

Универзитет "Св. Кирил и Методиј"
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - СКОПЈЕ
Клиника за орална хирургија

Андоновска А. Билјана

**ПРОЦЕНКА НА ВЛИЈАНИЕТО НА МАТРИКС-
МЕТАЛОПРОТЕИНАЗИТЕ КАЈ ХРОНИЧНИТЕ
ПЕРИАПИКАЛНИ ПРОЦЕСИ**

- МАГИСТЕРСКИ ТРУД -

Скопје, 2006 година

Универзитет "Св. Кирил и Методиј"
стоматолошки факултет - скопје
Клиника за орална хирургија

Андоновска А. Билјана

ПРОЦЕНКА НА ВЛИЈАНИЕТО НА МАТРИКС-
МЕТАЛОПРОТЕИНАЗИТЕ КАЈ ХРОНИЧНИТЕ
ПЕРИАПИКАЛНИ ПРОЦЕСИ

- магистерски труд -

Скопје, 2006 година

УНИВЕРЗИТЕТ "Св. Кирил и Методиј"
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - СКОПЈЕ
КЛИНИКА ЗА ОРАЛНА ХИРУРГИЈА

Андоновска А. Билјана

**ПРОЦЕНКА НА ВЛИЈАНИЕТО НА МАТРИКС-
МЕТАЛОПРОТЕИНАЗИТЕ КАЈ ХРОНИЧНИТЕ
ПЕРИАПИКАЛНИ ПРОЦЕСИ**

- МАГИСТЕРСКИ ТРУД -

Скопје, 2006 година

УНИВЕРЗИТЕТ "Св. КИРИЛ И МЕТОДИЈ"
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - СКОПЈЕ
КЛИНИКА ЗА ОРАЛНА ХИРУРГИЈА

Андојовска А. Биљна

- МАГИСТЕРСКИ ТРУД -

МЕНТОР: доц. д-р Борис Величковски

Комисија за одбрана:

1. Проф. д-р Марија Накова - Клиника за болести на уста и ендодонтот, Стоматолошки факултет
2. Доц. д-р Сашо Панов - Институт за биологија, Природно математички факултет
3. Доц. д-р Борис Величковски - Клиника за орална хирургија, Стоматолошки факултет

Благодарност

Со посебно задовољство и почит, ја користам оваа можности да изразам глабока и искрена благодарност на мојот ментор док. д.т.н. Борис Великовски за драгоцената помош, спречините совети и научните упатства при изработката на магистерскиот труџ.

Искрена благодарност чуствувам и кон проф. д.р. Накова Марија која како член на ревизионата комисија прidonесе за успешна реализација на овој труџ.

Реализацијата на овој магистерскиот труџ не може да биде овозможена без спречината помош и несебитното замагање на док. д.р. Сашо Панов, кој со својот професионален пристап овозможи да се реализира оваа магистерска работа во лабораторија за молекуларна биологија на Природно математички факултет. Од ова произлегува и мојата глабока и најискрена благодарност кон него.

За ограничениот вложен труџ при стапатистичката обработка и анализа на добиените резултати, искрена благодарност чуствувам кон проф. д.р. Жанета Попеска од Институтот за информатика на Природно математички факултет.

Ја користам оваа можности да ја изразам мојата искрена благодарност кон ас. и.р. Чена Џимова за несебитната помош, спречините забелешки и толиките здорови на поддршка на кои наидувам како нејзин ученик и соработник. Посебна благодарност чуствувам кон неа затоа што учите како стручјеници ме воведе и им создаде љубов кон научно истражувањето.

Толемо благодарим чуствувам кон колегите од Клиниката за срдечна хирургија и Клиниката за болести на забитие и ендодонтоти за укажаната спречна помош и несебитна соработка при собирането на материјалот неоглажден за спроведување на истражувањето.

Најдомно чуство на благодарност чуствувам до моите родители, проф. д.р. Невенка Андоновска и проф. д.р. Александар Андоновски, за нивната безрезервна љубов, правилната насока во животот, разбирањето и поддршката што им добив за време на моето школување и изработка на магистерскиот труџ.

Бијана Александар Андоновска

АПСТРАКТ

Проценка на влијанието на матрикс-металопротеиназите кај хроничните периапикални процеси

Матрикс металопротеиназите (ММР) претставуваат протеолитички ензими способни за деградација на речиси сите компоненти на екстрацелуларниот матрикс и базалната мембрана. Оваа група ензими имаат значајна улога во ремоделирањето и растот на здравото ткиво, како и улога во многу деструктивни патолошки процеси, како на пример, при воспалението, туморите и нивните метастази.

Респектирајќи ги бројните литературни стручно-научни податоци кои ја потенцираат улогата на ММР при хроничните периапикални процеси, формулирани се и целите на овој труд:

- да се изврши квантитативно определување на ткивните нивоа на колагеназите (ММР-1, -8 и -13) во воспалителните ткива кај хроничните пулпитиси и кај хроничните периапикални процеси, со ензимски метод.
- да се определи зависноста меѓу концентрацијата на колагеназите (ММР -1, -8 и -13) со степенот на ткивната деструкција на испитуваниот материјал (пулпата и периапикалното ткиво) како и карактерот и разликите меѓу периапикалните лезии.
- да се детерминира корелацијата меѓу концентрацијата на колагеназите (ММР -1, -8 и -13) во хроничните периапикални процеси и нивната големина пресметана преку софтверска предикција според рендгенограмот.

За реализација на поставените цели беа опфатени вкупно 80 пациенти од обата пола. При тоа беа формирани 3 испитувани групи:

- ❖ Прва група од 50 пациенти кај кои клинички и рендгенолошки е верифицирано постоење на хроничен периапикален процес. Пациентите од оваа група се поделени во три подгрупи во зависност од поставената клиничка дијагноза:

- 20 пациенти со дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa s. granulom*
- 20 пациенти со дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica diffusa s. progresiva*
- 10 пациенти со дијагноза *Cistis radicularis*
- ❖ Втора група од 20 пациенти кај кои е поставена дијагноза *Pulpitis chronica*.
- ❖ Трета (контролна) група од 10 пациенти кај кои е поставена дијагноза *Dens impacta*.

Врз основа на добиените резултати, дојдовме до сопствени сознанија и заклучоци за улогата и важноста на колагеназите (MMP-1, -8 и -13) при прогресија на воспалението и деструкцијата на ткивото кај хроничните периапикални процеси.

Експресивноста и активноста на MMP во здравото ткиво се сосема ниски. Измерената концентрација на колагеназите (MMP-1, -8 и -13) во здравото ткиво на пулпата од импактираните трети молари варираше во граници од 0,00 ng/mL до 0,02 ng/mL.

Концентрацијата на колагеназите (MMP-1, -8 и -13) во хронично воспаленото ткиво на пулпата кај хроничниот пулпит беа во граници од 0,1-1,28 ng/mL, што укажува на фактот дека воспалителниот процес сè уште е локализиран само на ткивото од пулпата, т.е. не го афектирало и периапикалното сврзно ткиво. Различната концентрација на колагеназите (MMP-1, -8 и -13) кај хроничните периапикални процеси од различен воспалителен тип, потврди постоење на висока сигнификантна разлика меѓу хроничните периапикални процеси со различна клиничка дијагноза, што укажува на нивната различна активност. Најголеми вредности на концентрацијата на MMP беа регистрирани кај случаите со дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica diffusa*.

Различната концентрација на MMP кај хроничните периапикални процеси од различен воспалителен тип беше зависна од состојбата на третираниот заб, односно дали забот е предходно ендодонтски лекуван или не.

Анализата на податоци за отсъството или присъството на симптоми поврзани со клиничката дијагноза кај испитуваната група со хроничен периапикален процес, покажа дека постои значајна сигнификантна

попречност меѓу симптомите и клиничката дијагноза. Не постои поврзаност меѓу симптомите и клиничката дијагноза. Не постои статистички сигнификантна поврзаност на симптоматичноста на хроничниот периапикален процес со концентрацијата на MMP меѓу различните клинички дијагнози кај пациентите со хронична периапикална лезија. Од друга страна во ткивото добиено од симптоматските случаи беше детектирана поголема концентрација на MMP.

Статистички заначајна поврзаност беше констатирана меѓу концентрацијата на MMP и радиографската величина на хроничниот периапикален процес. Постоеше тенденција, концентрацијата на MMP кај помалите лезии да е помала и обратно, поголемите лезии имаат поголема концентрација на MMP, што е правопропорционално со ширење на лезијата и деструкција на коскеното ткиво.

Со целосен респект кон конвенционалните методи кои се користат во секојдневната стоматолошка пракса, овој магистерски труд отвори нови можности кон еден современ метод за дијагностиирање на хроничните воспалителни периапикални процеси и мониторинг на воспалителната активност на ткивото, базирани врз деструктивната улога на колагеназите (MMP-1, -8 и -13) во склоп на воспалителниот процес, кој е директно зависен од концентрацијата на MMP во патолошки променетото периапикално ткиво.

Клучни зборови: хронични периапикални процеси, протеолитички ензими, MMP, екстрацелуларен матрикс, колаген, колагенази, ресорпција на коска.

A B S T R A C T

Evaluation of influence of matrix metalloproteinases in chronic periapical process

Matrix metalloproteinases (MMP) are proteolytic enzymes capable of degrading almost all extracellular matrix and basement membrane components. This group of proteolytic enzymes plays an important role in normal tissue remodeling and growth, as well as in many destructive pathological conditions, such as inflammation, tumor growth and metastasis.

With respect to other literature findings that underline the role of collagenases (MMP-1, -8, 13) in chronic periapical process, aims of this study are formulated as follows:

- to accomplish quantitative measurement of tissue levels of collagenases (MMP-1, -8, 13) in chronic tissues of chronic pulpitis and chronic periapical process, with enzyme method.
- to determine the dependence between collagenases (MMP-1, -8, 13) with the degree of tissue destruction of examination material (pulp and periapical tissue), as well as, character and differences between periapical lesions.
- to determine the correlation between concentration of collagenases (MMP-1, -8, 13) in chronic periapical process and their dimension calculated with software predilection through X-ray.

In order to accomplish these goals, we investigated 80 patients both male and female, and formed three groups:

The first group contained 50 patients in which clinically and radiologically is verified the existence of chronic periapical process. Patients from this group are divided in to three subgroups depending from clinical diagnosis:

- 20 patients with clinical diagnosis *Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa s. granulom,*
- 20 patients with clinical diagnosis *Parodontitis periapicalis chronica diffusa s. progresiva,*
- 10 patients with clinical diagnosis *Cistis radicularis.*

The second group contained 20 patients with clinical diagnosis *Pulpitis chronica.* The third (control) group contained 10 patients with clinical diagnosis *Dens impacta.*

On the basis of obtain results we came to our own achievement and

conclusions about the roll and the importance of collagenases (MMP-1, -8, 13) during the progression of inflammation and destruction of tissue in chronic periapical process. Expression and activity of MMP in normal tissue are very low. The measured concentration of collagenases (MMP-1, -8, 13) in normal tissue of pulp from impacted third molars was from 0,00 ng/mL to 0,02 ng/mL. The concentration of collagenases (MMP-1, -8, 13) in chronically inflammation tissue of the pulp in *Pulpitis chronica* was from 0,1-1,28 ng/mL, which means that inflammation process is still localized only in tissue of pulp and had not affected periapical connective tissue. Different concentration of collagenases (MMP-1, -8, 13) in chronic periapical process from different inflammation type confirmed the high significant difference between chronic periapical processes with different clinical diagnosis, which shows their different activity. The biggest values of concentration of MMP were registered in cases with diagnoses *Parodontitis periapicalis chronica diffusa*.

Different concentration of MMP in chronic periapical process from different inflammation type was dependent from the teeth if it was endodontic treated or not. Analyzes of data for the absence or presence of the symptoms connected to clinical diagnosis in investigated group with chronic periapical process shows that there is a significant difference between symptoms and clinical diagnosis. There was no statistical significant connection of symptomatic of chronic periapical process with concentration of MMP between different clinical diagnoses in patients with chronic periapical process. On the other hand in tissue from the symptomatic cases was detected higher concentration of MMP. Significant statistical connection was registered between concentration of MMP and radiographic values of chronic periapical process. There was a tendency, concentration of MMP in smaller lesions to be smaller and opposite, bigger lesions to have bigger concentration of MMP, which is proportional with spreading of the lesion and destruction of bone tissue.

With respect to conventional methods that are present in every day dental practice, this work opens new opportunities to one contemporary method for diagnostic of the chronic periapical process and monitoring of inflammation activity of the tissue, based on destructive role of collagenases (MMP-1, -8, 13) in inflammation process which is directly dependent from the concentration of MMP in pathologic changed tissue.

Key words: chronic periapical process, proteolytic enzymes, MMP, extracellular matrix, collagen, collagenases, and resorption of the bone.

ПОСТАНОВЛЕНИЕ ПОДАЧИ



"BEFORE OPERATING" READ YOUR INSTRUCTION MANUAL

При работе с любым устройством, перед его включением, внимательно изучите инструкцию по эксплуатации.

• Тщательно изучите инструкцию по эксплуатации (руководство пользователя).

• Ознакомьтесь

• Составьте

• Руководство-Быстрая Водка (руководство пользователя)

ЛИСТА НА КРАТЕНКИ И ОЗНАКИ

- AAP** - акутен апикален периодонтитис
- BM** - basal membrane (базална мембрана)
- BSA** - bovin serum albumin (говедски серум албумин)
- ECM** - extracellular matrix (екстрацелуларен матрикс)
- EDTA-Na₂** - натриумова сол на етилендиаминтетраоцетна киселина
- HAP** - хроничен апикален периодонтитис
- IL** - interleukin (интерлеукин)
- LPS** - lipopolysaccharide (липополисахард)
- MMP** - matrix metalloproteinase (матрикс-металопротеиназа)
- MMP-1** - matrix metalloproteinase-1 (колагеназа-1)
- MMP-13** - matrix metalloproteinase-13 (колагеназа-2)
- MMP-8** - matrix metalloproteinase-8 (колагеназа-3)
- MT- MMP** - membrane type - matrix metalloproteinase
(мембранны тип-матрикс металопротеинази)
- PMN** - polymorphonuclear leukocyte (полиморфонуклеарни леукоцити)
- PMSF** - фенилметилсулфонил-флуорид
- TIMP** - tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (ткивен инхибитор на матрикс-металопротеиназите)
- TNF** - tumour necrosis factor (тумор некрозен фактор)
- Ob** - остеобласти
- Oc** - остеокласти
- PBS** - Phosphate-Buffered Saline (фосфатен пулфер)

СОДРЖИНА

Вовед	1
1. ТЕОРИСКИ ОСНОВИ	4
1. 1. Етиологија и патогенеза на периапикалните процеси.....	5
1. 2. Класификација на периапикалните процеси	11
1. 3. Екстрацелуларен матрикс	13
1.3.1. Колагени	13
1.3.2. Деградација на колагенот	15
1.3.3. Коскено ткиво	16
1.3.4. Ресорпција на коска	17
1. 4. Матрикс - металопротеинази (ММР)	19
1. 4. 1. Колагенази	22
1. 4. 2. Регулација на активноста на ММР	25
1. 4. 3. Инхибиција на ММР.....	29
2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА	33
3. ЦЕЛИ НА ТРУДОТ	44
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА ИСПИТУВАЊЕ	48
4. 1. Материјал - истражувачки примерок	49
4. 2. Методи на работа.....	50
4. 3. Лабораториски испитувања	53
4. 4. Статистичка обработка на резултатите	60
5. РЕЗУЛТАТИ	61
5. 1. Анализа на структурата на истражувачкиот материјал.....	62
5. 2. Резултати добиени од клиничките испитувања	68
5. 3. Резултати добиени од лабораториските испитувања	83
6. ДИСКУСИЈА	102
7. ЗАКЛУЧОК	119
8. ЛИТЕРАТУРА	123

Од други боку, кога јадејте по-тешките храни, то искажувајују да имате тешкиот дистрибуциони проблем и физичките проблеми, ако имате храните коишто да ги поддржате - дадете им вако да "спасате" проблемите коишто имате. Иако некој даде некоја храна противопротивото може да биде и да узрокува и не желејте тоа.

ВОВЕД

Вовед

Од времето кога е откриена бактериската природа на голем број орални заболувања, со децении истражувањата се насочувани кон борбата против бактериите кои се кријат позади заболувањето. Иако улогата на факторите кои партиципираат во прогресијата на периапикалното воспаление и некрозата на ткивото на пулпата не е во целост разјаснета сепак, факторите поврзани со домаќинот може да бидат клучни за фундаментално разбирање на многу орални заболувања. Еден од факторите на домаќинот е и фамилијата на ензими означена како матрикс-металопротеинази (*MMP-matrix metalloproteinase*).

Голем број на физиолошки и патолошки процеси во голема мера се зависни од јасно контролираната протеолитичка деградација на екстрацелуларниот матрикс (ECM - extracellular matrix). Серин протеазите, вклучувајќи го и плазминоген активатор/плазмин системот и матрикс-металопротеиназите, претставуваат две протеазни фамилии кои заедно ги кatabолизираат сите гликопротеински, протеогликански и колагенски компоненти на ECM.

Од друга страна, голем број на студии го потврдуваат фактот дека, ткивниот деструктивен процес е интерактивен, при кој имуните цитокини може да предизвикаат другите клетки да експресираат протеолитички ензими. Имено, може да се каже дека протеолитичките ензими се неопходни за деградација на компонентите од ECM.

Протеолитичките ензими врз основа на нивното дејство врз таргет молекулите може да се поделат во четри различни класи: серин-протеинази, матрикс-металопротеинази, аспартин-протеинази и цистеин-протеинази. Оваа класификација е базирана врз нивниот механизам на дејство, кој пред се, зависи од структурата на катализички активната страна на ензимот.

Главни спроводни патишта одговорни за деградацијата на ECM се: MMP-, плазмин-, полиморфонуклеарните леукоцитни- и серин-протеиназни зависни патишта.

Бактериите и нивните продукти може да делуваат при воспалението на ткивото, преку регулација на продукцијата на цитокините и преку спроводниот пат да ја зголемат експресијата на MMP, или директно да ги стимулираат клетките да продуцираат MMP.

MMP се фамилија на структурно слични, но генетски различни ензими кои ги разградуваат компонентите на ECM и базалната мембрана (BM- basal membrane). Оваа група од 23 хумани ензими е класифицирана на колагенази, желатинази, стромелизини, мембранны тип на MMP и други MMP, главно врз основа на специфичноста на супстратот и молекуларната структура.

Во здравото ткиво, деградацијата и синтезата на компонентите од ECM се во постојан баланс. За да се овозможи и одржи оваа состојба, постои ниско базично ниво на експресија на одредени MMP, а притоа ензимската активност е прецизно контролирана. Воспалителните цитокини, хормоните, факторите на раст и клеточните интеракции, ја стимулираат експресијата на овие ензими преку промените во транскрипцијата. Нивната активност е регулирана преку локалните активатори како што се, на пример, плазминот и специфичните инхибитори на MMP, ткивните инхибитори на матрикс-металопротеиназите (TIMP - tissue inhibitors of matrix metalloproteinase).

MMP имаат значајна улога во голем број на физиолошки процеси, партиципирајќи во процесирањето на одредени супстанции, во ембрионалниот развој, развојот на ткивата, заздравувањето на раната, како и во патолошките процеси како што се, на пример, туморите, артритисот, хроничните периапикални процеси, фиброзата и голем број други процеси.

Биолошката активност на MMP може да биде регулирана на ниво на транскрипција на генот, активација и инактивација на ензимите. Активноста на MMP е контролирана преку промените во специфичниот биланс меѓу експресијата и синтезата на MMP и нивните бројни ендогени инхибитори, ткивните инхибитори на матрикс-металопротеиназите. Каталитичката компонента на MMP е контролирана преку активацијата на проензимите и преку инхибиција на активацијата или активноста од страна на TIMP.

Иако егзактната улога на одделни MMP во различните заболувања не е целосно разјаснета, сосема е јасно дека MMP многу почесто ги регулираат процесите заедно во групи, формирајќи активациони каскади како при воспалителните така и при малигните заболувања. Треба да се истакне дека

Бактериите и нивните продукти може да делуваат при воспалението на ткивото, преку регулација на продукцијата на цитокините и преку спроводниот пат да ја зголемат експресијата на MMP, или директно да ги стимулираат клетките да продуцираат MMP.

MMP се фамилија на структурно слични, но генетски различни ензими кои ги разградуваат компонентите на ECM и базалната мембрана (BM- basal membrane). Оваа група од 23 хумани ензими е класифицирана на колагенази, желатинази, стромелизини, мембранны тип на MMP и други MMP, главно врз основа на специфичноста на супстратот и молекуларната структура.

Во здравото ткиво, деградацијата и синтезата на компонентите од ECM се во постојан баланс. За да се овозможи и одржи оваа состојба, постои ниско базично ниво на експресија на одредени MMP, а притоа ензимската активност е прецизно контролирана. Воспалителните цитокини, хормоните, факторите на раст и клеточните интеракции, ја стимулираат експресијата на овие ензими преку промените во транскрипцијата. Нивната активност е регулирана преку локалните активатори како што се, на пример, плазминот и специфичните инхибитори на MMP, ткивните инхибитори на матрикс-металопротеиназите (TIMP - tissue inhibitors of matrix metalloproteinase).

MMP имаат значајна улога во голем број на физиолошки процеси, партиципирајќи во процесирањето на одредени супстанции, во ембрионалниот развој, развојот на ткивата, заздравувањето на раната, како и во патолошките процеси како што се, на пример, туморите, артритисот, хроничните периапикални процеси, фиброзата и голем број други процеси.

Биолошката активност на MMP може да биде регулирана на ниво на транскрипција на генот, активација и инактивација на ензимите. Активноста на MMP е контролирана преку промените во специфичниот биланс меѓу експресијата и синтезата на MMP и нивните бројни ендогени инхибитори, ткивните инхибитори на матрикс-металопротеиназите. Каталитичката компонента на MMP е контролирана преку активацијата на проензимите и преку инхибиција на активацијата или активноста од страна на TIMP.

Иако егзактната улога на одделни MMP во различните заболувања не е целосно разјаснета, сосема е јасно дека MMP многу почесто ги регулираат процесите заедно во групи, формирајќи активациони каскади како при воспалителните така и при малигните заболувања. Треба да се истакне дека

прекумерна продукција на ММР се случува при многу ткивни деструктивни воспалителни и автоимуни заболувања.

Како и кај сите деструктивни воспалителни и автоимуни заболувања така и кај инфламираното дентално ткиво на пулпата и хроничните периапикални процеси можни се мошне големи промени во активноста на ММР. Несомнено, детекцијата на нивото на ММР може да се искористи како за мониторинг на инфламаторната активност, така и за развој на нов начин на дијагностицирање на периапикалните процеси што е и причина повеќе да се зафатиме со нашите истражувања.

I. ТЕОРИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ

I. ТЕОРИСКИ ОСНОВИ

La nostra ricerca ha dimostrato che le donne con un'esperienza di violenza sono più propensi a presentare sintomi depressivi e ansiosi, se confrontate con donne senza storia di violenza (Alessandri, Padova, 2007).

1. ТЕОРИСКИ ОСНОВИ

1. 1. Етиологија и патогенеза на периапикалните процеси

Предизното познавање на анатомската градба и функцијата на ткивото во оралната празнина, каде може да се развијат различни форми на патолошки процеси, претставува неопходен предуслов на најдобар можен начин да се согледаат патогенетскиот механизам на создавање и текот на патолошките процеси, како и развојот на клиничката слика и можните компликации. Овие параметри се од големо значење за правилната проценка на стадиумот на болеста, планот на терапија или соодветниот оперативен пристап на патолошката лезија.

Според Petrović⁷⁰, хроничниот периапикален процес претставува одбрамбена и деструктивна воспалителна реакција на периапикалното сврзно ткиво на штетните дразби кои потекнуваат од каналот на коренот на забот инволвирајќи го и околното коскено ткиво кое го опколува апексот на забот.

Todorović и спор.¹⁰⁴ ги дефинираат периапикалните процеси како патолошка промена настаната на врвот од коренот на авиталните заби, кога некротичната содржина од каналот на коренот, вршејќи постојана иритација во апикалниот предел, условува појава на хронично воспаление.

Слична дөфиниција за хроничните периапикални процеси дава и Wahlgren J.¹¹⁶, според кој тие претставуваат неспецифична воспалителна реакција настаната под дејство на различните агенси од коренскиот канал на авиталните заби.

Просторот исполнет со ткиво, кој од една страна е ограничен со сидот на алвеолата, а од друга со цементот од коренот на забот, се означува како периодонциум (Arajalahti⁴, Petrović⁷⁰).

Во градбата на пародонциумот учествуваат гингивата, периодонталниот лигамент, цементот и алвеоларната коска. Периодонциумот во апикалниот предел на забот претставува сврзно ткиво кое се протега меѓу

коренот на забот и алвеоларната коска, чија основна функција е да го фиксира забот во алвеоларната коска. Периодонциумот е изграден од сврзни влакна меѓу кои се наоѓаат паралелно распространети клетки од формативен и одбрамбен карактер, односно во составот на периодонциумот влегуваат влакна, различни типови на клетки, крвни и лимфни садови и нерви. Колагените влакна кои ја сочинуваат главната маса во периодонциумот се производ на фиброцитите. Еден дел од колагените влакна, прераспределени во снопчиња, со едниот крај се во врска со виличната коска, со перистот (во областа на алвеолата), други со гингивата, прераспределени околу *foramen apicale*. Колагените влакна, кои со едниот крај се инсерираат во алвеоларната коска, а со другиот во пародонциумот, се познати како Шарпеови влакна.

Периодонциумот треба да се свати како динамичен систем кој, во физиолошка смисла, континуирано се обновува и поседува мошне изразен репараторен и одбрамбен потенцијал (*Wahlgren J.*¹¹⁶).

Етиологијата на периапикалните процеси е мултикаузална. Покрај фактот дека хроничниот периапикален процес, било да е од неинфекцијивна природа (супраоклузија, дентална траума, термички дразби, неправилна ендодонтска терапија, штетни агенси од денатурирано ткиво на организмот, присуство на туѓо тело), или е резултат на инфекција што е последица на нелекуваниот кариес, сепак, битна улога за неговото создавање имаат микробите и нивните продукти (*Bergenholtz G.*⁹, *Dung & Liu*¹⁹).

Според *Neville и сор.*⁶³ иритацијата и повредата на пулпата води кон воспаление наречено *пулпитис*. Патологијата на пулпата може да се рангира од локална инфламација (реверзилен *пулпитис*) до иреверзилен *пулпитис* кој може понатаму да продолжи во целосна некроза на коренскиот канал. Нетретираниот *пулпитис* може да води кон некроза на пулпата, придружена со инфекција на коренските канали и конечно да доведе до апикален *периодонтитис*, деструктивна инфламаторна состојба околу апексот на афектираниот заб. Доколку апикалната инфламација не се елиминира може да предизвика неколку состојби како што се, на пример, периапикален гранулом, периапикален апцес, периапикална циста и остеомиелитис.

Повредата на ткивото на пулпата предизвикува клеточно оштетување и ослободување на неспецифични проинфламаторни медијатори како што се, на пример, хистаминот, брадикининот, неурокинините, неуропептидите и

простагландините. Овие медијатори предизвикуваат вазодилатација, зголемен прилив на крв, ексудативна формација и појава на өдем (Takahashi⁹⁶).

Ако воспалението не се третира и бактериите го запоседнат кавумот и ткивото на пулпата, конечно ќе дојде до појава на апикален периодонтитис, кој претставува одбрамбена и деструктивна воспалителна реакција која го инволвира и околното коскено ткиво кое го опколува апексот на забот (Wahlgren¹¹⁶).

Воспалителната реакција во апикалниот периодонциум е прва и најзначајна промена која се развива како последица на штетното влијание на бактериската содржината од коренскиот канал. Ова периапикално воспаление може да се развие во акутна или хронична форма, што ќе зависи од должината на траење на дразбата, од бројот и видот на микроорганизмите и од степенот на нивната вирулентност, како и од одбрамбените механизми на домакинот (Takahashi⁹⁷).

Кај акутниот апикален периодонтитис (AAP), пулпата е иреверзibilно инфламирана или некротична и содржи полиморфонуклеарни клетки (PMN-polymorphonuclear leukocyte) и моноцити/макрофаги. Ресорпцијата на коската и коренот не е доволно екстендирана за да биде радиографски детектирана (Jian Ma³⁶).

Според Neville и сор.⁶³ доколку нетретираниот AAP премине во хроничен апикален периодонтитис (ХАП) ќе дојде до некроза на пулпата и инвазија на бактерискиот токсин во апикалата зона. Одбранбените механизми реагираат на овој бактериски канален ексудат и се формира одбранбена гранулациона зона. Со перзистенција на бактериите во коренскиот канал е овозможена пропагација на инфекцијата, при што се зафаќаат соседните анатомски структури (коската, пародонциумот, меките ткива) и во тој случај лезијата прогресира во апцес со или без фистула (Neville и сор.⁶³).

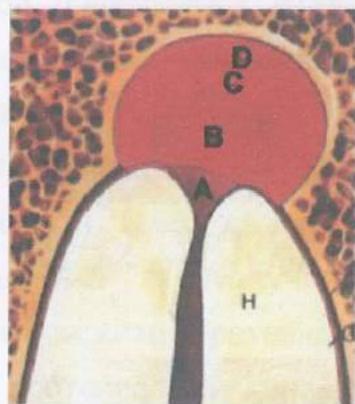
Спред Márton & Kiss⁵⁴ имуниот воспалителен процес кај апикалниот пародонтитис е двоен. Од една страна одбрамбениот одговор има за цел да ја спречи бактериската инвазија во апексот на забот и околното коскено ткиво, а од друга страна одбрамбениот механизам води кон деструкција на ткивните компоненти на забот.

Во основа, хроничните периапикални процеси претставуваат воспалена реакција која се карактеризира со формирање на грануломатозно

ткivo чија функција истовремено е и одбрамбена (воспалителна) и продуктивна (ресурсивна).

Според Spatafore и сор.⁹⁰ во почетната фаза, хроничниот периапикален процес хистолошки се карактеризира со хиперемија и едем на периодонциумот, со инфильтрација на хронични воспалителни клетки, првенствено лимфоцити и плазма клетки. Во подоцнежната фаза од развојот, инфламацијата и локално зголемената васкуларизација доведуваат до ресорпција на врвот од коренот на забот. Пролиферацијата на фибробластите и јндотелните клетки, настануваат по ресорпцијата на коската, заедно со формирањето на ситни васкуларни канали и бројни влакна на сврзнатото ткivo. Во ткивото доаѓа до акумулација на холестеролски кристали кои претставуваат карактеристична појава за цистите. Преминувањето на грануломот во циста се одвива постепено и е пропратено со процентуално зголемување на епителот и постепен развој на дефинитивен лumen (*Tegonop и сор.*¹⁰⁰).

Активноста на сврзнатото ткivo е најизразена на периферијата од периапикалниот процес, каде кондензацијата на колагени влакна предизвикува одвојување на гранулационото ткivo од коската (Spatafore и сор. ⁹⁰). Во капсулата на периапикалниот процес присутен е епител кој може да биде од различно потекло (Malassez-ови епителни остатоци, орален епител и многу поретко респираторен епител кој се јавува во случај на комуникација со синусната празнина).



Сл. 1. Зони на ширење на воспалението кај хроничните периапикални процеси (Rashedi⁷⁷)

Големината на периапикалната лезија е зависна од балансот меѓу микроорганизмите и нивните токсини насочени против одбрамбените механизми на организмот (Rashedi⁷⁷). **Зоната на воспаление (A)** кај периапикалниот

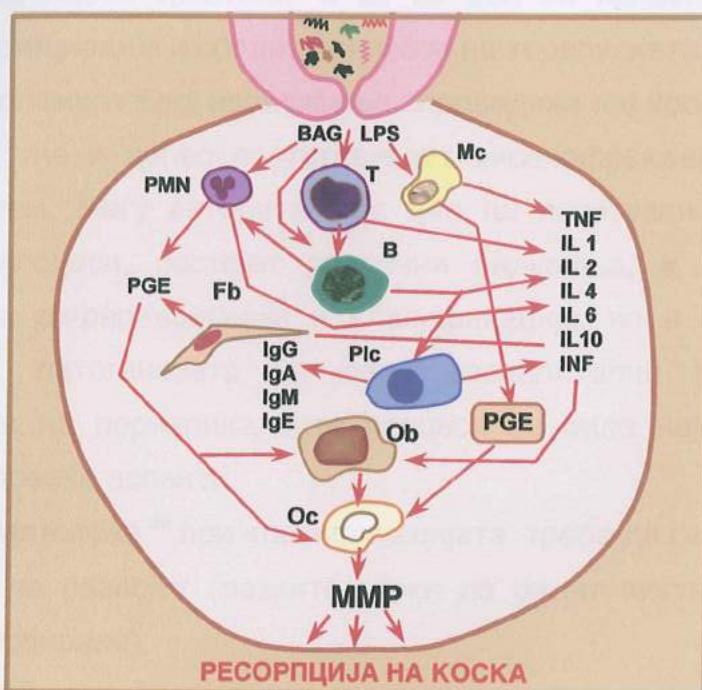
процес содржи PMN клетки кои линеарно се поставени во вид на мембрана со цел да ја спречат бактериската инвазија (слика 1). Овие клетки присутни во пределот на *foramen apicale* ослободуваат лизозомални ензими, кои пак предизвикуваат некроза. Следниот слој е **зоната на контаминација (B)**, афектирана од дифузни антигени и иританси кои потекнуваат од коренскиот канал со доминација на плазма клетките и лимфоцитите. Непосредно до овој слој е **зоната на иритација (C)** каде остеокластите и макрофагите претставуваат доминантни клетки. Макрофагите имаат способност да го отстранат и уништат клеточниот дебрис присутен во оваа зона како резултат на недостаток на антигени од коренскиот канал. Над овој слој е **зоната на стимулација (D)** која ја сочинуваат млади фибробласти и остеобласти продуцирајќи фиброзна капсула околу лезијата.

Воспалителниот процес и ткивната деструкција кај ХАП се карактеризираат со сличен феномен како кај периодонтитисот, провоциран од страна на путативни периодонтопатогени бактерии (*Tenvahartia* и сор.¹⁰¹). Бидејќи овие бактерии секогаш се присутни кај периодонтитисот, логично е да се заклучи дека, колагеназите при периодонталното заболување потекнуваат од бактериски извори. Оралните бактерии го откочуваат ослободувањето и активацијата на MMP од страна на PMN клетки. Бактериите (стрептококи од групата *Streptococcus mutans*, *sanguis*, *mitis* и *salivarius*), *Bacteroides gingivalis* и грам позитивните анаероби (*Lactobacillus* и *Propionibacterium*) и нивните продукти, може да делуваат при воспалението на ткивото, преку регулација на продукцијата на цитокините и преку спроводниот пат да ја зголемат експресијата на MMP или директно да ги стимулираат клетките да продуцираат MMP (*Vu & Werb*¹¹⁵). Треба да истакнеме дека во најголем број случаи во активацијата на MMP *in vivo* учествуваат ткивните и плазма протеиназите како и бактериските протеинази. За време на ткивната деградација, бактериските протеинази ги конвертираат проMMP во нивните активни форми, притоа постоејќи можност тоа да претставува ограничувачки чекор во деградацијата на ткивото.

Како и кај пародонтитисот, така и кај апикалниот периодонтитис, MMP, особено нивната активација има стожерна улога во деструкцијата на периапикалното ткиво, поради што *Sorsa* и сор.⁸⁹, *Ingman* и сор.³², *Márton & Kiss*⁵⁴ и *Wahlgren*^{116,117,118,119} ги сметаат за клучни биохемиски маркери на

хроничните периапикални процеси. Очигледно е дека во деструкцијата на коската кај ХАП, покрај останатите механизми кои учествуваат во овој процес и MMP имаат деструктивна улога (слика 2).

На слика 2 е прикажана сложена мрежа од ткивни реакции против бактериските продукти кај хроничниот периапикален процес. Првата бариера која ја спречува бактериската инвазија низ *foramen apicale* е обезбедена од PMN клетки, кои со активна фагоцитоза, ефективно ја одржуваат примарната фагоцитна одбрамбена фаза и ослободуваат антигени, кои пак, делуваат како хемотактични стимулси и ги поттикнуваат другите клетки да партинципираат во воспалителната реакција. Покрај учеството во фагоцитозата, PMN клетките ослободуваат MMP и други хидролитички ензими.



Сл. 2. Коскено-деструктивни механизми кај хроничниот периапикален процес
(Márton & Kiss⁵⁴, 2000)

BAG: бактериски антигени, LPS: липополисахариди, PMN: полиморфонуклеарни леукоцити, T: Т-лимфоцити, В: В-лимфоцити, Mc: макрофаги, Fb: фибробласти, Plc: плазма клетки, Ob: остеобласти, Oc: остеокласти, TNF: тумор некрозен фактор, IL: интерлеукин, INF: интерферон, Ig: имуноглобулин, PGE: простагландин, MMP: матрикс-металопротеинази.

При дигестија на бактеријата, PMN клетки ги оштетуваат и околните ткивни компоненти преку секреција на MMP, особено на MMP-8. PMN клетки, индуцирани од бактериските продукти или токсини, може да ослободат проинфламаторни цитокини кои автоматски ги стимулираат PMN клетките да

ослободат MMP. Плазма клетките, кои по PMN клетките влегуваат во инфламираното ткиво, ги секретираат имуноглобулините и ги експресираат MMP-8 и MMP-13.

1. 2. Класификација на периапикалните процеси

Класификацијата како дидактички поим, подразбира поделба на хроничните периапикални процеси врз основа на етиолошките, клиничките или тераписките карактеристики, а сè со цел за полесно препознавање, сигурно дијагностицирање и соодветен избор на тераписката постапка.

Покрај големиот број испитувања спроведени кај хроничните периапикални процеси, тие и денес претставуваат високофреквентен, актуелен и сериозен проблем. Меѓу авторите чија цел на испитување се хроничните периапикални процеси, постојат различни видувања, и тоа не само за терминолошката диференцијација и класификација, но и за суштината на етиологијата и патогенезата на овие воспалителни процеси. Имено, класификацијата на периапикалните процеси би била најпрецизна ако се земат предвид повеќе аспекти.

Според Матовска⁵⁶ при класификацијата треба да се земе предвид:

1. текот на развојот (лезиите може да бидат акутни, хронични или егзацербирани),
2. етиолошките фактори за нивното настанување (од инфективна, хемиска или термичка природа, како и секвела на механичка траума),
3. нивната локализација.

Wein¹²¹ нуди една од долго присутните и релативно прифатените класификации на периапикалните лезии:

- A. Периапикална остеосклероза (*osteitis sclerosans*);
- B. Почетен хроничен апикален пародонтит (*incipient chronic apical parodontitis*);
- B. Развиен хроничен апикален пародонтит (*advanced chronic apical parodontitis*). Кој од страна може да биде:

1. Периапикален гранулом (periapical granuloma);
2. Хроничен периапикален апцес (chronical periapical absces);
3. Периапикална циста (periapical cysticum).

Врз основа на рендгенолошките анализи и комбинацијата од анамнестички податоци и клинички преглед, Petrović⁷¹ ја предлага следнава класификација:

1. Parodontitis periapicalis acuta:
 - serosa;
 - purulenta
2. Parodontitis periapicalis chronica:
 - fibrosa
 - granulomatosa s. granulom
 - diffusa s. progresiva
3. Parodontitis chronica in exacerbationem.

