<i>Аутор</i>
Име и презиме: Анђела Милојевић Шамановић
Датум и место рођења: 16.09.1986. године, Крагујевац, Република Србија
Садашње запослење: Факултет медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу
<i>Докторска дисертација</i>
Наслов: Повезаност оксидационог стреса и периапикалних лезија код хипертензивних пацова
Број страница: 137
Број слика: 13 слика, 3 схеме, 16 табела, 23 графика
Број библиографских података: 231
Установа и место где је рад израђен: Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, Крагујевац
Научна област (УДК): медицина
Ментори: Проф. др Владимир Живковић, ванредни професор Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу; Доц. др Мирослав Васовић, доцент Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу.
<i>Оцена и одбрана</i>
Датум пријаве теме: 10.05.2019.
Број одлуке и датум прихватања теме докторске/уметничке дисертације: бр. IV-03-754/7 од 02.10.2019.
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата: <ol style="list-style-type: none">1. Доц. др Милица Поповић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Болести зуба са ендодонцијом, председник;2. Доц. др Иван Срејовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан;3. НС Зоран Милорадовић, научни саветник Института за медицинска истраживања у Београду за ужу научну област Физиологија, члан;4. Проф. др Александра Лукић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Болести зуба са ендодонцијом, члан;5. Доц. др Владимир Здравковић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина, члан.
Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације:
Датум одбране дисертације:

IDENTIFIKACIONA STRANICA DOKTORSKE DISERTACIJE

<i>Autor</i>	
Ime i prezime: Anđela Milojević Šamanović	
Datum i mesto rođenja: 16.09.1986. godine, Kragujevac, Republika Srbija	
Sadašnje zaposlenje: Fakultet medicinskih nauka, Univerziteta u Kragujevcu	
<i>Doktorska disertacija</i>	
Naslov: Povezanost oksidacionog stresa i periapikalnih lezija kod hipertenzivnih pacova	
Broj stranica: 137	
Broj slika: 13 слика, 3 схеме, 16 табела, 23 графика	
Broj bibliografskih podataka: 231	
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu, Kragujevac	
Naučna oblast (UDK): medicina	
Mentori: Prof. dr Vladimir Živković, vanredni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu; Doc. dr Miroslav Vasović, docent Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu.	
<i>Ocena i odbrana</i>	
Datum prijave teme: 10.05.2019.	
Broj odluke i datum prihvatanja teme doktorske/umetničke disertacije: бр. IV-03-754/7 од 02.10.2019.	
Komisija za ocenu naučne zasnovanosti teme i ispunjenosti uslova kandidata: <ol style="list-style-type: none">1. Doc. dr Milica Popović, docent Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Bolesti zuba sa endodoncijom, predsednik;2. Doc. dr Ivan Srejšević, docent Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Fiziologija, član;3. NS Zoran Miloradović, naučni savetnik Instituta za medicinska istraživanja u Beogradu za užu naučnu oblast Fiziologija, član;4. Prof. dr Aleksandra Lukić, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Bolesti zuba sa endodoncijom, član;5. Doc. dr Vladimir Zdravković, docent Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Interna medicina, član.	
Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije:	
Datum odbrane disertacije:	

DOCTORAL DISSERTATION IDENTIFICATION PAGE

<i>Author</i>
Name and surname: Andjela Milojevic Samanovic
Date and place of birth: 16.09.1986., Kragujevac, Republic of Serbia
Current employment: Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
<i>Doctoral Dissertation</i>
Title: Association of oxidative stress and periapical lesions in hypertensive rats
No. of pages: 138
No. of images: 13 images, 3 schemes, 16 tables, 23 graphs
No. of bibliographic data: 231
Institution and place of work: Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac
Scientific area (UDK): medicine
Mentors: Assoc. prof. Vladimir Zivkovic, Associate professor of Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac; Assis. prof. Miroslav Vasovic, Assistant professor of Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
<i>Grade and Dissertation Defense</i>
Topic Application Date: 10.05.2019.
Decision number and date of acceptance of the doctoral/artistic dissertation topic: no IV-03-754/7 from 02.10.2019.
Commission for evaluation of the scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate: <ol style="list-style-type: none"> 1. Assis. prof. Milica Popovic, Assistant professor of Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, for the narrow scientific field of Dental Diseases and Endodontics, president; 2. Assis. prof. Ivan Srejovic, Assistant professor of Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, for the narrow scientific field of Physiology, member; 3. SA Zoran Miloradović, scientific advisor of the Institute for Medical Research in Belgrade for the narrower scientific field of Physiology, member; 4. Prof. Aleksandra Lukic, Full professor of Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, for the narrow scientific field of Dental Diseases and Endodontics, member; 5. Assis. prof. Zoran Miloradovic, Assistant Professor of Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, or the narrow scientific field of Internal medicine, member;
Commission for evaluation and defense of the doctoral dissertation:
Date of Dissertation Defense:

ЗАХВАЛНИЦА

Посебно поштовање и захвалност дугујем проф. др Владимиру Јаковљевићу на указаном поверењу и драгоцености прилици да будем део његовог тима Центра за претклиничка и функционална истраживања. На неизмерној и несебичној људској и професионалној помоћи и подршци у свим сегментима реализације ове дисертације.

Неизмерно се захваљујем свом ментору проф. др Владимиру Живковићу на огромној научној, моралној и пријатељској подршци и помоћи у свим фазама израде овог доктората. Веома сам му захвална на непроцењивим саветима, на прилици да радим и учим од њега, на издвојеном времену и уложеном труду, као и огромном стрпљењу и посвећености нашем заједничком раду.

Веома се захваљујем свом коментору доц. др Мирославу Васовићу, на указаној професионалној, пријатељској подршци и помоћи, као и одличним сугестијама и саветима током израде дисертације.

Захваљујем се најбољем тиму, својим дивним колегама и пријатељима Центра за претклиничка и функционална истраживања: проф. др Ивану Срејовићу, проф. др Невени Јерemiћ, доц. др Исидори Милосављевић, доц. др Тамари Николић Турнић, доц. др Јовани Јоксимовић Јовић, доц. др Јовани Јерemiћ, доц. др Јовани Брадић, доц. др Александри Стојановић, асс. др Јасмини Сретеновић, асс. др Аници Петровић, асс. др Маји Николић, асс. Марини Ранковић, асс. Маријани Анђић, асс. Невени Драгинић, асс. др Марку Равићу, асс. Александру Кочовићу, асс. Маји Савић, асс. Катарини Михајловић, маг. фарм. Милицы Милинковић, Предрагу Равићу и Љиљани Ђоковић. Они су својом несебичном подршком, посвећеним радом у извођењу експеримената, стручним и пре свега пријатељским саветима учинили да ова дисертација постане стварност.

Велику захвалност дугујем проф. др Слободанки Митровић на патохистолошким анализама и великој подршци у току израде доктората.

Захваљујем се др сци. вет. мед. Петру Милосављевићу на хистоморфометријским анализама, дивним саветима и сугестијама у циљу што боље реализације дисертације.

Захваљујем се целој Катедри за стоматологију, посебно колегама са предмета Протетика, проф. др Јелени Тодић, проф. др Косовки Обрадовић-Ђуричић, доц. др Радивоју Радосељевићу, доц. др Марку Милосављевићу, асс. др Дејану Здравковићу и др Милицы Јовановић на великој подршци, стручним и пријатељским саветима у току израде дисертације.

Огромну захвалност дугујем мојој породици оцу Драгану, мајци Светлани, сестра Тини, свекрви Невенки, а посебно мом супругу Николи и сину Кости на безграничном разумевању, стрпљењу, подршци, мотивацији, извору енергије и што су увек веровали и верују у мене.

Хвала Вам!

*Мом сину Кости,
мојој животној инспирацији...*

САЖЕТАК

Циљ ове студије је био да испита повезаност периапикалних лезија, функције срца и оксидационог стреса код пацова у условима хипертензије и нормотензије. Истраживање је обухватило 48 пацова *Wistar* соја, сврстаних у 4 експерименталне групе: I-контрола, II-нормотензивни пацови са присуством периапикалних лезија, III-спонтанохипертензивни пацови без присуства периапикалних лезија, IV-спонтанохипертензивни пацови са присуством периапикалних лезија. Узорци ткива хемимандибула коришћени су за патохистолошку, хистоморфометријску анализу и испитивање концентрације проинфламаторних цитокина. Одређивани су маркери системског и срчаног оксидационог статуса. Испитиван је утицај лезија на промену функције изолованог срца пацова методом ретроградне перфузије по *Langendorff*-у. Са патохистолошког и хистоморфометријског аспекта, дебљина периодонталног лигамента, ресорпција алвеоларне кости и апикалног цемента, интезитет и екстензивност периапикалног инфламаторног инфилтратата била је значајно већа у групи хипертензивних пацова. Концентрација већине проинфламаторних цитокина лезија била је виша у хипертензивним стањима. Периапикалне лезије биле су повезане са поремећеном кардиодинамиком и патохистолошким променама изолованих срца пацова у хипертензивним условима. Такође, биле су у корелацији са повећаним вредностима прооксиданаса и мањом мобилношћу антиоксиданаса посебно у хипертензивном стању. Уопштено посматрано, периапикалне лезије и хипертензија међусобно су повезане на испитиваном моделу пацова. Садашњи резултати могу помоћи бољем разумевању повезаности периапикалних лезија и срчане функције у хипертензивним условима, подржавајући претпоставку да лезије могу негативно утицати на функцију срца и потенцијално пореметити хомеостазу оксидационог статуса у експерименталном моделу пацова.

Кључне речи: периапикалне лезије, хипертензија, кардиодинамика, оксидациони стрес

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the link between periapical lesion, cardiac function and oxidative stress in rats under conditions of hypertension and normotension. The study included 48 *Wistar rats*, divided into 4 experimental groups: I-control, II-normotensive rats with periapical lesions, III-spontaneously hypertensive rats without periapical lesions, IV-spontaneously hypertensive rats with periapical lesions. Hemimandibular tissue samples were used for histopathological, histomorphometric analysis and examination of the concentration of proinflammatory cytokines. Markers of systemic and cardiac oxidative status were determined. The influence of lesions on the change of function of isolated rat hearts by the method of retrograde perfusion according to the *Langendorff* technique was examined. From the pathohistological and histomorphometric aspects, periodontal ligament thickness, alveolar bone and apical cementum resorption, intensity and extension of inflammatory infiltrate were significantly higher in the hypertensive rats. The concentration of most proinflammatory cytokines in lesions was significantly higher in hypertensive conditions. Periapical lesions were associated with impaired cardiodynamics and pathohistological changes on isolated rat hearts in hypertensive conditions. Also, they were correlated with increased values of prooxidants and decreased mobility of antioxidants in a hypertensive state. In general, periapical lesions and hypertension were correlated in a rat model. Results may help to better understand the association between lesions and cardiac function in hypertensive conditions, supporting the hypothesis that lesions may adversely affect cardiac function and potentially disrupt oxidative status homeostasis in an experimental rat model.

Key words: periapical lesions, hypertension, cardiodynamics, oxidative stress

САДРЖАЈ

I УВОД	1
1. Периапикалне лезије	2
1. 1. Дефиниција и класификација периапикалних лезија.....	2
1. 2. Етиологија периапикалних лезија	4
1. 2. 1. Микробиолошки фактори.....	4
1. 2. 2. Механички фактори	4
1. 2. 3. Јатрогени фактори	5
1. 3. Патогенеза периапикалних лезија	5
1. 4. Улога цитокина у патогенези апикалног пародонтитиса	8
1. 5. Експериментални модел периапикалних лезија	11
2. Системска артеријска хипертензија.....	12
2. 1. Дефиниција, етиологија и епидемиологија хипертензије	12
2. 2. Хипертензија - фактор ризика за настанак кардиоваскуларних обољења	14
2. 3. Патопфизиолошки аспекти артеријске хипертензије	15
2. 4. Дијагноза артеријске хипертензије	17
2. 5. Лечење и мере превенције артеријске хипертензије.....	18
3. Оксидациони стрес	19
3. 1. Редокс равнотежа и слободни радикали	19
3. 2. Антиоксидациони систем заштите.....	21
4. Повезаност периапикалних лезија и оксидационог стреса	22
5. Повезаност периапикалних лезија и артеријске хипертензије	24
6. Могућа повезаност периапикалних лезија, оксидационог стреса и артеријске хипертензије.....	27
II ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА	29
2. 1. Циљеви истраживања	30
2. 2. Хипотезе истраживања	30
III МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	32
3. 1. Експерименталне животиње	33

3. 2. Мерење крвног притиска и срчане фреквенце	33
3. 3. Индукција експерименталног модела апикалног пародонтитиса	34
3. 4. Жртвовање животиња и прикупљање биолошког матерјала	35
3. 5. Радиографска анализа апикалног пародонтитиса	36
3. 6. Патохистолошка анализа периапикалних лезија	36
3. 6. 1. Поступак бојења хематоксилин/еозином	37
3. 7. Хистоморфометријска анализа периапикалног ткива	37
3. 8. Одређивање броја диферентованих остеокласта алвеоларне кости периапикалних лезија	39
3. 9. Испитивање концентрације проинфламаторних цитокина приапикалних лезија	39
3. 10. Испитивање <i>ex vivo</i> функције срца пацова – Langendorff модел	40
3. 10. 1. Langendorff модел за испитивање изолованог срца пацова	40
3. 10. 2. Langendorff апарат - кратак опис	41
3. 10. 3. Метод изоловања и препарације миокарда пацова	42
3. 11. Биохемијске анализе	43
3. 11. 1. Одређивање TBARS-а	44
3. 11. 1. 1. Поступак испитивања TBARS-а	44
3. 11. 2. Одређивање NO ₂ ⁻	45
3. 11. 2. 1. Поступак испитивања NO ₂ ⁻	45
3. 11. 3. Одређивање O ₂ ⁻	45
3. 11. 3. 1. Поступак испитивања O ₂ ⁻	45
3. 11. 4. Одређивање H ₂ O ₂	45
3. 11. 4. 1. Поступак испитивања H ₂ O ₂	45
3. 11. 5. Одређивање активности CAT-а	46
3. 11. 5. 1. Поступак испитивања CAT-а	46
3. 11. 6. Одређивање активности SOD-а	46
3. 11. 6. 1. Поступак испитивања SOD-а	46
3. 11. 7. Одређивање активности GSH	46
3. 11. 7. 1. Поступак испитивања GSH	46
3. 12. Патохистолошка анализа срца	47

3. 13. Снага студије и величина узорка	47
3. 14. Статистичка обрада података.....	47
IV РЕЗУЛТАТИ	48
4. 1. Крвни притисак и фреквенца срца	49
4. 2. Радиографска анализа апикалног пародонтитиса.....	50
4. 3. Патохистолошка и хистоморфометријска анализа периапикалног региона.....	51
4. 3. 1. Дебљина периапикалног периодонталног лигамента	51
4. 3. 2. Ресорпција алвеоларне кости.....	53
4. 3. 3. Ресорпција апикалног цемента	55
4. 3. 4. Интезитет периапикалног инфламаторног инфилтрата.....	57
4. 3. 5. Екстензивност периапикалног инфламаторног инфилтрата.....	61
4. 4. Диферентовани остеокласти алвеоларне кости периапикалног региона	63
4. 5. Вредности проинфламаторних цитокина периапикалних лезија	64
4. 6. Утицај периапикалних лезија на функционалне параметре изолованог срца пацова.....	67
4. 6. 1. Функционални параметари изолованог срца нормотензивних пацова без присуства периапикалних лезија	67
4. 6. 2. Функционални параметари изолованог срца нормотензивних пацова са присуством периапикалних лезија	70
4. 6. 3. Функционални параметари изолованог срца спонтанохипертензивних пацова без присуством периапикалних лезија	73
4. 6. 4. Функционални параметари изолованог срца спонтанохипертензивних пацова са присуством периапикалних лезија.....	76
4. 6. 5. Упоредна анализа свих функционалних параметара изолованог срца пацова између испитиваних група	79
4. 7. Утицај периапикалних лезија на маркере оксидационог стреса у коронарном венском ефлуенту, хомогенату срчаног ткива и крви	81
4. 7. 1. Утицај периапикалних лезија на маркере оксидационог стреса у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова.....	81
4. 7. 1. 1. Испитивање параметра оксидационог стреса у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова унутар групе - нормотензивних пацова без присуства периапикалних лезија.....	81
4. 7. 1. 2. Испитивање маркера оксидационог стреса у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова унутар групе - нормотензивних пацова са присуством периапикалних лезија	84

4. 7. 1. 3. Испитивање параметара оксидационог стреса у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова унутар групе - спонтанохипертензивних пацова без присуства периапикалних лезија	87
4. 7. 1. 4. Испитивање параметара оксидационог стреса у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова унутар групе - спонтанохипертензивних пацова са присуством периапикалних лезија	90
4. 7. 1. 5. Упоредна анализа свих параметара оксидационог стреса у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова између испитиваних група	93
4. 8. Утицај периапикалних лезија на маркере оксидационог статуса у хомогенату срчаног ткива пацова	95
4. 9. Утицај периапикалних лезија на маркере оксидационог статуса у крви пацова	96
4. 10. Утицај периапикалних лезија на параметре антиоксидационог система заштите у крви пацова (еритроцити)	98
4. 11. Патохистолошке промене миокарда	100
V ДИСКУСИЈА	102
5. 1. Анализа периапикалног региона радиографским, патохистолошким и хистоморфометријским методама	105
5. 1. 1. Радиографска анализа добијених вредности периапикалног региона	105
5. 1. 2. Хистоморфометријска и патохистолошка процена периапикалног региона	106
5. 2. Процена добијених резултата проинфламаторних цитокина апикалног пародонтитиса	109
5. 3. Анализа ефеката периапикалних лезија на параметре срчане функције	113
5. 4. Утицај периапикалних лезија на динамику срчаног и системског редокс статуса	117
VI ЗАКЉУЧЦИ	121
VII ЛИТЕРАТУРА	123
СКРАЋЕНИЦЕ	137

I

УВОД

„Учење је почетак богатства. Учење је почетак здравља. Учење је почетак духовности. Истраживање и учење су место на ком сва чуда почињу да се дешавају“

Džim Ron

1. ПЕРИАПИКАЛНЕ ЛЕЗИЈЕ

1. 1. Дефиниција и класификација периапикалних лезија

Периапикалне лезије (апикални пародонтитис, периапикални пародонтитис) означавају запаљенску реакцију ткива апексног пародонцијума, која се формира најчешће као последица деловања микробиолошких, механичких и јатрогених фактора, узроковајући ресорпцију алвеоларног коштаног ткива око врха корена авиталних зуба (1, 2) (Слика 1).



Слика 1. Радиографски приказ апикалног пародонтитиса на (А) горњем левом очњаку; (Б) доњем првом левом молару; (В) доњем првом левом премолару.

Пародонцијум представља потпорн апарат зуба који се састоји из функционално и анатомски повезане целине коју чине алвеоларна кост, периодонтални лигамент, цемент корена зуба и гингива. Периодонтални лигамент тј. периодонцијум означава везивно специјализовано ткиво које у целости обухвата и повезује цемент корена зуба за алвеоларну кост са базичном улогом у фиксацији и нутритивном снабдевању зуба. Такође, лигамент поседује ћелије (остеобласте, остеокласте, макрофаге, фибробласте, фиброците, цементобласте, ћелије Малесезових острваца), крвне и лимфне судове, нервне елементе и Шарпејева влакна која су највећим сегментом сачињена од колагена типа I и III (3, 4). Доступни подаци указују да су периодонтални лигамент и пулпно-пародонцијумски комплекс који је од виталне значајности за постављање тачне дијагнозе и обезбеђивање адекватне терапије (5).

Класификација према клиничким, радиографским или патохистолошким особинама периапикалних лезија спроводи се са циљем лакше али и сигурније дијагностике, као и одабира најбољег терапијског модалитета у поцесу лечења. У литератури данас постоје бројне и различите класификације обољења апексног пародонцијума. Међутим, свака класификација је варијабилна категорија јер најчешће зависи од опредељења аутора и критеријума које он у одговарајућем случају сматра доминантним (патохистолошки, клинички или радиографски) (6). Засигурно најпрецизнија класификација може се спровести уз помоћ патохистолошке анализе периапикалних лезија (7).

У зависности од патохистолошког и радиографског налаза, раније је класификација хроничног апексног пародонтитиса била подељена на: *parodontitis apicalis chronica fibrosa*, *parodontitis apicalis chronica granulomatosa progresiva difusa - Partsch*, *parodontitis apicalis chronica circumscripta - granulom* и *cistis* (8). Међутим, недостатак наведене поделе је био тај што није укључивао и неке друге промене које су се могле регистровати у периапикалном подручју (9). Сходно томе, класификацију периапикалних лезија потребно је било сагледати као динамичан проблем. Стога, класификација која је уважена и прихваћена од стране бројних научника и сарадника, а чија се примена и данас често примењује, је презентована од стране *Hirsch и сарадника* (10). Наведена класификација базирана је на патохистолошким карактеристикама хроничних периапикалних лезија сврстаних у четири групе (10):

- Периапикални гранулом
- Периапикални ожиљак
- Радикуларна циста и
- Остале лезије

Поред претходно наведених класификација, заступљена је и класификација патолошких стања апексног пародонцијума спроведена на темељу симптома и знакова периапикалног обољења у поређењу на здраво апикално ткиво, која је 2009. године препоручена за употребу од стране Америчког удружења ендодонтиса (11, 12). Данас на светском нивоу поседује широку примену (**Табела 1**).

Табела 1. Класификација патолошких стања апексног пародонцијума.

Здраво периапикално ткиво
Симптоматски апикални пародонтитис
Асимптоматски апикални пародонтитис
Акутни апикални апсес
Хронични апикални апсес
Кондезирајући остеоитис

У наредном делу текста ове докторске дисертације посебна пажња биће посвећена хроничним периапикалним лезијама.

1. 2. Етиологија периапикалних лезија

Обољења апексног пародонцијума најчешће су последица некрозе пулпног ткива које може бити узроковано деловањем различитих етиолошких фактора као што су микробиолошки, механички и јатрогени (13, 14).

1. 2. 1. Микробиолошки фактори

Са етиолошког аспекта, некроза ткива пулпе најчешће је узрокована микроорганизмима и њиховим продуктима. Присуство узнапредовалог каријеса, где доминантну улогу у његовом настанку имају бактерије и њихови метаболички продукти, изазива озбиљно оштећење пулподентинског комплекса, доводећи до инфламације, а потом и потпуне некрозе пулпног ткива. Чињеница је да некротично ткиво нема могућност угрожавања периапикалних структура све док се на тако деструисану пулпу не надовеже микробиолошка инфекција. Продор бактерија и њихових продуката из пулпног у периапикално ткиво може довести до оштећења периодонталног лигамента и мање или веће ресорпције алвеоларне кости око апекса корена зуба (6, 14, 15). У најчешће заступљене бактерије ендодонтских инфекција спадају облигантни облици анаеробних грам-негативних бактерија, као што су *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Selenomonas*, *Campylobacter* и *Treponema*, док од факултативних облика *Carpocytophaga*, *Eikenella* и *Neisseria*. Такође, од грам-позитивних облигатних анаеробних бактерија најчешће су заступљене *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, а од факултативних *Lactobacillus*, *Streptococcus* (неке од врста могу бити строги анаероби), *Enterococcus* и *Corynebacterium* (13, 16). Од наведених бактеријских врста, *Actinomyces* представља једну од најчешће присутних у периапикалним лезијама, док су *Prevotella* и *Porphyromonas* чешће заступљени у периапикалним пурулентним апсцесима (13).

Пародонтална обољења такође могу довести до некрозе пулпног ткива (17). Познато је да су зубна пулпа и пародонцијум повезани путем три главна начина комуникације као што су изложеност денталних тубула, мали отвори латералних и акцесорних канала и апикалног форамена (17). Наиме, код интактних зубних круница бактерије пореклом из денталног плака, парадонталним путем могу доспети до апекса корена зуба или до отвора неког од латералних или акцесорних канала и узроковати реакцију пулпе, што касније може довести до формирања периапикалних лезија (18).

1. 2. 2. Механички фактори

Наспрам биолошких фактора, до некрозе ткива пулпе могу довести и механичке трауме, које представљају изузетно чест узрок оштећења пулподентинског комплекса. Трауму најчешће узрокују механичке повреде круничног или коренског дела зуба тј. тоталне луксације зуба, које настају као последица фрактуре, пада или ударца, доводећи последично до потпуног заустављања снадбевања крвљу периапикалног региона (6, 19). Специјалну категорију механичко-јатрогених повреда представљају микротрауме у облику трауматске оклузије. Трауматска оклузија је једна од таквих примера где је запаљење узроковано континуираном и сталном иритацијом периодонталног лигамента током функције жвакања као резултат превременог оклузалног контакта или оклузалних сметњи током латеротрузијских или протрузијских кретњи мандибуле. Овај облик трауме доводи до механичке повреде неуроваскуларног снопа, који улази у канал корена зуба кроз апикални отвор и последично развоја запаљенске реакције периодонталног лигамента (19, 20).

1. 2. 3. Јатрогени фактори

Јатрогена оштећења пулпе такође представљају веома значајан етиолошки фактор за настанак апексног пародонтитиса. Првенствено треба нагласити препарацију кавитета зуба као и брушење зуба са неадекватним хлађењем, о чему ће се детаљније говорити у даљем тексту. Такође, резултат повећане температуре током препарације кавитета и брушења зуба може проузроковати потенцијално оштећење коренског цемента, периодонталног лигамента и алвеоларне кости (21). Инфламаторне реакције апексног пародонцијума могу се формирати као последица деловања хемијских фактора. Хемијска оштећења углавном се појављују као последица употребе антисептичких средстава, која се користе у медијацији или иригацији канала корена зуба током ендодонске терапије, као и употребом медикамената за импрегнацију конца и ретракцију гингивалног сулкуса након брушења зуба (22-24).

Периапикалне лезије могу настати и као честа компликација неадекватно израђених фиксних зубних надокнада тј. као последица непоштовања свих биомеханичких принципа препарације зуба (25, 26). Претерано уклањане зубне супстанце може довести до појаве више штетних ефеката на пулподентински комплекс у виду термалне преосетљивости, инфламације или некрозе пулпе (27). Такође, фактори који су изузетно битни током брушења зуба а могу негативно утицати на интегритет пулпе и последично довести до појаве периапикалних лезија, јесу велика брзина брушења која може довести до прегрејавања зуба и последичног оштећења пулподентинског комплекса, као и препарација зуба у једној равни која акцидентално може довести до отварања коморе пулпе. Брушење зуба без хлађења може довести до троструко већег сагоревања дентина и проузроковати запаљење пулпе или њену некрозу у поређењу са препарацијом зуба која се изводи у присуству воденог спреја (28-30). Између осталог, битну улогу у очувању интегритета зубне пулпе игра и добро рубно затварање (31-33), као и локализација демаркације препарације брушеног зуба (34-36).

1. 3. Патогенеза периапикалних лезија

Претходне четири деценије начињени су озбиљни помаци у схватању како етиологије, тако и патогенезе апикалног пародонтитиса. Према савременим гледиштима, патогенеза хроничног запаљења апексног пародонцијума појашњава се имунским одговором домаћина на деловање разноврсних облика штетних нокси (37, 38). Средином 70-тих година прошлог века предочен је значај анаеробних бактерија у формирању апикалног пародонтитиса, да би крајем 80-тих година успостављен јединствен став у мишљењу да бактеријски микроорганизми поседују примарну улогу у развоју периапикалних лезија (39).

Међутим, иако је познато да сви саставни елементи инфламаторне реакције у периапексном подручју чине један сложен систем одговора домаћина, сматра се да још увек није довољно испитана њихова интеракција, као и тачни механизми којима се поједини делови тако сложеног и комплексног система активирају, узроковајући настанак ресорпције алвеоларног коштаног ткива.

Патохистолошке промене апексног пародонцијума и околне алвеоларне кости, у иницијалном формирању лезије карактеришу се венском стазом, хиперемидом, оедемом периодонталног лигамента, изливом моноцита и неутрофила у околно ткиво, при чему интегритет дентина, цемента корена зуба и алвеоларног коштаног ткива још увек није угрожен (38).

Познато је да су у инфламаторном инфилтрату апикалног пародонтитиса присутне следеће ћелије и то неутрофилни гранулоцити, лимфоцити, макрофаги,

плазмоцити, дендритске и епителне ћелије (38). Неутрофили означавају иницијалну зону одбране од бактеријске инфекције канала корена зуба. Међутим, уколико се инфекција из коренског канала прошири на апексно ткиво, поседују могућност елиминације бактерија механизмом фагоцитозе. Поред наведене протективне улоге, неутрофили обезбеђују и значајну улогу у прогресији периапикалних лезија продукцијом разноврсних медијатора (LТВ₄ и простагландина). Продукцијом LТВ₄, привлаче још већи број нових гранулоцита и макрофага на место инфламације, затим касније активирају остеокласте, тако да у наредном периоду обезбеђују могућност започињања процеса ресорпције алвеоларног коштаног ткива око апекса корена зуба. Наведена фаза може се забележити радиографском методом (40-43). Такође, неутрофили секретују и групу цитокина (RANKL, TNF α IL-1, IL-6) који појачавају ресорпцију алвеоларног коштаног ткива и хемокине (IL-8) који су битни у процесу акутне егзацербације апикалног пародонтитиса (37, 44, 45). Након спроведене улоге, неутрофили умиру на простору инфламације, ослобађајући ензиме из својих цитоплазматских гранула надлежне за процес деструкције екстрацелуларног матрикса (46). Интересанта чињеница ранијих истраживања истакла је да је број неутрофила значајно виши код хроничних симптоматских у односу на асимптоматске апикалне пародонтитисе, као и да поседују позитивну корелацију са бројчаном заступљеношћу макрофага периапикалног региона (47).

За време акутне фазе, и макрофаги се могу забележити око апекса зуба, продукујући низ медијатора, од којих цитокини (TNF α , IL-1, IL-6) и хемокини (IL-8) који поседују могућност интензивирања васкуларне реакције у ткиву, деструкцију екстраћелијског матрикса и разградње алвеоларног коштаног ткива (37, 38, 48). Продужено и константно присуство бактерија и њихових продуката доводи до тога да се заступљена иницијална периапикална лезија постепено развија и доводи до формирања хроничне периапикалне лезије, тада у инфламаторном инфилтрату уместо неутрофила преовладавају мононуклеарне ћелије тј. лимфоцити, макрофаги и плазмоцити. Ова лезија јасно је изолована од околног коштаног ткива капсулом сачињеном од добро развијених колагених влакана. Наведена фаза представља асимптоматску, мирну фазу обољења у којој је заступљена доминација Т- у поређењу са В-лимфоцитима (38). Хронични апексни пародонтитис може дуго остати у претходно наведеној асимптоматској и мирној фази, све док се у било ком тренутку не наруши ткивна хомеостаза, када микроорганизми из канала корен зуба пређу у периапикално подручје, доводећи до појаве акутне егзацербације обољења (37, 38).

Посматрано са патохистолошког аспекта, периапикалне грануломе чини пролиферативно гранулационо ткиво које је инфилтрисано са запаљенским ћелијама, крвним судовима, фибробластима, са често присутним плочицама епителног ткива (40). Према досадашњим истраживањима, показано је да неутрофилни гранулоцити, макрофаги и лимфоцити представљају најзаступљеније ћелије инфламаторног инфилтрата (49, 50). У интересу онемогућавања даљег ширења запаљенског процеса, активирани фибробласти поседују улогу формирања колагених влакана, са циљем ограничавања запаљењенског процеса према алвеоларној кости (38, 40, 51). Такође, истраживања су указала да је више од 50% периапикалних гранулома епителизовано (52), где епителне ћелије у гранулому представљају Малесезове остатке епитела (53). Даљим и континуираним деловањем бактерија и њихових штетних нокси долази до пролиферације Малесезових епителних острваца, узрокујући формирање микроцистичне пукотине, њеног раста, што ће довести до настанка радикуларне цисте у пределу врха корена зуба. Простагландини и цитокини стимулишу активност остеокласта, доводећи последично до даљих ресорптивних промена алвеоларне кости (38, 53).

Патохистолошки радикуларне цисте огледају се присуством шупљине која је прекривена епителом, присуством запаљенског везивног ткива и везивне капсуле. Шупљина цисте карактерише се присуством еритроцита и некротичног ткива, чија се заступљеност повезује са хеморагијом, док је епителни покривач у знатно инфилтрисан неутрофилима. Везивно ткиво радикуларне цисте поседује знатан број ћелија инфламаторног инфилтрата, најчешће макрофаге, плазмоците, Т- и В- лимфоците, док је присуство неутрофила врло ретко заступљено (54). Наиме, према научним подацима утврђено су у зиду и шупљини радикуларне цисте обично заступљени кристали холестерола, који поседују порекло најчешће од распаднутих лимфоцита, еритроцита, плазмоцита или макрофага. Па тако, цисте где кристали холестерола сачињавају највећи сегмент, тумаче се као периапикални холестеатоми (14, 55).

Познато је да је пролиферација инфламираног периапикалног ткива праћена ресорпцијом алвеоларне кости (51, 56, 57), при чему је хомеостаза алвеоларног коштаног ткива последица балансиране активности остеокласта, остеобласта и медијатора инфламације (58-60). У стањима континуираног присуства и деловања штетних нокси периапикалног подручја долази до изразитог дејства медијатора инфламације, нарочито проинфламаторних цитокина, који активацијом RANKL-а доводе до процеса остеокластогенезе, при чему активирани остеокласти доводе до ресорпције алвеоларног коштаног ткива што подразумева једну од главних патолошких промена апикалног пародонтитиса (56-62). Ресорпција алвеоларног коштаног ткива периапикалних лезија може се детектовати различитим метода као што су радиографија (63), хистоморфометрија (64), испитивањем RANKL/OPG односа (65) и методом одређивања експресије TRAP-а (65).

Развојем истраживања на пољу остеоимунологије, доказано је да значајну улогу у хомеостоци коштаног алвеоларног ткива има триплет молекула RANK/RANKL/OPG (65). RANKL представља молекул TNF фамилије. У условима нормалног коштаног метаболизма продукују га остеобласти и стромалне ћелије, док у запаљенским условима Т- и В- лимфоцити, фибробласти и мононукларне ћелије. Такође, претходне студије су потврдиле да у његовој продукцији учествују и различити цитокини као што су IL-1, IL-6, TNF α (58, 66-68).

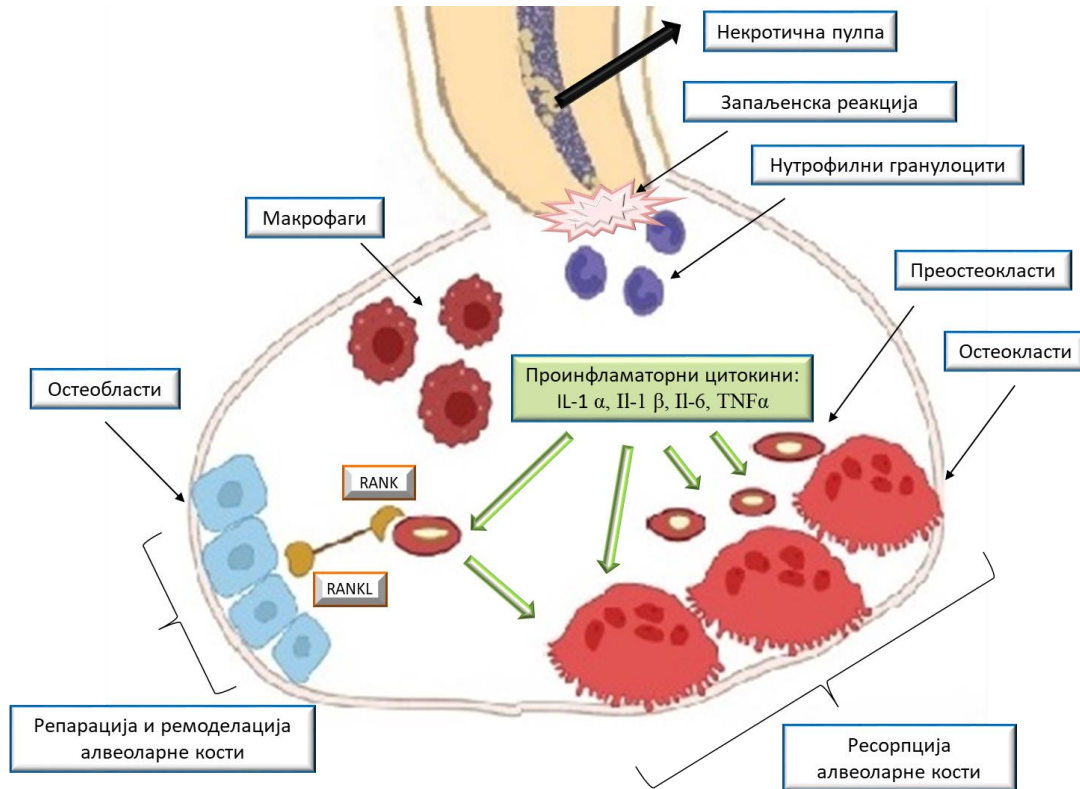


Схема 1. Схематски приказ патогенетског механизма настанка периапикалних лезија.

1. 4. Улога цитокина у патогенези апикалног пародонтитиса

Цитокини представљају велику фамилију протеинских молекула, ниске молекулске масе и веома су значајни за одвијање свих фаза имунског одговора. Функционишу као медијатори и регулатори ћелијских комуникација како у физиолошким, тако и у патолошким стањима. Могу бити секретовани од стране различитих ћелија организма, али углавном их продукују ћелије неспецифичног (урођеног) и специфичног (стеченог) имунског система (69).

У склопу ове докторске дисертације највећа пажња биће усмерена на улогу и значај проинфламаторних цитокина (IL-1, IL-6, TNFα, IL-17) и хемокина (IL-8) у патогенези периапикалних лезија.

Интерлеукин - 1 (IL-1)

IL-1 поседује веома значајну улогу у регулисању специфичног и неспецифичног имунитета као и у посредовању у оштећењу ткива током запаљења (70). Данас је познато да породица IL-1 броји укупно једанаест чланова, од којих IL-1α и IL-1β представљају чланове који су највише проучавани у студијама, јер су први откривени и поседују снажно проинфламаторно дејство. Иако хомологија између IL-1α и IL-1β није висока (27%), у погледу аминокиселинских секвенци су структурно слични, показују иста биолошка дејства и везују се за исти мембрански рецептор (IL-1 типа 1 рецептор - IL-1R1) (70, 71). IL-1α и IL-1β продукују макрофаге (процентално најчешће), неутрофили, фибробласти, ендотелне и епителне ћелије, лимфоцити, ћелије глатких мишића и кератиноцити (70). Такође, IL-1α и IL-1β су експримирани у широком

спектру ткива посебно у макрофагима у лимфоидним органима (тимус, слезина, лимфне чворове и коштана срж), у ткивним макрофагима не-лимфоидних органа (плућа, дигестивни тракт и јетра) и у ћелијском субепителном ткиву ендометријума материце, у гломерулима и у спољним кортикалним областима бубрега (70).

У погледу патогенезе периапикалних лезија, *IL-1 α* представља зачајану улогу у регулисању одговора домаћина на микробну инфекцију пулпе тиме стимулишући безброј учинака на остеокласте и остеобласте који су од великог значаја у догађају ресорпције алвеоларног коштаног ткива (71-73). *Yang* и сарадници су показали да је концентрација *IL-1 α* значајно већа код хроничних периапикалних лезија у поређењу са контролном групом, као и да је концентрација овог интерлеукина значајно повишена код периапикалних гранулома у поређењу са радикуларним цистама код млечних зуба (74). Такође, *Martinez* и сарадници су известили је да је у хроничним периапикалним лезијама пацова примећена акумулација *IL-1 α* (75).

Када је реч о *IL-1 β* , он поседује кључну улогу у патогенези апикалног пародонтитиса и парадонтопатије (76-79). Показало се да је *IL-1 β* најмоћнији стимулус ресорпције алвеоларног коштаног ткива (76). Верује се да је *IL-1 β* много ефикаснији у подстицању ресорпције алвеоларне кости у поређењу са *IL-1 α* (80). Поред стимулативне улоге у деструкцији алвеоларне кости, *IL-1 β* такође поседује функцију у ометању формирање нове кости (76, 81, 82).

Разне ћелије поседују способност производње *IL-1 β* укључујући фибробласте, ендотелне ћелије, као и макрофаге који представљају његов главни извор (76). Истраживања су показала да је *IL-1 β* откривен у гингивалном ткиву пацијената са пародонтитисом (78, 82, 83) у гингивалној церевикалној течности након примене ортодонтских сила (84), у хуманим и експерименталним периапикалним лезијама и њиховим ексудатима (74-77, 85).

Интерлеукин - 6 (*IL-6*)

IL-6 представља високо плејотропни цитокин који поседује проинфламаторно, али може показати и антиинфламаторно својство. Продукује се током инфламације и после секреције *TNF- α* и *IL-1 β* . Одликује се инхибицијом активности *IL-1* и *TNF- α* , што упућује на његово антиинфламаторно својство (86). Продукују га различите ћелије попут макрофага, кератиноцита, фибробласта дендритских и ендотелних ћелија (87). *IL-6* је у стању да стимулише бројне биолошке процесе, укључујући производњу антитела, активацију Т ћелија, диференцијацију Б ћелија, повећану производњу протеина акутне фазе запаљења, хематопоезу и процесе повезане са индукцијом ангиогенезе као што је васкуларна пермеабилност и диференцијација остеокласта. То сугерише да *IL-6* врло битну улогу у развоју периапикалних лезија (86, 87).

Студије *in vitro* откриле су да је *IL-6* присутан у периапикалним лезијама и да су његови нивои пропорционални величини самих лезија (66). Истраживања на животињама такође су показале да је *IL-6* присутан у периапикалним лезијама као и да остеобласти могу да производе овај интерлеукин у *in vivo* условима (88, 89). У хуманим студијама такође је забележена заступљеност овог интерлеукина у периапикалним лезијама, при чему је концентрација била виша код симптоматских и великих лезија у поређењу са асимптоматским лезијама малих димензија (45). Такође врло интересантан податак је тај да када *IL-6* није присутан, други цитокини као што су *IL-1* и *TNF- α* поседују улогу у индиковању ресорпције алвеоларног коштаног ткива (86).

Фактор некрозе тумора алфа (TNF α)

Назив овог цитокина потиче од његове битне улоге у индуковању хеморагијске некрозе тумора. Испољава проинфламаторно дејство и поседује изузетно битну улогу у многим биолошким функцијама људског организма, као што су одбрана домаћина од вирусних и бактеријских микроорганизама, доводе до апоптозе и некрозе тумора, један од битних медијатора акутних и хроничних инфламација, битан код појаве септичког шока, изузетно негативан ефекат код бројних аутоимунских обољења, као и да поседују могућност стимулације секреције и других проинфламаторних цитокина и хемокина (90-95). Постоје две форме TNF - TNF α и TNF β . Ћелије које учествују у продукцији TNF α су макрофаги (најчешће), фибробласти, лимфоцити, ендотелне ћелије и мастоцити (90).

Улога TNF α у патогенези апикалног пародонтитиса, огледа се у појачавању активности неутрофила, стимулисању секреције MMP-а и развоја остеокласта, успостављајући значајну повезаност са разградњом алвеоларне кости (96, 97). Студије новијег датума, показале су да је експресија TNF α значајно висока код периапикалних лезија димензија већих од 5 mm (98). Такође, експериментална студија која се бавила утицајем периапикалних лезија (локализованих на једаном или четири зуба), на ниво срумских медијатора упале крви, показала је значајно повећану експресију TNF α и његов ниво у серуму пацова са 4 периапикалне лезије у поређењу са контролном групом (99).

Интерлеукин - 17 (IL-17)

IL-17 припада групи проинфламаторних цитокина. Породица IL-17 поседује шест различитих чланова IL17A - IL17F (100). Овај цитокин представља фокус имунолошке пажње јер га претежно производе Т лимфоцити, неутрофилни гранулоцити, NK ћелије и еозинофилни гранулоцити (101). Такође, IL-17 поседује могућност посредовања у заштити домаћина од патогених бактеријских инфекција али исто тако поседује значајну улогу у патогенези многих хроничних инфламаторних и аутоимуних болести, као што су реуматоидни артритис, мултипла склероза и пародонтопатија (100).

Значајну улогу у патогенези периапикалних лезија IL-17 испољава тиме што поседује могућност стимулисања продукције различитих медијаторе упале као што су IL-1, IL-6, TNF- α и хемокине. Такође, повећава експресију RANKL и металопротеиназа који доводе до последичног губитака алвеоларног коштаног ткива (100, 102). *Ajuz* и сарадници у својој клиничкој студији показали су да је експресија IL-17 била значајно већа у радикуларним цистама него у периапикалним грануломима (103). С друге стране, експерименталне студије су такође показале повећану експресију IL-17 у периапикалним лезијама доводећи до закључка да овај цитокин може бити укључен у инфламаторни одговор и ресорпцију коштаног ткива периапикалног региона, као и повезан са патогенезом периапикалних лезија (99, 104). Међутим, студије су показале да IL-17 поред своје деструктивне улоге у патогенези периапикалних лезија, може и да делује протективно, зато што игра суштинску улогу у мобилизацији и регрутовању неутрофилних гранулоцита и на тај начин спречава инфламаторну упалну ресорпцију коштаног ткива периапикалног региона (100, 105).

Хемокини

Хемокини представљају фамилију малих цитокина (8-12 kDa) са главном улогом хемотаксе. Поједини хемокини могу бити проинфламаторни поседујући могућност привлачења ћелија имунског система на место инфламације, док се други сматрају хомеостазним учествујући у контроли миграције ћелија у току физиолошких процеса одржавања ткива или током њиховог развоја. У ћелије које учествују у синтези хемокина спадају епителне, ендотелне ћелије, леукоцити и фибробласти (106, 107).

Инфламаторни хемокини поседују кључну улогу у хемотакси тј. привлачењу ћелија имунског система и неутрофиле у подручју инфекције, као и диференцијацији ћелија мијелоидне лозе у остеокласте учествујући на тај начин у патогенези апикалног пародонтитиса (106). Према литературним подацима, данас је највећи број научних студија усмерен на улогу хемокина IL-8 у патогенези периапикалних лезија. *Rechenberg* и сарадници су у својој клиничкој студији показали су да је ниво IL-8 значајно нижи код симптоматског ирреверзибилног пулпитиса у поређењу са асимтоматским апикалним пародонтитисом (108). Такође, *Gazivoda* и сарадници као и *Lukić* и сарадници су у својим студијама показали значајно виши ниво IL-8 код симптоматских у поређењу са асимтоматским периапикалним лезијама (66, 109), док су *Čolić* и сарадници својим резултатима сугерисали да IL-17 стимулишући производњу IL-8, може играти битну улогу у погоршавању инфламације код хроничних периапикалних лезија (110).

1. 5. Експериментални модел периапикалних лезија

Историјски посматрано, развој експерименталног модела периапикалних лезија датира још из давне 1966. године када је установљено да се апикалне лезије могу веома лако формирати код конвенционално гајених лабораторијских животиња отварањем коморе зубне пулпе и формирањем комуникације између зуба и усне дупље. Али је исто тако установљено и да се апикални пародонтитис не може јавити код лабораторијских животиња које се гаје у стерилиним условима и тиме дошло до закључка да су главни узрочници ових лезија микроорганизми (111). До сада постоји велики број публикованих радова који су показали индукцију експерименталних периапикалних лезија на различитим лабораторијским животињама. У ове сврхе, највећи број експерименталних периапикалних лезија биле су индуковане код лабораторијских животиња као што су пацови (112, 113) и мишеви (114, 115), док нешто мањи број на псима (116), мајмунима (117) и мачкама (118).

Процес формирања експерименталних периапикалних лезија одиграва се у две фазе, при чему се прва фаза јавља након две недеље од тренука индукције лезије (активна фаза), док другу (хроничну) фазу карактерише успоренија прогресија лезије. Студијама је показано патохистолошки, да је у почетној фази две недеље након индукције лезије, заступљена некроза коронарног дела зубне пулпе, интензивна инфламација радикуларног дела пулпе, као и блага запаљенска деструкција периапикалног подручја која се карактерише благом ресорпцијом алвеоларне кости и повећаном дебљином периодонталног лигамента. Чињеница која указује на процес ресорпције алвеоларне кости у овом периоду, јесте присуство бројних остеокласта дуж руба алвеоларног коштаног ткива, при чему је ресорбован простор испуњен грануломатозним ткивом које је богато запаљенским ћелијама (макрофагима и неутрофилним гранулоцитима) (119, 120). Након четири недеље од индукције периапикалне лезије, подручје ресорпције алвеоларне кости знатно је повећано, заступљена је некроза коронарног и радикуларног дела зубне пулпе са јаком

запаљенском деструкцијом периапикалног региона. У запаљенском инфилтрату преовладавају моноклеарне ћелије, број остеокласта у овој фази се смањује, док на периферији периапикалне лезије фиброзно ткиво пролиферише (119, 121). Хи и сарадници су у својој студији поред ове две фазе описали и касну фазу, шест недеља након индукције лезије, описавши да алвеоларно коштано ткиво у том временском периоду није било готово могуће открити патохистолошки, због заступљене велике деструкције периапикалног региона (119).

2. СИСТЕМСКА АРТЕРИЈСКА ХИПЕРТЕНЗИЈА

2. 1. Дефиниција, етиологија и епидемиологија хипертензије

Системска артеријска хипертензија као један од најчешћих проблема данашњице, представља хронични статус повећаног крвног притиска у артеријама, при чему се крвни притисак приказује као однос систолног и дијастолног притиска. Систолни крвни притисак означава притисак крви на зидове артерија у фази контракције срчаних комора, док дијастолни представља притисак крви на зидове артерија у фази релаксације срчаних комора (122).

Границе нормалних вредности крвног притиска опште популације, које су постављене од стране Европског удружења кардиолога износе 120 mmHg за систолни и 80 mmHg за дијастолни крвни притисак, док се под артеријском хипертензијом најчешће подразумевају вредности крвног притиска ≥ 140 mmHg за систолни и/или ≥ 90 mmHg за дијастолни притисак (123, 124). У **табели 2.** приказани су гранични нивои крвног притиска који означавају хипертензију (123).

