



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Јана В. Мојсиловић

**Утицај хроничне примене амлодипина  
на увећање гингиве: процена фактора  
ризика, параметара оксидативног  
стреса, хистолошких маркера и  
квалитета живота**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2024.



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU  
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Jana V. Mojsilović

**Uticaj hronične primene amlodipina na  
uvećanje gingive: procena faktora rizika,  
parametara oksidativnog stresa,  
histoloških markera i kvaliteta života**

Doktorska disertacija

Kragujevac, 2024.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC  
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Jana V. Mojsilović

**The impact of chronic amlodipine use on  
gingival enlargement: assessment of risk  
factors, oxidative stress parameters,  
histological markers, and quality of life**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2024

| Аутор                                                                                                                                                         |  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| Име и презиме: Јана В. Мојсиловић                                                                                                                             |  |
| Датум и место рођења: 07.11.1995. године, Крагујевац                                                                                                          |  |
| Садашње запослење: Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу                                                                                       |  |
| Докторска дисертација                                                                                                                                         |  |
| Наслов: Утицај хроничне примене амлодипина на увећање гингиве: процена фактора ризика, параметара оксидативног стреса, хистолошких маркера и квалитета живота |  |
| Број страница: 129                                                                                                                                            |  |
| Број слика: 35 слика и 19 табела                                                                                                                              |  |
| Број библиографских података: 161                                                                                                                             |  |
| Установа и место где је рад израђен: Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, Крагујевац                                                         |  |
| Научна област (УДК): Фармакологија и токсикологија; Пародонтологија и орална медицина                                                                         |  |
| <b>Ментор:</b> титула, име и презиме, звање, назив факултета/института и универзитета:                                                                        |  |
| Проф. др Марина Костић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија             |  |
| Број и датум одлуке Већа универзитета о прихватању теме докторске дисертације:                                                                                |  |
| IV-03-502/28, од 13.07.2023.                                                                                                                                  |  |

|                                                                                                                                                                |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Autor</b>                                                                                                                                                   |
| Ime i prezime: Jana V. Mojsilović                                                                                                                              |
| Datum i mesto rođenja: 07.11.1995. godine, Kragujevac                                                                                                          |
| Sadašnje zaposlenje: Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu                                                                                      |
| <b>Doktorska disertacija</b>                                                                                                                                   |
| Naslov: Uticaj hronične primene amlodipina na uvećanje gingive: procena faktora rizika, parametara oksidativnog stresa, histoloških markera i kvaliteta života |
| Broj stranica: 129                                                                                                                                             |
| Broj slika: 35 slika i 19 tabela                                                                                                                               |
| Broj bibliografskih podataka: 161                                                                                                                              |
| Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu, Kragujevac                                                          |
| Naučna oblast (UDK): Farmakologija i toksikologija; Parodontologija i oralna medicina                                                                          |
| <b>Mentor:</b> titula, ime i prezime, zvanje, naziv fakulteta/instituta i univerziteta                                                                         |
| Prof. dr Marina Kostić, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Farmakologija i toksikologija              |
| Broj i datum odluke Veća univerziteta o prihvatanju teme doktorske disertacije:                                                                                |
| IV-03-502/28, od 13.07.2023.                                                                                                                                   |

| Author                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Name and surname: Jana V. Mojsilović                                                                                                                                                                                                                                             |
| Date and place of birth: 07.11.1995. Kragujevac                                                                                                                                                                                                                                  |
| Current employment: Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac                                                                                                                                                                                                        |
| Doctoral Dissertation                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Title: The impact of chronic amlodipine use on gingival enlargement: assessment of risk factors, oxidative stress parameters, histological markers, and quality of life                                                                                                          |
| No. of pages: 129                                                                                                                                                                                                                                                                |
| No. of images: 35 images and 19 tables                                                                                                                                                                                                                                           |
| No. of bibliographic data: 161                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Institution and place of work: Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac                                                                                                                                                                                 |
| Scientific area (UDK): Pharmacology and Toxicology; Periodontology and oral medicine                                                                                                                                                                                             |
| <b>Mentor:</b> title, name and surname, position, name of faculty / institute and university<br>Professor Marina Kostić MD, PhD, Full Professor of Pharmacology and Toxicology, Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac |
| Topic Application Date:                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 21.12.2022.                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Decision number and date of acceptance of the doctoral dissertation topic:                                                                                                                                                                                                       |
| IV-03-502/28, 13.07.2023.                                                                                                                                                                                                                                                        |

## **Захвалница**

*Неизмерно сам захвална мојој менторки проф. др Марини Костић на несебичној помоћи и ангажовању у сваком сегменту реализације наше докторске дисертације, на усмеравању, пренетом знању, а пре свега на великом пријатељству, разумевању и подршци. Од почетка сте са мном, од мог првог контакта са научним радом, и веома сам захвална и поносна што сте баш Ви моја менторка, и мој велики пријатељ.*

*Велико хвала проф. др Немањи Јовичићу, несуђеном коментору, на изузетној ангажованости у изради ове докторске дисертације, посвећености, подељеном знању, увек корисним сугестијама, издвојеном времену, подршци, шалама и бодрењу. Без Вашег доприноса ова докторска дисертација не би била оно што је у завршној верзији.*

*Захваљујем се проф. др Гвоздену Росићу на усмеравању и саветима када је то било најпотребније.*

*Хвала мојој куми, др Сањи Вујовић Ристић, и доц. др Момиру Стевановићу на драгоценој помоћи и подршци током спровођења истраживања, као и на искреном пријатељству које траје од првог дана нашег заједничког рада.*

*Ништа не би било могуће без безграничне љубави и подршке моје породице одувек, од самог почетка мог школовања, па до данас. Захваљујем се мојој мајци Јелени, оцу Владимиру, бакама Деси и Миломирки, као и свим мојим пријатељима што су ме охрабривали и веровали у мене све ове године.*

*А без њих – ништа не би вредело нити имало смисла, а опет су све речи сувишне,*

*И зато ову докторску дисертацију посвећујем мојим највољенијим момцима, мужу Николи и сину Луки*

## САЖЕТАК

**Увод** Увећање гингиве изазвано лековима је познати нежељени ефекат различитих лекова, укључујући БКК који се користе за лечење хипертензије. Разумевање ризика и механизма увећања гингиве услед хроничне употребе амлодипина је кључно за побољшање лечења и квалитета живота пацијената.

**Циљ** Идентификовати факторе ризика увећања гингиве изазваног амлодипином, проценити квалитет живота и анализирати параметре оксидативног стреса и гингивалног ткива.

**Материјал и методе** Студија пресека је укључила адултне пацијенте који користе амлодипин најмање 6 месеци, подељене у групе са и без увећања гингиве. Свеобухватна процена укључивала је социодемографске податке, клиничке процене и одређивања клиничких параметара. Квалитет живота је процењен коришћењем скала ОНIP-14 и WB-HRQoL. Анализирани су оксидативни статус и кључни молекули унутар гингивалног ткива коришћењем RT-PCR, хистохемијских и колориметријских анализа.

**Резултати** Истраживање је укључило 32 пацијента без значајних социодемографских разлика између испитаника са и без увећања гингиве ( $p > 0.05$ ). Пацијенти са увећањем гингиве имали су виши систолни крвни притисак ( $139.63 \pm 10.743$  према  $128.38 \pm 7.249$ ,  $p = 0.028$ ) и виши ОНIP-14 скор. RT-PCR анализа показала је значајне разлике у експресији IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-33, ST2, TGF- $\beta$ 1, FGF-2, CTGF, VEGF-D и KGF између група. Нивои SOD, CAT и MDA такође су се значајно разликовали између пацијената са и без увећања гингиве.

**Закључак** Резултати ове докторске дисертације истичу значајан утицај амлодипином изазваног увећања гингиве на здравље и квалитет живота пацијената, уз потребу за даљим истраживањима и новим терапијским стратегијама.

**Кључне речи** амлодипин, квалитет живота, оксидативни стрес, увећање гингиве, хистолошка анализа

## ABSTRACT

**Introduction** DIGE is a recognized side effect of various medications, including CCBs prescribed for hypertension. Understanding the risk factors and mechanisms behind gingival enlargement associated with long-term amlodipine use is essential for optimizing patient care and enhancing quality of life.

**Aim** To identify risk factors for gingival enlargement induced by amlodipine, evaluate its impact on quality of life, and analyze oxidative stress and gingival tissue parameters.

**Materials and methods** A cross-sectional study was conducted on adult patients who had been taking amlodipine for a minimum of 6 months. Participants were divided into two groups: those with gingival enlargement and those without. The assessment included collection of sociodemographic and clinical data, alongside clinical parameter evaluations. Quality of life was measured using the OHIP-14 and WB-HRQoL scales. The key molecules and oxidative status of gingival tissue were analyzed through RT-PCR, histochemical, and colorimetric methods.

**Results** The study comprised 32 patients, with no significant sociodemographic differences between those with and without gingival enlargement ( $p>0.05$ ). Patients exhibiting gingival enlargement had higher systolic blood pressure ( $139.63\pm 10.743$  vs.  $128.38\pm 7.249$ ,  $p=0.028$ ) and elevated OHIP-14 scores. RT-PCR revealed significant differences in the expression of IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-33, ST2, TGF- $\beta$ 1, FGF-2, CTGF, VEGF-D, and KGF between the groups. Additionally, levels of SOD, CAT, and MDA varied significantly between those with and without gingival enlargement.

**Conclusion** This study demonstrates the considerable impact of amlodipine-induced gingival enlargement on the patient's health and quality of life, underscoring the need for further research and new therapeutic strategies.

**Keywords** amlodipine, gingival enlargement, histological analysis, oxidative stress, quality of life

# Садржај

|                                                                                                                                          |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1.УВОД .....</b>                                                                                                                      | <b>1</b>  |
| <b>1.1 Фармаковигиланца .....</b>                                                                                                        | <b>2</b>  |
| <b>1.2 Позиција доктора стоматологије у систему фармаковигиланце.....</b>                                                                | <b>4</b>  |
| <b>1.3 Нежељене реакције лекова на нивоу усне дупље .....</b>                                                                            | <b>5</b>  |
| <b>1.4 Блокатори канала за калцијум.....</b>                                                                                             | <b>11</b> |
| 1.4.1 Амлодипин.....                                                                                                                     | 11        |
| <b>1.5 Увећање гингиве изазвано лековима.....</b>                                                                                        | <b>14</b> |
| 1.5.1 Преваленција и епидемиологија .....                                                                                                | 15        |
| 1.5.2 Фактори ризика.....                                                                                                                | 16        |
| 1.5.3 Патогенеза .....                                                                                                                   | 18        |
| 1.5.4 Клиничка слика .....                                                                                                               | 19        |
| 1.5.5 Терапија .....                                                                                                                     | 20        |
| <b>1.6 Квалитет живота пацијената – концепт и инструменти за мерење.....</b>                                                             | <b>21</b> |
| <b>2.ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ .....</b>                                                                                                         | <b>25</b> |
| Главни циљеви истраживања.....                                                                                                           | 26        |
| Радне хипотезе истраживања .....                                                                                                         | 27        |
| <b>3.МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ .....</b>                                                                                                        | <b>28</b> |
| <b>3.1 Врста студије .....</b>                                                                                                           | <b>29</b> |
| <b>3.2 Популација која се истражује .....</b>                                                                                            | <b>29</b> |
| <b>3.3 Узорковање.....</b>                                                                                                               | <b>29</b> |
| <b>3.4 Варијабле које су мерене у студији.....</b>                                                                                       | <b>30</b> |
| <b>3.5 Снага студије и величина узорка .....</b>                                                                                         | <b>42</b> |
| <b>3.6 Статистичка обрада података.....</b>                                                                                              | <b>42</b> |
| <b>4.РЕЗУЛТАТИ .....</b>                                                                                                                 | <b>44</b> |
| <b>4.1 Социодемографске карактеристике и клиничке карактеристике<br/>        пацијената.....</b>                                         | <b>45</b> |
| 4.1.1 Анализа социодемографских и клиничких карактеристика пацијената у<br>односу на присуство/одсуство увећања гингиве.....             | 50        |
| 4.1.2 Анализа клиничких карактеристика и индекса пацијената у односу на<br>присуство/одсуство увећања гингиве и примену амлодипина ..... | 57        |
| <b>4.2 Анализа ткива гингиве .....</b>                                                                                                   | <b>62</b> |
| 4.2.1 Патохистолошка анализа архитектуре ткива гингиве .....                                                                             | 62        |
| 4.2.2 Цитокински профил гингивалног ткива .....                                                                                          | 67        |
| 4.2.3 Релативна експресија фактора раста у гингивалном ткиву .....                                                                       | 72        |

|                                                                                              |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4.2.4 Оксидативни статус.....                                                                | 78         |
| <b>4.3 Анализа квалитета живота пацијената .....</b>                                         | <b>81</b>  |
| <b>4.4 Повезаност клиничких карактеристика ткива гингиве и гингивалних<br/>индекса .....</b> | <b>98</b>  |
| <b>5.ДИСКУСИЈА .....</b>                                                                     | <b>103</b> |
| <b>6.ЗАКЉУЧЦИ .....</b>                                                                      | <b>115</b> |
| <b>7.ЛИТЕРАТУРА .....</b>                                                                    | <b>118</b> |
| <b>СКРАЋЕНИЦЕ.....</b>                                                                       | <b>128</b> |

# **1. Увод**

## 1.1 Фармаковигиланца

Фармаковигиланца представља релативно нову научну дисциплину, која је доживела и експанзију у претходне две деценије, значајно интерферирајући са другим сродним дисциплинама. Светска здравствена организација (СЗО) је дефинисала фармаковигиланцу као „науку и активности које се односе на откривање, процену, разумевање и превенцију нежељених ефеката или било којих других могућих проблема повезаних са лековима“ (1). Управо зато што је елементарни циљ фармаковигиланце заштита јавног здравља и безбедност пацијената, она је од кључног значаја у регулаторном систему лекова. У Републици Србији, Агенција за лекове и медицинска средства (АЛИМС) је одговорна за праћење нежељених реакција на лекове, и она уређује, одржава и унапређује национални систем фармаковигиланце (2). Нежељене реакције на лек често могу бити и узрок морбидитета и смртности, и зато је превенција истих изузетно важна за популацију. Многобројна претходна истраживања су указала да нежељене реакције заузимају значајно место међу најчешћим узроцима хоспитализације, као и да представљају шести водећи узрок смрти у Сједињеним Америчким Државама. Такође, према подацима СЗО нежељени ефекти лекова су један од десет водећих узрока смрти у свету. Стога, фармаковигиланца у 21. веку није само дисциплина која је усмерена на откривање, пријављивање и управљање нежељеним догађајима повезаним с одобреним и регистрованим лековима, већ се бави систематским праћењем процеса претржишне рецензије и посттржишним надзором, што укључује употребу лекова у свакодневной пракси представљајући круцијалну компоненту, не само свакодневне клиничке праксе, већ и ефективног система регулативе лекова и програма јавног здравља (3). У оквиру система фармаковигиланце акценат је на безбедној и адекватној примени лекова која се остварује: промоцијом правовремене детекције посебно претходно непознатих нежељених реакција на лекове, откривањем фактора ризика који доприносе испољавању нежељених реакција на лекове, квантитативном проценом односа бенефита и ризика примене лекова и повећањем степена информисаности о овом сегменту деловања лекова међу здравственим професионалцима (4).

Примена фармакотерапије је у великој мери унапредила исходе лечења многих болести. Коришћење лекова и медицинских средстава у циљу дијагностике, профилаксе и лечења болести постало је део свакодневице. Такође, неретко, пацијенти узимају више лекова истовремено за лечење више обољења, а стога постоје и случајеви где пацијенти користе велики број лекова истовремено (полифармација). Упркос бројним бенефитима, примену лекова често прати испољавање различитих нежељених ефеката који могу умањити коначне ефекте лекова. Клиничке манифестације нежељених дејстава на лекове могу бити различите како у погледу заступљености, временске испољености реакције, тако и у погледу озбиљности клиничке слике и коначних последица. У том смислу сви здравствени професионалци који прописују и издају лекове, лекари, стоматолози и фармацеути, морају бити упознати са основама фармаковигиланце и при процени клиничких ефеката узети у обзир и процену безбедоносног аспекта деловања лека (5).

*Edwards и Aronson* су 2000. године дефинисали нежељену реакцију на лек као „значајну штетну или непријатну реакцију произашлу из интервенције повезане са употребом лековитог производа, која предвиђа потенцијалну опасност од будуће примене и захтева превенцију, специфично лечење, прилагођавање дозирања или повлачење производа“ (5, 6). Да би се додатокована реакција класификовала као „нежељена реакција на лек“, мора постојати претпостављена узрочно-последична веза између примењеног лека и потенцијалног нежељеног ефекта. С друге стране, када оваква

директна веза изостане и испољену штетну реакцију и лек повезује само временска компонента, одговарајућа терминологија је „нежељени догађај“. Нежељени догађај описује неповољан исход који пацијент доживљава приликом употребе лека, а који, за разлику од нежељеног дејства лека, не може бити нужно повезан с самим леком. Осим тога, термини „нежељена реакција“ и „нежељени ефекат“ могу се користити као замењиви, при чему се први посматра из перспективе пацијента, а други из перспективе самог лека. Конкретно, термин „нежељени ефекат“ обухвата све нежељене исходе повезане с леком, без претпоставки о механизмима који стоје иза њих. Као резултат тога, обухвата и „токсичне ефекте“ (нежељене ефекте повезане с дозом и претераном реакцијом на терапијски ефекат) и „споредне ефекте“ (нежељене ефекте који нису повезани с терапијским ефектом, без обзира на дозу) (6, 7).

Генерално, нежељена дејства лекова фармаколошки се могу класификовати у шест различитих форми. Те форме обухватају реакције повезане с дозом и основним механизмом деловања лека (Тип А – енг. *Augmented*), неповезане с дозом лека (Тип Б – енг. *Bizzare*), реакције зависне од дозе и времена (Тип Ц – енг. *Chronic*), реакције зависне од времена (Тип Д – енг. *Delayed*), реакције у вези са прекидом терапије (Тип Е – енг. *End of use*) и неочекивано неуспешно терапијско деловање (тип Ф – енг. *Failure*) (7, 8, 9).

У погледу интензитета нежељена дејства лекова могу бити благе, умерене и тешке клиничке слике, а према времену испољавања клиничке манифестације у односу на последњу примену лека, можемо разликовати акутне, субакутне и нежељене реакције одложеног тока. У литературним изворима постоји и класификација нежељених реакција према учесталости, према којој разликујемо: веома ретка чија учесталост је мања од 0,01%, ретка чија учесталост је 0,01%-0,1%, не тако честа, чија заступљеност износи 0,1%-1%), честа која су присутна 1-10%, и врло честа нежељена дејства чија заступљеност превазилази 10%. Посебан опрез захтевају озбиљне нежељене реакције на лек с обзиром да витално угрожавају пацијента, могу довести до хоспитализације, продужетка хоспитализације, инвалидитета или појаве конгениталних анормалија (10).

Важно је напоменути да су доза и време потребно за манифестацију нежељеног дејства лека два основна параметра који се узимају у обзир приликом процене безбедоносног аспекта деловања лека. Међутим, треба узети у обзир да нису увек познати механизми настанка, као и да нису увек предвидљиви. Ова непредвидљивост произлази из различитих фактора који превазилазе фармакодинамику и фармакокинетику лека, будући да многи интерагирајући фактори доприносе коначном исходу. Највероватније је да многи нежељени ефекти лека тренутно нису препознати, а неки се можда не уклапају савршено у поменуту класификацију. Стога је императив спровести темељну процену медицинског профила пацијента и историје болести, пажљиво прописивати лекове, смањивати примену полифармације кад год је то могуће, и одмах пријавити сваку сумњу на нежељено дејство лека надлежним органима (7).