Нема никаков сомнек дека највалидна и најверодостојна класификација е онаа која се базира на патохистолошкиот наод. Патохистолошката поделба на периапикалниот процес е можна, се разбира, по хистолошкиот преглед, кога е можно да се определи и доминантната форма и содржината на клетките, а врз основа на тоа може да се дефинира и видот на периапикалната лезија, кој се определува од хистолошката градба на лезијата и степенот на клеточниот инфильтрат. Секако треба да се има предвид дека патохистолошката слика на хроничните периапикални промени се менува и истите треба да се разгледуваат како динамичен патохистолошки ентитет.

Врз основа на хистолошките наоди Spatafore и спор.⁹⁰ во класификацијата на периапикалните лезии ги вбројуваат и периапикалните лузни на коската, кои се карактеризираат како ткиво изградено од колаген т.е. како хипоцелуларно фиброзно ткиво.

Денес периапикалните процеси се означуваат под името "хронични периапикални инфламаторни лезии" кои се создаваат на врвот од коренот на авиталните заби и се дефинирани како неспецифична воспалителна реакција на апикалниот предел настаната под дејство на различните агенси од коренскиот канал на забот. Од овие причини многу автори сугерираат да се прифати класификација на хроничните периапикални инфламаторни лезии што ја нудат Spatafore и спор.⁹⁰ 1990, според која овие лезии се делат на:

- периапикален гранулом
- радикуларни цисти
- периапикална лузна
- останати лезии.

Да истакнеме дека при секоја класификација треба да се имаат предвид динамичните промени на сознанијата во медицината поради што и одделните карактеристики на лезиите попримаат нови обележја. Меѓутоа, не треба да се заборави и фактот дека, одделните класификации се базираат врз определбата на авторот кои критериуми ќе ги зема за доминантни. Имено, во основата на секоја класификација, централно место треба да завземе подигањето на нивото на целокупните сознанија за хроничните периапикални процеси, кое претставува стожер за обезбедување нивна поуспешна терапија.

1. 3. Екстрацелуларен матрикс

Елементите кои влегуваат во градба на периодонциумот меѓусебно се поврзани со основна екстрацелуларна супстанца означена како, **екстрацелуларен матрикс**.

Екстарцелуларниот матрикс е од големо значење за обезбедување на простор неопходен за клеточна миграција, делба, диференцијација, за опстанок или смрт на клетките (*Apaldo и спр.¹*). Строго регулираната контрола на хомеостазата на ECM се остварува преку дејството на специфична класа на протеолитички ензими, означени како матрикс-металопротеинази.

1.3.1. Колагени

Според *Persikov & Brodsky*⁶⁸ колагените претставуваат најбогати екстрацелуларни протеини кај човекот, а досега се идентификувани 20 различни типови. Колагените се изградени од стотина аминокиселини, при кои глицинот (Gly) е локализиран во секој повторувачки Gly-X-Y триплет од аминокиселинската секвенца. Овие аминокиселински триплети формираат единечен синцир, кој претставува најмала структурна единица на колагенот. Заедно трите синцири формираат троен хеликс на мономерен колаген.

Мономерните колагени се организираат во 3/4 колагено влакно, кое се стабилизира преку интермолекуларни врски. Во ткивата, влакната се организираат во колагени јазли и мрежа од колагени влакна.

Колагените се карактеризираат со релативна резистентност кон протеолизата предизвикана од неспецифични протеинази, поради нивната ковалентна фибриларна структура и структура на троен хеликс (*Barkhordar*⁸). Колагените го одржуваат структурниот интегритет на ткивото кај човекот и обезбедуваат механичка сила (табела. 1.1).

Табела. 1.1. Компоненти на екстрацелуларниот матрикс кај забот и неговиот потпорен апарат (Jian Ma³⁶, 2004)

Колаген	Тип I	Тип III	Други компоненти
Гингива	80-85% ¹	< 3% ¹	Фибронектин, ламинин, тенасцин, 6% еластин
Периодонтален лигамент	84% ²	15 % ³	Колаген V, VI, VII < 1% ³ , гликопротеини, еластин
Цемент	90% ⁴	< 5% ⁴	Коскен сијалопротеин, остеокалцин, остеопоетин
Алвеоларна коска	95% ⁶	многу малку ⁵	Неколагени протеини 5% (остеокалцин, остеонектин) ⁶

¹Schroeder and Page, 1990; ²Butler et al, 1975; ³Delaisse and Vaes, 1990; ⁵SLI, 2000;

⁴Birkedal-Hansen et al, 1977; ⁵Ross et al., 1995; ⁶Freeman, 1994.

Екстрацелуларниот матрикс ги афектира клетките преку клеточни рецептори познати под името интегрини. Интегрините претставуваат хетеродимерични гликопротеини.

Самиот екстрацелуларен матрикс од дентинот, ткивото на пулпата и алвеоларното коскено ткиво, се приспособува на клеточните функции, растот, промените во формата на клетката, миграцијата и диференцијацијата, преку контрола на клеточната адхезија. ECM влијае врз клеточното однесување преку поддржување на молекулските сигнали, како што се, факторот на раст и врзувачките протеини на факторот на раст, притоа делувајќи како лиганди (молекул кој се врзува за друг молекул) за клеточните рецептори, вклучувајќи

ти интегрините кои може да го пренесат сигналот кон внатрешноста на клетката. MMP го раскинуваат ECM и ослободуваат биоактивни клеточни ензими молекули. Овие протеолитички ензими ја регулираат активноста на факторот за раст, преку раскинување на протеините од ECM, кои пак, може да се врзат со нив. Различни MMP го деградираат декортинот, мал протеин (колаген-асоциран), кој се врзува за TGF- β и може да ослободи TGF- β како "секундарен ефект" за да ја оствари својата биолошка функција. Од друга страна, според Sternlicht & Werb⁹³, Uitto и сор.¹⁰⁶, ослободувањето на TGF- β има негативен фитбек врз продукцијата на MMP.

1.3.2. Деградација на колаген

Деградацијата на колагенот е од витално значење кај голем број на заболувања како, на пример, реуматоидниот артритис, малигните заболувања, периимплантитисот, периодонтитисот, а според голем број на автори (Birkedal-Hansen и сор.^{11,12} и Domeij и сор.¹⁸) има круцијална улога и кај хроничните периапикални лезии. Според Van der Zee и сор.¹¹⁰ познати се два пата на деградација на колагенот: *интрацелуларен* и *екстракелуларен* пат.

Интрацелуларниот пат на деградација на созреаниот колаген претставува главен спроводен пат за доведување на колагенот во физиолошка состојба. Екстракелуларниот пат, пак, зазема главна улога при патолошките состојби кои ги вклучуваат MMP.

Страните на деградацијата на колагенот се поделени на: *внатрешна* и *надворешна страна на раскинување на хеликсот*. Внатрешната страна на раскинување на колагенот, која се раскинува од страна на фибробластниот тип на колагеназа (подоцна означена како MMP-1), за првпат е описана во 1962 година од страна на Gross & Lapierre²⁶. Таа се карактеризира со способност за иницијално раскинување на врската помеѓу Gly⁷⁷⁵-Leu/Ile⁷⁷⁶ од тројниот хеликс на типот I, II и III колаген. Раскинувањето на оваа врска резултира со создавање на 3/4 и 1/4 деградациони фрагменти на колагенот. При физиолошка температура на телото, двата деградациони фрагменти на колагенот спонтано подлегнуваат на транзиција на хеликсот, и притоа се денатурираат во нехелични желатински дериивати. Понатаму желатинот

репидно е деградиран од страна на MMP-1 или од MMP-2 и MMP-9. Имено, MMP-1 (и другите колагенази) имаат улога на гранични ензими во протеолизата на колагенот.

1.3.3. Коскено ткиво

Според *Jian Ma*³⁶ коската претставува динамично ткиво во кое континуирано се одвива ремоделирачки процес каде ресорпцијата и депозицијата на коската се во постојан баланс. При појава на воспалителен процес во коската, овој баланс се нарушува и се фаворизира губитокот на коска.

Според *Petrović & Čolić*⁷¹ коскеното ткиво претставува високо диференцирано потпорно сврзно ткиво во кое меѓу колагено-фибриларната основа, внатре во мекуклеточната супстанца, се присутни калциумови соли.

Во состав на коската влегуваат калцифицираниот екстрацелуларен матрикс и клетките. Органската компонента ја претставуваат колагените влакна (тип I колаген) и основната супстанца (кератин сулфат, хондроитин сулфат, хијалуронска киселнина). На неорганскиот дел отпаѓаат 65%. Влакната од типот I колаген се имбибирани во комплекс од калциум и фосфат кој формира хидроксиапатит $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$.

Остеобластите, кои потекнуваат од периостеумот и ендостеумот, се лоцирани на надворешната страна од коската или од внатрешната страна на коската во близина на коскената срцевина. Тие ослободуваат и депонираат тип I колаген, и неколагени протеини околу самите нив. Преминувањето на овој вид остеобласти во остеокласти, се случува при нивното имбиирање во коската. Во коската, остеокластите формираат лакуни во цврстиот и минерализиран матрикс, комуницирајќи меѓу себе преку цитоплазматски продолжетоци локализирани во коскените каналикули.

Остеокластите претставуваат мултинуклеарни џиновски клетки кои содржат вакуоли и лизозоми. Површината на остеокластите формира набрана граница која содржи голем број на превои, создавајќи надворешен пласт на површината од коската. Коскената ресорпција се одвива преку активноста на Одговорните клетки - остеокластите. Според *Jian Ma*³⁶ формирањето на цврста врска и набрана граница претставува индикација за активноста на остеокластите. Овој регион создава субостеокластичен дел (Howship-ова

лагуна), во кој pH се намалува. Кислородните јони, создадени од јаглеродната дехидратација, внатре во остеокластите, предизвикуваат кисело разградување на кристалите од хидроксиапатит во субостеокластичниот дел.

Holliday и сор.³¹ сметаат дека органскиот матрикс последователно подлегнува на протеолиза преку дејството на **катепсин K** или **колагеназите** или, пак, од обата кои се карактеризираат со способност да го хидролизираат типот I колаген. Овој процес резултира со формирање на ресорптивни јами.

1.3.4. Ресорпција на коска

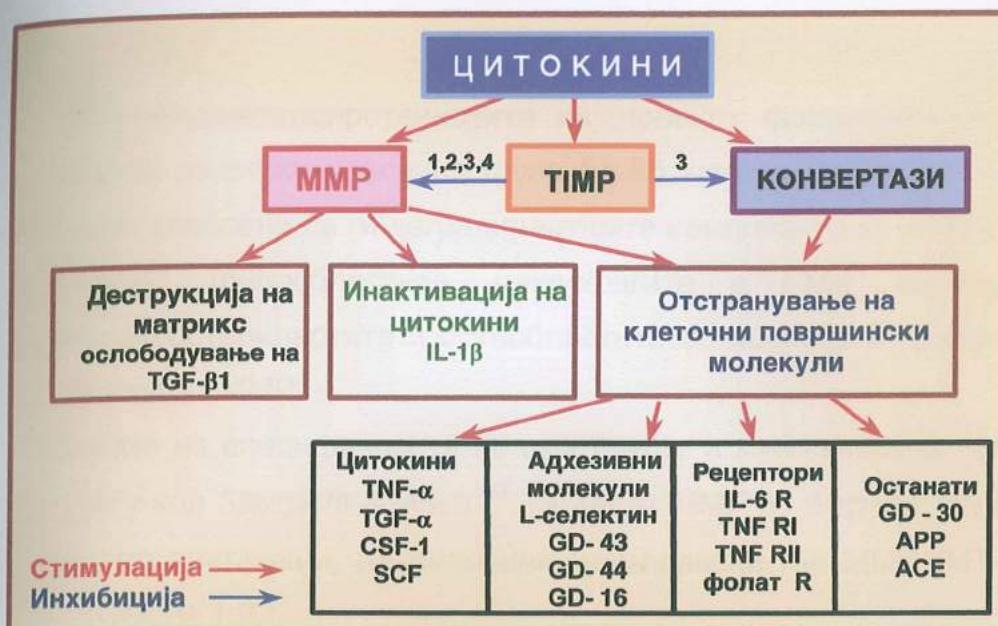
Ресорпцијата на коската претставува главен индикатор преку кој се следат фазите на пропагација или репарација на периапикалните лезии. Нејзиното значење е од осебена важност за дијагностиката, а притоа може да се проследи или како несакан и штетен ефект од одговорот на домаќинот или како позитивна реакција при која коската е отстранета од ризичната област за да се создаде тампон зона каде ќе се ослободи простор за делување на конституентите на одбраната (*Jian Ma*³⁶).

Постојат повеќе фактори кои имаат стимулирачки ефект врз ресорпцијата на коскеното ткиво. Овие стимулирачки фактори вклучуваат бактериски компоненти, главно липополисахариди (LPS), на пример, ендотоксин и кратки синцирести масни киселини ослободени во апикалната зона, како и супстанци добиени од забот. Одбрамбениот систем на домаќинот ги стимулира ткивно-деструктивните реакции преку ослободување деривати на арахидонската киселина (простагландини и леукотреини) за време на фагоцитозата како и други клеточно медијаторски инфламаторни фактори, цитокините и MMP.

*Stashenko*⁹² укажува на можната улога на имуните цитокини кај ХАП, способни да ја забрзаат коскената ресорпција (слика 3).

Инфламаторните цитокини ја регулираат експресијата на MMP (O'Boskey и сор.⁶⁴). Активацијата на клетките под дејство на цитокините, исто така може да доведе до зголемено процесирање на MMP, од неактивни зигомени во активни ензими. Цитокините и нивните рецептори имаат улога на супстрати при делувањето на MMP. Проинфламаторниот IL-1 β го раскинуваат

и инактивираат MMP-1, -2, -3 и -9 (Arteze и сор.⁵). Голем број на мембронско-врзани цитокини, рецептори и адхезивни молекули при дејство на MMP се ослободуваат од површината на клетките.



Сл. 3. Поврзаност на MMP со цитокините при ресорпција на коскеното ткиво
(Stashenko⁹², 1990)

Lemer⁴⁸, Márton & Kiss⁵⁴ докажуваат дека и други плазма протеини како, на пример, компонентите на комплементот, брадикининот, каликреинот и тромбинот и акутно-фазните рејктанти добиени од дилатираните крвни садови се присутни за да ја стимулираат ресорпцијата на коската.

Голем број автори, Arteze и сор.⁵, Piattelli и сор.⁷², Barkhordar⁸, Miller и сор.⁵⁹, сметаат дека, како одговор на стимулсот, моноцитите/макрофагите, плазма клетките, фибробластите, епителните и ендотелните клетки, PMN клетки, остеобластите и остеокластите кај периапикалниот периодонтитис може да создадат коскено ресорптивни цитокини IL-1 α и IL-1 β , TNF- α и IL-6.

Во целост не е разјаснето кој од овие матрикс-металопротеинази, MMP-1 или MMP-9 ја иницираат остеокластичната коскена ресорпција.

Holliday и сор.³¹ сметаат дека MMP-1 од остеокластите е потребна за да ја иницира ресорпцијата на коската, додека MMP-9 е инволвиран во регрутацијата на остеокластите на страната на ресорпција. Најновите литературни сознанија ја потврдуваат улогата на MMP-9 при коскеното ремоделирање.

1. 4. Матрикс-металопротеинази (MMP)

Mатрикс-металопротеиназите кај човекот формираат структурно слична, меѓутоа генетски различна група од 25 хумани Ca^{2+} и Zn^{2+} - зависни ендопептидази способни да ги деградираат сите компоненти на ECM и BM.

Епителот, фибробластите, макрофагите и PMN леукоцити, се детектирани во остеокластите и остеобластите во коската и претставуваат клеточни извори на MMP.

Врз база на специфичноста на супстратот и хомологијата, голем број на автори меѓу кои Sternlicht & Werb⁹³, ги делат MMP во 6 групи: колагенази, желатинази, стромелизини, матрилизини, мембрански-тип MMP (MT-MMP) и други MMP (табела 1.2.).

MMP се ослободуваат како биолошки латентни проензими т.е. како ензимски прекурсори, во кои пропептидниот цистеин се врзува со сулфидната група за активната страна од цинковиот јон бидејќи четвртиот лиганд го содржи местото за откачување на цистеинот.

Сите MMP со исклучок на MMP-23 се експресираат и преведуваат со амино-терминален пептиден сигнал, кој го откачува протеинот од ендоплазматскиот ретикулум и најголем дел од нив бидуваат секреирани.

По сигналниот пептид, во состав на MMP влегува високо конзервиран продомен, кој генерално го содржи ензимот во проензимска форма, и каталитичкиот домен одговорен за хидролиза на супстратот и автолитичко раскинување на молекулите на MMP. Каталитичкиот домен содржи цинков јон кој е врзан за три хистидини, а во неактивна форма за цистеин резидуите до продоменот. За ензимската активност и стабилност на каталитичкиот домен потребни се дополнителен структурен цинков јон (Zn^{2+}) и 2-3 калциумови јони (Ca^{2+}). Во сите секреирани MMP, со исклучок на MMP-7 и -26, каталитичкиот домен е придрожен со С-терминален хемопексин или витронектин домен, придонесувајќи како за врзувањето на TIMP, така и за протеолитичката активност и мембранска активација. Кај MT-MMP С-терминалниот домен ги припојува молекулите до плазматската мембрана (слика 4).



Сл. 4. Структурно-зависно субгрупирање на MMP (Sternlicht & Werb⁹³)

Варијабилни структури домени на MMP. Сите MMP имаат сигнален пептид кој предизвикува секреција на MMP, пропептиден домен (кој содржи конзервирана Cys резидуа) и катализички домен

MMP се инволвирани во голем број на физиолошки процеси, на пример, овулатијата, имплантацијата на ембрионот, развојот на ткивата и органите, формирањето на нервите, ангиогенезата, заздравувањето на раната и коскеното ремоделирање. Нормалниот ембрионален развој и ткивното ремоделирање наложуваат контролиран баланс меѓу синтезата и деградацијата на ECM, како и рамнотежа меѓу MMP и нивните природни инхибитори TIMP (Kugler⁴⁴). MMP имаат значајна улога во регулацијата на клеточната комуникација, молекуларното откинување и имуната функција преку процесирањето на биоактивни молекули вбројувајќи ги клеточните површински рецептори, цитокините, хормоните, адхезионите молекули и факторите на раст. MMP може да модулираат многу различни супстрати вклучувајќи ги интерлеукините и други цитокини, серин-протеазните инхибитори (серпини), факторите на раст и хемокини.

Прекумерната продукција на MMP се случува при многу ткивни деструктивни патолошки состојби. MMP имаат мошне големо влијание врз ткивните деструктивни инфламаторни и автоимуни заболувања, на пример, реуматоидниот артритис, остеоартритисот, аортна анеуризма, периодонтитисот, кожните заболувања, белодробните заболувања, очните заболувања и хроничните улцерации. MMP исто така ги афектираат туморите учествувајќи при нивниот раст, инвазивност и метастазите.

1.2. Матрикс-металопротеинази кај човекот (Visse & Nagase¹¹⁴, 2003)

	MMP	Име	Супстрати <i>in vitro</i>
Желатинази	MMP-1	Колагеназа-1, интерстицијална колагеназа, фибробластна колагеназа	Агрекан, колаген I-III, VII, VIII, X, XI, Ln-1, желатин, фибронектин, ламинин, фибрин, фибриноген, FN, тенасцин, α_2 -макроглобулин, IL-1 α , IL-1 β , протNF- α , протMMP-1,2 и -9
	MMP-8	Колагеназа-2, неутрофилна колагеназа	Агрекан, колаген I-III, фибриноген, желатин, α_2 -макроглобулин, брадикин
	MMP-13	Колагеназа-3	Колаген I, II, III, IV, VI, IX, X, XIV, колагенички телопептиди, желатин, фибронектин, тенасцин-C, агрекан, фибриноген, α_2 -макроглобулин, протMMP-9
	MMP-2	Желатиназа А, 72 kDa желатиназа / тип IV колагеназа	Колаген I, II, III, IV, VI, IX, X, XIV, желатин, ламинин, эластин, фибронектин, α_2 -макроглобулин, IL-1 β , протNF- α , латентен TGF- β , протMMP-1,-2 -9 и 13
	MMP-9	Желатиназа Б, 92 kDa желатиназа / тип IV колагеназа , тип IV колагеназа	Колаген IV, V, XI, XIV, желатин, ламинин, эластин, фибронектин, α_2 -макроглобулин, IL-1 β , протNF- α
	MMP-3 MMP-10 MMP-11 MMP-12	Стромелизин-1 Стромелизин-2 Стромелизин-3 Металоеластаза	Колаген III, IV, V, VII, IX, X, XI, желатин, эластин, фибронектин, ламинин, агрекан, декортин, перлецин, версицин, α_2 -макроглобулин, IL-1 β , протNF- α , фибриноген, протMMP-3, -7 -8, -9 и 13
Матрилизини	MMP-7 MMP-26	Матрилизин-1 Ендометаза, матрилизин-2	агрекан, колаген I, VII, эластин, Ln-1, остеонектин, колаген IV
Мембранныи тип MMP (MT-MMP)	MMP-14 MMP-15 MMP-16 MMP-24	MT1-MMP MT2-MMP MT3-MMP MT5-MMP	Агрекан, колаген I-III, ентацин, фибрилин, желатин, Ln-1,-5, фактор XII, фибрин, фибриноген
GPI-тип MMP	MMP-17 MMP-25	MT5-MMP MT6-MMP	фибрилин, FN, желатин, протTNF α колаген IV, FN, желатин, фибрин
Други MMP	MMP-18 MMP-19 MMP-20 MMP-21 MMP-22 MMP-23 MMP-27 MMP-28	Колагеназа-4(<i>Xenopus laevis</i>) Макрофагна еластаза RASI-1 Енамелизин XMMP CA-MMP CMMP Епилизин	Колаген I колагенази I, IV, FN, желатин, тенасцин, казеин амеложенин, агрецин, Ln-5 желатин казеин

1. 4. 1. Колагенази

Првите податоци за MMP датираат од 1962 кога Gross & Lapierre²⁶ детектирале колагенолитичка активност во ткивата на полноглавецот, и ги означиле соодветните ензими под името колагенази.

Субфамилијата на хуманите интестинални колагенази вбројува три члена: MMP-1 (фибробластен тип на колагеназа, колагеназа-1), MMP-8 (неутрофилна колагеназа или колагеназа-2) и MMP-13 (колагеназа-3). Покрај овие хумани колагенази, MMP-18 е откриена и клонирана само за *Xenopus laevis*. Аналогот кај цицачите сè уште не е пронајден.

Колагеназите се разликуваат според нивната специфичност за супстратот и функционалната улога.

1. MMP-1 (интерстицијална колагеназа или колагеназа-1). Хуманата интерстицијална колагеназа - MMP-1 првпат е клонирана од фибробластите на кожата. Таа е детектирана и во оралните ткива. *In vitro* MMP-1 се експресира во голем број на клетки, на пример, кај кератоцитите, фибробластите, ендотелните клетки, моноцитите, макрофагите, хондроцитите и остеобластите и различни клетки на туморите (*Meikle и сор.*⁵⁷, *Birkedal-Hansen и сор.*¹²). MMP-1 е поспособна да го деградира типот III колаген.

Се поставува прашањето, дали колагеназата-1 (MMP-1) е неопходна за коскеното или друго ткивно ремоделирање. При физиолошкото ремоделирање на коската и другите сврзни ткива, протеазите, како што е MMP-1, кои може да го раскинат типот I колаген, имаат критична улога. Во коската, MMP-1 го секретираат стромалните фибробласти, остеобласти и остеокласти. Само колагеназите (MMP-1 и MMP-8) го раскинуваат нативниот неденатуриран колаген при неутрален pH. Раскинувањето се одвива на специфична страна кај единствниот локус во $\alpha 1$ синџирот меѓу Gly⁷⁷⁵-Leu/Ile⁷⁷⁶ од тројниот хеликс на типот I, II и III колагени влакна. Најчестата фибробластна колагеназа, MMP-1, се експресира во култивираните фибробластни клетки (*Tamura и сор.*⁹⁹, *Lin и сор.*⁵⁰), но не се детектира или се експресира во многу ниско ниво кај здравото ткиво на пулпата (*Gusman и сор.*²⁷, *Shin и сор.*⁸⁴, *Palosaari и сор.*⁶⁶).

2. MMP-8 (неутрофилна колагеназа или колагеназа-2). Оваа колагеназа примарно се синтетизира и складира во интрацелуларните гранули на PMN клетките од коскената срцевина. MMP-8 е прочистен од овие гранули, од кои PMN клетките го секретираат ензимот, означен како неутрофилен или полиморфонуклеарен тип MMP-8, а поради тоа ензимот има клучна улога во деструкцијата на ткивото за време на воспалителните процеси. Во PMN клетките, MMP-8 е складиран во специфичните гранули во латентна форма, за притоа да биде ослободен со дегранулацијата настаната како резултат на активираните PMN клетки од страна на локалните или бактериските протеази. Мезенхималниот тип MMP-8, кој се разликува од неутрофилната MMP-8, според големината на протеинот го експресираат хуманите хондроцитите, реуматоидните синовијални фибробласти и ондотелните клетки. Исто така се продуцира и во кератоцитите, вклучувајќи ги сквамозните клетки на оралниот карцином и плазма клетките. MMP-8 е детектиран и во гингивата, саливата, денталниот плак, деминерализираните дентински кариозни лезии и периапикалното ткиво кај хроничните периапикални процеси. MMP-8 ги деградира мономерните типови I и II колаген.

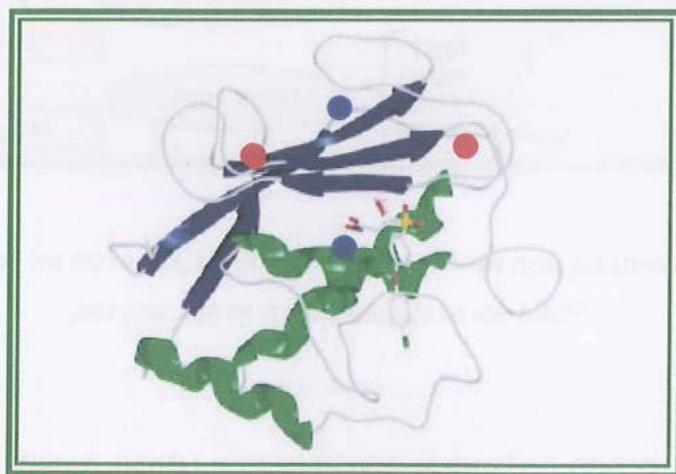
MMP-8 во инфламаторната лезија на пулпата главно потекнува од PMN клетки. PMN се клетки кои го формираат апцесот на пулпата и поради тоа активиријаниот MMP-8 може да учествува во деструкцијата на ткивото со некроза на пулпата и апцес. *Bergenholz*⁹ во своите истражувања го нагласува фактот дека PMN клетките се миграчки и регулирачки клетки способни да пенетрираат во дентинските тубули, за чија активност им е потребен и MMP-8.

3. MMP-13 (колагеназа-3). Експресијата на оваа колагеназа е детектирана кај коскеното ткиво за време на неговиот развој, во остроартритичната јрскавица и реуматоидната синовијална мембрана, кај периодонтитисот и при состојби на малигнитет како, на пример, меланомот и карцином на сквамозните клетки (слика 5). MMP-13 се карактеризира со способност да влијае врз миграцијата на епителните клетки и врз инвазијата на гранулационото ткиво. MMP-13 десет пати поефикасно го деградира типот II колаген од типот I и III колаген.

Ткивата во кои е изразена физиолошката MMP-13 експресија се: феталните мембрани (*Fortunato и сор.*²¹), феталната коска и страните на постнаталната ендохондрална осификација (*Johansson и сор.*³⁷) и гингивалната рана која заздравува (*Tervahartiala и сор.*¹⁰¹). Од ова произлегува дека, повредената гингива и коскено ткиво за време на интрамембранска осификација, се местата каде MMP-13 експресијата е детектирана во фибробластните клетки.

ЕСМ на пулпата содржи колагенази, протеогликани, гликопротеини и вода во состав сличен на другите меки сврзни ткива. Најголем дел од колагенот во пулпата е фибриларен. На типот I и III колаген отпаѓаат преку 95% од вкупниот колаген, додека типот V и VI се присутни во помали количини.

Колагеназите се способни за иницијативна деградација на природните фибриларни типови колаген I, II, III, V и IX. Природните тројно-хелични колагени се раскинуваат на специфична страна за да генерираат N-терминални 3/4 и С-терминални 1/4 фрагменти кои спонтано денатурираат при телесна температура. Раскинувањето се одвива на специфичната страна меѓу глицин-изолеуцин (Gly-Ile) од $\alpha 1$ синџирот и глицин-леуцин (Gly-Leu) резидуите од $\alpha 2$ синџирот формирајќи тројни хеликс фрагменти, кои на телесна температура денатурираат во спирален желатин, а кој понатаму го деградираат други MMP.



Сл. 5. Дијаграм на MMP-13 (колагеназа-3) со каталитички и структурни атоми на Zn (плави кругови), структурни атоми на Ca (црвени кругови) и врзувачки RS-113456 инхибитор.

1. 4. 2. Регулација на активноста на MMP

Активација на MMP. Регулацијата на активноста на MMP се одвива на неколку нивоа. MMP се секрецираат како биолошки латентни проензими и нивната катализичка активација се одвива во екстраклеточната внатрешност или на површината од клетката. Доколку нивната катализичка активација не е потисната од ендогените инхибитори, еднаш активирани, MMP иницираат деструкција на ткивото. Како резултат на тоа, продукцијата или секрецијата или обете, активацијата и инхибицијата, претставуваат клучни точки во регулацијата на ткивното ремоделирање и деструкција, предводено од страна на MMP (слика 6).



Сл. 6. Приказ на потенцијални таргет стратегии при различни фази од регулацијата и активацијата на MMP.

Постои мислење дека цистеинскиот трансфер претставува механизам кој е одговорен за активацијата на проMMP. Идентификувани се две цистеински активациски каскади: протеолитичка и непротеолитичка каскада.

Непротеолитичката активација на проформите на MMP може да биде постигната *in vitro*. Според Visse & Nagase¹¹⁴ *in vitro* активацијата може да се

постигне со тиол-модифицираните агенси, денатурантите, хаотропичните агенси, реактивните оксигенази и под влијание на температурата. Според Springman и сор.⁹¹ *in vitro* конверзијата на проформата во активна форма може да се постигне со протеолитичко отстранување на пропептидот, спречување на цистеин-цинк интеракцијата или со модификација на сулфидрил групата, дозволувајќи интеракција на активната страна на цинкот со молекулите на водата и изложување на активната страна. Во непротеолитичките активатори се вбројуваат: органска жива, хипохлорна киселина и оксидати.

Visse & Nagase¹¹⁴ во своите студии истакнуваат дека *in vivo* активацијата на проММР е локализирана во интра и екстрацелуларните делови како и на клеточната површина.

Контролата на ММР се одвива во три фази (слика 7): (1) стимулација на синтезата и секрецијата, (2) активација на проММР и (3) инхибиција на активните ММР.



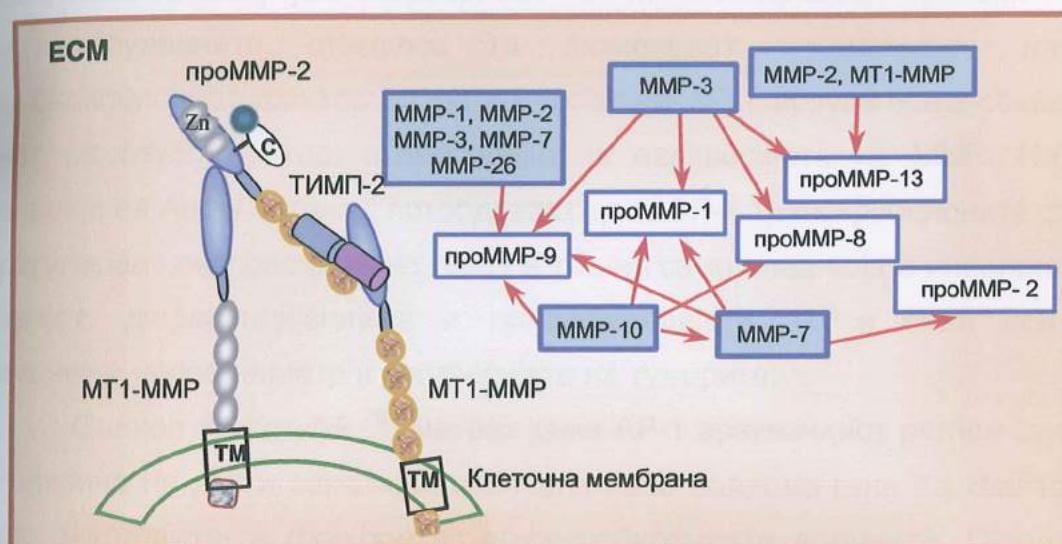
Сл. 7. Контрола на колагеназната активност

Во најголем број случаи при активацијата на ММР *in vivo* учествуваат ткивните и плазма протеиназите како и бактериските протеинази. Во протеолитичките активатори се вбројуваат: плазминот, каликреинот, катепсин G, бактериските протеази и тумор-асоциираниот трипсин-2 (ТАТ-2).

Sorsa и сор.⁸⁸ го потврдуваат фактот дека, различните протеази од домаќинот и од бактериите се способни за иницирање на протеолитичката активација преку раскинување на протеински чувствителниот "bait" регион во

средината на пропептидот. Ова раскинување е следено со понатамошно процесирање на продоменот, често пати од страна на друга MMP.

MMP поседуваат способност да се активираат едни со други во комплексни интерактивни мрежи преку овие активациони каскади. На пример, MMP-2 и MT1-MMP, се способни да го активираат латентниот MMP-13 и MT1-MMP го активираат MMP-8, а активната форма на MMP-2 заедно со MMP-13 го активираат MMP-9 (слика 8). Ензимите како што се трипсинот, плазминот и каликреинот го процесираат проензимот во активна интермедиерна форма, која потоа автокаталитички самата се раскинува во перманентна активна форма.



Сл. 8. Активациони патишта на латентните MMP

Треба да се истакне дека, кога улогата на MMP во ткивните деструктивни процеси стана евидентна, се прават напори да се контролира нивната активност за фармаколошки цели. Иако егзактната улога на одделни MMP во различни заболувања не е целосно разјаснета, сосема е јасно дека MMP многу почесто ги регулираат процесите заедно во групи, формирајќи активациони каскади како при воспалителните, така и при малигните заболувања.

Транскрипциска регулација на експресијата на MMP. Во здравото тело регулацијата и синтезата на компонентите од ECM е во постојан баланс. Кога се одржи оваа рамнотежна состојба, присутно е ниско базично ниво на експресија на одредени MMP, а ензимската активност е постојано под контрола.

Експресијата на MMP е регулирана на транскрипционо ниво од страна на факторите на раст и цитокините, онкогените, протеините, хормоните, гените на ECM и бројните клеточни интеракции. Стимулацијата на експресијата на MMP од страна на факторите на раст и цитокините не е единствено тоа вклучува споредниот пат на ативационо-протеин-1 (AP-1). Трансцитозниот стимулус ги активираат комплексите на AP-1 кои се сматраат иницијаторниот фактор за да се врзат на AP-1 врзувачката секвенца во генот на MMP, притоа, стимулирајќи ја експресијата на MMP. Најновите истражувања на Angel & Karin³ потврдуваат дека AP-1 транскрипционите фактори не само контролираат експресијата на генот и тоа не само онаа која е инволвирана во процесот на диференцијацијата и пролиферацијата, но и онаа при стрес која е поврзана со воспалението и прогресијата на туморите.

Shittan & Waslyuk²⁸ сметаат дека AP-1 врзувачкиот регион секогаш е инкорпориран во генот на други секвенци, означени како полиома гени од, факторот на онкогените- и форфол естер-ресорбирачкиот елемент. Симултаната регулација на MMP-тените преку AP-1 и PEA (polyoma virus enhancer A binding site) во генот на MMP-тите е инволвирана во регулацијата на MMP за време на развојот на туморот. Kerr и сор.⁴⁰ докажуваат дека TGF-β1 ја афектира експресијата на MMP-тите преку специјлен механизам кој го инволвира TGF-β1 врзувачкиот елемент присутен во многу од MMP гените.

Регулацијанието на одредени екстрацелуларни стимулуси е варијабилно, и тоа во зависност од стимулацијата, типот на клетката и MMP генот. Многу цитокини (нпр. IL-1 и TNF-α), кои се индуцирани во организмот, можат да регулираат индуцираната продукција на MMP-тите (MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-13 и MMP-14) во многу клеточни системи. Други фактори кои регулираат експресијата на MMP-тите се и другите цитокини (нпр. TGF-β, гликокортикоидите, IFN-γ и ретиноидната киселина РА), кои имаат супресорен ефект.

4.3. Инхибиција на MMP

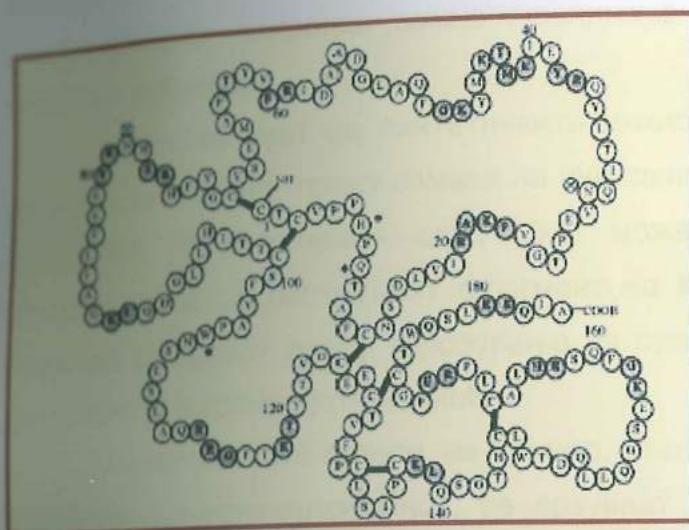
активноста на MMP може да биде инхибирана од страна на синтетички или природни инхибитори. Постојат различни механизми за инхибиција и тоа е инхибицијата на самите MMP. Инхибицијата може да се одвива преку интеракција со инхибиторот на една страна, преку раскинување на активниот ензим или негово претворување во неактивна форма на комплекс.

Ендогени инхибитори

Ендогените инхибитори на металопротеиназите ја претставуваат групата фамилија со четри членови (TIMP-1, -2, -3, и -4), кои ги инхибираат веројатно најголемиот број од членовите на фамилијата на MMP. TIMP-1 и TIMP-2 се најголемите ендогени екстрацелуларни регулатори на MMP. Имаат молекулска маса која се движи од 21 до 29 kDa со различни функции на нивоа. Тие се врзуваат нековалентно за MMP во однос 1:1. TIMP-1 и TIMP-2 се идентификуваат по регулацијата на гените, ткивно специфичните генски профили и по врзувачките афинитети за секој од MMP. Најголемите TIMP ги инхибираат најактивните MMP, а некои TIMP ја спречуваат активацијата на проМMP, само TIMP-1 се врзува за проМMP-9, TIMP-2 и -4 се врзуваат за проМMP-2.

Создадената на *Ingman и соп.*³², *Sorsa и соп.*⁸⁸, *Birkedal-Hanes и соп.*¹² и докладот дека инхибицијата од страна на TIMP се одвива преку создавање на TIMP-МMP комплекс или преку инхибиција на активацијата на проМMP. *Hanes и соп.*¹², *Kugler*⁴⁴, сугерираат дека различни клетки ги производат TIMP и тие се идентификувани не само во ткивата, но и во ткивите течности, како на пример, гингивалната цервикална течност (ГЦТ). Според инхибицијата на MMP, TIMP имаат влијание врз MMP-медијатни процеси како што е например процесирањето на цитокините, деградацијата на врзувачките комплекси и на факторот на раст и ослободувањето на ECM-врзаните фактори како што се *Edwards и соп.*²⁰, *Vaalamo и соп.*¹⁰⁸. Доказите доаѓаат до сознание дека при инхибицијата на MMP преку TIMP се истакнува нивната улога при регулацијата на раната, коскеното ремоделирање и инвазијата на туморот.