Табела 2. Граничне нивои крвног притиска који означавају хипертензију.

Категорија	Систолни крвни притисак (mmHg)		Дијастолни крвни притисак (mmHg)	
Оптимално	< 120		и	< 80
Нормално	120-129		и/или	80-84
Високо нормално	130-139		и/или	85-89
Степен 1 хипертензије	140-159		и/или	90-99
Степен 2 хипертензије	160-179		и/или	≥ 100
Степен 3 хипертензије	≥ 180		и/или	≥ 110
Изолована систолна хипертензија	≥ 140		и	< 90

Посматрано са етиолошког аспекта, класификација хипертензије представља поделу на (124-126):

- Примарну, есенцијалну или идиопатску хипертензију (90-95%), којој се не зна тачан узрок, у чијем настајању учествује велики број генетских фактора и фактора средине.
- Секундарну (консекутивну) хипертензију (5-10%), којој се зна узрок тј. етиологија, настала као последица неког другог патолошког обољења, попут (127):
 - ендокриних обољења (Cushing-овог синдрома, хипо/хипер тиреодизма, хиперпаратиреодизма),
 - стенозе реналне артерије (реноваскуларна хипертензија),
 - обољења бубрежног паренхима (ренална хипертензија),
 - феохромацитома,
 - трудноће,
 - коарктације аорте,
 - претераним уносом течности,
 - употребом одређених лекова (кортикостероиди, антидепресиви, нестереоидни антиреуматици, орални контрацептиви, деконгестиви) и
 - sleep арнеа синдром.

Данас, у 21. веку, према подацима из 2018. године процењено је да глобално преко милијарду људи има хипертензију. Како популација стари, предвиђа се да ће у свету до 2025. године укупан број оболелих од артеријске хипертензије достићи број од око 1,5 милијарди људи (128).

Према литературним подацима, утврђено је да укупна преваленца овог обољења код одраслих особа износи 30-40%, са преваленцом 24% код особа мушког пола и 20% код особа женског пола (127). Такође, знатно се чешће артеријска хипертензија јавља у старијем животном добу, код људи старијих од 60 година (129). Сходно наведеним подацима, највиша преваленца артеријске хипертензије заступљена је у земљама Африке око 46%, док је у земљама Америке најнижа са вредностима око 35% (129).

Према резултатима истраживања Српског друштво за хипертензију током 2012. године преваленца хипертензије у Србији износила је 42,7%, са већом преваленцом код особа женског пола (53,3%), у поређењу са особама мушког пола (46,7%). Процењена свест о заступљености артеријске хипертензије била је 42,99% (тј. 40,00% међу особама мушког пола и 45,41% међу особама женског пола). Од свих дијагностикованих случајева хипертензије показано је да 390 особа (27,7%) је имало добро регулисане вредности крвног притиска, док код 1022 особе (72,3%) крвни притисак није био под контролом (130).

Такође, на територији Шумадијског округа, спроведена је студија пресека која је обухватала узорак од 1669 одраслих, старости 25-74 година. Резултати истраживања показали су да је више од половине становништва (53%) имало хипертензију, са већом преваленцом код испитаника мушког пола, старости 45-74 године, као и код испитаника са нижим образовањем и из руралних средина. Ново-откривену хипертензију имало је 9% становника, док особе које су знале да поседују повишен крвни притисак са добро контролисаном болешћу био је заступљен код 46% становника (131).

2. 2. Хипертензија - фактор ризика за настанак кардиоваскуларних обољења

Хипертензија представља најзначајнији и најчешћи фактор ризика за појаву и развој кардиоваскуларних обољења попут инфаркта миокарда, цереброваскуларног исулта, срчане инсуфицијенције, коронарне болести срца, атријумске фибрилације, болести периферних артерија, когнитивних поремећаја и хроничне бубрежне инсуфицијенције (132, 133). Такође, артеријска хипертензија је поред година старости, гојазности и валвуларних срчаних мана, најчешћи је етиолошки фактор који може довести до појаве хипертрофије леве коморе. Познато је да са годинама старости расте маса леве коморе миокарда, као и да се са сваком годином повећава за 1-1,5 g. Учесталост хипертрофије леве коморе код пацијената са благом до средње тешком хипертензијом износи 12-50%, док код болнички лечених пацијената који поседују и компликације хипертензије учесталост хипертрофије леве коморе може износити чак и до 90%. Према литературним подацима са повећањем масе миокарда за 50g повећава се и ризик за појаву кардиоваскуларних болести за 1,49 пута код испитаника мушког пола и 1,57 пута код испитаника женског пола, док ризик од појаве морталитета се повећава за 1,7 пута са повећањем масе миокарда за 50g (134-136). Сходно томе, успешна превенција као и лечење артеријске хипертензије има круцијалну улогу у смањењу настанка кардиоваскуларних обољења, као и повећавању дуговечности опште популације (132, 137).

Као што је наведено, артеријска хипертензија са доминантном улогом у патогенези кардиоваскуларних болести, представља водећи фактор ризика смртности у свету, при чему се корелација између крвног притиска и кардиоваскуларних болести фокусира како на систолни, тако и на дијастолни крвни притисак, где се знатно већа значајност посвећује систолном крвном притиску посебно међу старијом популацијом око 53 године живота. Код ових појединаца систолни крвни притисак је много већи предиктор хипертензивног оштећења циљних органа и будућих кардиоваскуларних обољења, јер код већине људи систолни крвни притисак стално расте с годинама због све веће смањене еластичности великих артерија, дугог нагомилавање плака и повећане инциденце срчаних и васкуларних обољења (129).

Lewington и сарадници су у својој студији показали да без обзира на почетне вредности крвног притиска, код испитаника старости између 40-69 година, повишене вредности систолног/дијастолног крвног притиска за 20/10 mmHg, доводе до двоструко већег ризика од појаве исхемијске болести срца или можданог удара. Међутим, умањење вредности систолног притиска за 5 mmHg, доводи до опадања ризика за настајње инфаркта миокарда (за 9%), као и цереброваскуларног исулта (за 14%) (137). Такође, према научним подацима показано је да по постављању дијагнозе артеријске хипертензије прва кардиоваскуларна обољења која се јављају код особа мушког пола су инфаркт миокарда, док код особа женског пола мождани удар (138).

2. 3. Патолофизиолошки аспекти артеријске хипертензије

Познато је да крвни притисак настаје последицом контракције срчане мускулатуре и потискивања крви кроз кардиоваскуларни систем, и представља силу којом циркулишућа крв делује на јединицу површине крвног суда. На нивоу физике, висина крвног притиска директно је пропорционална ударном волумену крви леве коморе миокарда и периферног отпора крвних судова (139). Сходно наведеном, процес одржавања нивоа артеријског крвног притиска у подручју физиолошких граница, обухвата сложена корелацију и интеракцију значајног броја елемената интегрисаних од стране неурохуморалног система у које се убрајају симпатички нервни систем, ренин - ангиотензин - алдостерон систем, имунолошки систем, функција едотела и натриуретских пептида. Међутим, дисбаланс у функцији било ког елемента који представља саставни сегмент неурохуморалног система, може довести до индиректног или директног увећања средњег нивоа крвног притиска, што за исход има нарушавање нормалних функција органа, под условом да траје дужи временски период (140, 141).

Утврђено је да патогенеза примарне хипертензије произилази из сложене интеракције између генетске предиспозиције (већа учесталост појаве крвног притиска је код особа са једним или оба родитеља код којих је дијагностикована хипертензија), великог броја фактора средине (интезивног конзумирања никотина и алкохола, високог уноса натријума путем исхране, стреса, поремећаја спавања), поремећаја у васкуларној структури као и у контролним неурохуморалним механизмима. Сходно претходно наведеним чињеницама, долази се до закључка да већи број фактора контролише артеријски крвни притисак последично доприносећи развоју артеријске хипертензије (142-145).

Јединствена улога ренин - ангиотензин - алдостерон система у развоју хипертензије огледа се у одржавању хомеостазе Na^+ , ендотелној дисфункцији, натриурези, вазоконстрикцији, као и васкуларном оштећењу. Наведени систем представља један од механизма са којим бубрези активно учествују у регулацији крвног притиска. Ренин подразумева протеолитички ензим, који се ослобађа услед смањења концентрације натријума у тубулској течности и смањења притиска у аферентној артериоли. Такође, ренин у неактивном облику - проренину је локализован у јукстагломеруларним ћелијама бубрега. Сходно томе промене које узрокују пад артеријског притиска доводе до пуцања молекула проренина и ослобађања ренина, испољавајући ензимско дејство и последично превodeћи у циркулацији ангиотензиноген у ангиотензин I, док се услед деловања ангиотензин-конвертујућег ензима ангиотензин I преводи у ангиотензин II (146). Улога ангиотензина II у развоју хипертензије јесте да доводи до вазоконстрикције крвних судова, повећава ослобађање супстанци које поседују улогу у повећавању крвног притиска као и повећавању производње алдостерона. Другим речима, ангиотензин II поседује двоструко дејство на бубреге у регулисању крвног притиска, делујући директно на бубреге у циљу задржавања соли и воде, као и делујући на надбубрежну жлезду да лучи алдостерон, који задржава натријум и воду у крви, стварајући на тај начин већу запремину крви, која ће тиме повећати срчано оптерећење и последично довести до повишених вредности артеријског крвног притиска (147). Веома битна чињеница је и да ангиотензин II поседује могућност индуковања ендотелне дисфункције и поседовања проинфламаторног дејства, које често може бити посредовано индукцијом оксидационог стреса, што за последични исход има поремећај функције васкуларног система, као и бубрега и срца (146).

Утврђено је и да је ендотелна дисфункција основа за развој хипертензије. Ендотел је кључни у регулисању васкуларног тонуса, а самим тим и у изузетној мери омогућава осетљивост на уншење соли кроз секрецију азот-моноксида. Под повећаном

осетљивошћу за со подразумева се значајно повећање вредности крвног притиска за 10 mmHg или чак више након неколико сати од повећаног уноса соли $\geq 5g$ (148). Односно натријум је главни фактор који учествује у регулацији запремине крви, тј. повећавањем серумске концентрације Na^+ повећава се и ретенција воде, где се на тај начин повећава и укупна запремина течности у васкуларном кориту, а следствено томе долази и до повећања артеријског крвног притиска. Посматрано клинички, када се код нормотензивних особа повећа унос Na^+ путем исхране, долази до активације компензаторних механизма уз помоћ којих се вредност крвног притиска одржава у оквиру физиолошких граница. Под претходно наведеним механизмима подразумева се смањење васкуларног отпора у бубрезима и периферног васкуларног отпора, повећавање синтезе и ослобађање NO из ендотела. Међутим, уколико дође до изостајања ослобађања азот-моноксида, последично ће доћи до повећавања крвног притиска тј. појаве хипертензије. Такође, према литературним подацима ендотелна дисфункција код хроничне хипертензије формира се као последица комбинованог деловања високог крвног притиска на ендотел, повреде ендотела и индукције оксидационог стреса. Оксидациони стрес у оваквим условима настаје последично услед деловања више различитих ензима као што су ксантин оксидаза, NADPH оксидаза, циклооксигеназа као и смањене активности SOD-а (ензима антиоксидационог система заштите) (149). Такође, повећана продукција супероксид-анјон-радикала доводи до смањења нивоа NO и повећане синтезе проинфламаторног пероксинитрита (значајно токсичан), истичући да смањена биорасположивост NO представља круцијални фактор који успоставља везу између оксидационог стреса и ендотелне дисфункције у патогенези хипертензије (150).

У патогенези хипертензије веома важну улогу игра и активност симпатичког нервног система која је укључен како у акутној тако и у хроничној регулацију крвног притиска (151). Према подацима из бројних истраживања симпатички нервни систем је знатно активнији код хипертензивних испитаника у поређењу са нормотензивним, код особа мушког пола, гојазних испитаника, млађих особа као и код испитаника са инсуфицијенцијом бубрега (152, 153). Барорецептори или механорецептори, поседују веома битну улогу у регулацији артеријског крвног притиска. Представљају нервне завршетке, локализоване на различитим одредиштима у артеријском стаблу, који реагују на истезање зида крвног суда услед пораста крвног притиска. Сходно томе, каротидни синус обухвата значајан број барорецептора који поседују улогу да реагују на растезање зида артерије, последично услед увећања артеријског крвног притиска. Од тог тренутка барорецептори прослеђују импулсе у централни нервни систем, при чему као резултат долази до смањења импулса симпатичког нервног система, васкуларног тонуса и на послетку до смањења крвног притиска. Овај претходно објашњен хомеостатски механизам који помаже у одржавању крвног притиска на скоро константном нивоу, представља барорецепторски рефлекс, који пружа брз механизам негативне повратне спреге (140, 154).

2. 4. Дијагноза артеријске хипертензије

Историја истраживања и дијагностиковања артеријске хипертензије започиње у XVII веку, када је енглески свештеник *Stephen Halesse* 1733. године први измерио и објавио мерење вредности крвног притиска. Међутим, са клиничког аспекта на снагу ступа са изумом сфигмоманометра на бази манжетне 1896. године од стране италијанског доктора *Scipione Riva-Rocci-a*, обезбеђујући неинвазивно мерење артеријског крвног притиска у болничким условима. Да би 1905. године, ова техника била побољшана од стране *Николаја Короткова*, описивањем Кортковљевих тонова, који су се могли чути током слушања артерије стетоскопом за време испумпавања манжетне сфигмоманометра (155, 156).

Дијагноза артеријске хипертензије поставља се на основу мерења вредности крвног притиска амбулантно и у кућним условима, добијања података породичне и личне анамнезе, лабораторијских налаза, физикалног прегледа, дијагностиковања оштећења органа као и процене ризика од кардиоваскуларних обољења, при чему прецизно мерење крвног притиска игра кључну улогу у категоризацији хипертензије и примени адекватног терапијског модалитета.

Мерење крвног притиска представља процедуру за детектовање, потврђивање дијагнозе и контролисање крвног притиска. Амбулантно мерење крвног притиска представља мерење средњих вредности крвног притиска током временског периода од 24 часа, при чему се мерења врши континуирано током дана и ноћи. Током овакве врсте мерења крвног притиска, вредности су ниже у поређењу са ординацијским мерењем тј. током посете лекару, при чему граничне вредности за хипертензију током амбулантног мониторинга у временском интервалу од 24h износе $\geq 130/80$. Кућно мерење артеријског крвног притиска представља мерење у правилним временским интервалима у кућним условима или ван здравствене установе (129, 141). Главне предности амбулантног и кућног мониторинга крвног притиска је могућност дијагностиковања хипертензије „белих мантила“ као и маскиране хипертензије. Хипертензија „белих мантила“ представља повећавање нивоа артеријског крвног притиска у ординацијским условима тј. током лекарског мерења, док су са друге стране вредности у кућним условима и за време дневних активности у физиолошким границама. Маскирана хипертензија, за разлику од претходно наведеног облика хипертензије подразумева да су вредности артеријског крвног притиска при лекарском прегледу у оквиру физиолошких граница, док су у кућним условима повећане (141). Данас се за мерење артеријског крвног притиска углавном користи осцилометријски полуаутоматски или аускултаторни сфигмоманометри који се баждаре према регуларним протоколима, док се знатно ређе користи живин манометар због постојања потенцијалних ризика дугорочне изложености елементарној живи (129). Крвни притисак неопходно је измерити на обе руке. Мерење се врши најмање два пута при сваком прегледу, у размаку од 1-2 минута. Међутим, уколико је вредност другог мерења већа за више од 5 mmHg, неопходна су и допунска мерења, док се не добију уједначене вредности. Као званична вредност, уписује се средња вредност два последња мерења (157).

Физикални преглед има улогу да потврди или постави дијагнозу постојања хипертензије и установи тренутне вредности крвног притиска, процени оштећење циљаних органа, отклони својство постојања секундарне хипертензије и обухвати процену кардиоваскуларног ризика. Под овим прегледом се подразумева поред мерења крвног притиска и мерење телесне масе, обима струка, висине пацијената, као и одређивање *Body Mass Index-a*, због процене нивоа ухрањености. Такође, неопходно је и спровести аускултацију реналних и каротидних артерија, срца, као и утврђивање

присутности шумава срца, неправилног ритма откуцаја срца што би требало да усмери на додатне анализе попут Doppler ултрасонографиј каротида, ехокардиографије и ултразвука бубрега (129).

Такође, лабораториске анализе као и физикална терапија имају за циљ да испитују оштећење циљаних органа, могућност заступљености секундарне хипертензије као и процену укупног кардиоваскуларног ризика. Од примарних анализа препорука је одређивање вредности гликемије, уреје, креатинина, електролита, липидног статуса, као и преглед урина (157).

Према свим наведеним чињеницама, имајући у виду да велики део популације поседује хипертензију, од којих велики проценат или примењује неадекватну терапију или чак ни не зна да поседује хипертензију, из ових наведених разлога неопходано је редовно спровођење скрининга код особа средовечних година, као и код млађе популације са циљем превенирања или дијагностиковања артеријске хипертензије (129).

2. 5. Лечење и мере превенције артеријске хипертензије

Основни циљ терапије артеријске хипертензије представља максимално и дугорочно смањење укупног кардиоваскуларног ризика, што обухвата смањење вредности артеријског крвног притиска испод 140/90mmHg, као и контролу свих придружених фактора ризика (157).

Основа за превенцију, контролу, као и нефармаколошку терапију артеријске хипертензије јесу мере у модификацији стила живота, што подразумева правилну исхрану, престанак конзумирања никотина и алкохола, упражњавања редовне физичке активности, смањења уноса натријума, а довољног уноса магнезијума и калијума, као и постизања идеалне телесне тежине. Прецизније, ове мере подразумевају ограничен унос соли на 5-6g/дан, где се на овај начин постиже умањење вредности крвног притиска за 2-8 mmHg. Такође, спровођење дијете која подразумева висок унос воћа и поврћа, исхрана сиромашна засићеним и транс мастима као и унос млечних производа са сиромашним процентом масти (DASH дијета) има за циљ умањење крвног притиска за 8-14 mmHg. Упражњавање физичке активности, најмање 30 минута, 5-7 пута недељно има улогу да смањи крвни притисак за 4-9 mmHg. Смањење телесне масе је такође изузетно ефикасан метод у редукацији крвног притиска, где смањење телесне масе на BMI до 25 kg/m², редукује крвни притисак за 2-8 mmHg. Ограничена конзумација алкохола на два пића дневно за особе мушког пола и једног пића дневно за особе женског пола има за циљ смањење крвног притиска 2-4 mmHg (157).

Фармаколошка терапија, према базалним вредностима крвног притиска и одсуству или присуству компликација, започиње ниским дозама једног лека или ниском комбинацијама два лека. У антихипертензивне лекове спадају тиазидни диуретици, бета блокатори, антагонисти калцијумових канала, ACE инхибитори и антагонисти рецептора ангиотензина II. На избор лека утиче много чинилаца као што је присуство или одсуство оштећења таргет органа, кардиоваскуларних или бубрежних обољења, дијабетес мелитус, могућих интеракција лекова као и присуство других обољења која могу омогућити или ограничити примену антихипертензивних лекова. Медикамент треба прилагодити сваком пацијенту индивидуално. Студијама је показано да монотерапије поседују делотворно дејство само код ограниченог броја испитаника, а да је код највећег броја пацијената неопходна комбинација најмање два медикамента ради успешног умањења и одржавања вредности крвног притиска, нарочито код пацијената са изузетно

повишеним вредностима крвног притиска и високим укупним ризиком од појаве кардоваскуларних обољења (157, 158). Додатно, истовремена употреба два антихипертензивна лека се примењује у условима када је (158):

- третман једним медикаментом неуспешан четири недеље од почетка лечења
- присутан артеријски крвни притисак у вредностима између 140-179/90-109 mmHg уз присутност високог кардиоваскуларног ризика
- артеријски крвни притисак почетно $> 20/10$ mmHg у односу на циљне вредности
- артеријски крвни притисак $> 180/100$ mmHg, не обзирајући се на број заступљених ризикофактора.

На основу литературних података, антихипертензиви се могу користити применом комбинације два лека истовремено или употребом фиксне комбинације два медикамента у једној капсули. Почетак медикаментозне терапије комбиновањем два лека повећава се могућност благовременог достизања циљних вредности артеријског крвног притиска, у начелу, мањим дозама медикамената, него када би се елементи комбинације лекова прописивале сепарирано. Овим приступом се остварује брже и боље постизање циљних вредности крвног притиска, као и умањење учесталости дозно зависних нежељених ефеката лекова (158, 159).

3. ОКСИДАЦИОНИ СТРЕС

3. 1. Редокс равнотежа и слободни радикали

Слободне радикале (прооксидансе) је први описао *Moses Gomberg* професор хемије на Универзитету у Мичигену 1900. године (160). Откриће да живе ћелије садрже слободне радикале први пут је објављено 1954. године. Ова значајна студија у комбинацији са радом која скреће пажњу да јонизујуће зрачење оштећује ћелије путем слободних радикала покренуло је ново поље биолошких истраживања фокусирајући се на слободне радикале и ћелијску редокс равнотежу (161).

У свим живим биолошким системима процеси оксидације и редукције се непрекидно дешавају, при чему током процеса оксидације настају слободни радикали тј. молекули, јони или атоми који поседују један или више неспарених електрона у атомској орбитали што указује на њихову нестабилност и велику реактивност. У физиолошким условима, стварање као и елиминација слободних радикала су у међусобном балансу. Када су заступљени у ниским концентрацијама поседују низ значајних улога у организму тј. учествују у митохондријалној и ћелијској функционалности и сигнализацији, међутим уколико су заступљени у високој концентрацији, где способност антиоксидационог система не поседује могућност да их елиминише, тада ступају у хемијске реакције најчешће са липидима, протеинима, угљеним хидратима и молекулима ДНК доводећи до структурних, биохемијских и функционалних поремећаја како на ћелијском нивоу, тако и на нивоу целокупног људског организма (160, 162, 163).

Овакав дисбаланс који је заступљен између прооксиданаса и система антиоксидационе одбране у корист прооксиданаса који постепено воде ка оштећењу организма представља оксидациони стрес. Оксидациони стрес као концепт у редокс биологији и медицини дефинисан је још 1985. године од стране *Sies-a* и поседује

изузетно значајну улогу у патогенези преко двеста акутних и хроничних обољења (163).

Слободни радикали, у току свог функционисања пролазе кроз три фазе:

- фазу иницијације
- фазу пропације и
- фазу терминације.

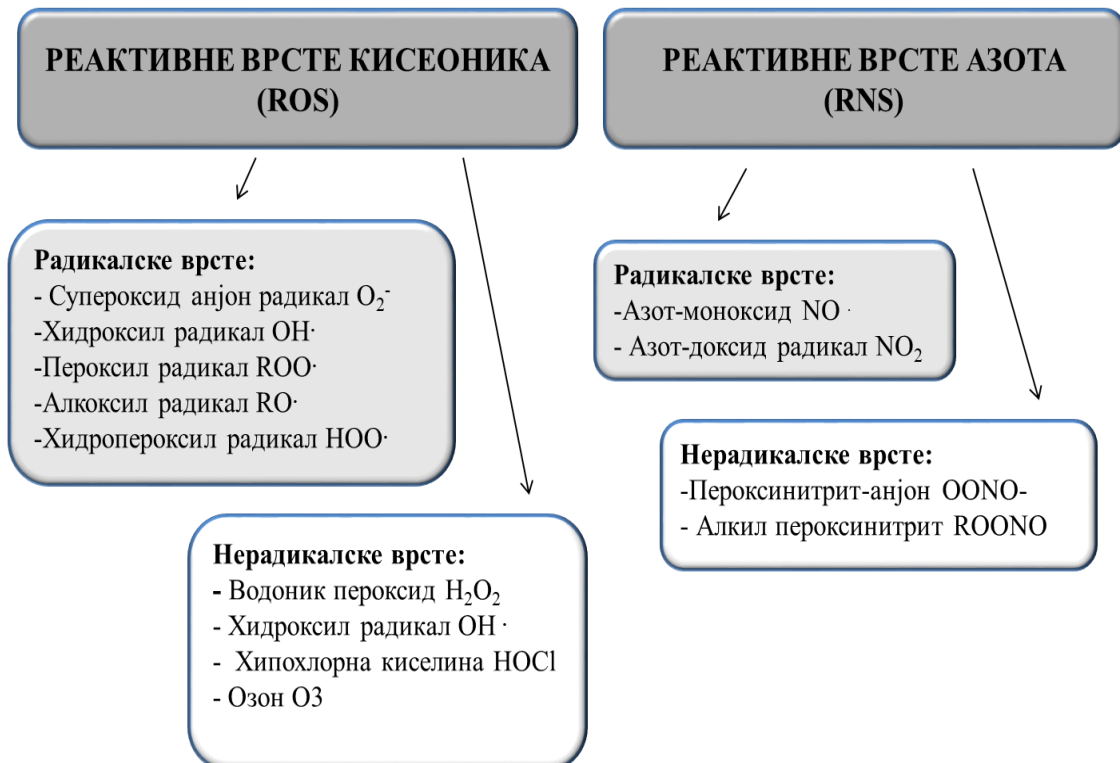
Фаза иницијације представља процес одузимања или додавања једног електрона нерадикалима, чиме им се између њихове хемијске или физичке особине, постајући на тај начин веома реактивнији.

Фаза пропације подразумева да новонастали слободни радикал поседује могућност активације циљаног молекула, тј. слободни радикал интерагује са циљаним молекулом из околине одузимајући му један електрон, при чему слободни радикал прелази у стабилно стање, док циљани молекул постаје слободни радикал. Овим поступком, слободни радикали надаље реагују са молекулима из околине, доводећи до настанка нових слободних радикала, где се овим путем за релативно кратак временски период број слободних радикала умножава и повећава вишеструко.

Фаза терминације представља процес неутрализације слободних радикала и њихове фазе пропације услед деловања неензимских и ензимских елемената антиоксидационог система заштите.

У зависности од тога који је атом у центру, слободни радикали се деле у више различитих категорија: реактивне врсте кисеоника (ROS), реактивне врсте азота (RNS), реактивне врсте угљеника (RCS) и реактивне врсте сумпора (RSS). Од наведених врста у биолошким системима највећим делом прооксиданси/оксиданси припадају ROS-у и RNS-у, који поседују нерадикалске и радикалске врсте, приказане у **Схеми 2** (164).

Схема 2: Преглед најзначајнијих оксиданаса у биолошком систему, врсте и подела.



3. 2. Антиоксидациони систем заштите

Антиоксиданси су молекули ниске молекулске тежине који могу безбедно ступити у интеракцију са слободним радикалима у фазама иницијације, пропагације, терминације и прекинути ланчану реакцију пре него што се витални молекули оштете. Такође, ови молекули су довољно уравнотежени и стабилни да донирају електрон слободном радикалу и неутралишу га, чиме се смањује његова способност оштећења (165).

Антиоксидациони систем заштите може бити примаран и секундаран. У примарни систем спадају ензимске и неензимске компоненте антиоксидационе заштите. Ензимске компоненте првенствено су локализоване у митохондријама и екстарћелијском простору, тј, на местима формирања слободних радикала унутар ћелије. У ову групу се убрајају:

- *Супероксид дизмутаза (SOD)* - је најважнији ендогено произведен интраћелијски ензим присутан у свакој ћелији биолошког система. Представља металоензим са три детектоване главне изоформе: SOD који садржи бакар - CuZnSOD, SOD који садржи манган - MnSOD, SOD који садржи гвожђе - FeSOD као и екстрацелуларна SOD (ECSOD). Све претходно наведене изоформе поседују улогу у дисмутацији супероксид анјон радикала (O_2^-) до O_2 и H_2O_2 , који под дејством каталазе може бити у потпуности редукован до кисеоника и воде. Према досадашњим сазнањима јетра, надбубрежна жлезда, бубрег и слезина поседују висок ниво SOD-а. Такође, изузетно битна чињеница је да у реакцији супероксид анјон радикала са азот моноксидом (NO) може се формирати један од најтоксичнијих прооксиданада - пероксинитрит ($OONO$). Тако активирају делује као „молекул убица“ имуних ћелија (166).

- *Каталаза (CAT)* - је интраћелијски ензим, присутан у ћелијама биљака, животиња и аеробних бактерија. То је један од главних примарних антиоксидационих одбрамбених ензима, углавном локализованих у пероксизомима, али се такође може наћи и у цитоплазми и митохондријама само у мањим количинама. CAT делује тако што катализује разлагање водоник пероксида на воду и молекул кисеоника. Међутим, H_2O_2 може бити делимично редукован до хидроксил-радикала (OH) који поседује јако токсично дејство. Према литературним подацима, до сада се зна да јетра, бубрег и црвена крвна зрнца поседују изражен ниво каталазе (166).

- *Глутатион пероксидаза (GPx)* - поседује два облика ензима, од којих је један независан од селена (GST) док је други је зависан од селена (GPx). Најважнији облик је GPx који се налази у митохондријама и цитосолу и поседује улогу у потпуној неутрализацији H_2O_2 до воде и молекулског кисеоника, када се формира оксидовани глутатион, који се под утицајем ензима глутатион редуктазе, у присуству NADPH, враћа у редуковано стање. Такође, GPx може прекинути ланчану реакцију пероксидације липида, уклањањем липидних хидропероксида, и тиме штитећи их од ROS-а. На основу истраживања, GPx је највише присутан у бубрезима, јетри и еритроцитима (166).

Када се говори о неензимским компонентама антиоксидационе заштите, могу бити липосолубилне тј. растворљиве у мастима и хидросолубилне тј. растволјиве у води. Једна од важних улога липосолубилних компонената је у стабилизацији ћелијске мембране и инхибицији липидне пероксидације. У ове компоненте убрајају се: витамин Е (α -токоферол), коензим Q (убихинон) и провитамин А (каротен). У хидросолубилне компоненте спадају: аскорбинска киселина (витамин Ц), мокраћна киселина, редуковани глутатион, албумини, трансферини, церулоплазмин, хепатоглобулин. Један од врло интересантних хидросолубилних компонената, значајних у проблематици наше

студије, јесте витамин Ц који поседује могућност неутрализације инфламаторних фактора оксидационог стреса, редукције оксидоване форме глутатиона, β -каротена и α -токоферола. Међутим, при високим концентрацијама у присуству гвожђа и бакра може поседовати прооксидационо и нефротоксично дејство (166, 167).

4. ПОВЕЗАНОСТ ПЕРИАПИКАЛНИХ ЛЕЗИЈА И ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА

Оксидациони стрес представља битан фактор у настанку и развоју системских болести као што су дијабетес мелитус, кардиваскуларна обољења, канцер, плућне болести, цереброваскуларни инсулт као и у много других обољења (168). Поред наведених патолошких стања, истраживања новијег датума су показала да оксидациони стрес, као динамични феномен, који подразумева дисбаланс између прооксиданаса и антиоксидационе одбране, у корист прооксиданаса, може бити умешан и у патогенезу периапикалних лезија (169).

Као што смо већ навели, периапикалне лезије представљају хроничну запаљенску реакцију ткива апексног пародонцијума на бактеријску инфекцију пулпе корена зуба, узроковајући ресорпцију алвеоларне кости око врха корена авиталних зуба (1, 2). Кључну улогу у настанку ових лезија играју најчешће патогене грам негативне анаеробне бактерије *P.gingivalis*, *A. Acitomycescomitans*, *P.intermedia* и *F.nucleatum* у пулпи корена зуба. Међутим, иако је функција микроорганизама у стварању периапикалних лезија од пресудне значајности, степен деструкције потпорног апарата зуба предствља последицу интеракције имунолошког одговора домаћина и микробиолошких чинилаца (169).

Познато је да у физиолошким и хомеостатским стањима, реактивне врсте кисеоника у малим концентрацијама поседују улогу у митохондријалној и ћелијској сигнализацији и функционалности, али ако дође до пораста њихове количине, тада могу посредовати оштећењу ткива и ћелија које последично могу довести до инфламације и појаве оксидационог стреса (160).

Тако и током ендодонске инфекције, полиморфонуклеарни леукоцити који поседују протективно дејство од штетног деловања микроорганизама усне дупље, у њиховој интерекцији, покрећу се разноврсни имунолошки, физиолошки и биохемијски одбрамбени одговори домаћина са циљем елиминације патогена. Полиморфонуклеарни леукоцити, индуковани микроорганизама, доводе до повећаног тршњења кисеоника што је праћено појавом „респираторне експлозије“ - „respiratory burst“, која последично повећава стварање слободних радикала, са циљем елиминисања мокроорганизама. Међутим, услед наведене одбрамбене реакције домаћина, могло би доћи и до повреде локалног ткива потпорног апарата зуба. Сходно томе, прекоморна производња слободних радикала, могла би довести до настанка неселективног оштећења ћелија, молекула ДНК, липида ћелијске мембране, протеина, као и екстрацелуларног матрикса потпорног апарата зуба што последично доприноси локалном формирању и прогресији периапикалних лезија у виду активације проинфламаторних цитокина и ресорпције алвеоларне кости (169).

Према досадашњим истраживањима, ROS игра веома важну улогу у ресорпцији алвеоларне кости периапикалних лезија. Утврђено је да супероксид анион радикал и водоник пероксид могу довести до стварања и активације остеокласта, тј. да је RANKL укључен у остеокластогенези посредованом ROS-ом. RANKL активира супероксидом и водоник-пероксидом доводи до интензивне остеокластогенезе, при чему активирани остеокласти доводе до ресорпције алвеоларне кости што представља једну од главних патолошких промена периапикалних лезија (169, 170).

Са друге стране, периапикалне лезије као хронична инфламаторна обољења праћена деструкцијом потпорног апарата зуба локализована у апикалном делу корена зуба и сама доводе до повећане продукције ROS-а. Студије су показале да је код пацијената са присуством периапикалних лезија повећана концентрација слободних радикала као што су супероксид анјон радикал, водоник пероксид и азот-мониксид (168, 171, 172).

Minczykowski и сарадници су у својој студији истраживали производњу супероксид анјон радикала и водоник пероксида код пацијената са хроничним периапикалним грануломима пре и после хируршке интервенције. Након екстракције зуба са хроничним периапикалним лезијама, узети су узорци крви на пријему пацијента, пре екстракције и 14. дана од екстракције зуба. Добијени резултати су показали да су концентрације O_2^- и H_2O_2 значајно биле повећане код пацијената пре третмана у поређењу са пацијентима који нису имали хроничне периапикалне лезије. Такође, концентрација O_2^- била је значајно нижа 14 дана од екстракције зуба у поређењу са периодом пре третмана. Другим речима, добијени резултати снажно су указали на прекид генерализованог упалног одговора након уклањања локалне упале вађењем зуба (171). Имеђу осталог, у патогенези периапикалних лезија азот-мониксид је игра кључну улогу у регулисању упалне реакције код периапикалних лезија. Патогенетски механизам којим азот-мониксид може довести до прогресије периапикалних лезија јесте способност индуковања апоптозе макрофага и остеобласта уз појачавање про-апоптогичког ефекта цитокина (172).

Истраживања су такође показала да је код пацијената са хроничним апикалним пародонтитисом концентрација маркера оксидационог стреса у саливи и у коренском садржају канала знатно била већа у поређењу са здравим пацијентима (173, 174).

Наведене чињенице потврђују да ROS појачава проинфламаторне медијаторе и ензиме екстраћелијског матрикса доприносећи деструктивним променама апикалног ткива потпорног апарата зуба као и развоја апикалних лезија.

Студије новијег датума показују да хроничне периапикалне лезије не прате само локално у усној дупљи поремећај у редокс равнотежи, већ да током формирања периапикалних лезија, реактивни облици кисеоника који настају у том периоду дифундују у циркулацију доводећи до оксидацију молекула крви и формирања системског оксидационог стреса и последично настанка одређених хроничних болести (175-178). *Prieto* и сарадници у својој експерименталној студији истражили да ли постоји повезаност између апикалног пародонтитиса и оксидационог стреса у дијабетичним условима, показавши да присуство периапикалних лезија може системски погоршати оксидациони статус, повећањем параметра оксидационог стреса, што даље указује на то да периапикалне лезије потенцирају системске ефекте дијабетес мелитуса доводећи до даље прогресије болести (175). Такође, истраживања вршена на лабораторијским животињама показала су да експериментално индуковане периапикалне лезије могу довести до оксидационог оштећења бубрега (177), као и да оксидациони стрес изазван формирањем периапикалних лезија може учествовати и у даљој прогресији атеросклерозе (178).

Међутим, овакве студије које су се бавиле испитивањем периапикалних лезија као потенцијалног фактора ризика у настанку или даљој прогресији одређених системских обољења, још увек их је релативно мали број а квалитет постојећих доказа је низак и узрочни однос се не може са сигурношћу утврдити. Упркос овој чињеници, ови наведени налази истовремено су потенцијално значајни и изискују даља испитивања јер циркуларни оксидациони стрес узрокован од стране хроничног инфламаторног обољења као што су периапикалне лезије може временом довести до

оштећења удаљених ткива и органа и појаве или прогресије одређених системских обољења (169).

Из свега наведеног, потенцијални закључак је да прекомерна производња ROS-а може изазивати неселективно оштећење ћелија, липида ћелијске мембране, молекула ДНК што доприноси локалном формирању и прогресији периапикалних лезија у виду активације проинфламаторних цитокина и ресорпције алвеоларне кости. Са друге стране, периапикални процес као инфламаторно хронично обољење и сам може довести до стварања слободних радикала који у облику реактивних облика кисеоника дифундују у крв доводећи до оксидације биомолекула крви и настанка системског оксидационог стреса што временом може оштетити удаљена ткива и органе и довести до појаве системских болести (169).

5. ПОВЕЗАНОСТ ПЕРИАПИКАЛНИХ ЛЕЗИЈА И АРТЕРИЈСКЕ ХИПЕРТЕНЗИЈЕ

Последњих година се све већи значај придаје испитивању повезаности периапикалних лезија као хроничног инфламаторног обољења и одређених системских болести. Познато је да запаљенска реакција у знатној мери доприноси развоју артеријске хипертензије, тиме што је повезана са знатном васкуларном пропустљивошћу и отпуштању веома значајних медијатора као што су цитокини, ROS, металопроотеиназе и NO. Улога цитокина је у стварању значајног слоја у интими артеријског крвног суда, чиме се на тај начин умањује лумен артерија и артериола доводећи до формирања отпора у протицању крви. Такође, цитокини поседују улогу у повећавању локалне синтезе ангиотензина II и ангиотензиногена у бубрезима, доводећи до увећања ретенције течности и натријума и тиме последично доприносећи настанку хипертензије (179).

Постоји свега неколико студија које су се бавиле проучавањем повезаности периапикалних лезија и хипертензије у *in vitro* и *in vivo* условима (1, 178, 180-183). Студијама је показано да периапикалне лезије могу бити укључене у развој хипертензије, јер настају као резултат акумулације најчешће патогених грам негативних анаеробних бактерија *P.gingivalis*, *A. Acitomycetemcomitans*, *P.intermedia* и *F.nucleatum* у пулпи корена зуба, које иницирају инфламацију периапикалног ткива, улазећи у системску циркулацију (148, 183).

Главни и заједнички механизам који повезује хипертензију и периапикалне лезије јесте сигнал TLR4 (енг. *Toll-like receptors 4*). TLR4 рецептор игра фундаменталну улогу у препознавању патогена и активирања урођеног имунитета, који је кључни проинфламаторни сигнал у индукцији хипертензије, оштећења циљних органа и периапикалних лезија (180).

Познато је да имуни систем има две главне компоненте, неспецифични тј. урођени и специфични тј. стечени имунитет, који су блиско повезани. Урођени имунитет представља „прву линију одбране“ од инвазивних организама и састоји се од епителних ћелија које представљају препреку за инвазију фагоцита који захватају и уништавају стране организме и систем комплементата који помажу у елиминацији патогена. Урођене имунолошке ћелије садрже TLR рецепторе, који препознају молекуларне обрасце повезане са патогенима, као што су липополисахариди, HMGB1 које ослобађају макрофаги и оштећени зидови васкуларних ћелија. Након везивања, они сигнализирају низ ћелијских догађаја, укључујући производњу цитокина и хемокина, експресију NO и производњу реактивних врста кисеоника (1, 184).

Као што смо већ навели, периапикалне лезије могу бити укључене у развој хипертензије, јер настају као резултат акумулације најчешће патогених грам негативних анаеробних бактерија. Интеракција између липополисахарида који представљају интегрални део ћелијског зида грам-негативних бактерија и TLR4 рецептора на макрофагима и неутрофилним гранулоцитима активира се широка оса урођеног имунитета. Другим речима, активацијом TLR рецептора стимулирана је интраћелијска сигнална каскада доводећи до миграције леукоцита, генезе остеокласта и секреције проинфламаторних цитокина који се могу отпустити у системску циркулацију доприносећи настајању или даљој прогресији хипертензије (182). Ови инфламаторни фактори су критични у ендотелној дисфункцији, вазоконстрикцији и вазодилатацији, повећавајући периферни отпор и последично повећавајући вредности крвног притиска (1). Експерименталне студије су показале да су мишеви са недостатком TLR4 рецептора отпорнији на појаву хипертензије (185) као и да поседују значајно смањену периапикалну ресорпцију алвеоларне кости у поређењу са мишевима дивљег типа (186). С друге стране, IL-10 је важан антиинфламаторни цитокин и поседује контрарегулаторну функцију у развоју у хипертензије и периапикалних лезија. Истраживањима је показано да је ниво проинфламаторног цитокина IL6 повећан, а ниво IL10 смањен у стањима хипертензије и периапикалних лезија, што указује на њихову међусобну повезаност (1, 181).

Такође на њихову корелацију указује експериментална студија која је показала да је скоро двоструко повећана диференцијација остеоκласних ћелија коштане сржи алвеоларне кости код хипертензивних мишева са присуством периапикалних лезија у поређењу са нормотензивним сојем (180). Сходно наведеној чињеници а и познатој чињеници да су остеоκласти одговорни за ресорпцију алвеоларне кости, ангиотензин II може представљати везу између хипертензије и периапикалних процеса. Хипертензија је посредована ангиотензином II, молекулом који индукује експресију RANKL, што доводи до активирања остеоκласта, који су одговорни за ресорпцију алвеоларне кости (180, 187). Другим речима, ангиотензин II индукује експресију RANKL преко рецепторских активатора нуклеарног фактора капа-бета лиганда (NF-κβ) у остеобластима, што доводи до активације остеоκласта. Хипертензија такође може негативно утицати на минералну густину костију због абнормалног метаболизма 1,25-дихидроксивитамина D, кључног регулатора у хомеостазу калцијума и метаболизма костију (180, 187). Такође, код хипертензије ангиотензином II представља агонисту TLR4 рецептора (1, 188) (Схема 3).

Клиничке студије које су се бавиле повезаношћу хипертензије и периапикалних лезија показале су да је преваленца периапикалних апсцеса значајно већа код хипертензивних пацијената, а посебно код пацијената са секундарном хипертензијом у поређењу са примарном хипертензијом. Такође су показали и да антихипертензивни лекови попут блокатора рецептора ангиотензина II могу значајно смањити преваленцу периапикалних апсцеса код пацијената са хипертензијом (189). *Segura-Egea* и сарадници су у свом клиничком истраживању предочили да је преваленца апикалног пародонтитиса била значајно већа код пушача са хипертензијом у поређењу са субјектима који не пуше (190). Такође, једна од врло интересантних и превентивно битних клиничких студија која се бавила испитивањем могуће повезаности између периапикалних лезија и преекламсије показала је значајну заступљеност периапикалних лезија код наведеног обољења и пружила доказе да је мајка са присуством периапикалних лезија снажан независни предиктор за појаву преекламсије. Стога из добијених резултата претпоставља се да се ризик од појаве преекламсије може смањити свеобухватним стоматолошким прегледима за откривање и лечење било ког извора упала усне дупље, укључујући и периапикалне лезије, пре трудноће (191).

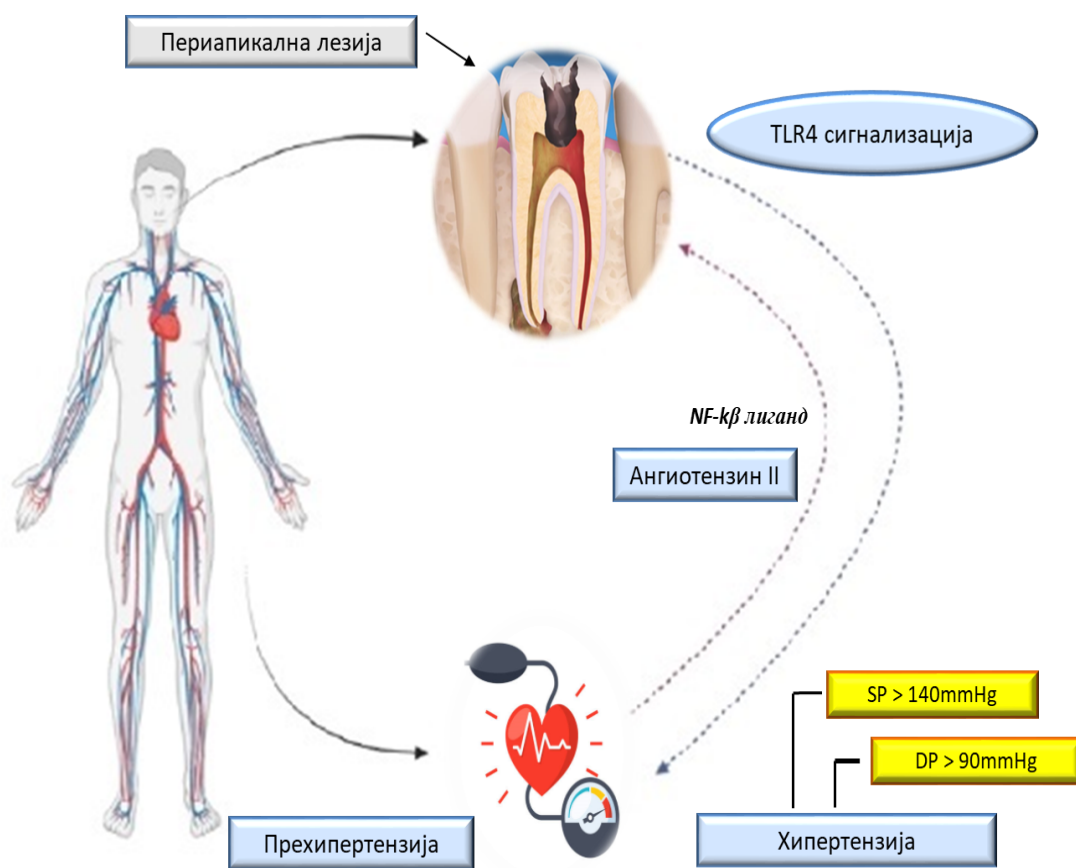


Схема 3. Потенцијална међусобна повезаност хипертензије и периапикалних лезија. *SP*-ситолни крвни притисак; *DP* дијастолни крвни притисак.

Док поједина истраживања показују позитивну повезаност, друга пак истичу да периапикалне лезије нису укључене у развој хипертензије, јер преваленца и величина периапикалних лезија и концентрација инфламаторних цитокина (IL-1 α , IL-1 β и TNF α) није повећана у хипертензивним у односу на нормотензивне услове (180, 192).

Иако је већина објављених студија пронашла позитивну корелацију између периапикалних лезија и хипертензије, квалитет постојећих доказа је низак и узрочни однос се не може са сигурношћу утврдити (180). Истовремено ови налази су потенцијално значајни и захтевају даља истраживања са циљем да се таква повезаност научно ојача.

6. МОГУЋА ПОВЕЗАНОСТ ПЕРИАПИКАЛНИХ ЛЕЗИЈА, ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА И АРТЕРИЈСКЕ ХИПЕРТЕНЗИЈЕ

На основу претходно наведених чињеница, иако је назначена веза између хипертензије, периапикалних лезија и оксидационог стреса, најважније је да се таква веза научно ојача. До сада је објављена само једна студија која је показала да присуство периапикалних лезија повећава параметре оксидационог стреса код дијабетичних пацова (175). Сем ове претходно наведене студије, до сада није било доступних истраживања у литератури повезујући утицај периапикалних лезија на оксидациони стрес системски у *in vivo* условима.

Једна од ретких експерименталних студија која се бавила испитивањем повезаности експериментално индукваног апикалног пародонтитиса на функцију срца и оксидационог стреса код хипертензивних пацова је истраживање коју су објавили *Milojevic Samanovic A.* и сарадници (193). Посматрано методолошки, студија је обухватила 48 *Wistar* пацова, подељених у четири једнаке експерименталне групе (контролна група, нормотензивне животиње са присуством периапикалних лезија, спонтанохипертензивне животиње без присуства периапикалних лезија и спонтанохипертензивне животиње са присуством периапикалних лезија). Апикални пародонтитис индукван је излагањем зубне пулпе мандибуларних молара пацова деловању микроорганизама усне дупље у тајању од 4 недеља. По завршетку експеримента, животиње су жртвоване цервикалном дислокацијом, срца изолована и њихова функција испитивана уз помоћ *Langendorff* апарата, при променама коронарног перфузионог притиска од 40-120cmH₂O. Хемимандибуле су анализирани радиографски са циљем дијагностиковања периапикалних лезија. Такође, вршено је и прикупљање коронарног венског ефлуента из срца пацова ради мерења срчаних оксидационих маркера као и вршење хистолошке анализе срчаног ткива.

Резултати студије су показали да је било статистички значајне разлике између параметара срчане функције поређењем између свих наведених група. Сходно томе, максимална стопа промене притиска у левој комори код спонтанохипертензивних животиња са присуством периапикалних лезија била је значајно повећана у поређењу са нормотензивним животињама без присуства периапикалних лезија и контролне групе, као и спонтанохипертензивних животиња без присуства периапикалних лезија у поређењу са контролном групом. Минимална стопа промене притиска у левој комори код спонтано хипертензивних животиња са присуством периапикалних лезија била је значајно смањена у поређењу са нормотензивним животињама без присуства периапикалне лезије, спонтанохипертензивних животиња без присуства периапикалних лезија и контролне групе, као и спонтанохипертензивних животиња без присуства периапикалних лезија у поређењу са контролном групом. Такође, радиографска површина периапикалних лезија била је статистички значајно већа код спонтанохипертензивних животиња са присуством периапикалних лезија у поређењу са нормотензивним животињама са присуством периапикалних лезија. У погледу нивоа срчаних оксидационих маркера, активност супероксид дисмутазе у хомогенату срчаног ткива била је значајно нижа код спонтанохипертензивних и нормотензивних животињама са присуством периапикалних лезија у поређењу са спонтанохипертензивних животиња без присуства периапикалних лезија и контролне групе.