Активно учешће у систему фармаковигиланце јесте професионална дужност лекара, фармацеута и стоматолога и законски је регулисана. При сумњи на нежељену реакцију на лек, неопходно је да здравствени професионалци, лекари, стоматолози, фармацеути, експертизом обухвате следеће карактеристике детектоване промене: клиничку слику нежељене реакције, степен изражености симптома, озбиљност, учесталост, потенцијални механизам настанка и узрочно последичну везу између суспектног лека и детектоване промене (10)3

## 1.2 Позиција доктора стоматологије у систему фармаковигиланце

Примена фармакотерапије јесте саставни део рутинске клиничке праксе коју доктори стоматологије примењују лечећи различите клиничке ентитете у домену оралне патологије. У оквирима рутинске клиничке праксе, доктори стоматологије најчешће прописују антибиотике, аналгетике, антиинфламаторне лекове и антипиретике. Посебан део експертизе доктора стоматологије чини и рана детекција оралних манифестација нежељених реакција на лекове, било да су у питању лекови прописани од стране доктора стоматологије или лекара других специјалности. Позиција доктора стоматологије у оквиру система фармаковигиланце посебно добија на значају од 2005. године, када је описана појава остеонекрозе виличне кости узроковане применом бисфосфоната што је иницирало регулаторно тело попут Управе за храну и лекове (енг. *Food and Drug Administration*, FDA) да укаже на посебност оралних манифестација нежељених реакција на лекове и потребу за постојањем тзв. „денталне“ фармаковигиланце (11, 12). Узевши у обзир широк дијапазон терапијских стратегија које доктори стоматологије свакодневно користе, али и особености пацијената као што су старост, пол, присуство коморбидитета, присуство полифармације, као и различите манифестације оралне патологије и оралних нежељених дејстава, степен свести о безбедоносном аспект у деловања лека мора бити висок у оквиру стоматолошке здравствене заштите као и професионална одговорност ових здравствених професионалаца када је у питању безбедност лекова (13, 14).

У оквиру стоматолошке здравствене заштите процес прикупљања података који се односе на безбедност лекова се заснива на подацима прикупљеним од пацијената као и на подацима проистеклим из клиничке експертизе. Литературни подаци указују на значај интеракција здравствених професионалаца из различитих области у систему денталне фармаковигиланце и то доктора стоматологије, клиничког фармаколога или фармацеута, патолога, али и експерата из домена фармацеутске индустрије и регулаторних тела који се баве лековима. Овакав вид интерпрофесионалне сарадње, посебно између доктора стоматологије и клиничког фармаколога, омогућава сагледавање детектоване нежељене реакције, не само у погледу клиничке манифестације, већ и у погледу карактеристика суспектног лека. Додатно, овакви видови сарадње могу допринети и промоцији мера и стратегија фармаковигиланце кроз стална усавршавање доктора стоматологије из области безбедности лекова (15).

Активно учешће у процесу пријављивања нежељених реакција је професионална одговорност доктора стоматологије и законски је регулисана (16). Уколико је детектована нежељена реакција последица примене новог лека, пријављује се Националном центру за фармаковигиланцу који функционише при АЛИМСу без обзира на озбиљност, интензитет реакције, постојање узрочно последичне везе са суспектним леком. За лекове који су већ дуго на тржишту пријављују се озбиљна и нежељена дејства која до тад нису описана у пратећој документацији о леку. Процес спонтаног пријављивања нежељеног дејства подразумева попуњавање обрасца који садржи податке о пацијенту, о испољеној клиничкој манифестацији нежељене реакције, озбиљности, временској повезаности са узимањем лека, коначном исходу нежељене реакције, о последицама „*dechallenge*“ и „*rechallenge*“ поступака, о суспектном леку и здравственом професионалцу који је реакцију и детектовао. Иако је поступак спонтаног пријављивања нежељене реакције на лек једноставан, недовољно је присутан у свакодневном клиничком раду. Литературни подаци указују да су разлози због којих се нежељене реакције на лекове не пријављују у довољној мери најчешће последица непрепознавања

нежељене реакције на лек, недовољног степена знања о овом сегменту деловања лека, непознавања процедура из домена фармаковигиланце, страха да је детектована нежељена реакција последица неадекватног лечења и други (10, 16).

Нежељене реакције на лекове могу негативно утицати на даљи ток лечења и потенцирати погоршање основне болести, али и појаве новог медицински значајног стања које захтева употребу нових лекова, потом могу допринети додатном коришћењу здравствених услуга, могу узроковати хоспитализ

ацију или продужетак хоспитализације узрокујући широк дијапазон не само медицинских, већ и социоекономских последица, попут повећања укупних трошкова лечења основне болести и редукције квалитета живота оболелих. С обзиром да су нежељене реакције на лекове добро познат сегмент деловања лекова, дужност доктора стоматологије је да један део клиничке експертизе у оквиру рутинске клиничке праксе посвети и детекцији нежељених дејстава лекова на нивоу оралног здравља, како би се ове промене превенирале, правовремено детектовале и лечиле адекватно (17).

### **1.3 Нежељене реакције лекова на нивоу усне дупље**

Велики број различитих фармакотерапијских група лекова може изазвати нежељена дејства на нивоу усне дупље. Подаци из доступне литературе указују на разноликост клиничких манифестација ових промена као и на чињеницу да ова нежељена дејства могу бити последица не само лекова које прописују стоматолози него и лекова које прописују лекари других специјалности, односно последица како локалног тако и системског деловања лекова.

Нежељена дејства лекова на нивоу усне дупље могу имати различите клиничке манифестације, захватајући чврста и мека ткива оралне регије. Клиничке манифестације ових нежељених реакција могу варирати у зависности од примењеног лека (18).

Обично се нежељене реакције на лек открију унутар неколико сати, дана или месеци након узимања лека, у зависности од природе саме реакције. На пример, лихеноидне реакције на лек могу се у почетку појавити асимптоматски, а симптоме испољити годинама касније (када су улцерозне или еритематозне), што отежава успостављање директне везе између почетка примене лека и развоја нежељене реакције. Важно је искључити претходно постојећа орална стања пре примене лека, што може бити изазовно или чак немогуће ако пацијент није редовно прегледан односно праћен од стране доктора стоматологије. Прекидање примене суспектног лека обично доводи до побољшања, а дијагноза се најчешће потврђује појавом истих симптома након поновног укључивања лека у терапију, што у одређеним случајевима није могуће ако су нежељене реакције веома непријатне, озбиљне или потенцијално опасне по живот. Такође, треба пажљиво бележити истовремену употребу других лекова (19).

Веома је важно и разликовати нежељено дејство од алергијске реакције на лек, где је укључен и имунолошки систем. Алергије на лекове могу бити тренутне или одложене, од којих неке могу бити леталне, односно опасне по живот. Ако се сумња да пацијент има алергију на лек, употребу лека одмах треба прекинути, применити симптоматску терапију, уз обавезно бележење постојања алергије на дати лек. У контексту стоматолошке праксе, често коришћени фармаколошки агенси који могу

изазвати овакве реакције укључују локалне анестетике, аналгетике и антибиотике (20).

Локални анестетици су широко коришћени у стоматолошкој пракси, а иако се сматрају сигурним, изузетно је важно да здравствени радници прилагоде дозу и концентрацију сваком пацијенту како би се спречиле потенцијалне нежељене реакције на лек, како локалне, тако и систематске. Локалне компликације које се повезују са применом ових анестетика укључују некрозу ткива и директне неуротоксичне ефекте. Некроза ткива може настати услед природе самих раствора, примене великих доза, или због дејства вазоконстриктора попут епинефрина, који улази у састав анестетика. Терапија ових стања је углавном симптоматска, а важно је фокусирати се и на превенцију истих. Систематске компликације се могу јавити као последица дејства локалних анестетика на кардиоваскуларни и централни нервни систем, што је посебно незгодно код деце. Неопходно је водити рачуна о максималним дозама локалних анестетика, како код одраслих, тако и у дечијој популацији (20).

Најчешћа нежељена реакција на лек повезана са нестероидним антиинфламаторним лековима (НСАИЛ) односи се на компликације на нивоу гастроинтестиналног тракта, односно на крварење и гастротоксичност. Гастротоксичност настаје због механизма деловања НСАИЛ-а који инхибира синтезу простагландина, чиме се умањује заштитни ефекат простагландина на слузокожу желуца, те је неопходно избегавати примену ових лекова код пацијената са историјом чира на желуцу или крварења пореклом гастроинтестиналног тракта. Такође, НСАИЛ могу изазвати анафилактичку реакцију и због тога треба бити опрезан при примени лекова из ове групе код пацијената са тешком астмом. Друге потенцијалне нежељене реакције укључују оштећење функције бубрега, али су обично повезане са дуготрајном и хроничном употребом НСАИЛ (20).

Осим потенцијалних анафилактичких реакција, антибиотици који се данас најчешће користе у стоматологији генерално се добро подносе. Најчешћа нежељена реакција на антибиотике укључује сметње у гастроинтестиналном тракту, као што су дијареја, мучнина и повраћање. Између 2% до 10% свих коришћених антибиотика може довести до дијареје, док се у случају комбинације амоксицилина и клавуланске киселине ови проценти се могу повећати и до 25% (20).

Већу забринутост изазива потенцијални развој озбиљних опортунистичких инфекција као што су *Clostridium difficile* или гљивичних инфекција након примене антибиотика. Клиндамицин се најчешће доводи у везу са инфекцијом *Clostridium difficile*, али треба имати на уму да сваки антибиотик теоретски може довести до овог стања (20).

Изузетно је важно едуковати пацијенте о специфичностима примене одређених антибиотика како би се избегле потенцијалне нежељене реакције. На пример, особе којима је прописан метронидазол, антибиотик који је ефикасан у лечењу анаеробних бактеријских инфекција, требало би да избегавају конзумацију алкохола због могућности метронидазола да инхибира ензиме који су кључни у процесу разградње етанола. Такође се могу јавити и црвенило коже, главобоље, мучнина и палпитације срца код пацијената на терапији овим леком (20).

Сви лекови имају потенцијал да изазову нежељена дејства, укључујући озбиљна, попут хематолошких поремећаја, измењених имунолошких реакција, хиперсензитивних реакција и повећане подложности малигним обољењима. Ове реакције се такође могу манифестовати у усној дупљи, и то директно под утицајем лека, или индиректно, као

последица другог системског нежељеног дејства. Имајући у виду да усна дупља има сложену анатомију и физиологију и подразумева различита ткива, као што су слузокожа, пародонцијум, зуби и кост, нежељена дејства имају комплексан механизам настанка и разнолику манифестацију. Иако су пљувачне жлезде и њихова функција најчешће погођени нежељеним реакцијама на лекове, важно је напоменути да сва ова ткива и све функције усне дупље (говор, мастикација, жвакање, чуло укуса...) могу бити нарушени или имати ограничења услед нежељених реакција узрокованих лековима, што ће бити објашњено у даљем тексту (7).

Пљувачне жлезде су подложне различитим нежељеним реакцијама на лекове, које се манифестују као хипосаливација, хиперсаливација, отицање, бол и промене у конзистенцији и боји пљувачке. Најчешће нежељено дејство лека које погађа пљувачне жлезде је хипосаливација, односно значајно смањење лучења стимулисане и/или нестимулисане пљувачке. Ово нежељено дејство може нарушити различите оралне функције, као што су говор, жвакање, гутање и чуло укуса, а чак и довести до немогућности ношења протетских надокнада, последично доводећи до угрожавања квалитета живота пацијената. Као резултат хипосаливације чест налаз су инфекције, као што су кандидијаза и зубни каријес, као и бактеријски сијалоденитис. Важно је разликовати хипосаливацију од субјективног осећаја сувих уста (ксеростомије). Бројни лекови су повезани са смањењем лучења пљувачке, укључујући антидепресиве, антипсихотике, антихистаминике, антихолинергике, антихипертензиве и многе друге (7, 19).

Нежељене реакције на лек се често могу манифестовати и на оралној слузокожи, и то обично у виду улцерација или секундарних ефлоресценција које настају као последица пуцања везикула или була. Механизми настанка ових промена често укључују имунолошки систем, иако тачни путеви настанка и даље нису у потпуности разјашњени (19).

Улцерације, укључујући и промене налик афтама, добро су познате као нежељене реакције повезане са НСАИЛ и бета блокаторима, али и разних других лекова, попут такролимуса, сиролимуса, каптоприла, никоранидила и алендроната.

Оралне „опекотине“, односно улцерације и/или десквamacије оралне слузокоже, могу се јавити услед случајног уношења каустичних супстанци или локалне примене лекова, али ова појава се не може нужно сматрати нежељеним дејством лека. Такође, нека локално примењена средства, попут натријум лаурил сулфата у пастама за зубе, могу изазвати улцерације слузокоже и иритацију (19).

Улцерације слузокоже се такође могу појављивати увек на истом месту када пацијент узима одређени лек и које се повремени, уколико дође до поновне изложености, могу проширити и на друге слузнице и/или на кожу. На листи могућих лекова који се повезују са оваквим манифестацијама су антибиотици (амоксацилин, сулфонамиди), парацетамол, анестетици, барбитурати, силденафил цитрат, кинин, ибупрофен, орнидазол и флуконазол (7).

Овакве промене чине и важан део клиничке слике обољења које се назива орални мукозитис, који често компликује терапију цитотоксичним лековима, посебно 5-флуороурацилом и другим лековима, узрокујући тешке болове. Имуносупресивна терапија након трансплантације органа може довести до дисплазије, па чак и малигних промена на уснама, као и до других компликација (7).

Оралне улцерације такође могу настати и секундарно, односно лезија које настају након пуцања везикула или була које подсећају на различите везикуло-булозне

поремећаје и аутоимунске незаразне болести као што су пемфигиод, пемфигус, или еритема мултиформе и сродни поремећаји. Реакције сличне пемфигиоду често захватају само оралну слузокожу, посебно када је пенициламин узрок, мада неретко може доћи и до захватања коже. Различите фармаколошке и терапеутске групе лекова, посебно оне које садрже тиолске и нетиолске групе, могу изазвати такве реакције. Лекови који садрже тиолну групу директно индукују акантолизу покретањем биохемијских механизма међу којима се издвајају интерферирање са ензимима попут трансглутаминазе, пореклом из кератиноцита што доводи до губитка кохезије између епидермалних ћелија и активација ендогених протеолитичких ензима као што је активатор плазминогена. Акантолиза посредована имунолошким механизмима је типична за лекове нетиолске грађе и подразумева продукцију аутоантитела класе IgG на дезмоглеим 1 и 3 што онемогућава даље функционисање дезмозома. Реакције сличне пемфигиоду обично се јављају код млађих пацијената и потпуно се повлаче након престанка узимања узрочног лека, за разлику од идиопатске форме болести (7).

Тиолни и не-тиолни лекови, посебно пенициламин, рифампицин, диклофенак, ретко каптоприл и други инхибитори ангиотензин-конвертујућег ензима, такође могу изазвати реакције сличне пемфигусу. Вакцина против инфлуенце такође је пријављена као узрок индукције пемфигуса, као и храна која садржи феноле и тиоле. Реакције сличне пемфигусу не могу се разликовати од идиопатских форми ни на основу клиничких ни серолошких карактеристика, а патогени механизми могу укључивати повећану активацију плазминогена и оштећење епитела, као и ремећење цистеинске везе ћелијске мембране, што потенцијално може довести до формирања аутоантитела и последичног оштећења епитела (7).

Еритема мултиформе може бити изазвана имунолошки посредованом реакцијом на различите лекове, укључујући барбитурате, цефалоспорине, НСАИЛ, естрогене, фенотиазине, прогестогене, инхибиторе протеазе, сулфонамиде, сулфонилауреинске деривате и тетрациклине. Ове промене подразумевају стварање везикула и булозних лезија које могу изненада да се развију, резултирајући хеморагијском псеудомембраном на уснама, широком површинском улцерацијом оралне слузокоже и других мукокутаних подручја. У тежим облицима еритема мултиформе, попут токсичне епидермалне некролизе и Стивенс-Джонсоновог синдрома, могу се јавити екстензивни и болни пликови и улцерације на свим слузокожама, кожи, а чак и на унутрашњим органима. Ови симптоми могу бити изузетно озбиљни и понекад фатални. Студија новијег датума идентификовала је антибиотике из групе сулфонамида као најчешће имплициране лекове (50,6%), затим невирапин (23,6%), НСАИЛ (5,6%) и антиконвулзивне лекове (3,4%) за настанак ове реакције. Други потенцијално имплицирани лекови укључују цефалоспорине, тетрациклине, аминокпеницилине, хинолоне, аналгетике, рифампицин, флуконазол и ванкомицин (19).

Системски лупус еритематозус је добро позната нуспојава лекова, а најчећи узрочници међу лековима овог стања су прокаинамид и хидралазин. У лекове који се ређе повезују са појавом лупуса су хлорпромазин, изониазид, метилдопа, пенициламин, кинин, инхибитори TNF-алфа и интерфероне, као и целе групе лекова попут антиконвулзива, бета блокатора, сулфонамида и других. Симптоми обично нестану након престанка узимања лека (19).

Лихеноидне реакције на оралној слузокожи и/или кожи честа су нежељена дејства повезана са све већим бројем лекова, укључујући инхибиторе ХИВ протеазе, антихипертензиве, антимаљарије, фенотиазине, сулфонамиде, тетрациклине, тиазидне диуретике и многе друге, а такође су се повезивале и са материјалима који се користе у стоматолошкој пракси. Сумња се да су ове реакције последица имунолошке

дисфункције, иако тачни патогени механизми нису потпуно разјашњени. Клинички, лихеноидне реакције изазване лековима могу подсећати на идиопатски лихен планус, понекад показујући унилатералну дистрибуцију и ерозивну морфологију. Међутим, нема специфичних хистопатолошких карактеристика, иако присуство дифузног лимфоцитног инфилтрата са еозинофилима, плазма ћелијама и повећаним бројем колоидних тела може бити индикативно. Дијагноза лихеноидних реакција може се потврдити ако симптоми нестану након повлачења лека и опет се појаве при поновном излагању леку, иако се, наравно, мора водити рачуна о безбедности пацијента приликом примене овог приступа. Лихеноидне реакције се могу и појавити у близини денталних рестаурација од различитих материјала, пре свега амалгама, понекад злата или композитних смола, при чему се неке оралне лезије могу повући заменом ових испуна. Патогенетски механизми могу укључивати алергијске или токсичне реакције на супстанце које ослобађа или генерише сам материјал, накупљање плака на површинама материјала, као и механичке трауме или галванске струје. Епикутани „*patch*“ тестови са солима живе су предложени као дијагностичка метода, иако имају малу прогностичку вредност (19).

Цитотоксични агенси, попут фенотиазина, протеазних инхибитора, псоралена и ретиноида, могу значајно утицати на слузокожу усана, потенцијално доводећи до хеилитиса. Треба имати у виду да сличне промене на слuzници усана се могу јавити и као одговор на примену одређених козметичких препарата или конзумирање неких нутритивних агенаса (19).

Остеонекроза виличних костију је недавно привукла значајну пажњу као потенцијални нежељени ефекат примене бисфосфоната. Ово је посебно значајно код онколошких пацијената који примају интравенске аминокиселин-бисфосфонате, а подвргавају се оралним хируршким процедурама. Научна заједница све више се усредсређује на ову појаву због неколико фактора, као што су растући докази о остеонекрози доње вилице повезаној са бисфосфонатима код пацијената који не болују од карицонома, као и изазове у терапији овог нежељеног дејства, недостатак јасне етиопатогенезе и широку употребу бисфосфоната у терапијске сврхе (за лечење малигних обољења, хиперкалцемије и коштаних метастаза) (19).

Од првог извештаја 2003. године, спроведено је много студија различитог дизајна које се баве како клиничким, тако и молекуларним аспектима ове нежељене реакције. Међутим, и поред ових настојања, у доступним литературним подацима нема довољно података о настанку остеонекрозе виличних костију изазване бисфосфонатима. Наставак истраживања је од суштинског значаја како би се стекло дубље разумевање овог комплексног нежељеног дејства и развиле потенцијалне стратегије за њено лечење (19).