На слика 9 е даден приказ на секвенца од TIMP на MMP (TIMP-1).



⊗ Гликозилатна страна

- Резидуи имплицирани во инхибицијата на MMP

— Дисулфидна врска

- Триптична страна на раскинување

Сл. 9. Секвенца од TIMP на MMP (TIMP-1)

TIMP се сметаат за клучни инхибитори на MMP во ткивата, меѓутоа во телесните течности, серумскиот макроглобулински протеин, α_2 -макроглобулинот, претставуваат примарен регулатор на активноста на MMP. Тие ги инхибираат MMP преку заробување на ензимот и ја спречуваат интеракцијата со голем број на MMP супстрати. Заробувачкиот механизам е иреверзилен, и не ја блокира целосно активната страна, со тоа ензимот е делумно активен за молекуларните супстрати со мала маса. *Birdkedaal-Hansen и спр.*¹² докажува дека α_2 M-протеиназната комбинација се отстранува од циркулацијата во црниот дроб преку врзувањето за специјални рецептори.

Б. Синтетички инхибитори

Првите синтетички инхибитори на MMP се создадени во раните осумдесети години, но неодамна започна и нивната клиничка еволуција. За кратко време се откриени моќни инхибитори, меѓутоа, идентификацијата на орално активните компоненти кои се погодни за клиничка еволуција се одвива потешко. Првите инхибитори на MMP се дизајнирани врз база на познавањето на амино-киселинската секвенца на колагенот и на местото на нејзиното раскинувањето од страна на колагеназата. За таа цел биле пригответи пептидните деривати со прикачена цинк врзувачка група кои го прикриваат делот од оваа секвенца. Откриено е дека компонентите кои ја

активноста на десниот дел од активното место ($P1'$ и $P2'$) и хидрокси амино-киселинска цинк врзувачка група даваат активност.

Десниот дел од синтетичките инхибитори на MMP ја попречуваат активноста на MMP преку замена на цинковиот јон во активното место. Visse и сор.¹¹¹ сугерираат дека MMP може да бидат инхибиирани преку инхибирање со пептидниот фрагмент на MMP, а некои од инхибиторите инхибираат преку заробување на супстратот и со тоа да го спречат активацијата на MMP.

Желатинските агенци, на пример, етилендиаминтетраоцетна киселина и 10-фенентролинот, се врзуваат со Zn^{2+} од активната страна, но се инхибираат неселективно MMP, но според сознанијата на Birkedal-Hanes и сор.¹¹² тие агенции за терапевтски некорисни.

Smith и сор.¹⁰⁰, Heikkilä и сор.²⁹, Vihinen & Kähäri¹¹³ потврдуваат дека БФ (БФ) се група на инхибирачки и регулаторни фармаколошки агенции на MMP кои приближно исто делуваат како и желатинските агенции. Бифосфатите се пирофосфатни аналоги кои покажуваат високи инхибициони капацитети како и хидроксиапатит кристалите. Според сознанијата на Brown и сор.¹¹⁴ неколку генерации на БФ, на пример, золедронатот, покажуваат високи инхибициони капацитети и пресорптивна ефикасност без екстензивно да ја инхибираат активноста на коста. Tegopen и сор.¹⁰⁰, Heikkilä и сор.²⁹ сметаат дека БФ инхибираат синтезата на MMP (особено кај култивираните клетки од костни афектираат остеокластите и остеобластите без да го хелизираат костот, но телото кое е во раст укажува дека БФ се регулаторни и инхибициони агенции на MMP со хелизирачка активност.

Smith и сор.²⁵ за првпат го опсервираат инхибиторниот ефект на тетрациклините и нивните деривати врз MMP со миноцилинот, кој ја инхибира активноста на гингивалниот цервикален флуид во отсуство на Zn^{2+} . Тетрациклините се антибиотици кои имаат за цел да спомогнат за заздравување на раната. Тие ја инхибираат активноста на MMP преку облигаторниот дел. Исто така ја инхибираат оксидативната активација на MMP преку собирање на реактивните оксигенски групи и најверојатно ги инхибираат активноста на MMP во неактивни форми за време на активацијата, што е поддржано и испитувањата на Smith и сор.⁸⁶. Интрацелуларните

и регулираат транскрипционите нивоа на MMP. *Smith и сор.*⁸⁶ Извештајот покажува дека ниските дози на доксицилин базирани врз инхибицијата на MMP-2 и MMP-9 можат како помошна терапија во лекувањето на адултниот периодонтален гранулом.

ХМТ (хемотаксички миграциони тести) е клинички и хемиски модифицираниот неантибактериски тетрапептид кој ги инхибираат MMP преку регулација на нивната mRNA и подобруваат нивната экспресија, што се потврдува во испитувањата на *Sorsa и сор.*⁸⁸, *Wang и сор.*⁸⁹ и *Pihla и сор.*⁷⁴. ХМТ го инхибира уништувањето на патолошки ткивни фрагменти и инхибиците активноста на MMP-зависно периодонтално меко ткиво, во *in vivo* и *in vitro* испитувања. ХМТ ограничува пролиферацијата и инвазијата на туморските клетки. Во испитувањата на *Yilmaz и сор.*^{24,25}, *Sulkala и сор.*⁹⁵, *Bezerra и сор.*¹⁰, *Lokeswar и сор.*⁹⁶ и *Shah и сор.*⁹⁷ ХМТ е тестиран кај животните, при што е покажано дека ХМТ ја ограничува пролиферацијата на кариесот во забот, како и растот и метастазите на раковите клетки. ХМТ го инхибира уништувањето на туморски клетки и превенира воспалителната коскена ресорпција. Во комбинација со антибиотиките, ХМТ синергистички го инхибира уништувањето на воспалителното перифокално воспалително ткиво.

Гидромиметичките матрикс-металопротеиназни инхибитори (ПММИ) се група инхибитори кои ограничуваат структурата на MMP супстратите, функционирајќи како избирателни инхибитори. Батимастатот е прв синтетички MMP инхибитор кој е селективен за инхибиците активноста на MMP-2 и кој има способност да стапи во интеракција со Zn²⁺ на обе страни на MMP. Маримастатот е од втората генерација на гидромиметички инхибитори со широк спектар, кој во студиите на *Curran*¹⁶, *Shah и сор.*⁹⁸ и *Shah и сор.*⁹⁹ е клинички отценет како антиканцероген агенс.

Специфичните инхибитори на MMP, постои можност да се делува само на определените MMP како што е, на пример, цикличниот пептид CTT (циклинин), кој синтетички е добиен, а покажува желатиназни специфичности и ограничено во испитувањата на *Koivunen и сор.*⁴², *Pirilä и сор.*^{73,74}.

2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА

2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА

ничкиот развој во молекуларната биологија придонесе за мајчината патогенезата на голем број заболувања и на молекуларно ниво. На начин испитувањата на функционалните анализи на имуните системи и на регулаторните молекули овозможуваат подобро да се разбере улогата на периапикалните лезии. Имено, улогата на воспалителните цитокините, антигените, цитокините, MMP, факторите на раст и метаболизмот на киселината, кај периапикалните лезии би требало во целост да се уважи.

Споредично е дека егзактната улога на одделните MMP при голем број отворени и патолошки процеси е далеку од јасна. Индиректните докази покажуваат постојењето на специфични MMP при специфичните процеси, но не го доказуваат првично постоењето на каузална поврзаност. Треба да се истакне фактот дека многото истражувања на MMP кај оралните заболувања се далеку од точни и не чини како само да започнале.

Линдхолм-Хансен и соч.^{11,12} се меѓу првите кои вршат проучувања на генетичките (генетски) варијации (генетски маркери). Во своите студии овие автори изнесуваат дека MMP-2 и MMP-9 се генетски различни членови на фамилијата на структурно поврзани, но генетски различни маркери чија експресивност и активност во здравото ткиво се сосема слични и значајно се зголемуваат при различни патолошки процеси кои водат кон несакана ткивна деструкција.

Линдхолм и соч.³² потврдуваат дека високото гранично ниво на активноста на MMP води кон континуирана ткивна деструкција.

Линдхолм, Ву и Werb¹¹⁵ покрај во ткивното ремоделирање MMP-2 и MMP-9, покажуваат и во многу други клеточни функции. Притоа изнесуваат дека тие се специфични маркери кои се користат за определување на способноста на клетките да се приспособуваат клеточното однесување преку вклучувањето на клеточната миграција во нормалниот раст и ткивно ремоделирање.

Линдхолм и соч.⁸⁰, Meikle и соч.⁵⁷, Vaes и соч.¹⁰⁹, во своите студии ја покажуваат улогата на MMP при оралните заболувања, укажувајќи на важноста на активноста при физиолошкото и патолошкото коскено ремоделирање.

страна на остеобластите и остеокластите. Овие автори исто така докажале дека, клетките од пулпо-дентинскиот комплекс може да учестват во ремоделирањето на дентинскиот матрикс и во неговата регенерација. Во време на воспалителниот процес во пулпата, бидејќи фибробласти од пулпата може да го експресираат MMP-8.

*Anan и спор.*² сметаат дека деградацијата на минерализи-
то на алвуларната коска кој го опколува апексот на забот е
действото на остеокластите. При воспалението постои блага-
така на остеокластите и остеобластите кој резултира со губиток на коска.

ијата на *Parikka и спр.*⁶⁷ укажува на улогата и способноста на мезенхимално потекло да партиципираат во разградбата на матрикс на коската. Во оваа студија, синтезата на колагенот и од страна на изолираните мезенхимални клетки се проучувани фаза на остеобластната диференцијација. Синтезата на типот I е значително е зголемена со култивирање на мезенхималните клетки и типот матрикс, притоа предизвикувајќи ослободување на тип I ензимаддационен продукт во култивираниот медиум. Овој процес е поддржан од страна на матрикс-металопротеиназен инхибитор. Со Western блајт е потврдено присуството на MMP-2, -8, -13 и -14. Со ова е поддржана хипотезата дека раскинувањето на колагенот од клетките кои понатаму се одговорни за создавање на коскено стапува процес кој е посредуван од MMP и кој е важен чекор во коскено формирање во коскена ресорпција.

*Shay и cop.*³¹ објавуват резултати за улогата на остеокластите кои им за натризување на коската периферно од ХАП, а со тоа сметаат "дигестија на коската" може да биде и делумно резултат на MMP, а MMP-9 кои го секретираат остеокластите. Бидејќи MMP-13 е потенцијален активатор на ХАП, MMP кои се секретирани од клетки различни од остеокластите во ХАП може да бидат одговорни за деградацијата на компоненти од ECM, и за отпадните продукти кои се појавуваат во остеокластичната деструкција на коската за време на формирањето

испитувањата на *Holliday и сор.*³¹, MMP-1 се експресира од одонтобластите, кератоцитите, ендотелните клетки, моноцитите и лимфоцитите. Имунохистохемиски, MMP-1 е локализиран околу воспалението. Клетките кои може да го секретираат заедно со PMN леукоцити, тромбоцити, еритроцити, тромбастите, тромбоцитарни превивни клетки и лимфоцитите.

Само неколку години по-каде, неколкутам број од студиите досега ги утилизирале клетките на пулпата и перипулпните ткивени структури за изучување на воспалението, но одонтобластите отсуствуваат во моделот од *in vitro*. Студиите покажуваат дека методот на култивирање на одонтобластите описан од страна на *Watanabe и сор.*¹⁰³ овозможува нов начин на објаснување на воспалението и процеси поврзани со здравата и заболена пулпа чрез изучување на колагеназите и другите ензими на тканите и клеточни елементи.

Изучувањата на *Prikk и сор.*⁷⁶ се потврдува фактот дека макрофагите и тромбоцитите експресираат различните MMP, вбројувајќи ги колагеназа-1 и колагеназа-2, протилежните колагеназите (MMP-2, MMP-9), стромелизините (MMP-3, MMP-7, MMP-11) и колагеназа-3 (MMP-13). Притоа макрофагите го експресираат MMP-9 и колагеназа-2, а тромбоцитите го експресираат колагеназа-1. Улогата на колагеназите присутни во воспалението е поврзана со способноста на MMP да ослободуваат фактори на воспалението, кои можат да ја регулираат воспалителната реакција или ја активираат самојдовото разградување на самиот ECM.

Изучувањата на *Wang & Liu*¹⁹, *Chang и сор.*¹⁵ ја демонстрираат активноста на колагеназите на некои орални бактерии. *Chang и сор.*¹⁵ имаат за цел да го изучат ефектот на супернатантите од *Porphyromonas endodontalis* и *Aggregatibacter gingivalis* врз продукцијата и секрецијата на MMP во култури на пулпата и периодонталниот лигамент во *in vitro* услови. Резултатите индицираат дека овие видови бактерии имаат важна улога во разградувањето на ткивото и дезинтеграцијата на ECM кај хроничните лезии и воспалението на пулпата. Притоа, активацијата на колагеназите може да претставува еден од јасно одредените деградациони патишта на воспалението на пулпата и периапикалните процеси и воспалението на пулпата со нека етиологија. Според овие автори разбирањето на дејството на некои тераписки видови врз клетките од пулпата и периодонталниот лигамент може да резултира со откривање на нов тераписки третман на воспалението на пулпата и хроничните периапикални процеси.

Во своите бројни испитувања опсервира високи пропротеазни активитети на колагенолитички бактерии присутни во суперфицијалните слоеви на дентинската лезија. Подоцна е покажано дека *Streptococcus mutans* има високи активитети на колагенолитички ензими, како и на колагенолиптичките ензими кои ги деградираат синтетичкиот колаген. Слично, *Candida albicans* исто така има колагенолиптички ензим кој е способен да го деградира колаген во кисели услови. Сепак, постојат и контрадикторни податоци што покажуваат дека кариогената микробна флора процесира само активност против колагенот во нативна, па дури и во денатурирана форма (дентин) или не покажува активност против дентинскиот колаген. Најактивните ензими се најдени во деминерализираните тенки дентински плочи во усната ткан. Овие податоци поддржувачи со деградација на органскиот матрикс до различни продукти, не се покажуваат корелација помеѓу дентинската ткан и колагенолиптичката активност на доминантната бактериска флора. Овие податоци потврдуваат фактот дека, ММР придонесуваат во модулацијата на дентинскиот матрикс при репаративната дентинска продукција како и во активацијата на кариесот.

Приапикалниот периодонтитис, ММР, особено нивната активација има улога во деструкцијата на периапикалното ткиво, поради што овие податоци покажуваат корелација помеѓу активноста на ММР и биохемиски маркери на хроничните периапикални процеси. *Ingman и спор.*³¹, *Márton & Kiss*³² и *Wahlgren*^{116,117,118,119} ги поддржувачи овие автори овие податоци со постапување со биохемиски маркери на хроничниот периодонтитис. *Wahlgren и спор.*¹²⁰ го дефинираат хроничниот периодонтитис како хронично воспалително заболување тесно поврзано со небалансираната продукција на ММР. На пример, интестиналната колагеназа (ММР-1) и ММР-3 и нивните ендогени ткивни инхибитори на ММР (TIMP). Овие автори при периодонтитисот, неправилната деструкција на ткивот од колагени и неколагени протеини е резултат на каскада на физички и неимунолошки реаукции. Како резултат на неправилната продукција на ММР-1 и ММР-3, периапикалните лезии се карактеризираат со проникнување на активирани Т-лимфоцити кои можат да стапат во контакт со фибробластите кои експресираат CD40 преку спроводниот пат CD40L. Целта на овие студии е да се тестира дали врзувањето со фибробластите ќе има влијание врз продукцијата на ММР. За таа цел *Wahlgren и спор.*¹²⁰ вршат анализа на CD40-индукционата продукција на ММР

на фибробласти во присуство на цитокините (IL-1 β , TNF- α и IL-6) и да имаат зголемени количини при периапикалното воспалени. Извештаите покажуваат дека врзувањето со CD40 води кон контролирана експресија на MMP-1 и MMP-3 од страна на фибробласти, а поради тоа се предполага дека тој е како основен механизам во стопирањето на понатамошното воспаление и тканево оштетување.

Ли и сор.¹⁰² го евалуираат ефектот од инхибицијата на MMP-3 на хроничната лезија на периапикалната лезија. За таа цел, комората на пулпата на 10 котки и 10 кучиња со стар долен молар (MI и MII) од стаорец е изложена на инфекција со инкубација со смес од орални бактерии. Кај експерименталната група во усната коморка е внесуван 20 mg/kg MMP-инхибитор СМТ-3, а кај контролите даван само физиолошки раствор. По период од две и четири недели, рентгенографските снимки на долната вилица е измерена големината на лезијата кај забите со дигитализирана радијографија. Резултатите покажуваат дека по две недели, инхибицијата на MMP ја намали големината на лезијата на 70% кај MI и 36% кај MII со $p<0,05$ кај MI, и на 34% и 20% кај MII со $p<0,05$ кај MII. Резултатите потврдуваат дека инхибицијата на MMP сигнификантно ја зголемува лезијата, а со тоа се докажуваат и негативните ефекти на зголемената инфекција на пулпата. Ова може да се рефлектира врз дефанзивната компензација поради активација на MMP, со цел да се избегне бактериската инвазија во пулпата и перапикалниот предел. Зголемувањето на лезијата може да се потврди и на рапидно зголемената инфекција на пулпата. Ова може да се рефлектира врз дефанзивната компензација поради активација на MMP, со цел да се избегне бактериската инвазија во пулпата и перапикалниот предел. Резултатите ја потврдуваат улогата на MMP во хроничната лезија. Бидејќи инхибицијата на MMP-3 ја зголемува големината на лезијата, авторите го потврдуваат дека MMP-3 се инволвирали во одбрамбената реакција против инфекциите присутни во пулпата и перапикалниот предел.

Ли и сор.¹¹³ ги определуваат присуството, нивото и молекуларните карактеристики на MMP-8 кај воспалението на пулпата и периапикалните инфекции, како и промените во нивото на MMP-8 во ексудатот од пулпата и канали за време на ендодонтскиот третман. За таа цел од 11 заби со радиолошки верифициран периапикален периодонтитис е избрано 10 заби за испитување, од кој инфламираното ткиво на пулпата и

ткиво од грануломот се искористени за имунохистолошко истражување и молекуларните форми на MMP-8 се анализирани со имунохистохемиски преби и Western immunoblot метод. Добиените резултати покажуваат значила разлика во нивоата на MMP-8 во однос на забите од контрола, со сигнификантно намалување на MMP-8 нивоата за време на третман ($p=0.0107$). Откритијата на Wahlgren и сор. го потврдуваат присуството на MMP-8 во воспалителното ткиво на пулпата и периапикалното ткиво, укажувајќи на улогата на MMP-8 во воспалението на периапикалното ткиво, притоа партиципирајќи во деградацијата на колагената. Овие автори потврдуваат дека нивото на MMP-8 во периапикалниот ексудат се намалува за време на успешниот ендодонтски третман и коренскиот канал, додека во случаите со перзистентна инфламација тоа останува високо, индицирајќи дека MMP-8 dip-stick тест во периапикалниот ексудат може да бидат искористени за контрола на инфламаторната активност како и за успешна терапија на периапикални лезии.

Wahlgren и сор.¹¹⁸ применувајќи имунохистохемиска анализа (IFMA), Western immunoblot и имунохистохемиско боенje потврдуваат дека ензимското колагеназа-2 (MMP-8) може да е поврзано со степенот на ткивината на пулпата и периапикалното ткиво, како и со формирањето на ткиви кај хроничните периапикални процеси. Western immunoblot метод со имунохистохемиското боенje со MMP-8 (колагеназа-2) на пулпите, укажува на присуство на големи количини на MMP-8 во воспалителното ткиво на пулпата. Најголем дел од MMP-8 кај пулпитисот не е произведено од PMN леукоцити, но и од другите клетки, како на пример, дендритични и плазма клетките. Поради тоа, пулпата не се разликува од периферни ткиви, како што е, на пример, периодонциумот кои се зафатени со слични промени. Бидејќи одонтобластите и пулпините фибробласти не изразираат MMP-8, според Wahlgren и сор., клетките од пулпопульпарниот комплекс може да партиципираат во ремоделирањето на колагенскиот матрикс и во деградацијата за време на воспалителниот процес.

Wahlgren и сор.¹¹⁴ имаат за цел да ги евалуираат ткивините нивоа на MMP-8 и колагеназа-2 и нивната дистрибуција во инфламираното ткиво на пулпата и

анализи. Анализата на примероците е извршена со ELISA и имунохистохемиски методи. Измерувањето се прави со применувајќи специфични антитела за MMP-1, -2 и -3. Резултатите покажуваат че концентрации на MMP-1 кај сите испитувани групи се сигнификантно повисоки од контролната група ($p<0.05$). Постои сигнификантна разлика во концентрацијата на MMP-2, меѓу акутниот пулпитис и контролната група ($p<0.05$). Концентрацијата на MMP-3 кај акутниот пулпитис е значително повисока од концентрацијата на MMP-3 кај хроничниот пулпитис ($p<0.05$). Со оваа резултат, може да се заклучи дека посоченото испитување е утврдено локализацијата на MMP-1 и -3 кај акутните неутрофили, макрофаги и ECM кај групата со акутен пулпитис. Активноста на MMP-1, -2 и -3 кои се воглавно експресирани од страна на макрофагите и фибробластите, се сигнификантно повисоки кај акутното ткиво на пулпата отколку во здравата пулпа. Резултатите покажуваат дека активираните MMP имаат важна функцијата на ткивото кај акутно инфламираната пулпа.

Симон и сор.¹ со примена на имунохистохемиски метод го потврдуваат активноста на MMP-8 во ткивото кај ХАП и тоа воглавно во PMN клетки, додека активноста на MMP-9 е повисока во макрофагите и плазма клетките, додека MMP-13 е повисока во макрофагите и плазма клетките, што е потврдено со *in situ* имунохистохемиски метод. Бидејќи, MMP-8 во инфламираната лезија на пулпата главно е активиран во PMN клетки, а токму тие се клетките кои го формираат апцесот кај пулпата, Симон и сор. докажуваат дека активираниот MMP-8 учествува во разградбата на ткивото со последователна некроза на пулпата и појава на апцес.

Гусман и сор.²⁷ ги детерминираат нивоата на MMP-1, MMP-2, MMP-3 и MMP-9 во акупната желатинолитичка активност во клинички здрава и некрозирана пулпа. Како материјал за испитување користат 17 пулпи кај кои имаат некроза и 18 пулпи од премолари и молари кај пациенти со ортодонски причини кои се користени како контрола. Нивоата на активноста е детерминирана со ELISA метод. Добиените резултати укажуваат дека активноста на MMP-1 се под детекциониот лимит за двете групи, додека активноста на MMP-2 и MMP-3 се сигнификантно пониски кај сиптоматскиот групен објект во однос на клинички здравата пулпа. Резултатите покажуваат дека активираните MMP имаат важна функција во разградбата на некрозираното ткиво на пулпата.

и то хроничниот периапикален процес врз модели од кръстосаните генетички линии, *Lin и cop.*⁴⁹ во своите истражувања ги проучуваат механизмот на патогенезата кај периапикалните лезии асоцирани со инфекцијата. Со помош на *in situ* хибридиизација, после спроведената репарација, соодветната mRNA за MMP-1, TIMP-1, IL-6 и COX-2 е обнаружена во периапикалните лезии и е детектирана во текот на 5, 10, 15 и 20 ден. Според тоа, mRNA-тата за MMP-1, IL-6 и COX-2 mRNA првенствено се детектирани само во пулпата, а во наредните денови (од 15 до 20 ден), зголемената експресија на IL-6 и COX-2 барајќи експресија и во остеобластите, но во помал процент. Овие находки покажуваат дека остеобластите се активирани и стимулираат ресорпцијата на коската преку продукција на IL-6 и COX-2.

Според испитувањата на *Leonardi и cop.*⁴⁷ се детерминира прашањето дали присуството на инфекција е единствениот фактор кој ги определува грануломите во периапикалните лезии. За тоа испитуваат 17 периапикални грануломи со инфекција која е ограничена само на ткивото на пулпата (7 лезии без епител и 10 со пролиферација на епител). Во испитувањето се применети моноклонални антитела против инфекцијата и да се евалуира експресијата на MMP-13. Од добиените резултати се констатира дека инфекцијата е имунопозитивна цитоплазматска реакција за MMP-13. Активноста на антиMMP-13 антителата е хетерогено и варираат во зависност од хистопатолошката слика. Авторите ја објаснуваат експресијата на MMP-13 во некои фибробласти кај периапикалните лезии со тоа што некои плазма клетки внатре во грануломатозното ткиво. Експресијата на MMP-13 во студијата на *Leonardi и cop.* ја потврдуваат констатацијата на *Wolff и cop.* за инволвированоста на MMP-13 во конверзијата на периапикалниот гранулом во радикуларна циста. Оваа одлика е поврзана со тоа што инхибициските активности на MMP-13 да влијае не само врз миграцијата на епителните клетки, тука и врз инвазијата на периапикалниот гранулом.

Според *Waka-Antczak и cop.*³⁴ објавуват дека една од причините за формирањето на периапикалниот гранулом е нарушување на еквилибриумот на трансформацијата и претворување на рамнотежката меѓу ензимите (MMP) и нивните

Целта на нивната студија е да ја отценат експресијата на експресијата на TIMP-1 во периапикалните грануломи и корелацијата со трансформацијата на лезијата; т.е. трансформацијата во циста и “клеточна кука”. Во реализација на испитувањето биле опфатени 18 изолирани периапикални грануломи фиксирали во формалин. Испитувањето е базирано на имунохистохемиска реакција која е споредена и со големината на лезијата. Големина на радиографската снимка направена пред екстракцијата. Споредување, набљудуваната експресија на MMP-1, -2, -3 кај периапикалните грануломи го потврдува фактот дека проучените ензими имаат важна улога во формирањето на лезијата. Потврдена е зависноста на интензитетот на имунохистохемиската реакција од големината на периапикалните грануломи. Резултатите го потврдуваат фактот дека просечната експресија на MMP и слабата експресија на TIMP се карактеристика на грануломите, додека периапикалните грануломи со голема димензија имаат силенца експресија на MMP и просечна експресија на TIMP. Ова може да произлегува од испитувањата на овие автори е дека MMP се поврзана со некои фактори кои се одговорни за кинетиката на периапикалната трансформација, притоа постојќи можност за нивно дјелување по апикалниот и периферниот период на периапикалната коскена регенерација.

Авторите на студијата на *Wysaka-Antczak и спор.*³⁵ изнесуваат дека периапикалните грануломи имаат одговор на протективната улога на домаќинот против инфектираната пулпа, а ефектот е стимулација и миграција на воспалителни клетки во воспалителната лезија. Тие вршат микроскопска трансплантирање на периапикалните грануломи по трансплантирање на орган, со намалена имуносупресија. Материјалот за испитување го земаат по време на операција забите од 15 пациенти со и 15 пациенти без имуносупресија. Резултатот е дека во испитуваната група пациенти постои зголемен број на воспалителни клетки и намалена реактивност на ткивата кон имунохистохемиското маркерно белачинце. Имено, резултатите ја потврнуваат разликата во развојот на воспалителниот процес меѓу двете групи, и поради тоа кај имунокомпромитирани пациенти таа е резултат на имуносупресијата. Авторите докажуваат и дека има помала фреквенција на воспалителни клетки и помала експресија на MMP кај пациентите со имуносупресија како резултат на имунокомпромитација и затоа одговорот кон воспалителниот фактор.

*cor.*⁴⁴ потенцираат дека деградацијата на ECM околу и претставува есенцијален чекор во процесот на инвазијата метастазите. Во своите испитувања потврдуваат дека структурно поврзани металопротеинази (MMP) и нивните), имаат важна улога во деградацијата на матриксот одите клетки.

*и cop.*¹¹⁹ со примена на *in situ* хибридизација и имунохистохемикална ја проучуваат поврзаноста меѓу експресијата на Ламинин-5 и експресијата на MMP-2 и -13 кај различни типови на одонтогени ракетки. Добиените резултати потврдуваат дека колокализацијата на MMP (MMP-2, MMP-13) индуцира клеточна миграција на ракетки. Добиените резултати потврдуваат дека колокализацијата на MMP-2 и MMP-13, но не и со MMP-8 која се случува во зоната на вимбрана на кератоцистите може да е тесно поврзана со карактеристики на кератоцистите.

наодите на *Wahlgren и соч.*¹¹⁷ MMP ги разградуваат на ECM и BM кај хронично воспалителните и коскено-лезии. Тие ја испитуваат способноста на имуноглобулините плазма клетки кои се типично присутни на страните на воспаление да ги експресираат MMP-8 и MMP-13 во *in vivo* и *in vitro* имунохистохемиските анализи и *in situ* хибридизацијата авторите докажуваат дека плазма клетките ги експресираат MMP во периапикалните дентогените цисти и малигниот плазмацитом. Колагеназите од овие партиципираат во деструкцијата на коскениот органски материјал од хроничното воспаление и растот на неопластични тумори. MMP-13 пофрекфентно се експресира од MMP-8 во плазма клетките на рецидивирачките кератоцисти и малигните плазмацитоми, што докажуваат дека MMP-13 има исклучително значајна улога кај малигните коскено-деструктивни лезии.

да истакнем дека досегашните бројни истражувања кои се како
целено значење, така и од апликативна клиничка пракса не
се зафатиме со научно-истражувачка работа со која се надеваме
да дополним инсуфициенцијата на информации од оваа област.

3. ЦЕЛИ НА ТРУДОТ

Създаването на промишлените бази на страната е
един от основните задачи на България. Известният
български изобретател и изследовател на въздушните
двигатели и турбини д-р Георги Димитров е
изобретил и патентирал съвместно със съпругата си
д-р Екатерина Димитрова първата българска
автомобилна турбина на МАН (Германия) № 109-1, № 110 -
изобретена и патентирана от изобретателното обединение
на България и разработана от него като изобретение на БСИ в
кооперация със съпругата му Екатерина Димитрова на 1951 г.
Тази турбина е първата българска турбина, създадена по редица странични
и специални технологии и използвана за движение на
автомобили и изобретена и патентирана като изобретение за
използване на кондензаторните процеси като
изобретение на изобретателната кооперация на България
и патентирана на изобретателната база на България
по патентен номер 109-1, № 110 и № 111 за движение на
автомобили със съпругата си Екатерина Димитрова.

Създаването на промишлените бази на страната е
един от основните задачи на България. Известният
български изобретател и изследовател на въздушните
двигатели и турбини д-р Георги Димитров е
изобретил и патентирал съвместно със съпругата си
д-р Екатерина Димитрова първата българска

3. ЦЕЛИ НА ТРУДОТ

Създаването на промишлените бази на страната е
един от основните задачи на България. Известният
български изобретател и изследовател на въздушните
двигатели и турбини д-р Георги Димитров е

3. ЦЕЛИ НА ТРУДОТ

Цел на разрешување на проблемите поврзани со етиолатогенетичките периапикални лезии направени се бројни научни испитувања. Труд секако е сознанието дека како и кај сите деструктивни процеси, така и кај инфламираното дентално ткиво на хроничните периапикални лезии, можни се мошне големи промени во концентрацијата на MMP (колагеназите - MMP-1, -8 и -13).

Прифаќајќи ги бројните современи научни сознанија кои укажуваат на функциите на MMP да ги деградираат речиси сите компоненти на ECM и потенцирајќи ја нивната јака улога во ремоделирањето и обновата на ткивото, како и во многу деструктивни патолошки состојби, главниот мотивирачки иницијативен момент кој не поттикна за да проучување на хроничните периапикални процеси кои ги предизвикале проблемот на истражувањето во овој магистерски труд, а тој да проучувањето се матрикс-металопротеиназите т.е. нивната улога во здравото и патолошки променетото ткиво.

Самата цел на истражувањето е врз основа на клиничкиот, радиоложки и интрабоперативниот наод да го потврдиме присуството и активноста на колагеназите (MMP-1, -8 и -13) во склоп на воспалителната тканка, зголемената концентрација на MMP во патолошки и нормални перифокално ткиво и хронично воспаленото ткиво на пулпата, и да подсигуриме и поддржиме планирајќи ја на тој начин тераписката постапка.

Самата цел на постигнување на главната цел ги поставивме и определите како **терапевтични цели:**

Изврши квантитативно определување на ткивните нивоа на колагеназите (MMP-1, -8 и -13) во воспалителните ткива кај хроничните периапикални процеси и кај хроничните периапикални процеси, микроензимски

предели зависноста меѓу концентрацијата на колагеназите (MMP-8 и -13) со степенот на ткивната деструкција на испитуваниот склоп (пулпата и периапикалното ткиво) како и карактерот и интензитетот меѓу хроничните периапикални процеси.

Извештајот подчармнира корелацијата меѓу концентрацијата на колагеназите (MMP-8 и -13) во хроничните периапикални процеси и нивната интензитета, пресметана преку софтверска предикција според програмот.

Според на напред изнесеното, како теориска цел на трудот е да се приближи до вредноста и корелациите помеѓу концептите кон етиологијата и патогенезата на хроничните периапикални процеси, непосредно поврзана со неговата апликативна цел - да се разработи концептот на валоризација на новиот начин на дијагностицирање на хроничните периапикални воспалителни процеси и мониторинг на интензитета и активноста на ткивото, базирани врз деструктивната улогата на колагеназите (MMP-1, -8 и -13) во склоп на воспалителниот процес кој е непосредно поврзан со концентрацијата на MMP во патолошки променетото ткиво.

Ипотетска рамка

Прифаќајќи се на принципијето на истражувачкиот зафат врз кој се темели овој труд и следнава генерална хипотеза:

Матрикс-металопротеиназите претставуваат протеолитички ензими кои имаат значајна улога при деградацијата на структурните макромолекули од колагените и другите сврзни ткива во екстрацелуларниот матрикс и базалната мембрана, влијајќи на тој начин врз ткивните деструктивни промени во склоп на хроничните процеси.

Според нашите сознанија од бројни автори, како и недостигот од лични искуства со поставениот проблем и предмет на проучување, ни е потребно да предизвик и ни дадоа насока да ги поставиме следниве хипотези:

заштитата на колагенот од органскиот матрикс на ткивото и ткивото на пулпата за време на хроничното постапување ензимски процес. Се поставува хипотезата дека (MMP-1, -8 и -13) се инволвирали во овој деструктивен процес. Изведбата на поставената хипотеза во истражувачката постапка е изведена преку следниве индикатори:

1. Измерување на концентрацијата на MMP-1, -8 и -13 во патолошки премини во здравото ткиво и во воспаленото ткиво на пулпата со импринт метод.

Измените во концентрациите на MMP-1, -8 и -13 во здравото ткиво и активноста на MMP во здравото ткиво се сосема специфични и активноста на MMP во здравото ткиво се зголемуваат при воспалителните патолошки промени. Специфичните концентрации на MMP-1, -8 и -13 се зголемуваат при преминот на инфекцијата од коренскиот канал кон периапикалниот канал. Верификацијата на поставената хипотеза во истражувачката постапка е изведена преку следниве индикатори:

1. Измерување на концентрацијата на MMP-1, -8 и -13 во здравото ткиво и во воспаленото ткиво кај импактирани трети молари со ензимски метод.

2. Измерување на вредностите од концентрацијата на MMP-1, -8 и -13 во здравото и воспалено ткиво.

Измените во концентрациите на MMP-1, -8 и -13 во здравото ткиво се један од важните фактори кои се одговорни за кинетиката на воспалителната коскена деструкција, притоа постојќи можност за нивно контролирање и ограничување при помош на оперативното отстранување на патолошката промена, врз која се врши коскена регенерација. Се поставува хипотезата дали постои корелација меѓу концентрацијата на MMP-1, -8 и -13 во хроничниот периапикалниот процес и неговата големина, во зависност од степенот на воспалението и процесот. Верификацијата на поставената хипотеза во истражувачката постапка е изведена преку следниве индикатори:

1. Измерување на големината на хроничниот периапикален процес со помош на рентгенограма и измерување на пределекција од рентгенограмот.

2. Измерување на корелација меѓу вредностите на концентрацијата на MMP-1, -8 и -13 во хроничниот периапикален процес и неговата големина.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА ИСЛЕДУВАЊЕ

4.1. Материјал и методички примерки

Изследвани се епизоди на обикновени дена на коејкој пациентките биле, чија симптоматика и обид за излекување имала вредност по лични и социјални причини. Симулацијата извршена во клинички центар "Св. Врачевец" во Битола, покажала дека симулацијата имала вредност и вредност по лични и социјални причини.

Изследвани се епизоди, кои се прилагодени на изстратуваните броеви методи при извршувањето на симулацијата, при детективскиот пренос на симулацијата во реалните услови на редовните лекувачки практики. При извршувањето на симулацијата, избрани се случаји со подобри и склони за симулација пациенти, кои имале и симулацијата и реалните практики на лекувачките професии. Поради тоа, избраните случаји се подобри за симулацијата, а не за реалните практики на лекувачките професии.

Изборот на случајите, кои имале склонност за симулација и реалните практики на лекувачките професии, било подготвено со помош на симулацијата на реалните практики на лекувачките професии, кои имале склонност за симулација и реалните практики на лекувачките професии.

Изборот на случајите, кои имале склонност за симулација и реалните практики на лекувачките професии, било подготвено со помош на симулацијата на реалните практики на лекувачките професии.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА ИСЛЕДУВАЊЕ

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА ИСПИТУВАЊЕ

4.1. Материјал - истражувачки примерок

ализација на поставените цели на овој магистерски труд, на
зрална хирургија и на Клиниката за болест на забите и
Стоматолошкиот клинички центар "Св. Пантелејмон" во
такви 80 пациенти од обата пола.

и материјал кој е предмет на истражување беше изршен врз
поставените клинички дијагнози, по детално спроведената
клинички преглед со анализа на рендгенолошките промени. При
дели 3 испитувани групи од вкупно 80 пациенти (табела 4.1 и

што од 50 пациенти кај кои клинички и рендгенолошки е
установено постоење на хроничен периапикален процес. Пациентите
имајќи се поделени во три подгрупи во зависност од поставената
дијагноза:

пациенти со дијагноза Parodontitis peripicalis chronica
ulomatosa s. granulom,

пациенти со дијагноза Parodontitis peripicalis chronica diffusa s.
necroiva,

пациенти со дијагноза Cystis radicularis.

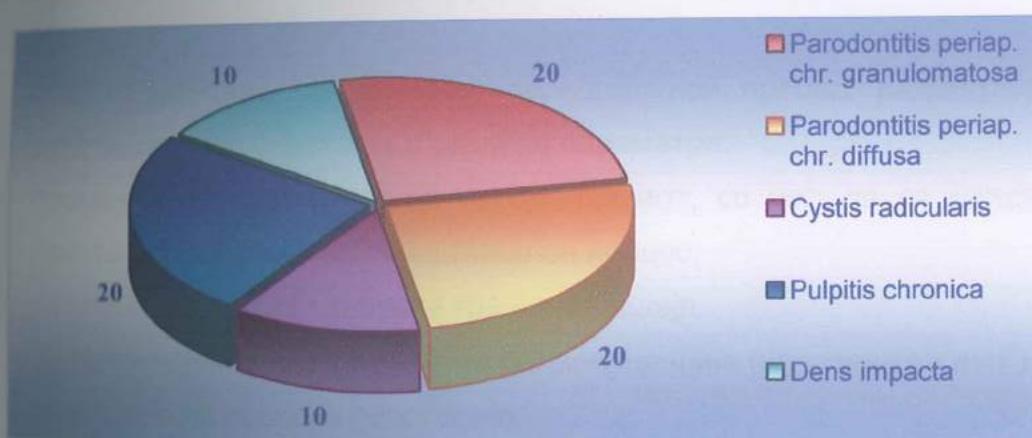
што од 20 пациенти кај кои е поставена дијагноза Pulpitis

(тропна) група од 10 пациенти кај кои е поставена дијагноза
ангиома.