На основу претходно наведених чињеница, сарадници у овој експерименталној студији дошли су до заједничког закључка да периапикалне лезије могу бити повезане са погоршаном срчаном функцијом, параметрима срчаног оксидационог стреса, атиоксидационим системом одбране, као и постојања патохистолошких промена

срчаног ткива. Такође, хипертензија као хронично системско обољење може бити повезана са повећавањем радиографског подручја периапикалних лезија.

С обзиром да до сада није било студија које су објединиле испитивање повезаности између хипертензије, периапикалних лезија и оксидационог стреса, сматрали смо да је од интереса да се овакав вид повезаности истражи и научно ојача. Ова хипотеза представља једну од главних актуелности и оригиналности садашњег истраживања, где се на тај начин доприноси развоју нових терапијских процедура са циљем модулације оксидационог стреса, смањења симптома периапикалних лезија и хипертензије као и превенције настанака срчаног и možданог удара, посебно код популације високог ризика. Позитивни резултати ове студије утицаће на повећање свести о потреби укључивања процене стања оралног здравља, његовог лечења и превенције као средство у побољшавању здравственог исхода системских болести. Такође, овом студијом поставиће се незаобилазни и важни темељи будућих експерименталних и клиничких студија, које ће се бавити овом врстом проблематике.

II
ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ
ИСТРАЖИВАЊА

2. 1. Циљеви истраживања

Општи циљ

На темељу претходно изнетих научних чињеница, општи циљ истраживања био је да се испита постојаност повезаности између оксидационог стреса, срчане функције и периапикалних лезија код пацова. Посебан фокус био је на спонтанохипертензивним и нормотензивним пацовима.

Специфични циљеви

- Испитати и упоредити димензију радиографског подручја периапикалних лезија код спонтанохипертензивних и нормотензивних пацова.
- Испитати и упоредити дебљину периодонталног лигамента, ниво ресорпције алвеоларне кости и зубног цемента периапикалних лезија код спонтанохипертензивних и нормотензивних пацова.
- Испитати и упоредити интезитет и екстензивност инфламаторног инфилтрата периапикалних лезија код спонтанохипертензивних и нормотензивних пацова.
- Испитати и упоредити диференцијацију остеоклата алвеоларне кости периапикалних лезија код спонтанохипертензивних и нормотензивних пацова.
- Испитати и упоредити концентрацију проинфламаторних цитокина (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL17 и TNF α) периапикалних лезија код спонтанохипертензивних и нормотензивних пацова.
- Испитати и упоредити утицај периапикалних лезија на промену функције изолованог срца пацова у условима спонтане хипертензије и нормотензије.
- Испитати и упоредити утицај периапикалних лезија на динамику редокс равнотеже коронарног венског ефлуента, хомогената срчаног ткива и крви у условима нормотензије и спонтане хипертензије.

2. 2. Хипотезе истраживања

Општа хипотеза

Главна хипотеза истраживања била је да постоји повезаност између оксидационог стреса, срчане функције и периапикалних лезија код пацова поготово у хипертензивним условима.

Специфичне хипотезе

- Димензија радиографског подручја периапикалних лезија је већа код спонтанохипертензивних у односу на нормотензивне пацове.
- Дебљина периодонталног лигамента, ниво ресорпције алвеоларне кости и зубног цемента периапикалних лезија је већа код спонтанохипертензивних у односу на нормотензивне пацове.
- Интезитет и екстензивност инфламаторног инфилтрата периапикалних лезија је већи код спонтанохипертензивних у односу на нормотензивне пацове.
- Диференцијација остеокласта алвеоларне кости је повећана код спонтанохипертензивних пацова са присуством периапикалних лезија у односу на нормотензивне пацове са присуством периапикалних лезија,

спонтанохипертензивне пацове са одсуством периапикалних лезија и контролну групу.

- Повећана је концентрација проинфламаторних цитокина код спонтанохипертензивних пацова са присуством периапикалних лезија у односу на нормотензивне пацове са присуством периапикалних лезија, спонтанохипертензивне пацове са одсуством периапикалних лезија и контролну групу.
- Периапикалне лезије на терену хипертензије могу да промене функцију изолованог срца пацова.
- Повишене су вредности маркера оксидационог стреса и снижене вредности ензима антиоксидационе заштите коронарног венског ефлуента, хомогената срчаног ткива и крви код спонтанохипертензивних пацова са присуством периапикалних лезија у односу на нормотензивне пацове са присуством периапикалних лезија, спонтанохипертензивне пацове са одсуством периапикалних лезија и контролну групу.

III

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Ово истраживање представља експерименталну студију на животињама и анималном материјалу *ex vivo* и *in vivo*. Комплетна експериментална процедура одобрена је од стране Етичког комисије за заштиту добробити огледних животиња Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу (број: 01-304/1). Такође, све експерименталне процедуре биле су у сагласности са ЕУ директивом о заштити животиња које се користе у научне сврхе 86/609/ЕЕС, ЕУ директивом о добробити лабораторијских животиња 2010/63/EU и принципима добре лабораторијске праксе.

3. 1. Експерименталне животиње

За потребе студије коришћена су 48 пацова *Wistar* соја који су прибављени из виваријума Војномедицинске академије, старости 6 недеља, мушког пола, просечне телесне масе око 200 грама. Животиње су припадале групи нормотензивних и спонтанохипертензивних пацова. Биле су чуване према прописаним, стандардним, контролисаним узгојним условима (температура 25°C, влажност 55±10%, циклус светлости:тама 12:12 часова), док су вода и храна били доступни у довољној количини како би их могли узимати по потреби (*ad libitum*). Пре самог истраживања, животиње су биле распоређене у кавезе у временском трајању од 7 дана са циљем прилагођавања на нову средину.

Након адаптације на нову средину, животиње су насумично подељене у четири једнаке групе (12 животиња по групи):

- „С група“: контролна група (нормотензивни пацови без присуства периапикалних лезија) (n=12) ;
- „АР група“: нормотензивни пацови са присуством периапикалних лезија (n=12);
- „SHR група“: спонтанохипертензивни пацови без присуства периапикалних лезија (n=12);
- „SHR+АР група“: спонтанохипертензивни пацови са присуством периапикалних лезија (n=12).

3. 2. Мерење крвног притиска и срчане фреквенце

На самом почетку експерименталног протокола, пре него што су животиње биле насумично распоређење у четири једнаке групе тј. пре саме индукције експерименталних периапикалних лезија, хипертензија је била потврђена код спонтанохипертензивних и нормотензивних пацова, неинвазивном методом репне плетизмографије (*tail-cuff* метод). Овом методом су прецизно мерене вредности систолног и дијастолног крвног притиска, као и фреквенца срца.

Метод репне плетизмографије се изводио уз помоћ апарата ВР система (*Rat Tail Cuff Method Blood Pressure Systems - MRBP-R, IITC Life Science Inc. USA*) који је подразумевао мерење вредности системског крвног притиска и срчане фреквенце уз коришћењем посебне врсте сензора који се постављао на реп пацова и поседовао је могућност дијагностиковања измене притиска у оквиру самог крвног суда (194) (Слика 2). Након сваког мерења, поступак се понављао 8-10 пута при чему се за дефинитивну резултат узимала средња вредност.

Такође, и пре жртвовања, тј. 30-ог дана од индукције периапикалних лезија, крвни притисак заједно са фреквенцом срца био је мерен код свих испитиваних група животиња (C, AP, SHR, SHR+AP).



Слика 2. Апарат за одређивање вредности крвног притиска и срчане фреквенце код пацова.

3. 3. Индукција експерименталног модела апикалног пародонтитиса

Експериментални апикални пародонтитис индуковао се излагањем пулпе зуба првих мандибуларних молара пацова деловању микроорганизама усне дупље. Животиње су биле анестезиране интраперитонеалном апликацијом анестетика кетамин-ксилазила (100mg/kg-10mg/kg). По анестезирању, пацови су били фиксирани на постољу од стиропора где им је комора пулпе првог молара са леве и десне стране мандибуле била отворена помоћу техничког микромотора и округлог карбидног борера (дијаметар 0,6 mm; Longneck-Endo-Bur; Acurata FmbH & Co. KG) уз присуство великог броја обртаја и константне иригације физиолошким раствором. Приступ отварања зубне пулпе био је у пределу оклузалне површине зуба првих молара. Проходност канала проверавала се Кер иглом величине 8 (Dentsply Sirona). Излагање зубне пулпе првих мандибуларних молара пацова деловању микроорганизама усне дупље износило је 30 дана са циљем формирања периапикалних лезија (175) (Слика 3).



Слика 3. Отворена комора пулпе са оклузалне површине првог молара доње вилице пацова уз помоћ техничког микромотора, карбидним округлим борером.

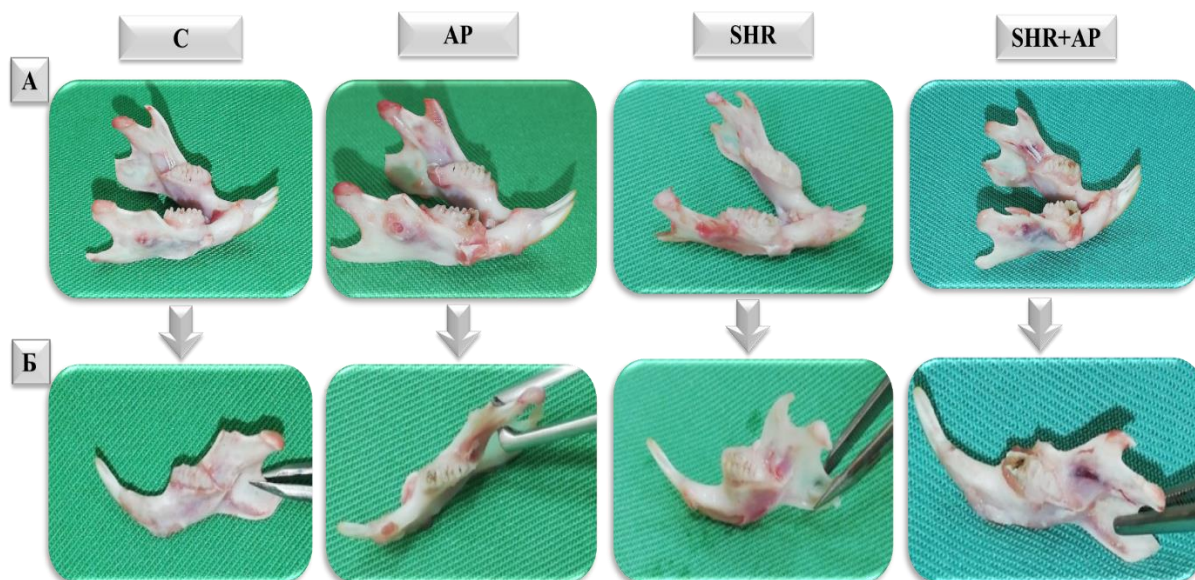
3. 4. Жртвовање животиња и прикупљање биолошког материјала

Након 30-ог дана од индукције експерименталних периапикалних лезија, животиње су жртвоване цервикалном дислокацијом, где су том приликом скупљени узорци крви за биохемијске анализе (системски маркери оксидационог статуса) и испитивана је функција изолованог срца пацова методом ретроградне перфузије по *Langendorff-у* (*Langendorff apparatus, Experimetria Ltd, 1062 Budapest, Hungary*), при променама коронарног перфузионог притиска од 40-120cmH₂O. Током испитивања изловане функције срца пацова, прикупљен је и коронарни венски ефлуент ради мерења срчаних прооксидационих маркера (TBARS, NO⁻, O₂⁻, H₂O₂). Након завршене методе испитивања изолованог срца пацова, једна половина срца је коришћена за патохистолошку анализу а друга за одређивање маркера оксидационог статуса из хомогената срчаног ткива.

Узорци ткива зуба са периодонталним лигаментом и алвеларном кости, узимани су са леве и десне стране хемимандибуле. Узорци ткива десне хемимандибуле користили су се за патохистолошку, хистоморфометријску и радиолошку анализу, док леве хемимадибуле за радиолошку анализу и анализу концентрације проинфламаторних цитокина (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL17 и TNF α).

3. 5. Радиографска анализа апикалног пародонтитиса

Након жртвовања животиња, мандибуле су изоловане, а затим је маказицама одстрањено меко ткиво доње вилице и у пределу доњих централних инцизива направљен пресек мандибуле са циљем добијања леве и десне хемимандибуле (Слика 4).



Слика 4. Приказ мандибула (А) и десних хемимандибула (Б) свих експерименталних група пре процедуре радиографисања.

По завршетку овог поступка, радиографисане су десне и леве хемимандибуле са циљем потврде присуства периапикалних лезија у SHR+AP и AP групи. Радиографски снимци су формиран под правим углом са букалним површинама првих мандибуларних молара. Коришћен је интраорални рендген апарат (*Heliodent Plus; Sirona Dental Systems, Bensheim, Germany*) са дигиталним сензором (*Sirona XIOS D3495*) уз задате параметре: 70 kVp, 7mA, време експозиције 0,12 секунди и жижна удаљеност од 30 cm. Анализа радиографских снимака извршена је коришћењем ImageJ програма (*version 1.53a; National Institute of Health, Bethesda, MD, USA*), уз помоћ којег су означене границе радиографских лезија мезијалних канала корена. Укупна површина периапикалних лезија израчуната је у квадратним милиметрима (mm²), верификована у пикселима и добијене вредности су упоређене између група.

Сви радиографски снимци десне и леве хемимандибуле су насумично обележени и анализирани од стране два доктора стоматологије који нису знали који радиографски снимак којој групи припада, чиме је максимално пружена објективност рада и избегнута пристрасност. Радиографски снимци су анализирани под умереном осветљеношћу за светлосним столом уз употребу лупе са увећањем 2.5x постављене изван оквира за маскирање димензија зубног филма (195, 196).

3. 6. Патохистолошка анализа периапикалних лезија

По завршетку радиографисања леве и десне хемимандибуле и дијагностиковања присуства периапикалних лезија, ткива десне хемимандибуле фиксирана су у четворопроцентном параформалдехиду на собној температури у временском трајању од

24h. По завршетку овог поступка, коштано ткиво мандибуле испрано је текућом водом и декалцификовано тропроцентном мрављом киселином у трајању од 24h и потом укалупљено у парафинске блокове како би се обезбедила њихова фиксација. Коришћењем микротома, калупи са ткивима су исечени на секције дебљине 5-6 μ m и бојени хематоксилин/еозин (H&E) методом. Све патохистолошке анализе обављала су два специјалиста патологије који нису знали који ткивни узорак којој групи припада, тиме је максимално пружена објективност рада и избегнута пристрасност. За патохистолошке и хистоморфометријске анализе периапикалних лезија анализирани су пресеци који су обухватили круницу зуба и мезијални корен првог мандибуларног молара са периапикалним регионом.

3. 6. 1. Поступак бојења хематоксилин/еозином

У почетном сегменту поступка бојења хематоксилин/еозином, парафински исечци су били загрејани на +58°C у временском интервалу од 45 минута. Потом су депарафинисани процесом натапањем резова ткива у ксилол два пута у трајању од по десет минута и испирани етил алкохолем у силазним концентрацијама са циљем рехидратације исечка на предстојећи начин: два пута по пет минута у апсолутном алкохолу, затим по пет минута у алкохолу од 96%, 90% и 70%. Након наведеног поступка ткивни резови су испрани у дестилованој води у временском интервалу од пет минута. Ткивни резови су бојени *Mayer*-овим хематоксилином у трајању од десет минута, затим испирани дестилованом водом, потом текућом водом у временском интервалу од по пет минута. По завршетку претходно наведеног поступка, у трајању од два минута ткивни исечци су затим обојени алкохолним еозином. По завршеном постуку извршена је дехидратација ткива, потапањем ткивних резова у алкохол растуће концентрације од по пет минута (70%, 90%, 96%, 100%). По завршетку поступка, добијени препарати су повргнути процесу просветљавања потапањем током једног минута у мешавину 100% алкохола и ксилола у односу 1:1, а затим два пута по један минут искључиво у ксилолу.

Крајњи поступак је представљао наношење Канада балзама (*Canada balsam, Centrohem*, Србија) на исечке и прекривање покровним стаклима. Након сушења препарата су у трајању од 24 часа испитивани под светлосним микроскопима (*Axioscop 40; Carl Zeiss* и *Nikon Eclipse 50 i*), док су патохистолошке промене фотографисане уз помоћ камере (*PC 1089; Canon*) (197).

3. 7. Хистоморфометријска анализа периапикалног ткива

Хистоморфометријска анализа извршена је коришћењем бинокуларног светлосног микроскопа (*Nikon Eclipse 50 i*) и одговарајућег програма (*NIS Elements D 2.30*). Представљала је анализу следећих параметара периапикалног региона(64):

а) *Дебљина периапикалног периодонталног лигамента* представља удаљеност од апекса корена зуба до алвеоларног коштаног ткива. Мерење је извршено у микрометрима на увеличању 40x. Статистичком обрадом дефинисана је медијана 50% и квантили (75%, 25%), на основу прикупљених података из све четири експерименталне групе што је обезбедило бодовање сваке индивидуалне дебљине периапикалног периодонталног лигамента нумерацијом од 1 до 4.

б) *Ресорпција алвеоларне кости* одређена је на бази дебљине периапикалног периодонталног лигамента, при увеличању 40x. Поступак бодовања приказан је у **Табели 3**.

Табела 3. Ресорпција алвеоларне кости - бодовање.

1	одсуство ресорпције
2	"поправљена" ресорпција
3	заступљеност ресорпције алвеоларног коштаног ткива (мање од вредности медијане периодонталног лигамента)
4	заступљеност ресорпције алвеоларног коштаног ткива (више од вредности медијане периодонталног лигамента)

ц) *Екстензивност периапикалног инфламаторног инфилтрата*, одређена је при увеличању 40x. Поступак бодовања приказан је у **Табели 4**.

Табела 4. Екстензивност периапикалног инфламаторног инфилтрата - бодовање.

1	одсуство инфилтрата
2	заступљеност инфилтрата око апексног форамена корена зуба
3	заступљеност инфилтрата до 1/2 периодонталног лигамента
4	заступљеност инфилтрата више од 1/2 периодонталног лигамента

д) *Ресорпција апикалног цемента*, одређена је при увеличању 40x. Поступак бодовања приказан је у **Табели 5**.

Табела 5. Ресорпција апикалног цемента - бодовање.

1	одсуство ресорпције
2	до 1/2 дебљине цемента
3	више од 1/2 дебљине цемента
4	захвата дентин

е) *Интензитет периапикалног инфламаторног инфилтрата* одређен је бројањем запаљенских ћелија на увеличању 600x, при чему је периапикални регион подељен виртуелном мрежом (10 x 10 μm), где се у сваком од ових поља одређивао број запаљенских ћелија (неутрофилних гранулоцита, макрофага и лимфоцита). Затим је био израчунат просечан број појединих ћелијских типова при чему је интензитет запаљенског инфилтрата био оцењен као одсутан (од 0 до неколико запаљенских ћелија): оцена 1, благо (<25 ћелија): оцена 2, умерен (25-125 ћелија): оцена 3 и тешка (> 125 ћелија): оцена 4 (175).

3. 8. Одређивање броја диферентованих остеокласта алвеоларне кости периапикалних лезија

Испитивање и анализа броја диферентованих остеокласта алвеоларне кости периапикалних лезија, одређен је коришћењем светлосног микроскопа (иста модел који је коришћена у хистоморфометријској анализи) на увећачу 600x. Периапикални регион био је подељен виртуелном мрежом (10 x 10 μm), где се у сваком од ових поља одређивао број остеокласта. Остеокласти унутар простора коштане сржи нису били укључени у анализу.

3. 9. Испитивање концентрације проинфламаторних цитокина приапикалних лезија

За детектовање нивоа проинфламаторних цитокина периапикалних лезија у нашем истраживању коришћени су ензимски имунотестови - ELISA. Познато је да су у оквиру наведене методе заступљене 2 реакције - хемијска и имунилошка, при чему имунолошка означава реакцију антиген-антитело без поседовања могућности визуелизације, док хемијска представља реакцију супстрата и ензима где се настали продукт разградње постане обојен и омогући реакцију видљивом.

У овој дисертацији испитиване су концентрације следећих проинфламаторних цитокина периапикалних лезија употребом комерцијалних ELISA тест китова:

- Rat IL-1 alpha ELISA Kit (*Cloud - Clone Corp., Katy, USA*)
- Rat IL-1 beta ELISA Kit (*Cloud - Clone Corp., Katy, USA*)
- Rat IL-6 ELISA Kit (*Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Germany*)
- Rat IL-8 ELISA Kit (*AbClonal, Woburn, MA, USA*)
- Rat IL-17A ELISA Kit (*AbClonal, Woburn, MA, USA*)
- Rat TNF alpha ELISA Kit (*Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Germany*)

Свих шест наведених ELISA кита користили су квантитативну технику имунотестирања која је подразумевала ”директну сендвич” ELISA методу. Моноклонско антитело које је у првом кораку препознало антиген (интерлеукин) у узорку је претходно било везано за површину бунарчића на микротитар плочи која се састојала од 96 бунарчића. Процедура је подразумевала да се стандарди и узорци пипетирају у бунарчиће и да сваки присутни интерлеукин везује имобилисано антитело.

За екстракцију протеина, смрзнути узорци периапикалног ткива који су били планирани за испитивање концентрације проинфламаторних цитокина били су третирани пуфером за лизу ћелија (*Cell lysis buffer; Cell Signaling Technology, Danvers, MA*) уз додатак 50 $\mu\text{g/ml}$ гентамицина. Након наведеног поступка, сва ткива су хомогенизована коришћењем машинског хомогенизатора и потом центрифугирана на 5000 обртаја у временском трајању од 10 минута. По завршетку поступка, добијени супернатант је одвојен у стерилне епендорфе и чуван на температури од $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ до почетка анализе (180, 198).

Без обзира који је ELISA тест кит коришћен за одређивање концентрације проинфламаторних цитокина, процедура је била слична за свих шест испитиваних цитокина и чинила је низ фаза урађених према упутству произвођача:

- почетак процедуре подразумевао је уклањање траке са оквира плоче, која се састојала од 96 бунарчића за анализу и испирање плоче,
- додавање стандарда и узорка за тестирање у сваки бунарчић уз инкубацију и температурне услове према упуству произвођача за дати цитокин уз испирање плоче,
- додавање детекционих антитела која су коњугована са биотином уз инкубацију и температурне услове према упуству произвођача и уз дато испирање плоче,
- додавање Стрептавидин-*HRP* комплекса, уз инкубацију и температурне услове према упуству произвођача и испирање плоче,
- додавање супстрата - ТМВ ($C_{16}H_{20}N_2$) тетраметилбенизидин, уз инкубацију и температурне услове према упуству произвођача у тамном окружењу,
- додавање раствора сумпорне киселине (енгл. *Stop Solution*) у циљу заустављања даље ензимске активности.

По завршетку ове процедуре вршило се читавање интезитета боје на ELISA читачу *Auto Microplate reader (MRC VT 2100C, Holon, Israel)*, на таласној дужини од 450 nm, при чему је интезитет настале боје био директно пропорционалан концентрацији везаних медијатора у тестираном материјалу. Затим је измерена оптичка густина тј. апсорбанца, која се користила за мерење концентрације наведених цитокина изражених у pg/ml, применом калибрационе криве. Потом је концентрација узорака прилагођена тежини периапикалног ткива из ког су били изоловани цитокини (pg/mg ткива).

3. 10. Испитивање *ex vivo* функције срца пацова - *Langendorff model*

Након индукције хроничних периапикалних лезија и одмах по жртвовању животиња, изолована срца су ретроградно перфундована уз помоћ модела ретроградне перфузије изолованог срца по *Langendorff-у (Langendorff apparatus, Experimetria Ltd, 1062 Budapest, Hungary)*, уз промену вредности коронарног перфузионог притиска (40-120 cmH₂O).

Све супстанце употребљиване у даљем испитивању биле су високе чистоће, произвођача *Sigma-Aldrich Chemie GmbH*, Немачка.

3. 10. 1. *Langendorff* модел за испитивање изолованог срца пацова

Године 1895. Немачки лекар и физиолог *Oskar Langendorff* основао је модел ретроградног перфундованог срца, који представља способност функције срца при одсуству крви у преткоморама и коморама, и притом паралелно образложио функционалну способност коронарних артерија. Данас се овај модел користи у многим научноистраживачким радовима и сматра се погодним за испитивање функције миокарда и коронарне циркулације изолованог срца сисара (пацов, зеца, мачка, пас).

Постоје два модела рада на *Langendorff* апарату, од којих се један заснива на ретроградној перфузији миокарда при чему је заступљен константан проток, а перфузиони притисак променљив, док се други базира на ретроградној перфузији миокарда при чему је константан притисак, док је коронарни проток променљив. У нашој студији срце је испитивано при промени коронарног притиска од 40-120 cmH₂O. Перфузиони притисак који је представљао променљиву варијаблу у нашој студији смо регистровала уз помоћ трансдјусера тј. система преносника, док коронарни проток који је представљао константну варијаблу уз помоћ директног прикупљања перфузата у пецизно утврђеном временском интервалу.

3. 10. 2. Langendorff апарат - кратак опис

Langendorff-ов апарат чине две стаклене цеви вертикално постављене, при чему се цев са мање димензије налази унутар цеви веће димензије, између којих константно протиче вода загрејана на 37 °С. Водено купатило поседује улогу загревања воде која пролази између цеви, као и *Krebs-Henseleit*-овог раствора, који се такође загрева на 37 °С, пролази кроз цев мање димензије и хемијски поседује састојке доста сличне екстрацелуларној течности. Такође, наведени раствор поседује могућност довођења хранљивих састојка до миокарда пацова, омогућавајући на тај начин његову адекватну исхрану као и неометано функционисање на апарату. Хемијски састав раствора чини: натријум хлорид (118 mmol/L), натријум бикарбонат (24.88 mmol/L), калијум дихидроген фосфат (1.18 mmol/L), калијум хлорид (4.7 mmol/L), магнезијум сулфат (1.66 mmol/L), калцијум хлорид (2.52 mmol/L) и глукоза (5.5 mmol/L) са вредностима рН=7.4.

Резервоар који у себи поседује раствор је у вези са цеви мање димензије и боцом са комбинацијом гасова угљен-диоксида/кисеоника у односу 5%/95%. На крају цеви мање димензије налази се канилом на коју се поставља изоловано срце пацова преко асцедентне аорте, омогућавајући на тај начин несметан проток раствора кроз миокард.

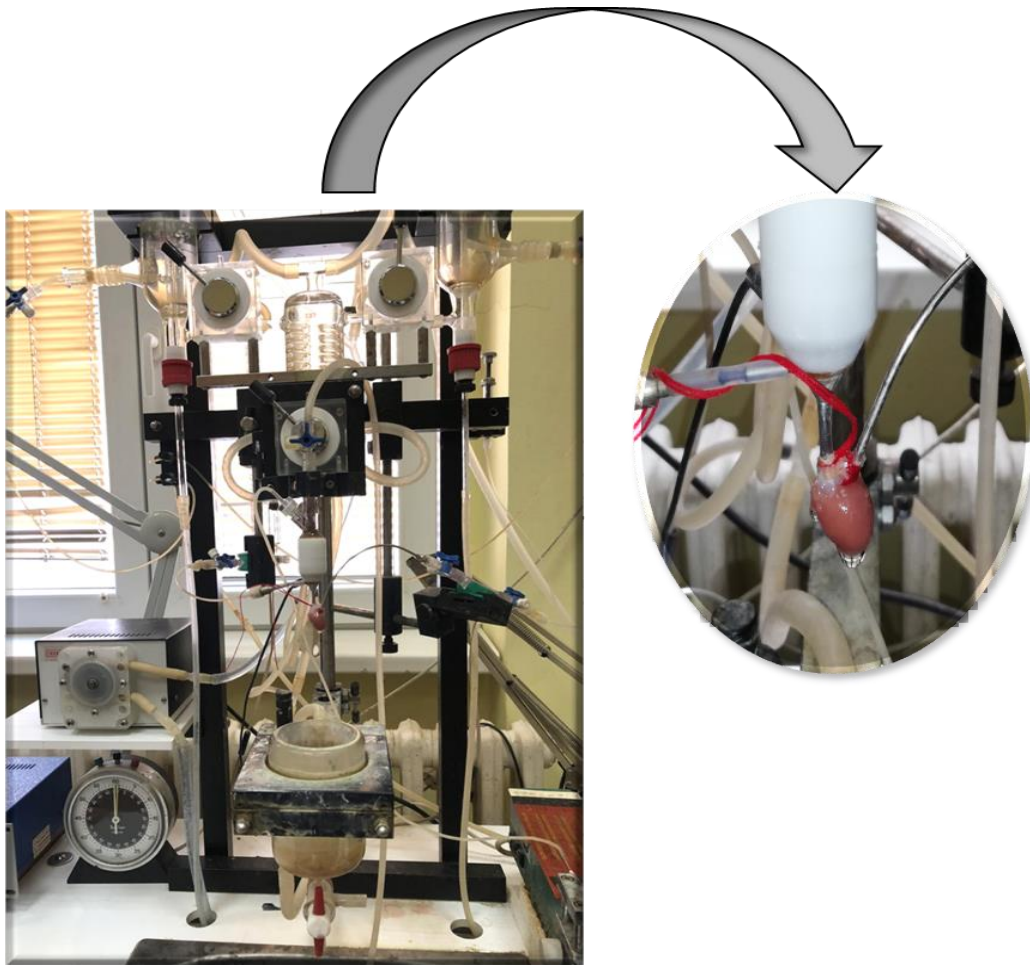
Langendorff-ов апарат садржи и сензор односно трансдјусер који поседује својство континуираног регистовања рада миокарда тј. леве коморе као једне од морфолошких и функционално доминантније шупљине миокарда. Поступком прокидања митралне валвуле између леве преткоморе и коморе, сензор се апликује у леву комору, помоћу којег се региструју параметри функције леве коморе миокарда тј. кардиодинамски параметри, тиме што компјутер уз помоћ адекватног софтвера добија податке о раду миокарда уз подршку сензора и транскрибује их у излазне математичке податке (Слика 5).

У кардиодинамске параметре које смо континуирано регистровали и пратили у нашем истраживању приказани су у Табели 6 (193).

Табела 6. Кардиодинамски параметри

Кардиодинамски параметри	
dp/dt max	максимална стопа промене притиска у левој комори (<i>mmHg/s</i>)
dp/dt min	минимална стопа промене притиска у левој комори (<i>mmHg/s</i>)
SLVP	систолни притисак леве коморе (<i>mmHg</i>)
DLVP	дијастолни притисак леве коморе (<i>mmHg</i>)
HR	фреквенца рада срца која се изражава као број откуцаја по минути (<i>bpm</i>)

Такође, у нашем истраживању пратили смо и вредности коронарног протока – CF, који је одређиван флоуметријски и приказан у милилитру коронарног ефлуента у минути (*ml/min*).



Слика 5. Langendorff-ов апарат са постављеним изолованим срцем пацова.

3. 10. 3. Метод изоловања и препарације миокарда пацова

Тридесет дана од индукције експерименталних периапикалних лезија, пацови су били анестезирани уз помоћ комбинације анестетика кетамин-ксилазина (100mg/kg-10mg/kg) и жртвовани поступком цервикалне дислокације. По процесу жртвовања, приступало се хирушким методама у виду отварања абдомена, лучног сечења дијафрагме, затим дуж мамиларне линије отварање грудног коша и пресецање перикарда. По поступку пресецању перикарда, сви крвни судови базе миокарда су били ресецирани, срце изоловано и истог тренутка стављено у ледени физиолошки раствор (+4 °C) како би се импровизовала тзв. „физиолошка клешта“ која метаболичке процесе у миокарду доводе на минимум и како би се очувала виталност органа у току трајања манипулације. Поступком тупе препарације миокарда, елиминисани су сувишни сегменти миокарда, одвојена је асцедентна аорта и пласирана на канилу апарата.

Основно правило овог поступка је да временски интервал од отварања грудног коша до постављања изолованог срца на канилу Langendorff апарата треба да траје не дуже од три минута. На тај начин се избегава евентуално ошећење изолованог срца пацова које најчешће настаје последицом одложене перфузије и хипоксије.

По пласирању асцедентне аорте на канилу, у пределу аурикуле, отвара се лева преткомора, прокидају се митрални записци пинцетом и уводи сензор у леву комору, помоћу којег се региструју кардиодинамски параметри тј. параметри функције срчаног

мишића. По завршетку наведеног поступка, успоставља се стабилизација срчаног рада, најчешће у временском интервалу од 30-так минута. Изоловано срце је постигло стабилан рад, онда када су вредности свих кардиодинамских параметра били константни и без значајних промена у претходно наведеном временском интервалу.

У нашем испитивању, функција изолованог срца и коронарна ауторегулација испитивале су се при промени перфузионог притиска, почев од вредности 60 cmH₂O, затим 80 cmH₂O, 100 cmH₂O, 120 cmH₂O и на крају 40 cmH₂O. За сваку вредност перфузионог притиска регистровани су се кардиодинамски параметри леве коморе и одређивао коронарни проток. Анализу кардиодинамских параметра обваљала су два независна истраживача како би се избегла пристрастност и омогућила максимална објективност целе експерименталне процедуре (193).

3. 11. БИОХЕМИЈСКЕ АНАЛИЗЕ

Други део истраживања, представљао је сегмент који се односио на испитивање утицаја периапикалних лезија на срчани и системски оксидациони статус. По жртвовању животиња, скупљени су узорци крви из југуларне вене са циљем испитивања утицаја апикалног пародонтитиса на системски оксидациони статус. Поступак је подразумевао процес центрифугирања крви и издвајање лизата еритроцита и плазме. Из узорка плазме мерени су прооксиданси, док су из узорка лизата еритроцита одређивани маркери антиоксидационе заштите (Табела 7).

Табела 7. Испитивани параметри оксидационог стреса код различитих врста узорка.

ВРСТА УЗОРКА	ПАРАМЕТРИ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА
Крвна плазма	Индекс липидне пероксидације -TBARS
	Азот моноксид у форми нитрита - NO ₂ ⁻
	Супероксид анјон радикал - O ₂ ⁻
	Водоник пероксид - H ₂ O ₂
Лизат еритроцита	Супероксид дизмутаза - SOD
	Каталаза - CAT
	Редуковани глутатион - GSH
Коронарни венски ефлуент	Индекс липидне пероксидације -TBARS
	Азот моноксид у форми нитрита - NO ₂ ⁻
	Супероксид анјон радикал - O ₂ ⁻
	Водоник пероксид - H ₂ O ₂
Хомогенат срчаног ткива - супернатант	Индекс липидне пероксидације -TBARS
	Супероксид дизмутаза - SOD
	Каталаза - CAT
	Редуковани глутатион - GSH

У циљу испитивања утицаја периапикалних лезија на срчану продукцију прооксиданаса у узорцима коронарног венског ефлуента мерени су нивои: NO_2^- , O_2^- , H_2O_2 и TBARS - а (Табела 7).

Такође, вршене су биохемијске анализе из хомогената срчаног ткива пацова. Поступак је иницијално подразумевао припрему срчаног ткива на следећи начин. По завршетку испитивања срчане функције на *Langendorff* апарату, срчана ткива су замрзнута на 80°C . Узорак сваког срчаног ткива (0,5g) је хомогенизован у 5 ml фосфатног пуфера (pH 7,4) уз помоћ електричног хомогенизатора на леду. Хомогенизовани раствори су центрифугирани на $1200 \times g$, 4°C у трајању од 20 минута. Овим поступком добијени су супернатанти који су филтрирани, изоловани и чувани на температури од -80°C , до тренутка одређивања биохемијских параметра као што су: TBARS и маркери антиоксидационог система одбране - SOD, GSH и CAT (193) (Табела 7). Све наведене анализе мерене су спектрофотометријском методом (спектрофотометар *UV-1800 UV-Vis; Shimadzu, Scientific Inc.*, Јапан).

3. 11. 1. Одређивање TBARS-а

Испитивање TBARS-а дефинисано је индиректном методом одређивања тиобарбитурне киселине са продуктима реакције липидне пероксидације у узорцима плазме, коронарног ефлуента и хомогената срчаног ткива, спектрофотометријски. (199).

3. 11. 1. 1. Поступак испитивања TBARS-а

Протокол за испитивање вредности TBARS-а у коронарном ефлуенту подразумевао је апликовање у епрувету 0,8 ml узорка венског ефлуента и растворене 200 μl 1% тиобарбитурне киселине у 0.05 M NaOH. Инкубација узорака вршена је у воденом купатилу у временском интервалу од 15 минута, на 100°C , где су потом адаптирани на собној температури у временском интервалу од 15 минута. Спектрофотометријском методом измерена је апсорбанција на таласној дужини $\lambda = 530\text{nm}$. За слепу пробу коришћен је *Krebs-Hensenleit* раствор у количини једнакој запремини коронарног ефлуента.

Протокол за процену нивоа TBARS - у плазми и супернатанту срчаног хомогената минимално се разликовао у поређењу са протоколом за коронарни венски ефлуент. У епрувету се апликовало 0,8 ml плазме (или супернатанта срчаног хомогената) и помеша са 400 μl 28% TCA и остави на леду у интервалу од петнаест минута. Потом, следује центрифугирање на 6000 rpm, 15 минута, при чему се издваја супернатант. Потом се, 0,2 μl 1% тиобарбитурне киселине додаје у 0,8 ml супернатанта, новонастали узорци у воденом купатилу инкубирали су се на 100°C у трајању од петнаест минута. Даљи процес протокола је идентичан протоколу за коронарни ефлуент, изузев слепе пробе где се користила дестилована вода у подједнакој количини плазме или супернатанта срчаног хомогената.

3. 11. 2. Одређивање NO_2^-

За испитивање NO_2^- у коронарном ефлуенту и узорку плазме употребљена је индиректна метода у којој се користио *Griess*-ов реагенс који је у присутности нитрита омогућио настанак диазо-комплекса, боје љубичасто-плаве (200).

3. 11. 2. 1. Поступак испитивања NO_2^-

Протокол за испитивање NO_2^- у венском ефлуенту подразумевао је да се у епрувету апликује 1 ml коронарног ефлуента, 0,125 ml амонијачног пуфера и 0,25 ml свежег *Griess*-ов реагенса. Као слепа проба био је употребљен *Krebs-Hensenleitov* раствор.

Протокол за испитивање NO_2^- у плазми подразумевало је да се у 0.1 ml HClO_4 дода 0.2 ml плазме и 4x већа концентрација 20 mM EDTA. Затим су се по инкубацији у трајању од петнаест минута на леду, узорци центрифугирали на 6000 rpm у интервалу од петнаест минута, супернатант је одливен и у талог додат K_2CO_3 у концентрацији од 220 μl . Након пар минута, у нове стерилне епендорфе додато је 0,22 ml претходно добијеног узорка, 0,125 ml амонијачног пуфера и 0,25 ml *Griess*овог реагенса и остављено петнаест минута на собној температури. По истеку временског интервала од петнаест минута, спектофотометријски је измерена апсорбанција, $\lambda = 550 \text{ nm}$. За слепу пробу употребљена је дестилована вода у једнакој количини узорка плазме.

3. 11. 3. Одређивање O_2^-

Одређивање концентрације O_2^- у узорку плазме и венском ефлуенту темељио се на хемијској реакцији нитро тетразолијум плавог и O_2^- где се овим поступком формирао нитроформазаз плави (201).

3. 11. 3. 1. Поступак испитивања O_2^-

Протокол за одређивање O_2^- у коронарном ефлуенту и плазми подразумевао је да се у епрувете апликује 50 μl узорка и дода есејна смеша у количини од 950 μl . Вредност апсорбанце мерена је 3x на сваких 60 секунди на $\lambda = 550 \text{ nm}$. За слепу пробу уместо узорка коронарног ефлуента коришћен је *Krebs-Hensenleit* раствор у једнакој количини ефлуента, док је за слепу пробу уместо узорка плазме била употребљена еквивалентна запремина дестиловане воде.

3. 11. 4. Одређивање H_2O_2

Квантификовање укупне концентрације H_2O_2 темељио се на хемијској реакцији оксидације фенол црвеног са H_2O_2 , која је катализована HRPO-ом. Апсорбанца је мерена на $\lambda_{\text{max}} = 610 \text{ nm}$ (202).

3. 11. 4. 1. Поступак испитивања H_2O_2

Протокол за одређивање H_2O_2 у венском ефлуенту и узорку плазме подразумевао је апликовање 200 μl узорка и 800 μl свеже добијеног раствора фенол црвеног тј. PRS у епрувете, који се формирао мешањем 10 mM калијум фосфатног пуфера ($\text{pH} = 7$), 140 mM NaCl, 0,28 mM фенол црвеног и 5,5 mM D(+)-глукозе. Затим се у смешу додао *ex tempore* припремљен 10 μl HRPO у односу 1:20, и након 10-минутне

инкубације узорка на собној температури и подешавања $pH \approx 12$ вршило се мерење апсорбанце на $\lambda = 610 \text{ nm}$. За слепу пробу уместо узорка венског ефлуента коришћен је *Krebs-Hensenleit* раствор у једнакој количини ефлуента, док је за слепу пробу уместо узорка плазме и супернатанта срчаног хомогената била употребљена еквивалентна запремина дестиловане воде.

3. 11. 5. Одређивање активности САТ-а

Активност САТ-а представљала је методу спектрофотометријског праћења брзине разградње H_2O_2 уз присутност катлазе на $\lambda = 360 \text{ nm}$. На овој таласној дужини H_2O_2 је поседовао могућност апсорпције светлости (203).

3. 11. 5. 1. Поступак испитивања САТ-а

Активност САТ-а испитивана је у лизату еритроцита и супернатанту срчаног хомогената где је удео етанола био у односу 0.1:1, а дестиловане воде 1:7. Потом се у кварцну кивету у којој се налазило 50 μl САТ пуфера додавало 100 μl узорка и 10 mM раствора водоник-пероксида, који је иницирао реакцију разградње H_2O_2 под утицајем САТ. По узорку, мерење је вршено шест узастопних пута при $\lambda = 360 \text{ nm}$. За слепу пробу употребљена је дестилована вода у еквивалентној запремини узорка.

3. 11. 6. Одређивање активности SOD-а

Испитивање активности SOD-а се темељила на методи по *Beutler-у* (204). Познато је да SOD обезбеђује одбрану ћелија од ROS-а, смањује интензитет инфламације и поседује заштитну улогу од штетног дејства слободних радикала који се формирају током процеса старења и исхемије.

3. 11. 6. 1. Поступак испитивања SOD-а

Протокол за испитивање активности SOD-а подразумевао је да се у епрувету апликују лизирани еритроцити у количини од 100 μl или узорк супернатанта хомогената срчаног ткива и 1000 μl карбонатног пуфера. Након поступка мешања, 100 μl адреналина је још додато, при чему се детерминисање овог параметра обављало спектрофотометријски на таласној дужини, вредности 470 nm. За слепу пробу употребљена је дестилована вода у еквивалентној запремини узорка.

3. 11. 7. Одређивање активности GSH

Испитивање активности GSH у лизату еритроцита и узорку супернатанта хомогената срчаног ткива одређивала се уз помоћ методе по *Beutler-у*. Наведена метода је спектрофотометријска, заснована на оксидацији GSH са DTNB-ом (5.5-дитио-бис-6.2-нитробензоевом киселином) (205).

3. 11. 7. 1. Поступак испитивања GSH

Протокол је подразумевао апликовање 50 μl лизираних еритроцита/ супернатанта хомогената срчаног ткива у епрувету и додавање 0,1% EDTA-а у концентрацији од 200 μl и преципитационог пуфера у концентрацији од 385 μl . Након 15-минутне инкубације на леду и 10-минутног центрифугирања на вредностима од 4000 rpm, формирао се екстракт. Након наведене процедуре, у епрувету је апликовано

300 μl екстракта, а затим додато 750 μl натријум дифосфата и 100 μl DTNB-а. По инкубацији на собној температури у временском интервалу од десет минута, узорци су измерени на $\lambda = 412 \text{ nm}$. Такође, формирана је калибрациона крива са циљем одређивања концентрације датог параметра у узорцима, уз помоћ 4 стандарда са знаним вредностима GSH. Еквивалентна количина дестиловане воде била је коришћена за слепу пробу уместо узорка.

3. 12. ПАТОХИСТОЛОШКА АНАЛИЗА СРЦА

По жртвовању животиња и целокупног протокола на *Langendorff*-овом апарату, миокарди животиња су фиксирана на собној температури у десето процентном раствору параформалдехида чији је волумен био 10x већи у поређењу на волумен срчаног ткива. Затим је срчано ткиво било укалупљено у блокове од парафина и сечени уз помоћ микротоме на исечкем дебљине 5-6 μm . Ткивни исечци су били постављени на предметна стакла и након тога бојени техником хематоксилин/еозином, која је детаљно описана у претходном делу дисертације.

Хистолошки препарати анализирани су уз помоћ светлосног микроскопа (*Axioscop 40; Carl Zeiss*), док су патохистолошке промене фотографисане уз помоћ камере (*PC 1089; Canon*) на увећању 200x. Све патохистолошке анализе обављала су два специјалиста патологије који нису знали који ткивни узорак којој групи припада, чиме је максимално пружена објективност рада и избегнуто својство пристрасности (193).

3. 13. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА

Величина узорка је прорачуната на основу очекиване разлике малондиалдехида између испитиваних група, а сходно резултатима раније публиковане студије сличног дизајана (175). Употребом адекватног рачунарског програма, за услове Т-теста два независна узорка, алфа грешку 0,05, снагу студије 0,8 и однос броја експерименталних животиња израчунат је узорак од 8, по свакој групи (206). Овај узорак је био увећан за 50%, под претпоставком непараметарске расподеле података, ради обезбеђивања услова „сигурног сценарија“. Имајући у виду број студијских група, укупан узорак је био утврђен на 48 експерименталних животиња, по 12 у свакој од 4 група.

3. 14. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

Статистички пакет који се користио у обради добијених података је био *SPSS 20.0 for Windows*. За поступак одређивања нормалности расподеле употребљавали су се тестови *Shapiro Wilk* и *Kolmogorov Smirnov*. За поступак тестирања варијабилности одређених параметара између испитиваних група, у односу на њихову природу, користили су се *Mann-Whitney* тест, *Kruskal-Wallis* тест, Студентов т-тест, двофакторска или једнофакторска анализа варијанси, уз коришћење адекватног теста *post hoc* (*Bonferroni, Tuckey*). Степен значајности представљале су вредности добијених резултата $p < 0,05$, као и са веома значајном разликом $p < 0,01$.

IV
РЕЗУЛТАТИ

4. 1. КРВНИ ПРИТИСАК И ФРЕКВЕНЦА СРЦА

Вредности систолног (SP), дијастолног (DP) крвног притиска и фреквенце срца (HR) утврђене су код нормотензивних и спонтанохипертензивних животиња на самом почетку експерименталног протокола (пре него што су биле насумично распоређење у четири једнаке групе тј. пре самог индуковања периапикалних лезија), као и пре жртвовања (30-ог дана од индуковања периапикалних лезија).

Пре индукције апикалног пародонтитиса, у нормотензивним групама вредности SP, DP, као и HR нису се статистички значајно разликовале ($p > 0,05$), док је постојала изразита разлика између нормотензивних (C и AP) и спонтанохипертензивних пацова (SHR и SHR+AP) ($p < 0,01$).

Након 30-ог дана од индукције апикалног пародонтитиса, вредност SP била је значајно смањена у AP групи у поређењу са C групом ($p < 0,05$), и веома снижена у SHR+AP групи у поређењу са SHR групом ($p < 0,01$). Додатно, вредности наведеног параметра биле су доминантно повећане у SHR+AP и SHR групи у поређењу са C групом ($p < 0,01$), као и у SHR+AP групи у поређењу са AP групом ($p < 0,01$).

Вредност DP-а 30-ог дана од индукције лезија, била је веома повећана у SHR и SHR+AP групи у поређењу са C групом ($p < 0,01$), као и у SHR+AP групи у поређењу са AP групом ($p < 0,05$). Додатно, DP је био доминантно снижен у SHR+AP у поређењу са SHR групом ($p < 0,01$). Са друге стране, нивои DP-а се нису статистички значајно разликовали између нормотензивних група (AP и C) ($p > 0,05$).

Вредност HR-а 30-ог дана од индукције лезија, била је доминантно повишена у SHR и SHR+AP групи у поређењу са C групом ($p < 0,01$), као и у SHR+AP групи у поређењу са AP групом ($p < 0,05$). Са друге стране, вредности HR нису се значајно разликовале унутар нормотензивних (AP и C) и спонтанохипертензивних група (SHR и SHR+AP) ($p > 0,05$) (Табела 8).