Промена боје зуба је чест проблем и може се јавити услед унутрашњих или спољних фактора. Промене у структури зуба које могу изазвати и промену боје могу бити последица примене тетрациклина и инхибитора ангиотензин-конвертујућег ензима током развоја зуба. С друге стране, спољашња дисколорација зуба може потицати од различитих извора, укључујући супстанце као што су хлорхексидин, флуориди, гвожђе, антибиотици и есенцијална уља, као и животне навике, као што је пушење. Поред тога, смањен проток пљувачке је повезан са деминерализацијом зуба. Потребно је разумети ове факторе и њихов потенцијални утицај на очуваност зубне супстанце како би се развиле ефикасне превентивне мере и терапијске стратегије (19).

Тригеминални нерви играју кључну улогу у обезбеђивању осетљивости великог дела лица и усне дупље, али њихова функција може бити нарушена због нежељених реакција на лекове, што може изазвати стања као што су парестезија, хипоестезија, анестезија, као и невољне покрете мишића. Оштећење тригемиланог нерва најчешће је повезано са применом следећих лекова: интерферона алфа, ацетазоламида, лабеталолоа, султиама, винкристина и других хемиотерапеутика, као и мефлокина. Недавна истраживања такође повезују вакцинацију против хепатитиса Б и одређене инхибиторе протеазе са оваквим нежељеним дејствима (19).

Осим тога, примена локалних анестетика, посебно артикаина и прилокаина, може бити компликована продуженом анестезијом, што се претежно приписује њиховој благој неуротоксичности и утицају на саму васкуларизацију нерава. Такође, нежељени ефекти лекова повезани са бутирофенонима, фенотиазинима и трицикличним антидепресивима могу резултирати невољним покретима мишића лица и усана (19).

Поремећаји укуса, који обухватају смањење осетљивости укуса (хипогеузија), измењено чуло укуса (дисгеузија) и у ретким случајевима потпуни губитак осећаја укуса (агеузија), могу бити последица одређених лекова. Ови феномени се јављају услед примене различитих класа лекова, при чему су значајни примери антихипертензивни, посебно инхибитори ангиотензин-конвертујућег ензима, потом антимикробни лекови, антидепресиви, анксиолитици, лекови за лечење мигрене и лекови за регулисање функције штитасте жлезде. Иако тачни механизми који доводе до ових поремећаја укуса остају нејасни, претпоставља се да промене у хемијском саставу пљувачке и дисфункција рецептора за укус играју значајне улоге (19).

Због свега поменутог је од пресудне важности да доктори стоматологије, као и доктори других специјалности који прописују дати лек, буду свесни опсега и важности нежељених дејства лекова, као и утицаја нежељених ефеката лека на квалитет живота пацијента и успешност терапије примарног обољења (5), како би се, између осталог, спречиле нуспојаве лекова и лакше збринули пацијенти (20).

Увећање гингиве изазвано лековима (енг. *Drug-induced gingival enlargement - DIGE*) је познато нежељено дејство које се углавном повезује са употребом лекова који се користе за лечење системских болести и чији терапеутски „таргет“ није гингивално ткиво. Међу лековима који испољавају ово нежељено дејство издвајају се антихипертензивни (блокатори канала за калцијум), имуносупресиви и антиепилептици (21).

Међу антиепилептицима велики је број представника, као што су фенитоин, валпроична киселина, фенобарбитон, вигабатрин, примидон, етосуксимид, чија употреба се повезује са увећањем гингиве. Литературни подаци указују да се примена фенитоина најчешће повезује са овим нежељеним дејством, као и да увећање гингиве настаје под дејством метаболита фенитоина, 5-(4-хидроксифенил)-5-фенилхидантиона. Наведено једињење настаје и метаболизмом фенобарбитона и примидона, тако да примена више антиконвулзива може синергистички допринети испољавању ове нежељене реакције (22).

Увећање гингиве може бити подстакнуто и применом имуносупресива, циклоспорина, сиролимуса и такролимуса, лекова који се користе у циљу спречавања одбацивања трансплантата, као и у лечењу аутоимунних болести. Инциденција увећања гингиве узроковане циклоспорином као најпрописиванијег имуносупресива у циљу спречавања одбацивања трансплантата износи 53%, док такролимус и сиролимус

показују мању склоност ка изазивању овог нежељеног дејства (23-26).

## 1.4 Блокатори канала за калцијум

Блокатори канала за калцијум (БКК) представљају разноврсну групу лекова, који се широко користе у лечењу различитих кардиоваскуларних обољења, укључујући хипертензију, ангину пекторис, хипертрофичну кардиомиопатију и плућну хипертензију (27). Такође се користе за лечење стања попут Рејноовог синдрома, мигрене и субарахноидалног крварења. БКК се класификују у две основне групе на основу своје хемијске структуре и физиолошких ефеката: дихидропиридине (ДХП, као што су нифедипин, амлодипин, израдипин) и недихидропиридине (НДХП, као што су верапамил - фенилалкиламин и дилтиазем - бензотиазепин) (28). Прву генерацију БКК чине нифедипин, верапамил и дилтиазем, за које је специфично да имају краткотрајно деловање, док другу генерацију БКК представљају манидипин и никардипин. Амлодипин и израдипин припадају трећој генерацији БКК, карактеристичној по дуготрајним ефектима и мање нуспојава у поређењу с првом генерацијом (29).

Ови лекови остварују своје ефекте инхибирањем уноса калцијума из екстрацелуларног простора у ћелије, углавном блокирајући калцијумове дуго-делујуће волтаж зависне канале (енг. *"long acting"*, такозвани канали L типа) присутне у срцу, глатким мишићима крвних судова и панкреасу (28) што последично доводи до смањења крвног притиска путем вазодилатације артерија и смањења брзине откуцаја срца и контрактилности миокарда (29). Дихидропиридини делују као периферни вазодилататори, због чега су погодни за лечење хипертензије и мигрене (30). ДХП-ови се препоручују као монотерапија првог избора за лечење хипертензије (31). Насупрот томе, недихидропиридини утичу на синоатријални и атриовентрикуларни чвор, што доводи до успорења проводљивости срца (28). Овај специфичан ефекат их чини корисним за лечење хипертензије и тахиаритмија. БКК се генерално добро апсорбују орално, али могу показивати ниску биорасположивост због метаболизма путем цитохрома P450 3A4 у јетри, што такође може допринети интеракцијама с другим лековима (28). Иако су ефикасни у лечењу обољења попут хипертензије, ангине и аритмија, употреба блокатора канала за калцијум може бити ограничена потенцијалним нежељеним дејствима (32).

### 1.4.1 Амлодипин

Амлодипин, као што је претходно поменуто, припада новијој, трећој генерацији БКК (29, 33), а делује тако што блокира волтаж зависне калцијумове канале L типа, на тај начин инхибирајући почетни унос калцијума у ћелију. У поређењу са нифедипином и другим лековима из дихидропиридинске класе, амлодипин има најдужи полуживот, у трајању од 30 до 50 сати, што омогућава повољнији режим дозирања у једној дози/24h. Амлодипин је доступан у облику амлодипин бесилата, који је иницијално одобрен од стране FDA 1987. године (34).

#### 1.4.1.1 Индикације

Амлодипин се препоручује као прва линија терапије за хипертензију, било да се користи самостално или у комбинацији с антихипертензивним лековима из других група. Такође је одобрен у лечењу хроничне стабилне ангине, самостално или у комбинацији с

другим антиангиналним лековима. Амлодипин се користи за лечење потврђене вазоспастичке ангине или у случају суспектности на исту, као што је Принзметалова ангина. Код пацијената којима је недавно дијагностикована коронарна болест артерија ангиографијом, а без срчане инсуфицијенције или ејекционе фракције <40%, амлодипин се користи за смањивање ризика од хоспитализације због ангине и коронарне реваскуларизације (34, 35).

Иако није одобрен од стране FDA, амлодипин се разматра за лечење нефропатије код пацијената који болују од дијабетеса, за лечење хипертрофије леве коморе, Рејноовог синдрома и исхемије миокарда. Такође, може се разматрати за употребу код пацијената с идиопатском пулмоналном артеријском хипертензијом, који имају позитиван тест за вазодилатацију (34, 35).

#### 1.4.1.2 Контраиндикације

Примена амлодипина није дозвољена код пацијената са већ забележеном преосетљивошћу на лек или његове компоненте, а релативне контраиндикације постоје код пацијената са кардиогеним шоком, тешком аортном стенозом, нестабилном ангином, тешком хипотензијом, срчаном инсуфицијенцијом и оштећењем јетре. Пацијенти са тешким обољењем коронарних артерија могу имати погоршање ангине приликом примене овог лека. У случају кардиогеног шока, срце не може ефикасно пумпати крв, што се додатно погоршава инхибицијом уласка калцијумових јона у срчане ћелије. Код тешке аортне стенозе, амлодипин може узроковати дисфункцију срца. Овај лек изазива рефлексно повећање контрактилности срца код нестабилне ангине, повећавајући потребу миокарда за кисеоником и погоршавајући исхемију. Амлодипин може додатно снижити крвни притисак, довести до смањене прокрвљености виталних органа и синкопе код пацијената са тешком хипотензијом. Пацијенти са срчаном инсуфицијенцијом могу доживети симптоме попут плућног едема, отежаног дисања и диспнеје услед примене амлодипина. Присуство оштећења јетре може допринети несврсисходном метаболизму амлодипина, што може резултирати продуженим временом елиминације и повећаним концентрацијама у плазми пацијаната (34).

#### 1.4.1.3 Механизам дејства

Контракција глатких мишића крвних судова нормално започиње када калцијум уђе у ћелију путем волтаж зависних калцијумових канала L типа. Калцијум се везује за интрацелуларни калмодулин, активира миозин киназу лаког ланца и доводи до контракције мишића и вазоконстрикције. Ово се додатно појачава ослобађањем калцијума из саркоплазматског ретикулума. Амлодипин је механизмом дејства усмерен на блокаду ових канала, спречавајући улазак калцијума и доводећи до опуштања глатких мишића крвних судова и вазодилатације и последичног смањења крвног притиска. Такође побољшава функцију ендотела код хипертензивних пацијената (34). Амлодипин примарно делује на нивоу периферне циркулације, иако такође изазива вазодилатацију и у коронарним васкуларним крвним судовима (36).

Амлодипин се апсорбује између 64% и 90%, без обзира на унос хране. Највиши нивои у плазми постижу се између 6 и 12 часова након примене. Постизање стабилних нивоа у плазми захтева 7 до 8 дана свакодневне примене амлодипина. Амлодипин се везује за протеине плазме у високом проценту (93%), а претежно се метаболише у јетри

до неактивних метаболита. Полуживот амлодипина у плазми је бифазан, са терминалним елиминационим полуживотом од отприлике 30 до 50 часова, који је релативно дуг, те омогућава примену лека у једној дневној дози. Код пацијената старије животне доби и са обољењима јетре може се очекивати пролонгација времена полуетиминације, стога треба то имати у виду при администрацији овог лека у наведеним популацијама. Главни пут излучивања је путем бубрега (10% изворног једињења и 60% метаболита излучује се урином) (34, 36).

#### 1.4.1.4 Препоручене дозе

Амлодипин је доступан у формулацији таблета, а терапијски режими дозирања амлодипина који се користе у лечењу хипертензије су приказани у Табели 1.

**Табела 1.** Приказ препоручених доза амлодипина у терапији хипертензије (36)

| Препоручене дозе амлодипина у терапији хипертензије |                           |                            |
|-----------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Група пацијената                                    | Почетна доза              | Максимална дневна доза     |
| Одрасли                                             | 5 mg једном дневно        | 10 mg                      |
| Старији пацијенти                                   | 2,5 mg једном дневно      | 10 mg                      |
| Адолесценти (6 година и старији)                    | 2,5 до 5 mg једном дневно | 5 mg                       |
| Деца (6 година и млађа)                             | 0,05 до 0,2 mg/kg дневно  | 0,3 до 0,6 mg/kg (до 5 mg) |

У случају исхемијске болести срца, хроничне стабилне ангине, Принзметалове ангине и других обољења код којих је индикована терапија амлодипином, обично се почиње дозом од 5 mg до 10 mg једном дневно, док се код старијих и пацијената са мултиплим обољењима обично примењује почетна доза од 5 mg једном дневно, а уобичајена доза је 10 mg једном дневно (34).

Кориговање дозирања се препоручује у случају постојања обољења јетре, као и код пацијената старије животне доби. Посебан опрез захтева истовремена примена амлодипина и кларитромицина или еритромицина, с обзиром да услед инхибиције цитохрома P450 3A4 потенцира се ризик од настанка хипотензије и акутне бубрежне инсуфицијенције. Услед истовремене примене високих доза статина и амлодипина повећан је ризик од испољавања нежељених реакција статина, рабдомиолозе и хепатотоксичности (37, 38).

#### 1.4.1.5 Нежељена дејства амлодипина

Нежељена дејства амлодипина, као и осталих БКК, могу се предвидети на основу њихових фармаколошких карактеристика и могу се груписати у неколико категорија: вазодилатација, гастроинтестинални проблеми, метаболичке реакције и интеракције са другим лековима (39). Вазодилатација може изазвати симптоме као што су главобоља, палпитације, периферни едем и хипотензија. Гастроинтестинална нежељена дејства могу укључивати опстипацију, дијареју и мучнину. Остале пријављене нуспојаве БКК укључују пролазну хипотензију, назалну конгестију и ретке дерматолошке симптоме попут дерматитиса (15, 34). С обзиром да може изазвати и периферни едем, препоручује се прописивање и диуретика у комбинацији са амлодипином (40).

Увећање гингиве као нежељено дејство је често у случају хроничне примене БКК, а процењено је да се јавља у 30-50% пацијената. Први случај увећања гингиве изазваног нифедипином забележен је средином 1980-их (40). Увећање гингиве узроковано амлодипином први пут је примећено 1994. године (41). Нове генерације БКК попут никардипина, фелодипина и нитрендипина такође могу изазвати увећање гингиве (41). Међутим, изузетак је израдипин, који није повезан с овим нежељеним дејством (29). Учесталост увећања гингиве као нежељеног дејства БКК може бити повезано с истовременом применом других лекова, као што су статини (42), а може се јавити и код пацијената којима су уграђени зубни импланти, као и код безубих пацијената (43, 44).

#### 1.5 Увећање гингиве изазвано лековима

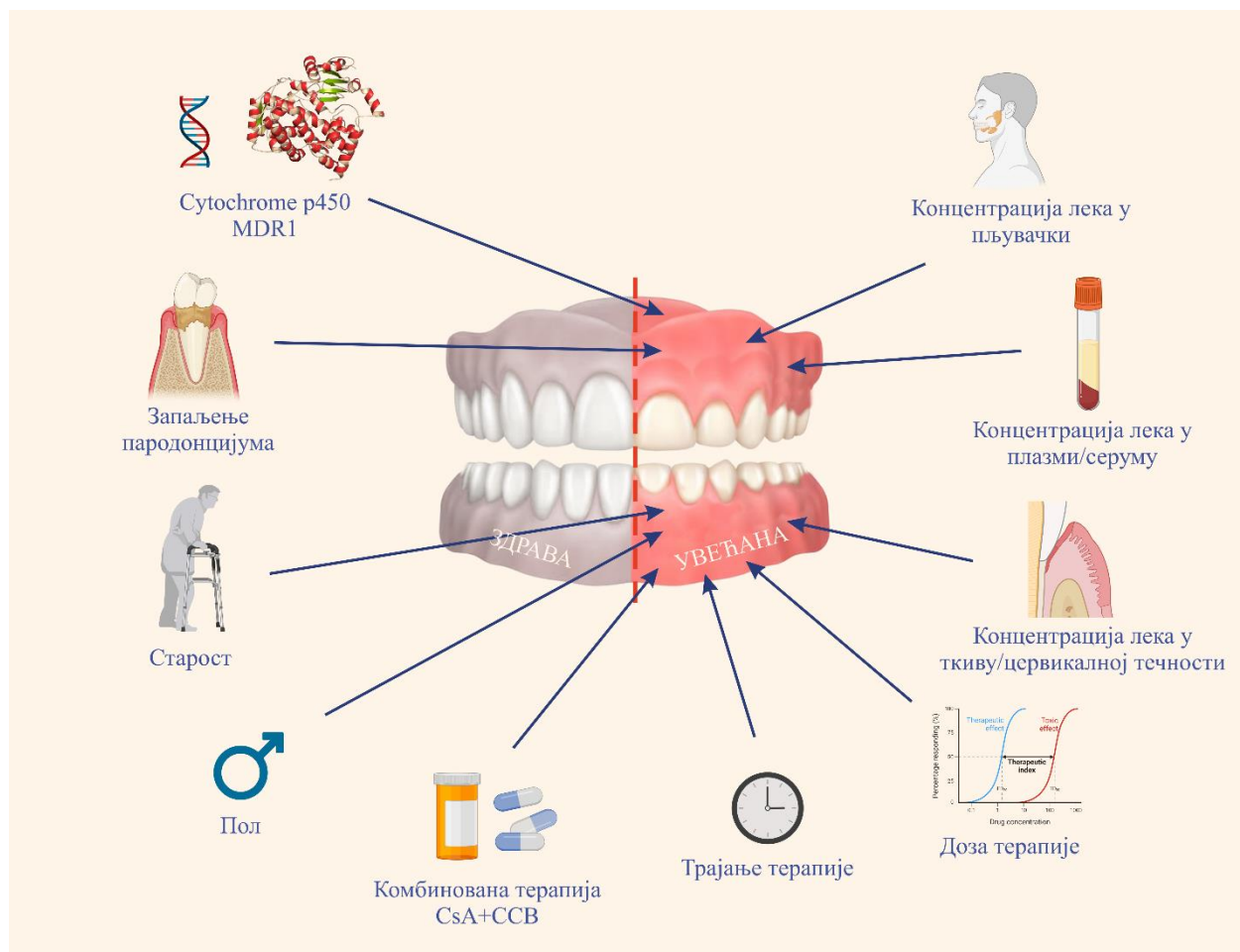
Увећање гингиве је стање које карактеришу промене у величини и структури гингиве и током времена је категорисано у различите врсте, укључујући инфламаторно увећање, увећање повезано са системским болестима, неопластично увећање и увећање гингиве изазвано лековима, а на основу етиолошких фактора (45). Почетне термине „хиперплазија гингиве“ и „хипертрофија гингиве“ је касније заменило „увећање“ због бољег разумевања патогенезе и хистолошких карактеристика (29, 46). DIGE се обично манифестује у прва три месеца терапије и углавном захвата предње делове вилица (47). Фактори ризика за DIGE се могу груписати у генетске, систематске, локалне и на факторе ризика у вези са леком (29). Слично другим нежељеним дејствима лекова у усној дупљи, као што су сувоћа уста или дисгеузија, DIGE значајно утиче на квалитет живота пацијената и требало би га препознати и посветити му одговарајућу пажњу. Иако представља значајан терапијски изазов повезан са различитим класама лекова, често остаје недовољно препознат и неадекватно евалуиран у клиничкој пракси.

### 1.5.1 Преваленција и епидемиологија

Литературни подаци указују да тачно одређивање преваленције DIGE представља изазов због различитих фактора, укључујући недостатак пријављивања и занемаривања овог нежељеног дејства, различите индексе за процену увећања гингиве, фокус на хоспитализоване пацијенте наспрам пацијената у амбулантама, обољења због којег пацијент узима одређени лек, узраст пацијента, комбиновану терапију, редовне стоматолошке прегледе и слично (46, 48). Први случајеви DIGE изазваних БКК-овима датирају из 1980-их година, а резултати епидемиолошких студија указују на широке опсеге преваленције овог нежељеног дејства који се крећу од 20% до 83% (49-52). Подаци из литературе указују да је најчешће узроковано нифедипином (15-85%). Насупрот томе, дилтиазем (2.2%) и амлодипин (31.4%) мање су склони изазивању овог нежељеног дејства (45, 49, 53). Ова различита склоност лекова из исте групе да изазову ову нуспојаву објашњава се фармакокинетиком лекова, односно тиме да је нифедипин липофилнији и брже пролази кроз ћелијске мембране, док амлодипин то не може без активног транспортног механизма. Додатно, краћи полуживот нифедипина омогућава му да достигне потребне нивое у плазми за иницирање настанка увећања гингиве, док продужено време полуетиминације амлодипина ( $T_{1/2} = 34$  сата) и стабилни нивои у плазми смањују овај ризик (49, 53, 54).