Табела 4.1. Дистрибуција на клиничката дијагноза кај испитуваните групи

Групи	Клиничка дијагноза	Вкупно	
		Број (n)	%
I Група	Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	20	25
	Parodontitis periapicalis chronica diffusa	20	25
	Cystis radicularis	10	12,5
II Група	Pulpitis chronica	20	25
Контролна група	Dens impacta	10	12,5

Графикон 4.1. Дистрибуција на клиничката дијагноза кај испитуваните групи



4. 2. Методи на работа

Во овој магистерски труд беа реализирани следниве испитувања:

- Детална анамнеза и клинички преглед со анализа на рендгенолошките промени;
- Приирање на материјалот за работа;
- Лабораториски испитувања на добиениот материјал:
 - издвојување и определување на концентрацијата на протеините во материјалот за испитување,
 - определување на концентрацијата на матрикс-металопротеиназите во материјалот за испитување;
- Статистичка обработка на податоците.

3. Клинички преглед, радиографско проследување на случаите и терапија

Следуваат опис на анамнестичките податоци, клиничкиот преглед (интрависуален и локален дентален статус) и по спроведените анализи (радиолуцентните или ортопантомографските рендгенографии беа извршени) за диагнозата и индикациите за спроведување на ендодонски и ортодонтичко-хируршка интервенција.

Пациентите со хроничен периапикален процес со детална анамнеза и обновен клинички преглед се проследи и регистрира постоењето на симптомите: болка, перкуторна осетливост, и на објективни знаци: евентуално дренирање на ексудат од коренскиот канал и кръвотока при изстула. Овие податоци беа изразени преку CPI индекс (clinical periodontal index).

При пациентите со хроничен периапикален процес, радиографската фотографија беше фокусирана на следниве параметри:

- на состојбата на пародонциумот, со цел да се евидентира постоењето на хроничен периапикален процес,
- кретирање на неговата гранична линија,
- кретирање на степенот на радиолуценција (изразена во mm^2),
- идиопатична коскена ресорпција.

На рендгенограмот преку софтверска пределекција (UTHSCSA EndoView) беше одредена големината на периапикалната лезија, со која се подаде постоење на корелација меѓу големината на лезијата и степенот на ММР.

3.2. Приирање на материјалот за испитување

Следуваат група пациенти каде клинички и рендгенолошки е доказано постоење на хроничен периапикален процес материјалот за испитување беше земен во текот на орално-хируршката интервенција. По завршувањето на оперативните работи, материјалот за испитување (периапикалниот патолошки материјал) беше земен со киретирање на алвеолата на екстракциијата и спроведување на оперативната интервенција (апикотомија, цистектомија) со извршувањето на интраоперативни рендгенографии.

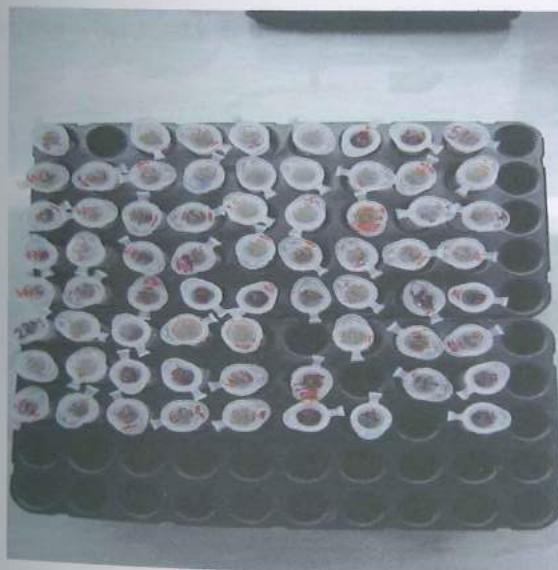
дистранување на патолошкиот процес од самата хронична периапикална лезија.

Материјалот за испитување беше чуван во стерилни епрувети (слика 10). Во најкус временски период земениот материјал беше специјално складиран на температура од -80°C на која се чуваше се до неговата анализа, иако во период не подолг од 6 месеци.

Од втората група пациенти, кај кои беше поставена дијагнозата *Pulpitis chronicus*, материјалот за испитување беше замен во текот на ендодонскиот третман, со витална екстирпација на ткиво на пулпата со помош на стерилни инве игли при претходно аплицирана спроводна локална анестезија.

Со цел да се спречи штетното дејство на егзогените бактериски протеази, ослободени во инфламираното ткиво на пулпата, земениот материјал е специјално складиран во пластични епрувети, а потоа пренесен и замрзнат на температура од -80°C на која стоеше се до изведувањето на анализа за квантитативно определување на концентрацијата на MMP во ткивиниот хомогенат (слика 10).

Материјалот за испитување кај пациентите од третата група која служеше за контрола и каде беше поставена дијагноза *Dens impacta* е замен од оперативно екстрактирани заби од кои пулпата беше екстирпираана со инве игли по предходна трепанација на забите. Вака земениот материјал и тука специјално е складиран во пластични епрувети, а потоа брзо замрзнат на температура од -80°C .



Сл. 10. Микроцентрифугални епрувети со материјалот за испитување, во кои е чуван на температура од -80°C се до неговата лабораториска анализа

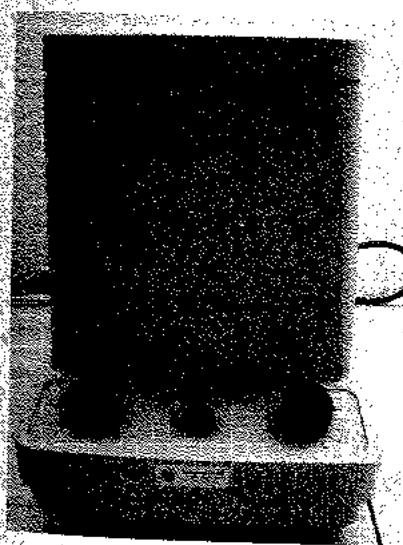
4.3. Лабораториски испитувања

Сите испитувања беа извршени во Лабораторијата за анализа на Институтот за биологија при Природно-математичкиот факултет во Скопје.

Влијање на концентрацијата на протеините во материјалот за испитување

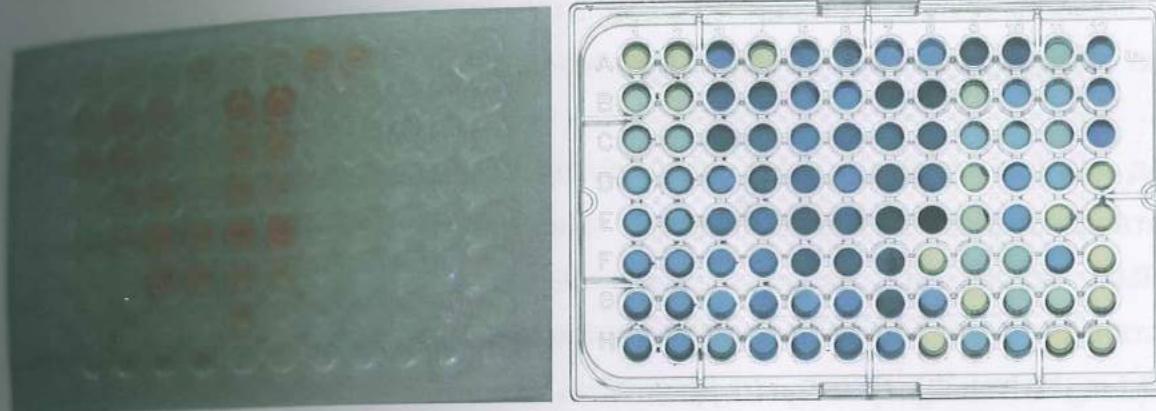
Материјалот за испитување се одвиваше во следниве кораки: во првите 15 минути, на секој примерок во епруветата му беа додадени 100 мкл. ато-пуфериран физиолошки раствор (Phosphate-Buffered Saline). Потоа, кога сегментот за ензимското испитување беше измерен на вага и вклучен во епруветата, беше додаден 10 мкл. пуфер кој содржи коктел на протеазни инхибитори: 1 мг. олметилсулфонил-флуорид (PMSF) и натриумова сол на етилендиаминтетраасетатна киселина (EDTA-Na₂).

Извличен примерок беше мацериран со стерилни игли во PBS и вклучен во стаклен микрохомогенизатор од +4°C до +8°C. Потоа, епруветите беа центрификуирани во микроцентрифуга (Eppendorf-Centrifuge 5415 R) со 13 000 g (гравитации) во време од 10 минути. Супернатантот беше нова епрувета и користен за понатамошна анализа.



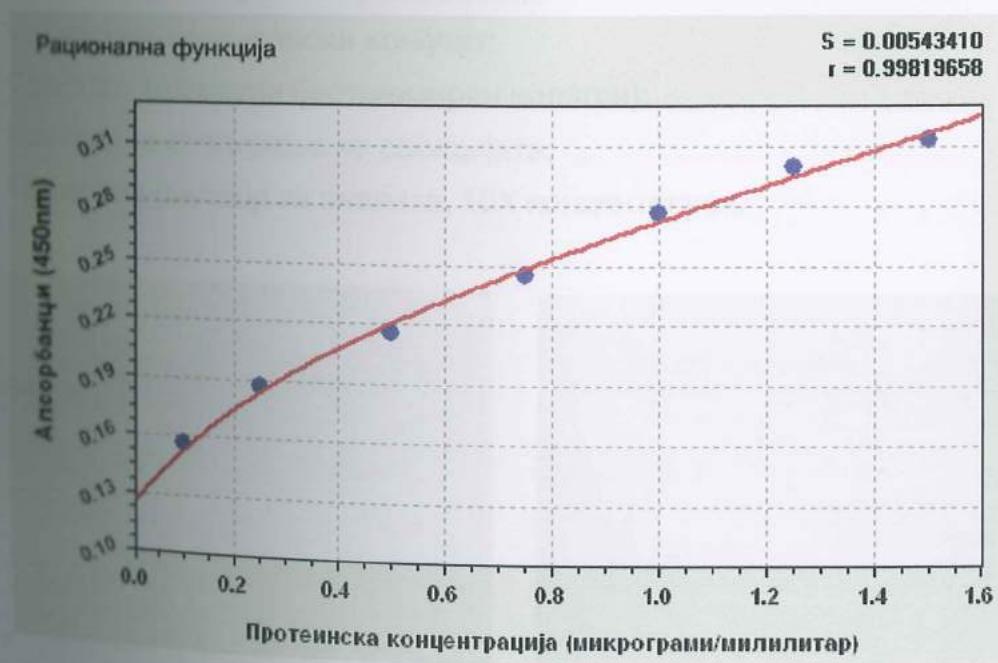
Центрифуга за центрификуирање на испитуваниот материјал

Во хомогенатот со помош на Bradford микрометод, користејќи серија од лет стандарди на говедски serum albumin (BSA-Bovin Serum Albumin) и измерување на алсорбацијата на 450 nm на спектрофотометар, беше определена концентрацијата на вкупните протеини (слика 12).



Сл. 12. Тест за определување на концентрацијата на вкупните протеини

Стандардната крива за концентрацијата на протеините беше конструирана со софтверски програм CurveExpert 1.3. Од стандардната крива преку интерполяција се пресмета и концентрацијата на протеините во примероците (слика 13).



Сл. 13. Стандардна крива за концентрација на протеини

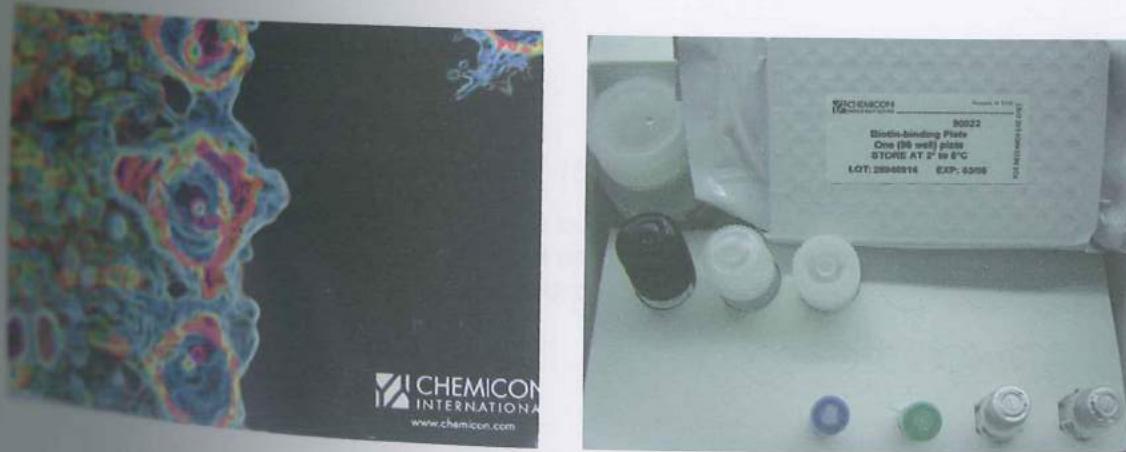
4.3.2. Квантитативен ензимски метод за определување на концентрацијата на матрикс-металопротеиназите

За определување на концентрацијата на трите типа на матрикс-металопротеинази (MMP-1, MMP-8 и MMP-13) беше применет квантитативен ензимски метод со комерцијален сет: MMP Collagenase Activity Assay Kit (ECM710) од фирмата CHEMICON, чии производи се карактеризираат со изразита сензитивност и точност.

CHEMICON MMP Collagenase Activity Assay Kit е дизајниран со цел да обезбеди брзо, сигурно и сензитивно определување на колагеназната активност на MMP-1, -8 и -13 во 96 (8x12) алвеоли. CHEMICON MMP Collagenase Activity Assay Kit овозможува детекција на колагеназната активност со аналитичка сензитивност помала од 10 ng/mL ($1\text{ng/mL}=10^{-9}\text{ g/mL}$).

CHEMICON MMP Collagenase Activity Assay Kit прикажан на слика 14 ги содржи следниве компоненти:

1. MMP-1 позитивна контрола;
2. Биотинизиран колагеназен супстрат;
3. Дилуент, 5X разреден;
4. Биотин-врзувачка плоча со 96 алвеоли (микро-ELISA формат);
5. Енхенсер (засилувач на реакцијата);
6. Стрептovidин-ензимски коњугат;
7. Супстрат (говедски биотинизиран колаген);
8. Раствор за стопирање на реакцијата;
9. Пуферски раствор за анализа, 10X концентриран.



Сл.14. CHEMICON MMP Collagenase Activity Assay Kit (ECM710)

Сетот за квантитативно определување на концентрацијата на MMP како супстрат користи говедски биотинизиран колаген. Овој нативен супстрат во градба на троен хеликс бидува раскинат од страна на активните MMP-1, -8 и -13 (колагеназни) ензими. Кај овој метод, алвеолите од сетот на биотин-врзувачката плоча фабрички се обложени со стрептавидин. Во втората фаза, по додавањето на енхенсерот, преостанатите биотинизирани фрагменти се трансферираат во 96-те алвеоли на биотин-врзувачката плоча, при што се детектираат со стрептавидин ензимскиот коњугат (слика 15).

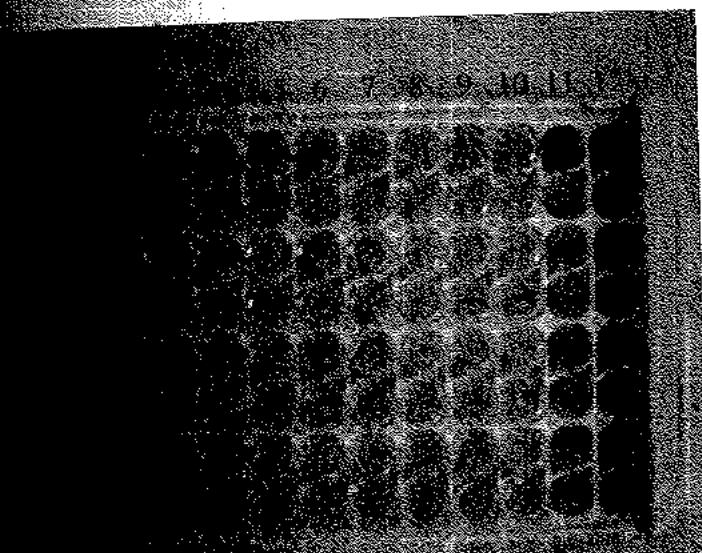


Сл. 15.

ELISA-вид лабораториска анализа кога моноклоналното антитело се врзува за ензимот при што доаѓа до промена во бојата што може да се мери со спектрофотометар.

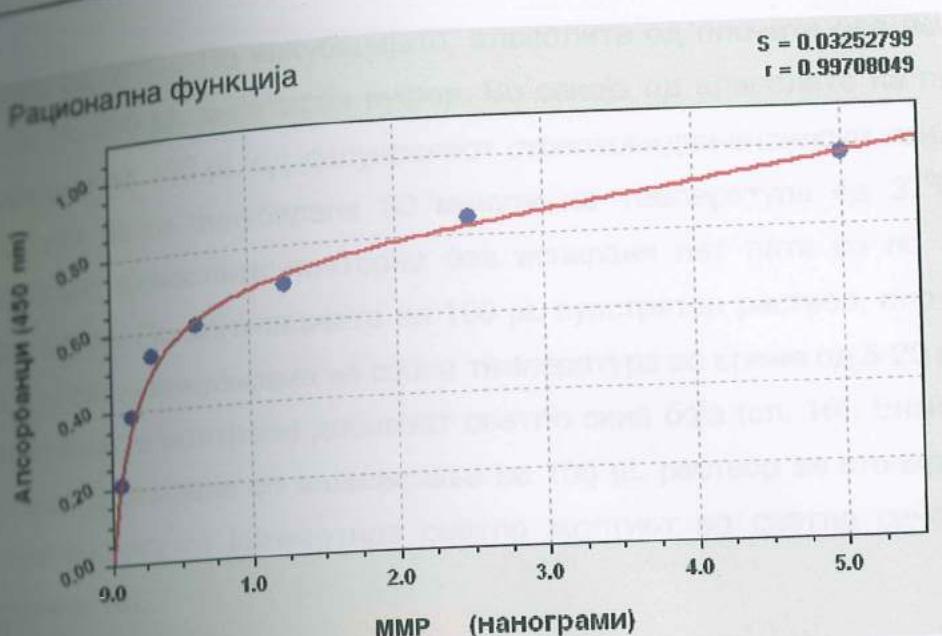
на стандардна крива со MMP-1 позитивната контрола

Изврши рехидрирање на MMP-1 позитивната контрола со вода и сето тоа добро се мешаше. Во микротитирачка табела, беше извршено сèриско разредување на MMP-1 позитивната контрола во однос 1:2 на следниов начин. Во алвеолите од В1 до А1 алвеолата беше додаден 20 μL од 5X разредениот дилуент. Во А1 алвеолата беа додадени конституираната MMP-1 позитивна контрола. Почнувајќи од А1, MMP-1 позитивната контрола беа трансферирали во А2, кој веќе содржеше 20 μL од 5X разредениот дилуент, се разреди 64 пати во алвеолите од G1 редот (слика 16).



Микротитирачка плоча за определување на концентрација на MMP

Беа изведени на микро-ELISA микрочитач (Anthos hIPII) при волтаж 450 нм. Добиените вредности беа нормализирани во база на стандардната крива. Вредностите на секој стандард беа корегирани според протеинската концентрација на стандардната крива беше конструирана софтверски со програма Anthos 1.3. Со интерполяција на вредностите беа пресметани концентрациите на колагеназите (MMP-1, -8 и -13) во примероците (слика 17).

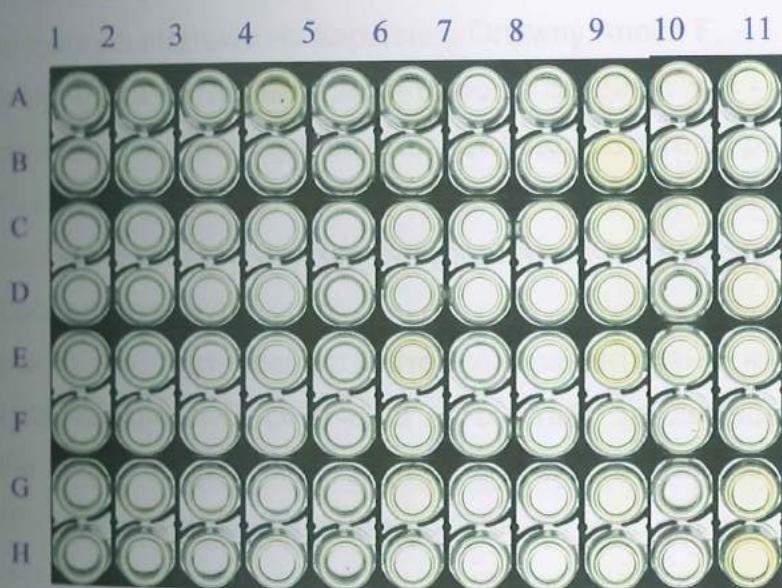


Сл. 17. Стандардна крива за концентрацијата на MMP

о Чекори во постапката за определување на концентрацијата на MMP

Прв чекор во оваа постапка беше активацијата на примероците преку додавање на 350 μL од примерокот во 100 μL од 250 mM Tris, со pH 7.5 и 50 mM CaCl_2 . Беше извршена инкубација на примероците, на температура од 37 $^{\circ}\text{C}$ во време од пет часа. Во 96-те алвеоли на микротитрирациската плоча со автоматски пипетор беа аплицирани по 50 μL од примероците, а потоа се додада по 30 μL од 5X разредениот дилуент и по 60 μL од дилуираниот биотинизиран колагеназен супстрат. Вака подготвената плоча, беше затворена со самолеплива лента и инкубирана на температура од 37 $^{\circ}\text{C}$ во време од 2 часа. По инкубацијата, во секоја алвеола беа аплицирани по 10 μL од претходно рехидрираниот енхенсер. ELISA плочата повторно беше затворена и оставена да се инкубира на температура од 37 $^{\circ}\text{C}$ во време од 30 минути. Биотин-врзувачката плоча беше рехидрирана со по 200 μL PBS во секоја алвеола и една минута оставена на собна температура. Внимателно, без да биде изгребана биотин-врзувачката плоча, беше аспириран пуферот. Во следниот чекор, 100 μL од смесата примерок/биотинизираниот колагеназен супстрат беше трансферирана во рехидрираната биотин-врзувачка плоча. Вака подготвена плочата беше затворена и инкубирана 30 минути на

температура од 37°C . По инкубацијата, алвеолите од плочата беа испирани пет пати со по 200 µL дилутиран пуфер. Во секоја од алвеолите на плочата беа аплицирани по 100 µL од дилуираниот стрептovidин-ензимски коњугат, а плоча плочата беше инкубирана 30 минути на температура од 37°C . Во следниот чекор алвеолите повторно беа испирани пет пати со по 200 µL дилутиран пуфер. По апликацијата на 100 µL супстратен раствор, плочата за последен пат беше инкубирана на собна температура во време од 5-20 минути, за кое позитивните контроли добиваат светло сина боја (сл. 16). Ензимската реакција беше стопирана со аплицирање на 100 µL раствор за стопирање во секоја алвеола, кој го конвертира светло жолтиот во светло сино обоеен продукт (слика 18).



Сл. 18. Биотин-врзувачка плоча со аплицирани 100 µL супстратен раствор со додаден раствор за стопирање на реакцијата

Статистичка обработка на резултатите

Даната анализа за споредување на вредностите за значимоста меѓу испитуваните групи, беше извршена со дескриптивни и аналитички статистички методи од програмата Statistica 6.0.

Статистичката обработка на податоците од дескриптивните методи кои се користат со нумерички белези беа користени: фреквенциите, аритметичка вредност (\bar{X}), стандардната девијација (σ), проценти и корелационите односи и пропорции.

Статистичките методи кои се користат за споредување меѓу два параметра во серии со нумерички белези е

чијот Chi - Square тест,

анализа на варијанса One way Anova F,

анализа на тестот на аритметичките средини.

Статистички значајни се сметаат вредностите за $p < 0,05$.

Анализите на статистичките методи во статистичката обработка беа применети на дескриптивните тестови поради одсутвото на нормалната дистрибуција во испитуваните групи.

Резултатите на дескриптивните тестови-результатите се презентирани како p вредности, каде вредностите со $p < 0,05$ се сметаат за значими. Kruskall-Wallis тест е применет за да се анализира степенот на разликите во вредностите меѓу различните групи.

Статистичките методи и резултатите се прикажани во таблици.

Статистичките методи и презентирањето на резултатите се прикажани во таблици.

5. РЕЗУЛТАТИ

5. РЕЗУЛТАТИ

Кај на структурата на истражувачкиот материјал

на структурата на пациентите од кои се добиени истражувачки материјали е прикажана на табелите 1, 2 и 3 и графиконите 1, 2 и 3. Структурата на пациентите поделена според возраст, е прикажана на табела 1.

Според возрастта пациентите беа класифицирани во пет групи. Најголемиот број од нив се регистрирани во втората и третата старосна група. Од вкупно 80 пациенти, 12 (15%) се на возраст <20 години, 25 пациенти (31,25%) на возраст од 20 - 29 години, 20 пациенти (25%) се на возраст 30 - 39 години, 15 пациенти (18,75%) се на возраст от 40 - 49 години и 13 пациенти (16,25%) се на возраст >50 години.

Најголем број пациенти (13 или 26%) кај I-та група се на возраст <20 години, а најмал број (6 или 12%) се во старосната група >50 години. Кај II-та група најголем број пациенти (9 или 45%) се на возраст 30 - 39 години, а само еден пациент на возраст >50 години. Кај III-та група најголем број пациенти (4 или 40%) се во третата старосна група (40-49 години), додека во петтата (>50) нема ниту еден.

Според податоците за испитуваните групи во зависност од возрастата на пациентите со Pearson-овиот Chi-Square тест покажа дека, меѓу нив не постои статистичка поврзаност ($\chi^2=8,460$; $df=8$; $p=0,390$).

Структурата на испитуваните групи според полот е прикажана со табела 2. Незначително позастапен е машкиот пол со 42 пациенти (52,5%), во однос на пациентите од женски пол со 38 испитаници (47,5%). Во I-та испитувана група, со дијагноза Parodontitis periapicalis chronica, 11 (55%) пациенти се застапени кај двата пола по 10 пациенти или 50%. Со дијагноза Parodontitis periapicalis chronica diffusa, 11 (55%) се од машки (50%) и 10 (50%) од женски, додека кај пациентите со дијагноза Cystitis pulparis, 10 (50%) се од машки, а 2 (20%) од женски пол. Во втората испитувана група со дијагноза Pulpitis chronica, 8 (40%) пациенти се од машки, а 12 (60%) од женски пол. Во III-та контролна група со дијагноза Dens invaginatus, 10 (50%) пациенти се од машки, а 10 (50%) од женски пола присутни се по 5 (50%) пациенти.

Резултатите од анализата направена со Pearson-овиот Chi-Square тест покажа дека, не постои статистичка сигнификантност меѓу клиничките диференции во однос на полот ($\chi^2=5,553$; $df=4$; $p=0,235$).

Табела 1. Дистрибуција на испитуваните групи според возраст

		Испитувани групи			Вкупно
		I група	II група	III група	
< 20 г.	Број	8	2	2	12
	% во рамки на возраст	66,7	16,7	16,7	100
	% во рамки на група	16	10	20	15
20-29 г.	Број	13	9	3	25
	% во рамки на возраст	52	36	12	100
	% во рамки на група	26	45	30	31,25
30-39 г.	Број	11	5	4	20
	% во рамки на возраст	55	25	20	100
	% во рамки на група	22	25	40	25
40-49 г.	Број	6	3	1	10
	% во рамки на возраст	60	30	10	100
	% во рамки на група	12	15	10	12,5
> 50 г.	Број	12	1	/	13
	% во рамки на возраст	92	7,6	/	100
	% во рамки на група	24	5		16,25
Вкупно	Број	50	20	10	80
	% во рамки на возраст	62,5	25	12,5	100

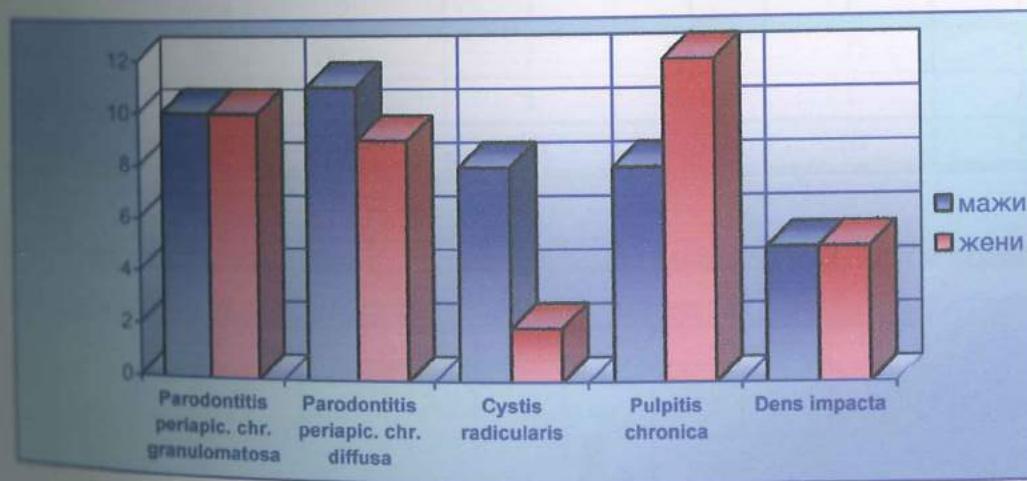
Графикон 1. Дистрибуција на испитуваните групи според возраст



Табела 2. Дистрибуција на испитуваните групи според пол

Пол	I група		II група		Контролна група	Вкупно
	Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	Parodontitis periapicalis chronica diffusa	Cystis radicularis	Pulpitis chronica		
Мажи	Број	10	11	8	8	42
	% во рамки на пол	23,8	26,2	19	19	100
	% во рамки на дијагноза	50	55	80	40	52,5
Жени	Број	10	9	2	12	38
	% во рамки на пол	26,3	23,7	5,3	31,6	100
	% во рамки на дијагноза	50	45	20	60	47,5
Вкупно	Број	20	20	10	20	80
	% во рамки на дијагноза	25	25	12,5	25	12,5
						100

Графикон 2. Дистрибуција на испитуваните групи според пол

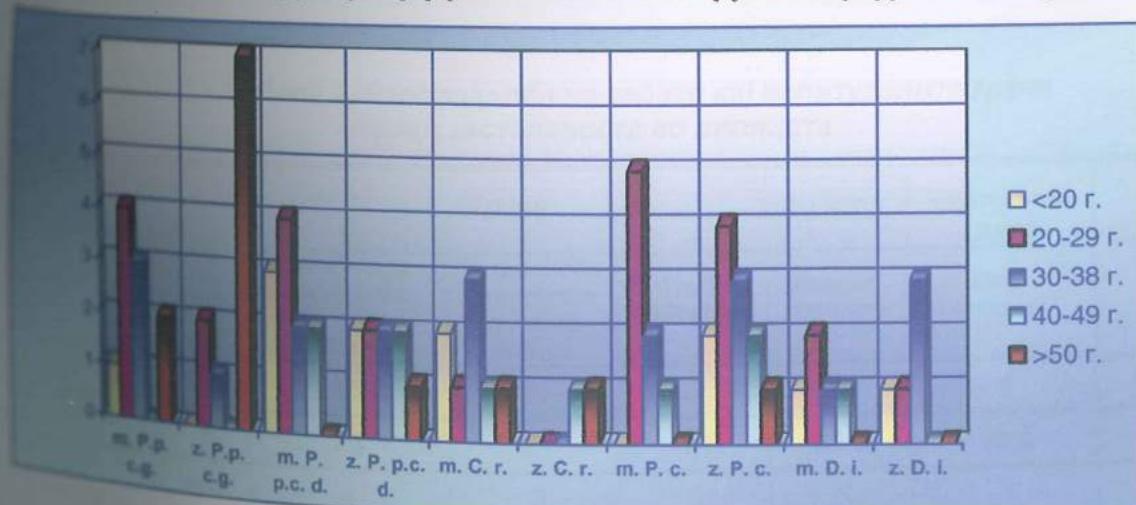


На табела 3 и графикон 3 е прикажана дистрибуцијата на испитуваните групи според пол и возраст. Кај машкиот пол доминираат пациентите на возраст од 20 - 29 години (16) и пациентите во возрасната група од 30 - 39 години (11). Останатите старосни групи беа со помал број пациенти. Кај женскиот пол доминираа пациентите на возраст >50 години чиј број е 10.

Табела 3. Дистрибуција на испитаните групи според пол и возраст

возраст	пол	I група			II група	Контролна група
		Parodontitis peripapicalis chronica granulomatosa	Parodontitis peripapicalis chronica diffusa	Cystis radicularis		
<20 г.	мажи	брой	1	3	2	/
		%	14,3	42,9	28,6	/ 14,3
	жени	брой	/	2	/ 2	1
		%	/	40	/ 40	20
20-29 г.	мажи	брой	4	4	1	5 2
		%	25	25	6,25	31,25 12,5
	жени	брой	2	2	/ 4	1
		%	22,2	22,2	/ 44,4	11,1
30-39 г.	мажи	брой	3	2	3	2 1
		%	27,3	18,2	27,3	18,2 9,1
	жени	брой	1	2	/ 3	3
		%	11,1	22,2	/ 33,3	33,3
40-49 г.	мажи	брой	/	2	1	1 1
		%	/	40	20	20 20
	жени	брой	/	2	1	2 /
		%	/	40	20	40 /
>50 г.	мажи	брой	2	/	1	/ /
		%	66,7	/	33,3	/ /
	жени	брой	7	1	1	1 /
		%	70	10	10	10 /

Графикон 3. Дистрибуција на испитаните групи според пол и возраст

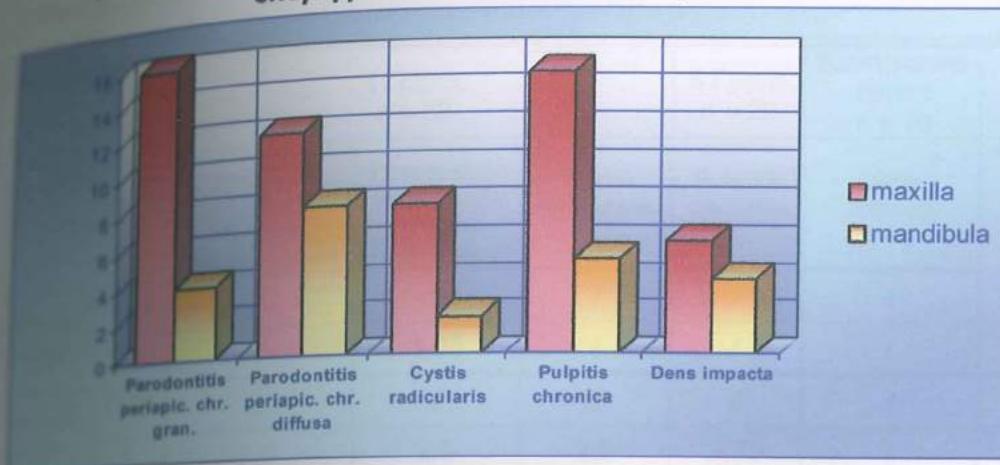


4 и графикон 4 е прикажана распределбата на забите во вилицата кај кои е спроведена орално-хируршка и ендодонтски третман. Тераписката постапка беше почесто кај забите во максилата во однос на мандибулата. Заби, поголем процент 71,3% (57 заби) беше регистриран во горната вилица кај кои беа опфатени 23 заба или 50,0% однос на долната вилица каде беа опфатени 23 заба или 46,0% заби. Кај пациентите со дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa* (кои имаше 16 заби (21%) орално-хируршката интервенција беше почесто кај забите од максилата, во однос на мандибулата со 12 заби (34,8%) и 8 заби (21%) во мандибулата. Кај пациентите со *Cystis radicularis*, орално-хируршката интервенција почесто беше во долната вилица кај 8 заби (14%), во однос на долната кај 2 заби (4%) и 6 заби (13%) испитувана група, кај пациентите со дијагноза *Pulpitis chronica* (кои имаше 15 заби кај поголем број заби (15 или 26,3%) од максилата беше спроведен ендодонтски третман, во однос на забите од мандибулата (5 или 10,5%) испитувана група, орално-хируршката интервенција беше спроведена кај 3 заби (10,5%) од горната вилица и кај 4 заби (17,4%) од долната вилица со *Pearson*-овиот Chi-Square тест покажа дека, не постои статистичка зависност на испитуваните групи со застапеноста на забите во вилиците ($\chi^2=0,769$; $df=2$; $p=0,681$). Анализата на податоци со *Pearson*-овиот Chi-Square тест покажа дека клиничката застапеност не е повлијана од распределбата на забите во вилицата. ($\chi^2=3,112$; $df=4$;

Табела 4. Распределба на забите кај испитуваните групи според застапеноста во вилицата

I Група		II Група		Kонтролна група	Вкупно
<i>Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa</i>	<i>Paradontitis periapicalis chronica diffusa</i>	<i>Cystis radicularis</i>	<i>Pulpitis chronica</i>	<i>Dens impacta</i>	
16	12	8	15	6	57
28	21	14	26,3	10,5	71,3
4	8	2	5	4	23
17,4	34,8	8,7	21,7	17,4	28,7

Графикон 4. Распределба на забите кај испитуваните групи според застапеност во вилицата



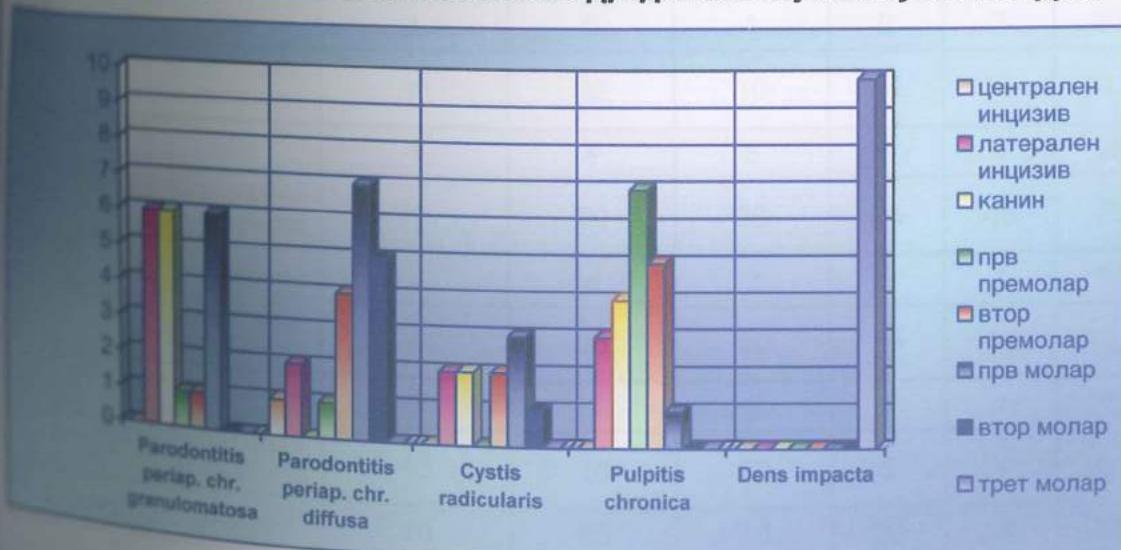
На табела 5 и графикон 5 е прикажан бројот и процентуалната застапеност на одреден заб кај испитуваните групи, кај кои е спроведен индентски третман или орално-хируршка интервенција. Во првата испитувана група, кај пациентите со хроничен периапикален процес, каде по клиничките податоци и деталниот клинички екстра- и интраорален преглед и анализата на рендгенограмот беше поставена дијагноза Parodontitis peripericalis chronica granulomatosa, орално-хируршките интервенции беа спроведени кај 6 латерални инцизиви или 7,5%, 6 канини (7,5%), 1 прв премолар (1,25%), 1 втор премолар (1,25%) и 6 први молари (7,5%). Кај пациентите со дијагноза Parodontitis peripericalis chronica diffusa, орално-хируршките интервенции беа спроведени кај 1 централен инцизив (1,25%), 2 латерални инцизиви (2,5%), 1 прв премолар (1,25%), 4 втори премолари (5%), 7 први молари (8,75%) и 5 втори молари (6,25%). Кај пациентите со дијагноза Cystis radicularis, орално-хируршките интервенции беа спроведени кај 2 латерални инцизиви (2,5%), 2 канина (2,5%), 2 втори премолари (2,5%), 3 први молари (3,75%) и 1 втор молар (1,25%). Во втората испитувана група, индентски третирани беа 3 латерални инцизиви (3,75%), 4 канини (5%), 7 први премолари (8,75%), 5 втори премолари (6,25%) и 1 прв молар (1,25%). Во третата контролана група, орално-хируршката интервенција беше спроведена кај 10 втори молари (12,5%).