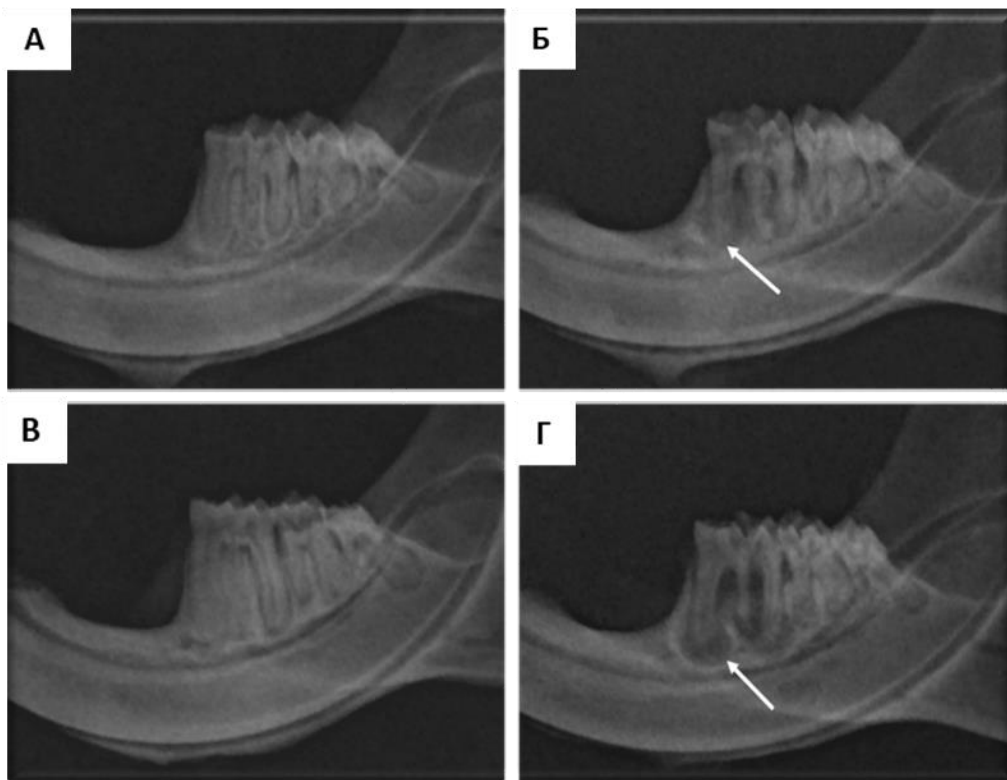
Група	Пре индукције РА лезија			30-ог дана од индукције РА лезија		
	SP	DP	HR	SP	DP	HR
C	117±9,18 / 78±8,12 / 323±13,29			124±10,25 / 82±7,87 / 331±9,30		
AP	111±9,01 / 71±8,14 / 331±6,08			118±7,96 ^a / 78±9,32 / 315,6±10,65		
SHR	164,75±9,21 ^b /113,11±9,26 ^b /422±14,61 ^b			170,75±10,33 ^b /117±10,55 ^b /423±13,78 ^b		
SHR+AP	164,75±9,21 ^{c,d} /113,11±9,26 ^{c,d} /393±14,61 ^{c,d}			148,40±6,54 ^{c,d,e} /105,6±6,88 ^{c,d,e} /394±14,78 ^{c,d}		

Табела 8. Вредности систолног (SP (*mmHg*)), дијастолног (DP (*mmHg*)) крвног притиска и фреквенце срца (HR (*отк/мин*)) пре индукције и 30-ог дана од индукције апикалног пародонтитиса. Добијене вредности су представљене као $X \pm SD$. Ниво значајности између група $p < 0,05$; $p < 0,01$: **a** AP vs. C; **b** SHR vs. C; **c** SHR+AP vs. C; **d** SHR+AP vs. AP; **e** SHR+AP vs. SHR.

4. 2. РАДИОГРАФСКА АНАЛИЗА АПИКАЛНОГ ПАРОДОНТИТИСА

Радиографском анализом периапикалног региона мезијалних канала коренова првих молара доње вилице нормотензивних и спонтанохипертензивних пацова, израчуната је укупна површина периапикалних лезија у квадратним милиметрима (mm^2), верификована у пикселима и добијене вредности упоређене су између испитиваних група и приказане на слици.

Радиографском анализом, показано је да је радиографско подручје периапикалних лезија (mm^2) било изузетно значајно веће у SHR+AP групи ($1,99 \pm 0,49$) у поређењу са AP групом ($1,21 \pm 0,28$) ($p < 0,01$). Вредности пиксела периапикалног региона биле су доминантно ниже у групама у којима су периапикалне лезије биле индуковане (SHR+AP група: $58,60 \pm 5,04$; AP група: $64,70 \pm 4,19$) у поређењу са SHR групом ($82,03 \pm 10,75$) и С групом ($87,72 \pm 4,76$), као контролним групама ($p < 0,01$). Додатно, вредности пиксела периапикалних лезија биле су изразито ниже у SHR+AP групи у поређењу са AP групом ($p < 0,01$) (Слика 6).



Слика 6. Радиографски налаз периапикалног региона мезијалних канала коренова првих молара доње вилице код пацова. (А) С група - нормотензивни пацови без присуства периапикалних лезија; (Б) AP група - нормотензивни пацови са присуством периапикалних лезија (бела стрелица); (В) SHR група - спонтанохипертензивни пацови без присуства периапикалних лезија; (Г) SHR + AP група - спонтанохипертензивни пацови са присуством периапикалних лезија (бела стрелица). Добијене вредности су представљене као $X \pm SD$. Ниво значајности између група, $p < 0,05$; $p < 0,01$.

4. 3. ПАТОХИСТОЛОШКА И ХИСТОМОРФОМЕТРИЈСКА АНАЛИЗА ПЕРИАПИКАЛНОГ РЕГИОНА

Адекватним системом бодовања уочених промена периапикалног региона између испитиваних група, описаним поступком у поглављу „Материјал и методе“, хистоморфометријски је анализирана и графички приказана вредност добијених резултата: дебљине периодонталног лигамента, ресорпције алвеоларне кости, ресорпције апикалног цемента, интезитета и екстензивности периапикалног инфламаторног инфилтрата. Све наведене хистоморфометријске анализе периапикалног региона биле су праћене и патохистолошком анализом.

4. 3. 1. Дебљина периапикалног периодонталног лигамента

Хистоморфометријском анализом добијених података, показано је да је дебљина периодонталног лигамента била значајно веома већа у SHR+AP групи у поређењу са SHR, AP и С групом ($p < 0,01$). Такође, вредности дебљине лигамента биле су доминантно повећане у AP групи у поређењу са С групом ($p < 0,01$) (График 1, Слика 7).

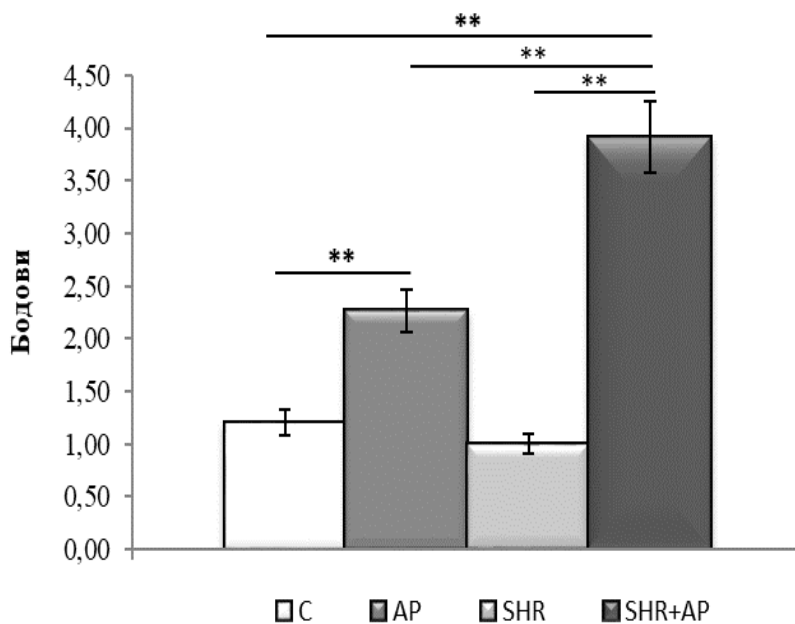
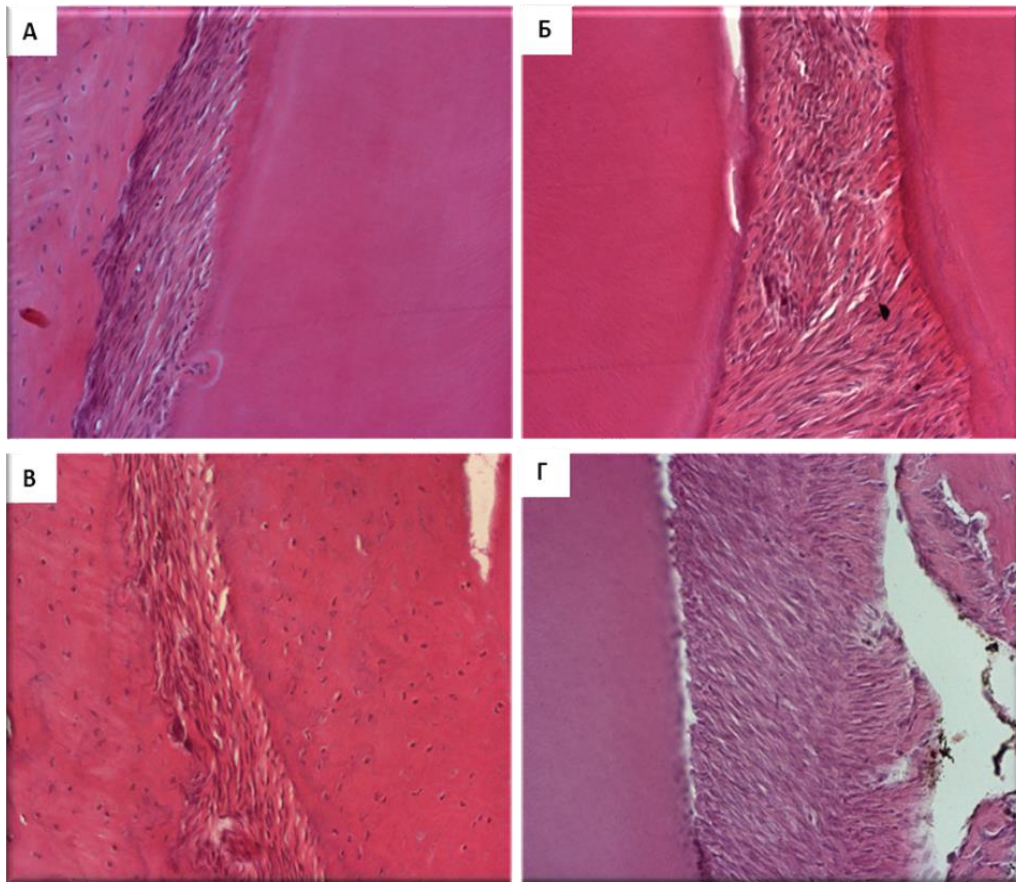


График 1. Поредијење дебљине периодонталног лигамента између испитиваних група. Вредности су представљене у облику X±SD, са значајном разликом *p<0,05; **p<0,01.



Слика 7. Патохистолошке промене дебљине периапикалног периодонталног лигаменту пацова између испитиваних група (увећање, x 200): (А) С група; (Б) АР група; (В) SHR група; (Г) SHR+АР група.

4. 3. 2. Ресорпција алвеоларне кости

Резултати хистоморфометријске анализе ресорпције алвеоларног коштаног ткива између испитиваних група, указали су да је била значајно већа у SHR+AP групи у поређењу са AP групом ($p < 0,05$). Док је значајни скок у вредности ресорпције кости био уочен код SHR+AP групе у поређењу са SHR групом, као и AP групе у поређењу са С групом ($p < 0,01$) (График 2, Слика 8).

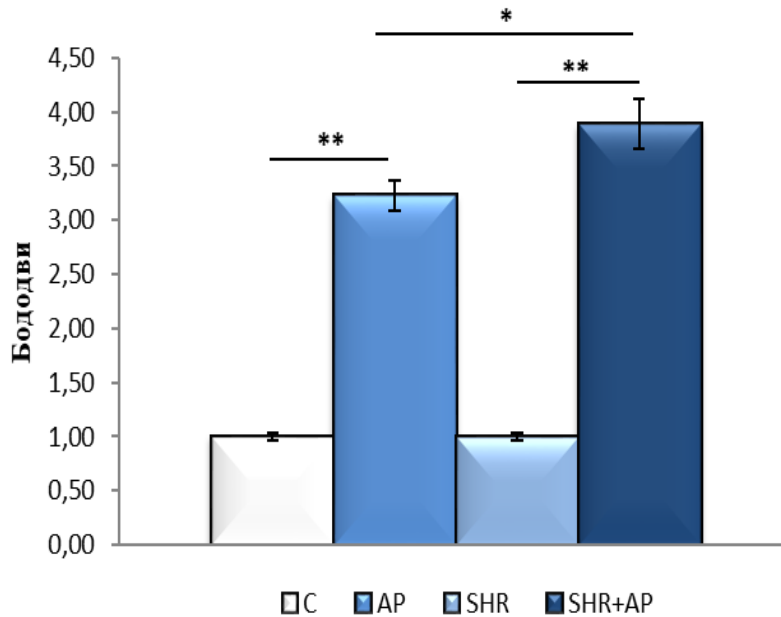
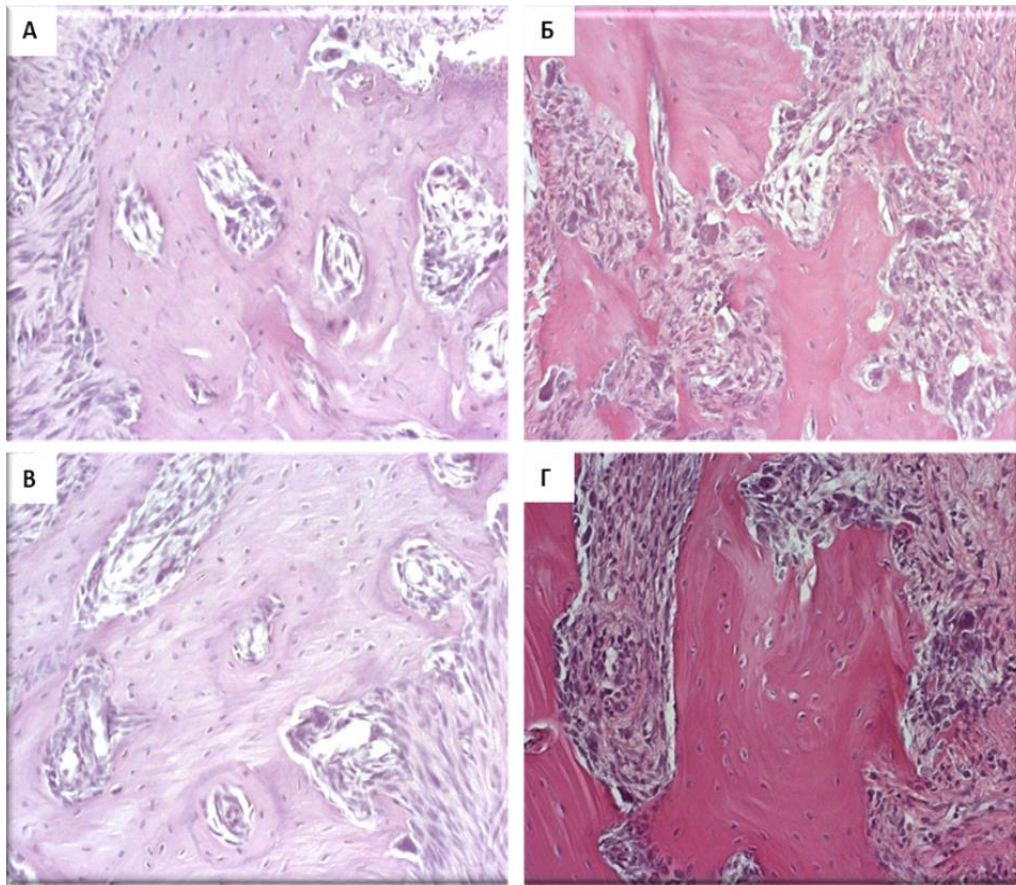


График 2. Поређење ресорпције алвеоларног коштаног ткива између испитиваних група. Вредности су представљене у облику $X \pm SD$, са значајном разликом $*p < 0,05$; $**p < 0,01$.



Слика 8. Патохистолошке промене ресорпције алвеоларног коштаног ткива пацова између испитиваних група (увећање, x 200): **(А)** С група; **(Б)** AP група; **(B)** SHR група; **(Г)** SHR+AP група.

4. 3. 3. Ресорпција апикалног цемента

Хистоморфометријском анализом добијених података, показано је да је ресорпција апикалног цемента била значајно већа у SHR+AP групи у поређењу са AP групом ($p < 0,05$). Додатно, веома значајно повећање ресорпције цемента било је уочено у SHR+AP и AP групи у поређењу са њиховим контролним групама (SHR и C) ($p < 0,01$) (График 3, Слика 9).

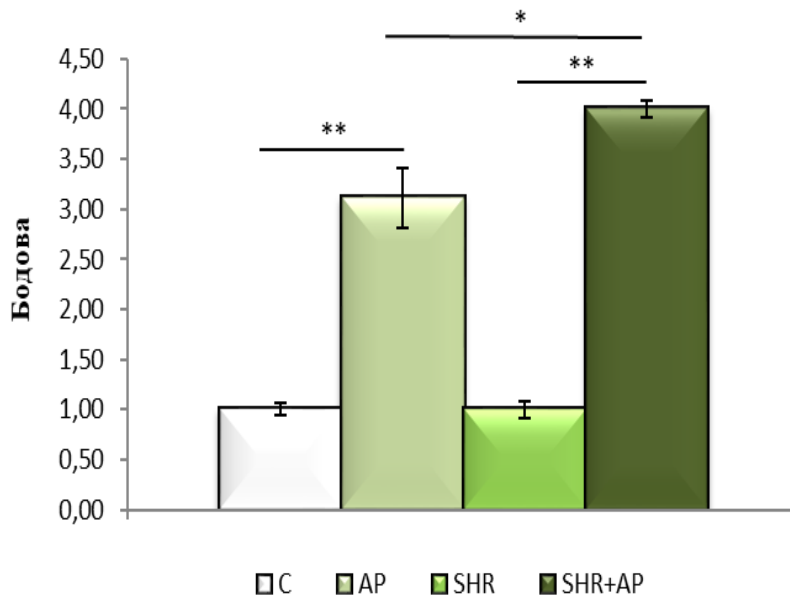
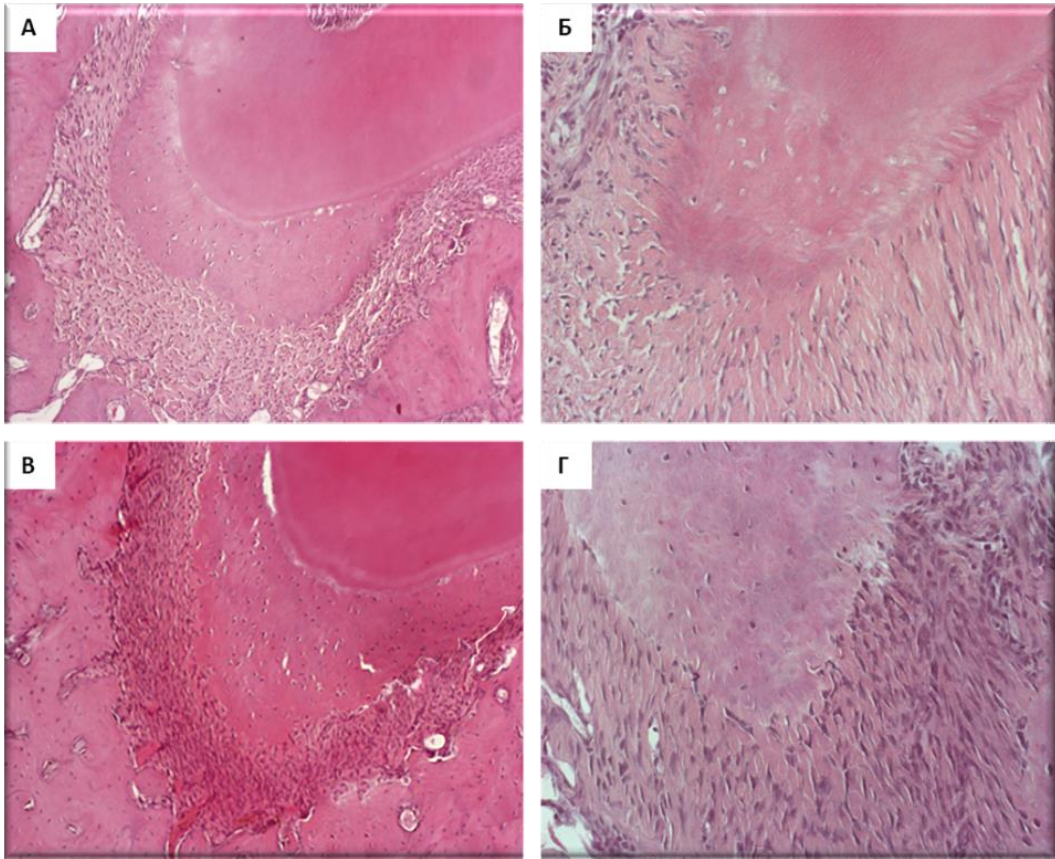


График 3. Поређење ресорпције апикалног цемента између испитиваних група. Вредности су представљене у облику $X \pm SD$, са значајном разликом $*p < 0,05$; $**p < 0,01$.



Слика 9. Патохистолошке промене ресорпције апикалног цемента пацова између испитиваних група (увећање, x 100): (А) С група; (Б) АР група; (В) SHR група; (Г) SHR+АР група.

4. 3. 4. Интезитет периапикалног инфламаторног инфилтрата

Методом бројања инфламаторних ћелија периапикалног региона по јединици површине (mm^2) и системом бодовања, заступљен је био значајно виши интезитет инфламације периапикалног запаљенског инфилтрата у SHR+AP групи (јак интезитет инфламације) у поређењу са AP групом (умерен интезитет инфламације) ($p < 0,05$). Док је значајни скок у интезитету периапикалног запаљенског инфилтрата био запажен код SHR+AP и AP групе у поређењу са њиховим контролним групама (одсутна инфламација) ($p < 0,01$) (График 4, Слика 10).

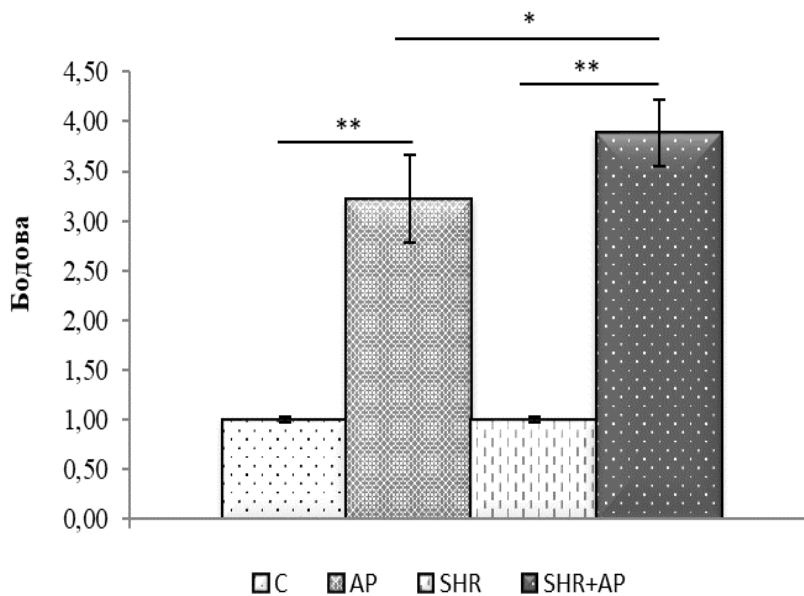
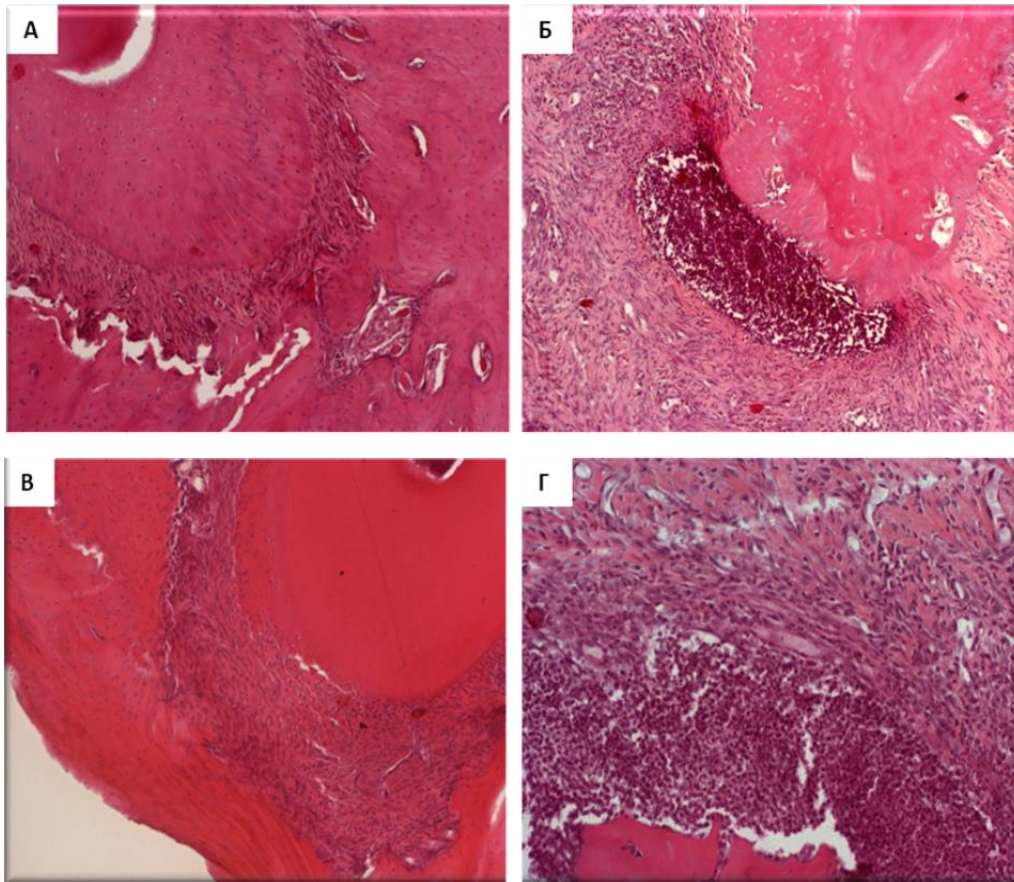


График 4. Укупан број инфламаторних ћелија и њихово поређење између испитиваних група. Вредности су представљене у облику $X \pm SD$, са значајном разликом $*p < 0,05$; $**p < 0,01$.



Слика 10. Патохистолошке промене интезитета периапикалног инфламаторног инфилтрата између испитиваних група (увећање, x 100): **(А)** С група; **(Б)** АР група; **(В)** SHR група; **(Г)** SHR+АР група.

Методом бројања одређених типова запаљенских ћелија по јединици површине (mm^2) периапикалног региона, показан је значајно већи број макрофага и лимфоцита код спонтанохипертензивних пацова са присуством периапикалних лезија у поређењу са нормотензивним животињама са присуством периапикалних лезија ($p < 0,05$). Такође, треба нагласити да је број неутрофилних гранулоцита код спонтанохипертензивних пацова био већи у поређењу са нормотензивним пацовима, али без статистичке значајности ($p > 0,05$) (График 5, Слика 11).

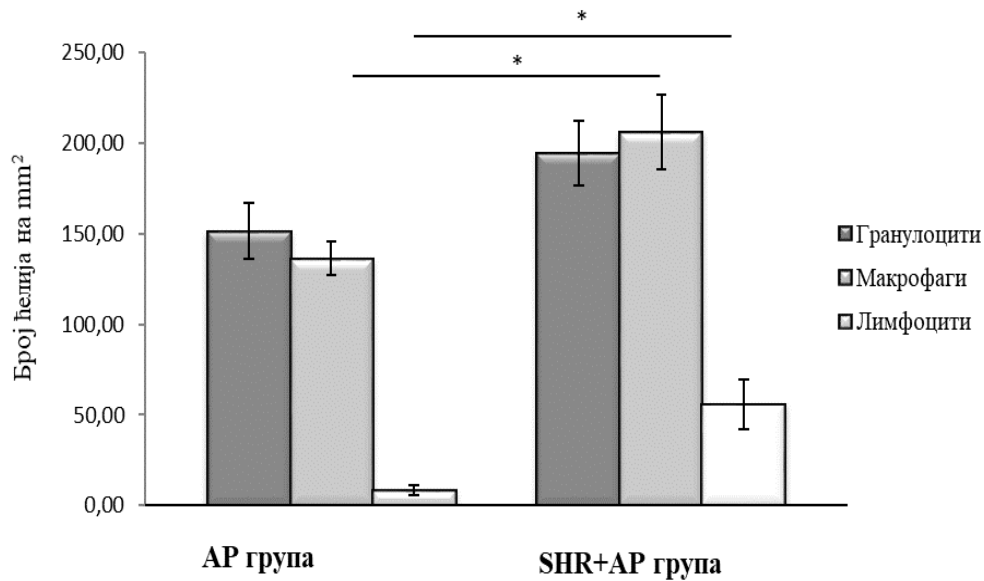
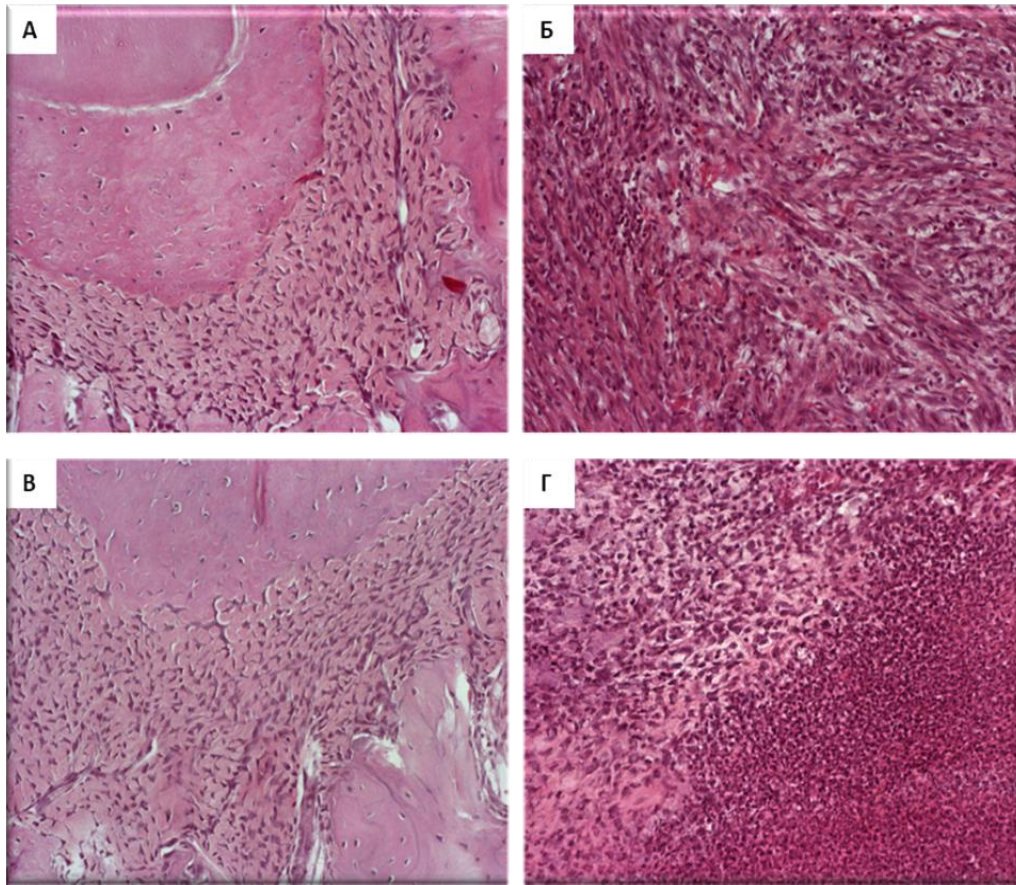


График 5. Ћелијски типови запаљенског инфилтрата периапикалног региона и поређење вредности између испитиваних група. Вредности су представљене у облику $X \pm SD$, са значајном разликом $*p < 0,05$; $**p < 0,01$.



Слика 11. Патохистолошке промене ћелијског састава периапикалног запаљенског инфилтрата између испитиваних група (увећање, x 200): **(А)** С група; **(Б)** АР група; **(В)** SHR група; **(Г)** SHR+АР група.

4. 3. 5. Екстензивност периапикалног инфламаторног инфилтрата

Хистоморфометријском анализом добијених података, показано је да је екстензивност периапикалног запаљенског инфилтрата била значајно већа у SHR+AP групи у поређењу са AP групом ($p < 0,05$). Такође, доминантно повећање екстензивности инфилтрата било је уочено у SHR+AP и AP групи у поређењу са њиховим контролним групама (SHR и C) ($p < 0,01$) (График 6, Слика 12).

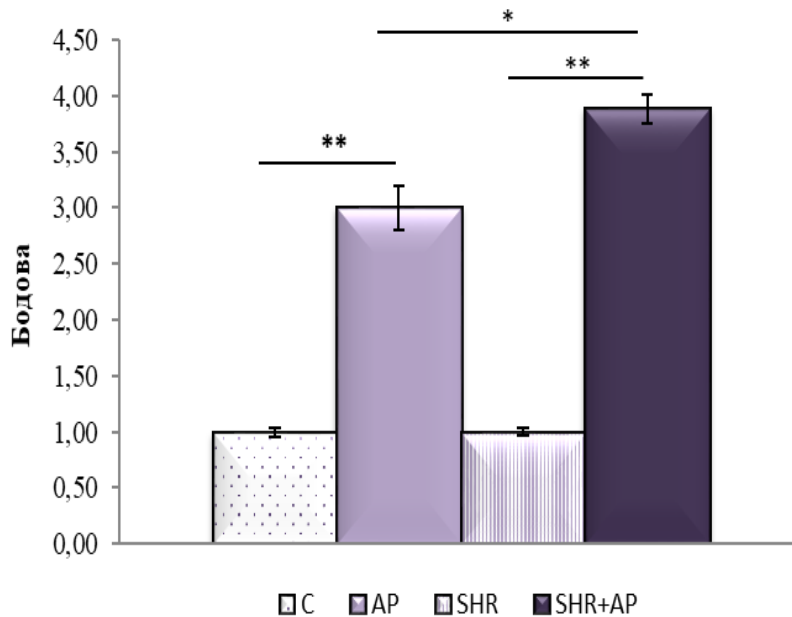
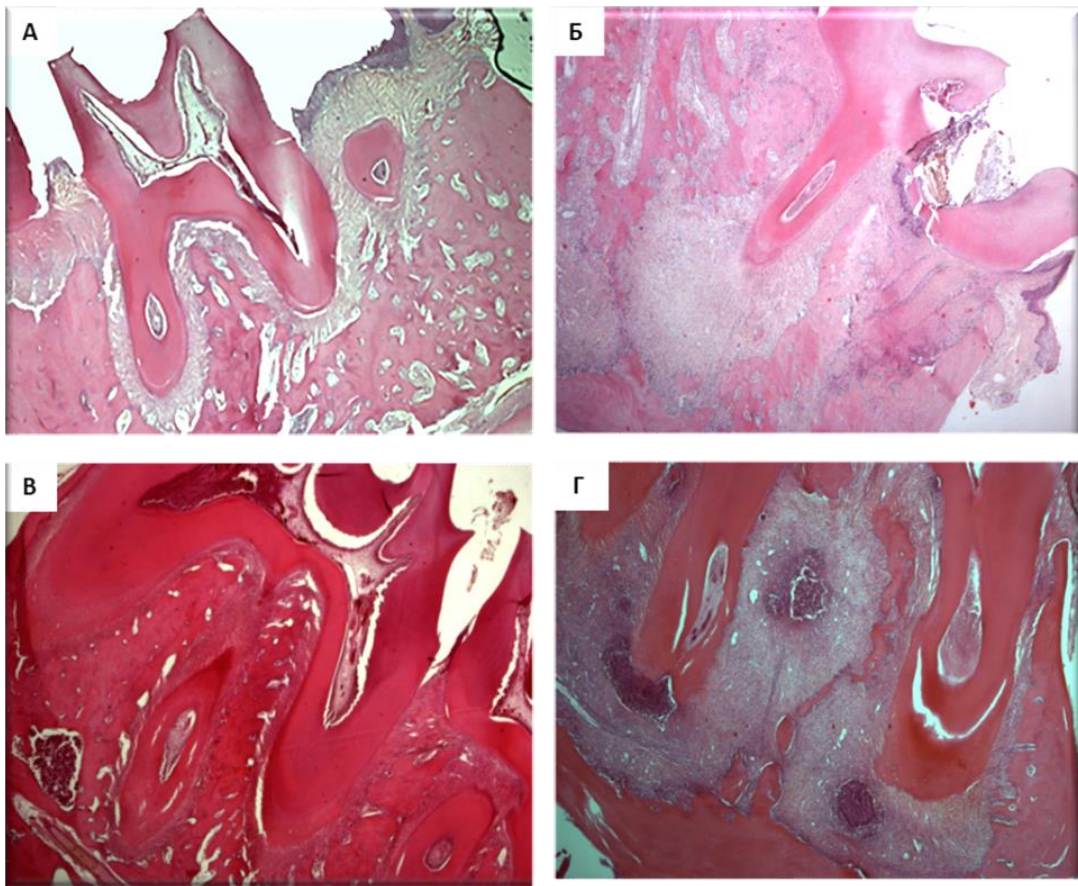


График 6. Екстензивност периапикалног запаљенског инфилтрата и поређење вредности између испитиваних група. Вредности су представљене у облику $X \pm SD$, са значајном разликом $*p < 0,05$; $**p < 0,01$.



Слика 12. Патохистолошке промене екстензивности периапикалног инфламаторног инфилтрату између испитиваних група (увећање, x 25): **(А)** С група; **(Б)** АР група; **(В)** SHR група; **(Г)** SHR+АР група.

4. 4. ДИФЕРЕНТОВАНИ ОСТЕОКЛАСТИ АЛВЕОЛАРНЕ КОСТИ ПЕРИАПИКАЛНОГ РЕГИОНА

Методом бројања диферентованих остеокласта алвеоларне кости по јединици површине (mm^2) периапикалног региона, показан је веома значајно већи број у SHR+AP и AP групи у поређењу са њиховим контролним групама (SHR и C) ($p < 0,01$). Међутим, број диферентованих остеокласта алвеоларне кости у SHR+AP групи био је благо већи у поређењу са AP групом, али без статистичке значајности ($p > 0,05$) (График 7).

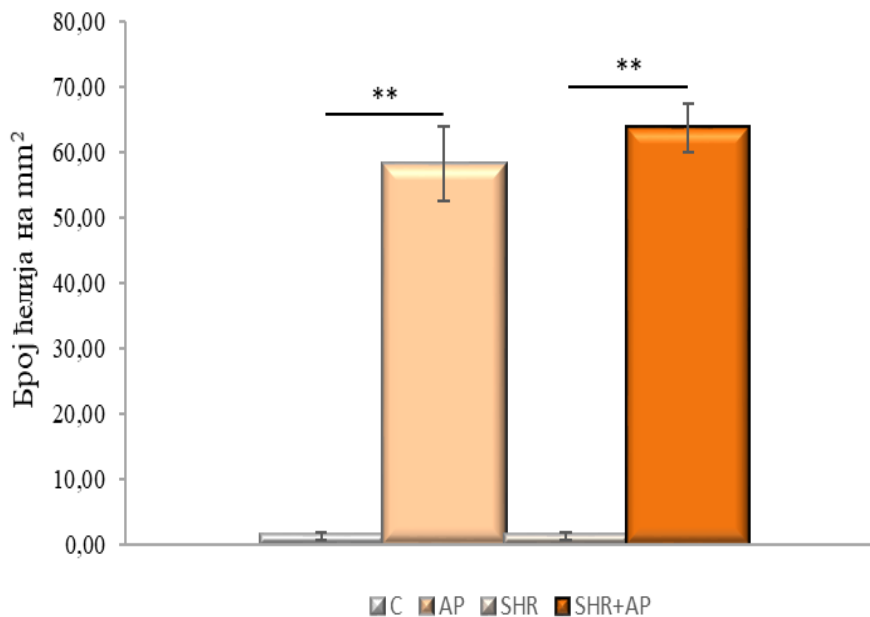


График 7. Број диферентованих остеокласта периапикалног региона и поређење вредности између испитиваних група. Вредности су представљене у облику $X \pm SD$, са значајном разликом $*p < 0,05$; $**p < 0,01$.

4. 5. ВРЕДНОСТИ ПРОИНФЛАМТОРНИХ ЦИТОКИНА ПЕРИАПИКАЛНИХ ЛЕЗИЈА

Вредности проинфламаторних цитокина (IL-1 α , IL-1 β , IL-17 и TNF α) и хемокина (IL-8) испитивани су у узорку периапикалног ткива нормотензивних и спонтанохипертензивних пацова са и без присуства периапикалних лезија, употребом ELISA методе.

Анализом концентрације цитокина IL-1 α и IL-1 β перипикалног ткива између испитиваних група, показано је да је ниво IL-1 α био значајно већи у SHR+AP групи у поређењу са AP групом ($p < 0,05$). Такође, веома значајан скок концентрације IL-1 α био је уочен у SHR+AP групи у поређењу са SHR и С групом ($p < 0,01$), као и у AP групи у поређењу са С групом ($p < 0,01$) (График 8 А).

Концентрација IL-1 β показала је статистички значајне разлике између испитиваних група као и IL-1 α , осим поређења SHR+AP и AP групе, где је показан доминантно значајан скок концентрације IL-1 β у SHR+AP групи у поређењу са AP групом ($p < 0,01$) (График 8 Б).

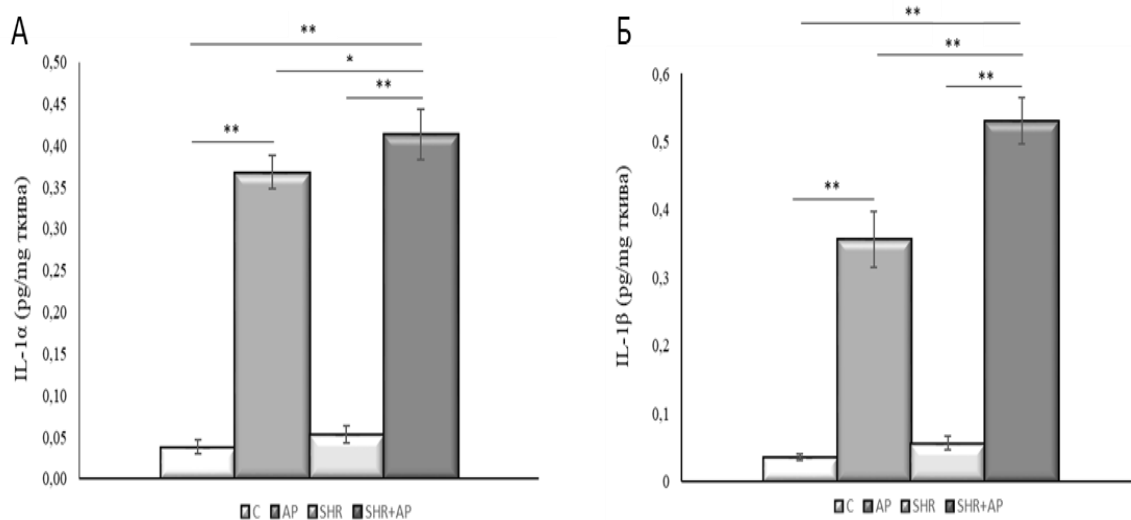


График 8. Концентрације (А) IL-1 α и (Б) IL-1 β периапикалног ткива и поређење вредности између испитиваних група. Концентрација цитокина изражена је у пикограмима по милиграму периапикалног ткива. Вредности су представљене у облику $X \pm SD$, са значајном разликом * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Анализом концентрације цитокина $\text{TNF}\alpha$ и IL-6 периапикалног ткива између испитиваних група, показано је да је ниво $\text{TNF}\alpha$ био значајно већи у SHR+AP групи у поређењу са AP групом ($p < 0,05$). Такође, веома значајан скок концентрације $\text{TNF}\alpha$ био је заступљен у SHR+AP групи у поређењу са SHR и C групом ($p < 0,01$), као и у AP групи у поређењу са C групом ($p < 0,01$) (График 9А).

Концентрација IL-6 показала је значајне разлике између испитиваних група као и $\text{TNF}\alpha$, осим поређења SHR+AP и AP групе, где је показан изузетно значајан скок концентрације IL-6 у SHR+AP групи у поређењу са AP групом ($p < 0,01$) (График 9Б).

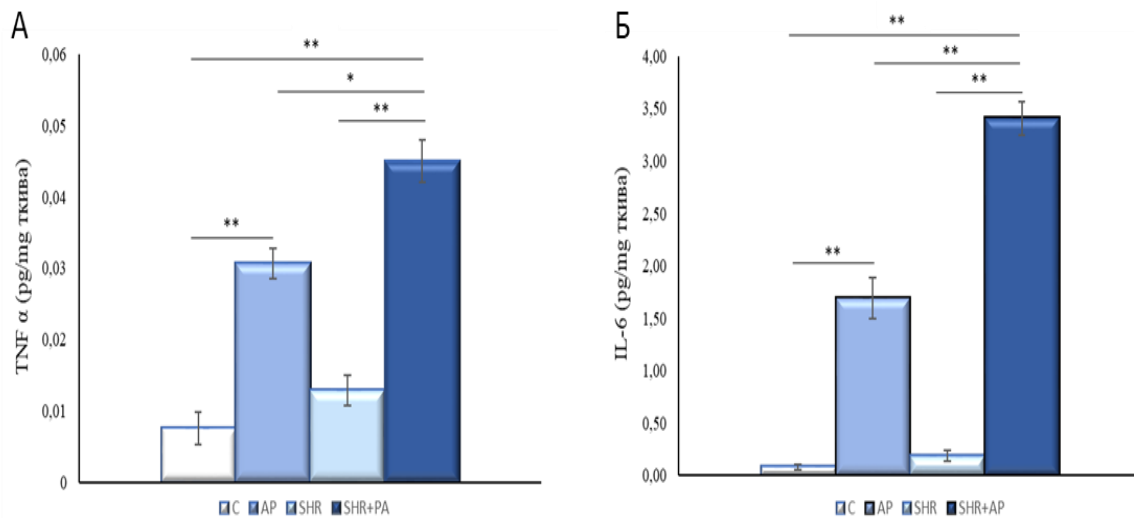


График 9. Концентрације (А) $\text{TNF}\alpha$ и (Б) IL-6 периапикалног ткива и поређење вредности између испитиваних група. Концентрација цитокина изражена је у пикограмима по милиграму периапикалног ткива. Вредности су представљене у облику $X \pm \text{SD}$, са значајном разликом * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Анализом концентрације цитокина IL-8 и IL-17 периапикалног ткива између испитиваних група, показано је да се ниво IL-8 није статистички значајно разликовао између SHR+AP и AP групе ($p > 0,05$). Међутим, заступљен је био значајан скок концентрације IL-8 у SHR+AP групи у поређењу са SHR и С групом ($p < 0,01$), као и у AP групи у поређењу са С групом ($p < 0,01$) (График 10А).

Концентрација IL-17 била је доминантно значајно већа у SHR+AP групи у поређењу са AP групом ($p < 0,01$). Такође, веома значајан скок концентрације наведеног цитокина био је заступљен у SHR+AP групи у поређењу са SHR и С групом ($p < 0,01$), као и у AP групи у поређењу са С групом ($p < 0,01$) (График 10Б).

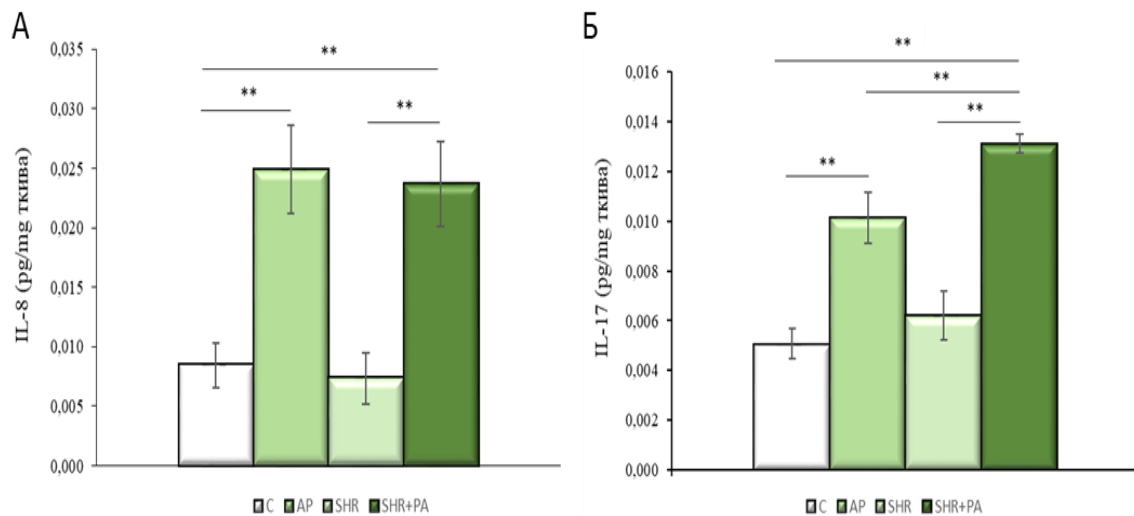


График 10. Концентрације (А) IL-8 и (Б) IL-17 периапикалног ткива и поређење вредности између испитиваних група. Концентрација цитокина изражена је у пикограмима по милиграму периапикалног ткива. Вредности су представљене у облику $X \pm SD$, са значајном разликом $*p < 0,05$; $**p < 0,01$.

4. 6. УТИЦАЈ ПЕРИАПИКАЛНИХ ЛЕЗИЈА НА ФУНКЦИОНАЛНЕ ПАРАМЕТРЕ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА

4. 6. 1. Функционални параметри изолованог срца нормотензивних пацова без присуства периапикалних лезија

У контролној групи, нормотензивних пацова без присуства периапикалних лезија, протоколом ауторегулације при различитим вредностима коронарног перфузионог притиска (СРР) у дијапазону од 40-120 cmH₂O испитивана је динамика показатеља функције срца у контролном и експерименталном периоду.