### 1.5.2 Фактори ризика

Увећање гингиве услед примене лекова не јавља се код свих пацијената који узимају БКК, а преваленција и озбиљност клиничких манифестација могу варирати од пацијента до пацијента. Због тога се, поред природе лека, могу идентификовати фактори ризика или фактори који могу предиспонирати појединце за испољавање ове нежељене реакције (Слика 1) (55).



**Слика 1.** Схематски приказ фактора ризика за настанак амлодипином изазваног увећања гингиве

Што се тиче узраста пацијената који су на хроничној терапији БКК, он не може бити опште прихваћен фактор ризика, с обзиром на то да се ови лекови обично прописују средовечној популацији и старијим особама. Иако су нека истраживања сугерисала узраст као потенцијални фактор ризика, то се углавном односи на случајеве комбиноване терапије БКК и циклоспорином (49, 55).

Међутим, пол може одиграти улогу у смислу да се ово нежељено дејство чешће јавља код мушкараца, преко три пута чешће, што је повезано с потенцијалним постојањем прага у серуму за иницијацију нежељеног дејства, а овај праг је нижи код мушкараца. Такође, показано је да нифедидин доводи до конверзије тестостерона у активни метаболит који стимулише фибробласте. Студије на анималним моделима

такође су указале на то да су мужјаци подложнији увећању гингиве у односу на женке (49, 54, 55). Такође, начин живота и навике које су типичне за особе мушког пола могу бити повезани са већим ризиком, посебно у контексту фактора ризика који су већ идентификовани у случају хипертензије (пушење, конзумација алкохола, *Diabetes mellitus*) (29, 56).

Дентални плак је један од главних узрочника свих инфламаторних пародонталних обољења, а доказано је да његово присуство погоршава лезије гингиве изазване лековима. Лоша орална хигијена је повезана са озбиљношћу ових промена, а дентални плак се сматра релевантним ко-фактором у развоју овог нежељеног ефекта (55-58). Међутим, још увек није потпуно утврђено да ли је дентални плак само фактор предиспозиције, или се његова количина повећава услед постојећих промена на гингиви које ометају добру оралну хигијену (лажни, односно гингивални џепови - псеудоџепови) (55). Прва хипотеза се подупире чињеницом да је DIGE локализован претежно у регијама где постоје природни зуби, а где је неизбежно присутна одређена количина денталног плака (29, 57). Фактори ризика за DIGE такође могу укључивати локалне факторе који фаворизују акумулацију плака, као што су неправилан положај зуба, неодговарајући зубни испуни и протетске рестаурације, као и присуство зубног каменца (29, 59). Реакција домаћина на дентални плак може бити појачана његовом реакцијом на лек и обрнуто. На пример, БКК могу смањити лучење пљувачке, што даље фаворизује акумулацију плака и инфламацију и тиме повећавају ризик за настанак увећања гингиве (29). Такође је важно напоменути да нифедипин постиже веће концентрације у инфламираном гингивалном ткиву, директно утичући на кератиноците (60, 61). Поред тога, и даље не постоји довољно информација да ли лоше навике пацијената, попут пушења, дисања на уста, бруксизма, конзумирања алкохола и осталих, утичу на повећан ризик за настанак овог нежељеног дејства, иако резултати претходних истраживања сугеришу да је то могуће (62).

Схема дозирања лека се сматра неадекватним предиктором промена у гингиви, а поузданије је узети у обзир телесну масу пацијента при одређивању дозе зависности овог нежељеног дејства. Претходна истраживања сугеришу да постоји специфична концентрација лека у серуму испод које не долази до ових промена, али да је та концентрација индивидуална и варира од особе до особе (55, 63-65). Литературни подаци показују да није примећена значајна разлика у озбиљности увећања гингиве при примени различитих доза лекова, иако редукција увећања гингиве може наступити након смањења дозе (65). Нифедипином-индуковано увећање гингиве примећује се при дозама од 5 mg/дан, 10 mg/дан или 20–40 mg/дан, док амлодипин може изазвати ову појаву чак и при дозама од 2,5 mg/дан током дужег периода (29, 56, 60, 66, 67). Што се тиче дужине примене лека, показано је да продужено лечење може повећати изложеност ћелија леку, модификовати апоптозу и довести до повећане виталности и раста ћелија које су одговорне за настанак увећања гингиве (60, 68).

Иако недовољно истражена, генетска предиспозиција се сматра једним од фактора ризика за развој DIGE. Будући да се БКК метаболизују путем цитохрома P450 3A4, верује се да полиморфизми гена за цитохром P450 3A4, који утичу на активност ензима, могу представљати специфичне индивидуалне факторе ризика за DIGE (53, 55). Као последица, чак и уз исту дозу лека, варијације у функцији ензима могу довести до различитих концентрација лека у серуму и ткиву, што може објаснити зашто само одређени пацијенти развију DIGE (29, 40, 56). Поред тога, недавна сазнања сугеришу да

полиморфизми у гену за вишеструку антимикуробну резистенцију (енг. *multidrug resistance* - MDR 1) могу модификовати инфламаторни одговор на присуство ових лекова (53, 60, 69).

### 1.5.3 Патогенеза

Литературни подаци указују да тачан узрок и механизам настанка увећања гингиве изазвано амлодипином још увек нису у потпуности разјашњени (70). Током година и као резултат бројних истраживања, појавиле су се одређене предложене теорије и потенцијални механизми настанка (70).

Хистолошке анализе ткива гингиве увећане под дејством лекова указују на различите структуралне промене у зависности од примењене фармаколошке групе (70). На пример, антиконвулзивни лекови попут фенитоина доводе до фиброзе, лекови за имуносупресију углавном имају запаљенску компоненту, док антихипертензивни лекови попут блокатора канала за калцијум канала често изазивају комбинацију ових промена (70).

Најчешћи налаз који стоји у основи увећања гингиве изазваног лековима је фиброза, тј. повећана продукција екстрацелуларног матрикса везивног ткива у којем преовладавају колагена влакна (50, 57, 71-74). Синтеза колагена одвија се под контролом матрикс металопротеиназа (ММП) и ткивних инхибитора матрикс металопротеиназа (ТИМП), док разградња колагена настаје путем колагеназа (екстрацелуларни пут) или фагоцитозе (интрацелуларни пут). БКК утичу на метаболизам калцијума смањењем уноса  $\text{Ca}^{2+}$ , што доводи до смањења уноса фолне киселине у ћелије (50, 57, 71-74). То резултира повећањем концентрације ТИМП, која смањује концентрацију ММП неопходних за активацију колагеназе, чиме се спречава разградња колагених влакана и долази до њиховог нагомилавања (50, 57, 71-74). Други предложени механизам укључује повећану продукцију екстрацелуларног матрикса због присутности гликозаминогликана (50, 57, 71-74).

Постоје и теорије о генетској предиспозицији пацијената за појаву овог нежељеног ефекта, укључујући полиморфизме гена за цитохром P450 3A4, хумани леукоцитни антиген и MDR 1 ген (53, 55, 60, 69, 75).

Осим тога, лекови који изазивају увећање гингиве покрећу репаративне процесе у гингивалном ткиву уз присуство инфламације (72, 76, 77). Другим речима, секундарна инфламација изазвана лековима је можда неопходна за почетак процеса фиброзе, али не и за даљу прогресију. Одређени репаративни и пролиферативни фенотипови макрофага и проинфламаторни цитокини, као што су интерлеукин 1 $\beta$  (енг. *interleukin 1\beta*, IL-1 $\beta$ ) и интерлеукин 6 (енг. *interleukin 6*, IL-6), су повећани у присуству овог нежељеног ефекта, што указује на запаљенску компоненту (72, 76, 77). Ови фактори вероватно имају синергистички ефекат делујући на фибробласте и стимулишући формирање колагених влакана и синтезу гликозаминогликана (35, 72, 78). У случају увећања гингиве изазваног амлодипином, приметно је повећање синтезе онкопротеина Б-ћелијског лимфома 2, што инхибира апоптозу кератиноцита (5, 74).

је и место где се јавља најизраженије DIGE (72, 79, 80). Због своје структуре и сталног излагања факторима који погоршавају инфламацију, на овом месту се налази неколико молекула које учествују у процесу зарастања рана, као што су површински рецептори, проколаген типа 1, фибронектин, гликозаминогликани и фактори раста. У развоју DIGE, и даље је нејасно да ли дисбаланс цитокина пружа значајан допринос (43, 79, 80).

Утицај андрогена на патогенезу DIGE потврђује се чињеницом да постоји више андрогених рецептора у гингивалном ткиву пацијената са овим нежељеним ефектом (53, 81). Такође, нифедипин директно стимулише конверзију тестостерона у активни метаболит 5 $\alpha$ -дихидротестостерон, који даље делује на одређене субпопулације фибробласта, стимулишући производњу колагена или спречавајући њихову разградњу (29, 45, 49, 57).

Један од новијих аспеката у разматрању патогенезе DIGE је оксидативни стрес (72). Показано је да су реактивне кисеоничне врсте (енг. *Reactive Oxygen Species* - ROS) и промењен оксидативни статус уско повезани са напредовањем фиброзових промена, а њихово повећање доводи до стабилизације екстрацелуларног матрикса и повећане отпорности на разградњу (72). Новија студија сугерише да лекови који изазивају овај ефекат могу повећати производњу ROS-а, као и да поремећај антиоксидативног статуса учествује у прогресији DIGE (82).

#### 1.5.4 Клиничка слика

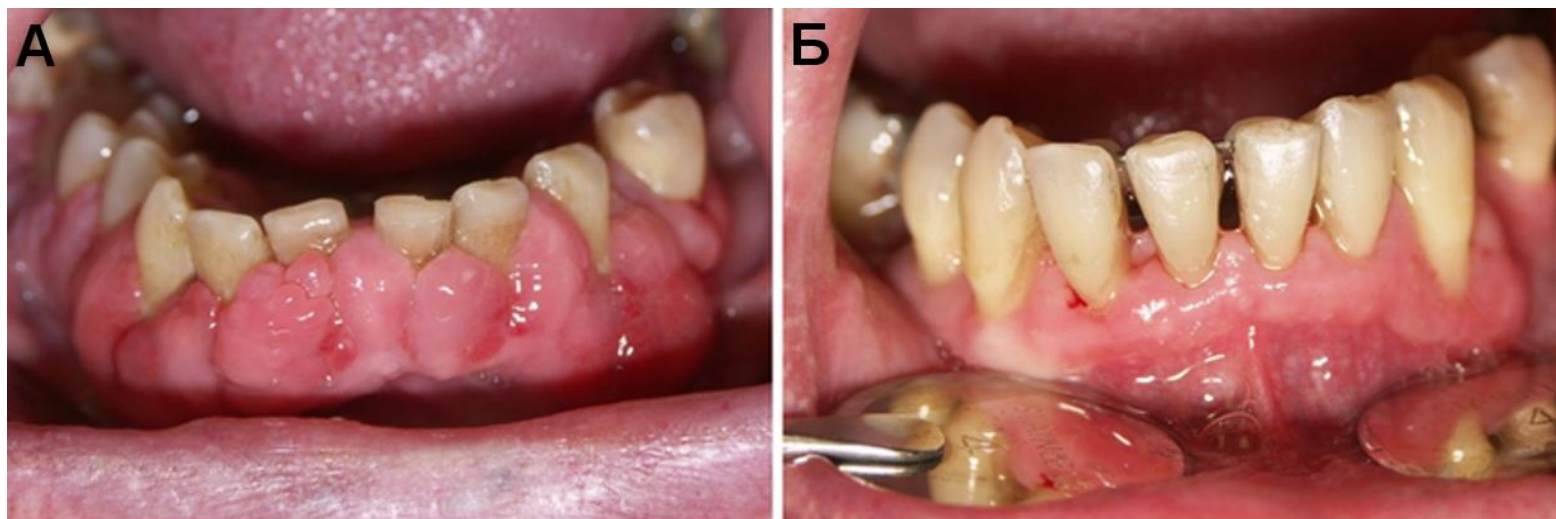
Увећање гингиве изазвано лековима се обично манифестује између трећег и шестог месеца од почетка терапије, постепено напредује, а стабилизује се и достиже плато фазу између деветог и дванаестог месеца примене лека (22, 57, 72, 82). Ово увећање може бити генерализовано или локализовано, али се најчешће јавља на лабијалној површини гингиве предњих зуба. То се може објаснити већом изложеношћу ове регије гингиве иритирајућим факторима и денталном плаку (29, 53, 72, 82). Иницијално, долази до нодуларног задебљања интерденталне папиле (хоризонтална компонента), које се касније шири кранијално (вертикална компонента) и може покрити читаву површину клиничке круне зуба. Како болест напредује, могу бити захваћене и друге површине гингиве, укључујући и фиксну гингиву. Као резултат тога, цела површина гингиве добија лобуларни изглед (22, 29, 53, 57, 72, 82).

У блажим случајевима, пацијенти обично не осећају бол, али нелагодност током мастикације се може јавити у тежим случајевима (29, 67). У почетку је гингива светло розе боје, лобуларна и задебљана, а крварење се не јавља ни на провокацију. Међутим, због развоја лажних (гингивалних) џепова и отежаног одржавања хигијене у тим подручјима, обично се убрзо јавља и инфламација гингиве. Као последица тога, боја гингиве обично постаје црвена или плаво-црвена, површина постаје глатка и јавља се склоност ка крварењу (29, 53, 57, 83). У зависности од озбиљности и прогресије болести, пацијенти се могу суочити са естетским проблемима, потешкоћама у говору и жвакању, сталним осећајем присуства страног тела између зуба и лошим задахом, што значајно утиче на њихов квалитет живота (29, 53, 57, 60).

Настанак увећања гингиве промовише накупљање денталног плака, што погоршава клиничку слику DIGE, а компоненте и одговор домаћина на дентални плак погоршавају клиничку слику DIGE, чиме настаје перпетуирајући циклус (72). Као

последица лоше хигијене, могу се јавити инфламација, каријес и обољења пародонцијума, што на крају доводи до губитка кости и зуба (29, 53, 60). Повећани потенцијал акумулације денталног плака такође може имати и системске ефекте, и тиме повећати ризик од кардиоваскуларних компликација код пацијената који узимају БКК (55).

Патохистолошки, DIGE се карактерише паракератозом сквамозног епитела са акантозом и издуженим епителним гребенима. У ламини проприји везивног ткива примећене су различите врсте фибробласта, повећана васкуларизација, инфилтрација различитим ћелијама запаљења (претежно плазмоцитима и у мањој мери лимфоцитима), као и акумулација протеина екстрацелуларног матрикса, као што су колаген, аморфна основна супстанца и гликозаминогликани (29, 57, 43, 83-84). Ткиво гингиве се више увећава на рачун везивног ткива, него што је присутна пролиферација епитела, због чега је термин „гингивална хиперплазија“ замењен, јер не одговара променама које се дешавају у гингивалном ткиву (22, 29, 57, 83).



**Слика 2.** Приказ увећања гингиве изазваног амлодипином (А) и након престанка примене лека (Б)

### 1.5.5 Терапија

Узевши у обзир предложене механизме настанка овог нежељеног ефекта, оптималан приступ терапији подразумева замену лека који је изазвао DIGE неким од лекова из друге категорије антихипертензива, као што су бета блокатори, диуретици или инхибитори ангиотензин-конвертујућег ензима, који нису повезани са овим нежељеним дејством (22, 53, 57, 85-87). Друга опција је разматрање прописивања израдипина или верапамила, који су показали много нижу инциденцу овог нежељеног дејства у претходним студијама (35, 85, 87). Међутим, важно је напоменути да када је хипертензија ефикасно контролисана леком који узрокује DIGE, замена лека алтернативом која показује мању инциденцу ка изазивању овог нежељеног дејства може бити препозната као неодговарајућа мера како са аспекта пацијената тако и са аспекта ординирајућих лекара, што представља својсврсни изазов у овом терапијском приступу (53, 57). Такође,

важно је напоменути да су рецидиви након хируршког и конзервативног лечења чести код пацијената који нису укинули терапију леком, као и код оних који имају лошу оралну хигијену (57, 87).

Поред прекида терапије, једна од иницијалних терапијских стратегија требало би да укључи елиминацију денталног плака, узевши у обзир његову потенцијалну улогу у патогенези овог нежељеног дејства и његов утицај на погоршање клиничке слике (22, 53, 87, 88). Стога је конзервативно лечење неопходно, укључујући темељно чишћење зуба, скалирање и планирање корена, као и обуку и мотивацију пацијента за одржавање правилне оралне хигијене (22, 29, 57, 87, 89, 90). Комбинација редовног професионалног уклањања зубног плака и добре оралне хигијене у кућним условима може довести до побољшања клиничке слике увећања гингиве и општег побољшања оралног здравља, чиме се смањује ризик од губитка припоја епитела услед повећане акумулације бактеријског биофилма повезаног са лажним џеповима (22, 29, 57, 87). Ове мере су такође кључне за спречавање рецидива (29, 87, 90).

Међутим, у многим случајевима, упркос промени терапије и примени конзервативног лечења, DIGE и даље перзистира и захтева хируршку интервенцију, као што су гингивектомија, гингивопластика или режањ операција (22, 53, 87, 88). Хируршки поступци подразумевају уклањање вишка ткива, елиминацију псеудоџепова, враћање контуре, изгледа и функције ткива гингиве. Након хируршког захвата, пацијенти буду у могућности да ефикасно одржавају оралну хигијену, што је неопходно за спречавање рецидива (57, 88). Употреба ласера на бази угљен-диоксида је погодна опција у овим случајевима због прецизности у формирању правилног и прецизног реза, побољшаног хемостатског и антимикуробног ефекта, минималног едема и постоперативног бола, као и сувог оперативног поља и боље видљивости (22, 29, 53, 57, 91, 92). С обзиром на најновија истраживања која указују на потенцијалну улогу ROS-а у патогенези овог нежељеног дејства, у будућности би једна од могућих превентивних и терапијских метода могла бити и примена витамина Е (82).

Нажалост, стопа рецидива остаје висока, износећи 40% у првих 18 месеци након третмана (22, 53, 57, 87), што ово нежељено дејство чини озбиљним терапијским изазовом. Кључни фактори ризика за појаву рецидива укључују млађи узраст пацијената, инфламацију гингиве и нередовне посете стоматологу (22, 29, 92, 93). Литературни подаци истичу значај редовне употребе раствора на бази хлорхексидина (0,12%) након хируршког захвата која доприноси спречавању рецидива инхибирањем акумулације денталног плака и гингивитиса (22, 91, 94).

## 1.6 Квалитет живота пацијената – концепт и инструменти за мерење

У светлу еволуирајућег медицинског приступа који сагледава социјалне и психолошке аспекте здравља, све више се наглашава значај мера које узимају у обзир како животну доб тако и квалитет живота пацијената (95). СЗО дефинише квалитет живота као „перцепцију појединаца о њиховој животној ситуацији у контексту културе и система вредности у којем живе, у вези са њиховим циљевима, очекивањима, стандардима и бригама“ (96). Концепт квалитета живота се односи на глобалну личну процену једне димензије живљења која је у узрочно последичном односу са низом других димензија живљења и у литератури се често<sup>24</sup>писује као једнодимензионални концепт који је завистан од вишеструких узрока. У складу са оваквим тумачењем квалитета

живота истиче се значај читавог спектра људског искуства, стања, перцепција, мишљења на живот појединца али и заједнице као да и у процени квалитета живота, било објективној или субјективној, у обзир треба узети утицај културолошких, физичких, психолошких, друштвених, религијских, финансијских, политичких, временских и филозофских аспеката (97, 98). У теоретском смислу широк је дијапазон домена и компоненти које чине концепт квалитета живота који обухвата функционалну способност (физичке активности и уверења о постигнућу), степен и квалитет социјалних интеракција, психичко благостање, соматске сензације, срећу, животне ситуације, задовољство животом и потребу за задовољством. (99). Узевши у обзир све наведено, квалитет живота јесте сложена целина коју чине субјективне и објективне димензије међусобно интерагујући, а која је процењена из перспективе пацијента при чему је процена најчешће посредована когнитивним факторима. Квалитет живота се може процењивати у свеобухватном, ширем смислу када говоримо о глобалном квалитету живота као и у односу на „физичке, психолошке и социјалне области здравља у које су уграђена лична искуства, очекивања, перцепције, ставови“ (96, 100).