Анализата на податоците за застапеноста на одреден заб кај испитуваните групи ($\chi^2=101,829$; $df=14$; $p=0,000$ т.е. $p<0,01$) и клиничките дијагнози ($\chi^2=123,342$; $df=28$; $p=0,000$ т.е. $p<0,01$) покажува значајна статистичка поврзаност меѓу распределбата на забите и испитуваните групи.

Табела 5. Приказ на застапеноста на одреден заб кај испитуваните групи

Заб	I Група n = 50		II Група n = 20		Контролна група n = 10	Вкупно
	Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	Parodontitis periapicalis chronica diffusa	Cystis radicularis	Pulpitis chronica		
централен инцизив	број	/	1	/	/	1
	%	/	1,25	/	/	1,25
латерален инцизив	број	6	2	2	3	/ 13
	%	7,5	2,5	2,5	3,75	/ 16,25
канин	број	6	/	2	4	/ 12
	%	7,5	/	2,5	5	/ 15
първи премолар	број	1	1	/	7	/ 9
	%	1,25	1,25	/	8,75	/ 11,25
втори премолар	број	1	4	2	5	/ 12
	%	1,25	5	2,5	6,25	/ 15
първи молар	број	6	7	3	1	/ 17
	%	7,5	8,75	3,75	1,25	/ 21,25
втори молар	број	/	5	1	/	/ 6
	%	/	6,25	1,25	/	/ 7,5
трети молар	број	/	/	/	/	10 10
	%	/	/	/	/	12,5 12,5

Графикон 5. Приказ на застапеноста на одреден заб кај испитуваните групи



Резултати добиени од клиничките испитувања

Испитување беа опфатени 80 пациенти кај кои беше спроведена деталирана анамнеза со комплетен клинички преглед (обично симптоматичен и локален дентален статус). Кај сите пациенти беше спроведен рентгенографски и ортопантомографски рендгенографии.

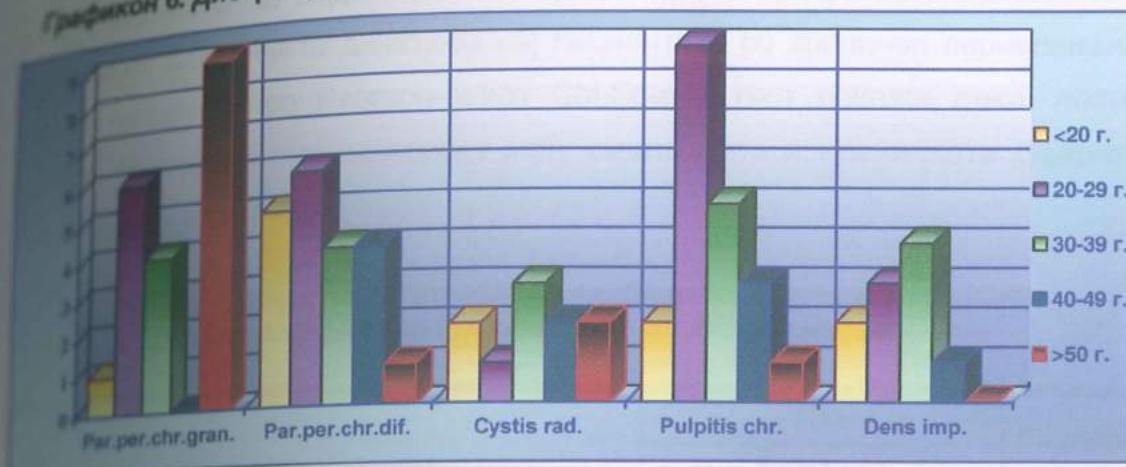
Наоди од анамнезата и клиничкиот преглед беа нотирани во табелата за таа цел, од кои потоа се добиени и податоците за стапувања кај пациентите, како и податоците за дистрибуцијата на дијагнозата според возрасни групи (табела 6 и графикон 6).

Сите кои ги добивме од анализата на податоци за клиничката дистрибуција од возрасните групи, со помош на Pearson-овиот Chi- kvadrat test, меѓу нив постои значајна статистичка поврзаност ($\chi^2 = 11,2$, $p=0,048$), односно клиничката слика на патологијата не е предделена кај сите возрасни групации.

Дистрибуција на клиничката дијагноза според возрасни групи

	Клиничка дијагноза					Вкупно
	Parodontitis peripapicalis chronica granulomatosa	Parodontitis peripapicalis chronica diffusa	Cystis radicularis	Pulpitis chronica	Dens impacta	
18-25	1	5	2	2	2	12
26-35	5	25	20	10	10	15
36-45	6	6	1	9	3	25
46-55	30	30	10	45	30	31,3
56-65	4	4	3	5	4	20
66-75	20	20	30	25	40	25
76-85	1	4	2	3	1	10
86-95	1	20	20	15	15	12,5
96-100	9	1	2	1	/	13
Итамки дијагноза	45	10	20	5	/	16,25
Вкуп	20	20	10	20	10	80

Графикон 6. Дистрибуција на клиничката дијагноза според возрасни групи



На табела 7 и графикон 7 е даден приказ на позитивната симптоматологија (CPI индекс) кај пациентите со хроничен периодикален процес. Овие податоци го прикажуваат постоењето на клинички симптоми во периодот на шакшување или изведување на орално-хируршката интервенција, а манифестијата на знаците е означена со CPI индексот (clinical periapical index). Кај двојците пациенти со дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa*, беа со CPI индекс 0, кај кои не беа регистрирани ниту субјективни симптоми, ниту манифестни клинички знаци предизвикани поради постоење на пародонтит, освен се разбира, позитивниот рендгенолошки наод. Кај 3 пациенти со оваа дијагноза, CPI индексот беше 1, а тегобите на кои се жалеа беа субјективни т.е. присуство на болка при перкусија и палпација, додека кај останатите 11 пациенти со CPI индекс 2, постоеше манифестен оток или фистула при првата посета. Кај пациентите со дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica diffusa*, 5 се со CPI индекс 0, 9 пациенти се со CPI индекс 1 и 6 пациенти со CPI индекс 2. Отсуство на субјективни и манифестни клинички знаци (CPI индекс 0) беше регистрирано кај 2 пациенти со дијагноза *Cystis radicularis*, додека кај 8 пациенти постоеше манифестен оток или фистула (CPI индекс 2) при првата посета.

Анализата на податоци покажа дека, кај пациенти со *Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa*, почест е случајот да постојат манифестни клинички знаци, додека кај случаите со дијагнозата *Parodontitis periapicalis chronica diffusa*, почесто беше регистрирана болка на перкусија и палпација. Кај пациентите каде беше диагностицирано присуство на радикуларна циста доминираше бројот на случаи со манифестна клиничка слика.

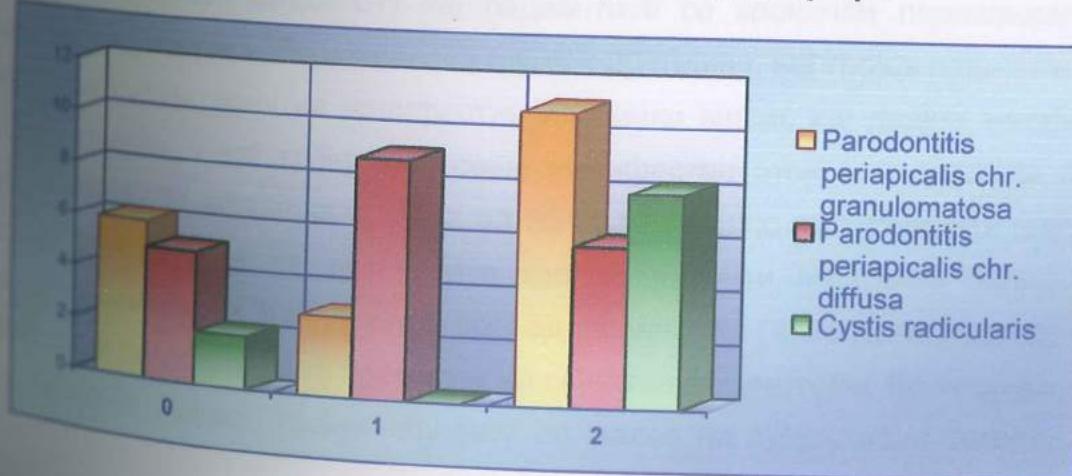
Проценка на влијанието на майрикс - мешалойрошеназите кај хроничните периапикални процеси

Анализата на податоци за отсъството или присъството на симптоми сврзани со клиничката дијагноза кај пациентите со хроничен периапикален процес, направена со Pearson-овиот Chi-Square тест покажа дека, постои значајна сигнификантна зависимост меѓу симптомите и клиничката дијагноза ($\chi^2=10,519$; $df=4$; $p=0,033$).

Табела 7. Приказ на објективните и субјективните симптоми (CPI) кај пациенти со хроничен периапикален процес

		CPI			Вкупно	
		0	1	2		
Дијагноза	Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	број	6	3	11	20
		% во рамки на дијагноза	30	15	55	100
		% во рамки на CPI	46,2	25	44	40
		% од вкупниот број	12	6	22	40
	Parodontitis periapicalis chronica diffusa	број	5	9	6	20
		% во рамки на дијагноза	25	45	30	100
		% во рамки на CPI	38,5	75	24	40
		% од вкупниот број	10	18	12	40
	Cystis radicularis	број	2	/	8	10
		% во рамки на дијагноза	20	/	80	100
		% во рамки на CPI	15,4	/	32	20
		% од вкупниот број	4	/	16	20
Вкупно		број	13	12	25	50
		% во рамки на дијагноза	26	24	50	100

Графикон 7. Приказ на објективните и субјективните симптоми (CPI) кај пациенти со хроничен периапикален процес



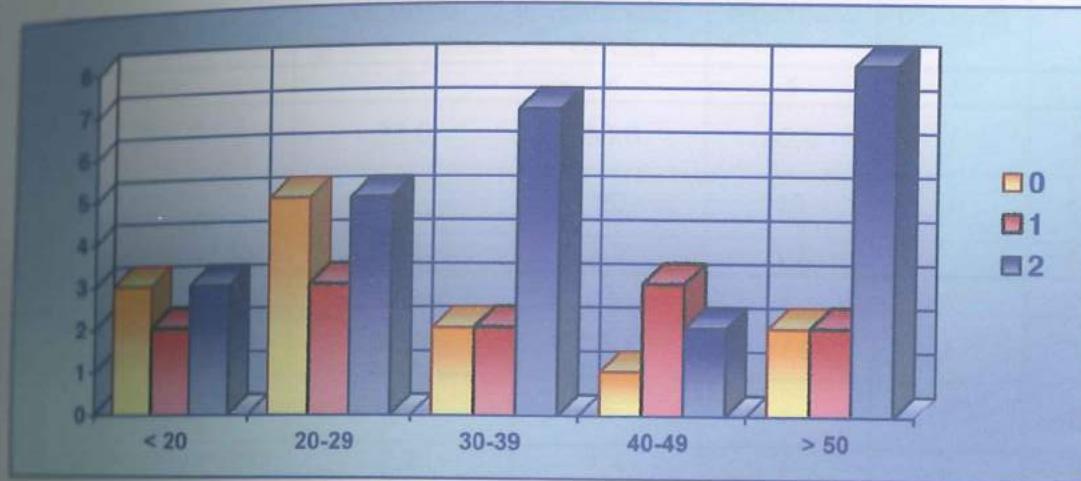
**Приказ на објективните и субјективните симптоми (CPI)
укај со хроничен периапикален процес според возраст**

	CPI			Вкупно
	0	1	2	
број	3	2	3	8
% во рамки на возраст	37,5	25	37,5	100
% во рамки на CPI	23,1	16,7	12	16
% од вкупниот број	6	4	6	16
број	5	3	5	13
% во рамки на возраст	38,5	23	38,5	100
% во рамки на CPI	38,5	25	20	26
% од вкупниот број	10	6	10	26
број	2	2	7	11
% во рамки на возраст	18,2	18,2	63,6	100
% во рамки на CPI	15,4	16,7	28	22
% од вкупниот број	4	4	14	22
број	1	3	2	6
% во рамки на возраст	16,7	50	33,3	100
% во рамки на CPI	7,7	25	8	12
% од вкупниот број	2	6	4	12
број	2	2	8	12
% во рамки на возраст	16,7	16,7	66,7	100
% во рамки на CPI	15,4	16,7	32	24
% од вкупниот број	4	4	16	24
број	13	12	25	50
% во рамки на возраст	26	24	50	100

На графикон 8 е даден приказ на објективните и субјективните симптоми (CPI индексот) кај пациентите со хроничен периапикален процес. Во возраната група < 20 години, кај тројца пациенти не билни ни манифестни клинички знаци, кај двајца тегобите биле, а кај тројца постоеше манифестен оток или фистула при извршувањето на преглед. Во возрасната група од 20-29 години, по пет пациенти беа со симптоми, а кај останатите тројца пациенти постоеше болка на преглед. Кај најголем број од пациентите (7, 28%) на возраст од 30-39 години, тројца пациенти се жалеа на субјективни тегоби. Во

активната група >50 години, доминираше бројот на пациентите кај кои не регистрираме постоење на објективни симптоми (8,32%). Анализата на податоци направена со Pearson-овиот Chi-Square тест покажа дека, возрастта не влијае статистички значајно врз појавата на симптомите ($\chi^2=3,095$; $df=8$; $p=0.928$).

Графикон 8. Приказ на објективните и субјективните симптоми (CPI) кај пациенти со хроничен периапикален процес според возраст



Дијагнозата и оправданоста на орално-хируршката интервенција и ендодонтскиот третман се базираа врз основа на добиените податоци од анамнезата и комплетниот клинички преглед, при кој од големо значење беше и состојбата на забот кај пациентот. На табела 9 и графикон 9 е даден приказ на состојбата на забите кај I и II испитувана група. Кај пациентите каде беше поставена дијагноза Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa најчесто во клиничкиот преглед при локалниот дентален статус беа регистрирани заби со длабока кариозна лезија кои не се ендодонтски лекувани, заби под мостова конструкција со надоградба и радицис, кој не е ендодонтски лекуван. Кај пациентите каде беше поставена дијагноза Parodontitis periapicalis chronica diffusa, забите со длабока кариозна лезија кои не се ендодонтски третирани беа најчеста причина за појава на пародонтит, а исто така и за појава на радикулана циста. Добиените податоци за пациентите со хроничен периапикален процес, сугерираат дека при првата посета кај забите со длабока кариозна лезија кои не биле ендодонтски третирани и каде постоело гангrena, почетната состојба била понепријатна за пациентите, бидејќи истите биле причинители на силна болка и оток. Како најголем причинител за појава на *Pulpitis chronica* беа забите со нетретирана кариозна лезија.

Бы направена со Pearson-овиот Chi-Square тест покажа дека постои статистички сигнификантна разлика во состојбата на забите меѓу различни дијагнози ($\chi^2=77,998$; $df=27$; $p=0,000$ т.е. $p<0,001$).

Табл. 1 Приказ на состојбата на забите кај I и II испитувана група

Група	Дијагноза				Вкупно
	Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	Parodontitis periapicalis chronica diffusa	Cystis radicularis	Pulpitis chronica	
Сумар	5	4	4	/	13
Момчили на зуб	38,5	30,8	30,8	/	100
Женски на зуб	25	20	40	/	18,6
Момчили број	7,2	5,7	5,7		18,6
Момчили на зуб	5	1	/	/	6
Женски на зуб	83,3	16,7	/	/	100
Женски на зуб	25	5	/	/	8,6
Момчили број	7,2	1,4	/	/	8,6
Момчили на зуб	1	2	/	/	3
Момчили на зуб	33,4	66,6	/	/	100
Момчили на зуб	5	10	/	/	4,3
Момчили број	1,4	2,9	/	/	4,3
Момчили на зуб	2	2	1	/	5
Момчили на зуб	40	40	20	/	100
Момчили на зуб	10	10	10	/	7,1
Момчили број	2,9	2,9	1,4	/	7,1
Момчили на зуб	3	2	3	/	8
Момчили на зуб	37,5	25	37,5	/	100
Момчили на зуб	15	10	30	/	11,4
Момчили број	4,3	2,9	4,3	/	11,4
Момчили на зуб	2	1	/	/	3
Момчили на зуб	66,6	33,4	/	/	100
Момчили на зуб	10	5	/	/	4,3
Момчили број	2,9	1,4	/	/	4,3
Момчили на зуб	/	2	/	/	2
Момчили на зуб	/	100	/	/	100
Момчили на зуб	/	10	/	/	2,9
Момчили број	/	2,9	/	/	2,9

Процена на влијанието на майрикс - мешалойропеиназите кај хроничните йериатрични процеси

Број	2	2	2	/	6
% во рамки на состојба на заб	33,3	33,3	33,3	/	100
% во рамки на дијагноза	10	10	20	/	8,6
% од вкупниот број	2,9	2,9	2,9	/	8,6
Број	/	4	/	9	13
% во рамки на состојба на заб	/	22,2	/	77,7	100
% во рамки на дијагноза	/	10	/	3,5	12,9
% од вкупниот број	/	2,9	/	10	12,9
Број	/	/	/	11	11
% во рамки на состојба на заб	/	13,3	/	86,7	100
% во рамки на дијагноза	/	10	/	65	21,4
% од вкупниот број	/	2,9	/	18,6	21,4
Број	20	20	10	20	70
% во рамки на состојба на заб	28,6	28,6	14,3	28,6	100
% од вкупниот број	28,6	28,6	14,3	28,6	100

1 - заб со длабока кариозна лезија, не е ендодонтски лекуван

2 - заб под мостова конструкција со надградба

3 - радикус, ендодонтски лекуван

4 - заб под мостова конструкција, не е ендодонтски лекуван

5 - радикус, не е ендодонтски лекуван

6 - заб со пломба и ендодонтски лекуван

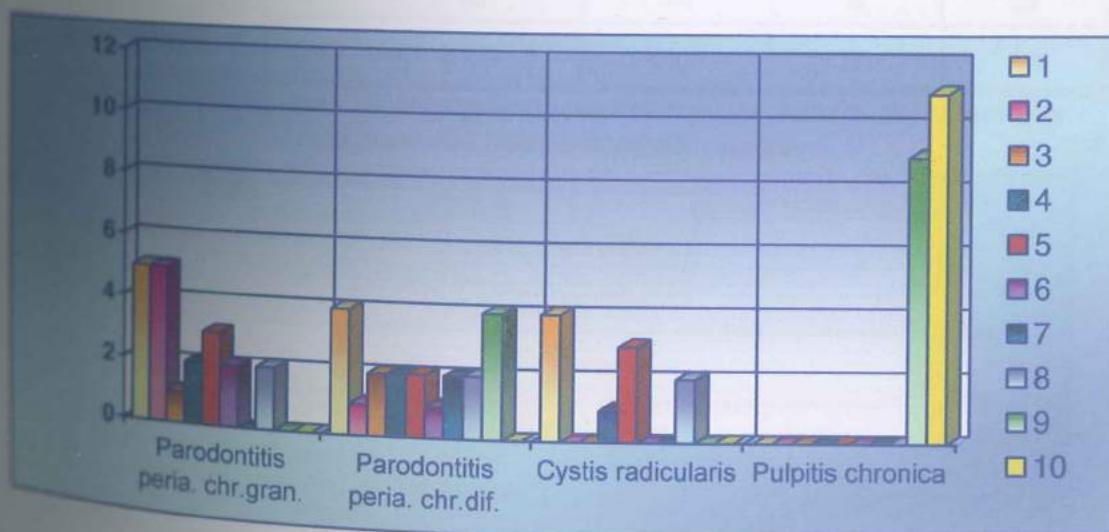
7 - заб со пломба, не е ендодонтски лекуван

8 - заб со длабока кариозна лезија, ендодонтски лекуван

9 - заб со кариес под пломба

10 - заб со кариозна лезија

Графикон 9. Приказ на состојбата на забите кај I и II испитувана група

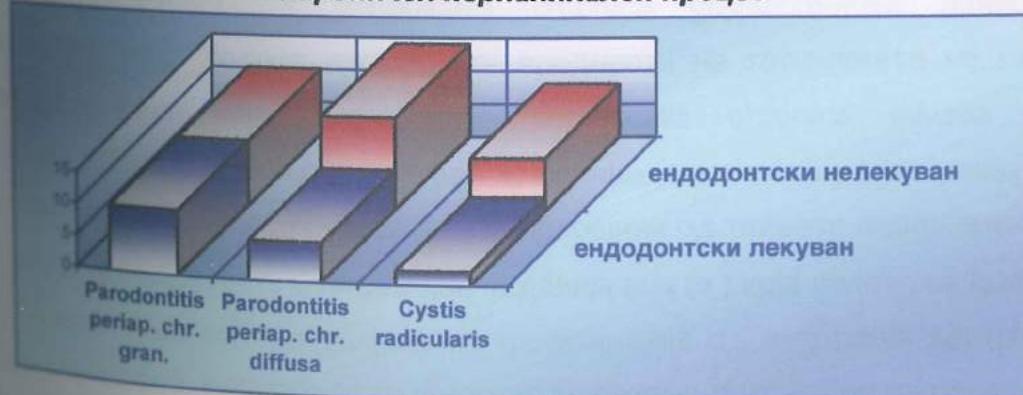


На табела 10 и графикон 10 е даден приказ на ендодонтскиот статус на забите кај пациентите со хроничен периапикален процес. Кај пациентите со диагноза Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa орално-хируршката интервенција беше спроведена кај подеднакво ист број ендодонтски лекувани и нелекувани заби. Орално-хируршката интервенција кај пациентите со диагноза Parodontitis periapicalis chronica diffusa беше спроведена кај поголем број ендодонтски нелекувани заби 14 (43,8%). Кај пациентите со диагноза Cystis radicularis орално-хируршката интервенција беше спроведена во поголем број случаи кај ендодонтски нелекувани заби 8 (25%), во однос на ендодонтски лекуваните заби 2 (11,2%). Анализата на податоците за ендодонтскиот статус на забите кај пациентите со хроничен периапикален процес, направена со Pearson-овиот Chi-Square тест покажа дека не постои статистички сигнификантна разлика во ендодонтскиот статус на забите во рамки на клиничката диагноза ($\chi^2=3,125$; $df=2$; $p=0,210$), иако во нашето испитување од вкупниот број заби во првата испитувана група позастапени беа ендодонтски нелекуваните.

Табела 10. Приказ на ендодонтскиот статус на забите кај пациенти со хроничен периапикален процес

Ендодонтски третман		I Група			Вкупно
		Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	Parodontitis periapicalis chronica diffusa	Cystis radicularis	
ендодонтски лекуван	Број	10	6	2	18
	%	55,6	33,4	11,2	36
ендодонтски нелекуван	Број	10	14	8	32
	%	31,3	43,8	25	64

Графикон 10. Приказ на ендодонтскиот статус на забите кај пациенти со хроничен периапикален процес



Радиограмските снимки преку софтверска пределекција беше измерена големината на лезијата и изразена во mm^2 . Хроничните периодонтални процеси имаат различна клиничка дијагноза кај пациентите со хроничен периапикален процес меѓусебно се разликуваа според својата големина и вредности за големината на лезијата беа регистрирани со клиничка дијагноза Parodontitis periapicalis chronica ($16,28 \text{ mm}^2$). Најголеми вредности беа регистрирани кај случаите со клиничка дијагноза Parodontitis periapicalis chronica diffusa ($54,13 \text{ mm}^2$).

Приказ на големината на радиографската величина на лезијата измерена во mm^2 кај пациенти со хроничен периапикален процес

Број (n)	min	max	медијана	$\bar{X} (\text{mm}^2)$	σ
20	5,28	19,63	11,26	11,37	$\pm 4,28$
20	12,27	54,13	37,8	36,20	$\pm 13,83$
10	34,8	54,07	45,71	45,10	$\pm 5,53$

\bar{X} - аритметичка вредност σ - стандардна девијација

Најголема аритметичка вредност и стандардната девијација на големината во периапикалниот предел кај лезиите кои се дијагностицирани како Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa изнесуваше $36,20 \pm 13,83 \text{ mm}^2$, додека просечните вредности на големината на лезиите кои се дијагностицирани како Parodontitis periapicalis chronica diffusa беа $11,37 \pm 4,28 \text{ mm}^2$. Лезиите кои беа клинички дијагностицирани како Cystis и дентигенитис имаат просечно најголема површина од ткивото околу апексот на $45,10 \pm 5,53 \text{ mm}^2$. Стандардната девијација (σ) која покажува колкаво е висока дистрибуцијата на фреквенција од нејзината аритметичка вредност, односно овде укажува на голема дисперзија на податоците.

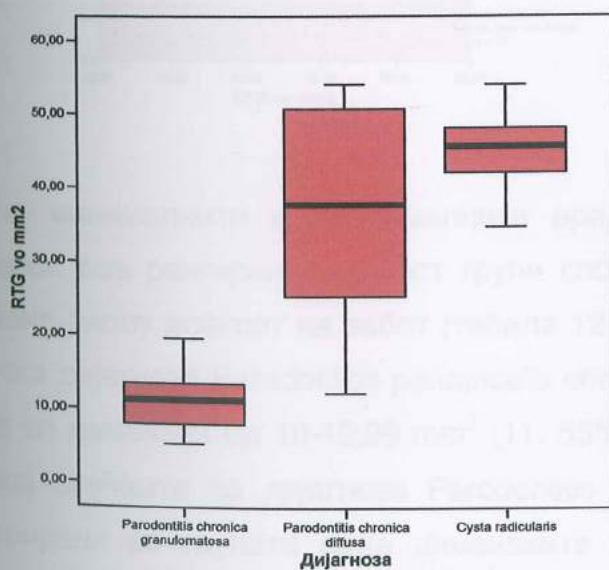
Заради непостоењето на докази за Гаусова (нормална) распределба направена за тестирање на нултата хипотеза (непостоење на значајни разлики меѓу RTG вредностите и клиничката дијагноза) користени се непараметарски еквивалентни анализи ANOVA тестот т.е. Kruskal-Wallis и тестот за медијани.

Анализата на податоци за средните вредности на големината на радиографската величина на лезијата кај пациентите со хроничен периапикален процес покажа дека постои значајна статистичка разлика меѓу големината на лезиите кај пациентите со различна клиничка дијагноза (еднонасочна анализа на варијанса One way Anova $F=54,090$; $df=2$; $p=0,000$ т.е. $p<0,01$). Бидејќи вредноста на одредениот F е помала согласно меѓународните стандарди за био-медицински науки, нултата хипотеза се отфрла.

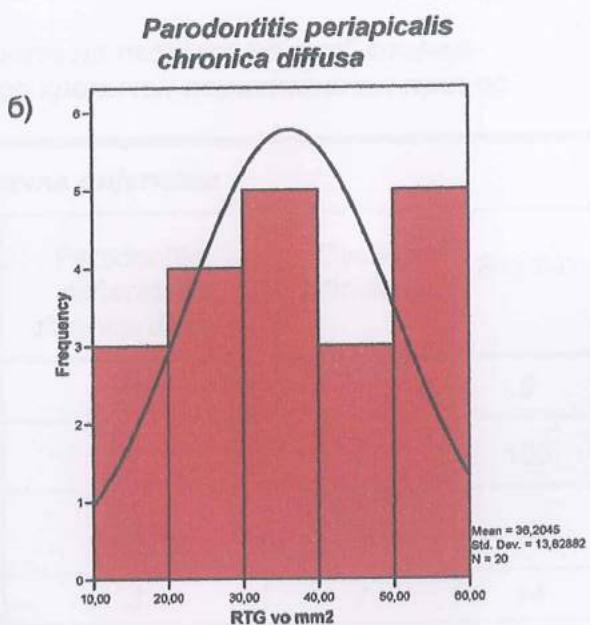
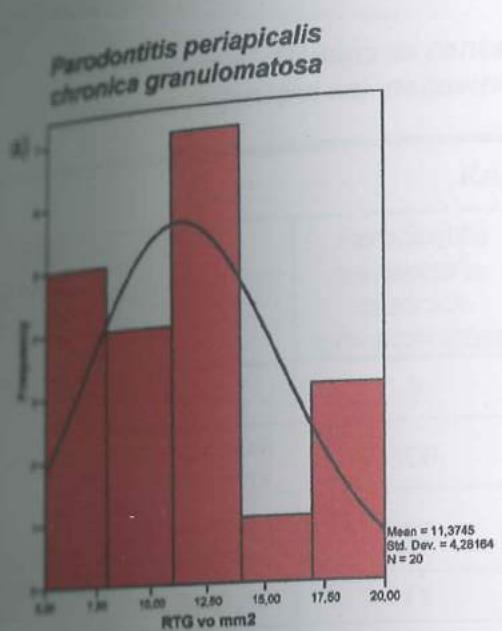
Висока статистичка сигнifikантност беше добиена и со Kruskal-Wallis тестот ($\chi^2= 33,244$; $df=2$; $p=0,000$ т.е. $p<0,01$), како и со Mediana тестот ($\chi^2= 35$, $df=2$; $p=0,000$ т.е. $p<0,01$).

Распределбата на средните вредности на големината на лезијата графички е прикажана со box-plot дијаграм, каде црно обоениот дел одговара на просечната вредност, а црвениот на стандардната девијација (графикон 11). Средната вредност на големината на лезијата кај одредена клиничка дијагноза од пациентите со хроничен периапикален процес е прикажана на графиконите 12 а, б, в.

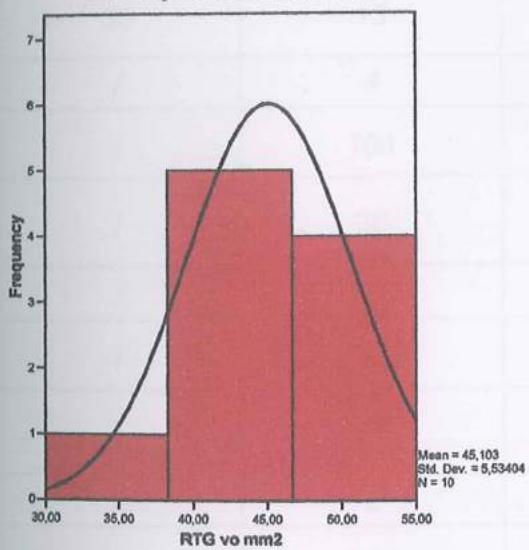
Графикон 11. Приказ на средните вредности на големината на лезијата според клиничка дијагноза кај пациенти со хроничен периапикален процес



Графикон 12. Приказ на средната вредност на големината на лезијата кај одредена клиничка дијагноза



b) *Cystis radicularis*



Врз база на минималните и максималните вредности, хроничните периапикални процеси беа рангирани во шест групи според димензиите на ткивото локализирано околу апексот на забот (табела 12 и графикон 13). Кај случаите со клиничка дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa*, доминираат лезиите со димензии од 10-19,99 mm² (11, 55%). Најголем број на лезии (6, 30%) кај случаите со дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica diffusa*, беа регистрирани во групата каде димензиите на периапикалниот

40-39,99 mm², за разлика од случаите со дијагноза Cystis radicularis кои доминираат лезиите со димензии од 40-49,99 mm² (7, 70%).

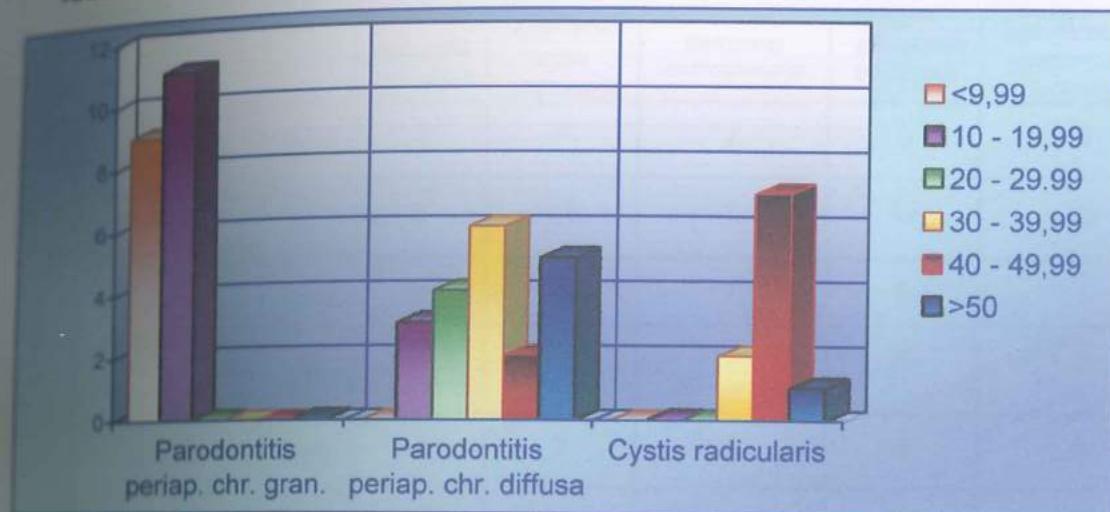
Табла 12. Приказ на големината на лезијата во mm² според клиничката дијагноза кај пациенти со хроничен периапикален процес

Клиничка дијагноза				
	Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	Parodontitis periapicalis chronica diffusa	Cystis radicularis	Вкупно
Сумар	9	/	/	9
Средници група	100	/	/	100
Средници дијагноза	45	/	/	18
Средници група	11	3	/	14
Средници дијагноза	78,6	21,4	/	100
Средници група	55	15	/	28
Средници дијагноза	/	4	/	4
Средници група	/	100	/	100
Средници дијагноза	/	20	/	8
Средници група	/	6	2	8
Средници дијагноза	/	75	25	100
Средници група	/	30	20	16
Средници дијагноза	/	2	7	9
Средници група	/	22,2	77,8	100
Средници дијагноза	/	10	70	18
Средници група	/	5	1	6
Средници дијагноза	/	83,3	16,7	100
Средници дијагноза	/	25	10	12

Анализа на податоци направена со Pearson-овиот Chi-Square тест покажува статистичка сигнификантност меѓу групираните вредности на

големината на лезиите кај пациентите со различна клиничка дијагноза ($\chi^2=59,048$; $df=2$; $p=0,000$ т.е. $p<0,01$).

Графикон 13. Приказ на големината на лезијата во mm^2 според клиничката дијагноза кај пациенти со хроничен перапикален процес



Врз база на добиените наоди од анамнезата и комплетниот клинички преглед, кај пациентите од I-та и III-та испитувана група беа спроведени соодветни орално-хируршки интервенции, додека кај пациентите од II-та испитувана група беше спроведен ендодонтски третман со витална екстирпација на ткивото на пулпата (табела 13 и графикон 14). Апикотомијата со интраоперативно канално полнење, беше спроведена како орално-хируршка постапка во најголем број случаи кај пациентите со дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa* (9, 45%).

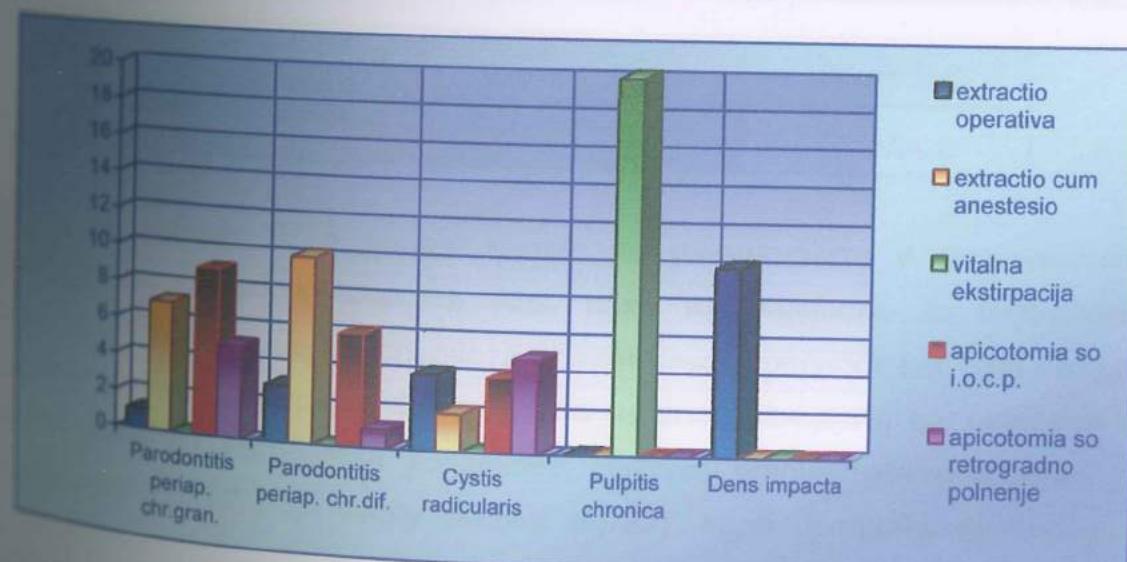
Кај пациентите кај кои беше поставена дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica diffusa*, екстракцијата на забите претставуваше најчесто превземена орално-хируршка интервенција (9, 45%), за разлика од пациентите со дијагноза *Cystis radicularis*, каде апикотомијата со ретроградно полнење беше најчесто спроведена тераписка постапка (5, 50%).

Анализата на податоците направена со Pearson-овиот Chi-Square тест покажа дека не постои значајна статистичка поврзаност меѓу спроведената тераписка постапка и клиничката дијагноза кај пациентите со хроничен перапикален процес ($\chi^2=8,533$; $df=6$; $p=0,202$), иако во нашето испитување од вкупниот број орално-хируршки интервенции, екстракцијата и апикотомијата со кајдр беа најчесто соправдени тераписки постапки.