Вредности кардиодинамских параметра као и вредности коронарног протока нормотензивних пацова без присуства периапикалних лезија, приказани су у облику $X \pm SD$ са значајном разликом $*p < 0,05$; $**p < 0,01$. Резултати добијених вредности приказани су табеларно и графички.

Протоколом ауторегулације, промене вредности СРР-а у дијапазону од 40-120 cmH₂O нису проузроковале статистички значајне промене на нивоу свих испитиваних параметра изолованог срца, у контролном и експерименталном периоду унутар С групе ($p > 0,05$) (Табела 9, График 11).

Табела 9. Функционални параметари изолованог срца пацова у експерименталном и контролном периоду унутар С групе. Резултати су приказани као $X \pm SD$. Ниво значајности $*p < 0,05$; $**p < 0,01$.

CPP	dp/dt max (mmHg/s)		dp/dt min (mmHg/s)		SLVP (mmHg)	
	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент
40	1597,70±99,69	1597,70±99,69	-1125,53±111,01	-1125,53±111,01	47,03±2,56	47,03±2,56
60	1700,87±119,17	1721,40±120,19	-1117,57±108,22	-1187,22±122,15	49,58±4,13	53,10±4,22
80	1954,53±97,36	2078,77±153,64	-1533,67±119,03	-1592,50±118,00	61,42±5,96	64,25±5,86
100	2455,46±161,93	2541,57±168,05	-1839,67±98,00	-1840,67±116,10	71,90±5,36	74,58±5,32
120	2622,30±198,12	2739,44±211,12	-2088,50±122,39	-2044,17±111,23	82,12±4,61	81,72±3,57
CPP	DLVP (mmHg)		HR (bpm)		CF (ml/min)	
	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент
40	0,46±0,06	0,44±0,06	243,33±20,25	243,33±20,25	8,23±1,31	8,23±1,31
60	0,57±0,04	0,53±0,05	269,83±19,20	262,83±21,10	9,88±1,22	9,48±1,45
80	0,77±0,05	0,75±0,04	282,33±18,20	274,17±21,46	12,08±1,43	11,73±1,08
100	0,86±0,06	0,83±0,05	283,50±19,10	276,83±22,60	14,63±1,41	15,02±1,46
120	1,02±0,06	1,00±0,04	279,17±21,30	269,27±23,25	18,50±1,58	18,63±1,33

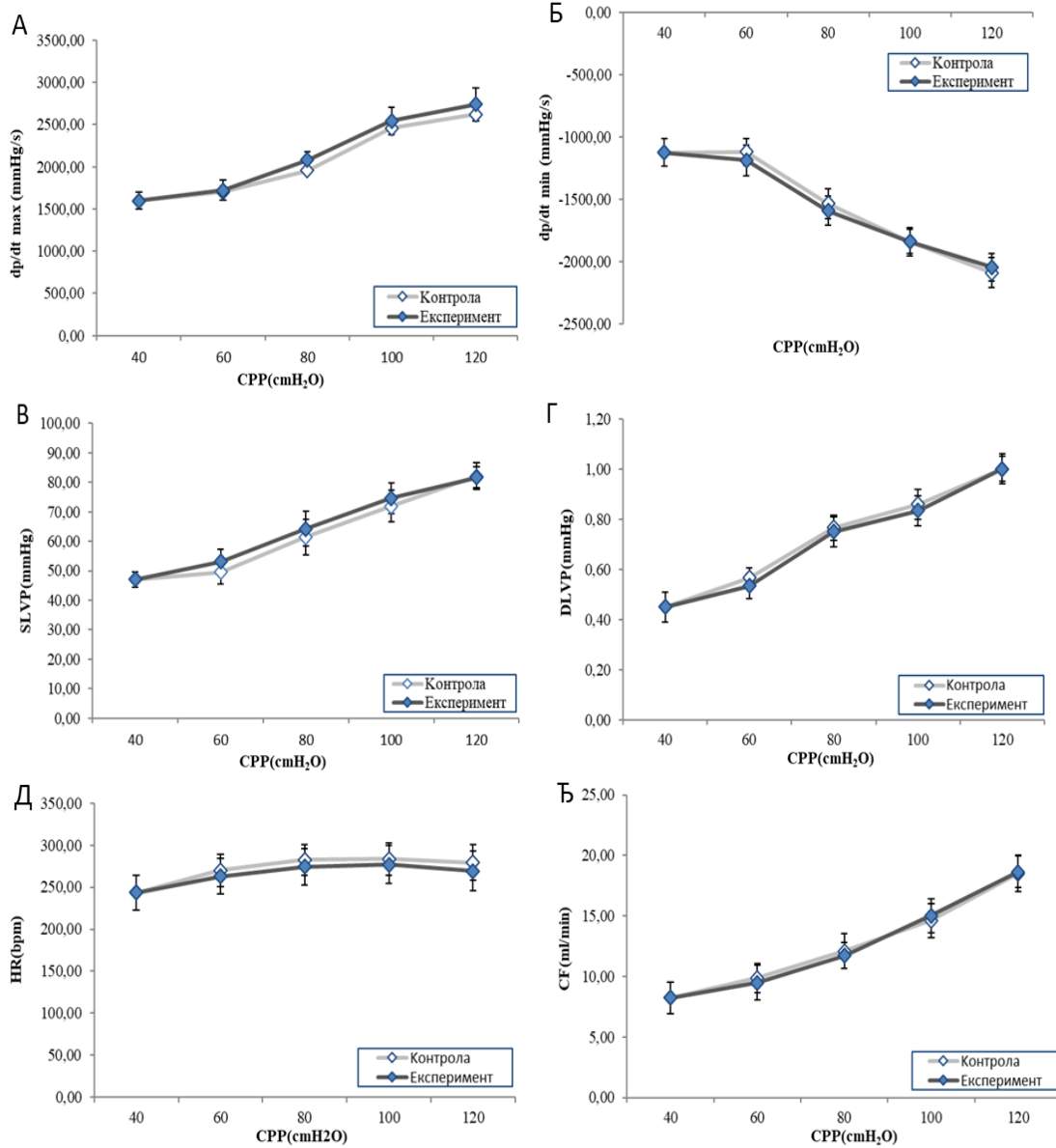


График 11. Промене вредности кардиодинамских параметра: **(А)** dp/dt max; **(Б)** dp/dt min; **(В)** SLVP; **(Г)** DLVP; **(Д)** HR и **(Е)** CF при различитим вредностима CPP-a од 40-120 cmH₂O у експерименталном и контролном периоду унутар С групе. Добијене вредности су представљене као X ± SD. Ниво значајности **p*<0,05; ***p*<0,01.

4. 6. 2. Функционални параметри изолованог срца нормотензивних пацова са присуством периапикалних лезија

У групи нормотензивних пацова са присуством периапикалних лезија, протоколом ауторегулације при различитим вредностима *CPP-a* у распону од 40-120 cmH₂O испитивана је динамика показатеља функције срца у контролном и експерименталном периоду. Вредности кардиодинамских параметра као и вредности коронарног протока нормотензивних пацова са присуством периапикалних лезија, приказани су у виду $X \pm SD$ са значајном разликом $*p < 0,05$; $**p < 0,01$, при чему су резултати добијених вредности приказани табеларно и графички.

У AP групи, уочено је значајано повећање вредности dp/dt max при вредностима *CPP-a* од 60-100 cmH₂O у експерименталном периоду у поређењу са контролним периодом, са високо значајним разликама при вредностима *CPP-a* од 60-80 cmH₂O ($p < 0,01$). Вредности dp/dt min биле су значајно ниже у експерименталном периоду у поређењу са контролним периодом при вредностима *CPP-a* од 60-100 cmH₂O, са веома значајним разликама на притисцима од 60-80 cmH₂O ($p < 0,01$).

Додатно, вредности SLVP-a биле су значајно повећане на вредностима *CPP-a* од 60-100 cmH₂O у експерименталном периоду у поређењу са контролним периодом, са високо значајном разликом на притиску од 60 cmH₂O ($p < 0,01$), док је DLVP био значајно смањен у експерименталном периоду на притиску од 100 cmH₂O ($p < 0,05$) у поређењу са контролним периодом унутар групе.

Са друге стране, фреквенца срца (HR) није се статистички значајно разликовала при променама вредности *CPP-a* у контролном и експерименталном периоду унутар саме групе ($p > 0,05$), док је забележен значајан пад коронарног протока при вредностима *CPP-a* од 60 и 100 cmH₂O ($p < 0,05$) (Табели 10, График 12).

Табела 10. Функционални параметари изолованог срца пацова у експерименталном и контролном периоду унутар АР групе. Резултати су приказани као $X \pm SD$. Ниво значајности $*p < 0,05$; $**p < 0,01$.

CPP	dp/dt max (mmHg/s)		dp/dt min (mmHg/s)		SLVP (mmHg)	
	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент
40	1142,29±146,30	1142,29±146,30	-719,42±72,29	-719,42±72,29	24,59±2,26	24,59±2,26
60	853,66±89,65	1297,56±118,56**	-529,85±54,85	-802,01±81,70**	18,42±1,05	28,14±2,90*
80	1088,03±103,51	1640,88±161,87**	-684,66±66,10	-998,08±97,99**	24,61±2,45	34,55±3,55*
100	1351,71±141,55	1784,76±166,81*	-843,67±86,80	-1169,26±118,02*	29,82±3,15	40,39±3,68**
120	1617,78±163,65	1857,36±187,49	-1058,96±104,33	-1246,78±116,59	37,05±3,89	42,35±4,66
CPP	DLVP (mmHg)		HR (bpm)		CF (ml/min)	
	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент
40	1,12±0,15	1,12±0,15	271,50±28,13	271,50±28,13	8,27±0,81	8,27±0,81
60	1,52±0,11	1,32±0,10	297,32±27,75	290,46±30,65	11,98±1,15	10,53±1,85*
80	1,59±0,19	1,45±0,16	306,16±31,98	297,00±27,95	14,78±1,74	13,49±1,29
100	1,88±0,17	1,13±0,15*	303,12±32,97	299,06±28,52	16,89±1,86	15,18±1,49*
120	1,97±0,18	1,63±0,16	298,62±3,01	281,52±29,41	18,27±1,92	17,11±1,92

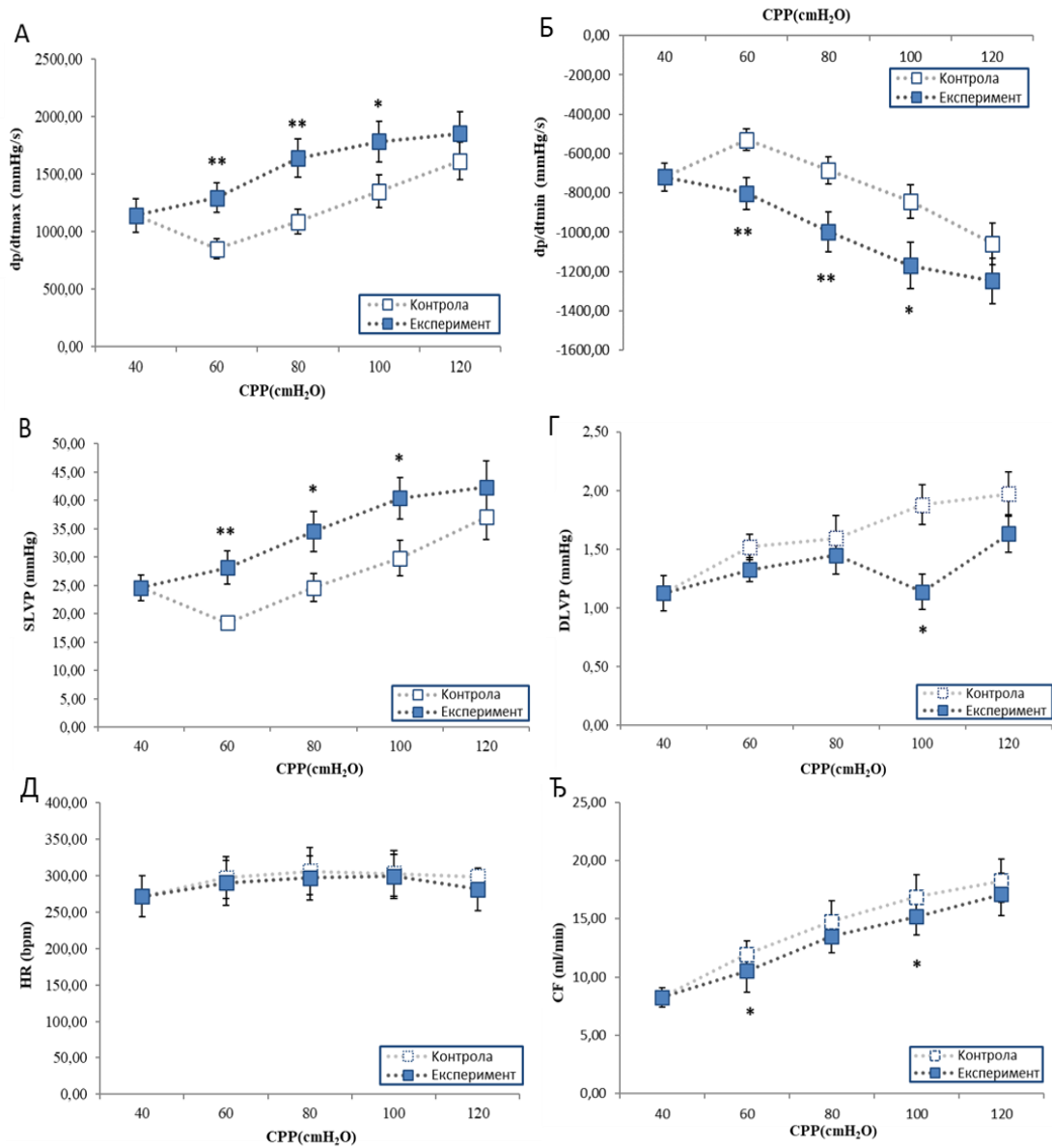


График 12. Промене вредности кардиодинамских параметра: **(А)** dp/dt max; **(Б)** dp/dt min; **(В)** SLVP; **(Г)** DLVP; **(Д)** HR и **(Е)** CF при различитим вредностима CPP-а од 40-120 cmH₂O у експерименталном и контролном периоду унутар AP групе. Добијене вредности су представљене као X ± SD. Ниво значајности * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

4. 6. 3. Функционални параметри изолованог срца спонтанохипертензивних пацова без присуства периапикалних лезија

У групи спонтанохипертензивних пацова без присуства периапикалних лезија, протоколом ауторегулације при различитим вредностима *CPP-a* у дијапазону од 40-120 cmH₂O испитивана је динамика показатеља функције срца у контролним и експерименталним условима. Вредности кардиодинамских параметра као и вредности коронарног протока приказане су у виду $X \pm SD$ са значајном разликом $*p < 0,05$; $**p < 0,01$.

Протоколом ауторегулације, промене вредности *CPP-a* у опсегу од 40-120 cmH₂O нису проузроковале статистички значајне промене на нивоу свих функционалних параметра изолованог срца пацова, у контролном и експерименталном периоду унутар SHR групе ($p > 0,05$).

Међутим, вредности dp/dt max на нивоима *CPP-a* од 60-80 cmH₂O у експерименталном периоду биле су више у поређењу са контролним периодом, вредности dp/dt min биле су ниже на перфузионом притиску од 60 cmH₂O у експерименталном периоду у односу са контролним. Такође, вредности DLVP биле су снижене на перфузионим притисцима од 60-80 cmH₂O у експерименталном периоду у поређењу са контролним периодом, док је HR био повишен у експерименталном периоду на притиску од 60 cmH₂O, уз напомену, да све наведене вредности кардиодинамских промена нису биле статистички значајне ($p > 0,05$) (Табела 11, График 13).

Табела 11. Функционални параметри изолованог срца пацова у експерименталном и контролном периоду унутар SHR групе. Резултати су приказани као $X \pm SD$. Ниво значајности $*p < 0,05$; $**p < 0,01$.

CPP	dp/dt max (mmHg/s)		dp/dt min (mmHg/s)		SLVP (mmHg)	
	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент
40	1661,03±167,02	1661,03±167,02	-906,43±93,60	-906,43±93,60	37,68±3,84	37,68±3,84
60	1754,14±177,87	2002,45±200,00	-1143,00±116,54	-1381,71±140,74	43,92±4,77	45,91±4,84
80	1875,86±188,27	2240,73±226,16	-1473,10±149,1	-1493,50±150,98	47,29±4,83	47,55±4,87
100	2173,68±220,28	2253,2±227,95	-1740,84±177,44	-1600,41±166,97	52,15±5,15	49,6±4,67
120	2309,57±240,52	2428,9±245,83	-2026,97±205,90	-1800,53±188,19	52,93±5,80	53,4±5,51
CPP	DLVP (mmHg)		HR (bpm)		CF (ml/min)	
	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент
40	6,48±0,57	6,48±0,57	167,26±17,20	167,26±17,20	8,20±0,98	8,20±0,98
60	6,83±0,76	6,05±0,72	197,32±19,81	214,15±22,73	9,83±0,96	10,15±1,80
80	7,65±0,83	6,16±0,66	227,36±24,21	227,69±24,77	12,50±1,36	11,95±1,64
100	7,05±0,84	7,52±0,77	233,62±22,92	276,21±26,92	14,55±1,66	15,25±0,14
120	6,89±0,70	7,83±0,81	279,30±29,52	288,83±27,7	14,50±1,39	16,5±1,79

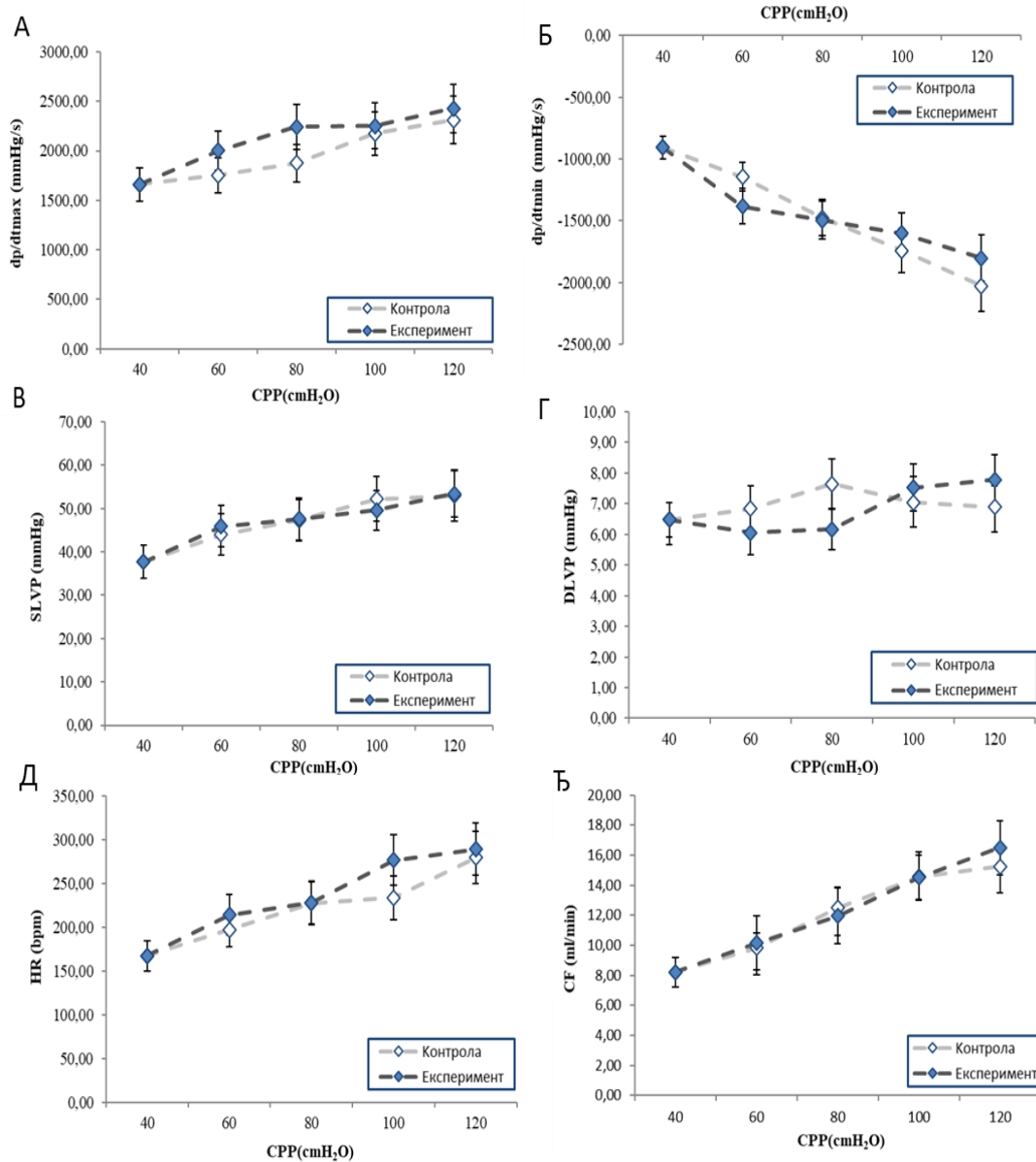


График 13. Промене вредности кардиодинамских параметра: **(А)** dp/dt max; **(Б)** dp/dt min; **(В)** SLVP; **(Г)** DLVP; **(Д)** HR и **(Е)** CF, при различитим вредностима CPP-а од 40-120 cmH₂O у експерименталном и контролном периоду унутар SHR групе. Добијене вредности су представљене као X±SD. Ниво значајности * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

4. 6. 4. Функционални параметри изолованог срца спонтанохипертензивних пацова са присуством периапикалних лезија

У групи спонтанохипертензивних пацова са присуством периапикалних лезија, протоколом ауторегулације при различитим вредностима *CPP-a* у распону од 40-120 cmH₂O испитиване је динамика показатеља функције срца у контролним и експерименталним условима. Вредности кардиодинамских параметра као и вредности коронарног протока приказане су у виду $X \pm SD$, са значајном разликом $*p < 0,05$; $**p < 0,01$.

У SHR+AP групи, уочено је значајано повећање вредности dp/dt max при вредностима *CPP-a* од 60-100 cmH₂O у експерименталном периоду у поређењу са контролним периодом, са високо значајним разликама на притисцима од 60 и 100 cmH₂O ($p < 0,01$). Вредности dp/dt min биле су значајно ниже у експерименталном периоду у поређењу са контролним периодом при вредностима *CPP-a* од 60-100 cmH₂O, са високо значајном разликом на притиску од 60 cmH₂O ($p < 0,01$).

Додатно, вредности SLVP биле су значајно повећане на вредностима *CPP-a* од 60-100 cmH₂O у експерименталном периоду у поређењу са контролним периодом ($p < 0,05$), док су вредности DLVP-а биле значајно повишене у експерименталном периоду на притисцима од 80-100 cmH₂O ($p < 0,05$), у поређењу са контролним периодом унутар групе.

Са друге стране, вредности HR и CF нису се значајно разликовале при променама вредности *CPP-a* у експерименталном и контролном периоду унутар саме групе ($p > 0,05$) (Табела 12, График 14).

Табела 12. Функционални параметари изолованог срца пацова у експерименталном и контролном периоду унутар SHR+AP групе. Резултати су приказани као $X \pm SD$. Ниво значајности $*p < 0,05$; $**p < 0,01$.

CPP	dp/dt max (mmHg/s)		dp/dt min (mmHg/s)		SLVP (mmHg)	
	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент
40	1184,38±109,42	1184,38±119,42	-583,96±60,09	-583,96±60,09	29,07±3,04	29,07±3,04
60	925,44±86,72	1351,86±137,84**	-600,67±60,52	-887,74±89,74**	22,95±2,89	33,80±3,59*
80	1206,11±123,41	1589,07±162,06*	-802,90±82,67	-1098,94±103,18*	31,00±3,25	40,95±3,99*
100	1313,14±125,10	1805,13±175,84**	-891,43±90,53	-1232,33±126,73*	35,30±3,28	50,42±6,60*
120	1619,86±173,25	1913,60±185,61	-1127,34±113,79	-1327,57±148,39	41,96±3,99	52,10±5,36
CPP	DLVP (mmHg)		HR (bpm)		CF (ml/min)	
	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент
40	2,97±0,28	2,97±0,31	255,96±26,11	255,96±26,11	8,74±0,89	8,74±0,89
60	3,15±0,37	3,86±0,44	317,88±32,40	290,60±32,12	12,11±1,14	11,83±1,01
80	3,41±0,40	4,72±0,42*	301,32±33,29	281,92±30,18	14,11±1,54	14,23±1,51
100	3,76±0,39	5,16±0,61*	298,38±30,95	284,96±29,53	15,60±1,75	16,29±1,78
120	4,33±0,48	5,30±0,64	289,93±29,87	281,38±31,05	17,51±1,52	17,71±1,91

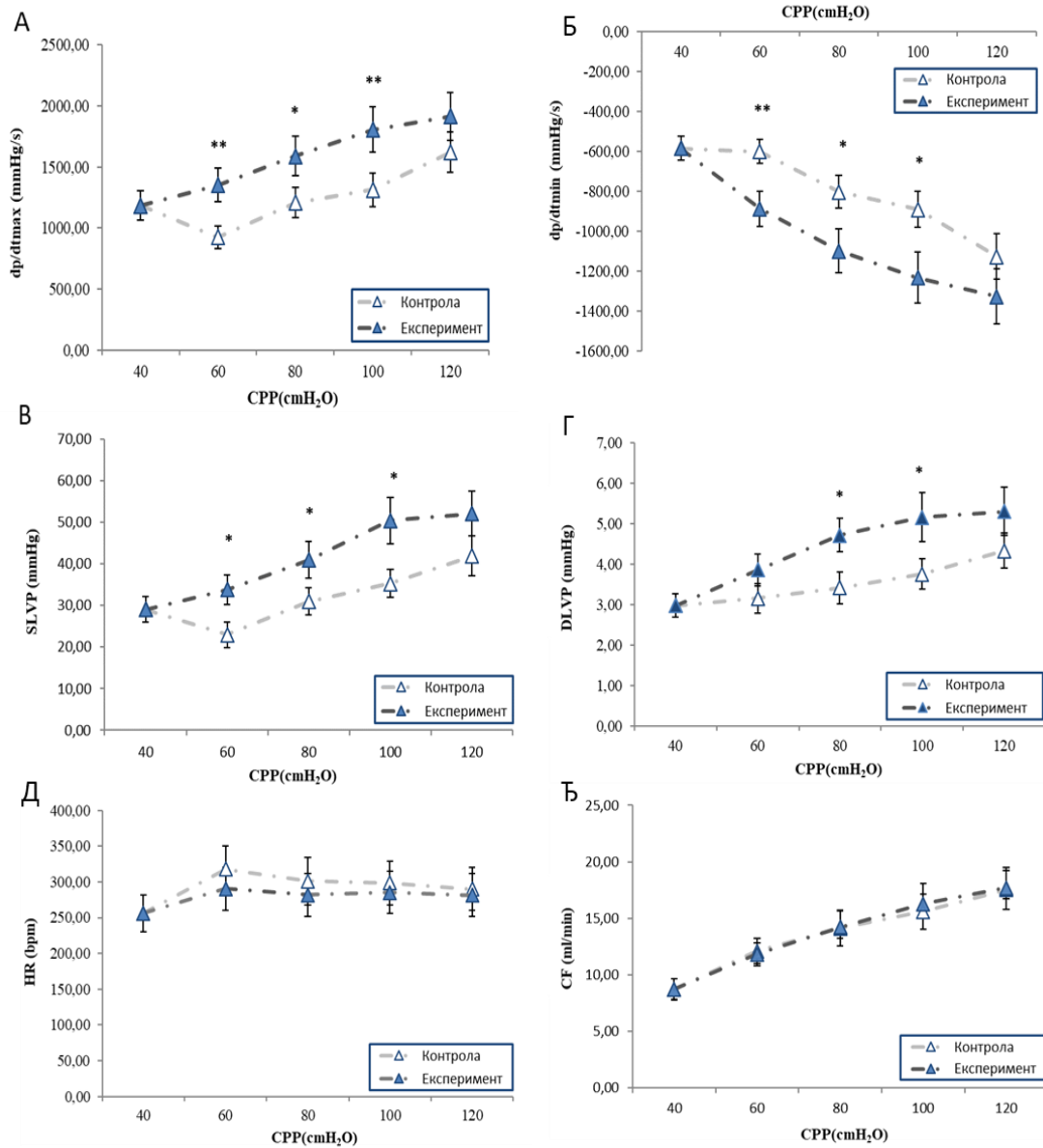


График 14. Промене вредности кардиодинамских параметра: **(А)** dp/dt max; **(Б)** dp/dt min; **(В)** SLVP; **(Г)** DLVP; **(Д)** HR и **(Ђ)** CF, при различитим вредностима CPP-а од 40-120 cmH₂O у експерименталном и контролном периоду унутар SHR+AP групе. Добијене вредности су представљене као X±SD. Ниво значајности **p*<0,05; ***p*<0,01.

4. 6. 5. Упоредна анализа свих функционалних параметара изолованог срца пацова између испитиваних група

Резултати упоредне анализе кардиодинамских параметара и коронарног протока између испитиваних група представљени су на **Графику 15**.

Вредност $dp/dt \max$ била је значајно повећана у SHR+AP групи у поређењу са AP групом на свим вредностима CPP -а од 40-100 cmH_2O ($p < 0,05$). Додатно, вредности наведеног кардиодинамског параметра биле су значајно више у SHR + AP и SHR групи у поређењу са С групом при свим вредностима CPP -а од 40-100 cmH_2O ($p < 0,05$). С друге стране, није било значајних разлика у вредности наведеног параметра између AP и С групе, као и SHR+AP и SHR групе ($p > 0,05$) (**График 15(А)**).

Вредност $dp/dt \min$ била је значајно снижена у SHR+AP групи у поређењу са AP и С групом при вредностима CPP -а од 60-120 cmH_2O ($p < 0,05$). Такође, вредности наведеног кардиодинамског параметра биле су значајно смањене у SHR+AP групи у поређењу са SHR групом на притисцима од 60-120 cmH_2O ($p < 0,05$), док значајних разлика у вредностима наведених параметра између AP и С групе није постојало ($p > 0,05$). Додатно, вредности $dp/dt \min$ у SHR групи биле су значајно ниже на свим вредностима CPP -а од 40-100 cmH_2O у поређењу са С групом ($p < 0,05$) (**График 15(Б)**).

Вредност $SLVP$ -а је изразито била повећана у SHR+AP групи у поређењу са AP групом на вредностима CPP -а од 100-120 cmH_2O ($p < 0,01$). С друге стране, вредност наведеног кардиодинамског параметра била је доминантно смањена на притисцима од 80-120 cmH_2O ($p < 0,01$) у SHR + AP групи у поређењу са AP групом, док није било значајне разлике у вредности $SLVP$ између AP и С групе ($p > 0,05$). Додатно, вредност систолног притиска у левој комори била је доминантно повишена у SHR+AP и SHR групи у поређењу са С групом на свим вредностима CPP -а од 40-100 cmH_2O ($p < 0,01$) (**График 15(В)**).

Вредност $DLVP$ -а била је изузетно повећана у SHR+AP групи у поређењу са AP и SHR групом на свим вредностима CPP -а од 40-100 cmH_2O ($p < 0,01$). Додатно, AP група изазвала је изразито смањење наведеног кардиодинамског маркера у поређењу са SHR и С групом на свим вредностима CPP -а ($p < 0,01$). Између осталог, вредности $DLVP$ -а биле су доминантно значајно веће у SHR+AP групи у поређењу са контролном групом на свим вредностима CPP -а ($p < 0,01$) (**График 15(Г)**).

Вредности HR-а су биле значајно смањена у SHR+AP групи у поређењу са AP групом на вредностима CPP -а од 40-80 cmH_2O ($p < 0,05$), као и између SHR+AP и SHR групе на притиску од 40 cmH_2O ($p < 0,05$). Такође, вредност HR-а била је значајно смањена у AP групи у поређењу С групом на притиску од 40 cmH_2O ($p < 0,05$). Додатно, вредност наведеног кардиодинамског маркера била је значајно ниже у SHR групи у поређењу са С групом на нивоима коронарног притиска од 60 и 100 cmH_2O ($p < 0,05$), као и у SHR+AP групи у поређењу са С групом на притисцима од 40-80 cmH_2O ($p < 0,05$) (**График 15(Д)**).

Вредности CF-а су значајно биле снижене у SHR+AP групи у поређењу са AP групом на притисцима од 60 и 80 cmH_2O ($p < 0,05$). Такође, вредности наведеног маркера биле су доминантно ниже у SHR+AP и SHR групи у поређењу са С групом при вредностима коронарног притиска од 60 cmH_2O ($p < 0,05$). На осталим притисцима вредности CF-а нису биле значајно промењене између SHR+AP и SHR групе, као и AP и С групе ($p > 0,05$) (**График 15(Ђ)**).

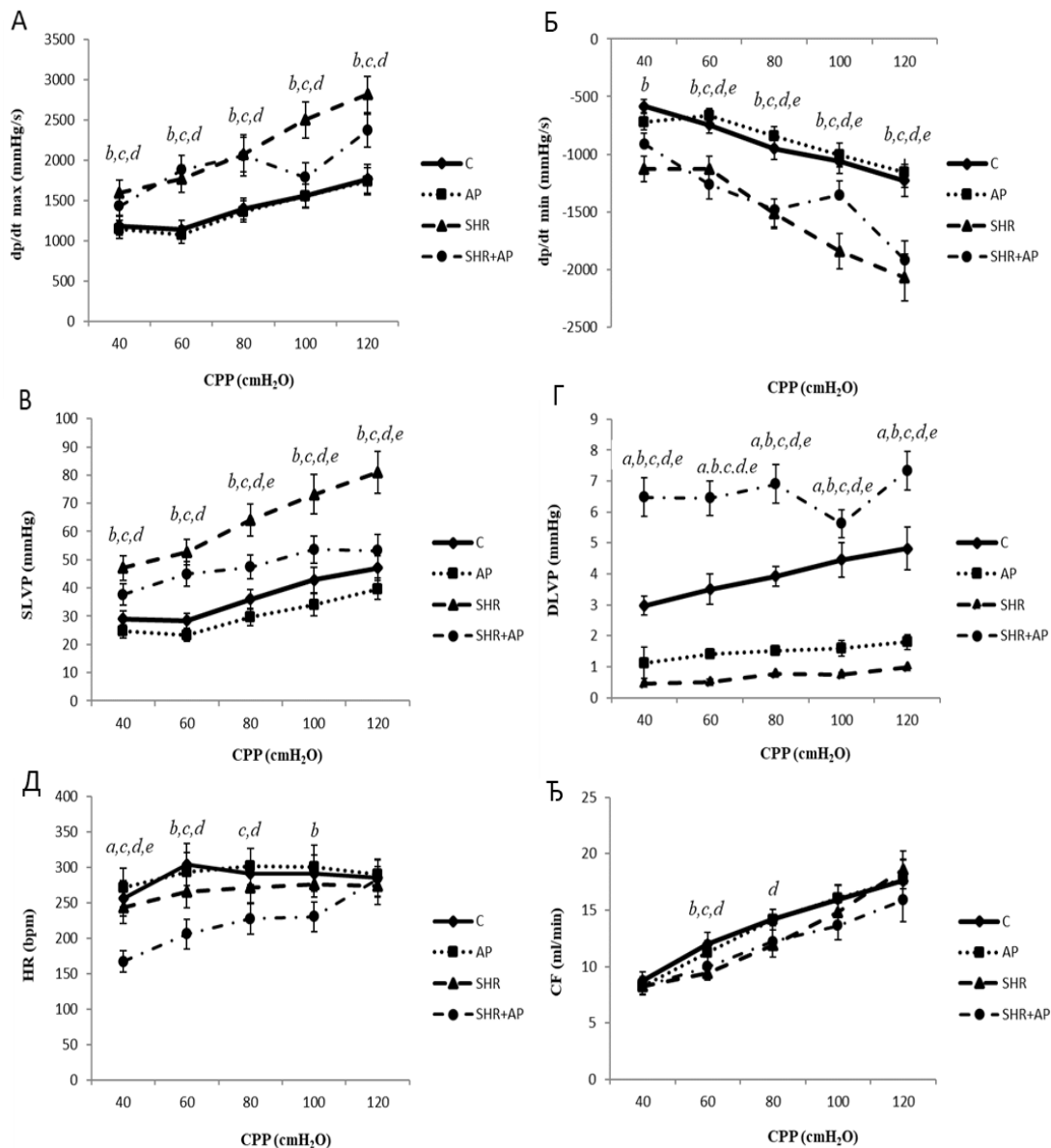


График 15. Упоредни приказ вредности функционалних параметара изолованог срца између испитиваних група (C, AP, SHR и SHR+AP) на вредностима CPP-а (40-120 cmH₂O). (А) Поређење вредности dp/dt max између испитиваних група, (Б) поређење вредности dp/dt min између испитиваних група, (В) поређење вредности SLVP између испитиваних група, (Г) поређење вредности DLVP између испитиваних група, (Д) поређење вредности HR између испитиваних група, (Ђ) поређење вредности CF између испитиваних група. Добијене вредности су представљене као X ± SD. Ниво значајности између група ($p < 0,05$): *a* AP vs.C; *b* SHR vs.C; *c* SHR+AP vs. C; *d* SHR+AP vs. AP; *e* SHR+AP vs. SHR.

4. 7. УТИЦАЈ ПЕРИАПИКАЛНИХ ЛЕЗИЈА НА МАРКЕРЕ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА У КОРОНАРНОМ ВЕНСКОМ ЕФЛУЕНТУ, ХОМОГЕНАТУ СРЧАНОГ ТКИВА И КРВИ

4. 7. 1. УТИЦАЈ ПЕРИАПИКАЛНИХ ЛЕЗИЈА НА МАРКЕРЕ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА У КОРОНАРНОМ ВЕНСКОМ ЕФЛУЕНТУ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА

4. 7. 1. 1. Испитивање параметра оксидационог стреса у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова унутар групе - нормотензивних пацова без присуства периапикалних лезија

Вредности маркера оксидационог статуса (TBARS, O_2^- , H_2O_2 и NO_2^-) испитивани су у коронарном венском ефлуенту при различитим вредностима *СРР-а* у дијапазону од 40-120 cmH₂O у експерименталним и контролним условима. Добијене вредности испитиваних маркера приказане су табеларно и графички.

У групи нормотензивних пацова без присуства периапикалних лезија, променом вредности *СРР-а* од 40-120 cmH₂O, значајне промене параметра оксидационог статуса забележене су код H_2O_2 на притиску од 60 cmH₂O ($p < 0,05$), док значајне промене вредности TBARS-а, O_2^- , NO_2^- нису примећене у експерименталном и контролном периоду унутар С групе ($p > 0,05$) (Табела 13, График 16).

Табела 13. Нивои про-оксидационих параметра у коронарном венском ефлуенту у експерименталном и контролном периоду унутар С групе. Резултати су приказани као $X \pm SD$. Ниво значајности $*p < 0.05$; $**p < 0.01$.

CPP	TBARS ($\mu\text{mol/ml}$)		O_2^- (nmol/ml)	
	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент
40	8,39 \pm 0,79	8,39 \pm 0,79	4,27 \pm 0,46	4,27 \pm 0,46
60	11,44 \pm 1,55	11,42 \pm 1,31	5,74 \pm 0,58	5,72 \pm 0,35
80	13,78 \pm 1,42	13,69 \pm 1,44	5,98 \pm 1,96	6,85 \pm 0,61
100	14,96 \pm 1,55	15,11 \pm 1,59	9,96 \pm 0,95	10,11 \pm 1,60
120	16,65 \pm 1,23	17,59 \pm 1,71	12,71 \pm 1,52	11,77 \pm 1,47
CPP	H_2O_2 (nmol/ml)		NO_2^- (nmol/ml)	
	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент
40	35,52 \pm 3,37	35,52 \pm 3,37	86,20 \pm 8,23	86,20 \pm 8,23
60	55,44 \pm 4,33	47,39\pm4,41*	123,04 \pm 12,54	104,59 \pm 10,15
80	61,90 \pm 6,98	56,92 \pm 6,02	136,45 \pm 13,46	138,32 \pm 13,77
100	62,96 \pm 5,88	72,93 \pm 7,06	148,02 \pm 14,49	152,57 \pm 15,77
120	71,44 \pm 8,83	72,14 \pm 6,20	174,97 \pm 17,07	169,16 \pm 16,37

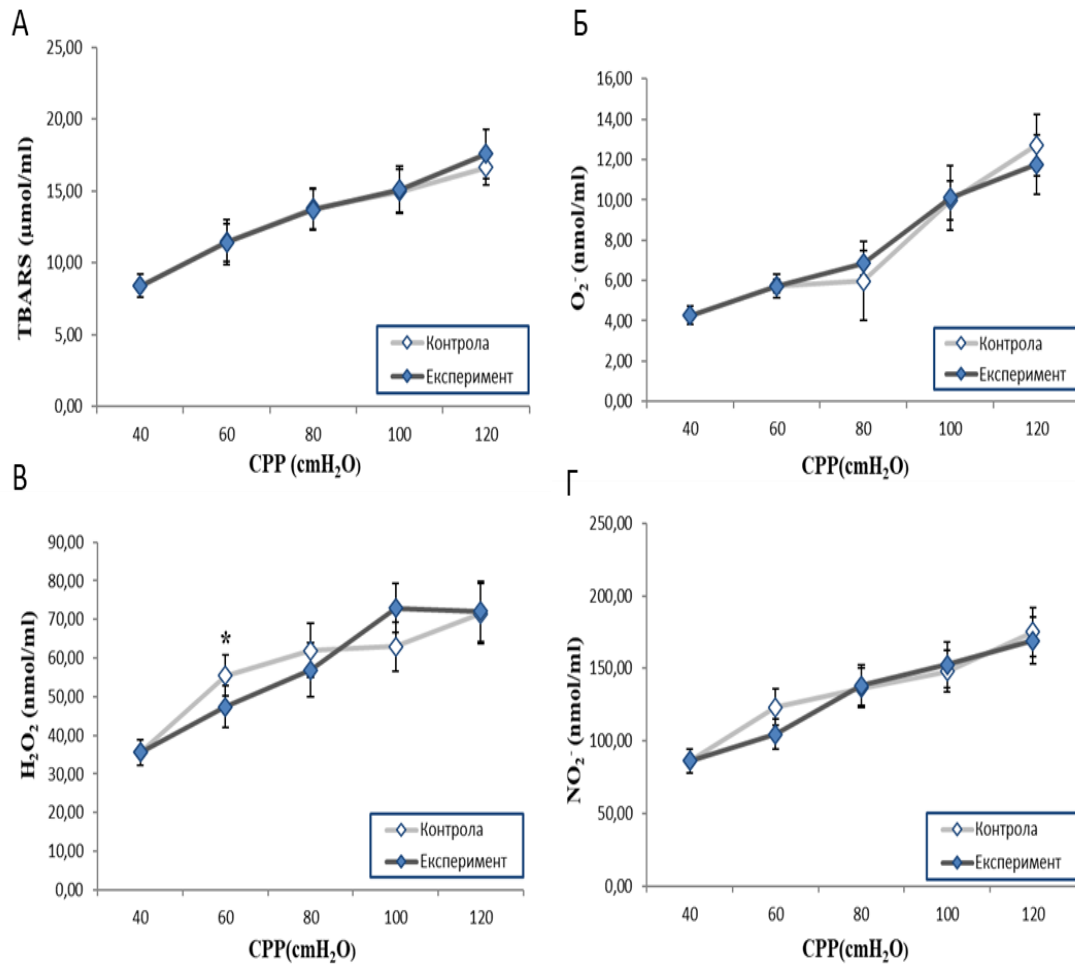


График 16. Про-оксидациони параметри у коронарном венском ефлуенту: **(А)** TBARS; **(Б)** O₂⁻; **(В)** H₂O₂ и **(Г)** NO₂⁻ при различитим вредностима CPP-а (40-120 cmH₂O) у експерименталном и контролном периоду унутар С групе. Добијене вредности су представљене као X ± SD. Ниво значајности **p*<0.05; ***p*<0.01.

4. 7. 1. 2. Испитивање маркера оксидационог стреса у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова унутар групе - нормотензивних пацова са присуством периапикалних лезија

Вредности маркера оксидационог статуса (TBARS, O_2^- , H_2O_2 и NO_2^-) праћене су у коронарном венском ефлуенту на различитим нивоима СРР-а у дијапазону од 40-120 cmH₂O у експерименталним и контролним условима. Добијене вредности испитиваних маркера оксидационог статуса приказане су табеларно и графички.

У групи нормотензивних пацова са присуством периапикалних лезија, променом вредности СРР-а од 40-120 cmH₂O, значајне промене маркера оксидационог статуса забележене су код H_2O_2 и NO_2^- . Вредности H_2O_2 биле су значајно ниже на перфузионом притиску од 80 cmH₂O у експерименталном периоду у поређењу са контролним периодом ($p < 0,05$), док су вредности NO_2^- биле статистички изузетно снижене у експерименталном периоду на притиску од 60-80 cmH₂O ($p < 0,01$), у поређењу са контролним периодом унутар АР групе.

Додатно, вредности NO_2^- биле су снижене при вредностима СРР-а од 60-100 cmH₂O, као и вредности TBARS-а на притисцима од 60-80 cmH₂O, али не и статистички значајне у експерименталном периоду у поређењу са контролним периодом унутар АР групе ($p > 0,05$) (Табела 14, График 17).

Табела 14. Нивои про-оксидационих параметара у коронарном венском ефлуенту у експерименталном и контролном периоду унутар АР групе. Резултати су приказани као $X \pm SD$. Ниво значајности $*p < 0.05$; $**p < 0.01$.

CPP	TBARS ($\mu\text{mol/ml}$)		O_2^- (nmol/ml)	
	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент
40	8,60 \pm 0,78	8,60 \pm 0,89	9,75 \pm 1,01	9,75 \pm 1,01
60	11,72 \pm 1,89	10,43 \pm 1,17	16,45 \pm 1,92	13,50 \pm 1,43
80	13,98 \pm 1,43	11,87 \pm 1,40	22,63 \pm 2,34	17,80 \pm 1,82
100	16,02 \pm 1,70	15,24 \pm 1,67	14,82 \pm 1,52	15,03 \pm 1,66
120	18,20 \pm 1,79	16,53 \pm 1,83	20,52 \pm 1,98	21,26 \pm 2,48
CPP	H_2O_2 (nmol/ml)		NO_2^- (nmol/ml)	
	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент
40	18,71 \pm 1,91	18,71 \pm 1,95	73,72 \pm 7,50	73,72 \pm 7,50
60	32,60 \pm 3,16	27,80 \pm 2,88	122,31 \pm 11,91	99,47\pm9,77**
80	41,34 \pm 3,88	30,98\pm3,27*	150,36 \pm 14,12	110,57\pm12,91**
100	39,74 \pm 3,54	40,34 \pm 3,87	137,43 \pm 14,15	136,45 \pm 13,14
120	49,22 \pm 5,29	44,19 \pm 4,34	158,50 \pm 16,95	158,01 \pm 16,82

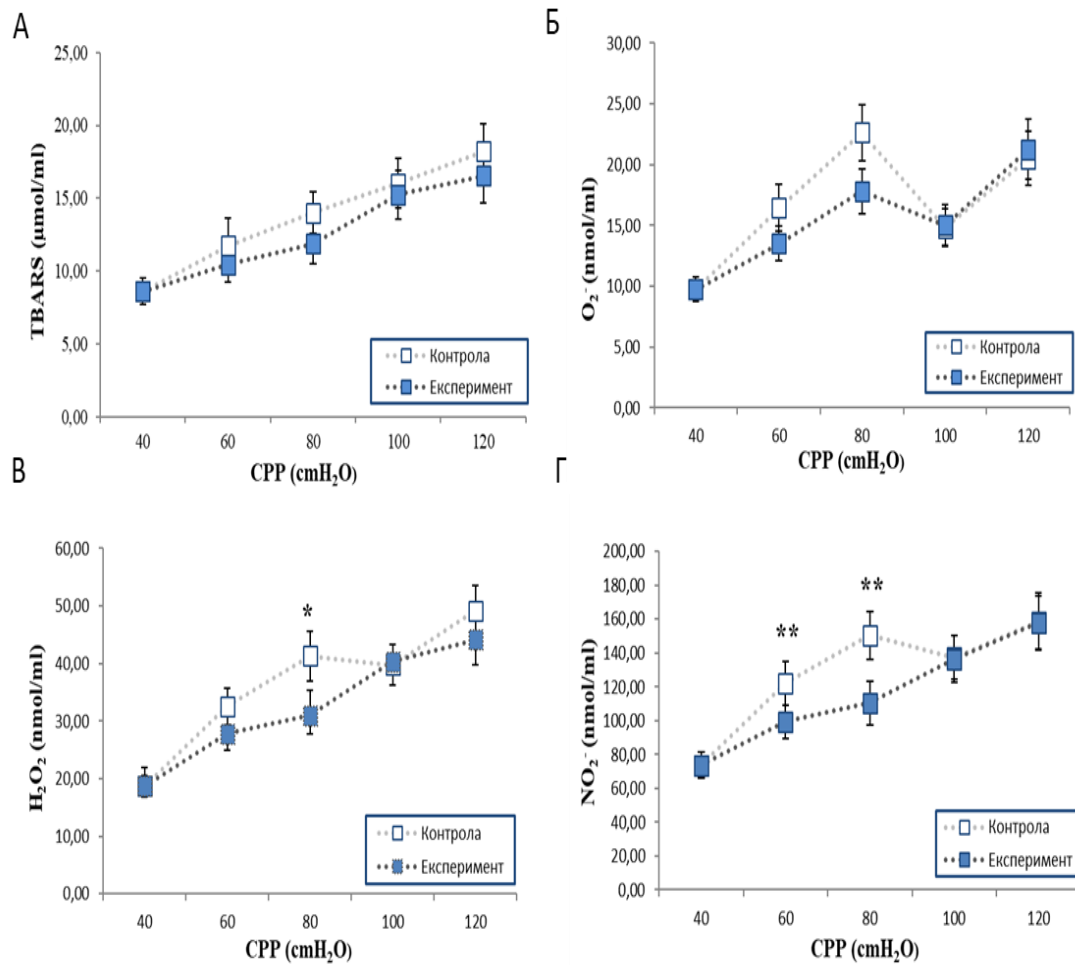


График 17. Про-оксидациони параметри у коронарном венском ефлуенту: (А) TBARS; (Б) O₂⁻; (В) H₂O₂ и (Г) NO₂⁻ при различитим вредностима CPP-а (40-120 cmH₂O) у експерименталном и контролном периоду унутар AP групе. Добијене вредности су представљене као X ± SD. Ниво значајности * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

4. 7. 1. 3. Испитивање маркера оксидационог статуса у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова унутар групе-спонтанохипертензивних пацова без присуства периапикалних лезија

Промене маркера оксидационог статуса (TBARS, O_2^- , H_2O_2 и NO_2^-) испитиване су у коронарном венском ефлуенту при различитим нивоима CPP-а у распону од 40-120 cmH₂O у експерименталном и контролном периоду. Добијене вредности испитиваних маркера приказане су табеларно и графички.