Квалитет живота повезан са здрављем (енг. *health-related quality of life* - HRQoL) представља меру укупног благостања појединца и служи као ефикасан показатељ потенцијалних здравствених бенефита које произилазе из различитих интервенција (95). Једна од првих дефиниција HRQoL указује на потребу кориговања трајања живота вредностима које рефлектују степен оштећења, дисфункционалности, перцепције и друштвених прилика насталих као последица болести, повреде лечења или здравствене политике. HRQoL осликава ставове пацијената о актуелном нивоу функционисања и задовољства истим у односу на оно што они сматрају идеалним односно указује на то како појединац перципира манифестацију болести или лечења исте. Процена здравственог статуса укључује лична искуства која су под утицајем примењених интервенција здравствене заштите као и промене настале као последица природног тока болести. У актуелној научној литератури HRQoL је представљен као мултидимензионални концепт који обухвата функционисање у оквиру најмање три домена – физичког, психолошког и социјалног на које утиче нечија болест и/или лечење болести. Функционисање у оквиру физичког домена се најчешће односи на способност обављања физичких активности или постојање соматских симптома у склопу болести и/или лечења болести. Функционисање у оквиру психолошког домена обухвата когнитивно функционисање и функционисање у распону од тешког психичког стреса до осећаја благостања. Друштвено функционисање сагледава квантитативне и квалитативне аспекте друштвених односа, интеракција и друштвених интеграција (101). Значај процене HRQoL лежи у разумевању здравственог стања пацијента и прогресије болести, што доводи до унапређења укупне неге пацијената и њене организације (100), и стога је од суштинског значаја користити поуздане и ефикасне алате за процену ових параметара.

У протеклим деценијама, преваленција хроничних болести и стања је порасла услед промена у начину живота, напретка медицинске технологије и старења популације. Утицај хроничних болести и стања на квалитет живота је значајан. Хроничне болести својом динамиком и прогресијом најчешће захтевају дуготрајно медицинско лечење, а често и мултидисциплинаран приступ. Оваква стања често доводе до ограничења у функционалности, продуктивности и општем здрављу, значајно утичући на квалитет живота пацијента (100).

Утицај оралног здравља у погледу целокупног концепта квалитета живота је препознат као значајан у актуелној научној литератури и саставни је део здравствених стратегија које су садржане у документу назива *Global Oral Health Programme* који је 2003. године приредила СЗО. Квалитет живота повезан са оралним здрављем (енг. *Oral health-related quality of life* - OHRQoL) представља вишедимезионални конструкт који обухвата субјективну процену оралног здравља појединца, функционалног и емоционалног благостања, очекивања и задовољства која се односе на негу, као и осећај самосвести (102).

Важно је напоменути и да орално здравље има значајан утицај на целокупан квалитет живота пацијената, јер проблеми који се односе на орално здравље могу проузроковати потешкоће у обављању свакодневних функција од виталног значаја, као што су отежано жвакање, гутање, говор, измењено чуло укуса, осећај сувих уста, жарења и печења, и многе друге. Све то последично може довести до губитка телесне тежине, инсомније, анксиозности, иритабилности, смањене функционалности и смањеног самопоуздања (103).

Концепт квалитета живота у вези са оралним здрављем захтева разматрање не само фактора попут малаксалости, бола или функционалних проблема, већ би требало обухватити и емоционалне, естетске и социјалне аспекте повезане са оралним здрављем (103).

Орално здравље представља значајну компоненту у општем квалитету живота људи, са важним импликацијама на њихово здравствено стање. Подаци из литературе указују да губитак зуба може утицати на развој депресивности како због редукције функционалности оралне регије тако и због проблематике која се односи на естетски домен. Ова тумачења треба сагледати и из перспективе пацијената и социо-економских разлика. Исти губитак за друге пацијенте, обично са ниским социјално-економским статусом, представља неизбежну стварност која се може приписати и природним узроцима попут трудноће. Важно је напоменути да и пацијенти ниског социјално-економског статуса могу осећати срам због безубости, посебно када се изгубљени зуб налази у фронталној регији и угрожава изглед пацијената (103).

Најраспрострањенија орална обољења су каријес и пародонтопатија која изазивају не само физичке, већ и економске, социјалне и психолошке последице, односно могу утицати на смањење квалитета живота пацијената. Бол, нелагодност, ограничења и друге појаве проистекле из естетских последица који утичу на друштвени живот, исхрану, свакодневне активности и добробит појединаца, често су резултат оралних обољења са негативним импликацијама на целокупан квалитет живота пацијената, што указује да је орално здравље са својим последицама релевантан фактор у процени свеобухватног квалитета живота, као и начин на који појединац перципира орално здравље у свим његовим сегментима (103).

Из перспективе промоције здравља, повезаност између оралног здравља и квалитета живота изазива потребу за опрезом код доктора стоматологије због важности оралних обољења и оралних манифестација системских болести и физичких и психосоцијалних утицаја које могу имати на животе појединаца. Процена квалитета живота у вези са оралним здрављем представља одличан инструмент за дијагнозу, планирање терапије и прогнозу обољења<sup>23</sup> омогућавајући чак предвиђање нивоа посвећености пацијента терапији или чак прилагођавање плана терапије перцепцијама и

очекивањима пацијента, што би на крају могло позитивно утицати и на исход терапије. Сваки доктор стоматологије би требало да настоји да примени упитник како би проценио квалитет живота пацијента. Овај поступак је брз и једноставан, а пружене информације су изузетно важне за правилан развој односа између професионалца и пацијента (103).

Иако већина оралних обољења, као ни оралних манифестација системских болести, па ни нежељених дејства лекова који се манифестују у усној дупљи, не представља непосредну опасност по живот, одговорне су за смањење квалитета живота појединаца, јер продужавају стања бола или непријатности, узрокујући функционалне, естетске, нутритивне и психолошке проблеме. Требало би унапредити акције усмерене на образовање о здрављу с нагласком на самоперцепцији, превенцији и оралној хигијени, као и подићи свест и здравствених професионалаца и пацијената о утицају оралних обољења и других оралних манифестација на целокупан квалитет живота појединаца. Такође, здравственим стратегијама из области јавног здравља би требало подићи свест и здравствених професионалаца и пацијената, о утицају оралних обољења и других оралних манифестација на целокупан квалитет живота појединаца и едуковати их о примени општих и специфичних упитника који се могу користити у циљу процене квалитета живота у свакодневном раду са пацијентима (103).

С обзиром на сложену природу концепта, процена квалитета живота је комплексна активност која захтева више начина за обухватање субјективности и вишедимензионалности. Разни инструменти су развијени за мерење наведених домена, додајући субјективне параметре који се сматрају неопходним за свеобухватну процену квалитета живота пацијената. Најчешће коришћени инструменти су или општи, који пружају свеобухватну процену утицаја здравственог стања, или специфични, намењени мерењу одређених аспеката квалитета живота у вези са специфичним обољењима, као што је квалитет живота повезан са оралним здрављем, визуелном функцијом, карциномима, ХИВ-ом и другим обољењима и аспектима (104).

## **2. Циљеви и хипотезе**

## Главни циљеви истраживања

Примарни циљ овог истраживања био је усмерен на одређивање фактора повезаних са настанком увећања гингиве код пацијената који су били на хроничној терапији амлодипином.

Додатни циљеви су били:

- 1) Процена и упоређење квалитета живота код пацијената са и без увећања гингиве који су били на хроничној терапији амлодипином применом *Oral Health Impact Profile* (OHIP-14) скале и *Questionnaire for measuring health-related quality of life* (HRQoL) *in adults residing in western Balkan states* (WB-HRQoL)
- 2) Процена и упоређење клиничког налаза код пацијената са и без увећања гингиве који су били на хроничној терапији амлодипином
- 3) Процена и упоређење параметара оксидативног стреса из узорка ткива гингиве, и то колориметријским одређивањем:
  1. Супероксид дизмутаза (*Superoxide dismutase - SOD*)
  2. Каталаза (*Catalase - CAT*)
  3. Малондиалдехида (*Malondialdehyde - MDA*).
- 4) Патохистолошка анализа архитектуре гингивалног ткива
  1. Процена структуре и типова колагених влакана
- 5) Анализа експресије гена који кодирају молекуле који могу учествовати у процесу увећања гингиве:
  1. Интерлеукина-6 (*Interleukin 6 - IL-6*)
  2. Фактора некрозе тумора алфа (*Tumor necrosis factor alpha - TNF-α*)
  3. Интерлеукина-33 (*Interleukin 33 - IL-33*)
  4. Рецептора ST2 (*Suppression of tumorigenicity 2 receptor – ST2*)
  5. Трансформишућег фактора раста бета 1 (*Transforming growth factor beta 1 - TGF-β1*)
  6. Фактора раста везивног ткива (*Connective tissue growth factor - CTGF*)
  7. Фактора раста фибробласта (*Fibroblast growth factor – FGF-2*)
  8. Васкуларног ендотелијалног фактора раста (*Vascular endothelial growth factor – VEGF-C и VEGF-D*)
  9. Фактора раста кератиноцита (*Keratinocyte growth factor - KGF*)
  10. Епидермалног фактора раста (*Epidermal growth factor - EGF*)

**Радне хипотезе истраживања**

- 1) Квалитет живота је нижи код пацијената на хроничној терапији амлодипином са развијеним увећањем гингиве;
- 2) Клинички статус на нивоу оробукалне слузнице и гингиве је значајно тежи код пацијената на хроничној терапији амлодипином са развијеним увећањем гингиве;
- 3) Параметри оксидативног стреса су значајно повишени у групи пацијената на хроничној терапији амлодипином са развијеним увећањем гингиве;
- 4) Експресија молекула од интереса (IL-6, TNF- $\alpha$ , FGF-2, VEGF-C, VEGF-D, TGF- $\beta$ 1, CTGF, ST2, KGF, EGF, IL-33 и ST2) се значајно разликује код пацијената на хроничној терапији амлодипином са развијеним увећањем гингиве.

# **3. Материјал и методе**

### 3.1 Врста студије

Дизајн овог истраживања је подразумевао спровођење студије пресека, у оквиру рутинске клиничке праксе, која у фокусу има испитивање фактора повезаних са настанком увећања гингиве код адултне популације на хроничној терапији амлодипином.

### 3.2 Популација која се истражује

Дизајн студије је укључивао две групе пацијената. Прва група су били пацијенти који представљају „случајеве“, док су другу групу чинили пацијенти који су „контролна“ група.

У оквиру групе пацијената који чине „случајеве“ су биле две групе пацијената:

- 1) У првој групи су били пацијенти који имају развијено увећање гингиве и узимају лек амлодипин
- 2) У другој групи су били пацијенти који имају развијено увећање гингиве и не узимају лек амлодипин

У оквиру „контролне“ групе су биле две групе пацијената:

- 3) У првој групи су били пацијенти који немају развијено увећање гингиве и узимају лек амлодипин
- 4) У другој групи су били пацијенти који немају развијено увећање гингиве и не узимају лек амлодипин

### 3.3 Узорковање

Узорковање испитаника је извршено из популације адултних пацијената оба пола са дијагнозом хипертензије, који су лечени амлодипином најмање 6 месеци, а који су одговарали укључујућим критеријумима. Клиничку евалуацију сваког пацијента је спровео главни истраживач, како би се утврдило постојање укључујућих и искључујућих критеријума. Уколико су пацијенти испуњавали критеријуме за учешће у истраживању, били су укључени до броја који је утврђен статистичким тестовима за процену снаге студије.

#### Критеријуми за укључивање испитаника

- 1) Адултни пацијенти, оба пола који се у последњих 6 (и дуже) месеци се лече амлодипином
- 2) Присуство зуба – најмање 12 зуба (присуство свих предњих зуба)
- 3) Пацијенти којима је индикована хируршка интервенција због увећања гингиве (гингивектомија, гингивопластика)
- 4) Пацијенти који немају увећање гингиве, а којима је индикована хируршка интервенција због другог патолошког процеса у усној дупљи (хируршка екстракција импактираних трећих молара, хируршка екстракција заосталих коренова, ослобађање клиничке круне...)

#### Критеријуми за искључивање испитаника

- 1) Труднице
- 2) Особе које су примале антибиотску терапију у последња 3 месеца од почетка истраживања
- 3) Особе са нерегулисаним *Diabetes mellitus*-ом и другим системским болестима
- 4) Активни пушачи
- 5) Комбинована терапија лековима који доводе до овог нежељеног дејства (на пример амлодипин и циклоспорин А)

Сви пацијенти који су били учесници истраживања су пре уласка у истраживање потписали добровољни пристанак уз потпуну обавештеност. Ова студија је добила одобрења за спровођење од стране Етичког одбора Универзитетског клиничког центра Крагујевац (број одлуке: 01-22-390), Дома здравља Крагујевац (број одлуке: 01-334414) и Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (број одлуке: 01-13571).

### 3.4 Варијабле које су мерене у студији

#### Независне

- 1) Примена лека амлодипин
- 2) Плак индекс по *Sillnes Löu*-у
- 3) Индекс крварења процењен употребом *Papillae Bleeding Index*-а
- 4) Вредност нивоа припојног епитела
- 5) Ниво SOD у узорку ткива гингиве
- 6) Ниво CAT у узорку ткива гингиве
- 7) Ниво MDA у узорку ткива гингиве
- 8) Експресија IL-6 у узорку ткива гингиве
- 9) Експресија TNF- $\alpha$  у узорку ткива гингиве
- 10) Експресија FGF-2 у узорку ткива гингиве
- 11) Експресија VEGF-C у узорку ткива гингиве
- 12) Експресија VEGF-D у узорку ткива гингиве
- 13) Експресија TGF- $\beta$ 1 у узорку ткива гингиве
- 14) Експресија CTGF у узорку ткива гингиве
- 15) Експресија KGF у узорку ткива гингиве
- 16) Експресија EGF у узорку ткива гингиве
- 17) Експресија IL-33 у ткиву гингиве

18) Експресија ST2 у узорку ткива гингиве

19) Структура и тип колагених влакана

#### Зависне

- 1) Увећање гингиве које је евалуирано помоћу индекса за одређивање увећања гингиве
- 2) Квалитет живота процењен применом скала OHIP-14 (105) и WB-HRQoL (106)

#### Збуњујуће

- 1) Пол
- 2) Старост
- 3) Конкомитантна терапија
- 4) Присуство коморбидитета мерено применом упитника *Charlson Comorbidity Index* (CCI) (107)
- 5) Навике пацијената

Када је било потврђено да пацијенти испуњавају критеријуме за укључивање у студију, након добровољног потписивања информисаног пристанка, сви испитаници су били евалуирани применом:

- 1) Општег упитника у циљу прикупљања података о социодемографским карактеристикама пацијената (пол, старост, навике); клиничким подацима (болест због које је уведен амлодипин, колико дуго узима амлодипин, у којој дози узима прописану терапију, да ли има крварење, бол, пецкање, жарење, навике-пушење, дисање на уста, бруксизам, присуство зубних надокнада, податке о коморбидитетима, податке о конкомитантној терапији)
- 2) Попуњавањем OHIP-14 и WB-HRQoL скала и ради утврђивања квалитета живота, за које су добијена одобрења за употребу
  - ❖ Добијено је одобрење аутора за коришћење српске верзије упитника за OHIP-14, који се састоји од 13 питања. Упитник обухвата део који се тиче оралног функционисања, укључујући проблеме као што су потешкоће приликом мастикације, отежан говор, постојање болова и ограничен избор хране. Такође, упитник садржи и део који вреднује психички одговор пацијената на те тегобе, укључујући ограничења у функционисању и осећаја непријатности као последицу проблема у вези са оралним здрављем. Такође, у упитнику се оцењује и део који се односи на социјалне последице, које настају због целокупног утицаја оралних тегоба на целокупно благостање пацијената. Одговори на питања се градирају од 0 до 4, у зависности од тога у којој је одређена тегоба утицала на испитанике према њиховој субјективној процени („уопште не“ – 0, ретко – 1, „често“ – 2, „веома често“ – 3, „константно“ – 4). Кумулацијом одговора максимално се може добити 52 поена, при чему веће

вредности скоро указују на већи утицај оралног здравља на квалитет живота пацијента у негативном смислу.

- ❖ Добијено је одобрење аутора за коришћење упитника за *WB-HRQoL*, који се састоји од 19 питања, а она се групишу у питања која се тичу физичког домена, психолошког домена, социјалног домена и домена окружења. Физички домен овог упитника подразумева пре свега одсуство боли и других nelaгодности при самосталном обављању физичких активности, као и квалитет сна и сексуалну активност. Питања из психолошког домена се односе на расположење, анксиозност, осећај благостања и равнотеже. Упитником се испитује и социјална компонента, односно задовољство испитаника односима у породици, са пријатељима и колегама на послу. Присутна су и питања која се тичу окружења испитаника, као што су прилагођеност спољашњој температури, ваздуху, као и осећај финансијске и стабилности и генералне стабилности. Одговори на свако питање се оцењују на следећи начин: „потпуно се не слажем“ - 1 поен, „делимично се слажем“ - 2 поена, „нити се слажем, нити се не слажем“ - 3 поена, „делимично се слажем“ - 4 поена, „потпуно се слажем“ - 5 поена. Укупан скор и скорови по доменима се израчунавају као прости збир поена остварен на сваком од питања.
- Пацијенти су самостално попуњавали одговоре на дата питања, уз евентуално разјашњење питања по потреби од стране испитивача, без сугерисања одговора, како би се сачувала објективност бодовања.

Такође, сви учесници су били евалуирани и клинички ради процене тежине клиничке слике увећања гингиве, и то од стране истраживача који је клинички евалуирао пацијенте извођењем стоматолошког прегледа, уз коришћење стандардних стоматолошких интрумената (стоматолошко огледалце, стоматолошка сонда, пародонтална сонда), а у циљу утврђивања следећих параметара:

#### 1) Индекса оралне хигијене

##### Плак индекс по *Sillnes Löu-y (PI)*

Овај индекс је један од најзаступљенијих и најчешће коришћених метода у процени оралне хигијене и здравља гингиве. Сматра се поузданим и једноставним за употребу, што га чини посебно корисним у клиничким студијама и праћењу ефеката различитих мера оралне хигијене (108).

- ❖ Испитују се површине свих постојећих зуба (букодистална, букална, букомезијална, орална); за веће епидемиолошке студије могу се испитивати само одређени зуби
- ❖ Мерење плака се изводи сондом или киретом, без бојења плака
- ❖ Неопходно је да пре мерења пацијент испере уста водом, како би се отклониле све наслаге осим зубног плака; потом се зуби осуше ваздухом

## ❖ Критеријуми за градирање PI:

1. 0 бодова – нема плака
2. 1 бод – танак слој плака у гингивалној трећини који се не види, а открива се сондом
3. 2 бода – умерена количина плака која се уочава визуелно
4. 3 бода – велика количина плака који покрива ивицу гингиве и околну површину зуба

- Сабирају се све добијене вредности, збир се подели са 4, па се подели са бројем прегледаних зуба

## 2) Индекса крварења

***Papillae Bleeding Index (PBI)***

Индекс крварења је значајан алат који се користи за процену здравља гингиве, посебно интерденталних папила. Овај индекс мери степен крварења које настаје након лаганог сондирања гингиве у подручју самих интерденталних папила. PBI је корисна метода у клиничкој пракси и истраживањима, јер омогућава рано откривање гингивитиса и праћење ефективности мера лечења. Примена овог индекса може допринети бољем разумевању везе између оралне хигијене и здравља гингиве, као и ефикасности интервенција усмерених на побољшање здравља пародонцијума (108).