Табела 13. Приказ на видот на орално-хируршката интервенција и тераписка постапка кај испитуваните групи

Клиничка дијагноза			ВИД НА ОРАЛНО - ХИРУРШКА ИНТЕРВЕНЦИЈА И ТЕРАПИСКА ПОСТАПКА				
			extractio operativa	extractio cum anestesio	вitalna ekstirpacija	apicotomia со i.o.c.p	apicotomia со ретроградно полнење
Група I	Parodontitis peripicalis chronica granulomatosa	Број	1	7	/	9	5
		%	5	35	/	45	25
Група II	Parodontitis peripicalis chronica diffusa	Број	3	10	/	6	1
		%	15	50	/	25	5
Контролна група	Cystis radicularis	Број	4	2	/	4	5
		%	40	20	/	40	50
Група III	Pulpitis chronica	Број	/	/	20	/	/
		%	/	/	100	/	/
Група IV	Dens impacta	Број	10	/	/	/	/
		%	100	/	/	/	/

Графикон 14. Приказ на видот на орално-хируршката интервенција и тераписка постапка кај испитуваните групи



5.3. Резултати добиени од лабораториските испитувања

5.3.1. Резултати добиени за концентрацијата на протеините

Лабораториските испитувања беа спроведени со цел да се определи концентрацијата на MMP со помош на ензимски метод. Вредностите за концентрацијата на MMP беа добиени преку нормализација на измерените апсорбанци за MMP (отчитани од стандардната крива), со предходно определената концентрација на протеините во истиот примерок. На тој начин беше нормализирана ефикасноста на физичката хомогенизација и беше редуцирана до апсулутен минимум, грешката која би настанала поради разликите во ткивните структури во секој од примероците. На табела 14 е даден приказ на вредностите од апсорбацијата Abs кај примероците од испитуваниот материјал.

Табела 14. Вредности на апсорбантите Abs (450 nm) кај примероците од испитуваниот материјал

	Апсорбанци Abs (450 nm)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	0,981	0,587	0,566	0,288	0,925	1,643	0,270	0,628	0,415	0,687	0,099
B	0,845	0,517	0,587	0,285	0,889	1,793	0,374	0,487	0,473	0,711	0,187
C	0,699	0,674	0,558	0,654	2,103	1,988	0,287	0,125	0,499	0,81	0,077
D	0,610	0,177	0,787	0,389	1,714	2,089	0,342	0,129	0,539	0,489	0,061
E	0,541	0,265	0,678	0,578	1,288	2,105	0,524	0,241	0,545	0,599	0,011
F	0,387	0,678	0,433	0,777	1,878	1,968	0,369	0,352	0,578	0,723	0,045
G	0,211	0,478	0,374	0,212	1,938	0,973	0,428	0,393	0,624	0,115	0,122
H	0,014	0,298	0,289	0,754	0,911	0,745	0,397	0,402	0,647	0,028	0,014

Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	Cystis radicularis	Контрола
Parodontitis periapicalis chronica diffusa	Pulpitis chronica	Стандард

На табела 15 е даден приказ на минималните и максималните вредностите на апсорбацијата Abs, како и вредности за медијаната, стандардната девијација и средната аритметичка вредност кај примероците од испитуваниот материјал. Вредностите на апсорбацијата кај случаите со диагностициран Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa варираа од многу ниски (0,177) до многу високи (0,787), каде средната аритметичка

Стандардната девијација изнесуваат $0,478 \pm 0,175$ (450nm). Кај дијагностициран Parodontitis periapicalis chronica diffusa група апсорбацијата беа поголеми, со средна аритметичка стапанда девијација $1,36 \pm 0,615$ (450nm). Минималната вредност била кај случаите со Cystis radicularis изнесуваше 0,27, додека максималната вредност беше 0,628, каде средната аритметичка вредност и стандардна стапанда изнесуваа ($0,412 \pm 0,110$) (450nm). Во втората испитувана група случаите минималната вредност на апсорбацијата изнесува 0,125, а максималната вредност беше 0,187. Стандардната група вредностите на апсорбацијата беа најниски и се поклопуваа од 0,011 до максимална 0,187.

Според непостоењето на докази за Гаусова (нормална) распределба и несъответствието на тестирање на нултата хипотеза (непостоење на значајни различии во вредностите на апсорбацијата меѓу клиничките дијагнози), беше извршена параметарска еквивалентна анализа ANOVA тестот. Анализата покажала дека тестот на аритметичките средини покажа дека постојат значајни разлики во нотираните вредности на апсорбацијата меѓу клинички дијагнози ($F=33,001$; $df=4$; $p=0,000$ т.е. $p<0,01$). Помалата на одредениот F е помала согласно меѓународните стандарди во медицински науки, нултата хипотеза се отфрла.

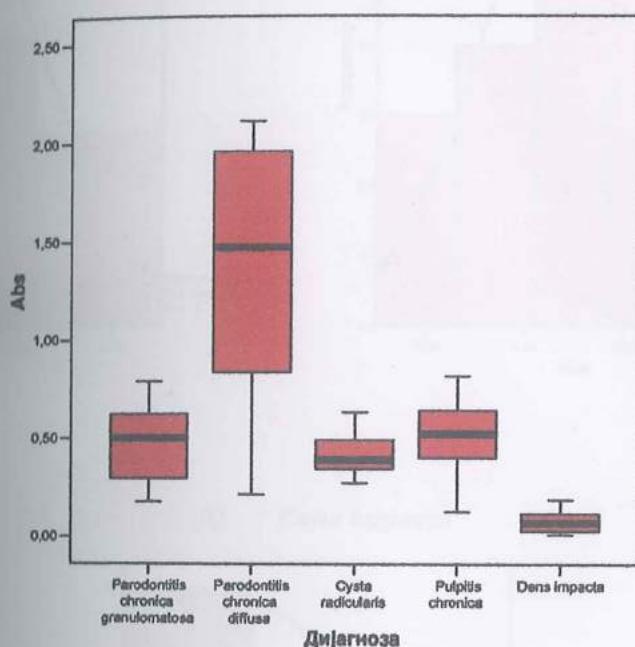
Табела 1: Стапанда Abs (450 nm) кај примероците од испитуваниот материјал

	Број (n)	min	max	medijana	\bar{X}	σ
1	20	0,177	0,787	0,498	0,478	$\pm 0,175$
2	20	0,212	2,105	1,465	1,36	$\pm 0,615$
3	10	0,27	0,628	0,386	0,412	$\pm 0,110$
4	20	0,125	0,81	0,519	0,499	$\pm 0,189$
5	10	0,011	0,187	0,069	0,076	$\pm 0,056$

Распределбата на просечните вредности на апсорбанцијата графички е прикажана со box-plot дијаграм, каде црно обоениот дел одговара на средната вредност, а црвениот на стандардната девијација (графикон15).

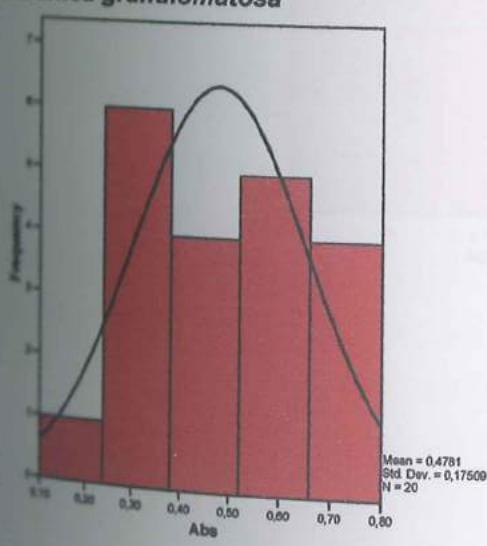
Приказот на средните вредности на апсорбанцијата според клиничка дијагноза на пациентите е даден на графиконите 16 а, б, в, г, д.

Графикон 15. Приказ на средните вредности на апсорбанцијата кај клиничките дијагнози од испитуваните групи

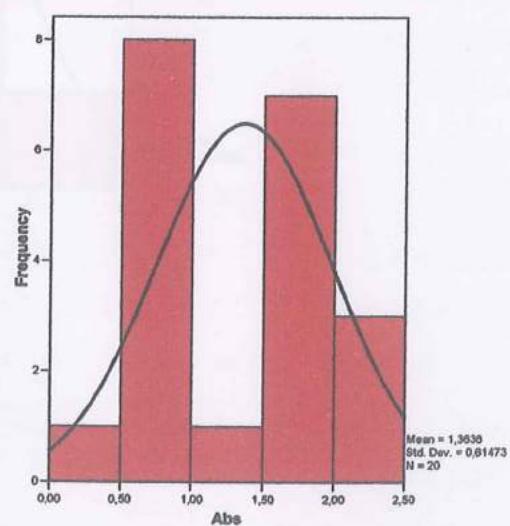


Графикон 16. Приказ на средните вредности на апсорбанцијата кај одредена клиничка дијагноза

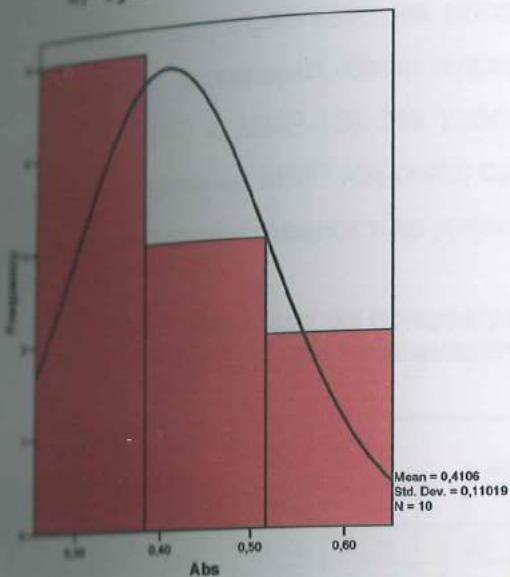
а) *Parodontitis peripicalis chronica granulomatosa*



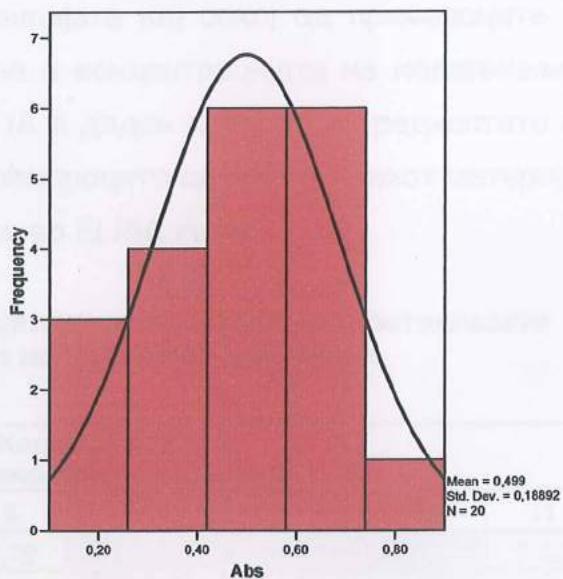
б) *Parodontitis peripicalis chronica diffusa*



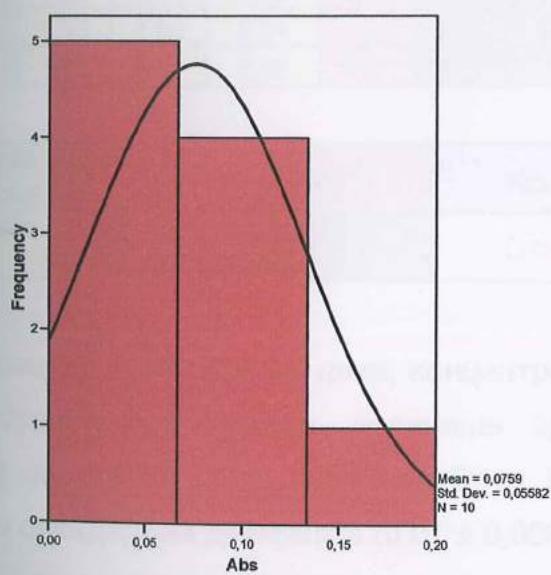
а) *Cystis radicularis*



г) *Pulpitis chronica*



д) *Dens impacta*



5.3.2. Резултати добиени за концентрацијата на матрикс-металопротеиназите

По определувањето на апсорбацијата кај секој од примероците на испитуваниот материјал, беше одредена и концентрацијата на колагеназите (MMP-1, MMP-8 и MMP-13). На табела 16 е даден приказ на вредностите од концентрацијата на MMP кај секој од примероците од испитуваниот материјал според нивната поставеност по дијагнози во ELISA китот.

Табела 16. Вредности од концентрацијата на матрикс-металопротеиназите (ng/mL) кај примероците од испитуваниот материјал

MMP (ng/mL)	Концентрација на матрикс-металопротеинази										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A 5,00	0,49	0,43	0,25	3,69	4,29	0,21	0,64	0,37	0,1	0,02	
B 2,50	0,33	0,48	0,08	2,97	4,41	0,15	0,28	0,95	0,42	0,02	
C 1,25	0,86	0,41	0,75	5,04	4,98	0,10	0,28	2,28	0,13	0,01	
D 0,63	0,05	0,95	0,17	4,09	5,06	0,13	1,23	0,2	0,21	0,01	
E 0,31	0,08	0,89	1,15	4,14	5,14	0,35	0,53	0,46	0,53	0,00	
F 0,16	0,89	0,61	1,23	4,54	5,39	0,15	0,17	0,2	0,1	0,01	
G 0,08	0,27	0,15	1,43	4,88	2,84	0,31	1,13	0,57	0,02	0,02	
H 0	0,45	0,53	1,83	3,87	1,55	0,17	0,3	0,32	0,00	0,00	

Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	Cystis radicularis	Контрола
Parodontitis periapicalis chronica diffusa	Pulpitis chronica	Стандард

Од табела 17 може да се забележи дека, концентрацијата на MMP кај примероците од испитуваниот материјал, варираше од недетектибилни вредности (0,00 ng/mL) за случаите со дијагноза Dens impacta (со средна аритметичка вредност и стандардна девијација $(0,01 \pm 0,009)$ ng/mL и медијана 0,01 ng/mL), за потоа да се зголеми пропорционално со клиничката слика на воспалението и ширење на инфекцијата од коренскиот канал кон периапикалниот предел. Исклучок се случаите со поставена дијагноза Cystis radicularis, каде средна аритметичка вредност и стандардна девијација изнесува $(0,25 \pm 0,16)$ ng/mL, а медијаната 0,19 ng/mL. Најголеми вредности на концентрацијата на MMP беа регистрирани кај случаите со дијагноза

MMP-9 (stromalysis chronica diffusa каде средната аритметичка вредност и дисперзија беше $(3,63 \pm 1,46)$ ng/mL, а медијаната $4,12$ ng/mL.

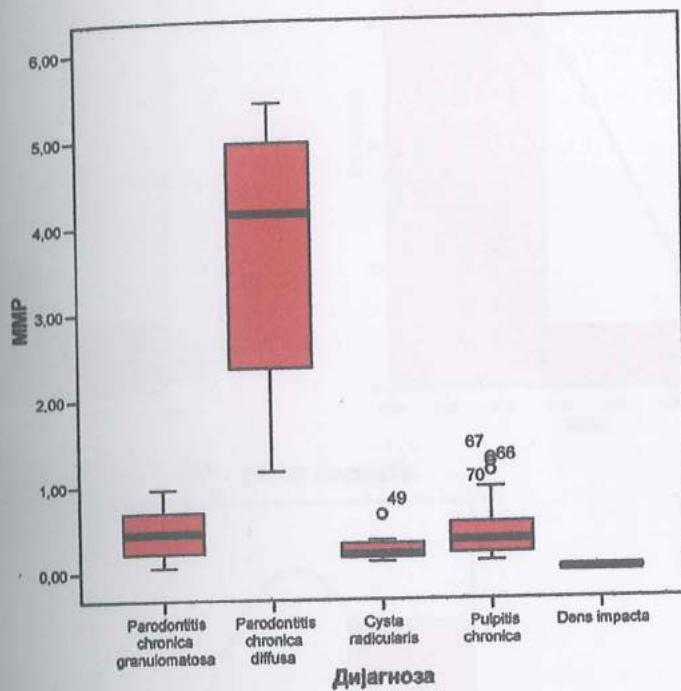
Концентрација на матрикс-металопротеиназите (ng/mL) кај примероците од испитуваниот материјал

	Број (n)	min	max	медијана	\bar{X}	σ
Група 1	20	0,05	0,95	0,44	0,46	$\pm 0,29$
Група 2	20	1,15	5,39	4,12	3,63	$\pm 1,46$
Група 3	10	0,10	0,64	0,19	0,25	$\pm 0,16$
Група 4	20	0,1	1,28	0,35	0,47	$\pm 0,38$
Група 5	10	0,00	0,02	0,01	0,01	$\pm 0,009$

Непостоењето на докази за Гаусова (нормална) распределба поддржираше на нултата хипотеза (непостоење на значајни разлики во концентрацијата на MMP и клиничката дијагноза) користени се неквивалентни анализи ANOVA тестот (т.е. Kruskal-Wallis) и Median тестот. Резултатите кои ги добивме од анализата на податоци за вредностите на концентрацијата на MMP кај различните клинички групи покажаат дека меѓу нив постои висока статистичка поврзаност ($F=11,4$; $p=0,000$ т.е. $p<0,01$). Бидејќи вредноста на одредениот F тест е значајно поголема од международните стандарди за биомедицински науки, нултата хипотеза беше отфрлена. Висока статистичка сигнifikантност беше добиена и со Median тестот ($x=59,363$; $df=4$; $p=0,000$ т.е. $p<0,01$), како и Median тестот ($x=59,363$; $df=4$; $p=0,000$ т.е. $p<0,01$).

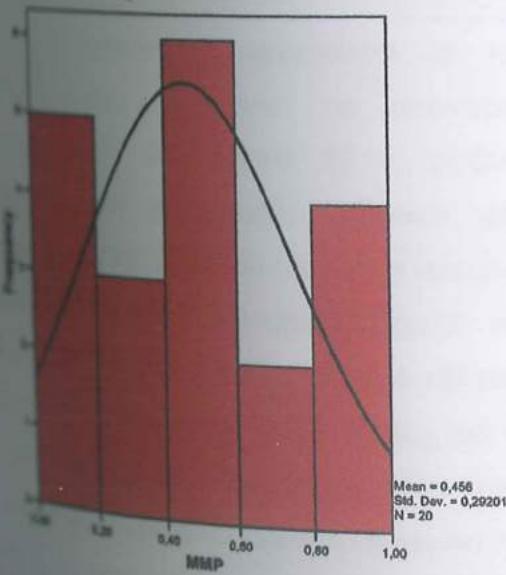
Сличноста на средните вредности на концентрацијата на MMP беше прикажана со box-plot дијаграма, каде црно обоеениот дел одговара на медијаната, а црвениот на стандардната девијација (графикон 17). Сличностите на вредности на концентрацијата на MMP кај одредена група се прикажани со графиконите 18 а, б, в, г, д.

Графикон 17. Приказ на средните вредности на концентрацијата на MMP кај клиничките дијагнози од испитуваните групи

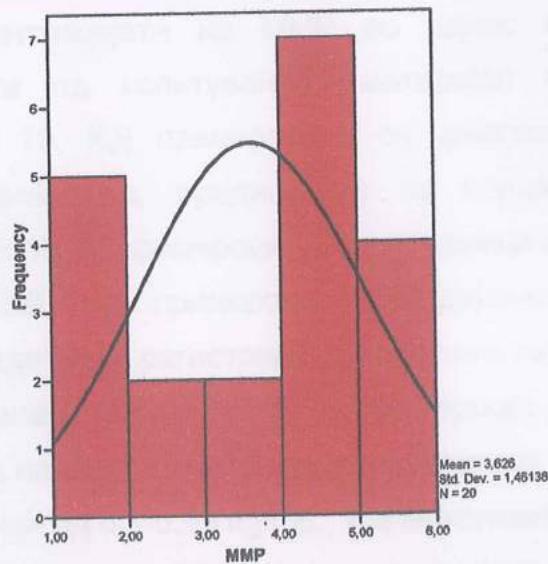


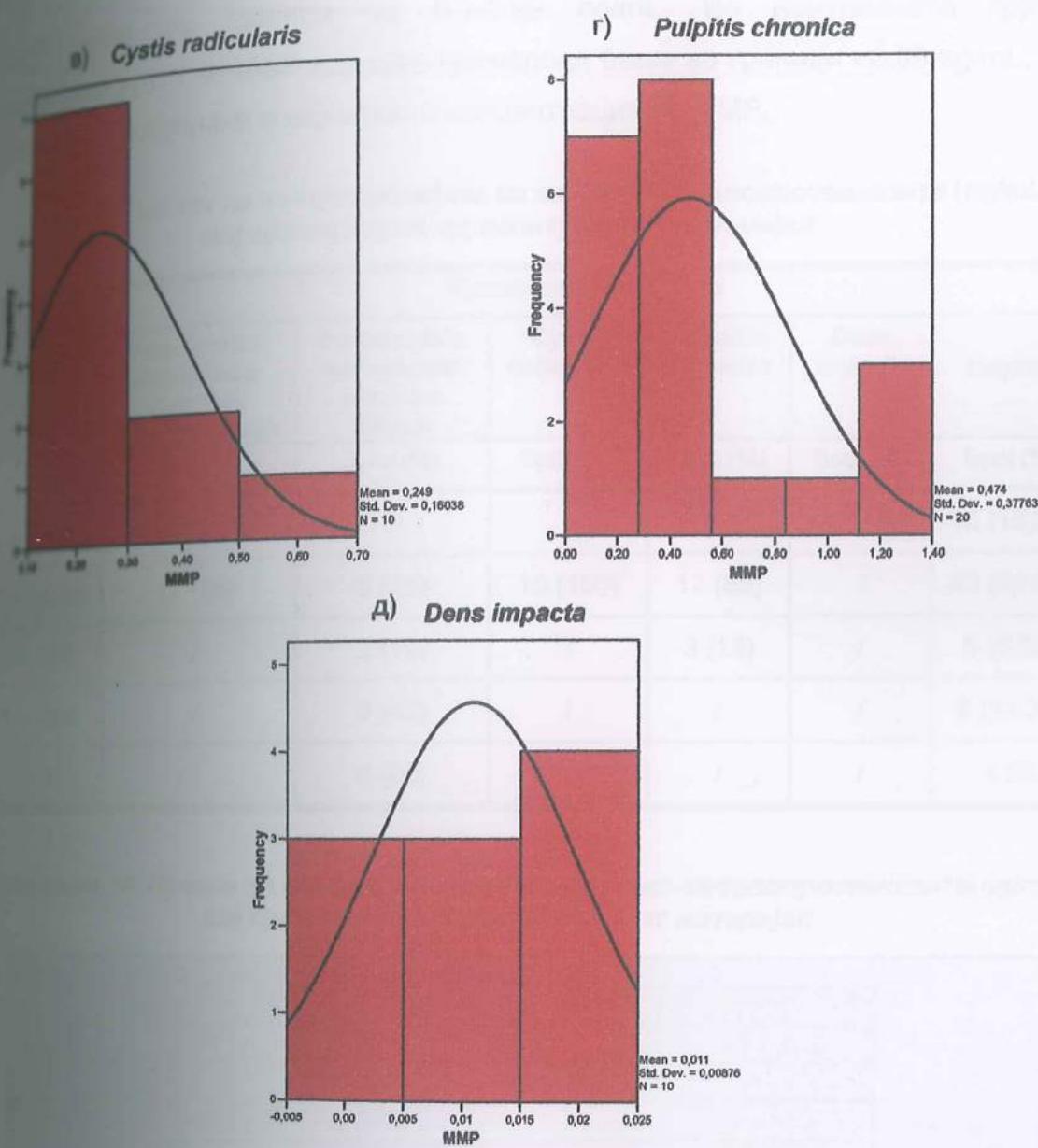
Графикон 18. Приказ на средните вредности на концентрацијата на MMP кај одредена клиничка дијагноза

а) *Parodontitis peripicalis chronica granulomatosa*



б) *Parodontitis peripicalis chronica diffusa*





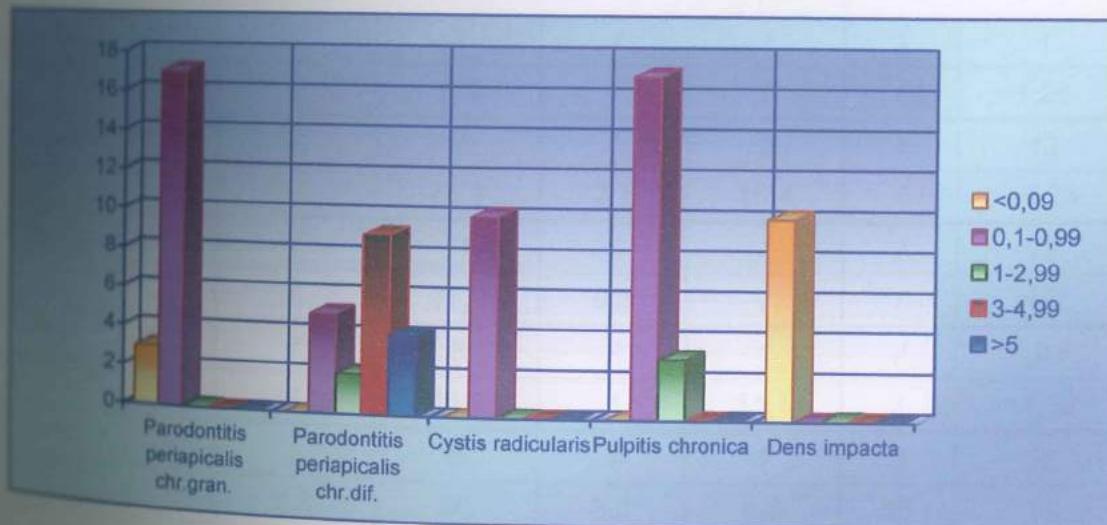
Добиените вредности за концентрацијата на MMP во однос на клиничката дијагноза на примероците од испитуваниот материјал се прикажани на табела 18 и графикон 19. Кај примероците со дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica granulomataosa*, вредностите за концентрацијата на MMP во најголем процент (85%, 17 примероци) беа во граници од 0,1-0,99 ng/mL. Концентрацијата на MMP кај примероците со дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica diffusa*, каде беше регистрирана највисока максимална вредност (5,34 ng/mL), во најголем процент (45%, 9 примероци) се движеше од 3-4,99 ng/mL. Концентрација на MMP кај сите десет примероци со диагноза *Cystis radicularis*, беше во граници од 0,1-0,99 ng/mL. Кај најголемиот број од примероците со дијагноза *Pulpitis chronica* (17,85%) концентрацијата на

MMP беше во граници од 0,1-0,99 ng/mL. Во контролната група, концентрацијата на MMP кај сите примероци беше во граници <0,09 ng/mL, во кои беа регистрирани и најниските концентрации на MMP.

Табела 18. Приказ на концентрацијата на матрикс-металопротеиназите (ng/mL) кај примероците од испитуваниот материјал

MMP (ng/mL)	Клиничка дијагноза					
	Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa	Parodontitis periapicalis chronica diffusa	Cystis radicularis	Pulpitis chronica	Dens impacta	Вкупно
	Број (%)	Број (%)	Број (%)	Број (%)	Број (%)	Број (%)
< 0,09	3 (15)	/	/	/	10 (100)	13 (16,25)
0,1 – 0,99	17 (85)	5 (25)	10 (100)	17 (85)	/	49 (61,25)
1 – 2,99	/	2 (10)	/	3 (15)	/	5 (6,25)
3 – 4,99	/	9 (45)	/	/	/	9 (11,25)
> 5	/	4 (20)	/	/	/	4 (5)

Графикон 19. Приказ на концентрацијата на матрикс-металопротеиназите(ng/mL) кај примероците од испитуваниот материјал



Во дистрибуцијата на податоци на табела 19 и графикон 20 е прикажана концентрацијата на MMP во групи, кај примероците од испитуваниот материјал, добини од забите кај кои била спроведена орално-хируршка интревенција или соодветен јондодонтски третман. Само кај еден централен инцизив, материјалот земен за испитување имаше вредности на

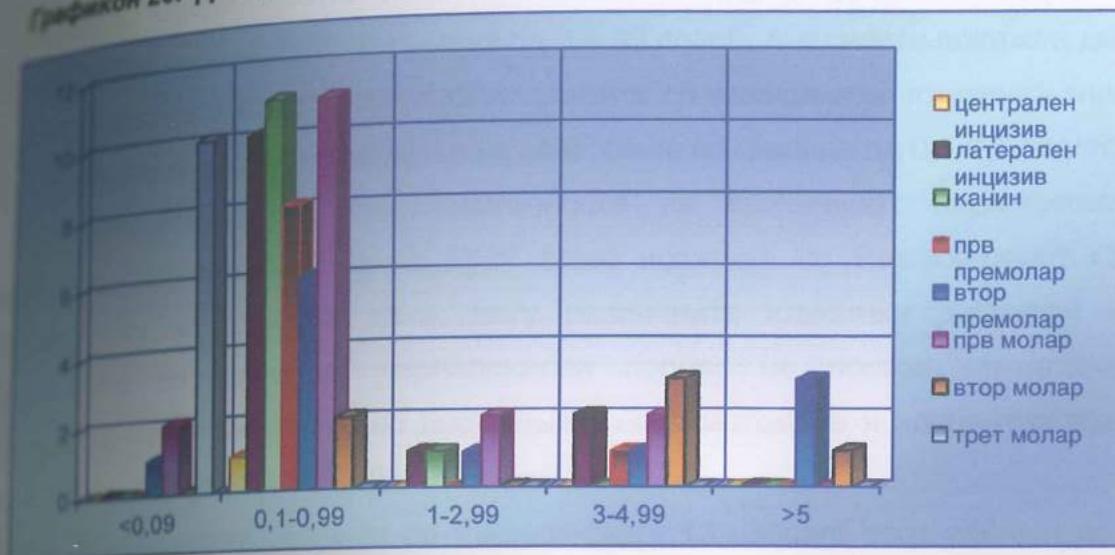
и на MMP <0,09 ng/mL. Кај латералните инцизиви, во материјалот за испитување во најголем процент (76,9%, 10 примероци) концентрацијата на MMP се движеше во граница од 0,1-0,99 ng/mL, како што беше случајот добиен од канините (11 примероци, 91,7%), од првите премолари (11 примероци, 88,9%), од вторите премолари (6 примероци, 50%) и третите молари (11 примероци, 64,7%). Материјалот за испитување добиен од земените заби, во најголем процент (50%, 3 примероци) беше со концентрација на MMP во граници од 3-4,99 ng/mL. Концентрацијата на MMP <0,09 ng/mL беше регистрирана кај примероците од првите премолари и десет трети молари (100%), од кои беше земен материјалот кој ја претставуваше контролната група.

Анализа на податоци направена со Pearson-овиот Chi-Square тест покажала дека постои значајна статистичка зависност меѓу групираните групи и концентрацијата на MMP кај забите од трите испитувани групи (p=0,000 т.е. p<0,01).

Дистрибуција на концентрацијата на MMP според третиран заб

Концентрација MMP (ng/mL)					Вкупно
<0,09	0,1 – 0,99	1 – 2,99	3 – 4,99	>5	
/	1	/	/	/	1
/	100	/	/	/	1,25
/	10	1	2	/	13
/	76,9	7,7	15,4	/	16,25
/	11	1	/	/	12
/	91,7	8,3	/	/	15
/	8	/	1	/	9
/	88,9	/	11,1	/	11,25
1	6	1	1	3	12
8,3	50	8,3	8,3	25	15
2	11	2	2	/	17
11,8	64,7	11,8	11,8	/	21,25
/	2	/	3	1	6
/	33,3	/	50	16,7	7,5
10	/	/	/	/	10
100	/	/	/	/	10

Графикон 20. Дистрибуција на концентрацијата на MMP според третиран заб



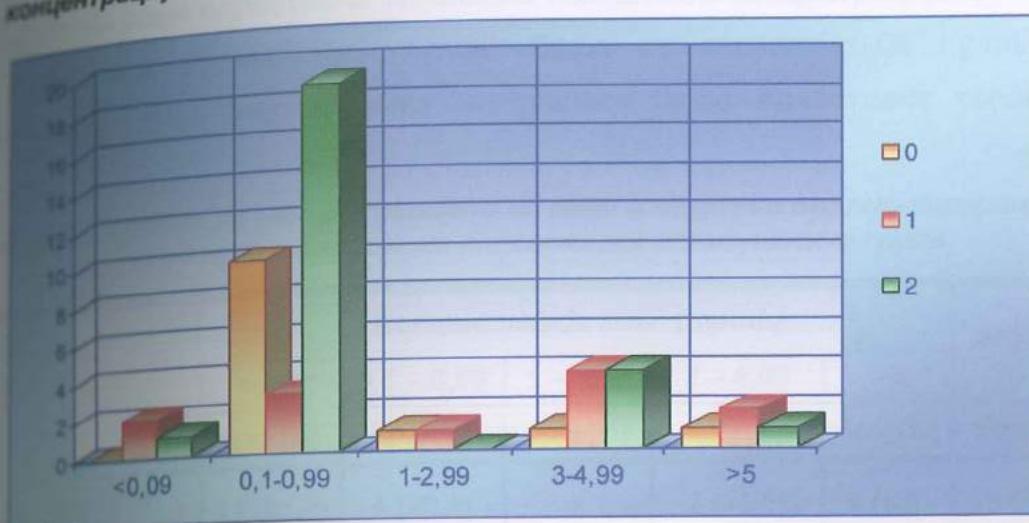
Направената анализа на податоците со Pearson-овиот Chi-Square тест покажа дека постои значајна статистичка поврзаност меѓу концентрацијата на MMP во лезијата од забите кај пациентите со дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa* ($\chi^2=9,542$; $df=4$; $p=0,049$), додека кај пациентите со дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica diffusa* ($\chi^2=20,399$; $df=15$; $p=0,157$ т.е. $p>0,05$) не беше регистрирана сигнификанта статистичка поврзаност. Кај пациентите со дијагноза *Cystis radicularis* MMP групата беше констатната т.е. концентрацијата на MMP кај овие заби се движеше во граници од 0,1-0,99 ng/mL.

Кај пациентите со дијагноза *Pulpitis chronica* не беше регистрирана сигнификанта статистичка поврзаност меѓу концентрацијата на MMP во хронично воспаленото ткиво на пулпата кај забите од кои е земен материјалот за испитување ($\chi^2=2,614$; $df=4$; $p=0,624$ т.е. $p>0,05$).

Во контролната група концентрацијата на MMP кај импактираниите трети молари беше константна т.е. <0,09 ng/mL.

На табела 20 и графикон 21 е даден приказ на објективните и субјективните симптоми и концентрацијата на MMP во примероците од материјалот за испитување кај пациентите со хроничен периапикален процес. Анализа на податоците за отсуство и присуство на симптоми поврзани со концентрацијата на MMP покажа дека, отсуство на субјективни симптоми и клинички знаци во најголем број од случаите (10,32,3%) беше

Графикон 21. Приказ на објективните и субјективните симптоми (CPI) и концентрацијата на MMP кај пациенти со хроничен периапикален процес



На табела 21 и графикон 22 е даден приказ на концентрацијата на MMP и видот на орално-хируршката интервенција и тераписка постапка кај трите испитувани групи. Кај пациентите во чии примероци концентрацијата на MMP беше $<0,09\text{ng/mL}$ најчесто спроведена орално-хируршка интервенција претставуваше оперативната екстракција (11 случаи, 61,1%). Кај останатите интервенции и тераписки постапки, во најголем процент од случаите концентрацијата на MMP во испитуваниот материјал беше во граници од 0,1-0,99 ng/mL .

Резултатите кои ги добивме од анализата на податоците за предностите на концентрацијата на MMP во однос на спроведената орално-хируршка интервенција и ендодонтскиот третман, со помош на Pearson-овиот Chi-Square тест покажаа дека постои многу висока статистичка сигнификантност ($\chi^2=50,592$; $df=16$; $p=0,000$ т.е. $p<0,01$).

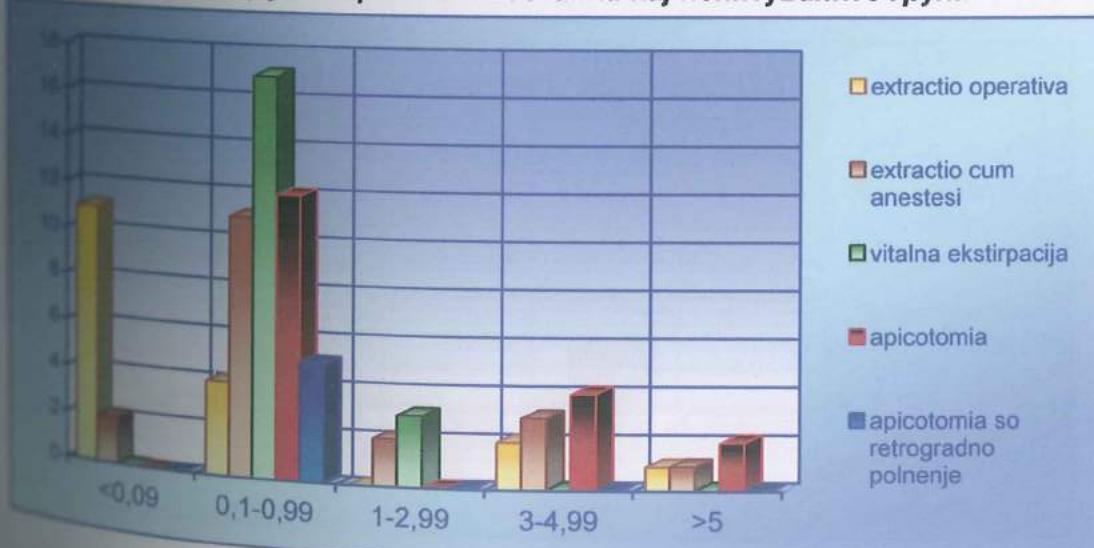
Направената анализа на податоците со Pearson-овиот Chi-Square тест покажа дека постои значајна статистичка поврзаност помеѓу концентрацијата на MMP во периапикалната лезија кај пациентите со диагноза Parodontitis *periapicalis chronica granulomatosa* и спроведената орално-хируршка интервенција ($\chi^2=8,796$; $df=3$; $p=0,032$), додека кај пациентите со диагноза Parodontitis *periapicalis chronica diffusa* не беше потврдена статистичка сигнификантност ($\chi^2=10,789$; $df=9$; $p=0,290$). Кај пациентите со диагноза Cystis *radicularis* MMP концентрацијата беше констатнта т.е. концентрацијата на MMP во периапикалната

назид беше во граници од 0,1-0,99 ng/mL. Кај втората група виталната екстирпација беше единствена тераписка постапка, а концентрацијата на MMP кај пациентите со хроничен пулпит беше во грница <0,09 ng/mL. Кај контролната група оперативната екстракција беше единствена тераписка постапка.