У SHR групи, променом CPP-а у вредностима од 40-120 cmH₂O, значајне промене маркера оксидационог статуса забележене су код TBARS-а и O_2^- . Вредности TBARS-а биле су ниже на вредностима CPP-а од 60-120 cmH₂O, са значајном разликом на 120 cmH₂O у експерименталном условима у поређењу са контролним условима ($p < 0,05$) унутар SHR групе. Такође, вредности O_2^- биле су снижене на нивоима CPP-а од 60-120 cmH₂O, са значајном разликом на 80 cmH₂O у експерименталним условима у односу на контролне услове ($p < 0,05$).

Додатно, вредности H_2O_2 и NO_2^- при променама нивоа CPP-а у распону од 40-120 cmH₂O нису проузроковале значајне промене у експерименталним и контролним условима унутар SHR групе ($p > 0,05$) (Табела 15, График 18).

Табела 15. Нивои про-оксидационих параметара у коронарном венском ефлуенту унутар SHR групе. Резултати су приказани као $X \pm SD$. Ниво значајности * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

CPP	TBARS ($\mu\text{mol/ml}$)		O_2^- (nmol/ml)	
	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент
40	8,65 \pm 0,84	8,65 \pm 0,94	14,94 \pm 1,95	14,94 \pm 1,95
60	13,77 \pm 1,45	11,30 \pm 1,05	15,32 \pm 1,39	11,98 \pm 1,42
80	15,24 \pm 1,94	13,87 \pm 1,87	21,74 \pm 1,14	13,91\pm1,42*
100	17,49 \pm 1,63	16,03 \pm 1,42	14,41 \pm 1,47	11,08 \pm 1,37
120	24,22 \pm 2,33	16,27\pm1,12*	18,71 \pm 1,35	17,04 \pm 2,47
CPP	H_2O_2 (nmol/ml)		NO_2^- (nmol/ml)	
	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент
40	18,74 \pm 1,61	18,74 \pm 1,61	66,17 \pm 5,98	66,17 \pm 5,98
60	24,21 \pm 2,80	23,73 \pm 2,84	93,35 \pm 9,91	84,91 \pm 8,16
80	29,22 \pm 3,02	26,18 \pm 2,12	107,50 \pm 11,28	105,48 \pm 9,62
100	36,33 \pm 3,79	35,28 \pm 3,87	124,33 \pm 11,45	120,27 \pm 12,14
120	37,39 \pm 3,67	36,55 \pm 3,79	143,63 \pm 13,89	141,08 \pm 13,96

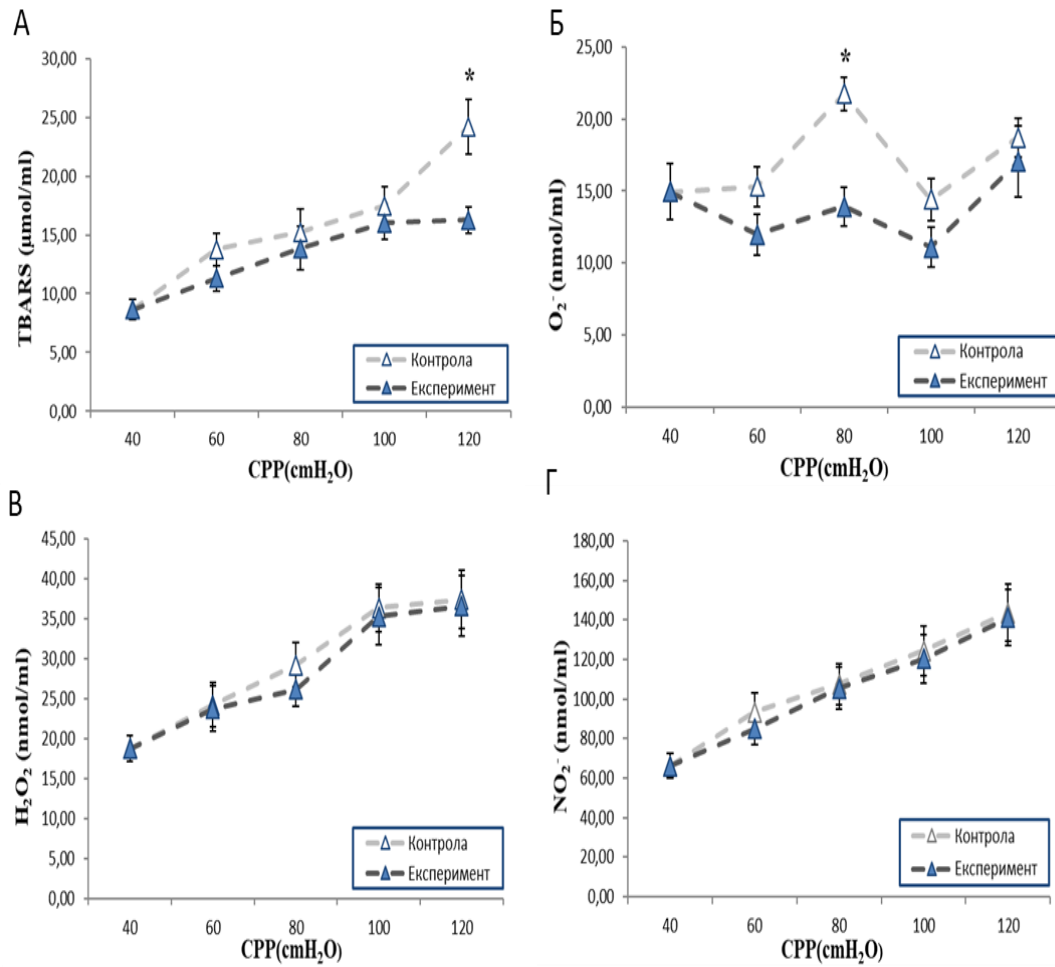


График 18. Про-оксидациони параметри у коронарном венском ефлуенту: **(А)** TBARS; **(Б)** O_2^- ; **(В)** H_2O_2 и **(Г)** NO_2^- при различитим вредностима CPP-а (40-120 cmH_2O) у експерименталном и контролном периоду унутар SHR групе. Добијене вредности су представљене као $X \pm \text{SD}$. Ниво значајности * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

4. 7. 1. 4. Испитивање параметара оксидационог стреса у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова унутар групе-спонтанохипертензивних пацова са присуством периапикалних лезија

Вредности маркера оксидационог статуса (TBARS, O_2^- , H_2O_2 и NO_2^-) праћене су у коронарном венском ефлуенту при различитим вредностима CPP-а у дијапазону од 40-120 cmH₂O у експерименталним и контролним условима. Добијене вредности испитиваних маркера приказане су табеларно и графички.

У SHR+AP, променом нивоа CPP-а од 40-120 cmH₂O, изузетно значајне промене маркера оксидационог статуса забележене су код O_2^- . Вредности O_2^- биле су значајно више на притиску од 120 cmH₂O у експерименталним условима у односу на контролне ($p < 0,05$) унутар SHR+AP групе.

Додатно, вредности TBARS, H_2O_2 , и NO_2^- при променама нивоа CPP-а у распону од 40-120 cmH₂O нису проузроковале значајне промене у експерименталним и контролним условима унутар SHR+AP групе ($p > 0,05$) (Табела 16, График 19).

Табела 16. Нивои про-оксидационих параметара у коронарном венском ефлуенту унутар SHR+AP групе. Резултати су приказани као $X \pm SD$. Ниво значајности $*p < 0.05$; $**p < 0.01$.

CPP	TBARS ($\mu\text{mol/ml}$)		O_2^- (nmol/ml)	
	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент
40	9,32 \pm 0,91	9,32 \pm 0,91	21,27 \pm 1,99	21,27 \pm 1,99
60	10,08 \pm 1,38	10,22 \pm 1,52	21,73 \pm 2,69	25,49 \pm 1,90
80	13,27 \pm 1,51	14,05 \pm 1,39	33,72 \pm 4,02	33,39 \pm 3,78
100	14,61 \pm 1,06	14,86 \pm 1,51	38,88 \pm 4,11	43,92 \pm 3,95
120	16,02 \pm 1,25	17,64 \pm 1,80	36,67 \pm 3,12	61,63\pm6,68*
CPP	H_2O_2 (nmol/ml)		NO_2^- (nmol/ml)	
	Контрола	Експеримент	Контрола	Експеримент
40	22,08 \pm 2,62	22,08 \pm 2,62	85,52 \pm 8,49	85,52 \pm 8,49
60	26,79 \pm 2,88	27,61 \pm 3,25	97,18 \pm 9,26	101,17 \pm 9,78
80	32,59 \pm 3,93	34,51 \pm 3,36	110,62 \pm 10,54	122,15 \pm 11,95
100	42,27 \pm 4,92	39,52 \pm 4,02	152,07 \pm 16,15	143,66 \pm 14,86
120	45,11 \pm 4,97	46,19 \pm 4,22	151,52 \pm 15,39	164,60 \pm 17,55

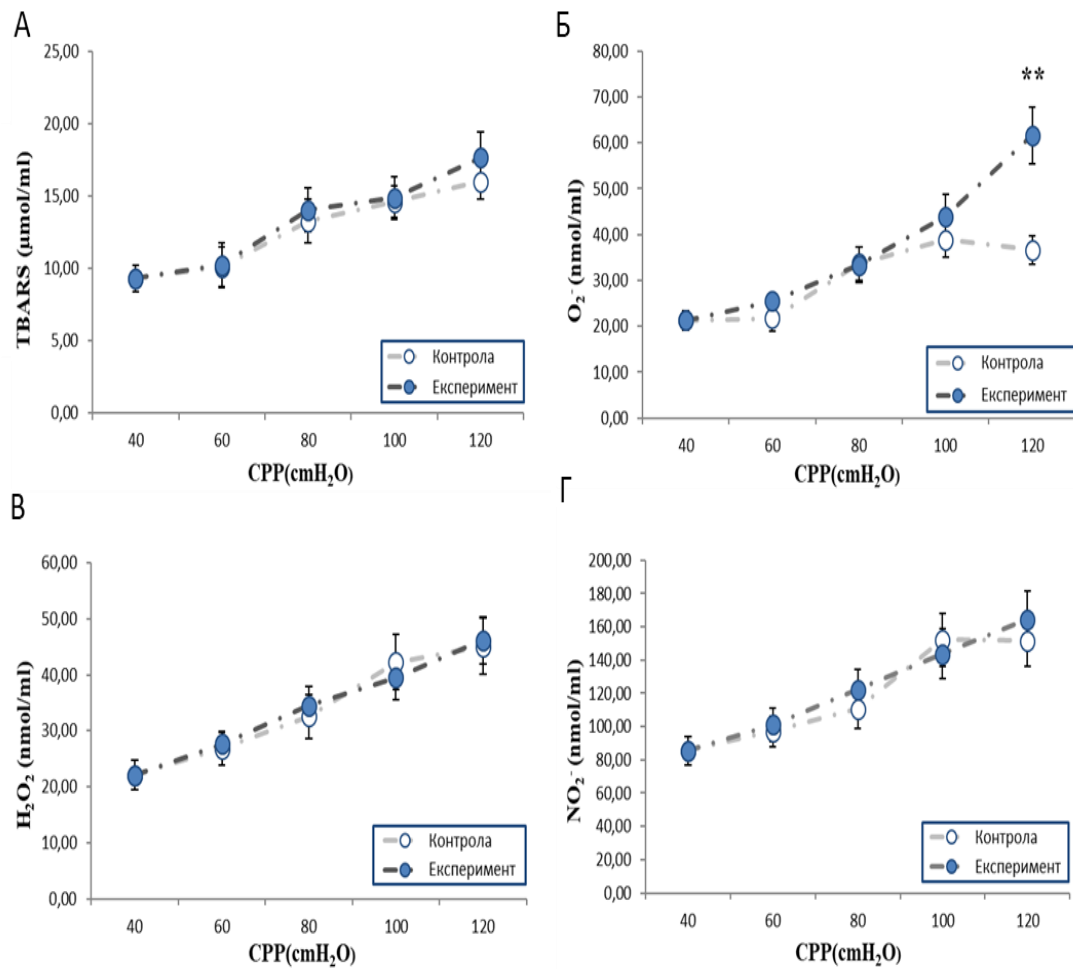


График 19. Про-оксидациони параметри у коронарном венском ефлуенту: **(А)** TBARS; **(Б)** O₂⁻; **(В)** H₂O₂ и **(Г)** NO₂⁻ при различитим вредностима CPP-а (40-120 cmH₂O) у експерименталном и контролном периоду унутар SHR+AP групе. Добијене вредности су представљене као X ± SD. Ниво значајности **p*<0.05; ***p*<0.01.

4. 7. 1. 5. Упоредна анализа свих маркера оксидационог статуса у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова између испитиваних група

Резултати свих маркера оксидационог статуса у коронарном венском ефлуенту између испитиваних група (С, АР, SHR и SHR+АР), су у облику средњих вредности и значајних разлика представљени графички (**График 20**).

Концентрација TBARS-а није се значајно разликовала између свих испитиваних група ($p > 0.05$) (**График 20 (А)**).

Концентрација SOD-а у била је значајно већа у групи SHR+АР групи у поређењу са С, АР и SHR групом на вредностима CPP-а од 80-120 cmH₂O ($p < 0.05$). Међутим, вредности наведеног маркера у поређењу између С и АР групе, као и С и SHR групе нису се значајно разликовале ($p > 0.05$) (**График 20 (Б)**).

Концентрације H₂O₂-а су се значајно разликовале између свих испитиваних група, при чему су концентрације наведеног маркера у SHR+АР групи биле значајно ниже у поређењу са АР групом на вредностима CPP-а од 60 и 80 cmH₂O ($p < 0.05$). Такође, вредности H₂O₂ су у SHR+АР групи биле значајно веће у поређењу са SHR групом на притиску од 80 cmH₂O ($p < 0.05$). Додатно, концентрације H₂O₂-а су значајно биле ниже у АР, SHR и SHR+АР групи у поређењу са контролном групом (С) ($p < 0.05$) (**График 20 (В)**).

Концентрација NO₂⁻ између испитиваних група није се значајно разликовала ($p > 0.05$), осим код SHR+АР и SHR групе у поређењу са С групом, где је концентрација наведеног маркера била значајно нижа на вредностима CPP-а од 80 cmH₂O ($p < 0.05$) **График 20 (Г)**.

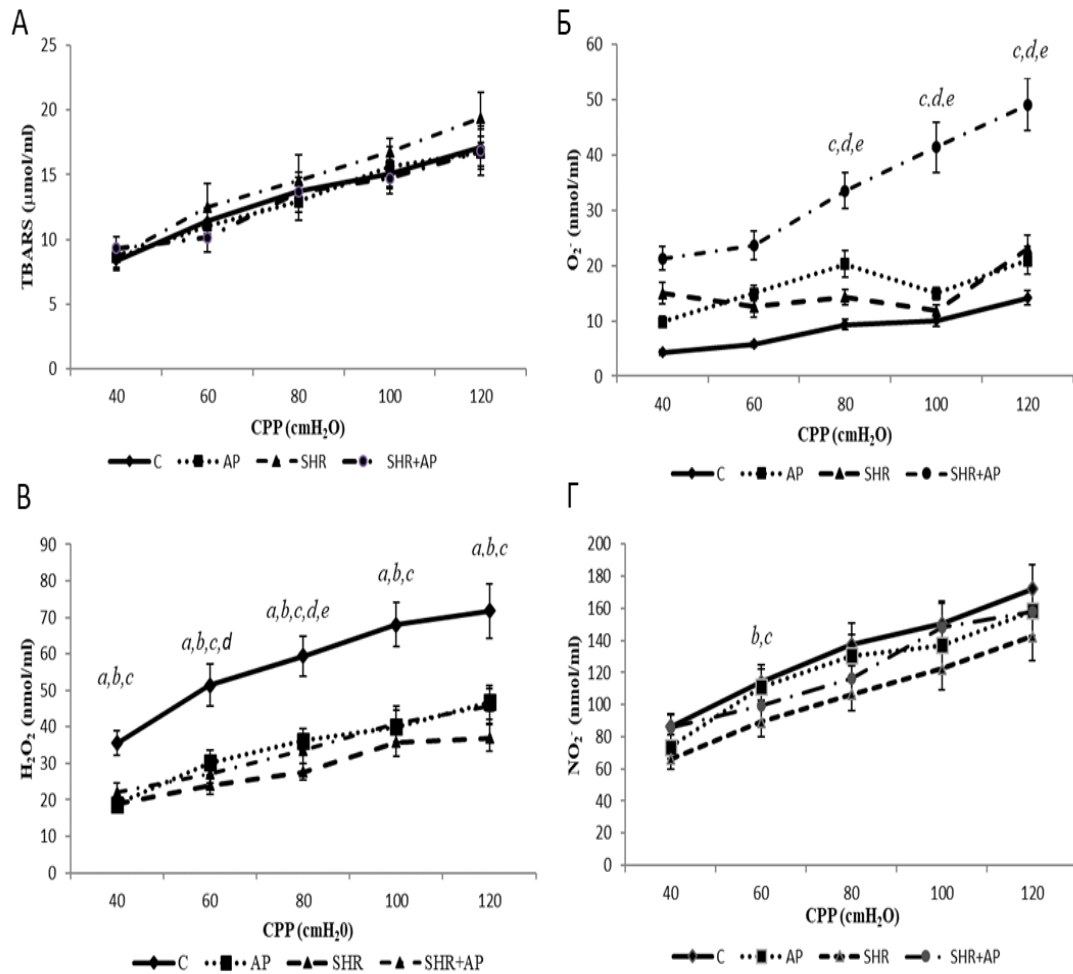


График 20. Упоредни приказ вредности маркера оксидационог стреса коронарног венског ефлуента између ипитиваних група (C, AP, SHR и SHR+AP) на различитим вредностима CPP-а (40-120 cmH₂O): (A) TBARS; (B) O₂⁻; (C) H₂O₂ и (D) NO₂⁻. Добијене вредности су представљене као X ± SD. Ниво значајности између група ($p < 0,05$): *a* AP vs. C; *b* SHR vs. C; *c* SHR+AP vs. C; *d* SHR+AP vs. AP; *e* SHR+AP vs. SHR.

4. 8. УТИЦАЈ ПЕРИАПИКАЛНИХ ЛЕЗИЈА НА МАРКЕРЕ ОКСИДАЦИОНОГ СТАТУСА У ХОМОГЕНАТУ СРЧАНОГ ТКИВА ПАЦОВА

Резултати маркера оксидационог статуса из хомогената срчаног ткива пацова су у облику средњих вредности и значајних разлика представљени графички (График 21).

У хомогенату срчаног ткива мерили смо активност и концентрацију следећих маркера оксидационог статуса: TBARS-а и ензима антиоксидационог система одбране SOD-а, GSH-а и CAT-а. Добијене вредности поредили смо између испитиваних група - C, AP, SHR и SHR+AP.

Нивои SOD-а су у хомогенату срчаног ткива пацова били значајно нижи у AP групи у поређењу са C групом ($p < 0,05$). Такође, вредност наведеног маркера била је значајно нижа у SHR+AP групи у поређењу са SHR групом ($p < 0,05$) (График 21 (А)).

Са друге стране, активност GSH, CAT, и TBARS-а није се значајно разликовала између испитиваних група у хомогенату срчаног ткива пацова ($p > 0,05$) (График 21 (Б, В, Г)).

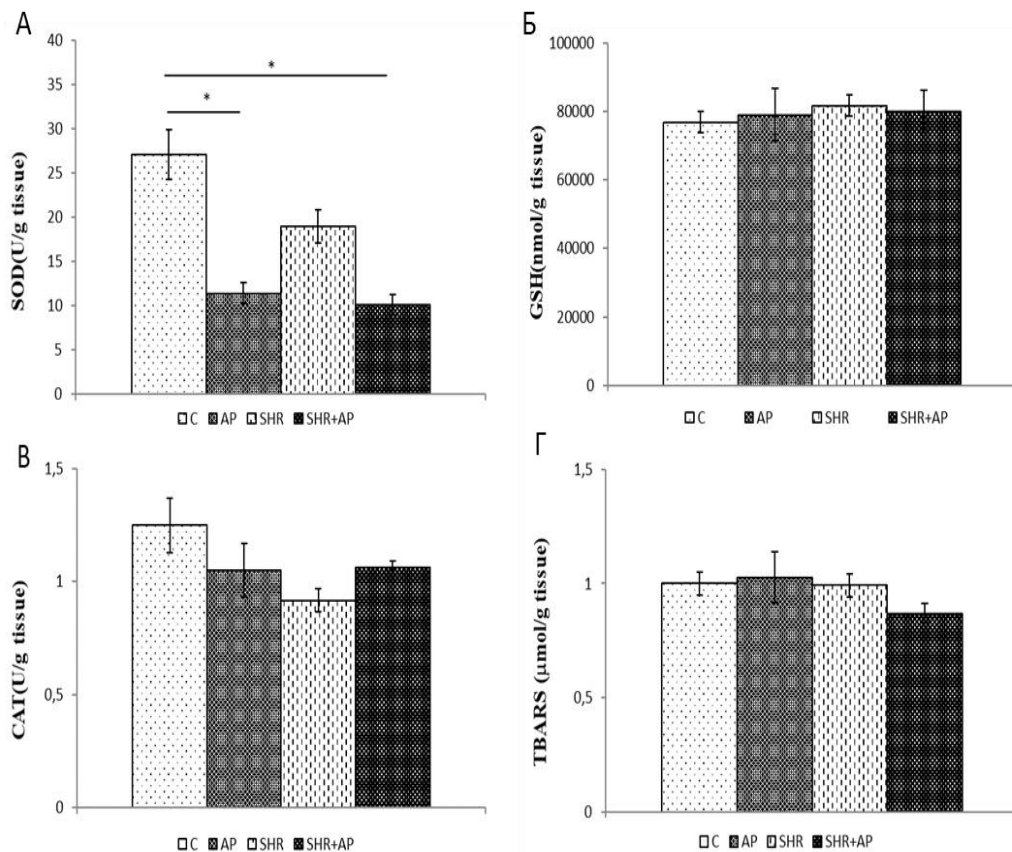


График 21. Упоредни приказ вредности маркера оксидационог статуса из хомогената срчаног ткива пацова између иптитиваних група (C, AP, SHR и SHR+AP): (А) SOD; (Б) GSH; (В) CAT и (Г) TBARS. Добијене вредности су представљене као $X \pm SD$. Ниво значајности између група * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

4. 9. УТИЦАЈ ПЕРИАПИКАЛНИХ ЛЕЗИЈА НА МАРКЕРЕ ОКСИДАЦИОНОГ СТАТУСА У КРВИ ПАЦОВА

Упоредна анализа свих маркера оксидационог статуса у крвној плазми између испитиваних група (С, АР, SHR и SHR+АР) су у облику средњих вредности и значајних разлика представљени графички (**График 23**).

Концентрација O_2^- у плазми показала је значајн скок у SHR+АР групи у поређењу са С, АР и SHR групом ($p < 0,01$). Такође, вредности наведеног маркера у крвној плазми у АР и SHR групи биле су изразито веће у поређењу са С групом ($p < 0,01$) (**График 22 (А)**).

Концентрација H_2O_2 у плазми показала је значајн скок у SHR+АР групи у поређењу са С и SHR групом ($p < 0,01$). Вредности H_2O_2 су у АР групи биле доминатно више у поређењу са С групом ($p < 0,01$), док се нису значајно разликовале између SHR+АР и АР групе ($p > 0,05$) (**График 22 (Б)**).

Концентрација NO_2^- у плазми била је веома значајно виша у SHR+АР групи у поређењу са АР групом ($p < 0,01$). Додатно, вредности наведеног маркера у крвној плазми у SHR+АР групи били су значајно већи у поређењу са С групом ($p < 0,05$) (**График 22 (В)**).

Концентрација TBARS-а у плазми била је изузетно значајно већа у SHR+АР групи у поређењу са С, АР и SHR групом ($p < 0,01$). Такође, вредности наведеног маркера биле су доминантно значајно више у АР групи у поређењу са С групом ($p < 0,01$), као и у SHR групи у поређењу са С групом ($p < 0,01$) (**График 22 (Г)**).

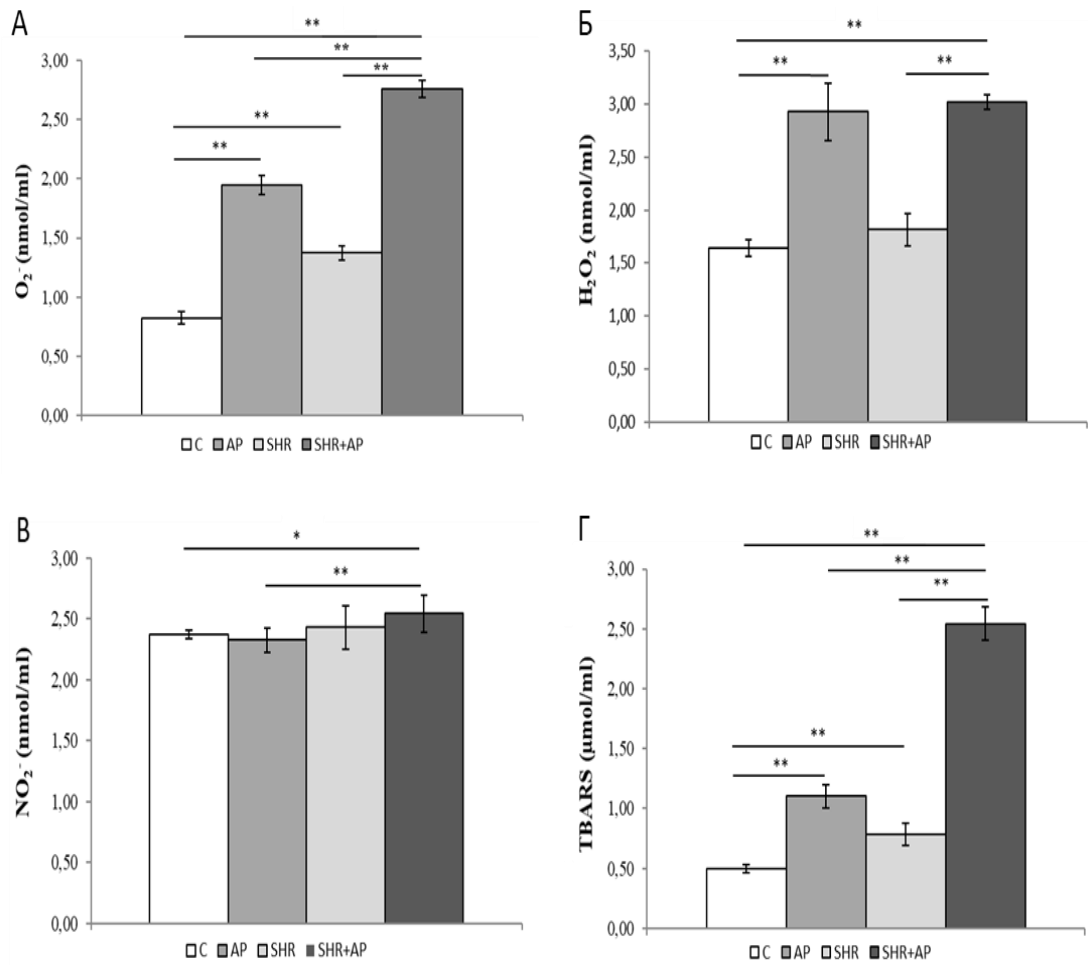


График 22. Упоредни приказ вредности маркера оксидационог стреса из крвне плазме између ипитиваних група (C, AP, SHR и SHR+AP): **(А)** O₂⁻; **(Б)** H₂O₂; **(В)** NO₂⁻ и **(Г)** TBARS. Добијене вредности су представљене као X ± SD. Ниво значајности између група **p* < 0,05; ***p* < 0,01.

4. 10. УТИЦАЈ ПЕРИАПИКАЛНИХ ЛЕЗИЈА НА ПАРАМЕТРЕ АНТИОКСИДАЦИОНОГ СИСТЕМА ЗАШТИТЕ У КРВИ ПАЦОВА (ЕРИТРОЦИТИ)

Упоредна анализа вредности антиоксиданаса у хемолизату између испитиваних група (С, АР, SHR и SHR+АР) је у облику средњих вредности и значајних разлика представљена графички (**График 23**).

Активност SOD-а била је значајно већа у С групи у поређењу са АР и SHR групом ($p < 0,05$), док је активност наведеног маркера била доминантно значајно виша у С групи у поређењу са SHR+АР групом ($p < 0,01$). Додатно, у хемолизату нивои SOD-а били су значајно виши у АР и SHR групи у поређењу са SHR+АР групом ($p < 0,05$) (**График 23 (А)**).

Активност GSH-а није се значајно разликовала у хемолизату између испитиваних група ($p > 0,05$) (**График 23 (Б)**).

Активност CAT-а показала је значајн скок у С групи у поређењу са АР, SHR и SHR+АР групом ($p < 0,01$). Са друге стране, активност наведеног маркера није се значајно разликовала између АР групе у поређењу са SHR и SHR+АР групе, као и SHR и SHR+АР групе ($p > 0,05$) (**График 23 (В)**).

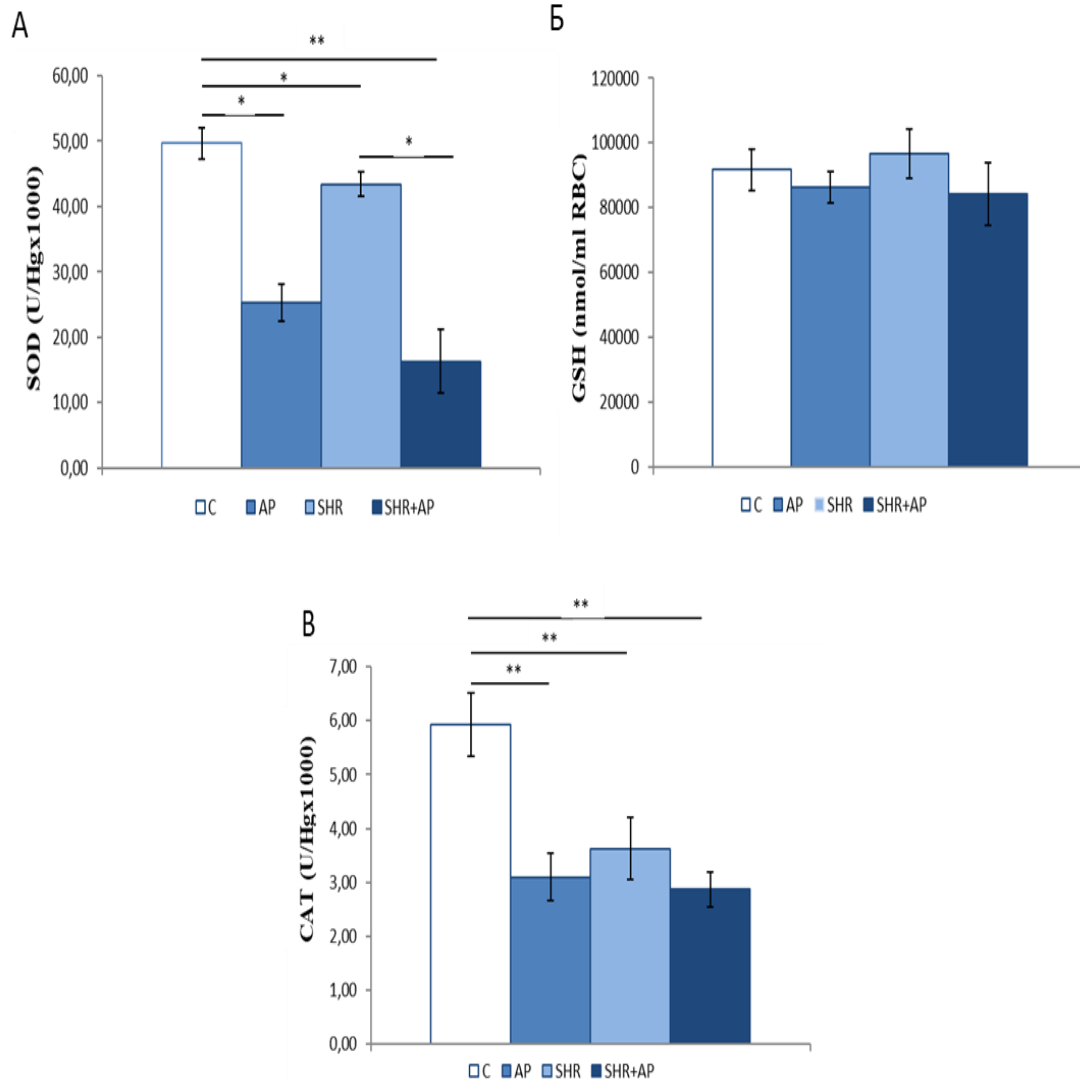


График 23. Упоредни приказ вредности антиоксиданаса између испитиваних група (C, AP, SHR и SHR+AP): **(А)** SOD; **(Б)** GSH и **(В)** CAT. Добијене вредности су представљене као $X \pm SD$. Ниво значајности између група * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

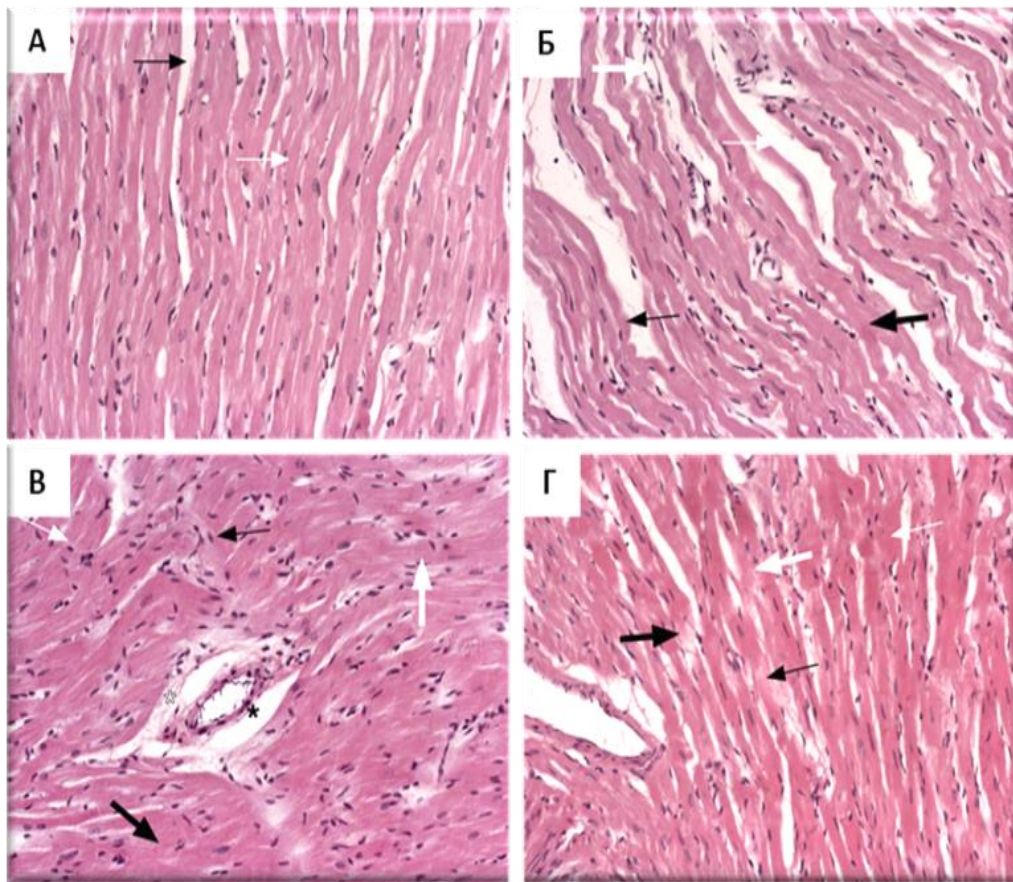
4. 11. ПАТОХИСТОЛОШКЕ ПРОМЕНЕ МИОКАРДА

На уздужним пресецима миокарда, у све четири експерименталне групе уочене су хистопатолошке промене које варирају од хиперемije и едема до израженијих дегенеративних промена и некрозе мишићних ћелија.

Код нормотензивних пацова мишићна влакна су углавном била у регуларном распореду, хиперемija и едем су били израженији у наведеној групи са периапикалном лезијом, где доминирају дегенеративне промене, док се некроза се уочавала у већем броју кардиомиоцита у односу на контролну групу, где је била дискретна и уницелуларна (**Слика 13 (А, Б)**).

У миокарду спонтанохипертензивних пацова мишићна влакна била су хипертрофична, делом у ирегуларном распореду, крвни судови су били задебљалог зида са лаком или упадљивијом периваскуларном фиброзом. Интерстицијум је био проширен и местимично хиперцелуларан, са повећањем броја мононуклеара и везивних ћелија. Степен некрозе и дегенерације мишићних ћелија код спонтанохипертензивних пацова био је сличан променама у групи нормотензивних пацова са присуством периапикалних лезија (**Слика (13 В)**).

Најизраженије промене биле су заступљене код спонтанохипертензивних пацова са присуством периапикалних лезија, укључујући зоналне некрозе већег броја мишићних ћелија, са фрагментацијом влакана, губитком једара и хиперезинофилијом цитоплазме (**Слика (13 Г)**).



Слика 13. Хистопатолошке промене у миокарду пацова (увећање, x 200): **(А)** С група - регуларни распоред срчаних мишићних влакана (*танка бела стрелица*) и интерстицијских подручја (*танка црна стрелица*); **(Б)** AP група - хиперемија (*дебела бела стрелица*), едем (*танка бела стрелица*) и дегенеративне промене на срчаним мишићним влакнима (*танка црна стрелица*), дискретна и једноћелијска некроза (*дебела црна стрелица*) већег броја кардиомиоцита; **(В)** SHR група - хипертрофија и неправилан распоред влакана срчаног мишића (*танка црна стрелица*), задебљали зид (*црна**) са упадљивом периваскуларном фиброзом крвних судова (*бела**), проширени интерстицијум са повећањем броја мононуклеара (*танак бела стрелица*) и везивних ћелија (*дебела бела стрелица*), некроза (*дебела црна стрелица*) и дегенерација кардиомиоцита; **(Г)** SHR+AP група - зонала некроза (*дебела црна стрелица*) већи број ћелија срчаног мишића са фрагментацијом влакана (*дебела бела стрелица*), губитак језгра (*танка црна стрелица*) и цитоплазматска хипереозинофилија (*танка бела стрелица*).

V

ДИСКУСИЈА

„Смех је важан, не само због тога што нас чини срећним, већ због тога што доприноси бољем здрављу. Разлог је то што искрен смех у потпуности ангажује целокупно тело и опушта ум. Повезује нас с другима, а то већ само по себи има исцељујући ефекат.“

Mario Tomas

Последњих година се све већи значај придаје испитивању повезаности периапикалних лезија и одређених системских обољења, као што су кардиоваскуларна обољења, дијабетес мелитус, остеопороза и болести јетре (191). Хипертензија, као мултифакторска болест поседује јак епидемиолошки учинак и подразумева хроничу кардиоваскуларну болест која заслужује посебну пажњу како научне тако и здравствене заједнице (207). Данас, повишен крвни притисак означава један од доминантних узрока преране смртности у земљама света високе развијености (208).

Периапикалне лезије као облик хроничног инфламаторног обољења апексног пародонцијума, обезбеђују продирање микроорганизама у пулпну комору, узроковајући формирање ћелијског запаљенског инфилтрата различитог интензитета уз ресорпцију алвеоларног коштаног ткива и цемента око апекса корена авиталних зуба (1). Према досадашњим епидемиолошким истраживањима, наведено обољење представља једно од најчешћих патолошких обољења усне дупље са преваленцом од 61% у земљама Европе (182). Многобројна истраживања показала су да запаљенска реакција у знатној мери може омогућити развој артеријске хипертензије, тиме што је повезана са значајном пропустљивошћу крвних судова и отпуштању веома значајних медијатора као што су цитокини, ROS, азот-моноксид и металопротеиназа (179). Сходно наведеном, са једне стране досадашње студије су показале да периапикалне лезије могу бити укључене у развој хипертензије, јер настају као резултат акумулације најчешће анаеробних грам негативних бактерија које иницирају инфламацију периапикалног ткива, улазећи у системску циркулацију (1, 183), док са друге стране поједине студије нису показале позитивну корелацију између наведених обољења (180).

Када је реч о оксидационом стресу, показано је да прекомерна производња ROS-а проузрокује неселективно оштећење ћелија, молекула ДНК, липида ћелијске мембране доводећи до локалног стварања и прогресије апикалног пародонтитиса у виду активирања проинфламаторних цитокина и ресорпције алвеоларног коштаног ткива (169, 209). Насупрот наведеном, апикални пародонтитис као хронично запаљенско обољење и сам доводи до стварања слободних радикала који у облику реактивних облика кисеоника прелазе у крвоток доводећи до хемијског процеса оксидације молекула крви и настанка системског оксидационог стреса што временом може оштетити удаљена ткива и органе и довести до појаве системских обољења (169).

У том смислу, иако је назначена корелација између апикалног пародонтитиса, оксидационог стреса и хипертензије, веома је било битно да се таква корелација научно ојача. Сходно наведеном, главни циљ наше студије био је да се испита и упореди постојаност повезаности између оксидационог стреса, срчане функције и хроничних периапикалних лезија код спонтанохипертензивних и нормотензивних пацова. Према доступним литературним подацима ово истраживање је представљало једну од првих *in vivo* и *ex vivo* студија која је испитивало и анализирано могућу повезаност између апикалног пародонтитиса и његовог утицаја на срчану функцију и редокс статус код спонтанохипертензивних пацова.

У нашој студији повезаност хроничних периапикалних лезија, оксидационог стреса и хипертензије испитивана је уз помоћ мултидисциплинарног приступа, и то почев од радиолошких, патохистолошких, хистоморфометријских, биохемијских

анализа, као и анализа проинфламаторних цитокина периапикалног региона, све до *ex vivo* анализа на изолованом миокарду спонтанохипертензивних и нормотензивних пацова. Како би се конципирала слика о наведеној повезаности испитиване су вредности артеријског крвног притиска и фреквенце срца, на бази чега је у *in vivo* условима праћена динамика миокарда. Додатно, у *ex vivo* условима праћена је функционална динамика леве коморе коришћењем *Langendorff* апарата. Поред наведених анализа, мерени су и одређивани маркери оксидационог статуса системски у еритроцитима и плазми, као и у ефлуенту и хомогенату изолованог миокарда пацова. Такође, анализирано је срчано ткиво спонтанохипертензивних и нормотензивних пацова са и без периапикалних лезија патохистолошким методом и упоређивано између испитиваних група. Битно је напоменути да смо експериментални модел хроничних периапикалних лезија индуковали методологијом која је базирана на вишеструко верификованим научним подацима, прецизно обајшњених у секцији дисертације „Материјал и методе“.

Зарад прикладније евиденције, секција дисертације „Дискусија“ груписана је у четири основна дела. Први део дискусије односи се на радиолошку, патохистолошку и хистоморфометријску анализу периапикалног региона, док наредни део на анализу добијених вредности проинфламаторних цитокина наведеног региона код спонтанохипертензивних и нормотензивних пацова. Додатно, трећи сегмент базирао се на утицају периапикалних лезија на контрактилност миокарда и коронарни проток, док четврти на утицај апикалног пародонтитиса на динамику срчаног и системског редокс статуса код спонтанохипертензивних и нормотензивних животиња. Процена добијених вредности резултата нашег истарживања као и поређење са досадашњим испитивањима су прецизно приказани и образложени у наставку дисертације.

5. 1. АНАЛИЗА ПЕРИАПИКАЛНОГ РЕГИОНА РАДИОГРАФСКИМ, ПАТОХИСТОЛОШКИМ И ХИСТОМОРФОМЕТРИЈСКИМ МЕТОДАМА

5. 1. 1. Радиографска анализа добијених вредности периапикалног региона

Радиографска дијагностика периапикалног региона мезијалних канала коренова првих молара доње вилице десне и леве хемимандибуле спонтанохипертензивних и нормотензивних пацова, вршена је уз помоћ интраоралног рендген апарат и дигиталног сензора. Након дијагностиковања присуства периапикалних лезија у AP и SHR+AP групи, спроведена је анализа радиографских снимака коришћењем *ImageJ* програма, уз помоћ којег су означене границе радиографских лезија, израчуната њихова укупна површина и добијене вредности упоређене између испитиваних група (195).

Добијени резултати радиографске анализе нашег истраживања, показали су да је величина апикалног пародонтитиса била доминантно већа у SHR+AP групи у поређењу са AP групом, при чему су вредности пиксела периапикалног региона биле знатно ниже у групама у којима су периапикалне лезије биле индуковане (SHR+AP и AP) у поређењу са њиховим контролним групама (SHR и C). Додатно, вредности пиксела апикалног пародонтитиса биле су доминантно ниже у SHR+AP групи у поређењу са AP групом (Слика 6).

Једина експериментална студија која се бавила испитивањем и поређењем величине лезија у нормотензивним и хипертензивним условима била је студија *Martins и сарадника* (180), показавши да се величина периапикалних лезија није значајно разликовала између испитиваних група тј. да је величина лезија била на сличан начин независна од системског стања. Међутим, аутори студије навели су да је неопходно одрадити додатна претклиничка испитивања на исту тему, из разлога што је временски оквир за индукцију апикалног пародонтитиса коришћен у студији износио 21. дан, док у нашем истраживању као и у многим другим студијама, временски оквира је износио 30. дана (175, 210). Наведена разлика у временском протоколу могла би представљати један од разлога не подударности резултата у величини периапикалних лезија између испитиваних група.

Такође, треба узети у обзир да радиографска анализа коришћена у нашој студији, представља процену тродимензионалних ткива коришћењем дводимензионалне дигиталне радиографије. Ова врста радиографије поседује лошију резолуцију у односу на компјутеризовану томографију са конусним снопом или микро-компјутерску томографију, које омогућавају знатно већу тачност за дијагностиковање и мерење запремине периапикалних лезија (196). Стога, дводимензионална дигитална радиографија мора увек бити подржана од стране патохистолошке и хистоморфометријске анализе периапикалног региона као једних од најпрецизнијих и најпоузданијих дијагностичких метода, што је представљено и објашњено у наредном делу наше дисертацији.

5. 1. 2. Хистоморфометријска и патохистолошка процена периапикалног региона

Хистолошки перепарати периапикалних лезија анализирани су хистоморфометријском и патохистолошком проценом између испитиваних група. Хистоморфометријском методом анализирани су следећи параметри, као што су дебљина периапикалног периодонталног лигамента, ресорпција алвеоларног коштаног ткива и апикалног цемента, интезитет и екстензивност инфилтрата периапикалног региона (64) коришћењем светлосног микроскопа и одговарајућег програма при одређеним увећањима, као и адекватни систем бодовања уочених промена периапикалног региона. Добијени резултати хистоморфометријске анализе били су потврђени патохистолошком анализом.

Хистоморфометријском и патохистолошком проценом добијених резултата наше студије, показано је да је дебљина периапикалног периодонталног лигамента била значајно већа у SHR+AP групи у поређењу са SHR, AP и С групом, као и у AP групи у поређењу са С групом (График 1, Слика 7). Како до сада нису постојала истраживања која су испитивала дебљину периодонталног лигамента у хипертензивним условима, као ни у условима других системских болести са којима бисмо упоредили наше резултате, морамо сачекати будућа како претклиничка тако и клиничка испитивања која ће се бавити овом врстом проблематике.

Када је реч о ресорпцији алвеоларног коштаног ткива и апикалног цемента хистоморфометријском и патохистолошком проценом добили смо да је ресорпција наведених ткива била значајно повећана у SHR+AP групи у поређењу са AP групом, док је значајни скок у ресорпцији био уочен у SHR+AP и AP групи у поређењу са њиховим контролним групама (График 2 и 3; Слика 8 и 9). Због недостајућих података на ову тему, резултати наше студије могли су се једно поредити са студијом *Conti* и сарадници, која се бавила испитивањем повезаности апикалног пародонтитиса и атеросклерозе, показавши значајно већу ресорпцију алвеоларне кости и апикалног цемента у групи животиња која су поседовала периапикалне лезије и атеросклерозу у поређењу са групом која је имала периапикалне лезије, али без присуства атеросклерозе (211). Сходно наведеном, резултати хистоморфометријске анализа дате студије била је у скаду са нашим истраживањем.

Постигнути резултати наше студије, могу се тумачити у складу са чињеницом да ангиотензин II може представљати корелацију између хипертензије и хроничних периапикалних лезија. Према литературним подацима познато је да је хипертензија посредована ангиотензином II, молекулом који индукује експресију RANKL-а доводећи до активирања остеокласта, који су одговорни за ресорпцију алвеоларног коштаног ткива (180, 186). Ангиотензин II поседује могућност индукције експресије RANKL-а преко рецепторских активатора нуклеарног фактора капа- β лиганда (NF- κ B) у остеобластима, доводећи до активације остеокласта и последичне ресорпције алвеоларног коштаног ткива (180, 186).