- ❖ PBI се одређује на основу прегледа сондом и то прво дисталног па мезијалног дела гингивалног сулкуса, од базе интерденталне папиле па до њеног врха

## ❖ Критеријуми за градирање PBI:

1. 0 бодова – нема крварења
2. 1 бод – тачкасто крварење на једном месту
3. 2 бода – линијско крварење у виду линије дуж ивице гингиве
4. 3 бода – одмах након сондирања, капљасто крварење
5. 4 бода – профузно крварење у току сондирања

- Збир бодова се подели са бројем прегледаних зуба, а затим са 2 (јер се испитују две површине)

## 3) Индекса увећања гингиве

***Hyperplasia Index (HI), Angelopoulos and Goaz, modified by Pernu et al.***

Индекс хиперплазије, како су га описали *Angelopoulos* и *Goaz*, а касније модификовали *Pernu* и сарадници, представља хистопатолошки алат за квантитативну процену степена хиперплазије у оралним ткивима. Овај индекс је првобитно развијен за процену епителне пролиферације као одговор на различите стимулусе, посебно код случајева иритативног фиброма и других хиперпластичних лезија. *Pernu* и сарадници су модификовали овај инструмент, на тај начин прецизирајући критеријуме оцењивања, омогућавајући тачнију процену дебљине

епитела, кератинизације и целуларности. Овај индекс је посебно користан у клиничким истраживањима где је потребна процена одговора ткива на хроничну иритацију или друге патолошке процесе. Примена овог индекса може бити од суштинског значаја за повезивање клиничких опажања са хистолошким променама, пружајући свеобухватније разумевање патологије која се истражује (109, 110).

❖ Критеријуми за градирање HI:

1. 0 бодова - не постоји увећање гингиве
2. 1 бод - благо увећање гингиве; задебљање маргиналне гингиве; лобуларна гранулација гингивалног џепа; увећање прекрива гингивалну трећину круне или мању површину
3. 2 бода - средње увећање гингиве; увећање проширено до половине круне
4. 3 бода - озбиљно увећање гингиве; увећање прекрива две трећине круне или читаву припојну гингиву

- Збир бодова се подели са бројем прегледаних зуба

***Gingival Hyperplasia Index (GHI), Seymour et al.***

Индекс гингивалне хиперплазије је клинички алат који се користи за процену степена хиперплазије гингиве, често у контексту увећања гингиве изазваног лековима, као што су антиепилептици, циклоспорин и БКК. Овај индекс омогућава квантификацију гингивалне хиперплазије мерењем величине и обима хиперпластичних промена у односу на здраво ткиво гингиве. Примена овог индекса може бити веома корисна за праћење напретка и ефикасности терапије код пацијената са увећањем гингиве, као и за мерење степена озбиљности ових промена. Овим индексом се одређује и квантификује хоризонтална компонента увећања гингиве (111).

❖ Критеријуми за градирање GHI:

1. 0 бодова – нормална дебљина интерденталне папиле
2. 1 бод – задебљање интерденталне папиле постоји и не прелази 2 mm у промеру
3. 2 бода - задебљање интерденталне папиле прелази 2 mm у промеру

- Збир бодова се подели са бројем прегледаних зуба

4) Одређивањем нивоа припојног епитела (***Clinical attachment level – CAL***)

Одређивање нивоа припојног епитела има велики значај у процени здравља пародонцијума, као и у дијагностици и праћењу пародонталних обољења. Припојни епител је ткиво које повезује гингиву са зубом и игра кључну улогу у одржавању пародонталног здравља, јер спречава продор бактерија и њихових токсина у дубље структуре пародонцијума. Промене у нивоу припојног епитела, као што су његово мигрирање према апикално, могу указивати на прогресију пародонталних болести, као што је пародонтопатија. Ове промене могу довести до губитка подршке зуба, што на крају може резултирати његовим губитком. Стога, мерење и праћење нивоа припојног епитела представља важан дијагностички параметар који помаже у процени степена оштећења

пародонцијума и у одређивању одговарајућих терапијских мера. У контексту истраживања и клиничке праксе, редовно одређивање нивоа припојног епитела омогућава праћење ефикасности лечења и напредовања пародонталних болести, као и благовремено прилагођавање терапијских стратегија (112).

- ❖ Утврђивање CAL подразумева мерење растојања од цервикалне линије до места где се пародонтална сонда зауставила; изражава се у милиметрима; изводи се на 6 места на сваком зубу

Свим пацијентима укљученим у истраживање је узет узорак ткива гингиве, а у циљу процене оксидативног статуса (SOD, CAT, MDA) и молекула од значаја за увећање гингиве (IL-6, TNF- $\alpha$ , FGF-2, VEGF-C, VEGF-D, TGF- $\beta$ 1, CTGF, ST2, KGF, EGF, IL-33), као и патохистолошка анализа архитектуре гингивалног ткива. За потребу анализе узорака ткива гингиве од метода су се користили RT-PCR (*Real-time polymerase chain reaction*), хистохемијска анализа и колориметријске анализе у циљу идентификације и валоризације поменутих молекула од интереса.

### RT-PCR анализа молекула од значаја

Узорци ткива гингиве пацијената, одмах након хируршке интервенције, били су замрзнуте у течном азоту до поступка хомогенизације ткива. Да би се екстраховала укупна рибонуклеинска киселина (РНК) из хомогената ткива, који је добијен уз помоћ ручног хомогенизатора, примењен је TRIzol reagent (Invitrogen, Waltham, Massachusetts, MA, Finland), који се састоји од гуанидин тиоцијаната и раствора фенола, по упутству самог произвођача. За потребе експеримента коришћене су епендорфице запремине 1,5 ml, које су напуњене претходно добијеним хомогенатом. Након поступка механичке хомогенизације, 100  $\mu$ l бромхлорпропана (енг. *1-bromo-3-chloropropane*, BCP) је додато у раствор. Смеша је вортексована и инкубирана 5 минута на собној температури, након чега је центрифугирана на 12000 rpm током 10 минута на 40°C. Као резултат ове фазе, формирала су се три слоја, при чему се РНК налазила у површном слоју, затим ДНК, и у трећем слоју протеини. РНК је потом премештена у нове епендорфице, у које је додат изопропил алкохол у количини од 500  $\mu$ l како би се извршила преципитација РНК од интереса. Након тога, спроведено је мешање и инкубација на собној температури током 15 минута, а након тога је поновно центрифугирање изведено у трајању од 8 минута при 12000 rpm на 40°C. Одвојени талог након центрифугирања је затим био подвргнут двоструком прању применом расхлађеног 70% етил алкохола у количини од 1 ml, а након прања, талог је осушен током 5 минута на собној температури и разблажен у води без нуклеаза (енг. *Nuclease free water*). Концентрација и чистоћа РНК су након те фазе одређене спектрофотометријским мерењем апсорбанце на 260/280 nm. У овој анализи, употребљен је апарат Eppendorf® Biophotometer (Eppendorf, Hamburg, Germany). За поступак реверзне транскрипције примењен је препарат iScript Re-verse Transcription Mastermix (Bio-Rad, USA), а RT-PCR реакција је урађена употребом SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix (Bio-Rad, USA) и mRNA специфичних прајмера за молекуле од значаја (Табела 2). Као *housekeeping gene* коришћен је  $\beta$ -актин, као и глицерилалдехид 3-фосфат дехидрогеназа (енг. *Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*, GAPDH). Квантитативне RT-PCR реакције су извршене у Applied Biosystems 7500 (Applied Biosystems, USA), и након анализе резултата, квантификована је релативна експресија гена према Livak-у и Schmittgen-у (2008) (113).

**Табела 2.** Листа прајмера корићених у RT-PCR анализи

| Назив прајмера       | Секвенца (5'- 3')                                                  |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Human $\beta$ -actin | F: AGCACAGAGCCTCGCCTT<br>R: CATCATCCATGGTGAGCTGG                   |
| Human IL-6           | F: ACTCACCTCTTCAGAACGAATTG<br>R: CCATCTTTGGAAGGTTTCAGGTTG          |
| Human TNF- $\alpha$  | F: CCTCTCTCTAATCAGCCCTCTG<br>R: GAGGACCTGGGAGTAGATGAG              |
| Human VEGF-C         | F: ACCTGCCCCACCAATTACA<br>R: GCCTCTTGTAAGACTGGTT                   |
| Human VEGF-D         | F: CCTGAAGAAGATCGCTGTTC<br>R: GAGAGCTGGTTCCTGGAGAT                 |
| Human TGF- $\beta$ 1 | F: CCCAGCATCTGCAAAGCTC<br>R: GTCAATGTACAGCTGCCGCA                  |
| Human CTGF           | F: GGCTTACCGACTGGAAGAC<br>R: AGGAGGCGTTGTCATTGG                    |
| Human IL-33          | F: AATCAGGTGACGGTGTTG<br>R: AACTCCAGGATCAGTCTTG                    |
| Human ST2            | F: ATGTTCTGGATTGAGGCCAC<br>R: GACTACATCTTCTCCAGGTAGCAT             |
| Human FGF-2          | F: CTGGCTATGAAGGAAGATGGA<br>R: TGCCCAGTTCGTTTCAGTG                 |
| Human KGF            | F: TTG-TGG-CAA-TCA-AAG-GGG-TG<br>R: CCT-CCG-TTG-TGT-GTC-CAT-TTA-GC |
| Human EGF            | F: CTTGTCATGCTGCTCCTCCTG<br>R: TGCGACTCCTCACATCTCTGC               |
| Human GAPDH          | F: GGAAGGTGAAGGTCGGAGTCA<br>R: GTCATTGATGGCAACAATATCCACT           |

F - forward; R – reverse.

**Хистохемијска анализа**

За хистопатолошку анализу коришћени су исечци гингивалног ткива који су фиксирани у формалину, а затим стављени у парафински калуп (енг. *Formalin-Fixed and*

*Paraffin-Embedded*, FFPE). Од парафинских блокова припремљени су танки пресеци дебљине 5–7  $\mu\text{m}$ , који су потом били подвргнути хистохемијским методама бојења.

Парафински исечци су загревани у термостату на 56°C током 45 минута и потом потопљени у ксилол ради уклањања парафина. Следио је стандардни поступак рехидратације ткива кроз опадајуће концентрације етил алкохола: у два наврата у петоминутном временском интервалу у апсолутном алкохолу, 5 минута у 96% раствору алкохола, 5 минута у 90% раствору алкохола, 5 минута у 70% раствору алкохола и, на крају, 5 минута у дестилованој води. Након рехидратације, препарати су бојени *Mayer*-овим хематоксилином (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) 10 минута, а затим испирани дестилованом и текућом водом по 5 минута. Након тога, уследило је бојење алкохолним еозином (Sigma Aldrich) у трајању од 2 минута. После бојења, изведена је дехидратација коришћењем растућих концентрација алкохола, и то: 5 минута у 70% раствору алкохола, 5 минута у 90% раствору алкохола, 5 минута у 96% раствору алкохола и два пута по 5 минута у апсолутном алкохолу. За просветљивање, исечци су потапани 1 минут у мешавину ксилола и апсолутног алкохола у односу 1:1, а затим два пута по 1 минут само у ксилолу. На крају, на исечке гингивалног ткива је нанесен DPX (Sigma Aldrich) и прекривени су покровним стаклима. Уследило је 24-часовно сушење препарата, као и анализа и фотографисање узорака помоћу светлосног микроскопа (BX51, Olympus, Japan).

У циљу анализе колагених влакана, коришћено је бојење Sirius red методом, и то тако што су након рехидратације, узорци ткива бојени Picro-Sirius red раствором у трајању од једног сата. Радни раствор за бојење припремљен је тако што је 0,5 g боје Sirius red (Direct Red 80, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) растворено у 500 ml zasiћеног раствора пикринске киселине (Picric acid Solution, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA). Након бојења, уследило је двоструко испирање препарата у петоминутном временском интервалу у 0,005% воденом раствору глацијалне сирћетне киселине. После испирања, извршена је дехидратација и просветљавање препарата у ксилолу током 5 минута. На крају, ткивни узорци су прекривени DPX-ом (Sigma Aldrich) и покровним стаклима. Након што су се сушили 24 сата, препарати су анализирани и фотографисани помоћу светлосног микроскопа (BX51, Olympus, Japan).

#### ❖ Квантификовање и патохистолошка евалуација ткива гингиве

По систему бодовања патохистолошких карактеристика увећања гингиве које је изазвано амлодипином аутора *Siddika Selva Sume* и сарадника (114) вршена је патохистолошка анализа узорака гингивалног ткива. Скорирање се заснива на присуству инфламације у ткиву гингиве, и описује се на следећи начин: 0: без знакова инфламације; 1: блага инфламација; 2: средње изражена инфламација; 3: веома изражена инфламација.

Употребом рачунарског програма ImageJ (Bethesda, Maryland, USA) анализирана је квантификација колагених влакана у ткиву гингиве. Установљен је удео површине видног поља који је означен црвеном бојом, односно удео колагених влакана. За евалуацију је коришћено по 10 видних поља са сваког препарата. Уколико на видном пољу није било ткива, тај део је изостављен из даље анализе.

## Колориметријске анализе

### ❖ Колориметријска анализа активности супероксид дизмутазе

Супероксид дизмутаза је антиоксидативни ензим присутан у готово свим аеробним ћелијама, а његова функција се огледа у катализовању дизмутације супероксидних радикала у кисеоник и водоник пероксид, на тај начин штитећи ћелије од оксидативног стреса и оштећења посредованог ROS.

За спровођење ове анализе коришћен је ab65354 Superoxide Dismutase Activity Assay Kit (Colorimetric), BioVision, Abcam, UK. Пре започињања саме анализе, опрема за експеримент је била складиштена на  $-20^{\circ}\text{C}$ , ван домаћаја светлости. Затим, непосредно пре почетка анализе, бочице реагенса су биле центрифугиране на малој брзини како би се супстанце припремиле за даљи наставак експеримента. Пре употребе, одмрзнуте су компоненте на собној температури и направљен је радни раствор хидросолубилног тетразолијума (енг. *Water-soluble tetrazolium* - WST), разређивањем WST реагенса у односу 1:20 са пуфером за тестирање активности SOD. За целу плочу је помешано 1 ml реагенса са 19 ml пуфера за тестирање активности SOD. Направљена је количина раствора како би се извршио читав експеримент на већ претходно одређеном броју узорак гингиве. Такође је SOD лиофилизован ензим био растворен са 110  $\mu\text{l}$  дупло дестиловане воде ( $\text{ddH}_2\text{O}$ ) и подељен у аликвоте. Пуфери за SOD тестирање и разређивање су већ били спремни за употребу у припремљеном облику, те су само изједначени са собном температуром пре употребе и подељени у складу са даљим током експеримента.

Након хируршке интервенције и колектовања узорка гингиве, део који ће бити коришћен за ову анализу је брзо замрзнут у течном азоту и одмах одложена на  $-80^{\circ}\text{C}$ , а пре приступања експерименту, узорци су били отопљени на леду. Потребна количина ткива је била перфузирана са фосфатно пуферисаним физиолошким раствором (енг. *Phosphate-buffered saline* - PBS), како би се уклониле све црвене крвне ћелије. Затим је ткиво гингиве било хомогенизовано у леденом раствору 0,1M Tris/HCl, pH 7,4, који садржи 0,5% Triton X-100, 5 mM  $\beta$ -ME, 0,1 mg/ml PMSF, а затим је центрифугирано на 14000 x g ( $\approx 12412,6 \text{ gpm}$ ), 5 минута на  $+4^{\circ}\text{C}$ . Након процеса центрифугирања, сакупљен је преципитат, који садржи укупну активност SOD-а из ензима порекла цитоплазме и митохондрија, и пребачен је у чисту епрувету. Пре извршења теста, припремљен је раствор ензима разређивањем реконституисаног раствора SOD ензима у односу 1:20 коришћењем пуфера за разређивање SOD-а. Припремљено је 20  $\mu\text{l}$  радног раствора ензима за сваки узорак, као и за *Blank 1* реакцију. Тестирани су сви стандарди, контроле, као и узорци у дупликату. Једна јединица је дефинисана као количина SOD-а која инхибира активност ксантин оксидазе за 50% (*half maximal inhibitory concentration* - IC50 ( $\mu\text{g}$ )) у датим условима тестирања. Додато је 200  $\mu\text{L}$  WST-а у сваки бунарчић, 20  $\mu\text{L}$  пуфера за разређивање у *Blank 1* и *Blank 2*, 20  $\mu\text{L}$  радног раствора ензима у сваки бунарчић са узорком и *Blank 1*, а затим је све промешано и инкубирано на  $37^{\circ}\text{C}$  током 20 минута, након чега је измерен резултат (оптичка густина, енг. *Optical Density* - OD440 nm) на читачу микротитарске плоче. Узорци који су производили сигнале веће од највишег стандарда су били додатно разређени у одговарајућем пуферу и поново анализирани, а затим је помножена пронађена концентрација са одговарајућим фактором разређења. Из статистичких разлога, тестиране су две реплике сваког узорка. Активност SOD-а (степен инхибиције, %) је израчуната на основу следеће једначине:

$$\text{SOD активност (степен инхибиције, \%)} = \frac{(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank2}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank2}}) \times 100}{(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}})}$$

A = апсорпција (OD) од 440nm

#### ❖ Колориметријска анализа активности каталазе

Каталаза је ензим који катализује разградњу водоник пероксида у воду и кисеоник, и на тај начин штити ћелије од оксидативног стреса.

За спровођење ове анализе коришћен је ab83464 Catalase Activity Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric), BioVision, Abcam, UK. Пре започињања саме анализе, опрема за експеримент је била складиштена на  $-20^{\circ}\text{C}$ , ван домаћаја светлости. Затим, непосредно пре почетка анализе, бочице реагенса су биле центрифугиране на малој брзини како би се супстанце припремиле за даљи наставак експеримента. Пуфер за анализу је коришћен неразблажен, изједначен са собном температуром пре употребе. Позитивна контрола каталазе је била разређена у 500  $\mu\text{L}$  пуфера за анализу, а затим добро промешана поступком пипетирања. Добијен раствор је подељен у аликвоте у складу са даљим планом експеримента. Раствор водоник пероксида је коришћен такође неразблажен, а био је подељен у одговарајући број аликвота, и држани су на леду током употребе. Пероксидаза рена (енг. *horseradish peroxidase* – HRP) је била реконституисана у 220  $\mu\text{L}$  пуфера за анализу, након чега је била промешана поступком пипетирања. Добијени раствор је затим подељен у једнаке делове у складу са даљим током експеримента. OxiRed тест у диметил сулфоксиду (енг. *dimethyl sulfoxide* - DMSO) је употребљен неразблажен, а загревање се вршило стављањем у купку на  $37^{\circ}\text{C}$  у трајању од 1-5 минута да би се одмрзао раствор DMSO-а пре примене. Пуфер за заустављање реакције је коришћен неразблажен, а био је подељен у складу са планом експеримента, док је током употребе држан на леду.

За припремање стандарда, потребно је било 20 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  раствора разређивањем 5  $\mu\text{L}$  приложеног раствора водоник пероксида (0,88 M раствор) са 215  $\mu\text{L}$  dd $\text{H}_2\text{O}$ . Затим, направљено је и 20 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  раствора разређивањем 50  $\mu\text{L}$  20 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  са 950  $\mu\text{L}$  dd $\text{H}_2\text{O}$ . Користећи 1 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  раствора, припремљена је стандардна крива разређивања како је описано у упутству произвођача у табели у микротитарској плочи. Свако разблаживање је имало довољно стандарда да се изврше дупла читавања (2 x 90  $\mu\text{L}$ ). У сваки бунарчић са стандардом је додато 10  $\mu\text{L}$  пуфера за заустављање реакције.

Након хируршке интервенције и колектовања ткива гингиве, одређена количина намењена за овај експеримент је одвојена и брзо замрзнута у течном азоту, и чувана је до почетка експеримента на  $-80^{\circ}\text{C}$ , док је пре експеримента била отопљена на леду. Ткиво гингиве је најпре опрано у хладном PBS-у, а затим му је додато 200  $\mu\text{L}$  залеђеног пуфера за анализу. Након хомогенизације ткива уз помоћ ручног хомогенизатора, узорци су били центрифугирани у трајању од 15 минута на  $4^{\circ}\text{C}$  (10000 x g;  $\approx 881,7 \text{ rpm}$ ) да би се било који нерастворљиви материјал уклонио. Након тога, скупљен је преципитат и пребачен у нову епендорфицу, држану на леду.