Табела 21. Приказ на концентрацијата на MMP и видот на орално-хируршката интервенција и тераписка постапка кај испитуваните групи

Тераписка постапка	Концентрација MMP (ng/mL)					Вкупно
	<0,09	0,1 – 0,99	1 – 2,99	3 – 4,99	>5	
	Број (%)	Број (%)	Број (%)	Број (%)	Број (%)	
extractio operativa	11 (61,1)	4 (22,2)	/	2 (11,1)	1 (5,6)	18 (22,5)
extractio cum anestesio	2 (10,5)	11 (57,9)	2 (10,5)	3 (15,8)	1 (5,7)	19 (23,8)
вitalна екстирпација	/	17 (85)	3 (15)	/	/	20 (25)
apicotomia	/	12 (66,7)	/	4 (22,2)	2 (11,1)	18 (22,5)
apicotomia со ретроградно попнење	/	5 (100)	/	/	/	5 (6,3)
Вкупно	13 (16,3)	49 (61,3)	5 (6,3)	9 (11,3)	4 (5)	80 (100)

Графикон 22. Приказ на концентрацијата на MMP и видот на орално-хируршката интервенција и тераписка постапка кај испитуваните групи

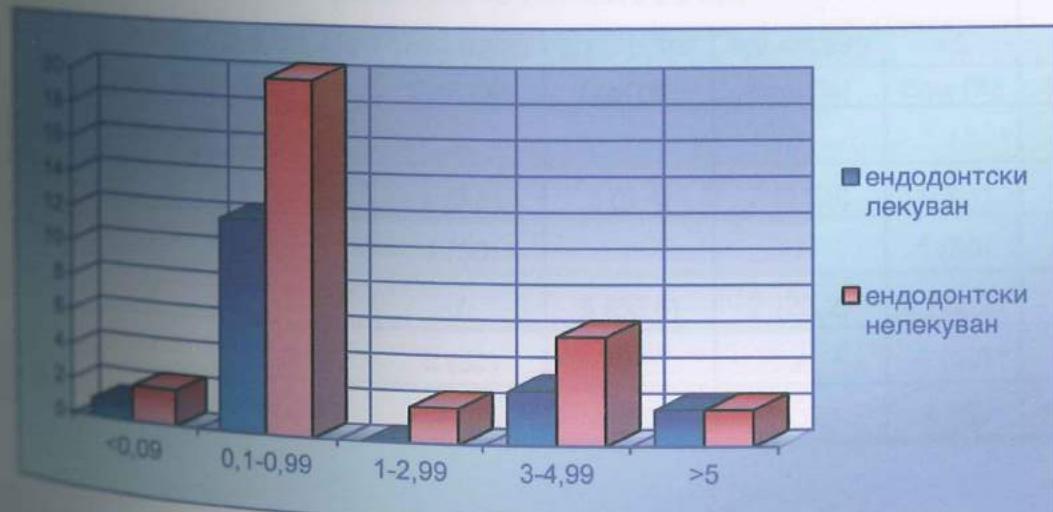


На табела 22 и графикон 23 е прикажана релацијата меѓу ендодонтскиот статус на забите кај случаите со хроничен периапикален процес и присуствите MMP во хроничните периапикални лезии. Може да се забележи, дека кај ендодонтски лекуваните заби, концентрацијата на MMP во периапикалните лезии во најголем процент (66,7%, 12 заби) беше во граници од 0,1-0,99 ng/mL.

Табела 22. Приказ на концентрацијата на MMP и ендодонтскиот статус на забите кај пациенти со хроничен периапикален процес

Ендодонтски третман		Концентрација MMP (ng/mL)					Вкупно
		<0,09	0,1 – 0,99	1 – 2,99	3 – 4,99	>5	
ендодонтски лекуван	Број	1	12	/	3	2	18
	% во рамки на MMP група	33,3	37,5	/	33,3	50	100
	% во рамки на едон. Th	5,6	66,7	/	16,7	11,1	36
ендодонтски нелекуван	Број	2	20	2	6	2	32
	% во рамки на MMP група	66,7	62,5	100	66,7	50	100
	% во рамки на едон. Th	6,3	62,5	6,3	18,8	6,3	64

Графикон 23. Приказ на концентрацијата на MMP и ендодонтскиот статус на забите кај пациенти со хроничен периапикален процес



покажа дека, и кај забите кои не беа ендодонтски случаји, концентрацијата на MMP во хроничните периапикални лезии во забите (82,5%; 20 заби) беше во граници од 0,1-0,99 ng/mL.

Кога ги добивме од анализата на податоците за вртежа, кои ги добивме од анализата на податоците за концентрацијата на MMP и ендодонтскиот статус на забите и симптомите, корелацијата помеѓу диагнози кај пациентите со хроничен периапикален процес, и концентрацијата на MMP беше нулеста. Pearson-овиот Chi-Square тест покажа дека не постои значајна корелација помеѓу забите и концентрацијата на MMP ($\chi^2=1,534$; $df=4$; $p=0,821$).

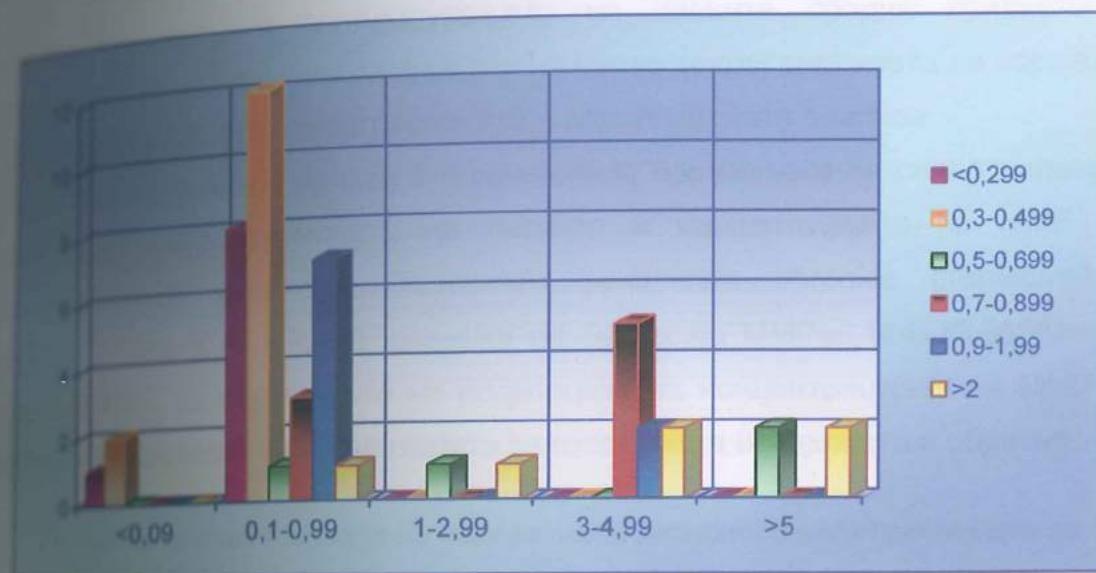
На фигура 23 и графикон 24 е прикажана релацијата меѓу радиографската величина на лезијата и концентрацијата на MMP кај пациенти со хроничен периапикален процес и концентрацијата на MMP кај истите. Може да се види дека постои тенденција помалите лезии да содржат помали количини на MMP и обратно, што е правопропорционално со ширењето на лезијата на коскеното ткиво.

Кога ги поделим податоците според забите, и направиме податоци направена со Pearson-овиот Chi-Square тест за корелација помеѓу забите и концентрацијата на MMP и радиографската величина на хроничниот процес ($\chi^2=49,496$; $df=20$; $p=0,000$ т.е. $p<0,001$).

Влијание на концентрацијата на MMP и радиографската величина на лезијата кај пациенти со хроничен периапикален процес

Величина на лезијата во mm ²					Вкупно
0,3 – 0,499	0,5 – 0,699	0,7 – 0,899	0,9 – 1,999	>2	
Број (%)	Број (%)	Број (%)	Број (%)	Број (%)	Број (%)
2 (66,7)	/	/	/	/	3 (6)
12 (37,5)	1 (3,1)	3 (9,4)	7 (21,9)	1(3,1)	32 (64)
/	1 (50)	/	/	1 (50)	2 (4)
/	/	5 (55,6)	2 (22,2)	2 (22,2)	9 (18)
/	2 (50)	/	/	2 (50)	4 (8)
14 (28)	4 (8)	8 (16)	9 (18)	4 (8)	50 (100)

Графикон 24. Пrikaz на концентрацијата на MMP и радиографската величина на периапикалната лезија кај пациенти со хроничен периапикален процес

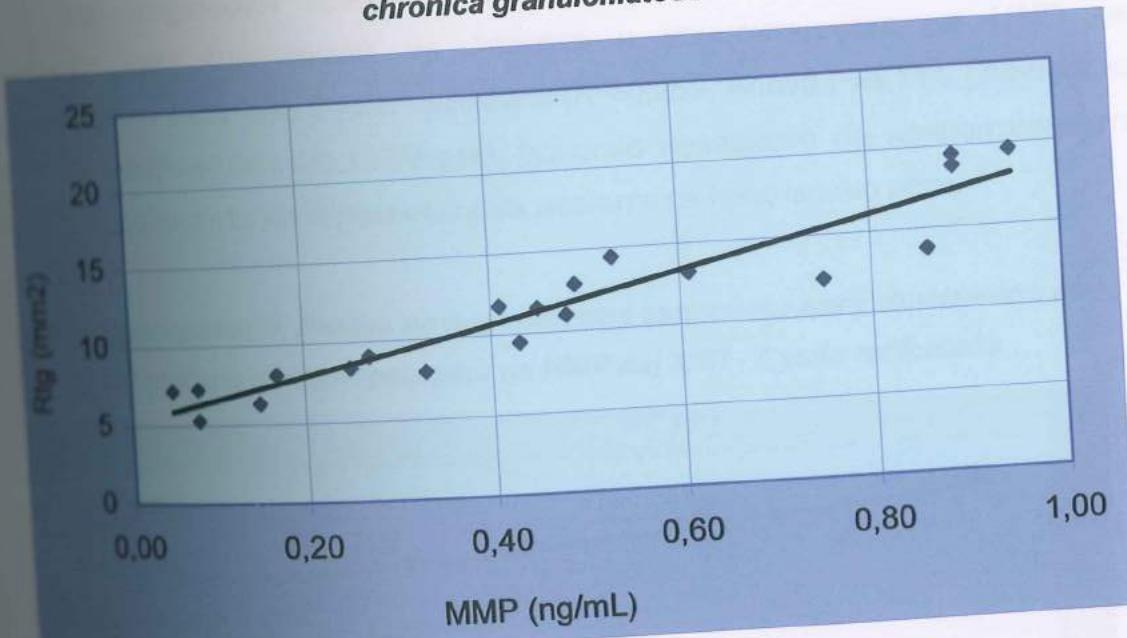


5.3.3. Резултати од регресиона анализа и линеарна корелација

Во рамките на статистичкото истражување на варијабилитетот на податоците, како и определувањето на нивните средни аритметички пречности, во нашето испитување важно место покрај анализата на варијанса заемаат и методите на регресионата и корелационата анализа.

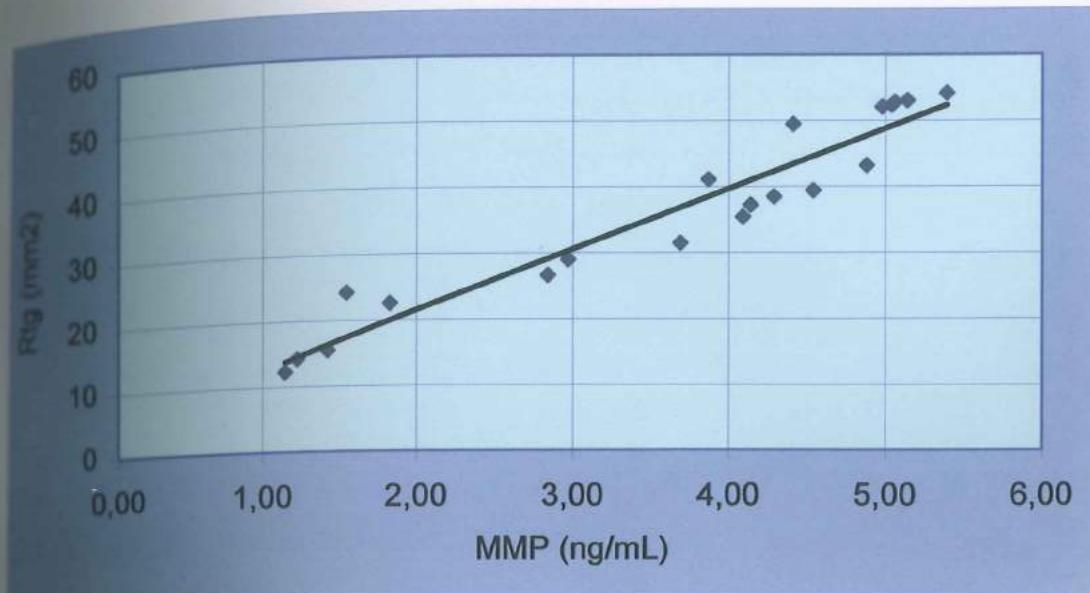
На графичкиот приказ 1 е прикажано постоењето на силна линеарна поврзаност меѓу големината на лезиите и концентрацијата на MMP кај пациентите со дијагноза Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa ($R^2=0,868$, Anova $F=118,702$, равенка на регресија $MMP=5,114+13,663Abs+\epsilon$), односно 86% од варирањето на податоците за концентрацијата на MMP се должи на варирањето на податоците за големината на лезијата и обратно.

Графички приказ 1. Линија на корелативна зависност меѓу големината на лезијата и концентрацијата на MMP кај ХПП-Parodontiti periapicalis chronica granulomatosa



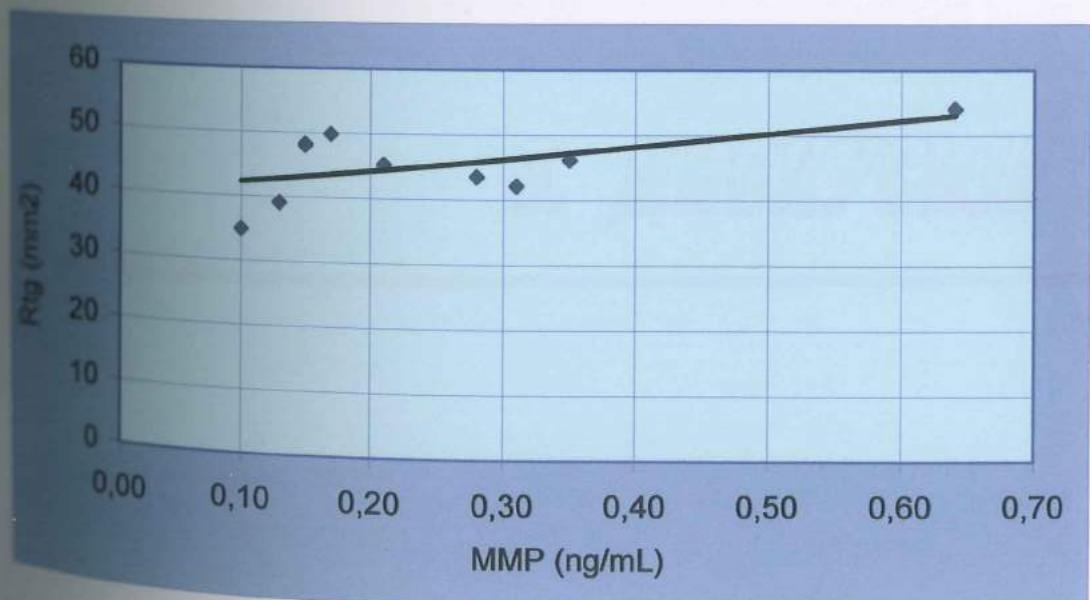
На графичкиот приказ 2 е прикажано постоењето на силна линеарна поврзаност меѓу големината на лезиите и концентрацијата на MMP кај пациентите со дијагноза Parodontitis periapicalis chronica diffusa ($R^2=0,922$, Anova $F=211,414$, равенка на регресија $MMP=3,266+9,084Abs+\epsilon$), односно 92% од варирањето на податоците за концентрацијата на MMP се должи на варирањето на податоците за големината на лезијата и обратно.

Графички приказ 2. Линија на корелативна зависност меѓу големината на лезијата и концентрацијата на MMP кај ХПП - *Parodontitis periapicalis chronica diffusa*



На графичкиот приказ 3 е прикажано линијата на корелативна зависност меѓу големината на лезиите и концентрацијата на MMP кај пациентите со дијагноза *Cystis radicularis* ($R^2=0,259$, Anova $F=4,144$, равенка на регресија $MMP=40,084+20,157Abs+\epsilon$), односно независно од концентрацијата на MMP вредностите на големината на лезиите се приближно исти.

Графички приказ 3. Линија на корелативна зависност меѓу големината на лезијата и концентрацијата на MMP кај ХПП - *Cystis radicularis*



6. ДИСКУСИЈА

СТАРТИВАЊЕ

Дискусијата е компонент на учењето и се практикува како ко-документирана активност, кога учениците се учиат да работат заедно и да се подготвят за изразување на своите мишеници и идеи. Дискусиите се практикуваат како начин за изразување на своите мишеници и идеи, а и како начин за изразување на своите мишеници и идеи.

Дискусиите се практикуваат како начин за изразување на своите мишеници и идеи, а и како начин за изразување на своите мишеници и идеи. Дискусиите се практикуваат како начин за изразување на своите мишеници и идеи, а и како начин за изразување на своите мишеници и идеи.

Дискусиите се практикуваат како начин за изразување на своите мишеници и идеи, а и како начин за изразување на своите мишеници и идеи. Дискусиите се практикуваат како начин за изразување на своите мишеници и идеи, а и како начин за изразување на своите мишеници и идеи.

Дискусиите се практикуваат како начин за изразување на своите мишеници и идеи, а и како начин за изразување на своите мишеници и идеи.

6. ДИСКУСИЈА

Дискусиите се практикуваат како начин за изразување на своите мишеници и идеи, а и како начин за изразување на своите мишеници и идеи.

Дискусиите се практикуваат како начин за изразување на своите мишеници и идеи, а и како начин за изразување на своите мишеници и идеи.

6. ДИСКУСИЈА

мирота и комплексноста на промените кои ги карактеризираат
ните процеси, како што се хроничниот пулпитис и хроничните
процеси, несомнено во голема мера се зависни од јасно
ната протеолитичка деградација на екстрацелуларниот матрикс.
деградацијата на колагенот, како најбогат екстрацелуларен
матрикс и витално значење кај овие воспалителни процеси.

у истражувањата спроведени во овој магистерски труд направен е даде одговор на повеќе прашања поврзани со активноста и колагеназите (MMP-1, MMP-8 и MMP-13) во склоп на хроничните процеси, што е и една од причините да се зафатиме со нашите

и ја предвид комплексноста на поставените цели, притоа и ги податоците од современите литературни сознанија, сметаме што испитување ќе придонесе за добивање сеопфатно сознание за патогенезата на хроничните периапикални процеси и за реакции кои се случуваат за време на воспалителниот процес, во чии улога имаат ММР.

проверената анализа и обработка на податоците, добиените позволяваат да бидат споредени со резултатите на голем број проучуваат хроничните периапикални процеси. На овој начин се ќе искажеме нашите ставови за поставената проблематика на добиените резултати се надеваме дека ќе обезбедат корисни ММР преку нивната инволвираност во етиологијата, патогенезата на хроничните периапикални процеси. Сепак, треба да се земе истот дека, основниот концепт на ова испитување, не беше има репрезентативен карактер, бидејќи материјалот добиен за оваа земен од ограничен број пациенти.

комисиошките студии кои ги анализираат зачестеноста и видот на
ните лезии, како и нивната локализација во однос на вилицата,
е предмет на истражување на голем број автори (Spafore и

ацијата меѓу клиничката дијагноза и нејзината застапеност кај вилицата покажа дека кај вкупниот број пациенти тераписката болу почесто беше спроведена кај забите во максилата (57 или 65% од случаите), а тоа во однос на мандибулата (23 или 28,7%). Во истражувањата на Vier & Shah⁸² добиен е податокот дека, хроничните периапикални грануломи во пати почесто се формираат кај забите во горната вилица. Најголема застапеност на грануломите во горната вилица во однос на мандибулата покажаат овие автори со почестата појава на кариозните лезии во горната вилица. Според податоците на Mortenson и сор.⁶¹ кај забите со хронични лезии чиј дијаметар измерен од рендгенограмот е еднаков (до 5 mm, односот на хистолошки верификуваните грануломи во горната вилица изнесува 2:1, додека тој однос за цистите е 3:2.

Изучувањата на разликата во застапеноста на забите кај испитуваните пациенти со хроничките дијагнози покажа значајна статистичка сигнификантност, а тоа што одредени заби почесто е спроведена орално-хируршка терапија или ендодонтска терапија. Во однос на локализацијата на забите со хронични периапикални процеси, резултатите покажаа дека грануломите се локализирани кај првите молари, латералните инцизиви и првите канинти, додека кај пациентите со дифузен периодонтит, периапикалниот гранулом беше локализиран кај првите и втори молари, а што се отнесува на радикуларните цисти почесто беа регистрирани кај првите премолари, латералните инцизиви и канините. До слични сознанија дошле и Vier &

Петровиќ⁷⁰ и Shah⁸². Преместувајќи ги резултатите на Петровиќ⁷⁰, грануломите почесто се локализирани кај првите премолари, горната вилица и латералните инцизиви од максилата, додека забите со хронични процеси се локализирани кај првите премолари и латерални инцизиви од мандибулата.

Според испитувањата на Shah⁸², повеќе од 50% од хроничните процеси се локализирани во пределот на латералните инцизиви и горната вилица. Се мисли дека, причината за почестата појава на забите со хронични процеси кај овие заби се неповољните услови за нивна функција и лизината на пулпата, изразениот foramen cecum, дистопала-сврвеност на апексот од коренот на латералните инцизиви.

основа на анамнестичките податоци, клиничкиот преглед и анализи на ретроалвеоларните или ортопантомографските снимки беа поставени дијагнозата и индикациите за спроведување терапија и третман или орално-хируршка интервенција.

однос на критериумите за клиничкото дијагностиирање, како и симптоми (болка, перкуторна осетливост), како и присуството на некои симптоми (оток, евентуално дренирање на ексудат од дентален канал и постоење на фистула) се сметаат за највалидни за дијагностиирањето на хроничните периапикални процеси и пулпит. додека јачината и проекцијата на болката се смета дека е поврзана со статусот на пулпата. Во студијата на *Shin* и сор.⁸⁴ поврзаноста на ММР позитивно е поврзана со субјективните симптоми, а болка може да биде резултат на зголеменото ниво на циклизм на Е2 (PGE2).

Изведената на податоци за отсуството или присуството на симптоми поддржала клиничката дијагноза кај пациентите со хроничен периапикален процес. Дека, постои значајна сигнификантна поврзаност меѓу симптомите и клиничката дијагноза. До слични податоци за симптоматичноста на хроничните периапикални процеси доаѓа и *Половска*⁷⁵. Во нашето изследование пациентите со дијагноза *Parodontitis peripicalis chronica* и *Cystis radicularis* во најголем процент беа оние кај кои постоеа клинички знаци т.е. оток или пурулентна супурација преку кои беше подврзана дијагнозата. Во случајот кога постои поврзаност меѓу пациентите со дијагнозата *Parodontitis peripicalis chronica* и *Cystis radicularis* во најголем процент беа оние кај кои постоеа субјективни симптоми. Според овие резултати може да се објаснат со фактот дека, постоењето на симптомите не е причина поради која се јавиле на стоматолог. Поврзаноста на симптомите со дијагнозата може да се објаснат со фактот дека, кај оние пациенти кај кои не постојат симптоми, постои повеќе вовојдатност за обраќање на стоматолог.

Симптоматичноста на хроничните периапикални процеси ја покажаа во врска со возраста на пациентите, анализата на податоци покажаа дека возраста не влијае статистички значајно врз појавата на симптомите. Отсуството на субјективни симптоми и манифести клинички знаци во случајот кога беше регистрирано кај помладите пациенти со хроничен периапикален процес, кои беа на возраст од 20-29 години.

ата на случаите со присутни субјективни симптоми: болка и осетливост беше подеднаква кај сите старосни групи.

Субјективни симптоми: оток, евентуално дренирање на ексудат од канал и постоење на фистула во најголем број случаи беа и кај повозрасните пациенти кои припаѓаа на старосната група од и кај пациентите постари од 50 години.

Диагнозата и оправданоста на орално-хируршката интервенција и третман се базираа врз основа на добиените податоци од и комплетниот клинички преглед, при кој од големо значење беше и на забот кај пациентот. Анализата на податоци, покажа дека статистички сигнификантна разлика во локалниот дентален статус не има кај забите со дијагнози. Забите со длабока кариозна лезија и забите под конструкција кои не се ендодонтски лекувани беа најчеста причина за хроничен периапикален процес. Исто така, во испитувањата на ⁷⁸, кариозните заби со гангренозно распадната пулпа кои не се третирани, во најголем број случаи се поврзани со постоење на хроничен периапикален процес, односно покажале радиографски знаци на патоза.

Анализата на податоците за ендодонтскиот статус на забите кај пациентите со хроничен периапикален процес покажа дека не постои статистички значајна разлика во ендодонтскиот статус на забите во клиничката дијагноза. Патолошки променетото периапикално ткиво не е кај пациентите со дијагноза *Parodontitis peripapitalis chronica* и беше земено од подеднакво ист број ендодонтски лекувани и заби, додека кај пациентите со дијагноза *Parodontitis peripapitalis acuta* и *Cystis radicularis* орално-хируршката интервенција во поголем број случаи беше спроведена кај ендодонтски нелекувани заби.

Појата епидемиолошка студија *Vier & Figueredo*¹¹², доаѓаат до заклучок дека пулпотомијата и пулпектомијата кои не се спроведени *lege artis*, а неконтролирана патологија на пулпата и пулпектомијата, а не патологија на пулпотомијата, се причините за појава на хроничен периапикален процес. Кај сите случаи, во каналот од коренот на забот присутни се голем број на анаеробни микроорганизми кои условуваат путрификација на пулпата.

Hollatz⁹, Dung & Liu¹⁹ сметаат дека сепак битна улога во тоа на хроничниот периапикаллен процес имаат микроорганизмите и продукти. Според Vu & Werb¹¹⁵ микроорганизмите и нивните продукти делуваат при воспалението на ткивото, преку регулација на изразувањето на цитокините и преку спроводниот пат да ја зголемат производствата на MMP или директно да ги стимулираат клетките да ги произведат MMP. Кај хроничните периапикални процеси покрај сузбивањето на изразувањето на цитокините и одстрнувањето на инфективниот материјал, доаѓа и до дегенеративното разрушавање на ткивото, како резултат на ослободувањето на ендогенни ензими во кои спаѓаат и колагеназите (MMP-1, -8 и -13).

Бактериските ендотоксини секогаш присутни во радикуларните цисти и делуваат на кератоцитната пролиферација и бактериските продукти ја регулираат производствата на MMP (Ding и сор.¹⁷). Овие протеолитичко-дегенеративни процеси се склонски најчесто се инволвирали во деградацијата на коскениот слој на венците и епителното клеточно процесирање за време на експанзија.

Само фактот дека хистопатолошката анализа е најсигурна и најточна метода за одредување на точната природа на хроничните лезии, се настојува со други нови, неинвазивни клинички методи да се постави дијагнозата на овие лезии пред да биде спроведена хирургија.

Доказано е дека хроничните периапикални процеси не може и не треба да бидат диагностицирани само врз основа на клиничките испитувања и анамнеза. Потребни се дополнителни клинички методи кои да дадат податоци за присутните симптоми кои понекогаш и погрешно се сметаат за АП. Најчесто АП се асимптоматски и се карактеризираат со оскудна клиничка картина и присуство на мал дискомфорт и поради тоа најчесто се откриваат при испитувањето со радиографско испитување: присутно е окружно просветлување на коската, ограничено од околната коска.

Доказано е дека при испитувањето со цел да се евидентира постоење на хроничен периапикални процес беше спроведена анализа на рендгенорамските слики, кои покажаат на следниве параметри: проценка на состојбата на пародонталните ткани, детерминирање на гранична линија на периапикалниот процес, измерување на степенот на радиолуценција (изразена во mm^2) и присуство на костна ресорпција. Притоа треба да се земе предвид фактот дека,

Фактиот изглед на периапикалниот процес во коската е варијативен и зависен од бројни фактори меѓу кои најзначајни се: времетраењето и степенот на имунолошката одбрана на организмот, типот на инфекција и хистопатолошката слика на процесот.

Литературата се сретнуваат голем број на автори кои ја проучуваат вредноста на рентгенолошките наоди во корелација со клиничките наоди (Половска⁷⁵).

Милосављевиќ & Colic⁷¹ вршат споредба на хистолошкиот наод со големината на хистолошки дијагностицираниот периапикален процес, притоа откријат дека, процесите кои се помали од 4 mm во дијаметар во 80% од случаите се грануломи, додека процесите поголеми од 8 mm во дијаметар се радикуларни цисти.

Слични резултати добиваат и Vier & Figueiredo¹¹², од спроведените испитувања на 102 периапикални процеси. Врз база на добиените наоди од овие испитувања, вредностите на големината на периапикалните лезии се поставуваат во граници од 2-9 mm, со најголем број на лезии од 2-6 mm.

Бончески и сор.⁸⁷, дошле до сознание дека и мошне малите лезии се поставуваат радикуларни цисти, а од друга страна, лезиите со дијаметар од 10 mm и поголеми се грануломи.

Испитувањето на Montenson и сор.⁶¹ добиените податоци сугерираат дека 50% од лезиите со големина од 5-9 mm, 30% отпаѓаат на радикуларните цисти, додека кај лезиите со големина од 10-14 mm подеднаков процент се поставуваат на грануломите и на грануломите, но кај лезиите поголеми од 15 mm се поставуваат во групата на радикуларните цисти.

Големината на големина на хроничните периапикални лезии во клиничките наоди на Половска⁷⁵ изнесува $15,9 \text{ mm}^2$, со доминантност на лезиите со дијаметар од 5-14 mm^2 , додека екстремно големи лезии ($>25 \text{ mm}^2$) се поставуваат во неколку мал број случаи.

Постојеше испитување, од рентгенограмските снимки преку пределекција беше пресметана големината на периапикалниот процес, изразена во mm^2 . Постоеше голема варијација во големината на лезиите, чија димензии изнесуваа од 5 mm^2 до 55 mm^2 . Добиените вредностите на големината на периапикалниот процес кај случаите со различна клиничка

диагноза, укажуваат на многу поголемите димензии на патолоши променетото периапикално ткиво кај пациентите со дијагноза *Cystis radicularis* и *Parodontitis peripicalis chronica diffusa* во однос на грануломите.

Анализата на податоци за средните вредности на радиографската величина на периапикалниот процес кај пациентите со хронични периапикални лезии покажа дека постои значајна статистичка разлика меѓу големината на патолошки променетото периапикално ткиво кај пациентите со различна клиничка дијагноза.

Врз база на минималните и максималните вредности на радиографската величина, хроничните периапикални процеси беа рангирани во шест групи според димензиите на ткивото локализирано околу апексот на забот. Анализата на податоците покажа висока статистичка сигнификантност меѓу групираните вредности на големината на лезиите кај пациентите со различна клиничка дијагноза. Периапикалните процеси со големина од 10 mm^2 до $19,99 \text{ mm}^2$ доминираа кај случаите со клиничка дијагноза *Parodontitis peripicalis chronica granulomatosa*. Кај случаите со дијагноза *Parodontitis peripicalis chronica diffusa*, најголем број од периапикалните процеси беа со големина од 40 mm^2 до $39,99 \text{ mm}^2$. Кај радикуларните цисти, големината на периапикалниот процес најчесто беше со димензии од 40 mm^2 до $49,99 \text{ mm}^2$.

Врз основа на добиените резултати можеме да заклучиме дека радиографската големина на периапикалниот процес е прилично користен критериум при поставување на клиничката дијагноза. Нашите наоди за радиографската големина на хроничниот периапикален процес покажаа дека, цистите и дифузните хронични инфламации имаат тенденција да се поголеми и грануломите, а веројатноста за постоење на циста расте со зголемување на величината на лезијата. Се поставува прашањето дали постои можност според рендгенограмската слика да се направи диференцијална дијагноза меѓу цистите и грануломите. Одредени автори сметаат дека, периапикалните процеси не можат да бидат диагностицирани како цисти само врз база на рендгенограмот.

Врз база на добиените наоди од анамнезата и комплетниот клинички преглед, беше оправдано и спроведувањето на соодветната тераписка постапка. Апикотомијата со интраоперативно канално полнење беше во најголем број случаи спроведена кај пациентите со дијагноза *Parodontitis peripicalis*.

alveolomatosa (9,45%). Кај пациентите со дијагноза Parodontitis gingivica diffusa, екстракцијата на забите претставуваше најчесто хируршка интервенција (9,45%), за разлика од пациентите со Cystis radicularis, каде апикотомијата со ретроградно полнење беше спроведена тераписка постапка (5,50%). Кај II-та група материјалот испитување беше земен после спроведен ендодонтски третман со десирација на ткивото на пулпата. Оперативната екстракција на забите беше превземена кај сите пациенти од контролната група.

Клиничката анализа на податоците покажа дека не постои значајна зависност меѓу тераписката постапка и клиничката дијагноза кај хроничен периапикален процес.

Самата цел на овој магистерски труд беше да се детектира колагеназите, а истражувањето се одреди концентрацијата на колагеназите (MMP-1, -8 и -13) во хронично воспалената пулпа, во здравата пулпа на трети молари и во патолошки променетото периапикално ткиво. Сознанието дека локалната активност на колагеназите (MMP-1, -8 и -13) во хронично воспаленото ткиво во хроничните периапикални процеси претставува индикатор на активност кај хроничниот пулпит и периапикалните процеси и причината поради која се одредивме за испитување на овој пациентата концентрација на колагеназите кај хронично воспалената пулпата и во патолошки променетото периапикално ткиво, што ја додели и определува тераписка постапка.

Делот на испитувања на постигнување на главната цел, ги поставивме и оперативните постапки, а одговорот на поставените цели го добивме преку лабораторијални извештаи.

Делот на испитувања на овие испитувања и добивање на резултати за концентрацијата на колагеназите (MMP), потребно беше да се одреди концентрацијата на протеолитичките ензими (ММР) и имероците од испитуваниот материјал изразена преку метод на имунохимичка анализа.

Во литературни сознанија упатуваат на податокот дека, како и во инфламирани ткива, ММР се присутни и во инфламираното ткиво кај хроничните периапикални лезии (Wahlgren и сор. 116, 117, 118, 119).

експресивноста и активноста на MMP во физиолошки здравото ткиво, едно и сакано, но сигнификантно се зголемуваат при различни постојби кои може да водат кон несакана ткивна деструкција, како при воспалението, растот на туморите и метастазите.

Они имаат круцијална улога при ткивно деструктивните орални заболувања на колагеназите, во периодонтитисот и периимплантитисот едно и сакано, а случај на несакана ткивна деструкција поврзана со зголемената активност на MMP на страната на заболувањето, но доказите дека MMP можат да бидат инволвирали и во други орални заболувања, како на пример, денталниот кариес, хроничниот пулпит, периапикални процеси и оралниот канцер.

Изведените наоди покажаа дека и во здравото ткиво постои одредена активност на овие протеолитички ензими. Измерената концентрација на овие ензими (MMP-1, -8 и -13) во здравото ткиво на пулпата од импакти-молари варираше од минимална вредност 0,00 ng/mL до максимална 1,0 ng/mL, што е во согласност со други автори (Gusman и сор. ²⁷, Shin и сор. ⁶⁵, Mosaad и сор. ⁶⁶). Според овие автори MMP-1 не се детектира или се детектира во многу ниско ниво кај здравото ткиво на пулпата. Според автори ²⁷, деградацијата и синтезата на компонентите од ECM во здравото ткиво се во постојан баланс, а за да се овозможи и одржи оваа активност на експресија на одредени MMP, при кое експресивност е прецизно контролирана.

Активностите за концентрацијата на MMP кај примероците од здравото материјал, варираа од недетектибилни (0,00 ng/mL) за случаите со Dens impacta, за потоа да се зголемат пропорционално со активноста на воспалението и ширењето на инфекцијата од коренскиот канал преку периапикалниот простор. Најголеми вредности на концентрацијата на овие ензими регистрирани кај случаите со дијагноза Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa.

Активностите на концентрацијата на MMP кај случаите со дијагноза Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa варираа од многу ниски (0,00 ng/mL) до многу високи (0,95 ng/mL). Кај случаите со дијагноза Parodontitis periapicalis chronica diffusa вредностите на

концентрацијата на MMP беа најголеми (1,15 - 5,39 ng/mL). Минималната концентрацијата на MMP кај случаите со *Cystis radicularis* изнесуваше 0,10 ng/mL, додека максималната концентрација изнесуваше 0,64 ng/mL. Во испитуваната група со дијагностициран хроничен пулпит, минималната концентрацијата на MMP изнесуваше 0,1 ng/mL, а максималната 1,28 ng/mL. Во испитуваната група вредностите на концентрацијата на MMP беа најниски и се спушташе од минимална вредност 0,00 ng/mL до максимална 0,02 ng/mL.

Состојат податоци дека, овие вредности се резултат на различниот набор компонентите кои влегуваат во градба на хронично воспаленото ткиво. Хроничните периапикални процеси, која зависи од стадиумот на лезијата. Периапикалниот гранулум претставува хронично инфламирано ткиво во кое одделните компоненти на хроничното воспаление (активен инфильтрат, гранулации и фиброплазија) се изразени во различни зони. Во централната зона на гранулумот присутни се гранулации и активен инфильтрат, додека на периферијата од лезијата доминира инвазијата која формира сврзно-ткивна капсула. Воспалителниот инфильтрат на гранулумот го сочинуваат клетките на хроничното воспаление (плазмоцити, лимфоцити, макрофаги и гранулоцити), а поретко се сретнуваат и еозинофили. Плазмоцитите се карактеризираат со голема способност за мок за протеините. Во структурата на одделни грануломи може да има и присуство на епителни клетки. Дифузните хронични процеси спаѓаат во групата на активни облици со значајна активност на воспалениот ткиво. Превинувањето на гранулумот во циста се одвива често и е пропратено со процентуално зголемување на епителот и активен развој на дефинитивен лumen (*Tegonel и сор.*¹⁰⁰).

Во студијата на *Tegonel и сор.*¹⁰⁰, *Kubota и сор.*⁴³ колагеназите (MMP-1 и MMP-3) и желатиназите (MMP-2 и MMP-9) се детектирани во флуидот и тканините од сидот на радикуларните цисти.

Одделот на експресија на MMP-13 во студијата на *Leonardi и сор.*⁴⁷ ја покажа инволвираноста на MMP-13 во конверзијата на периапикалниот гранулум со епител во радикуларна циста. Оваа одлика е поврзана со факта на MMP-13 да влијае не само врз миграцијата на епителните клетки, туку и врз инвазијата на периапикалниот гранулум.

според Meikle и сор.⁵⁷, Birkedal-Hansen и сор.¹², MMP-1 во *in vitro* експресира во голем број на клетки, како на пример, кај фибробластите, ендотелните клетки, моноцитите, макро-хондроцитите и остеобластите и различни клетки на туморите. на сврзнатото ткиво во периапикалниот предел е поврзана со PMN (леукоцитите и макрофагите) кои содржат протеолитички ензими за разградба на сврзнатото ткиво. Според Simon⁸⁵ кај хроничните на ткивото, пролиферацијата на фибробластите и васкуларните како и инфильтрацијата на леукоцитите, макрофагите и плазма играат есенцијална улога на клеточни медиаторни механизми рани во хроничните периапикални процеси. Плазма клетките, кои попадуваат во инфламираното ткиво, ги секретираат имуноглобулини кои експресираат MMP-1, -8 и -13. Во студијата на Wahlgren и сор.¹¹⁸, детектиран во инфламираното и некротично ткиво на пулпата, а то нив е тесно поврзано со активноста на ткивната деструкција на и периапикалното ткиво. Според овие автори MMP-8 има клучна деструкцијата на ткивото за време на воспалителните процеси.

Повредената гингива и коскено ткиво, се местата каде MMP-13 експресирана во фибробластните клетки (Tervahartiala и сор.¹⁰¹). се карактеризира со способност да влијае врз миграцијата на клетки и врз инвазијата на гранулационото ткиво.

Резултатите кои ги добивме од анализата на податоци за средните на концентрацијата на MMP кај различните клинички дијагнози дека меѓу нив постои висока статистичка сигнификантност.