Међутим, када је у питању број диферентованих остеокласта алвеоларног коштаног ткива периапикалног региона, резултати нашег истраживања показали су непостојање значајности у њиховом броју између SHR+AP и AP групе, али зато постојање доминантне значајности између SHR+AP и AP групе у поређењу са њиховим контролним групама (График 7). Резултати наше студије нису били у сагласности са резултатима експерименталног истраживања *Martins* и сарадника (180) који су доказали да је број диферентованих остеокласта био значајно већи, тј. скоро двоструко већи у групи хипертензивних пацова у поређењу са нормотензивним сојем. Разлика у резултатима се може образложити чињеницом у неслагању временског интервала неопходног за индукцију апикалног пародонтитиса. Аутори претходне

студије користили су временски оквир од 21. дан, док у нашој као и у многим другим студијама, временски оквир за индукцију износио је 30. дана (175, 210), у којем сматрамо да су већ започети процеси репарације алвеоларне кости, следствено доводећи до смањења броја остеокласта периапикалног региона и последично непостојања њихове значајне разлике између хипертензивних и нормотензивних животиња. Поред наведене студије, према литературним подацима није постојало више експерименталних и клиничких студија које су се бавиле наведеном врстом проблематике, што би представљао задатак за будућа претклиничка и клиничка истраживања.

Резултати пређашњих истраживања доказали су да најзаступљеније ћелије запаљенског инфилтрата хроничног апикалног пародонтитиса представљају макрофаги, неутрофилни гранулоцити, лимфоцити и плазмоцити, док су мастоцити, дендритске ћелије и еозинофилни гранулоцити заступљени у знатно нижем проценту (38). Као што је већ познато и наведено у претходном делу дисертације, неутрофилни гранулоцити означавају „прву линију одбране“ од бактеријске инфекције канала корена зуба. Поред наведене протективне улоге, неутрофили обезбеђују и значајну улогу у прогресији апикалног пародонтитиса продукцијом различитих облика медијатора (простагландина и леукотријена) привлачећи на тај начин још више нових неутрофила и макрофага на место инфламације, доводећи до активације остеокласта и започињања процеса ресорпције алвеоларног коштаног ткива око апекса корена зуба (40, 41). Између осталог, активирани неутрофили продукују групу проинфламаторних цитокина који појачавају ресорпцију алвеоларног коштаног ткива и хемокине који поседују битну функцију у процесу акутне егзацербације апикалног пародонтитиса (37). Продужено и непрекидно деловање бактерија и њихових продуката доводе до тога да се присутна иницијална периапикална лезија постепено развија и доводи до формирања хроничне периапикалне лезије, где ће тада у запаљенском инфилтрату уместо неутрофила доминантну улогу преузети моноклеарне ћелије (макрофаги), лимфоцити и плазмоцити (37, 38).

У оквиру ове докторске дисертације, када је реч о ћелијама запаљенског инфилтрата апикалног пародонтитиса, испитивали смо њихову квантификацију по јединици површине, као и интезитет и екстензивност запаљенског инфилтрата. Добијени резултати нашег истраживања показали су јак интезитет инфламације у SHR+AP групи у поређењу са AP групом (где је био присутан умерен интезитет инфламације). Додатно, значајан скок у интезитету запаљенског инфилтрата периапикалног региона био је запажен у SHR+AP и AP групи у поређењу са њиховим контролним групама у којима је био одсутан (График 4, Слика 10). Методом бројења запаљенских ћелија по јединици површине, показан је значајно виши број макрофага и лимфоцита код спонтанохипертензивних пацова са присуством периапикалних лезја у поређењу са нормотензивним животињама са присуством периапикалних лезија. Додатно, у SHR+AP и AP групи патохистолошком и хистоморфометријском анализом датог региона уочени су многобројни макрофаги, лимфоцити и неутрофили са постепеним ширењем процеса у околно ткиво. Такође, треба напоменути да је број неутрофилних гранулоцита код спонтанохипертензивних пацова био већи у поређењу са нормотензивним пацовима, али без статистичке значајности (График 5 и 6, Слика 11 и 12).

Добијене резултате можемо тумачити у складу са следећим познатим и доказаним чињеницама, које подразумевају да периапикалне лезије могу бити укључене у развој хипертензије као резултат акумулације најчешће патогених грам негативних анаеробних бактерија које поседују улогу у иницирању запаљенског процеса периапикалног ткива улазећи у системску циркулацију (1, 183). Интеракцијом

између липополисахарида који представља саставни део целуларног зида грам-негативних бактерија и TLR4 рецептора који игра фундаменталну улогу у препознавању патогена на неутрофилима и макрофагима, започиње се дугачка каскада урођеног имунитета. Другим речима, активацијом TLR рецептора стимулирана је интраћелијска сигнална каскада доводећи до миграције леукоцита, генезе остеокласта и секреције проинфламаторних цитокина (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α) који се из периапикалних лезија могу отпустити у системску циркулацију доприносећи настајању или даљој прогресији хипертензије (182). Навдени запаљенски фактори су ризични у процесима вазоконстрикцији и вазодилатацији, као и ендотелној дисфункцији, доводећи до увећања вредности крвног притиска и периферног отпора (1).

Резултати хистоморфометријске анализе у складу су са претходно публикованом студијом *Conti* и сарадници, који су показали да је код пацова са присуством атеросклерозе и периапикалних лезија интезитет инфламаторног инфилтрата био значајно израженији у поређењу са животињама које су поседовале периапикалне лезије, али не и атеросклерозу (211). Такође, *Brilhante Wolle* и сарадници су у својој студији која се бавила ефектом антиоксидационог агенса Темпол-а на периапикалне лезије код пацова са кардиомиопатијом изазваном доксорубицином, показали да је интезитет запаљенског инфилтрата датих лезија био значајно доминантнији код животиња са кардиомиопатијом и периапикалним лезијама у поређењу са животињама које су поседовале апикални пародонтитис без присуства кардиомиопатије (212). Резултати наведених судија доста су у складу са резултатима нашег испитивања. Међутим, пошто је заступљен изузетно мали број студија сличан нашем испитивању, хистоморфометријске резултате наше студије поредили смо и са студијама сличног дизајна, а разлика је подразумевала присуство другог системског обољења. Па тако, *Prieto* и сарадници (175) су у свом истраживању које се бавило испитивањем повезаности оксидационог стреса и периапикалних лезија код дијабетичних пацова, хистоморфометријском анализом показали да је интезитет и екстензивност апикалног инфилтрата био доминантан у групи животиња са дијабетесом и периапикалним лезијама у поређењу са животињама које су поседовале апикални пародонтитис али не и дијабетес. Наведени резултати поклапају се са резултатима наше студије, ако изузмемо да је наше системско обољење била хипертензија.

Сумарно посматрано добијени резултати наше дисертације указали су да је са радиолошког аспекта хипертензија била повезана са значајним увећањем димензије периапикалног подручја. Сагледавајући са патохистолошког и хистоморфометријског аспекта, хипертензија је била у корелацији са значајним увећањем периодонталног лигамента, ресорпције алвеоларног коштаног ткива и апикалног цемента, интезитета и екстензивности запаљенског инфилтрата периапикалног региона. Међутим, хипертензије није била у позитивној корелацији са бројем диферентованих остеокласта алвеоларне кости.

5. 2. ПРОЦЕНА ДОБИЈЕНИХ РЕЗУЛТАТА ПРОИНФЛАМАТОРНИХ ЦИТОКИНА АПИКАЛНОГ ПАРОДОНТИТИСА

Бројна испитивања која су се бавила патогенезом апикалног пародонтитиса хуманог и експерименталног узорка, показала су да кључне посреднике Th1 имунолошког система представљају IL-1, IL-6, IL-17, IFN- γ и TNF- α , поседувајући функцију у подстицању инфламације и ресорпције алвеоларне кости периапикалног региона, тј. доприносе прогресији као и настанку хроничног апикалног пародонтитиса (37, 99, 209). Насупрот посредника Th1 имунолошког одговора, Th2 систем, које представљају IL-13, IL-5, IL-4 поседују репараторну улогу периапикалног ткива (37, 213, 214). Додатно, проинфламаторни цитокини доприносе ресорпцији коштаног ткива алвеоларне кости поступком стимулације продукције молекула RANKL у периапикалном региону, при чему се тако продукован молекул даље везује за своје ћелијске рецепторе RANK, проузроковајући диференцијацију преостеокласта у остеоцласне ћелије и последично доводећи до ресорпције коштаног ткива периапикалног региона (37).

Резултати наше студије показали су да су вредности IL-1 α и IL-1 β били значајно већи у SHR+AP групи у поређењу са AP групом, при чему је постојао доминантно виши скок вредности IL-1 β у SHR+AP групи у поређењу са AP групом. Такође, нивои наведених интерлеукина били су значајно већи у SHR+AP и AP групи у поређењу са њиховим контролним групама (С и SHR група) (График 8).

Као што је већ наведено у дисертацији, IL-1 α у погледу патогенезе периапикалних лезија, поседује значајан одговор на микробну инфекцију пулпе тиме што стимулише мноштво учинака на остеоцласте и остеобласте који поседују битну улогу у процесу ресорпције алвеоларног коштаног ткива (71, 72). Када је реч о IL-1 β , он поседује кључни улогу у патогенези апикалног пародонтитиса и парадонтопатије (76-79). Такође, доказано је да је IL-1 β најмоћнији стимулус ресорпције алвеоларног коштаног ткива (76), као и да је много ефикаснији у подстицању ресорпције кости у поређењу са IL-1 α , што се поклапа са резултатима наше студије (80).

Врло битна чињеница је да IL-1 α и IL-1 β продукују макрофаги (процентуално најчешће), неутрофилни гранулоцити, фибробласти, епителне ћелије, лимфоцити, ћелије глатких мишића, ендотелне ћелије и кератиноцити (70). Сходно наведеном, хистоморфометријском анализом у нашем истраживању потврдили смо да је био заступљен значајно већи број макрофага у SHR+AP групи у поређењу са AP групом, а што је у корелацији са добијеним вредностима као и разликама у концентрацијама IL-1 α и IL-1 β између SHR+AP и AP групе.

На основу досадашњих студија које су се бавиле испитивањем вредности IL-1 на терену хипертеније, постоји само једна експериментална студија *Martins* и сарадника (180) која је показала да се вредности IL-1 α и IL-1 β нису значајно разликовале између хипертензивних и нормотензивних животиња, при чему дати резултати нису у корелацији са нашим резултатима. Међутим, аутори дате студије навели су да је неопходно одрадити додатна претклиничка испитивања на исту тему, из разлога што су они за временски оквир неопходан за индукцију апикалног пародонтитиса користили 21. дан, док у нашој студији као и у многим другим студијама, временски оквира за индукцију износио је 30. дана (175, 210). Такође, старост животиња није се поклапала са старости животиња наше студије, где би то представљало још један додатни разлог неслагања између добијених резултата, као и подстицај за даља како претклиничка тако и клиничка истраживања на дату тему.

Међутим, истраживања која су се бавила сличном тематиком нашег истраживања показала су заступљен повишен ниво IL-1 у плазми, као и присуство

корелације периапикалних лезија и ризика од кардиоваскуларних болести, што је у сагласности са резултатима нашег истраживања (215, 216). *Cotti* и сарадници су у својој клиничкој студији испитивали потенцијалну повезаност ендодонтске инфекције са детекцијом почетне лезије кардиоваскуларног система, код особа мушког пола, старости између 20 и 40 година. Добијени резултати дате студије показали су да су пацијенти са присуством периапикалних лезија поседовали значајно повишене вредности IL-1 у крви, као и вредности IL-2, IL-6, асиметричног диметиларгинина који могу указивати на постојање ране ендотелне дисфункције код младих одраслих особа које поседују апикални пародонтитис (215). Такође, *Bergandi* и сарадници (216) су у свом клиничком истраживању испитивали васкуларне и молекуларне маркере ране ендотелне дисфункције пре и после лечења канала корена код младих одраслих особа са присуством хроничних периапикалних лезија, показавши повезаност апикалних лезија са повећаним серумским нивоима IL-1, као маркером ране васкуларне ендотелне дисфункције.

Када је реч о TNF- α добијени резултати нашег истраживања показали су да су вредности датог проинфламаторног цитокина показала значајан скок у SHR+AP групи у поређењу са AP групом. Такође, нивои наведеног интерлеукина били су доминантно већи у SHR+AP и AP групи у поређењу са њиховим контролним групама (C и SHR група) (График 9А).

Као што смо већ претходно навели у дисертацији, улога TNF α у патогенези апикалног пародонтитиса, огледа се у појачавању активности неутрофилних гранулоцита, стимулацијом секреције MMP-а и развоја остеокласта, корелирајући на тај начин са ресорпцијом алвеоларног коштаног ткива (97). Такође, ћелије које учествују у продукцији TNF α су макрофаги (најчешће), фибробласти, лимфоцити, мастоцити и ендотелне ћелије (90). Сходно наведеном као и код IL-1 α и IL-1 β , хистоморфометријском анализом у нашем истраживању потврдили смо да је био заступљен значајно већи број макрофага у SHR+AP групи у поређењу са AP групом, а што је у корелацији са значајним разликама као и добијеним вредностима TNF α између SHR+AP и AP групе.

Према досадашњим истраживањима, студија *Martins* и сарадника (180) је била једина експериментална студија која се бавила испитивањем концентрације TNF α у нормотензивним и хипертензивним условима, показавши да је концентрација датог цитокина била слична за оба системска стања. Такође, *Bergandi* и сарадници (216), као што је већ наведено у претходном делу текста, у својој клиничкој студији испитивали су васкуларне и молекуларне маркере ране ендотелне дисфункције пацијената са присуством апикалног пародонтитиса. Резултати дате студије показали су да се концентрација TNF α није разликовала између пацијената који су поседовали апикални пародонтитис и контролне групе. Претходно наведе студије нису биле у корелацији са нашим истраживањем. Међутим, аутори обе претходне студије су скренули пажњу на ограничења њихових студија у виду недовољног времена индукције апикалног пародонтитиса, потенцијално неадекватне старости и броја животиња (180) као и недовољне величине узорка пацијената (216). Сходно наведеном, дати разлози могу представљати један од разлога не корелације између резултата, али као и подстицај за даља како претклиничка тако и клиничка истраживања.

Међутим, постоје студије које су показале повишене концентрације TNF α између нормотензивних животиња са присуством периапикалних лезија и њихових контролних група, тако да су резултати наше студија са те старне у складу са претходно публикованим истраживањима (1, 99). *Sasaki* и сарадници (1) су у својој студији показали да су проинфламаторни цитокини IL-1 α и TNF α критични у ендотелној дисфункцији, вазоконстрикцији и вазодилатацији, где на тај начин учествују у

повећавању периферног отпора и крвног притиска, при чему је наведена чињеница у корелацији са резултатима нашег истраживања.

Као што је већ наведено у уводном делу дисертације IL-6 представља високо плејотропни интерлеукин који улази у састав проинфламаторних цитокина, међутим може показати и антиинфламаторно својство (87). Резултати наше студије показали су да је концентрација IL-6 поседовала значајне разлике у вредности између испитиваних група као и TNF α , осим поређења између SHR+AP и AP групе, где је показан изузетно значајан скок концентрације IL-6 у SHR+AP групи у поређењу са AP групом (График 9Б).

На основу литературних података не постоји експериментална судија која се бавила испитивањем и поређењем концентрације IL-6 периапикалних лезија у хипертензивним и нормотензивним условима. Међутим, постоје клиничке студије које су испитивале вредност наведеног цитокина код хипертензивних пацијената у присуству хроничних апикалних пародонтитиса (181, 217). Па тако, *Vidal* и сарадници су у свом клиничком истраживању показали да је присуство хроничних апикалних пародонтитиса било повезано са вишим нивоима IL-6 у популацији са тешким обликом хипертензије (217). Такође, *Rashmi* и сарадници су у својој клиничкој студији указали да је системски ниво IL-6 био повишен под утицајем присуства хроничног апикалног пародонтитиса код хипертензивних пацијената, указујући да апикални пародонтитис игра модификациону улогу у промени системских нивоа инфламаторних маркера тела, као што је IL-6 (181). Сходно наведеном, резултати клиничких студија су били у корелацији са резултатима наше студије.

Према нашим сазнањима, познато је да високе концентрације IL-1 β у нормотензивним условима периапикалних лезија могу подстакнути додатно продуковање IL-6, док такође IL-6 поседује директан подстицај на повишену секрецију IL-1 β у коштаном ћелијама (218), а TNF α позитивно корелира са концентрацијама претходно наведених цитокина. Узајамна повезаност између IL-1 β , IL-6 и TNF α показана је и у нашој студији како у нормотензивним тако и у хипертензивним условима, са посебним акцентом на хипертензивне услове. Наведена корелација између цитокина у нормотензивним условима показна је и у студији *Gazivoda* и сарадници (66), *Martinho* и сарадници (219), као и у *Teixeira* и сарадници (220) показавши да увећање једног интерлеукина изазива увећање другог.

Добијене вредности концентрације IL-8 у нашем истраживању показале су да се ниво IL-8 није значајно разликовао између спонтано хипертензивних и нормотензивних животиња са присуством периапикалних лезија, али је био заступљен значајан скок концентрације IL-8 у SHR+AP и AP групи у поређењу са њиховим контролним групама (SHR и C) (График 10А). Познато је да IL-8 игра важну улогу у хемотакси ћелија имунског система у подручју инфекције, као и диференцијацији ћелија мијелоидне лозе у остеокласте суделовајући на тај начин у патогенетском процесу апикалних лезија (107). Како се досадашња истраживања нису бавила испитивањем концентрације IL-8 периапикалних лезија у хипертензивним условима, резултате наше студије поредили смо са студијама које су концентрације испитивали у нормотензивним условима. Наведеним испитивањима је показана значајна присутност IL-8 у периапикалним лезијама у нормотензивним стањима (66, 109, 110), што се поклапа са добијеним резултатима наше студије. Међутим, како до сад нису постојале студије које су испитивале концентрацију наведеног цитокина у хипертензивним условима периапикалних лезија, а резултати нашег истраживања нису показали значајну разлику у концентрацији између нормотензивних и хипертензивних услова, неопходна су даља претклиничка и клиничка истраживања која ће се бавити датом проблематиком.

IL-17 игра битну улогу у патогенези периапикалних лезија. Остварује синергистичко деловања са IL-1 β , TNF α и IFN γ индукујући производњу IL-8 и IL-6, повећавајући експресију MMP-а и RANKL-а, што последично доводи до губитака алвеоларног коштаног ткива (100, 102). Добијени резултати наше студије показали су значајан скок у SHR+AP групи у поређењу са AP групом. Такође, ниво наведеног цитокина био је доминантно већи у SHR+AP и AP групи у поређењу са њиховим контролним групама (C и SHR група) (График 10Б). Као и код IL-8, до данас нису постојала истраживања која су се бавила испитивањем концентрације IL-17 периапикалних лезија у хипертензивним условима. Сходно томе, резултате наше студије поредили смо са студијом сличног дизајна која је испитивала вредности наведеног цитокина у условима друге системске болести тј. хипергликемије и нормогликемије. Испитивање је показало да апикални пародонтитис повећава ниво серумског IL-17 код нормогликемијских и хипергликемијских пацова, са доминацијом у хипергликемијским условима (112), што се делимично поклапа са резултатима нашег истраживања. Поред наведених студија, није постојало више истраживања која су се бавила испитивањем концентрације IL-17 у периапикалним лезијама у условима системских болести, што би представљао значајан предлог за будућа истраживања.

Сумарно посматрано, резултати нашег испитивања показали су да су нивои проинфламаторних цитокина IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-17 и TNF α били значајно већи у периапикалним лезијама спонтанохипертензивних пацова у поређењу са нормотензивном пацовима, као и у експерименталним групама (SHR+AP и AP) у поређењу са контролним (SHR и C) групама. Поред испитиваних цитокина, једино IL-8 није показао значајну разлику у концентрацији периапикалних лезија између хипертензивних и нормотензивних услова, али је показао значајан скок концентрације у експерименталним у поређењу са контролним групама. Сходно добијеним резултатима, хипертензија се доводи у везу са значајним повећањем нивоа већине испитиваних проинфламаторних цитокина апикалног пародонтитиса.

5. 3. АНАЛИЗА ЕФЕКТА ПЕРИАПИКАЛНИХ ЛЕЗИЈА НА ПАРАМЕТРЕ СРЧАНЕ ФУНКЦИЈЕ

У трећем сегменту дисертације испитивали смо утицај периапикалних лезија на функцију и коронарну циркулацију изолованог миокарда пацова у условима хипертензије и нормотензије.

До сада није постојало доступних података о утицају периапикалних лезија на функцију миокарда, тако да је ова дисертација једна од првих *in vivo* и *ex vivo* студија која је анализирала могућу повезаност између апикалног пародонтитиса као и њихов ефекат на срчану функцију и редокс статус у условима хипертензије и нормотензије. Сматрамо да добијени резултати поседују изузетан клинички значај за развој нових терапијских процедура са циљем модулације оксидационог статуса, смањења симптома периапикалних лезија и хипертензије као и превенције настанака срчаног и možданог удара, посебно код популације високог ризика.

Познато је да повећане вредности крвног притиска могу довести до хипертрофије леве коморе, интерстицијумске фиброзе, као и абнормалне функције симпатичног система миокарда, који представљају потврђене факторе ризика за настанак изразито озбиљних срчаних обољења, као што су акутни инфаркт миокарда, конгестивна срчана инсуфицијенција и вертикуларна фибрилација, повећавајући на тај начин смртност пацијената (221). Такође, досадашња многобројна истраживања показала су да запаљенска реакција ткива и оксидациони стрес, представљају један од веома значајних чинилаца који могу довести до оштећењу срчаног ткива (222). Стога, наведена чињеница може представља битну корелацију утицаја апикалног пародонтитиса на функцију срца, као и могућност доприношења потенцијалног оштећења срчаног ткива. У нашој студији функционална карактеристика миокарда испитивана је на бази праћења динамских параметара леве коморе који су детаљно описани у сегменту дисертације *Материјал и методе*.

За анализу контрактилности срца, користили смо $dp/dtmax$ и $dp/dtmin$. $Dp/dtmax$ представљао је индиректни показатељ контракцијског својста леве коморе срца, као и јасан знак очуваности систолне функције. За разлику од наведеног параметра $dp/dtmin$, користио се као индиректни показатељ стопе релаксационе способности леве коморе, као и јасан показатељски знак дијастолне функције срца. На основу наведених података, поремећај систоле срца, евидентирали смо снижењем вредности $dp/dtmax$, док поремећај дијастоле миокарда регистровали смо растом нивоа $dp/dtmin$.

Резултати наше студије у вези са вредностима $dp/dtmax$, тј. праћењем промене наведеног маркера унутар сваке појединачне групе, уочено је да у контролним групама нормотензивних и спонтанохипертензивних пацова (С и SHR група), између експерименталног и контролног периода није постојало значајних промена у контрактилном срчаном одговору. За разлику од наведеног, унутар група нормотензивних и спонтанохипертензивних пацова са присуством периапикалних лезија (SHR+AP и AP групи) примећено је да постоји значајно снижење контрактилности изолованог миокарда пацова, тј. смањења $dp/dtmin$ -а и значајног повећања $dp/dtmax$ -а између експерименталног и контролног периода (Табела 9-12; График 11-14).

Додатно, резултати упоредне анализе између испитиваних група у вези са вредностима $dp/dtmax$, јасно показују да су спонтанохипертензивни пацови (SHR+AP и SHR групе) имали значајно повећан контрактилни одговор срца у поређењу са нормотензивним пацовима (С и AP групе). С друге стране, поређењем између SHR+AP и SHR групе није дошло до значајних промена контрактилног одговора на миокарду животиња. Додатно, параметар релаксације миокарда - $dp/dtmin$ био је у складу са

инотропним карактеристикама, истичући да је код спонтанохипертензивних пацова (SHR+AP и SHR групе) снага релаксације била смањена у поређењу са нормотензивним пацовима (С и AP групе) (График 15).

Наведено смањење вредности dp/dt_{min} говори у прилог поремећеној дијастолној функцији срца. Механизми укључени у штетне ефекте хроничних периапикалних лезија на контрактилност миокарда у хипертензивним стањима су слабо познати. Међутим, резултате наше студије можемо објаснити у складу са познатим чињеницама да липополисахарид, тј. ендотоксин који представља интегрални део ћелијског зида грам-негативних бактерија апикалног пародонтитиса, регулише експресију L-типа калцијумових канала и скраћује ефективни рефракторни период у срцу пацова. Такође, токсини *Streptococcus mutans-a* који су присутни у периапикалним лезијама, укључени су у контрактилну дисфункцију кардиомиоцита, ометајући на тај начин правилан срчани рад (223).

Анализом вредности систолног и дијастолног (*SLVP* и *DLVP*) притиска леве коморе миокарда, знатно прецизније смо утврдили контрактилну способност изолованог миокарда пацова. Познато је да *SLVP* служи за процену притиска у левој комори срца током њене контракције и процеса испумпавања крви, док *DLVP* указује на притисак у левој комори срца током релаксације миокарда и уласка крви из преткомора у коморе срца. Резултати нашег истраживања унутар сваке појединачне групе, показали су да у контролним групама нормотензивних и спонтанохипертензивних пацова (С и SHR), између контролног и експерименталног периода није постојало значајних промена у систолним и дијастолним вредностима леве коморе срца. За разлику од наведеног, унутар група нормотензивних и спонтанохипертензивних пацова са присуством периапикалних лезија (SHR+AP и AP) примећено је да постоји значајно повећан систолни капацитет, као и смањен дијастолни капацитет у AP групи, док је био заступљен повећан дијастолни капацитет у SHR+AP групи између контролног и експерименталног периода (Табела 9-12; График 11-14).

Додатно, резултати упоредне анализе између испитиваних група показали су да је SHR+AP група имала смањени систолни капацитет у поређењу са SHR групом за разлику од целокупне групе спонтанохипертензивних пацова (SHR+AP и SHR) која је имала повећан систолни капацитет у поређењу са нормотензивном групом (С и AP). С друге стране, у SHR+AP групи дијастолна функција је била повећана у поређењу са нормотензивним пацовима (С и AP), за разлику од AP и SHR групе, где је дијастолна функција била смањена у односу на С групу (График 15).

Сходно наведеним резултатима, повећан енд-дијастолни притисак може али и не мора бити у вези са поремећеном улогом систоле, међутим може представљати и знак поремећене улоге дијастоле миокарда уз одсуственост снижене истисне фракције срца (224). Према познатим научним чињеницама, периапикалне лезије и пародонтална болест, иако се разликују по етиологији и патогенези, имају неке сличности, попут заједничког бактериолошког статуса, са доминацијом грам-негативних анаеробних бактерија, као и повишених вредности проинфламаторних цитокина у системској циркулацији, што може довести до накнадних штетних кардиоваскуларних ефеката (215). На основу овог утврђеног сазнања, клиничка студија *Angeli F.* и сарадника потврдила је да пародонтална болест утиче на повишени ниво систолног и дијастолног крвног притиска, као и масе леве коморе срца код испитаника који болују од хипертензије, при чему се резултати наведеног истраживања готово поклапају са резултатима наше студије (222). Такође, *Lockhart* и сарадници су у свом истраживању указали на повезаност између пародонталне болести и атеросклерозе, али без узрочно-последичне везе, чији су резултати скоро сагласни са нашим. Међутим, није потврђено да одговарајући терапијски модалитети у лечењу пародонталне болести могу

модификовати клинички ток атеросклеротске болести или спречити болест срца (225), што даје основу за даљим бављењем овом врстом проблематике у будућим како клиничким тако и претклиничким истраживањима.

У погледу утицаја периапикалних лезија на HR, резултати наших студија унутар сваке појединачне групе, показали су да је у С и SHR групи, као и у AP и SHR+AP, није постојала значајна промена у вредности срчане фреквенце (Табела 9-12; График 11-14). Док су резултати упоредне анализе између испитиваних група показали да су спонтанохипертензивни пацови (SHR+AP и SHR) као и AP група имали ефекат на смањену фреквенцу срца у поређењу са С групом (График 15). Наведени резултати сугеришу да су периапикалне лезије као облик хроничне оралне инфекције довеле до брадикардије, што се поклапа са литературним подацима који сугеришу да брадикардија може бити последица инфекције (226).

Када је реч о анализи резултата коронарног протока унутар групе спонтанохипертензивних и нормотензивних пацови са и без присуства периапикалних лезија, показано је да није постојала значајна промена у вредности протока, осим у AP групи где је забележен значајан пад CF-а при вредностима CPP-а од 60 и 100 cmH₂O (Табела 9-12; График 11-14). Такође, упоредном анализом између испитиваних група показано је да спонтанохипертензивни и нормотензивни пацови са и без присуства лезија нису имали скоро никакав утицај на коронарни проток, осим SHR+AP групе која је поседовала смањену вредност CF у поређењу са AP групом на вредностима CPP-а од 60-80 cmH₂O, као и SHR+AP и SHR групе које су такође имале ниже вредности у поређењу са С групом на вредностима CPP-а од 60 cmH₂O (График 15).

Према нашим најбољим сазнањима, није било студија које су се бавиле испитивањем утицаја апикалног пародонтитиса на CF у хипертензивним стањима, па ћемо зато резултате наше студије продискутовати са резултатима истраживања сличних нашем. Сходно наведеном, *Chauhan* и сарадници су у својој клиничкој студији показали да је поремећена дилатација крвних судова посредована коронарним протоком била заступљена код пацијената са присуством хроничних облика периапикалних лезија (227). Такође, *Cotti* и сараници су у свом клиничком истраживању, које је испитивало везу између ендодонтске инфекције и ендотелне дисфункције код пацијената без хипертензије, показало да присуство периапикалних лезија може изазвати рану ендотелну дисфункцију документовану оштећеном резервом протока ендотела (228), што се делимично поклапа са резултатима наше студија.

Патохистолошком анализом изолованог миокарда пацова, у нашем истраживању показали смо да је апикални пародонтитис у нормотензивним условима изазвао појаву хиперемije, едема, дегенеративне промене и некрозу у миокарду. За разлику од спонтанохипертензивних стања, где је апикални пародонтитис довео до појаве најистакнутије промене у миокарду, у виду зоналне некрозе већег броја мишићних ћелија, са фрагментацијом влакана, губитком једара и хиперезинофилијом цитоплазме (Слика 13). Верујемо да је могући узрок ових патохистолошких промена системски раст бактерија које потичу из инфламираног периапикалног региона зуба или као последица ширења имунолошких комплекса на даљину (195). Према литературним подацима до данас, није није било студија које су се бавиле испитивањем патохистолошке промене срца као последица утицаја хроничних периапикалних лезија у хипертензивним условима. Сходно томе, резултати наше студије можемо упоредити само са резултатима истарживања *Sehirli* и сарадника које су испитивали утицај апикалног пародонтитиса на миокард у нормотензивним условима. Резултати наведене студије показали су да апикални пародонтитис у нормотензивним условима поседује могућност изазивања едема, миокардне конгестије и прилива инфламаторних ћелија у

срчано ткиво, при чему се резултати наше студије делимично поклапају са наведеним подацима истраживања *Sehirli* и сарадника (195).

Између осталог, део нашег истраживања био је намењен испитивању утицаја периапикалних лезија на хемодинамске параметре пацова, тј. измени крвног притиска услед дејства апикалног пародонтитиса у нормотензивним и хипертензивним условима. Динамика *SP*, *DP* као и *HR* утврђена је на самом почетку експерименталног протокола (пре него што су животиње биле насумично распоређење у четири једнаке групе тј. пре саме индукције периапикалних лезија), као и пре жртвовања (30-ог дана од индукције периапикалних лезија) (Табела 8).

У нормотензивним и хипертензивним групама, пре индукције периапикалних лезија није била примећена значајна разлика између *SP*, *DP*, као и *HR*, док је постојала значајна разлика свих параметра испитиваних вредности притиска као и фреквенце између нормотензивних (*C* и *AP*) и спонтанохипертензивних група животиња (*SHR* и *SHR+AP*), уочивши значајно повишене вредности *SP*, *DP* и *HR* у *SHR+AP* групи у поређењу са *C* и *AP* групом, као и у *SHR* групи у поређењу са *C* групом.

Добијени резултати наше студије делимично су били сагласни са резултатима претходних клиничких истраживања (195, 225, 228). Као што смо већ навели и на основу резултата појединих студија, апикални пародонтитис може бити укључене у развој хипертензије, јер настаје као резултат акумулације најчешће патогених грам негативних анаеробних бактерија. Интеракцијом између липополисахарида који представљају интегрални део ћелијског зида грам-негативних бактерија и *TLR4* рецептора на макрофагима и неутрофилима активира се интраћелијска сигнална каскада доводећи до миграције леукоцита, генезе остеокласта и секреције проинфламаторних цитокина који се могу отпустити у системску циркулацију доприносећи настајању или даљој прогресији хипертензије (189). Међутим, *Segura-Egea JJ* и сарадници су у својој студији указали на не постојање корелације са нашим резултатима, истичући да се преваленца апикалног пародонтитиса као и вредности крвног притиска нису значајно разликовале између хипертензивних и нормотензивних пацијената (192).

Главни закључци описаног дела студије су следећи: 1. уопштено посматрано периапикалне лезије и хипертензија су међусобно повезани у моделу пацова; 2. налази сугеришу да је апикални пародонтитис био повезан са поремећеном динамиком изолованих миокарда пацова као и кардиопатолошким променама у хипертензивним стањима; 3. такође, хипертензија је била у корелацији са повећаним димензија периапикалног подручја.

У овом контексту, резултати нашег истраживања могу помоћи бољем разумевању повезаности периапикалних лезија и срчане функције у хипертензивним стањима, подржавајући хипотезу да апикалне лезије могу негативно утицати на физиолошку функционалну способност миокарда. С обзиром на растући број кардиоваскуларних обољења и високе стопе заступљености периапикалних лезија, експериментални подаци ове студије могу бити одлична основа за даља претклиничка и клиничка истраживања у овој области. Поред тога, резултати могу подстаћи развој будућих студија како би се потврдило да ли одговарајућа ендодонтска терапија може имати кардиопротективни ефекат у хипертензивним условима.

5. 4. УТИЦАЈ ПЕРИАПИКАЛНИХ ЛЕЗИЈА НА ДИНАМИКУ СРЧАНОГ И СИСТЕМСКОГ РЕДОКС СТАТУСА

У четвртом сегменту докторске дисертације испитивали смо утицај периапикалних лезија на динамику срчаног и системског редокс статуса код спонтанохипертензивних и нормотензивних пацова са и без присуства апикалног пародонтитиса.

Према досадашњим истраживањима, биолошки механизам који би могао бити важан за корелацију ендодонтских и системских болести као што је хипертензија је свакако оксидациони стрес (169). Упркос чињеници да је хипертензија обољење повећане продукције ROS-а са умањеном биорасположивошћу NO, остаје нам енигма како се присуство апикалног пародонтитиса одражава на редокс статус у хипертензивним стањима. Сходно наведеном, овај део студије имао је за циљ да процени да ли је утицај периапикалних лезија посредован преко промена вредности антиоксиданаса и стварања прооксиданаса у хипертензивним стањима.

Као што је већ наведено у уводном делу докторске дисертације, оксидациони стрес је дефинисан као дисбаланс између прооксиданаса и система антиоксидационе заштите у корист прооксиданаса који постепено воде ка оштећењу организма (160, 162, 163). Познато је да прекомерна производња ROS-а изазива неселективно оштећење ћелија доприносећи локалном формирању и прогресији апикалних пародонтитиса у виду стимулисања проинфламаторних цитокина и ресорпције алвеоларног коштаног ткива (208). С друге стране, апикални пародонтитис као облик хроничног запаљенског обољења и сам доводи до повећане продукције ROS-а, који у таквом облику прелазе у крвоток доводећи до оксидације молекула крви и формирања системског оксидационог стреса што временом може угрозити подаље лоцирана ткива и органе и довести до појаве одређених облика системских болести (229, 183).

Наша студија истраживала је могући утицај периапикалних лезија на системски редокс статус, као и статус срца у хипертензивним и нормотензивним стањима. Одређивањем нивоа прооксидационих и антиоксидационих маркера у венском перфузату, хомогенату срца, као и у плазми, желели смо да потврдимо да ли присуство периапикалних лезија поседује негативни утицај на миокард пацова путем увећане продукције слободних радикала или је можда реч о некој другој врсти механизма? Међутим, у досадашњој литератури не постоје подаци који се односе на поменуто научну хипотезу.

У овој дисертацији везано за оксидациони стрес, прво смо испитивали редокс статус изолованог миокарда пацова унутар испитиваних група. У групи нормотензивних пацова без присуства периапикалних лезија, променом вредности CPP-а у распону од 40-120 cmH₂O, значајне промене биле су забележене код H₂O₂ на CPP-у од 60 cmH₂O (Табела 13, График 16). У AP групи значајне промене параметра забележене су код H₂O₂ и NO₂⁻, где су вредности H₂O₂ биле значајно ниже у експерименталном периоду у поређењу са контролним, док су вредности NO₂⁻ биле доминантно снижене у експерименталном у поређењу са контролним периодом (Табела 14, График 17). Додатно, када је реч о спонтанохипертензивним групама показали смо да су у SHR групи значајне промене забележене у вредностима TBARS-а и O₂⁻ (Табела 15, График 18), док у SHR+AP само код TBARS-а (Табела 16, График 19).

Након испитивања и анализе добијених резултата срчаних параметара оксидационог статуса унутар групе, извршена је упоредна анализа наведених маркера између испитиваних група. Резултати су показали да су спонтанохипертензивне (SHR+AP и SHR) животиње имале поремећен срчани оксидациони статус у поређењу са нормотензивним (С и AP). Такође, SHR+AP група имала је поремећен срчани

оксидациони статус у поређењу са SHR групом. Налази су показали веће ослобађање O_2^- у венском ефлуенту у SHR+AP групи у поређењу са SHR, AP и C групом. За разлику од претходних резултата, H_2O_2 је био значајно нижи између наведених група, а такође и између SHR и AP група у поређењу са C групом. Додатно, нивои TBARS-а и NO_2^- нису показали значајну разлику између испитиваних група (График 20).

Наведени добијени налази указали су да је O_2^- као један од најтоксичнијих про-оксиданаса измерен у ефлуенту у стању хипертензије био повећан, што је било у складу са смањењем активности SOD-а миокарда као прве сегмент целуларне одбране од оксидационих повреда. Како до сада нису постојале студије које су анализирале и упоређивале утицај апикалног пародонтитиса на вредности прооксиданаса у венском ефлуенту, добијени резултати нашег истраживања упоређени су са методолошки сличним испитивањима. *Barcelos* и сарадници су у својој студији показали да је експериментални модел апикалног пародонтитиса индуковао повишене вредности ROS-а у миокарду пацова, што се делимично поклапа са резултатима наше студије, осим чињенице да су животиње нашег истраживања које су имале повишене вредности срчаног оксидационог статуса поседовале хипертензију за разлику од њихових, који нису имали овај облик системске болести (230). Такође, клиничка студија, која се бавила корелацијом ендодонског обољења и ендотелне дисфункције, показала је да су вредности ROS-а у серуму биле значајно повећане само код особа женског пола (228). У нашој студији користили смо искључиво пацове мушког пола, тако да овај резултат може представљати потенцијалну идеју за будућа експериментална истраживања и могућу дискусију на ту тему.

По анализи добијених вредности срчаних прооксидационих маркера, у даљем делу студије вршено је одређивање као и анализа системских оксидационог параметра. Добијени резултати су показали да је концентрација O_2^- у плазми показала значајан скок у SHR+AP групи у поређењу са C, AP и SHR групом, као да су и вредности наведеног маркера у AP и SHR групи били доминантно веће у поређењу са C групом. Добијене вредности O_2^- у плазми поклапале су се са вредностима TBARS-а. Такође, добијени резултати везани за H_2O_2 у крвној плазми, показали су да је концентрација наведеног маркера била значајно виша у SHR+AP групи у поређењу са C и SHR групом, као да су и у AP групи показале значајан скок у поређењу са C групом. Када је реч о концентрацији NO_2^- , показана је значајно виша вредности у SHR+AP групи у поређењу са C и AP групом (График 22).

Међутим, како је ово прва студија која је испитивала повезаност системског оксидационог стреса и периапикалних лезија у хипертензивним условима тј. како до сада није постојало студија које су анализирале и упоређивале ову врсту корелације, добијени резултати нашег истраживања упоређени су са методолошки сличним испитивањима. *Prieto* и сарадници у својој експерименталној студији истражили да ли постоји повезаност између апикалног пародонтитиса и оксидационог стреса у дијабетичним условима, показавши да присуство периапикалних лезија може системски погоршати редокс стаус повећањем параметра оксидационог стреса, што даље указује на то да периапикалне лезије потенцирају системске ефекте дијабетес мелитуса доводећи до даље прогресије болести (175). Такође, истраживања вршена на лабораторијским животињама, показала су да оксидациони стрес изазван формирањем периапикалних лезија може учествовати у даљој прогресији атеросклерозе (178).

На основу добијених резултата наше студије, као и на основу претходно наведених научних сазнања показано је да периапикалне лезије могу утицати на параметре системског и срчаног оксидационог статуса у хипертензивним условима. Сходно томе, долазимо до закључка да оксидациони стрес пореклом из апикалног

пародонтитиса може компромитовати опште здравствено стање пацијената и значајно допринети патогенези тешких системских болести, као што је и хипертензија (169).

Што се тиче компоненти антиоксидационог одбрамбеног система, активност SOD миокарда била је значајно нижа у SHR+AP и AP групи у поређењу са њиховом С групом, док су вредности CAT-а и GSH биле сличне између испитиваних група (График 21). Посматрајући резултате системског оксидационог статуса показали смо да је активност SOD-а у хемолизату била значајно већа у С групи у поређењу са AP, SHR и SHR+AP групом, као и у SHR групи у поређењу са SHR+AP групом. Додатно, анализом активности CAT-а у хемолизату показан је значајан скок у С групи у поређењу са AP, SHR и SHR+AP групом, док се активност GSH није значајно разликовала у хемолизату између испитиваних група (График 23).

Претходни резултати могу се образложити експерименталном студијом *Sehirli* и сарадника (195) која се бавила проценом могућег заштитног ефекта алфа-липоичне киселине на срце пацова у присуству периапикалних лезија, показавши да је активност SOD-а у серуму била смањена, што се делимично поклапа са резултатима наше студије и то са групом нормотензивних пацова са присуством периапикалних лезија у поређењу са контролном групом. Наведени резултати указују на важност недостатка антиоксидационих ензима код оштећења срца, што је настало као резултат постојања апикалног пародонтитиса. Такође, *Barcelos* и сарадници су у својој студији показали да није било промена у активности CAT-а у срчаном ткиву пацова у нормотензивној групи са присуством периапикалних лезија у поређењу са контролном групом, што је у сагласности са резултатом нашег истраживања (230). Такође, једна од студија новијег датума испитивала је осетљивост на инсулин и оксидациони стрес у хомогенату *m. gastrocnemius-a* одраслих потомака пацова са апикалним пародонтитисом, показавши смањену активност SOD-а, а повећану активност CAT-а и GSH у мишићном хомогенату, што је у делимичној корелацији са резултатима наше студије (231).

Сумарно посматрано, у четвртном сегменту докторске дисертације показана је позитивна корелација утицаја периапикалних лезија на динамику срчаног и системског редокс статуса код хипертензивних пацова. Сходно наведеном, резултати су указали да апикални пародонтитис, пре свега значајно повећава вредности прооксидационих маркера посебно у хипертензивним условима, како на системском тако и на срчаном нивоу. Такође, утицај апикалног пародонтитиса се испољавао у снижавању активности антиоксиданаса, као и немогућности неутралисања настајања слободних радикала.

У овој докторској дисертацији добијени резултати пружају подршку иницијалној идеји да су периапикалне лезије и хипертензија међусобно повезане у експерименталном моделу пацова. Налази сугеришу да је апикални пародонтитис био повезан са поремећеном кардиодинамиком изолованог миокарда пацова, оксидационим статусом, антиоксидационом заштитом и патохистолошким променама миокарда у хипертензивним условима. Додатно, хипертензија је била повезана са радиографским повећаним димензијама периапикалног подручја, патохистолошким и хистоморфометријским променама датог региона, као и повећаним концентрацијама већине проинфламаторних цитокина апикалног пародонтитиса.

У овом контексту, садашњи резултати студије могу помоћи бољем разумевању повезаности апикалног пародонтитиса и срчане функције у хипертензивним условима, подржавајући претпоставку да апикалне лезије могу негативно утицати на срце и потенцијално пореметити хомеостазу оксидационог статуса у експерименталном моделу пацова. Такође, резултати могу подстаћи развој будућих студија како би се истражило да ли одговарајућа ендодонтска терапија може имати кардиопротективни ефекат и смањити срчани оксидациони стрес, као и концентрацију проинфламаторних цитокина апикалног пародонтитиса у хипертензивним условима.

На овај начин би се допринело развоју нових терапијских процедура и примене помоћне антиоксидационе терапије са циљем да се модулира оксидациони стрес, смање симптоми периапикалних лезија и хипертензије, као главног фактора ризика кардиоваскуларних обољења и тиме превенира настанак срчаног и мозданог удара, посебно код популације високог ризика. Добијени резултати наше студије би требало утицати на повећање свести о потреби укључивања процене стања оралног здравља, његовог лечења и превенције као средство у побољшавању здравственог исхода системских болести. Поред тога, у нашем истраживању испитивање концентрације проинфламаторних цитокина, као и редокс статуса у нормотензивним и хипертензивним условима, расветлио је један од потенцијалних механизма којима периапикалне лезије делују на кардиоваскуларни систем. Такође, овом студијом су се постављају незаобилазни и важни темељи будућих експерименталних и клиничких студија, који ће се бавити овом врстом проблематике.

VI
ЗАКЉУЧЦИ

На основу добијених резултата спроведеног истраживања може се закључити следеће:

- Генерално узевши, постоји повезаност између периапикалних лезија и хипертензије на испитиваном моделу пацова.
- У погледу радиографске анализе хипертензија се доводи у везу са значајним увећањем димензија периапикалног подручја.
- Са хистоморфометријског аспекта, у условима хипертензије је забележено изразито увећање периодонталног лигамента, ресорпције алвеоларне кости и апикалног цемента, као и интезитета и екстензивности запаљенског инфилтрата периапикалног региона.
- Број диферентованих остеокласта алвеоларне кости периапикалног региона није у позитивној корелацији са вишим вредностима артеријског крвног притиска.
- Број макрофага, неутрофила и лимфоцита инфламаторног инфилтрата периапикалног региона значајно је већи код хипертензивних животиња.
- Хипертензија се доводи у везу са значајним повећањем концентрације већине испитиваних проинфламаторних цитокина периапикалних лезија.
- Периапикалне лезије су повезане са поремећеном кардиодинамиком изолованих срца пацова као и патохистолошким променама у хипертензивним стањима.
- Периапикалне лезије су у корелацији са повећаним вредностима прооксидационих маркера посебно у хипертензивном стању како на системском тако и на срчаном нивоу.
- Утицај апикалног пародонтитиса се испољава у снижавању активности ензима антиоксидационе заштите, и тиме немогућности ефикасног неутралисања слободних радикала у хипертензивним условима.
- Садашњи резултати могу помоћи бољем разумевању повезаности периапикалних лезија и срчане функције у хипертензивним условима, подржавајући претпоставку да апикалне лезије могу негативно утицати на миокард и потенцијално пореметити хомеостазу оксидационог статуса у експерименталном моделу пацова.
- Добијени резултати могу подстаћи развој будућих студија како би се истражило који облик ендодонтске терапије може имати кардиопротективни ефекат, смањити системски и срчани оксидациони стрес, као и концентрацију проинфламаторних цитокина периапикалних лезија у хипертензивним условима.
- С обзиром на растућу епидемију кардиоваскуларних обољења и високе стопе хроничних периапикалних лезија, експериментални подаци ове студије могу бити одлична база за даља претклиничка и клиничка истраживања из ове области.

VII
ЛИТЕРАТУРА

ЛИТЕРАТУРА

1. Sasaki H, Hirai K, Martins CM, Furusho H, Battaglino R, Hashimoto K. Interrelationship between periapical lesion and systemic metabolic disorders. *Curr Pharm Des.* 2016; 22(15):2204-15.
2. Karamifar K, Tondari A, Saghiri MA. Endodontic Periapical Lesion: an overview on the etiology, diagnosis and current treatment modalities. *Eur Endod J.* 2020; 5(2):54-67.
3. Hassell TM. Tissues and cells of the periodontium. *Periodontol 2000.* 1993; 3:9-38.
4. Tomokiyo A, Wada N, Maeda H. Periodontal Ligament Stem Cells: Regenerative Potency in Periodontium. *Stem Cells Dev.* 2019; 28(15):974-85.
5. Singh P. Endo-perio dilemma: a brief review. *Dent Res J (Isfahan).* 2011; 8(1):39-47.
6. López-Marcos JF. Aetiology, classification and pathogenesis of pulp and periapical disease. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2004; 9 Suppl:58-62;52-7.
7. Schulz M, von Arx T, Altermatt HJ, Bosshardt D. Histology of periapical lesions obtained during apical surgery. *J Endod.* 2009; 35(5):634-42.
8. Filipović V, Gvozdenović-Sedlecki, Karadžov O, Kezele D, Kolak Ž, Kuburović D et al. *Endodoncija.* Beograd: Nauka; 2002.
9. Talacko AA, Aldred MJ, Abbott PV, Smith AC, Nerwich AH. Periapical biopsy? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000; 89(5):532-4.
10. Hirsch RS, Clarke NG. Pulpal disease and bursts of periodontal attachment loss. *Int Endod J.* 1993; 26(6):362-8.
11. Sedgley CM, Cherkas P, Chogle SMA, Geisler TM, Hargreaves KM, Paranjpe AK, Yamagishi VT-K. *Endodontics: colleagues for excellence*, vol. Spring. Chicago: American Association of Endodontists Foundation; 2013.
12. Kim SG, Malek M, Sigurdsson A, Lin LM, Kahler B. Regenerative endodontics: a comprehensive review. *Int Endod J.* 2018;51(12):1367-88.
13. Nair PNR. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontology 2000.* 1997; 13: 121-148.
14. Nair PN. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J.* 2006; 39(4):249-81.
15. Siqueira JF Jr, Rôças IN, Ricucci D, Hülsmann M. Causes and management of post-treatment apical periodontitis. *Br Dent J.* 2014; 216(6):305-12.
16. Qian W, Ma T, Ye M, Li Z, Liu Y, Hao P. Microbiota in the apical root canal system of tooth with apical periodontitis. *BMC Genomics.* 2019; 20(Suppl 2):189.
17. Das AC, Sahoo SK, Parihar AS, Bhardwaj SS, Babaji P, Varghese JG. Evaluation of role of periodontal pathogens in endodontic periodontal diseases. *J Family Med Prim Care.* 2020; 9(1):239-42.
18. Živković S, Ivanović V, Vujašković M, Teodorović N, Lukić A, Karadžić B, Grga Đ. *Praktikum endodonske terapije.* Beograd: Datastatus; 2011.
19. Love RM. Effects of dental trauma on the pulp. *Pract Periodontics Aesthet Dent.* 1997; 9(4):427-36.
20. Kvinnsland S, Kristiansen AB, Kvinnsland I, Heyeraas KJ. Effect of experimental traumatic occlusion on periodontal and pulpal blood flow. *Acta Odontol Scand* 1992; 50(4): 211–219.
21. Lipski M, Mrozek J, Drożdżik A. Influence of water cooling on root surface temperature generated during post space preparation. *J Endod.* 2010; 36(4):713-6.
22. S S, Ma VS, Mi VS, F HG, M H. Gingival Retraction Methods for Fabrication of Fixed Partial Denture: Literature Review. *J Dent Biomater.* 2016; 3(2):205-13.