Пре употребе, сви материјали и припремљени реагенси су стављени на собну температуру. Сви стандарди, контроле и узорци су тестирани у дупликату. Сви

реагенси, радни стандарди и узорци су припремљени како је претходно описано. У бунарчиће за стандарде је додато 100  $\mu\text{L}$  разређених стандарда (90  $\mu\text{L}$  стандарда + 10  $\mu\text{L}$  пуфера за заустављање реакције). Позитивна контрола је имала 1-5  $\mu\text{L}$  (прилагођен је обим на 78  $\mu\text{L}$ /поље са пуфером за анализу). Позитивна контрола *High Control* (НС) је такође имала 1-5  $\mu\text{L}$  позитивне контроле (обим је прилагођен на 78  $\mu\text{L}$ /поље са пуфером за анализу). Узорци су имали 2-78  $\mu\text{L}$  (прилагођени обим на 78  $\mu\text{L}$ /поље са пуфером за анализу). Узорци НС такође су имали 2-78  $\mu\text{L}$  (прилагођени обим на 78  $\mu\text{L}$ /поље са пуфером за анализу). У сваки бунарчић узорка НС и позитивног контролног НС додато је 10  $\mu\text{L}$  пуфера за заустављање реакције, а затим је добро промешано и инкубирано на 25°C током 5 минута како би се потпуно инхибирала активност каталазе у узорцима НС. У сваки узорак, узорак НС, позитивну контролу и поље позитивне контроле је додато 12  $\mu\text{L}$  свежег раствора 1 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Инкубација реакције на 25°C трајала је 30 минута. У свако поље узорка и позитивне контроле додато је 10  $\mu\text{L}$  пуфера за заустављање реакције. За сваку реакцију припремљено је 50  $\mu\text{L}$  развојне мешавине и додато у свако поље стандарда, узорка, узорка НС, позитивне контроле и поља позитивне контроле, па промешано на 25°C у трајању од 10 минута ван домаћаја светлости. Одмах је мерен резултат на таласној дужини OD 570 nm на читачу микротитарске плоче.

Активност каталазе присутне у узорку је обрнуто пропорционална сигналу који се добија. Узорци који производе сигнале који су већи од највишег стандарда имају ниске количине каталазе. Насупрот томе, узорци који се читавају врло близу нуле имају високе нивое каталазе, те су такви узорци били разблаживани како би се осигурало да читавања буду унутар стандардног опсега.

Одузимала се средња вредност апсорпције (Standard #1) од свих читавања стандарда и узорака, и то је представљало кориговану апсорпцију (OD). Извршено је читавање просека дупликата за сваки стандард и узорак. Конструисана је стандардна крива уз помоћ софтвера за читач микротитарске плоче, а затим се рачунала једначина тренда на основу добијених података.

Израчунавање  $\Delta\text{OD}$  сигнала у узорку је вршено на следећи начин:

$$\Delta\text{OD} = A_{\text{НС}} - A_{\text{Sample}}$$

(где „НС“ означава читавање *High Control* узорка, а „Sample“ самог испитиваног узорка).

Затим је био примењен  $\Delta\text{OD}$  на  $\text{H}_2\text{O}_2$  стандардну како би била добијена количина (nmol)  $\text{H}_2\text{O}_2$  разложена од стране каталазе током 30-минутне реакције. Активност каталазе (nmol/min/mL или mU/mL) у тестним узорцима се израчунавала као:

$$\text{Активност каталазе} = \left( \frac{B}{30 \times V} \right) \times D$$

B = количина  $\text{H}_2\text{O}_2$  у узорку израчуната из стандардне криве (nmol);

30 = време реакције каталазе изражено у минутима;

V = запремина претретираног узорка додата у реакционо поље (mL);

D = фактор разблажења узорка, ако је био додатно разблажен, како би се уклопио у читавање стандардне криве).

Једна јединица (1 Unit) активности каталазе представља количину каталазе која ће разложити 1,0  $\mu\text{mol}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  у минути при рН 4,5 на 25°C.

#### ❖ Колориметријска анализа активности липидне пероксидације

Липидна пероксидација је процес у ком слободни радикали „нападају“ липиде, попут масних киселина у ћелијским мембранама, што последично доводи до формирања липидних пероксида, између осталог и малондиалдехида. Овај процес је повезан са разним патолошким стањима, укључујући и оксидативни стрес, инфламацију и процес старења.

За спровођење ове анализе коришћен је ab118970 Lipid Peroxidation (MDA) Assay kit (Colorimetric/Fluorometric), BioVision, Abcam, UK. Пре започињања саме анализе, опрема за експеримент је била складиштена на -20°C, ван домаћаја светлости. Затим, непосредно пре почетка анализе, бочице реагенса су биле центрифугиране на малој брзини како би се супстанце припремиле за даљи наставак експеримента. Пуфер за лизу MDA је био спреман за употребу како је испоручен, а пре употребе је доведен на собну температуру. Раствор фосфоволфрамове киселине је такође био спреман, те је само пре примене доведен до нивоа собне температуре. Раствор бутил хидрокситолуена (енг. *butylated hydroxytoluene* - BHT) (100X) је био припремљен, те је доведен на собну температуру и подељен на делове како би било довољно за извођење планираног броја анализа. Једна бочица (250 mg) раствора тиобарбитурне киселине (енг. *Thiobarbituric acid* - TBA) је реконституисана у 7,5 mL глацијалне сирћетне киселине, а коначна запремина је прилагођена на 25 mL са ddH<sub>2</sub>O, и добро је промешано да би се у потпуности растворило у воденом купатилу собне температуре. MDA стандард (4,17M) је био спреман за употребу како је испоручен, те је подељен на делове у складу са даљим током експеримента.

За почетак експеримента, припремљен је 0,1 M MDA стандарда разблаживањем 10  $\mu\text{L}$  4,17 M MDA стандарда у 407  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O. Затим је припремљено 2 mM MDA стандарда разблаживањем 10  $\mu\text{L}$  0,1 M MDA стандарда у 490  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O. Користећи 2 mM MDA стандарда, припремљена је стандардна крива разблаживања према табели микротитарске плоче.

Након хируршке интервенције, ткиво гингиве је складиштено до почетка експеримента према упутству произвођача, те су пре самог почетка експеримента узорци опрани у хладном PBS-у. Припремљен је раствор лизе као што је претходно описано, и ткиво је хомогенизовано у 303  $\mu\text{L}$  раствора лизе (пуфер + BHT) ручним хомогенизатором на леду. Затим, узорци су били подвргнути центрифугирању на 13000 x g у трајању од 10 минута како би се уклонио нерастворљиви материјал. Након тога је колектован преципитат.

Сви материјали и реагенси неопходни за експеримент су најпре изједначени са собном температуром и промешани пре употребе. Сви стандарди, контроле и узорци су испитивани у дупликату. Додато је 600  $\mu\text{L}$  реагенса TBA у бунарчић који је садржао 200  $\mu\text{L}$  стандарда и 200  $\mu\text{L}$  узорка, а затим је вршена инкубација на 95°C у једночасовном временском интервалу, након чега је све било охлађено до собне температуре у леденој купки током 10 минута. Након тога је узето 200  $\mu\text{L}$  реакционе смесе која је садржала MDA-TBA адукт, и распоређена је у микротитарску плочу од 96 поља, те се приступило даљој анализи. Апсорпција је мерена одмах на читачу микротитарске плоче (OD 532 nm). Узорци који су производили сигнале веће од

сигнала највишег стандарда су били додатно разблажени у одговарајућем пуферу и поново анализирани, након чега се добијена концентрација множила одговарајућим фактором разблажења. Израчуната је просечна вредност дупликата за сваки стандард и узорак, а одузета је средња вредност Standard-a #1 од свих стандардних читавања и читавања узорка (коригована апсорпција). Конструисана је стандардна крива уз помоћ софтвера за читач микротитарске плоче, а затим се рачунала једначина тренда на основу добијених података. Примењено је кориговано читавање OD узорка у односу на стандардну криву како би се добила количина MDA у узорцима.

Концентрација MDA у узорцима се рачунала уз помоћ једначине:

$$\text{MDA концентрација} = \left( \frac{A}{mg} \right) \times 4^* \times D = \frac{\text{nmol}}{\text{mg}}$$

A = Количина MDA у узорку израчуната из стандардне криве;

mg = Почетна количина ткива која је коришћена;

4\* = Корекција за коришћење 200  $\mu\text{L}$  од 800  $\mu\text{L}$  реакционе смесе;

D = Фактор разблажења узорка, ако је узорак био разблажен, да би се уклопио у опсег стандардне криве.

### 3.5 Снага студије и величина узорка

Употребом статистичког програма *G power*, употребом теста *Anova (fixed effects, omnibus, one way)* одређена је величина студијске популације која износи 7 пацијената за сваку групу, односно укупно 28 испитаника. Величина студијског узорка је процењена на основу рада аутора *Syahputra* и сарадника (115).

Докторска дисертација представља академско, непрофитно истраживање, које је спроведено према принципима садржаним у следећим документима: Добра клиничка пракса, Добра лабораторијска пракса и Хелсиншка декларација.

### 3.6 Статистичка обрада података

Подаци су статистички обрађени употребом програма *IBM SPSS Statistics 22*. Нормалност дистрибуције континуираних варијабли је иницијално процењена *Shapiro-Wilk* тестом. Континуиране варијабле су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација или као медијана (IQR), у зависности од нормалности података, док су категоријалне варијабле статистички обрађене проценом процентуалне заступљености. Након тога, *Student's t-test* је коришћен за поређење две групе са нормално дистрибуираним подацима, док је *Mann-Whitney U* тест коришћен за поређење података који нису нормално дистрибуирани. *Chi-Square* тест је коришћен за процену повезаности

између категоријалних варијабли, док је *Cramer's V* индикатор коришћен за приказ јачине те повезаности. *Fisher's exact test* је примењен уместо *Chi-Square* теста када су очекиване фреквенције биле мање од 5. Статистички значајна разлика је сматрана када је *p*-вредност била мања од 0.05. За потребе евалуације значаја утицаја варијабли на настанак увећања гингиве је урађена логистичка регресија. Добијени резултати су представљени текстуално, табеларно и графички.

## **4. Результати**

#### 4.1 Социодемографске карактеристике и клиничке карактеристике пацијената

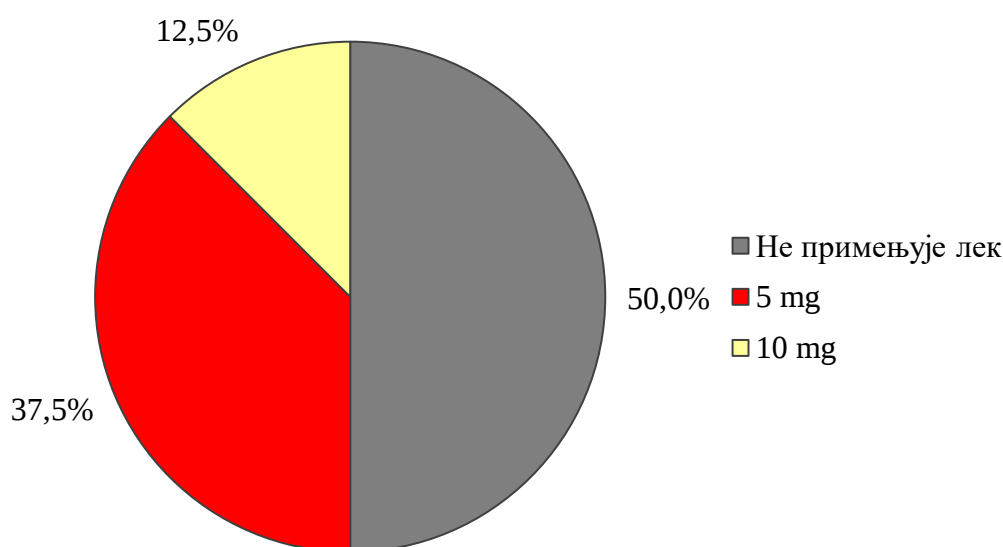
Истраживањем је обухваћено 32 пацијента, и то 11 (34,4%) пацијената мушког пола и 21 (65,6%) пацијенткиња женског пола. Просечна старост свих пацијената била је  $52,5 \pm 15,4$  године. Остале социодемографске карактеристике испитаника су приказане у Табели 3.

**Табела 3.** Социодемографске карактеристике испитиване популације

|                             | N (%)     |
|-----------------------------|-----------|
| <b>Образовање</b>           |           |
| Основна школа               | 3 (9,4)   |
| Средња школа                | 19 (59,4) |
| Факултет                    | 8 (25,0)  |
| Мастер/докторат             | 2 (6,3)   |
| <b>Запосленост</b>          |           |
| Да                          | 18 (56,3) |
| Не                          | 8 (25,0)  |
| У пензији                   | 6 (18,8)  |
| <b>Брачно стање</b>         |           |
| Самац                       | 3 (9,4)   |
| У вези                      | 1 (3,1)   |
| У браку                     | 18 (56,3) |
| Разведен/а                  | 5 (15,6)  |
| Удовац/ца                   | 5 (15,6)  |
| <b>Конзумирање алкохола</b> |           |
| Не                          | 23 (71,9) |

|                          |           |
|--------------------------|-----------|
| Умерено                  | 9 (28,1)  |
| <b>Физичка активност</b> |           |
| Не                       | 8 (25,0)  |
| Повремена                | 11 (34,4) |
| Редовна                  | 13 (40,6) |
| <b>Коморбидитети</b>     |           |
| Не                       | 24 (75,0) |
| Да                       | 8 (25,0)  |
| <b>Додатна терапија</b>  |           |
| Не                       | 19 (59,4) |
| Да                       | 13 (40,6) |

Од укупног броја пацијената, њих 16 (50%) није примењивало амлодипин, 4 (12,5%) је узимало амлодипин као самосталну терапију, док је 12 (37,5%) пацијената било на терапији амлодипином у комбинацији са другим лековима. Просечна дужина примене лека у месецима је била  $36,44 \pm 24,96$  месеци, а просечна дужина трајања обољења је била  $12,06 \pm 7,69$  година. Заступљеност пацијената у односу на дозирање лека је приказана на Слици 3.



**Слика 3.** Заступљеност пацијената у односу на дозирање лека

Просечна вредност систолног притиска пацијената износила је  $134,00 \pm 10,59$ , док је просечна вредност дијастолног притиска била  $85,81 \pm 13,51$  mmHg. Просечна вредност *Charlson Comorbidity Index*-а је била  $1,28 \pm 1,46$ , односно изражено у процентима  $88,41 \pm 17,99$ . Вредности индекса су представљене у Табели 4.

**Табела 4.** Вредности индекса

|     | Median | IQR  |
|-----|--------|------|
| PI  | 0,915  | 1,00 |
| PBI | 0,500  | 0,79 |
| CAL | 1,100  | 2,03 |
| HI  | 0,900  | 1,48 |
| GHI | 0,550  | 2,00 |

Понашања пацијената у вези са оралним здрављем као и присуство одређених симптома приказани су у Табели 5.

**Табела 5.** Понашања у вези са оралним здрављем и симптоми

| N (%)                                           |           |
|-------------------------------------------------|-----------|
| <b>Дисање на уста</b>                           |           |
| Не                                              | 20 (62,5) |
| Да                                              | 12 (37,5) |
| <b>Бруксизам</b>                                |           |
| Не                                              | 23 (71,9) |
| Да                                              | 9 (28,1)  |
| <b>Дневне парафункције</b>                      |           |
| Не                                              | 26 (81,2) |
| Да                                              | 6 (18,8)  |
| <b>Гингивално крварење</b>                      |           |
| Не                                              | 21 (65,6) |
| Благо                                           | 7 (21,9)  |
| Умерено                                         | 4 (12,5)  |
| <b>Отежано жвакање</b>                          |           |
| Не                                              | 24 (75,0) |
| Да                                              | 8 (25,0)  |
| <b>Отежан говор</b>                             |           |
| Не                                              | 29 (90,6) |
| Да                                              | 3 (9,4)   |
| <b>Отежано ношење мобилних зубних надокнада</b> |           |

|                                                          |           |
|----------------------------------------------------------|-----------|
| Не                                                       | 2 (6,2)   |
| Да                                                       | 4 (12,5)  |
| Није примећиво                                           | 26 (81,3) |
| <b>Поремећај укуса</b>                                   |           |
| Не                                                       | 30 (93,8) |
| Да                                                       | 2 (6,2)   |
| <b>Халитоза</b>                                          |           |
| Не                                                       | 21 (65,6) |
| Да                                                       | 11 (34,4) |
| <b>Прање зуба најмање два пута дневно</b>                |           |
| Не                                                       | 5 (15,6)  |
| Да                                                       | 27 (84,4) |
| <b>Употреба водица за испирање уста</b>                  |           |
| Не                                                       | 18 (56,2) |
| Да                                                       | 14 (43,8) |
| <b>Коришћење зубног конца или интерденталних четкица</b> |           |
| Не                                                       | 21 (65,6) |
| Да                                                       | 11 (34,4) |
| <b>Редовни стоматолошки прегледи</b>                     |           |
| Не                                                       | 13 (40,6) |
| Да                                                       | 19 (59,4) |

#### 4.1.1 Анализа социодемографских и клиничких карактеристика пацијената у односу на присуство/одсуство увећања гингиве

Статистички значајне разлике нису биле примећене ни у једној од испитиваних социодемографских карактеристика између групе пацијената са развијеним увећањем гингиве и пацијената без развијеног увећања гингиве. Резултати који се тичу социодемографских карактеристика су приказани у Табели 6.