Наодите за концентрацијата на MMP се во согласност со наодите и сор.⁸⁴. Во студијата на Shin и сор.⁸⁴ резултатите од ELISA методот на сигнификантно повисока концентрација на MMP-1 кај групата со периапикални лезии во однос на контролната ($p<0,05$), меѓутоа концентрацијата на MMP-1 во групата со акутен пулпитис е повисока од онаа во другите групи ($p<0,05$). Концентрацијата на MMP-1 кај групата со периапикални лезии е нешто повисока од онаа кај групата со хроничен перикардиит, но разликата меѓу овие две групи не е статистички сигнификантна

Добиените вредности за концентрацијата на MMP беа групирани во 5 вредностите на концентрацијата на MMP во испитуваниот материјал кај кое со дијагноза Parodontitis periapicalis chronica granulomataosa, во процент беа во граница од 0,1 ng/mL до 0,99 ng/mL. Концентрацијата кај примероците со дијагноза Parodontitis periapicalis chronica diffusa, во процент се движеше од 3 ng/mL до 4,99 ng/mL. Концентрација на MMP куларните цисти, беше во граници од 0,1-0,99 ng/mL. Најголем процент примероците, добиени од хронично воспаленото ткиво на пулпата, имаа концентрацијата на MMP во граници од 0,1 ng/mL до 0,99 ng/mL. Во контролната група, концентрацијата на MMP кај сите примероци беше помала од 0,02 ng/mL.

Резултатите од анализата направена за концентрацијата на MMP во третираните заби од кои е земен материјалот за испитување покажа дека постои значајна статистичка зависност меѓу групираните заби и концентрацијата на MMP и третираните заби од трите клинични групи.

Кај пациентите со дијагноза Parodontitis periapicalis chronica granulomataosa постоеше значајна статистичка поврзаност меѓу концентрацијата на MMP и третираните заби од кои е добиен патолошкиот процес, кај пациентите со дијагноза Parodontitis periapicalis chronica diffusa не постоеше регистрирана статистичка поврзаност. Кај пациентите со диагноза Cystis radicularis, MMP групата имаше мали промени т.е. концентрацијата на MMP кај овие заби се движеше во граници од 0,1 ng/mL до 0,99 ng/mL. Кај пациентите со диагноза Pulpitis chronica не постоеше регистрирана значајна статистичка поврзаност меѓу концентрацијата на MMP во здравото воспаленото ткиво на пулпата кај третираните заби од кои е земен материјалот за испитување. Во контролната група кај пациентите со диагноза Cystis radicularis, концентрацијата на MMP во здравото ткиво на пулпата секогаш беше помала од 0,02 ng/mL.

Несомнено следеше и прашањето дали позитивната симptomатологија и посебно посебната концентрација на MMP. Според нашите испитувања, посебно за поврзаноста на симptomатичноста на хроничниот периапикален процес со концентрацијата на MMP покажа дека не постои статистички значајна асоцијација меѓу различните клинички дијагнози кај пациентите.

ите со хроничен периапикален процес во врска со постоењето на концентрацијата на MMP во лезијата, иако постои тенденција во добиено од симптоматските случаи да се детектира поголема концентрација на MMP.

до спични сознанија доаѓаат *Lin* и сор.⁵⁰, кои преку своите испитувања подуваат зголемената експресија на MMP-1 во култивираниите ѕвезди од ткивото на пулпата после стимулацијата со IL-1 и TNF- α , како и зголемената експресија на TIMP-1 стимулирана од страна на гландинот E2.

Концентрацијата на MMP во испитуваниот материјал ја разгледавме во врска со соодветно спроведената тераписка постапка. Направената анализа на податоци покажа дека, постои значајна статистичка поврзаност помеѓу концентрацијата на MMP во периапикалната лезија кај пациентите со диагнозата Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa и спроведената хируршка интервенција, додека кај пациентите со дијагноза Parodontitis periapicalis chronica diffusa не беше потврдена статистичка значајност. Бидејќи концентрацијата на MMP во периапикалната лезија беше само во граници од 0,1-0,99 ng/mL, не беше одредена зависност меѓу концентрацијата на MMP и избраната тераписка постапка. Кај пациентите со хроничен пулпит или алувијална екстирпација беше единствена тераписка постапка. Кај контролите, кога оперативната екстракција беше единствена тераписка постапка.

Концентрацијата на MMP во испитуваниот материјал ја разгледавме во врска со ендодонтскиот статус на забите кај пациентите со присутен хроничен периапикален процес. Кај ендодонтски лекуваните заби и кај забите коишто не беа ендодонтски лекувани концентрацијата на MMP во хроничните периапикални лезии во најголем процент беше во граници од 0,1-0,99 ng/mL. Ефектот на концентрацијата на MMP е зависна од состојбата на забот кај кои постои хроничен периапикален процес, односно дали станува збор за отворена или затворена лезија. Постои можност ендодонтската терапија да биде лекувана или забот ендодонтски да бил лекуван, но подоцна настанала екстракција на коронката и продор на инфектот во коренскиот канал и негово разрушавање кон периапексот. Кај отворените лезии постои можност за природна експулпација, па поради тоа се очекува и пониска концентрација на MMP.

дектацијата на намалено ниво на MMP-8 за време на ендодонтичниот несомнено може да претставува помошно и дополнително критично средство слично на оние кои се развиени за периодонтитисот и имплантниот сулкусен флуид со цел за време на третманот да се ограничила експанзијата на периапикалниот воспалителен процес (*Sorsa и сор.*⁸⁸, *Rajamäki и сор.*⁴¹, *Mäntylä и сор.*⁵³). Хемиските смеси, како на пример, глицинот, често пати користен како дополнителен лек кај периапикал-периодонталниот третман со своите антимикробни својства, директно ги блокираат MMP и нивната оксидативна активација вклучувајќи ја и онаа на *Sorsa и сор.*^{88, 89}, *Gendron и сор.*²², *Azmak и сор.*⁶, *Mäntylä и сор.*⁵³).

Според *Wahlgren и сор.*¹¹⁸, измерените нивоа на MMP-8 во периапикалниот ексудат може да бидат искористени како биохемиски маркер (молекуларен маркер за следење на инфламаторната активност и ендодонтичниот третман на коренскиот канал).

Ресорпцијата на коската претставува главен индикатор преку кој се следат фазите на пропагација или репарација на периапикалните процеси. Овој значење е од осебена важност за дијагностиката на хроничните периапикални процеси.

*Liu и сор.*⁴⁹ во своите истражувања ги проучуваат механизмите на коската кај периапикалните лезии асоциирани со ресорпција на коската. Резултатите добиени од ова испитување го потврдуваат фактот дека, колагените и остеобластите се инволвирани во развојот на периапикалните лезии, а некои ги стимулираат ресорпцијата на коската преку продукција на IL-6 и COX-2. Заклучокот кој произлегува од испитувањата на овие фактори е дека MMP се еден од важните фактори кои се одговорни за развојот на периапикалната коскена деструкција, притоа постоејќи факт за нивно делување по апикотомијата врз периапикалната коскена деструкција. При физиолошкото ремоделирање на коската и другите сврзни протеазите, како што е MMP-1, кои може да го раскинат типот I колаген, имаат критична улога.

Студијата на *Parikka и сор.*⁶⁷ укажува на улогата и способноста на колагените од мезенхимално потекло да партиципираат во разградбата на колагенот на матрикс на коската. Според нив раскинувањето на колагенот од костниот ткивот и клетки кои понатаму се одговорни за создавањето на коскено ткиво

авува процес кој е посредуван од MMP, и кој е важен чекор во преминот во формирање во коскена ресорпција.

Имено, кај хроничните периапикални процеси, кај најголем процент од тоа постои манифестна коскена ресорпција, особено ако предходно отекувал или постоеал акутен алвеоларен апсцес. Фактот дека MMP се врши за кинетиката на периапикалната коскена деструкција, секако не насочи преку нашето испитување да утвриме дали постои корелација помеѓу големината на хроничниот периапикален процес и концентрацијата на MMP во патолошки променетото периапикално ткиво. Нашата анализа покажала дека постои значајна статистичка поврзаност меѓу концентрацијата на MMP и радиографската величина на хроничниот периапикален процес. Известојме дека постои тенденција помалите лезии да содржат и помали количини на MMP, како и обратното. Имено, концентрацијата на MMP - во пропорционално се зголемува со ширење на лезијата и деструкција на ткивото.

Постоење на силна линеарна поврзаност меѓу големината на лезиите и концентрацијата на MMP е потврдена кај пациентите со дијагноза Parodontitis radicularis chronica granulomatoosa и Parodontitis periapicalis chronica diffusa. Кај овие пациентите, пак, со дијагноза Cystis radicularis, независно од концентрацијата на MMP, лезиите се со приближно иста големина.

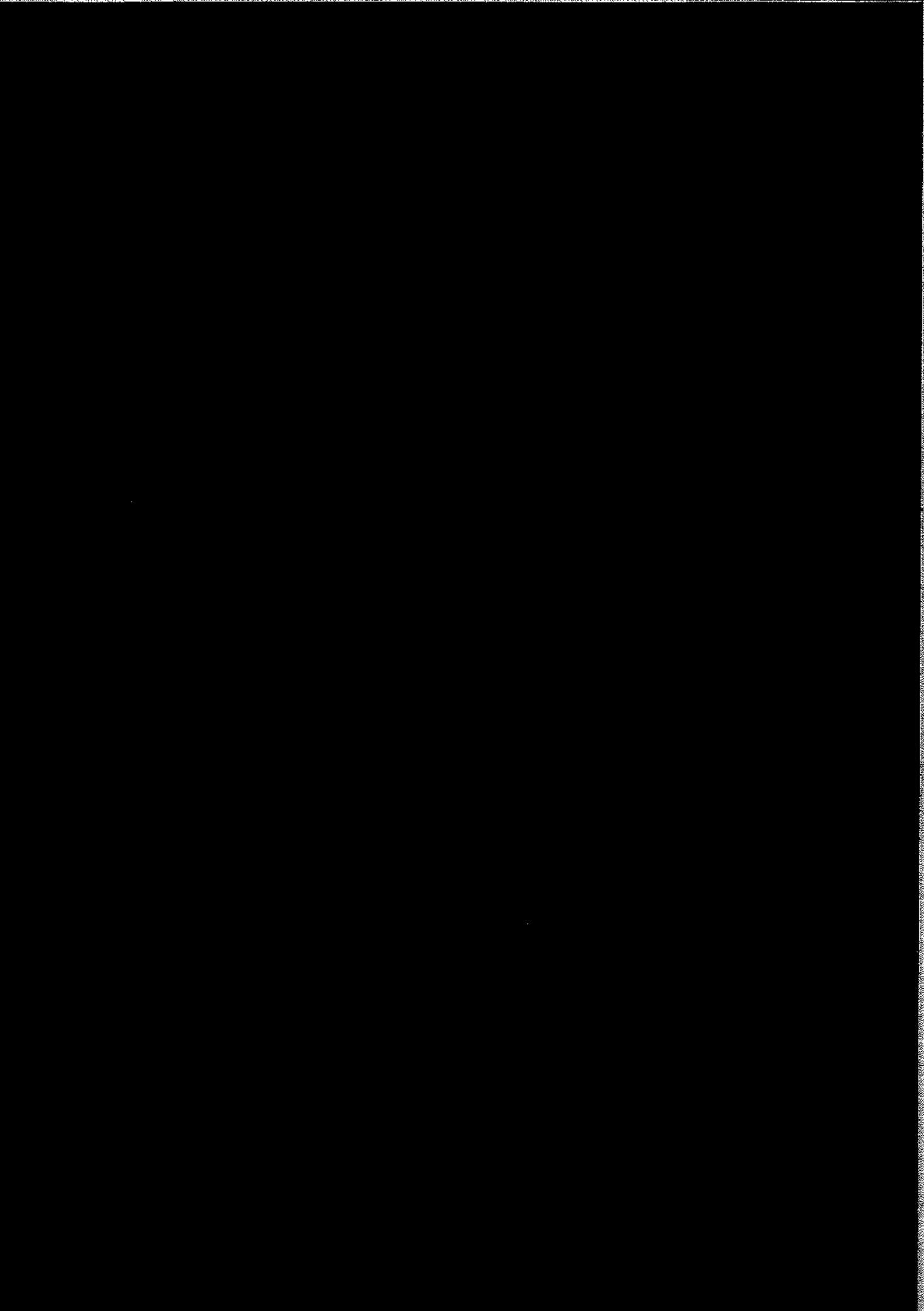
Нашите резултати покажаа дека, според концентрацијата на MMP може да се следи текот на патолошките процеси, како и развојот на болеста и можните компликации, што е од особена важност за правилната слика и планот на терапија или правилната проценка на стадиумот на болеста, планот на терапија или правилниот оперативен пристап на патолошката лезија. Несомнено, нашите добиени од овој труд ја потврдуваат значајната улога на MMP во хроничната периапикалната коскена деструкција за време на воспалителниот процес кај хроничниот периапикален периодонтитис, како и при зголемувањето на хроничните цисти на вилицата, што се рефлектира и на нивните специфични карактеристики.

7. ЗАКЛУЧОК

7. ЗАКЛУЧОК

Врз основа на реализацијата на поставените цели, дојдовме до итвени сознанија за улогата и важноста на колагеназите (MMP-1, -8 и -13) во прогресија на воспалението кај хроничните периапикални процеси, како и деструкција на периапикалното сврзно ткиво. Од овие сознанија може да сведат следните заклучоци:

1. Деградацијата и синтезата на компонентите од ECM во здравото ткиво се во постојан баланс. Експресивноста и активноста на MMP во здравото ткиво се сосема ниски. Имено, измерената концентрација на колагеназите (MMP-1, -8 и -13) во здравото ткиво на пулпата од импактирани трети молари варира во граници од 0,00 ng/mL до 0,02 ng/mL.
2. Колагеназите (MMP-1, -8 и -13) се инволвирали во деградацијата на колагенот од органскиот матрикс на периапикалното сврзно ткиво и ткивото на пулпата за време на хронично воспаление.
3. Концентрацијата на колагеназите (MMP-1, -8 и -13) во хронично воспаленото ткиво на пулпата кај хроничниот пулпит е во граници од 0,1-1,28 ng/mL, што укажува на фактот дека воспалителниот процес сè уште е локализиран само на ткивото од пулпата, т.е. не го афектирало и периапикалното сврзно ткиво.
4. Различната концентрација на колагеназите (MMP-1, -8 и -13) кај хроничните периапикални процеси од различен воспалителен тип потврди постоење на висока сигнификантна корелација меѓу хроничните периапикални процеси со различна клиничка дијагноза, што укажува на нивната различна активност.
5. Вредностите на концентрацијата на MMP растат правопропорционално со клиничката слика на воспалението и со ширење на инфекцијата од коренскиот канал кон периапикалниот простор. Најголеми вредности на



концентрацијата на MMP се регистрираа кај случаите со дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica diffusa*.

Анализата на податоци за отсъството или присуството на симптоми поврзани со клиничката дијагноза кај испитуваната група со хроничен периапикален процес, покажа дека, постои значајна сигнификантна поврзаност меѓу симптомите и клиничката дијагноза.

Не постои статистички сигнификантна поврзаност на симптоматичноста на хроничниот периапикален процес со концентрацијата на MMP меѓу различните клинички дијагнози кај пациентите со хронична периапикална лезија. Од друга страна во ткивото добиено од симптоматските случаи е детектирана поголема концентрација на MMP.

Различната концентрацијата на MMP кај хроничните периапикални процеси од различен воспалителен тип е зависна од состојбата на третирањот заб, односно дали забот е предходно ендодонтски лекуван или не.

Кај забите со гангренозно распадната пулпа кои се со полнење или под мостова конструкција, а не се ендодонтски лекувани, констатирано е присуство на зголемена концентрација на MMP, како најчеста причина за прогрес кон хроничен периапикален процес.

Кај пациентите со дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica granulomatosa* констатирана е значајна статистичка поврзаност меѓу концентрацијата на MMP и морфолошката група на заби од кои е добиен патолошкиот процес, додека кај пациентите со дијагноза *Parodontitis periapicalis chronica diffusa* не е регистрирана сигнификанта статистичка поврзаност. Кај пациентите со дијагноза *Cystis radicularis* концентрацијата на MMP во испитуваниот материјал е во најголем процент во граници од 0,1-0,99 ng/mL, независно од кои заби е добиено патолошки променетото периапикално ткиво.

Постои голема варијација во величината на лезиите, чии димензии се движат од 5 до 55 mm². Вредности за радиографската величина на периапикалните процеси се поголеми кај случаите со клинички

дијагностициран хроничен периапикален дифузен периодонтит и радикуларна циста во однос на грануломите. Констатирана е статистички сигнификантна разлика меѓу големината на периапикалните процес кај пациентите со различна клиничка дијагноза.

2. Статистички заначајна поврзаност е констатирана меѓу концентрацијата на MMP и радиографската величина на хроничниот периапикален процес. Постои тенденција концентрацијата на MMP кај помалите лезии да е помала и обратно, поголемите лезии имаат поголема концентрација на MMP, што е правопропорционално со ширење на лезијата и деструкција на коскеното ткиво.
3. Ресорптивните процеси на коската се од особена важност за дијагностика на хроничните периапикални процеси. Постои силна линеарна поврзаност меѓу големината на лезиите и концентрацијата на MMP кај пациентите со дијагноза *Parodontitis peripicalis chronica granulomatoosa* и *Parodontitis peripicalis chronica diffusa*. Степенот на експанзивност на хроничниот периапикален процес од типот *Cystis radicularis*, независно од концентрацијата на MMP е со приближно исти вредности.
4. Измерените нивоа на MMP во периапикалниот ексудат можат да бидат искористени како биохемиски индикатор (молекуларен маркер за следење на инфламаторната активност и успех во ендодонскиот третман на коренскиот канал).
5. Инхибицијата на MMP во коренските канали и периапикалното ткиво секако дека може да понуди нови можности за третманот на коренските канали и периапикалната лезија.
6. Овој магистерски труд отвара нови можности кон еден современ метод на дијагностиирање на хроничните периапикални процеси и мониторинг на воспалителната активност на ткивото, притоа незаборавајќи ги и конвенционалните методи кои се користат во секојдневната стоматолошка пракса.

8. ЛИТЕРАТУРА

8. ЛИТЕРАТУРА

1. Amano S., Akutsu N., Matsunaga Y., Kadoya K., Nishiyama T., Champliaud M-F, Burgeson RE, Adachi E. *Importance of balance between extracellular matrix synthesis and degradation in basement membrane formation.* Exp Cell Res 271: 249-262, 2001.
2. 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 17: 323-337, 1991.
3. Angel P., Karin M., *The role of Jun, Fos and AP-1 complex in cell-proliferation and transformation.* Biochim Biophys Acta 1072: 129-157, 1991.
4. Apajalahti S. *Short root anomaly (SRA). Prevalence and phenotypic features in families with emphasis on matrix metalloproteinases in gingival cervical fluid of SRA and orthodontic.* Academic dissertation, 2004.
5. Artese L., Piattelli A., Quaranta M., Colasante A., Musani P. *Immunoreactivity for interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α and ultrastructural features of monocytes/macrophages in periapical granulomas.* J Endod 17: 483-487, 1991.
6. Azmak N., Atilla G., Luoto H., Sorsa T. *The effect of subgingival controlled-release delivery of chlorhexidine chip on clinical parameters and matrix metalloproteinase-8 levels in gingival cervical fluid.* J Periodontal 73: 608-615, 2002.
7. Bachmeier BE, Nerlich AG, Boukamp P., Lichtinghagen R., Tschesche H., Fritz H., Fink E. *Human keratinocyte cell lines differ in the expression of the collagenolytic matrix metalloproteinases-1, -8 and -13 and of TIMP-1.* Biol Chem 381: 509-16, 2000.
8. Barkhordar RA. *Determining the presence and origin of collagenase in human periapical lesions.* J Endod 13: 228-232, 1987.
9. Bergenholz G. *Evidence for bacterial causation of adverse pulpal response in resin-based dental restorations.* Crit Rev Oral Biol Med 11: 467-480, 2000.
10. Bezerra MM, Brito GA, Ribeiro RA, Rocha FA. *Low-dose doxycycline prevents inflammatory bone resorption in rats.* Braz J Med Biol Res 35: 613-616, 2002.
11. Birdkadal-Hansen H. *Role of matriks metalloproteinases in human periodontal diseases.* Journal of Periodontology 64: 474-84, 1993.

12. Birkedal-Hansen H., Moore WG, Bodden MK, Windsor LJ, Bridkedal-Hansen B., DeCarlo A., Engler JA. *Matrix metalloproteinases: a review.* Crit Rev Oral Biol Med 4: 197-250, 1993.
13. Bohne W. *Light and ultrastructural studies of human chronic periapical lesions.* J Oral Pathol Med 19: 215-220, 1990.
14. Brown P., Whittaker M. *Matrix metalloproteinase inhibitors; design, development and early clinical trials.* Biotech Medicine 9: 1-4, 1998.
15. Chang Y., Lai C., Yang S. & Hsieh Y. *Stimulation of matrix metalloproteinases by black-pigmented bacteroides in human pulp and periodontal ligament cell cultures.* Journal of Endodontics 27: 679-682, 2001.
16. Curran S., Murray GI. *Matrix metalloproteinases: molecular aspects of their roles in tumour invasion and metastasis.* Eur J Cancer 36: 1621-1630, 2000.
17. Ding Y., Haapasalo M., Kerosuo E., Lounatmaa K., Kotiranta A., Sorsa T. *Release and activation of human neutrophil matrix metallo- and serine proteinases during phagocytosis of Fusobacterium nucleatum, Porphyromonas gingivalis and Treponema denticola.* J Clin Periodontal 24: 237-248, 1997.
18. Domeij H., Yucel-Lindberg T., Modéer T. *Signal pathways involved in the production of MMP-1 and MMP-3 in human gingival fibroblasts.* Eur J Oral Sci 110: 302-306, 2002.
19. Dung TZ & Liu AH. *Molecular pathogenesis of root dentin caries.* Oral Dis 5: 92-99, 1999.
20. Edwards DR., Beaudry PP., Laing TD, Kowal V., Leco KJ, Leco PA, Lim MS. *The roles of tissue inhibitors of metalloproteinases in tissue remodelling and cell growth.* Int J Obes Relat MetabDisord 20: 9-15, 1996.
21. Fortunato SJ, LaFleur B., Menon R. *Collagenase-3 (MMP-13) in fetal membranes and amniotic fluid during pregnancy: A J Reprod Immunol 49 120-125, 2003.*
22. Gendron R., Grenier D., Sorsa T., Mayrand D. *Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases-2, -8 and -9 by chlorhexidine.* Clin Diagn Lab Immunol 6: 437-439, 1999.
23. Giambernardi TA, Grant GM, Taylor GP, Hay RJ, Maher VM, McCormick JJ, Klebe RJ. *Overview of matrix metalloproteinases expression in cultured human cells.* Matrix Biol 16: 483-496, 1998.
24. Golub LM, Lee HM, Greenwald RA, Ryan ME, Sorsa T., Salo T., Giannobile WV. *A matrix metalloproteinases inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival cervical fluid during adult periodontitis.* Inflamm Res 46: 310-319, 1997.
25. Golub LM, Lee HM, Ryan ME, Giannobile WV, Payne J., Sorsa T.

Proteolytic enzymes and peri-implant tissue destruction. Academic dissertation, Helsinki 2004.

37. Johansson N., Ahonen M., Kähäri VM. Matrix metalloproteinases in tumor invasion. *Cell Mol Life Sci* 57: 5-15, 2000.
38. Kähäri VM, Saarialho-Kere U. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in tumour growth and invasion. *Ann Med* 31: 34-35, 1999.
39. Kanyama M., Kuboki T., Kojima S., Fujisawa T., Hattori T., Takigawa M., Yamashita A. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids of patients with temporomandibular joint osteoarthritis. *J Orofac Pain* 14 (1): 20-30, 2000.
40. Kerr LD, Miller DB, Matrisian LM. *TGF- β 1 inhibition of transin/stromelysin gene expression is mediated through a Fos binding sequence*. *Cell* 61: 267-278, 1990.
41. Kivelä-Rajamäki M., Teronen O., Maisi P., Husa V., Tervahartiala T., Piriä E., Salo T., Mellanen L., Sorsa T. *Laminin-5 γ 2-chain and collagenase-2 (MMP-8) in human peri-implant sulcular fluid*. *Clin Oral Impl Res* 14: 158-165, 2003.
42. Koivunen E., Arap W., Valtanen H., Rainisalo A., Medina O., Heikkilä P., Kantor C., Gahmberg C., Salo T., Konttinen YT, Sorsa T., Ruoslahti E., Pasqualini R. *Tumor targeting with a selective gelatinase inhibitor*. *Nat Biotechnol* 17: 768-774, 1999.
43. Kubota Y., Oka S., Nakagawa S., Shirasuna K. *Interleukin 1-a enhances type I collagen-induced activation of matrix metalloproteinase-2 in odontogenic keratocyst fibroblasts*. *J Dent Res* 81: 23-27, 2002.
44. Kugler A. *Matrix metalloproteinases and their inhibitors*. *Anticancer Research* 19 (2C): 1589-92, Mar-Apr 1999.
45. Lanone S., Zheng T., Zhu Z., Liu W., Lee CG, Ma B., Chen Q., Homer RJ, Wang J., Rabach LA, Rabach ME, Shipley JM, Snapiro SD, Senior RM, Elisa JA. *Overlapping and enzyme-specific contributions of matrix metalloproteinases-9 and -12 in IL-13-induced inflammation and remodeling*. *J Clin Invest* 110: 463-474, 2002.
46. Larms M. *Observation on endopeptidases in human carious dentin*. *Scand J Dent Res* 80: 298-304, 1972.
47. Leonardi R., Caltabiano C. Loreto. *Collagenase-3 (MMP-13) is expressed in periapical lesions: an immunohistochemical study*. *International Endodontic Journal* 38 (5): 297, May 2005.
48. Lerner Uh. *Regulation of bone metabolism by the kallikrein-kinin system, the acute-phase reactants*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 78: 481-493, 1994.

49. Lin SK, Kok S-H, Kuo M-Y-P., Wang T-J, Wang J-T, Yeh F-T-C, Hsiao M., Lan W-H, Hong C-Y. Sequential expression of MMP-1, TIMP-1, IL-6 and COX-2 genes in induced periapical lesions in rats. European J Oral Sci 110 (3): 246-253(8), June 2002.
50. Lin SK, Wang CC, Huang S., Lee JJ, Chiang CP, Lan WH, Hong CY. Induction of dental pulp fibroblast matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 gene expression by interleukin-1 alpha and tumor necrosis factor-alpha through a prostaglandin dependent pathway: J Endod 27: 185-189, 2001.
51. Llavaneras A., Ramamurthy NS, Heikkilä P, Teronen O., Salo T., Rifkin BR, Ryan ME, Golub LM, Sorsa T.; A combination of a chemically modified doxycycline and bisphosphonate synergistically inhibits endotoxin-induced periodontal breakdown in rats. J Periodontal 72: 1069-1077, 2001.
52. Lokeshwar BL, Selzer MG, Zhu BQ, Block NL, Golub LM. Inhibition of cell proliferation, invasion, tumor growth and metastasis by an oral non-antimicrobial tetracycline analog (COL-3) in a metastatic prostate cancer model. Int J Cancer 98: 297-309, 2002.
53. Mäntylä P., Stenman M., Kinanen D., Tikanoja S., Luoto H., Salo T., Sorsa T. Gingival cervical fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. J Periodontal Res 38: 436-439, 2003.
54. Márton IJ, Kiss C. Protective and destructive immune reaction in apical periodontitis. Oral Microbiol Immunol 15 (3): 139-150, 2000.
55. Матовска Љ. Болести на забите и ендодонтот: Ендодонција. Скопје: Сигмапрес 214-264, 2001.
56. Matsuo T., Nakanishi T., Ebisu S. Immunoglobulins in periapical exudates of infected root canals: correlations with the clinical findings of the involved teeth. Endod Dent Traumatol 11: 95-99, 1995.
57. Meikle MC, Bord S., Hembry RM, Comston J., Croucher PI, Reynolds JJ. Human osteoblasts in culture synthesize collagenase and other matrix metalloproteinases in response to osteotropic hormones and cytokines. J Cell Sci 103: 1093-1099, 1992.
58. Metzger Z. Macrophages in periapical lesions. Endod Dent Traumatol 16: 1-8, 2000.
59. Miller GA, DeMayo T, Hutter JW. Production of interleukin-1 by polymorphonuclear leucocytes resident in periradicular tissue. J Endod 22: 346-351, 1996.
60. Miyauchi M., Takata T., Ito H., Ogawa I., Kobayashi J., Nikai H., Ijuhin N. Immunohistochemical detection of prostaglandins E_2 , $F_{2\alpha}$ and 6-ketoprostaglandin $F_{1\alpha}$ in experimentally induced periapical inflammatory

lesions in rats. J Endod 22: 635-637, 1996.

61. Mortenson N., Winter H., Birn H. Periapical Granulomas and Cysts: An Investigation of 1600 Cases. Scand J Dent Res 78: 241-250, 1970.
62. Nair P.N.R. Pathogenesis of apical reiodontitis and the causes of endodontic failures. Crit Rev Oral Biol Med 15(6): 348-381, 2004.
63. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. *Oral and Maxfac Pathol* Philadelphia, USA: WB Saunders Co; pp 107-136, 2002.
64. O'Boskey Jr, Panagakos FS. Cytokines stimulate matriks metalloproteinase production by human pulp cells during long-term culture. J of Endodontics 24: 7-10, Jan 1998.
65. Palosaari H. Matrix metalloproteinases (MMPs) and their specific tissue inhibitors (TIMPs) in mature human odontoblasts and pulp tissue. The regulation of expression of fibrillar collagens, MMPs and TIMPs by growth factors, transforming growth factor- β 1 (TCF- β 1) and bone morphogenetic protein-2 (BMP-2). Academic dissertation, University of Oulu, Finland 2003.
66. Palosaari H., Pennington CJ, Larmas M., Edwards DR, Tjäderhane L., Salo T. Expression profile of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs in mature human odontoblasts and pulp tissue: Eur J Oral Sci 111: 117-127, 2003.
67. Parikka V., Vaananen A., Risteli J., Salo T., Vaananen HK., Lehenkari P., Human mesenchymal stem cell derived osteoblasts degrade organic bone matrix in vitro by matrix metalloproteinases. Matrix Biol 24(6): 438-47, Sep 2005;
68. Persikov AV, Brodsky B. Unstable molecules form stable tissues. Proc Natl Acad Sci USA 99: 1101-1103, 2002.
69. Petres E. & Monica L. Histopathologic examination to confirm diagnosis of peripapical lesions: a review. J Can Dent Assoc 69(9): 598-600, 2003.
70. Petrović V. *Hronični apikalni cirkumskriпtni parodontit (granulom)*, Stomatološki fakultet, Beograd, 1981.
71. Petrović V., Čolić S. *Periapikalne lezije*. Velarta, Beograd, 2001;
72. Piattelli A., Artese L., Rosini S., Quaranta M., Musiani P. Immune cells in peripapical granuloma: morphological and immunohistochemical characterization. J Endod 17: 26-29, 1991.
73. Pirilä E., Ramamurthy N., Maisi P., McClain S., Kucine A., Wahlgren J., Golub L., Salo T., Sorsa T. Wound healing in ovariectomized rats. Effects of chemically modified tetracycline (CMT-8) and estrogen on matrix metalloproteinases -8, -13 and type I collagen expression. Curr Med Chem 7: 281-294, 2001.

74. Pirilä E., Sharabi A., Salo T., Quaranta V., Tu h., Heljasvaara R., Koshikawa N., Sorsa T., Maisi P. Matrix metalloproteinases process laminin-5 $\gamma 2$ -chain and regulate epithelial cell migration. Biochem Biophys Res Commun 303: 1012-1017, 2003.
75. Поповска Л. Хронични периапикални лезии во релација со ендодонскиот статус на забите. Докторска дисертација, Стоматолоски факултет Скопје, 2002.
76. Prikk K., Maisi P., Pirila E., Sepper R., Salo T., Wahlgren J., Sorsa T. In vivo collagenase-2 (MMP-8) expression by human bronchial epithelial cells and monocytes/macrophages in bronchiectasis. Journal of Pathology 194 (2): 232-8, Jun 2001.
77. Rashedi A. Treatment of periapical pathology with retrograde endodontic technique, www.future article.
78. Regezi J. A. Periapical Diseases: Spectrum and Differentiating Features. Journal of the California Dental Association, 1999. www.future article.
79. Reynaud af Gellersstam A., Sorsa T., Stackelberg S., Tervahartiala T., Haapasalo M. E. faecalis on the release of serine proteases elastase and cathepsin G, and collagenase-2 (MMP-8) by human polymorphonuclear leukocytes (PMNs). International Endodontic Journal, 38, 667-677, 2005.
80. Rifas L., Halstead LR., Peck WA., Avioli LV., Welgus HG. Human osteoblasts in vitro secrete tissue inhibitor of metalloproteinases and gelatinase but not interstitial collagenase as major products. J Clin Invest 84: 692-694, 1989.
81. Rudek M., Venitz J., Figg W. Matrix Metalloproteinase Inhibitors: Do they have a place in anticancer therapy. Pharmacotherapy 22 (6): 705-720, August 2002.
82. Shah N. Nonsurgical management of periapical lesions: a prospective study. Oral Surg Oral Med Oral Path 66: 365-71, 1988.
83. Shimizu H., Hosokawa Y., Yamaguchi D., Nakanishi T., Matsuo T. Analysis of expression of MMP-8 in periodontal diseased tissue. 79th General Session of the International Association for Dental Research, June 27-30, 2001.
84. Shin SJ., Lee JI., Baek SH., Lim SS. Tissue levels of matrix metalloproteinases in pulps and periapical lesions. Int Endodont J 28 (4): 313-5, April 2002.
85. Simon JHS., Periapical pathology. In: Cohen S, Burns RC, eds. Pathways of the Pulp, 7th edn. St.Louis, USA: Mosby 425-62, 1998.
86. Smith GN, Brandt KD, Hasty KA. Activation of recombinant human neutrophil procollagenase in the presence of doxycycline results in fragmentation of the enzyme and loss of enzyme activity. Arthritis Rheum 39: 235-244, 2002.
87. Sokolović M., Todorović Lj., Petrović V., Uporedna razmatranja

- rendgenoloških i histopatoloških dijagnoza radikularnih cista. Akta Stom. Cro. 15, 3: 73-86, 1981.
88. Sorsa T., Ding Y., Salo T., Lauhio A., Teronen O. & Ingman T. Effects of tetracycline's on neutrophil, gingival and salivary collagenases. A functional and western-blot assessment with special reference to their cellular sources in periodontal diseases. Annals of the New York Academy of Sciences 732: 112-131, 1994.
89. Sorsa T., Suomalainen K., Helenius J., Lindy S., Saari H., Konttinen YT, Uitto VJ. Periodontal disease. New Engl J Med 323: 133-135, 1990.
90. Spatafore C., Griffin J., Keyes G., Wearden S., Skidmore AE. Periapical biopsy report: An analysis Over a 10-year period. J Endodont 16 (5): 239-41, 1990.
91. Springman EB, Angleton EL, Birkedal-Hansen H., Van Wart HE. Multiple modes of activation of latent human fibroblast collagenases: evidence for the role of a Cys 73 active-site zinc complex in latency and a cysteine switch mechanism for activation. Proc Natl Acad Sci USA 87: 364-368, 1990.
92. Stashenko P. The role of immune cytokines in the peripapical lesions. Endod Dent Traumatol 6: 89-96, 1990.
93. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behaviour. Annu Rev Cell Dev Bio 17: 463-516, 2001.
94. Sulkala M. Matrix metalloproteinases (MMPs) in dentin-pulp complex of healthy and carious teeth. Academic dissertation, University of Oulu, 2004.
95. Sulkala M., Wahlgren J., Larmas M., Sorsa T., Teronen O., Salo T., Tjaderhane I. The effect of MMP activity and caries progression in rats. J Dent Res 80: 1545-1549, 2001.
96. Takahashi K. Changes in the pulpal vasculature during inflammation. J Endod 16: 92-97, 1990.
97. Takahashi K. Microbiological, pathological, inflammatory, immunological and molecular biological aspects of periradicular disease. Int Endodont J 31: 311, September 1998.
98. Takahashi K., MacDonald DG, Kinane DF. Analysis of immunoglobulin-synthesizing cells in human dental peripapical lesions by *in situ* hybridization and immunohistochemistry. J Oral Pathol Med 25: 331-335, 1996.
99. Tamura M., Nagaoka S., Kawagoe M. Interleukin-1 alpha stimulates interstitial collagenase gene expression in human dental pulp fibroblast. J Endod 22: 240-243, 1996.
100. Teronen O., Salo T., Laitinen J., Tornwall J., Ylipaavalniemi P., Konttinen YT, Sorsa T. Characterization of interstitial collagenases in jaw cyst wall. Eur J

Oral Sci 103: 141-147, 1995.

101. Tervahartiala T., Pirilä E., Ceponis A., Maisi P., Salo T., Tuter G., Kallio P., Törnwall J., Srinivas R., Konttinen YT, Sorsa T. The *in vivo* expression of the collagenolytic matrix metalloproteinases (MMP-2, -8, -13 and -14) and matrilysin (MMP-7) in adult and localized juvenile periodontitis. *J Dent Res* 79: 1969-1977, 2000.
102. Tjäderhane L., Hotakainen T., Määttä T., Sorsa T. & Salo T. Effect of matrix metalloproteinases (MMP) inhibition on periapical lesion formation. 82nd General Session of the International Association for Dental Research 10-13, March 2004.
103. Tjäderhane L., Palosaari H., Wahlgren J., Larmas M., Sorsa T., Salo T. Human odontoblast culture method: the expression of collagen and matrix metalloproteinases (MMPs). *Adv Dent Res* 15: 55-58, 2001.
104. Todorović Lj., Petrović V., Jurišić M., Vraćar V. *Oralna hirurgija*, Nauka, Beograd, 2002.
105. Torres JO, Torabinejad M, Matiz RA, Mantilla EG. Presence of secretory IgA in human periapical lesions. *J Endod* 20: 87-89, 1994.
106. Uitto VJ, Airola K., Vaalamo M., Johansson N., Putnins EE, Firth JD, Salonen J., Lopez-Otin C., Saariaho-Kere U., Kähäri VM. Collagenase-3 (matrix metalloproteinase-13) expression is induced in oral mucosal epithelium during chronic inflammation. *Am J Pathol* 152: 1489-1499, 1998.
107. Uitto V-J, Overall C, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontal* 2000, 31:91-104, 2003.
108. Vaalamo M., Mattila L., Johansson N., Kariniemi AL, Karjalainen-Lindsberg ML, Kahäri VM, Saarialho-Kere U. Distinct populations of stromal cells express collagenase-3 (MMP-13) and collagenase-1 (MMP-1) in chronic ulcers but not in normally healing wounds. *J Invest Dermatol* 109: 96-101, 1997.
109. Vaes G., Delaisse JM, Eeckhout Y. Relative roles of collagenase and lysosomal cystein-proteinases in bone resorption. *Matrix* 1: 383-388, 1992.
110. Van der Zee E., Everts V., Beersten W. Cytokines modulate routes of collagen breakdown. Review of special emphasis on mechanisms of collagen degradation in periodontium and the burst hypothesis of periodontal disease progression. *J Clin Periodontol* 24: 297-305, 1997.
111. Величковски Б. Фрекценција на ликализација на импактиран и полуимпактиран долен трет молар и можности за тераписки третман. Магистерски труд; Стоматолошки факултет, Скопје, 1993.
112. Vier F., Figueiredo JA. Prevalence regarding the type of periapical pathology in 102 human teeth extracted with associated periapical lesion. *ECLER Endod* 2 (2): 1516, Oct 2000.