23. Abuhaimeed TS, Abou Neel EA. Sodium Hypochlorite Irrigation and Its Effect on Bond Strength to Dentin. *Biomed Res Int.* 2017; 2017:1930360.
24. Hatton J, Walsh S, Wilson A. Management of the sodium hypochlorite accident: a rare but significant complication of root canal treatment. *BMJ Case Rep.* 2015; 2015:bcr2014207480.
25. Velasquez-Plata D, Andres CJ. The art of crown preparation: a review of principles. *J Indiana Dent Assoc.* 1996; 75(3):6-11
26. Shillingburg, H. T., Jacobi, R., & Brackett, S. E. *Fundamentals of tooth preparations for cast metal and porcelain restorations.* Quintessence Pub. Co., Chicago, 1987.
27. Trifunović D., Vujošević Lj., *Stomatološka protetika – fiksne nadoknade, I deo,* Evropski centar za mir i razvoj, Beograd 1998.
28. Farah RI. Effect of cooling water temperature on the temperature changes in pulp chamber and at handpiece head during high-speed tooth preparation. *Restor Dent Endod.* 2018; 44(1):e3.
29. Firoozmand L, Faria R, Araujo MA, di Nicoló R, Huthala MF. Temperature rise in cavities prepared by high and low torque handpieces and Er:YAG laser. *Br Dent J.* 2008; 205(1):E1.
30. Chua H, Choi JJE, Ramani RS, Ganjigatti R, Waddell JN. The cooling efficiency of different dental high-speed handpiece coolant port designs. *Heliyon.* 2019; 5(8):e02185.
31. Bicer AZY, Unver S. Etiology of Secondary Caries in Prosthodontic Treatments. In book: *Dental Caries - Diagnosis, Prevention and Management, Chapter 4,* 2018.
32. Zoellner A, Heuermann M, Weber HP, Gaengler P. Secondary caries in crowned teeth: correlation of clinical and radiographic findings. *J Prosthet Dent.* 2002; 88(3):314-9.
33. Alomari Q, Al-Saiegh F, Qudeimat M, Omar R. Recurrent caries at crown margins: making a decision on treatment. *Med Princ Pract.* 2009;18(3):187-92.
34. Newcomb GM. The relationship between the location of subgingival crown margins and gingival inflammation. *J Periodontol.* 1974; 45(3):151-4.
35. Müller HP. The effect of artificial crown margins at the gingival margin on the periodontal conditions in a group of periodontally supervised patients treated with fixed bridges. *J Clin Periodontol.* 1986;13(2):97-102.
36. Paniz G, Zarow M, Nart J, Peña M, Coltro G, Tomasi C, et al. Dual-Center Cross-Sectional Analysis of Periodontal Stability Around Anterior All-Ceramic Crowns with a Feather-Edge or Chamfer Subgingival Preparation. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2020; 40(4):499-507.
37. Braz-Silva PH, Bergamini ML, Mardegan AP, De Rosa CS, Hasseus B, Jonasson P. Inflammatory profile of chronic apical periodontitis: a literature review. *Acta Odontol Scand.* 2019; 77(3):173-80.
38. Lukić A, Danilović V, Petrović R. Imunopatogenetski mehanizmi nastanka i razvoja hroničnih zubnih periapeksnih lezija. *Vojnosanit Pregl.* 2005; 62(3):219-26.
39. Sundquist G. *Bacteriological studies of necrotic pulps.* Umea: University of Umea; 1976.
40. Nair PN. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004; 15(6):348-81.
41. Trowbridge HO, Stevens BH. Microbiologic and pathologic aspects of pulpal and periapical disease. *Curr Opin Dent.* 1992; 2:85-92.
42. Paula-Silva FWG, Ribeiro-Santos FR, Petean IBF, Manfrin Arnez MF, Almeida-Junior LA, Carvalho FK et al. Root canal contamination or exposure to

- lipopolysaccharide differentially modulate prostaglandin E2 and leukotriene B4 signaling in apical periodontitis. *J Appl Oral Sci.* 2020; 28:e20190699.
43. Torabinejad M, Clagett J, Engel D. A cat model for the evaluation of mechanisms of bone resorption: induction of bone loss by simulated immune complexes and inhibition by indomethacin. *Calcif Tissue Int* 1979; 29(3): 207–14.
 44. Artese L, Piattelli A, Quaranta M, Colasante A, Musani P. Immunoreactivity for interleukin 1-beta and tumor necrosis factor-alpha and ultrastructural features of monocytes/macrophages in periapical granulomas. *J Endod.* 1991; 17(10):483-7.
 45. Džopalić T, Tomić S, Bekić M, Vučević D, Mihajlović D, Eraković M, Čolić M. Ex vivo study of IL-6 expression and function in immune cell subsets from human periapical lesions. *Int Endod J.* 2022; 55(5):480-94.
 46. Wan CY, Li L, Liu LS, Jiang CM, Zhang HZ, Wang JX. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases during apical periodontitis development. *J Endod.* 2021; 47(7):1118-25.
 47. Čolić M, Gazivoda D, Vučević D, Vasilijić S, Rudolf R, Lukić A. Proinflammatory and immunoregulatory mechanisms in periapical lesions. *Mol Immunol* 2009; 47(1):101-3.
 48. Galler KM, Weber M, Korkmaz Y, Widbiller M, Feuerer M. Inflammatory Response Mechanisms of the Dentine-Pulp Complex and the Periapical Tissues. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(3):1480.
 49. Vara JT, Gurudu VS, Ananthaneni A, Bagalad BS, Kuberappa PH, Ponnappalli HP. Correlation of vascular and inflammatory index in oral pyogenic granuloma and periapical granuloma - an insight into pathogenesis. *J Clin Diagn Res.* 2017; 11(5):ZC25-ZC28.
 50. França GM, Carmo AFD, Costa Neto H, Andrade ALDL, Lima KC, Galvão HC. Macrophages subpopulations in chronic periapical lesions according to clinical and morphological aspects. *Braz Oral Res.* 2019; 33:e047.
 51. Li Y, Ling J, Jiang Q. Inflammasomes in alveolar bone loss. *Front Immunol.* 2021; 12:691013.
 52. Carrillo C, Penarrocha M, Ortega B, Martí E, Bagán JV, Vera F. Correlation of radiographic size and the presence of radiopaque lamina with histological findings in 70 periapical lesions. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008;66(8):1600-5.
 53. Lin LM, Huang GT, Rosenberg PA. Proliferation of epithelial cell rests, formation of apical cysts, and regression of apical cysts after periapical wound healing. *J Endod.* 2007; 33(8):908-16.
 54. Valderhaug JP. Pathogenesis of radicular cysts. *Nor Tannlaegeforen Tid.* 1971; 81(4):265-74.
 55. Plengwitthaya C, Dhanuthai K, Chantarangsu S, Ratisoontorn C. Cholesterol crystals in periapical lesions of root filled teeth. *Int Endod J.* 2019; 52(4):484-90.
 56. Dong M, Yu X, Chen W, Guo Z, Sui L, Xu Y, et al. Osteopontin promotes bone destruction in periapical periodontitis by activating the NF-κB pathway. *Cell Physiol Biochem.* 2018; 49(3):884-8.
 57. Anan H, Akamine A, Hara Y, Maeda K, Hashiguchi I, Aono M. A histochemical study of bone remodeling during experimental apical periodontitis in rats. *J Endod.* 1991; 17(7):332-7.
 58. Nikolic N, Jakovljevic A, Carkic J, Beljic-Ivanovic K, Miletic M, Soldatovic I, Andric M et al. Notch Signaling Pathway in Apical Periodontitis: Correlation with Bone Resorption Regulators and Proinflammatory Cytokines. *J Endod.* 2019;45(2):123-8.

59. Belibasakis GN, Meier A, Guggenheim B, Bostanci N. Oral biofilm challenge regulates the RANKL-OPG system in periodontal ligament and dental pulp cells. *Microb Pathog.* 2011; 50(1):6-11.
60. Tompkins KA. The osteoimmunology of alveolar bone loss. *Connect Tissue Res* 2016;57(2):69–90.
61. Takahama A Jr, Rôças IN, Faustino ISP, Alves FRF, Azevedo RS, Gomes CC et al. Association between bacteria occurring in the apical canal system and expression of bone-resorbing mediators and matrix metalloproteinases in apical periodontitis. *Int Endod J.* 2018; 51(7):738-46.
62. Salinas-Muñoz M, Garrido-Flores M, Baeza M, Huamán-Chipana P, García-Sesnich J, Bologna R, et al. Bone resorptive activity in symptomatic and asymptomatic apical lesions of endodontic origin. *Clin Oral Investig.* 2017; 21(8):2613-18.
63. Leonardi Dutra K, Haas L, Porporatti AL, Flores-Mir C, Nascimento Santos J, Mezzomo LA, et al. Diagnostic Accuracy of Cone-beam Computed Tomography and Conventional Radiography on Apical Periodontitis: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Endod.* 2016; 42(3):356-64.
64. Tanomaru JM, Leonardo MR, Silva LA, Polisele-Neto A, Tanomaru-Filho M. Histopathological evaluation of different methods of experimental induction of periapical periodontitis. *Braz Dent J.* 2008; 19(3):238-44.
65. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther.* 2007;9 Suppl 1(Suppl 1):S1. doi: 10.1186/ar2165.
66. Gazivoda D, Dzopalic T, Bozic B, et al. Production of proinflammatory and immunoregulatory cytokines by inflammatory cells from periapical lesions in culture. *J Oral Pathol Med* 2009; 38(7):605–11.
67. Kwan Tat S, Padrines M, Théoleyre S, Heymann D, Fortun Y. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004; 15(1):49-60.
68. Borges de Castilhos B, Machado de Souza C, Simas Netta Fontana MLS, Pereira FA, Tanaka OM, Trevilatto PC. Association of clinical variables and polymorphisms in RANKL, RANK, and OPG genes with external apical root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2019;155(4):529-542.
69. Stenken JA, Poschenrieder AJ. Bioanalytical chemistry of cytokines-a review. *Anal Chim Acta.* 2015; 853:95-115.
70. Kaneko N, Kurata M, Yamamoto T, Morikawa S, Masumoto J. The role of interleukin-1 in general pathology. *Inflamm Regen.* 2019;39:12. doi: 10.1186/s41232-019-0101-5.
71. Matsuo T, Ebisu S, Nakanishi T, Yonemura K, Harada Y, Okada H. Interleukin-1 alpha and interleukin-1 beta periapical exudates of infected root canals: correlations with the clinical findings of the involved teeth. *J Endod.* 1994; 20(9):432-5.
72. Wisithphrom K, Murray PE, Windsor LJ. Interleukin-1 alpha alters the expression of matrix metalloproteinases and collagen degradation by pulp fibroblasts. *J Endod.* 2006; 32(3):186-92.
73. Bletsas A, Heyeraas KJ, Haug SR, Berggreen E. IL-1 alpha and TNF-alpha expression in rat periapical lesions and dental pulp after unilateral sympathectomy. *Neuroimmunomodulation.* 2004; 11(6):376-84.
74. Yang NY, Zhou Y, Zhao HY, Liu XY, Sun Z, Shang JJ. Increased interleukin 1 α and interleukin 1 β expression is involved in the progression of periapical lesions in primary teeth. *BMC Oral Health.* 2018; 18(1):124.

75. Martinez ZR, Naruishi K, Yamashiro K, Myokai F, Yamada T, Matsuura K, et al. Gene profiles during root canal treatment in experimental rat periapical lesions. *J Endod.* 2007; 33(8):936-43.
76. Zhang J, Liu X, Wan C, Liu Y, Wang Y, Meng C, et al. NLRP3 inflammasome mediates M1 macrophage polarization and IL-1 β production in inflammatory root resorption. *J Clin Periodontol.* 2020;47(4):451-60.
77. Jakovljevic A, Miletic M, Nikolic N, Beljic-Ivanovic K, Andric M, Milasin J. Notch signaling pathway mediates alveolar bone resorption in apical periodontitis. *Med Hypotheses.* 2019; 124:87-90.
78. Cheng R, Wu Z, Li M, Shao M, Hu T. Interleukin-1 β is a potential therapeutic target for periodontitis: a narrative review. *Int J Oral Sci.* 2020; 12(1):2.
79. Sakalauskiene J, Giedrimiene D, Gleiznys D, Gleiznys A, Gleizniene R, Vitkauskiene A. Peripheral Blood Leukocytes Interleukin-1 Beta (IL-1 β) Cytokine Hyper-Reactivity in Chronic Periodontitis. *Med Sci Monit.* 2016; 22:4323-9.
80. Mei LX, Liu Z, Zhang B. IL-1alpha, IL-1beta and TNF-alpha mRNA expression in experimental periapical lesions in the rat. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue.* 2001; 10(1):16-8.
81. Panagakos FS, Jandinski JJ, Feder L, Kumar S. Effects of plasminogen and interleukin-1 beta on bone resorption in vitro. *Biochimie.* 1994; 76(5):394-7.
82. Matsumoto A, Anan H, Maeda K. An immunohistochemical study of the behavior of cells expressing interleukin-1 alpha and interleukin-1 beta within experimentally induced periapical lesions in rats. *J Endod* 1998; 24(12): 811-6.
83. Motyl S, Manfredini D, Oruba Z, Bugajska J, Sztefko K, Stós W, et al. Evaluation of interleukin-1 beta and the ratio of interleukin-1 beta to interleukin-1 receptor antagonist in gingival crevicular fluid during orthodontic canine retraction. *Dent Med Probl.* 2021; 58(1):47-54.
84. Kapoor P, Kharbanda OP, Monga N, Miglani R, Kapila S. Effect of orthodontic forces on cytokine and receptor levels in gingival crevicular fluid: A systematic review. *Prog Orthod* 2014; 15(1): 65.
85. Huang HY, Wang WC, Lin PY, Huang CP, Chen CY, Chen YK. The roles of autophagy and hypoxia in human inflammatory periapical lesions. *Int Endod J.* 2018; 51 Suppl 2:e125-e145.
86. Azuma MM, Samuel RO, Gomes-Filho JE, Dezan-Junior E, Cintra LT. The role of IL-6 on apical periodontitis: a systematic review. *Int Endod J.* 2014; 47(7):615-21.
87. Colić M, Gazivoda D, Vučević D, Vasilijić S, Rudolf R, Lukić A. Proinflammatory and immunoregulatory mechanisms in periapical lesions. *Mol Immunol.* 2009; 47(1):101-13.
88. Lin SK, Kok SH, Kuo MY, Wang TJ, Wang JT, Yeh FT, Hsiao M, Lan WH, Hong CY. Sequential expressions of MMP-1, TIMP-1, IL-6, and COX-2 genes in induced periapical lesions in rats. *Eur J Oral Sci.* 2002; 110(3):246-53.
89. Schweitzer C, Garrido M, Paredes R, Stoore C, Reyes M, Bologna-Molina R et al. Localization of interleukin-6 signaling complex in epithelialized apical lesions of endodontic origin. *Clin Oral Investig.* 2021 Jun;25(6):4075-4083.
90. Yamazaki M. TNF-alpha. *Gan To Kagaku Ryoho.* 1994; 21(15):2679-87.
91. Zheng LW, Wang WC, Mao XZ, Luo YH, Tong ZY, Li D. TNF- α regulates the early development of avascular necrosis of the femoral head by mediating osteoblast autophagy and apoptosis via the p38 MAPK/NF- κ B signaling pathway. *Cell Biol Int.* 2020; 44(9):1881-9.
92. Balkwill F. TNF-alpha in promotion and progression of cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2006; 25(3):409-16.

93. Clark IA. How TNF was recognized as a key mechanism of disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2007;18(3-4):335-43.
94. Rabinovici R, Yue TL, Vernick J, Feuerstein G. PAF and TNF alpha interactions in the pathophysiology of septic shock. *Adv Exp Med Biol.* 1991; 314:193-203.
95. Kothari N, Bogra J, Abbas H, Kohli M, Malik A, Kothari D, Srivastava S, Singh PK. Tumor necrosis factor gene polymorphism results in high TNF level in sepsis and septic shock. *Cytokine.* 2013; 61(2):676-81.
96. Idriss HT, Naismith JH. TNF alpha and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s). *Microsc Res Tech.* 2000; 50(3):184-95.
97. Takeichi O, Saito I, Tsurumachi T, Moro I, Saito T. Expression of inflammatory cytokine genes in vivo by human alveolar bone-derived polymorphonuclear leukocytes isolated from chronically inflamed sites of bone resorption. *Calcif Tissue Int.* 1996; 58(4):244-8.
98. Dessaune Neto N, Porpino MTM, Antunes HDS, Rodrigues RCV, Perez AR, Pires FR, et al. Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine expression in post-treatment apical periodontitis. *J Appl Oral Sci.* 2018; 26:e20170455.
99. Cintra LT, Samuel RO, Azuma MM, de Queiróz AO, Ervolino E, Sumida DH, de Lima VM, Gomes-Filho JE. Multiple Apical Periodontitis Influences Serum Levels of Cytokines and Nitric Oxide. *J Endod.* 2016; 42(5):747-51.
100. Xiong H, Wei L, Peng B. The Presence and involvement of interleukin-17 in apical periodontitis. *Int Endod J.* 2019; 52(8):1128-37.
101. He D, Wu L, Kim HK, Li H, Elmets CA, Xu H. CD8+ IL-17-producing T cells are important in effector functions for the elicitation of contact hypersensitivity responses. *J Immunol* 2006; 177(10): 6852-58.
102. Nakano Y, Yamaguchi M, Shimizu M, Kikuta J, Yoshino T, Tanimoto Y, et al. Interleukin-17 is involved in orthodontically induced inflammatory root resorption in dental pulp cells. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2015; 148(2):302-9.
103. Ajuz NC, Antunes H, Mendonça TA, Pires FR, Siqueira JF Jr, Armada L. Immunoexpression of interleukin 17 in apical periodontitis lesions. *J Endod.* 2014; 40(9):1400-3.
104. Yang S, Zhu L, Xiao L, Shen Y, Wang L, Peng B, et al. Imbalance of interleukin-17+ T-cell and Foxp3+ regulatory T-cell dynamics in rat periapical lesions. *J Endod.* 2014; 40(1):56-62.
105. Takahashi K, Azuma T, Motohira H, Kinane DF, Kitetsu S. The potential role of interleukin-17 in the immunopathology of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2005;32(4):369-74.
106. Legler DF, Thelen M. Chemokines: Chemistry, Biochemistry and Biological Function. *Chimia (Aarau).* 2016; 70(12):856-9.
107. Shindo S, Hosokawa Y, Hosokawa I, Shiba H. Interleukin (IL)-35 Suppresses IL-6 and IL-8 Production in IL-17A-Stimulated Human Periodontal Ligament Cells. *Inflammation.* 2019;42(3):835-40.
108. Rechenberg DK, Bostanci N, Zehnder M, Belibasakis GN. Periapical fluid RANKL and IL-8 are differentially regulated in pulpitis and apical periodontitis. *Cytokine.* 2014; 69(1):116-9.
109. Lukić A, Vojvodic D, Majstorović I, Colić M. Production of interleukin-8 in vitro by mononuclear cells isolated from human periapical lesions. *Oral Microbiol Immunol.* 2006; 21(5):296-300.
110. Colić M, Vasilijić S, Gazivoda D, Vučević D, Marjanović M, Lukić A. Interleukin-17 plays a role in exacerbation of inflammation within chronic periapical lesions. *Eur J Oral Sci.* 2007; 115(4):315-20.

111. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germfree and conventional laboratory rats. *J South Calif Dent Assoc.* 1966; 34(9):449-51.
112. Samuel RO, Ervolino E, de Azevedo Queiroz ÍO, Azuma MM, Ferreira GT, Cintra LTA. Th1/Th2/Th17/Treg Balance in Apical Periodontitis of Normoglycemic and Diabetic Rats. *J Endod.* 2019; 45(8):1009-15.
113. Jara CM, Hartmann RC, Böttcher DE, Souza TS, Gomes MS, Figueiredo JAP. Influence of apical enlargement on the repair of apical periodontitis in rats. *Int Endod J.* 2018; 51(11):1261-70.
114. Mohaved SB, Shilpa G, Li Q, Austah O, Bendele M, Brock R, Ruparel NB. Apical periodontitis-induced mechanical allodynia: A mouse model to study infection-induced chronic pain conditions. *Mol Pain.* 2020; 16:1744806919900725. doi: 10.1177/1744806919900725.
115. Howait M, Albassam A, Yamada C, Sasaki H, Bahammam L, Azuma MM, Cintra LTA, et al. Elevated Expression of Macrophage Migration Inhibitory Factor Promotes Inflammatory Bone Resorption Induced in a Mouse Model of Periradicular Periodontitis. *J Immunol.* 2019; 202(7):2035-43.
116. Palma PJ, Ramos JC, Martins JB, Diogenes A, Figueiredo MH, Ferreira P, Viegas C, et al. Histologic Evaluation of Regenerative Endodontic Procedures with the Use of Chitosan Scaffolds in Immature Dog Teeth with Apical Periodontitis. *J Endod.* 2017; 43(8):1279-87.
117. Valderhaug J. Experimentally induced periapical inflammation in permanent and primary teeth of monkeys. *Nor Tannlaegeforen Tid.* 1974; 84(10):399-403.
118. Artzi Z, Wassersprung N, Weinreb M, Steigmann M, Prasad HS, Tsesis I. Effect of guided tissue regeneration on newly formed bone and cementum in periapical tissue healing after endodontic surgery: an in vivo study in the cat. *J Endod.* 2012; 38(2):163-9.
119. Xu R, Guo D, Zhou X, Sun J, Zhou Y, Fan Y, Zhou X, et al. Disturbed bone remodelling activity varies in different stages of experimental, gradually progressive apical periodontitis in rats. *Int J Oral Sci.* 2019; 11(3):27. doi: 10.1038/s41368-019-0058-x.
120. Jansson L, Ehnevid H, Lindskog S, Blomlöf L. Development of periapical lesions. *Swed Dent J.* 1993; 17(3):85-93.
121. Tanomaru-Filho M, Jorge EG, Duarte MA, Gonçalves M, Guerreiro-Tanomaru JM. Comparative radiographic and histological analyses of periapical lesion development. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 107(3):442-7.
122. Desai AN. High Blood Pressure. *JAMA.* 2020; 324(12):1254-5.
123. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 Practice Guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. *Blood Press.* 2018; 27(6):314-340.
124. Stergiou GS, Palatini P, Parati G, O'Brien E, Januszewicz A, Lurbe E, et al. 2021 European Society of Hypertension practice guidelines for office and out-of-office blood pressure measurement. *J Hypertens.* 2021; 39(7):1293-1302.
125. Vallée A, Safar ME, Blacher J. Essential hypertension: definitions, hemodynamic, clinical and therapeutic review. *Presse Med.* 2019; 48(1 Pt 1):19-28.
126. Tziomalos K. Secondary Hypertension: Novel Insights. *Curr Hypertens Rev.* 2020;16(1):11.
127. Charles L, Triscott J, Dobbs B. Secondary Hypertension: Discovering the Underlying Cause. *Am Fam Physician.* 2017; 96(7):453-61.

128. NCD Risk Factor Collaboration. Worldwide trends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 19.1 million participants. *Lancet*. 2017; 389(10064): 37–55.
129. Elliott WJ. Systemic hypertension. *Curr Probl Cardiol*. 2007; 32(4):201-59.
130. Lovic D, Stojanov V, Jakovljević B, Krotin M, Jurisic V, Djordjevic D, Paunović K, Zdravkovic M, Simonovic D, Bastac D, Lovic B. Prevalence of arterial hypertension in Serbia: PAHIS study. *J Hypertens*. 2013; 31(11):2151-7.
131. Marinović M, Ilić N, Đokić D, Andrejević V, Damjanović G, Samardžić G, et al. Prevalenca hipertenzije kod odraslih u Šumadiji – unakrsno istraživanje. *Vojnosanit Pregl*. 2014;71(3):245-50.
132. Fuchs FD, Whelton PK. High Blood Pressure and Cardiovascular Disease. *Hypertension*. 2020; 75(2):285-92.
133. Teo KK, Rafiq T. Cardiovascular Risk Factors and Prevention: A Perspective From Developing Countries. *Can J Cardiol*. 2021; 37(5):733-43.
134. Milutinović S, Pavlović M, Tomašević M, Apostolović S, Damjanović M, Colić Z. Učestalost hipertrofije leve komore kod bolesnika sa arterijskom hipertenzijom i gojaznih bolesnika sa arterijskom hipertenzijom. *Acta Medica Medianae* 2005; 44(3): 27-30.
135. Gaasch W. Diagnosis and treatment of heart failure based on left ventricular systolic or diastolic dysfunction. *JAMA* 1994; 271(16):1276-80.
136. Levy D, Garisson R, Savage D, Kannel W, Castelli W. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham heart study. *N Eng J Med* 1990;322(22):1561-6.
137. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R. Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*. 2002;360(9349):1903-13.
138. Woodward M. Cardiovascular Disease and the Female Disadvantage. *Int J Environ Res Public Health*. 2019; 16(7):1165.
139. Hall, John E. 2015. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 13th ed. Guyton Physiology. London, England: W B Saunders.
140. Paz Ocaranza M, Riquelme JA, García L, Jalil JE, Chiong M, Santos RAS, et al. Counter-regulatory renin-angiotensin system in cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol*. 2020; 17(2):116-29.
141. Vischer AS, Burkard T. Principles of Blood Pressure Measurement - Current Techniques, Office vs Ambulatory Blood Pressure Measurement. *Adv Exp Med Biol*. 2017; 956:85-96.
142. Pazoki R, Dehghan A, Evangelou E, Warren H, Gao H, Caulfield M, et al. Genetic Predisposition to High Blood Pressure and Lifestyle Factors: Associations With Midlife Blood Pressure Levels and Cardiovascular Events. *Circulation*. 2018; 137(7):653-61.
143. Sohn K. Relationship of Smoking to Hypertension in a Developing Country. *Glob Heart*. 2018; 13(4):285-92.
144. Huntgeburth M, Ten Freyhaus H, Rosenkranz S. Alcohol consumption and hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2005; 7(3):180-5.
145. Konukoglu D, Uzun H. Endothelial Dysfunction and Hypertension. *Adv Exp Med Biol*. 2017;956:511-540.
146. Muñoz-Durango N, Fuentes CA, Castillo AE, González-Gómez LM, Vecchiola A, Fardella CE, et al. Role of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System beyond Blood

- Pressure Regulation: Molecular and Cellular Mechanisms Involved in End-Organ Damage during Arterial Hypertension. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(7):797.
147. Bollag WB. Regulation of aldosterone synthesis and secretion. *Compr Physiol.* 2014; 4(3):1017-55.
 148. Robinson AT, Edwards DG, Farquhar WB. The Influence of Dietary Salt Beyond Blood Pressure. *Curr Hypertens Rep.* 2019; 21(6):42.
 149. Konukoglu D, Uzun H. Endothelial Dysfunction and Hypertension. *Adv Exp Med Biol.* 2017;956:511-540.
 150. Chaudhary P, Pandey A, Azad CS, Tia N, Singh M, Gambhir IS. Association of oxidative stress and endothelial dysfunction in hypertension. *Anal Biochem.* 2020; 590:113535.
 151. Fisher JP, Paton JF. The sympathetic nervous system and blood pressure in humans: implications for hypertension. *J Hum Hypertens.* 2012; 26(8):463-75.
 152. Seravalle G, Grassi G. Obesity and hypertension. *Pharmacol Res.* 2017; 122:1-7.
 153. Grassi G. The sympathetic nervous system in hypertension: roadmap update of a long journey. *Am J Hypertens.* 2021; 34(12):1247-54.
 154. Scheffers IJ, Kroon AA, de Leeuw PW. Carotid baroreflex activation: past, present, and future. *Curr Hypertens Rep.* 2010; 12(2):61-6.
 155. Lewis O. Stephen Hales and the measurement of blood pressure. *J Hum Hypertens.* 1994;8(12):865-71.
 156. Calvo-Vargas CG. A centennial of two great discoveries in the history of medicine: hyperpiesis and the sphygmomanometer (1896-1996). *Gac Med Mex.* 1996; 132(5):529-34.
 157. Republička stručna komisija za izradu i implementaciju vodiča u kliničkoj praksi. Arterijska hipertenzija - nacionalni vodič dobre kliničke prakse. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Beograd, 2011.
 158. Travieso-Gonzalez A, Núñez-Gil IJ, Riha H, Donaire JAG, Ramakrishna H. Management of Arterial Hypertension: 2018 ACC/AHA Versus ESC Guidelines and Perioperative Implications. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2019; 33(12):3496-503.
 159. Sica DA. Rationale for fixed-dose combinations in the treatment of hypertension: the cycle repeats. *Drugs.* 2002;62(3):443-62.
 160. Lushchak VI. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem Biol Interact* 2014; 224:164-75.
 161. Powers SK, Radak Z, Ji LL. Exercise-induced oxidative stress: past, present and future. *J Physiol.* 2016; 594(18):5081-92.
 162. Alkadi H. A review on free radicals and antioxidants. *Infect Disord Drug Targets.* 2020;20(1):16-26.
 163. Di Meo S, Venditti P. Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. *Oxid Med Cell Longev.* 2020; 2020:9829176.
 164. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol.* 2002; 30(6):620-50.
 165. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine* 54 (2018) 287-93.
 166. Sharma GN, Gupta G, Sharma P. A Comprehensive Review of Free Radicals, Antioxidants, and Their Relationship with Human Ailments. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2018; 28(2):139-54.
 167. Kehrer JP, Klotz LO. Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for Health. *Crit Rev Toxicol.* 2015;45(9):765-98.

168. Inchingolo F, Marrelli M, Annibali S, Cristalli MP, Dipalma G, et al. Influence of endodontic treatment on systemic oxidative stress. *Int J Med Sci.* 2013; 11(1):1-6.
169. Hernández-Ríos P, Pussinen PJ, Vernal R, Hernández M. Oxidative Stress in the Local and Systemic Events of Apical Periodontitis. *Front Physiol.* 2017; 8:869.
170. Sasaki H, Yamamoto H, Tominaga K, Masuda K, Kawai T, Teshima-Kondo S, et al. Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand-induced mouse osteoclast differentiation is associated with switching between NADPH oxidase homologues. *Free Radic Biol Med.* 2009;47(2):189-99.
171. Minczykowski A, Woszczyk M, Szczepanik A, Lewandowski L, Wysocki H. Hydrogen peroxide and superoxide anion production by polymorphonuclear neutrophils in patients with chronic periapical granuloma, before and after surgical treatment. *Clin Oral Investig.* 2001; 5(1):6-10.
172. Lin SK, Kok SH, Lin LD, Wang CC, Kuo MY, Lin CT, et al. Nitric oxide promotes the progression of periapical lesion via inducing macrophage and osteoblast apoptosis. *Oral Microbiol Immunol.* 2007; 22(1):24-9.
173. Vengerfeldt V, Mändar R, Saag M, Piir A, Kullisaar T. Oxidative stress in patients with endodontic pathologies. *J Pain Res.* 2017; 10:2031-40.
174. Konoplya AI, Goldobin DD, Loktionov AL. Local immune and oxidative status in exacerbated chronic apical periodontitis. *Stomatologija (Mosk).* 2017; 96(3):26-9.
175. Prieto AKC, Gomes-Filho JE, Azuma MM, Sivieri-Araújo G, Narciso LG, Souza JC, Ciarlini PC et al. Influence of Apical Periodontitis on Stress Oxidative Parameters in Diabetic Rats. *J Endod.* 2017; 43(10):1651-6.
176. Wolle CF, Zollmann LA, Bairos PO, Etges A, Leite CE, Morrone FB, et al. Outcome of periapical lesions in a rat model of type 2 diabetes: refractoriness to systemic antioxidant therapy. *J Endod.* 2013; 39(5):643-7.
177. França LFC, Vasconcelos ACCG, da Silva FRP, Alves EHP, Carvalho JS, Lenardo DD, et al. Periodontitis changes renal structures by oxidative stress and lipid peroxidation. *J Clin Periodontol.* 2017; 44(6):568-76.
178. Berlin-Broner Y, Febbraio M, Levin L. Apical periodontitis and atherosclerosis: Is there a link? Review of the literature and potential mechanism of linkage. *Quintessence Int.* 2017;48(7):527-34.
179. Mirhafez SR, Mohebati M, Feiz Disfani M, Saberi Karimian M, Ebrahimi M, Avan A, et al. An imbalance in serum concentrations of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in hypertension. *J Am Soc Hypertens.* 2014; 8(9):614-23.
180. Martins CM, Sasaki H, Hirai K, Andrada AC, Gomes-Filho JE. Relation between hypertension and periapical lesion: an *in vitro* and *in vivo* study. *Brazilian Oral Research* 2016; 30(1): e78.
181. Rashmi N, Galhotra V, Goel P, Rajguru JP, Jha SK, Kulkarni K. Assessment of C-reactive Proteins, Cytokines and Plasma Protein Levels in Hypertensive Patients with Apical Periodontitis. *J Contemp Dent Pract* 2017; 18(6): 516-521.
182. Segura-Egea JJ, Martín-González J, Castellanos-Cosano L. Endodontic medicine: connections between apical periodontitis and systemic diseases. *Int Endod J.* 2015; 48(10):933-51.
183. Leong XF, Ng CY, Badiah B, Das S. Association between Hypertension and Periodontitis: possible mechanisms. *Scientific World Journal* 2014. doi: 10.1155/2014/768237.
184. McMaster WG, Kirabo A, Madhur MS, Harrison DG. Inflammation, immunity, and hypertensive end-organ damage. *Circ Res.* 2015; 116(6):1022-33.

185. Young KC, Hussein SM, Dadiz R, deMello D, Devia C, Hehre D, Suguihara C. Toll-like receptor 4-deficient mice are resistant to chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Exp Lung Res.* 2010; 36 (2):111–9.
186. Hou L, Sasaki H, Stashenko P. Toll-like receptor 4-deficient mice have reduced bone destruction following mixed anaerobic infection. *Infect Immun.* 2000; 68(8):4681-7.
187. Shimizu H, Nakagami H, Osako MK, Hanayama R, Kunugiza Y, Kizawa T, et al. Angiotensin II accelerates osteoporosis by activating osteoclasts. *FASEB J* 2008; 22(7): 2465-75.
188. Ji Y, Liu J, Wang Z, Liu N. Angiotensin II induces inflammatory response partly via toll-like receptor 4-dependent signaling pathway in vascular smooth muscle cells. *Cell Physiol Biochem.* 2009; 23(4-6):265-76.
189. Katz J, Rotstein I. Prevalence of Periapical Abscesses in Patients with Hypertension: A Cross-sectional Study of a Large Hospital Population. *J Endod.* 2021; 47(7):1070-4.
190. Segura-Egea JJ, Castellanos-Cosano L, Velasco-Ortega E, Ríos-Santos JV, Llamas-Carreras JM, Machuca G, et al. Relationship between smoking and endodontic variables in hypertensive patients. *J Endod.* 2011; 37(6):764-7.
191. Khalighinejad N, Aminoshariae A, Kulild JC, Mickel A. Apical Periodontitis, a Predictor Variable for Preeclampsia: A Case-control Study. *J Endod.* 2017; 43(10):1611-4.
192. Segura-Egea JJ, Jimenez-Moreno E, Calvo-Monroy C, Ríos-Santos JV, Velasco-Ortega E, Sánchez-Domínguez B, Castellanos-Cosano L, Llamas-Carreras JM. Hypertension and dental periapical condition. *J Endod* 2010; 36(11): 1800-4.
193. Milojevic Samanovic A, Jakovljevic V, Vasovic M, Mitrovic S, Rankovic M, Mihajlovic K, et al. Cardiac, biochemical and histopathological analysis reveals impaired heart function in hypertensive rats with apical periodontitis. *Int Endod J.* 2021; 54(9):1581-96.
194. Feng M, Whitesall S, Zhang Y, Beibel M, D'Alecy L, DiPetrillo K. Validation of volume-pressure recording tail-cuff blood pressure measurements. *Am J Hypertens.* 2008; 21(12):1288-91.
195. Sehirli AÖ, Aksoy U, Kermeoglu F, Kalender A, Savtekin G, Ozkayalar H, Sayiner S. Protective effect of alpha-lipoic acid against apical periodontitis-induced cardiac injury in rats. *Eur J Oral Sci.* 2019;127(4):333-9.
196. Molander A, Warfvinge J, Reit C, Kvist T. Clinical and radiographic evaluation of one- and two-visit endodontic treatment of asymptomatic necrotic teeth with apical periodontitis: a randomized clinical trial. *J Endod.* 2007; 33(10):1145-8.
197. Feldman AT, Wolfe D. Tissue processing and hematoxylin and eosin staining. *Methods Mol Biol.* 2014;1180:31-43.
198. AlShwaimi E, Berggreen E, Furusho H, Rossall JC, Dobeck J, Yoganathan S, et al. IL-17 receptor a signaling is protective in infection-stimulated periapical bone destruction. *J Immunol.* 2013;191(4):1785-91.
199. Bradic J, Jeremic N, Petkovic A, Jeremic J, Zivkovic V, Srejovic I, et al. Cardioprotective effects of *Galium verum* L. extract against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Arch Physiol Biochem.* 2020;126(5):408-15.
200. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem.* 1982;126(1):131-8.
201. Auclair C, Voisin E. Nitroblue tetrazolium reduction. In: Greenvald RA (ed) *Handbook of methods for oxygen radical research.* CRC Press Une, Boca Raton. 1985;123-32.

202. Pick E, Keisari Y. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J Immunol Methods*. 1980;38(1-2):161-70.
203. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. 1984;105:121-6.
204. Beutler E. Superoxide dismutase. In: Beutler E, eds. *Red Cell Metabolism. A manual of biochemical methods*. Philadelphia, Grune & Stratton:PA; 1984:83-5.
205. Beutler, E. Reduced glutathione (GSH). In: Beutler, E. (Ed.) *Red cell metabolism, a manual of biochemical methods*, 2nd edition. New York, USA: Grune and Stratton. 1975; pp. 112-4.
206. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods*. 2007; 39(2):175-91.
207. Fagard RH. Epidemiology of hypertension in the elderly. *Am J Geriatr Cardiol*. 2002; 11(1):23-8.
208. Zhou B, Perel P, Mensah GA, Ezzati M. Global epidemiology, health burden and effective interventions for elevated blood pressure and hypertension. *Nat Rev Cardiol*. 2021;18(11):785-802.
209. Ambati M, Rani KR, Reddy PV, et al. Evaluation of oxidative stress in chronic periodontitis patients following systemic antioxidant supplementation: a clinical and biochemical study. *J Nat Sci Biol Med* 2017; 8(1): 99-103.
210. Dal-Fabbro R, Cosme-Silva L, Rezende Silva Martins de Oliveira F, Capalbo LC, Piazza FA, Ervolino E, et al. Effect of red wine or its polyphenols on induced apical periodontitis in rats. *Int Endod J*. 2021;54(12):2276-89.
211. Conti LC, Segura-Egea JJ, Cardoso CBM, Benetti F, Azuma MM, Oliveira PHC, et al. Relationship between apical periodontitis and atherosclerosis in rats: lipid profile and histological study. *Int Endod J*. 2020;53(10):1387-97.
212. Brilhante Wolle CF, de Aguiar Zollmann L, Etges A, Vitalis GS, Leite CE, Campos MM. Effects of the antioxidant agent tempol on periapical lesions in rats with doxorubicin-induced cardiomyopathy. *J Endod*. 2012;38(2):191-5.
213. Hasiakos S, Gwack Y, Kang M, Nishimura I. Calcium Signaling in T Cells and Chronic Inflammatory Disorders of the Oral Cavity. *J Dent Res*. 2021;100(7):693-9.
214. Teixeira FFC, Cardoso FGR, Ferreira NS, Corazza BJM, Valera MC, Nascimento GG, et al. Effects of calcium hydroxide intracanal medications on T helper (Th1, Th2, Th9, Th17, and Tfh) and regulatory T (Treg) cell cytokines in apical periodontitis: a CONSORT RCT. *J Endod*. 2022:S0099-2399(22)00307-7.
215. Cotti E, Dessì C, Piras A, Mercurio G. Can a chronic dental infection be considered a cause of cardiovascular disease? A review of the literature. *Int J Cardiol*. 2011;148(1):4-10.
216. Bergandi L, Giuggia B, Alovisi M, Comba A, Silvagno F, Maule M, et al. Endothelial Dysfunction Marker Variation in Young Adults with Chronic Apical Periodontitis before and after Endodontic Treatment. *J Endod*. 2019;45(5):500-6.
217. Vidal F, Fontes TV, Marques TV, Gonçalves LS. Association between apical periodontitis lesions and plasmatic levels of C-reactive protein, interleukin 6 and fibrinogen in hypertensive patients. *Int Endod J*. 2016;49(12):1107-15.
218. Kurihara N, Bertolini D, Suda T, Akiyama Y, Roodman GD. IL-6 stimulates osteoclast-like multinucleated cell formation in long term human marrow cultures by inducing IL-1 release. *J Immunol*. 1990;144(11):4226-30.
219. Martinho FC, Chiesa WM, Leite FR, Cirelli JA, Gomes BP. Correlation between clinical/radiographic features and inflammatory cytokine networks produced by macrophages stimulated with endodontic content. *J Endod*. 2012;38(6):740-5.

220. Teixeira QE, Ferreira DC, da Silva AMP, Gonçalves LS, Pires FR, Carrouel F, et al. Aging as a Risk Factor on the Immunoexpression of Pro-Inflammatory IL-1 β , IL-6 and TNF- α Cytokines in Chronic Apical Periodontitis Lesions. *Biology (Basel)*. 2021;11(1):14.
221. Pagliaro P, Penna C. Hypertension, hypertrophy, and reperfusion injury. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2017;18(3):131-5.
222. Angeli F, Verdecchia P, Pellegrino C, Pellegrino RG, Pellegrino G, Prosciutti L, et al. Association between periodontal disease and left ventricle mass in essential hypertension. *Hypertension*. 2003;41(3):488-92.
223. Aarabi G, Schnabel RB, Heydecke G, Seedorf U. Potential Impact of Oral Inflammations on Cardiac Functions and Atrial Fibrillation. *Biomolecules*. 2018;8(3):66.
224. Palacios I, Powers E, Powell WJ Jr. Effect of end-diastolic volume on the canine left ventricular ejection fraction. *Am Heart J*. 1985;109(5 Pt 1):1059-69.
225. Lockhart PB, Bolger AF, Papapanou PN, Osinbowale O, Trevisan M, Levison ME, et al. Periodontal disease and atherosclerotic vascular disease: does the evidence support an independent association?: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2012 May;125(20):2520-44.
226. Wung SF. Bradyarrhythmias: Clinical Presentation, Diagnosis, and Management. *Crit Care Nurs Clin North Am*. 2016;28(3):297-308.
227. Chauhan N, Mittal S, Tewari S, Sen J, Laller K. Association of Apical Periodontitis with Cardiovascular Disease via Noninvasive Assessment of Endothelial Function and Subclinical Atherosclerosis. *J Endod*. 2019;45(6):681-90.
228. Cotti E, Zedda A, Deidda M, Piras A, Flore G, Ideo F, et al. Endodontic infection and endothelial dysfunction are associated with different mechanisms in men and women. *J Endod*. 2015;41(5):594-600.
229. Antonela B, Dragomir D, Liana L, Luminita M, Radu C. Analysis of hematological and oxidative stress parametera in the evaluation of experimentally induced periapical lesions. *Human and Veterinary Medicine* 2015; 7(3): 162-167.
230. Barcelos RCS, Rosa HZ, Roversi K, Tibúrcio-Machado CDS, Inchaki PT, Burger ME, et al. Apical periodontitis induces changes on oxidative stress parameters and increases Na⁺/K⁺-ATPase activity in adult rats. *Arch Oral Biol*. 2020;118:104849.
231. Tsosura TV, Dos Santos RM, Chaves Neto AH, Chiba FY, Carnevali ACN, Mattera MSLC, et al. Maternal apical periodontitis increases insulin resistance and modulates the antioxidant defense system in the gastrocnemius muscle of adult offspring. *J Endod*. 2021; 47(7):1126-31.

СКРАЋЕНИЦЕ

AP - нормотензивни пацови са присуством периапикалних лезија
C - нормотензивни пацови без присуства периапикалних лезија
CAT - каталаза
CF - коронарни проток
CPP - коронарни перфузиони притисак
DLVP - дијастолни притисак леве коморе
DNK - дезоксирибонуклеинска киселина
HMGB1 - протеин Б1 групе високе покретљивости
dp/dt max - максимална стопа промене притиска у левој комори
dp/dt min - минимална стопа промене притиска у левој комори
DTNB - 5,5-дитио-бис-6,2-нитробензоевом киселином
EDTA - етилендиаминтетраацетат
ELISA - ензимски имуносорбентни тест
GSH - редуковани глутатион
H₂O₂ - водоник пероксид
HR - срчана фреквенца
HRP - horse radis peroxidase
HRPO - катализована ензимом пероксидаза из коњске ротквице
IFN γ - интерферон гама
LTB₄ - леукотријен В₄
mmHg - милиметар живиног стуба
MMP – матрикс металопротеиназе
NBT - нитро плаво тетразолијум
NEDA - N-(1-нафтил)-етилендиамин дихидрохлорид
NF- κ B - нуклеарни фактор капа-бета лиганда
NO - азот моноксид
NO⁻ - азот моноксид у форми нитрита
O₂⁻ - супероксид анјон радикал
OPG - остеопротегерин
PA - периапикалне лезије
PRS - фенол црвени
RANKL - рецепторски активатор за нуклеарни фактор каппа- β лиганда
ROS - реактивне врсте кисеоника
SHR - спонтанохипертензивни пацови без присуства периапикалних лезија
SHR+AP - спонтанохипертензивни пацови са присуством периапикалних лезија
SLVP - систолни притисак леве коморе
SOD - супероксид дизмутаза
TBA - тиобарбитурна киселина
TBARS - индекс липидне пероксидације
TCA - трихлорсирћетна киселина
TLR4 - Toll-like receptor 4
TMB - тетраметилбенизидин
TNF α - фактор туморске некрозе алфа
TRAP - тартат резистентна кисела фосфатаза
X \pm SD - средња вредности \pm стандардна девијација

БИОГРАФИЈА

Анђела Милојевић Шамановић, рођена је 16.09.1986. године у Крагујевцу. Основну и средњу медицинску школу са домом ученика "Сестре Нинковић", Крагујевац, смер зубни техничар завршила је са одличним успехом. Стоматолошки факултет, Универзитета у Београду уписала је 2005. године, а дипломирала 2011. године. Након завршених студија, обавила је редовану стручну праксу на Војномедицинској академији у Београду и положила стручни испит у марту 2013. године пред комисијом Министарства здравља Републике Србије. Докторске академске студије, уписала је на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу 2012/2013. Од 2014-2017. године запослена је била у Заводу за стоматологију, Крагујевац.

Од јула 2019. године запослена је у Заводу за стоматологију Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу у звању доктора стоматологије, а од 2020. године у звању сарадника у настави за обављање послова у оквиру наставе за ужу научну област Стоматолошка протетика, на студијском програму Интегрисаних академских студија стоматологије. Од децембра 2019. године је на специјалистичким студијама из области Стоматолошка протетика, Факултета медицинских наука у Крагујевцу. Активно се бави научно-истраживачким радом и члан је Центра за претклиничка и функционална истраживања, Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Члан је Стоматолошке коморе Србије.

До сада је у научним часописима публиковала осам радова категорије М20 и осам радова категорије М50. Учесник је Јуниор пројеката под називом: „Анализа декубиталних промена оралне слузокоже код носиоца мобилних зубних надокнада - серија случајева“ и „Анализа фактора ризика за настанак увећања гингиве код пацијената на хроничној терапији амлодипином“ финансираног од стране Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Анђела Милојевић Шамановић, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

"Повезаност оксидационог стреса и периапикалних лезија код хипертензивних пацова"

која је одбрањена на _____
Универзитета у Крагујевцу представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,
- да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу _____, 11.05.2022. године,

Анђела Милојевић Шамановић
потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Анђела Милојевић Шамановић,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

"Повезаност оксидационог стреса и периапикалних лезија код
хипертензивних пацова"

која је одбрањена на _____

Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу _____, 11.05.2022. године,

Анђели Милојевић Шитановић
потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>