**Табела 6.** Социодемографске карактеристике пацијената са и без увећања гингиве

|                 | Нема увећање гингиве<br>N (%) | Има увећање гингиве<br>N (%) | Р     |
|-----------------|-------------------------------|------------------------------|-------|
| Пол             |                               |                              |       |
| Мушки           | 6 (37,5)                      | 5 (31,2)                     | 1,000 |
| Женски          | 10 (62,5)                     | 11 (68,8)                    |       |
| Образовање      |                               |                              |       |
| Основна школа   | 0 (0,0)                       | 3 (18,8)                     | 0,130 |
| Средња школа    | 11 (68,8)                     | 8 (50,0)                     |       |
| Факултет        | 5 (31,2)                      | 3 (18,8)                     |       |
| Мастер/докторат | 0 (0,0)                       | 2 (12,5)                     |       |
| Запосленост     |                               |                              |       |
| Да              | 4 (25,0)                      | 4 (25,0)                     | 0,724 |
| Не              | 10 (62,5)                     | 8 (50,0)                     |       |
| У пензији       | 2 (12,5)                      | 4 (25,0)                     |       |
| Брачно стање    |                               |                              |       |
| Самац           | 1 (6,2)                       | 2 (12,5)                     | 0,559 |
| У вези          | 1 (6,2)                       | 0 (0,0)                      |       |
| У браку         | 10 (62,5)                     | 8 (50,0)                     |       |

|                      |           |           |       |
|----------------------|-----------|-----------|-------|
| Разведен/а           | 3 (18,8)  | 2 (12,5)  |       |
| Удовац/ца            | 1 (6,2)   | 4 (25,0)  |       |
| Конзумирање алкохола |           |           |       |
| Не                   | 11 (68,8) | 12 (75,0) | 1,000 |
| Умерено              | 5 (31,2)  | 4 (25,0)  |       |
| Физичка активност    |           |           |       |
| Не                   | 2 (12,5)  | 6 (37,5)  | 0,352 |
| Повремена            | 6 (37,5)  | 5 (31,2)  |       |
| Редовна              | 8 (50,0)  | 5 (31,2)  |       |
| Коморбидитети        |           |           |       |
| Не                   | 11 (68,8) | 13 (81,2) | 0,685 |
| Да                   | 5 (31,2)  | 3 (18,8)  |       |
| Додатна терапија     |           |           |       |
| Не                   | 9 (56,2)  | 10 (62,5) | 1,000 |
| Да                   | 7 (43,8)  | 6 (37,5)  |       |

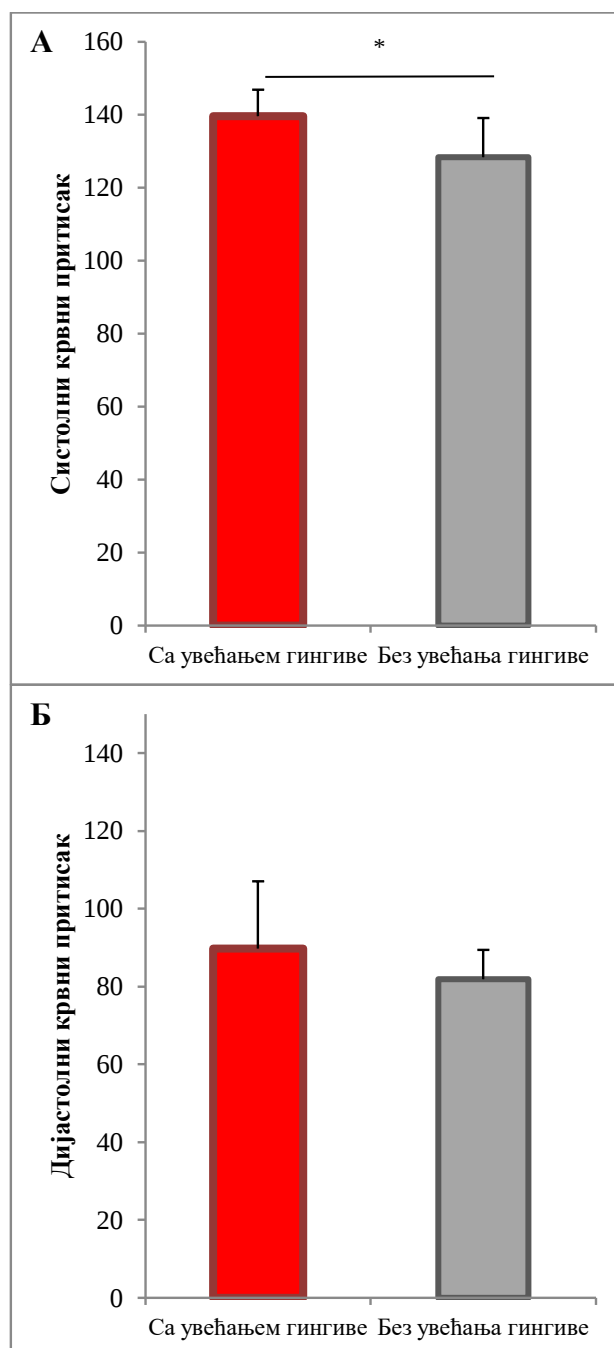
Пацијенти са и без увећања гингиве се нису разликовали у погледу употребе и дозе лека, трајања употребе лекова у месецима и трајања болести у годинама (Табела 7).

**Табела 7.** Карактеристике болести и терапијских режима

| Табела 7: Карактеристике болести и терапијски режим |                                  |                                 |       |
|-----------------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------|
|                                                     | Нема увећање<br>гингиве<br>N (%) | Има увећање<br>гингиве<br>N (%) | p**   |
| Примена лека                                        |                                  |                                 |       |
| Не примењује лек                                    | 8 (50,0)                         | 8 (50,0)                        | 0,560 |
| Амлодипин                                           | 3 (18,8)                         | 1 (6,2)                         |       |
| Комбинација                                         | 5 (31,2)                         | 7 (43,8)                        |       |
| Дозирање                                            |                                  |                                 |       |
| Не примењује лек                                    | 8 (50,0)                         | 8 (50,0)                        | 1,000 |
| 5 mg                                                | 7 (43,8)                         | 7 (43,8)                        |       |
| 10 mg                                               | 1 (6,2)                          | 1 (6,2)                         |       |
|                                                     | Са увећањем гингиве<br>Mean±SD   | Без увећања гингиве<br>Mean±SD  | p***  |
| Дужина трајања<br>примене лека<br>(месеци)          | 14,69±21,75                      | 21,75±29,798                    | 0,440 |
| Дужина трајања<br>обољења (године)                  | 4,75±7,31                        | 7,31±9,93                       | 0,382 |

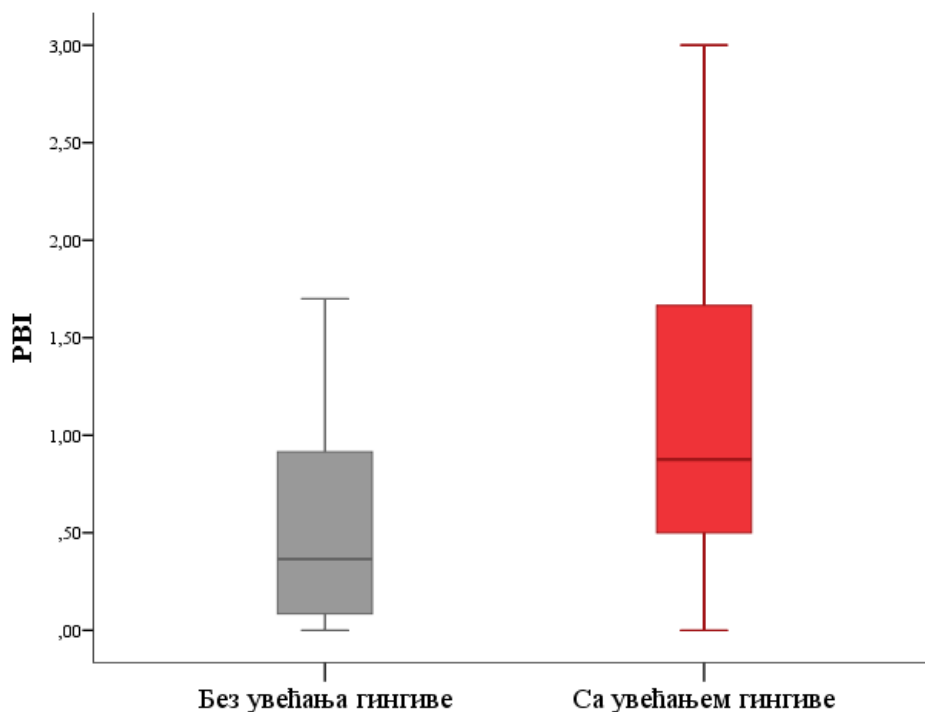
\*<0.05; \*\*Fisher's exact test; \*\*\*Independent Sample T-test.

Такође, дијастолни крвни притисак се није разликовао код пацијената са и без увећања гингиве. Међутим, пацијенти са увећањем гингиве имали су значајно виши систолни крвни притисак ( $139,63 \pm 10,743$ ) у поређењу са пацијентима без увећања гингиве ( $128,38 \pm 7,249$ ),  $p=0,028$ , као што је приказано на Слици 4.



**Слика 4.** Вредности систолног (А) и дијастолног (Б) крвног притиска пацијената са и без увећања гингиве

Пацијенти са и без увећања гингиве разликовали су се у вредностима РВІ, при чему је медијана код пацијената са увећањем гингиве била 0,87, а код пацијената без увећања гингиве 0,36 ( $p=0,043$ ) (Слика 5).



**Слика 5.** Вредности РВІ код пацијената са и без увећања гингиве

Старост пацијената, присутни коморбидитети и индекси се нису значајно разликовали између група у зависности од присуства увећања гингиве (Табела 8).

**Табела 8.** Старост пацијената, присутни коморбидитети и вредности индекса

|                 | Нема увећање<br>гингиве<br>Median (IQR) | Има увећање<br>гингиве<br>Median (IQR) | p**   |
|-----------------|-----------------------------------------|----------------------------------------|-------|
| Старост         | 54,5 (26,75)                            | 50,5 (29,75)                           | 0,956 |
| CCI             | 1,0 (2,0)                               | 0,5 (2,0)                              | 0,724 |
| CCI<br>проценат | 96,0 (8,0)                              | 97,0 (8,0)                             | 0,724 |
| PI              | 0,92 (1,34)                             | 0,91 (0,69)                            | 0,926 |
| CAL             | 1,16 (2,95)                             | 1,1 (1,46)                             | 0,669 |

\* $<0.05$ ; \*\*Mann-Whitney U test

Пацијенти са и без увећања гингиве разликовали су се у погледу отежане мастикације (Табела 9).

**Табела 9.** Понашања у вези са оралним здрављем и симптоми пацијената са и без увећања гингиве

|                     | Нема увећање<br>гингиве<br>N (%) | Има увећање<br>гингиве<br>N (%) | p**   |
|---------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------|
| Дисање на уста      |                                  |                                 |       |
| Не                  | 12 (75,0)                        | 8 (50,0)                        | 0,273 |
| Да                  | 4 (25,0)                         | 8 (50,0)                        |       |
| Бруксизам           |                                  |                                 |       |
| Не                  | 13 (81,2)                        | 10 (62,5)                       | 0,432 |
| Да                  | 3 (18,8)                         | 6 (37,5)                        |       |
| Дневне парафункције |                                  |                                 |       |
| Не                  | 13 (81,2)                        | 13 (81,2)                       | 1,000 |
| Да                  | 3 (18,8)                         | 3 (18,8)                        |       |
| Гингивално крварење |                                  |                                 |       |
| Не                  | 11 (68,8)                        | 10 (65,2)                       | 0,754 |
| Благо               | 4 (25,0)                         | 3 (18,8)                        |       |
| Умерено             | 1 (6,2)                          | 3 (18,8)                        |       |
| Отежано жвакање*    |                                  |                                 |       |
| Не                  | 16 (100,0)                       | 8 (50,0)                        | 0,002 |
| Да                  | 0 (0,0)                          | 8 (50,0)                        |       |
| Отежан говор        |                                  |                                 |       |
| Не                  | 16 (100,0)                       | 13 (81,2)                       | 0,226 |
| Да                  | 0 (0,0)                          | 3 (18,8)                        |       |

|                                                   |            |           |       |
|---------------------------------------------------|------------|-----------|-------|
| Отежано ношење мобилних зубних надокнада          |            |           |       |
| Не                                                | 1 (6,2)    | 1 (6,2)   | 0,792 |
| Да                                                | 1 (6,2)    | 3 (18,8)  |       |
| Није примењиво                                    | 14 (87,5)  | 12 (75,0) |       |
| Поремећај укуса                                   |            |           |       |
| Не                                                | 16 (100,0) | 14 (87,5) | 0,484 |
| Да                                                | 0 (0,0)    | 2 (12,5)  |       |
| Халитоза                                          |            |           |       |
| Не                                                | 11 (68,8)  | 10 (62,5) | 1,000 |
| Да                                                | 5 (31,2)   | 6 (37,5)  |       |
| Прање зуба најмање два пута дневно                |            |           |       |
| Не                                                | 3 (18,8)   | 2 (12,5)  | 1,000 |
| Да                                                | 13 (81,2)  | 14 (87,5) |       |
| Употреба водица за испирање уста                  |            |           |       |
| Не                                                | 10 (62,5)  | 8 (50,0)  | 0,722 |
| Да                                                | 6 (37,5)   | 8 (50,0)  |       |
| Коришћење зубног конца или интерденталних четкица |            |           |       |
| Не                                                | 11 (68,9)  | 10 (62,5) | 1,000 |
| Да                                                | 5 (31,2)   | 6 (37,5)  |       |
| Редовни стоматолошки прегледи                     |            |           |       |
| Не                                                | 7 (43,8)   | 6 (37,5)  | 1,000 |
| Да                                                | 9 (56,2)   | 10 (62,5) |       |

\*&lt;0,05; \*\*Fisher's exact test.

Сprovedена је униваријантна логистичка регресија како би се утврдило који фактори су повезани са присуством увећања гингиве код испитиваних пацијената. Резултати униваријантне логистичке регресије указују да постоји статистички значајна повезаност између ST2 и увећања гингиве код пацијената ( $B=190130,78$ ,  $p=0,049$ ). *Hosmer and Lemeshow* тест показује добру прилагођеност модела ( $p=0,938$ ). Вредности за *Cox & Snell R Square* (0,457) и *Nagelkerke R Square* (0,635) сугеришу да је модел умерено добар у објашњавању варијације у зависној променљивој, односно увећању гингиве. У мултиваријаном моделу логистичке регресије, ниједан испитивани фактор није показао статистичку значајност ( $p>0,05$ ).

#### 4.1.2 Анализа клиничких карактеристика и индекса пацијената у односу на присуство/одсуство увећања гингиве и примену амлодипина

Пацијенти ( $n=24$ ) су даље категоризовани у три различите групе: (1) пацијенти који узимају амлодипин и код којих је дошло до увећања гингиве, (2) пацијенти који не узимају амлодипин или било који други лек, али који имају развијено увећање гингиве и (3) пацијенти који узимају амлодипин, али код којих није дошло до увећања гингиве. Ова категоризација је спроведена са циљем да се посебно усмери истраживање клиничког налаза и ткива гингиве, јер је укључивање пацијената без увећања гингиве оцењено као ирелевантно за анализу која се тиче клиничког налаза и анализе ткива гингиве.

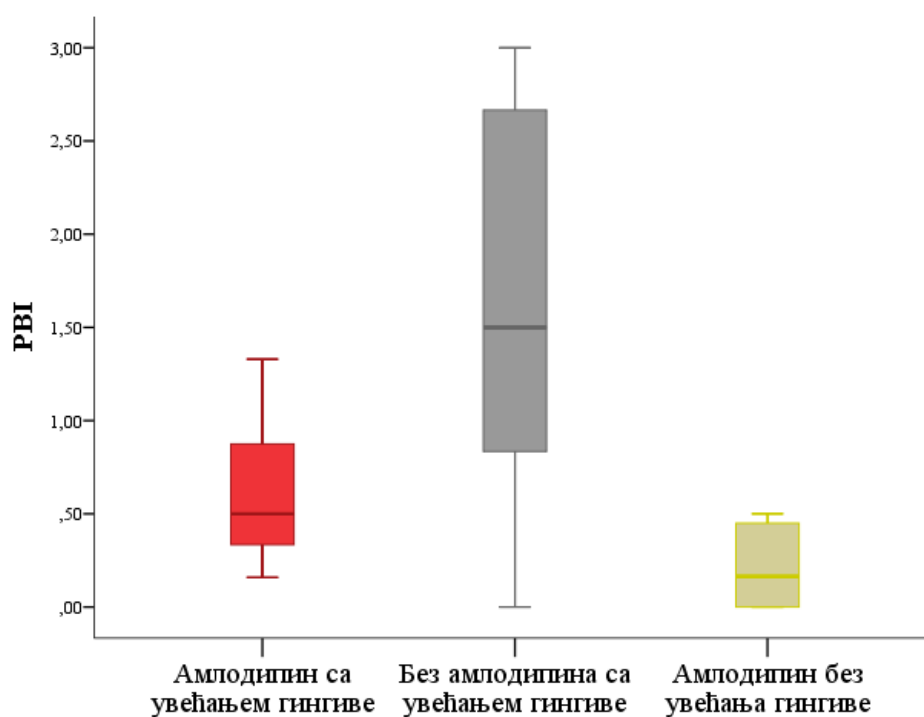
Постојала је значајна разлика у старости пацијена између три испитиване групе, као и у вредностима CCI и CCI процента (Табела 10).

**Табела 10.** Клиничке карактеристике и вредности индекса пацијената подељених према леку и увећању гингиве

|                 | Амлодипин без<br>увећања<br>гингиве<br>Median (IQR) | Без амлодипина<br>са увећањем<br>гингиве<br>Median (IQR) | Амлодипин са<br>увећањем<br>гингиве<br>Median (IQR) | $p^{**}$ |
|-----------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------|
| Старост         | 63,5 (18)                                           | 37,5 (5)                                                 | 66,25 (10)                                          | 0,000    |
| CCI             | 2 (2)                                               | 0 (-)                                                    | 2 (3)                                               | 0,000    |
| CCI<br>проценат | 90 (32)                                             | 98 (-)                                                   | 90 (36)                                             | 0,000    |
| PI              | 0,59 (1,25)                                         | 0,95 (1,13)                                              | 0,84 (0,69)                                         | 0,447    |
| CAL             | 2,32 (3,66)                                         | 0,25 (1,12)                                              | 1,25 (0,69)                                         | 0,960    |

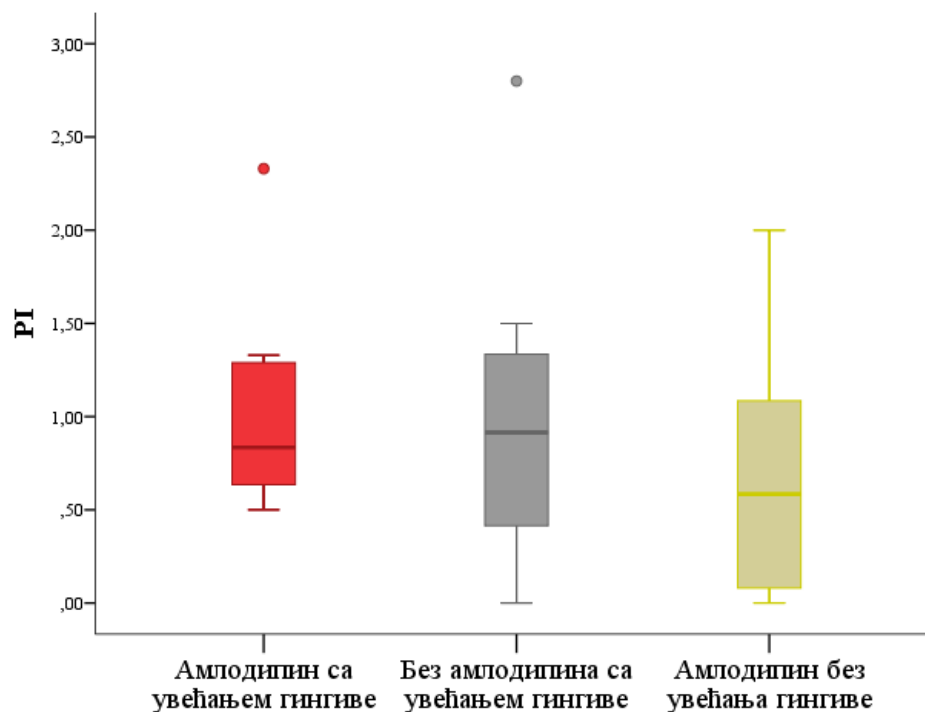
\* $<0,05$ ; \*\*Kruskal Wallis Test.

Пацијенти сврстани у три испитиване групе су се разликовали у вредностима РВІ ( $p=0,000$ ), при чему је медијана код пацијената без увећања гингиве са амлодипином била најнижа односно 0,17, затим код пацијената који су имали увећање гингиве са амлодипином 0,5, док је највећа вредност била код пацијената који су имали увећање гингиве без амлодипина (Слика 6).



Слика 6. Вредности РВІ у испитиваној популацији

Што се тиче PI индекса, статистички значајна разлика није постојала између три испитиване групе у вредностима овог индекса (Слика 7).



Слика 7. Вредности PI у испитиваној популацији

Индекси HI и GHI су посматрани само код пацијената који су имали увећање гингиве, при чему није постојала значајна разлика у вредностима ових индекса у зависности од тога да ли су били на терапији амлодипином или не (Табела 11).

Табела 11. Индекси увећања гингиве код пацијената у зависности од употребе амлодипина

|     | Увећање гингиве<br>без амлодипина<br>Median (IQR) | Увећање гингиве са<br>амлодипином<br>Median (IQR) | p**   |
|-----|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-------|
| HI  | 1,7 (1,53)                                        | 1,4 (1)                                           | 0,959 |
| GHI | 2,0 (67)                                          | 1,63 (0,65)                                       | 0,382 |

\*<0,05; \*\*Mann-Whitney U test

Пацијенти у три испитиване групе разликовали су се у погледу отежане мастикације и коришћења зубног конца и интраденталних четкица (Табела 12).

**Табела 12.** Понашања у вези са оралним здрављем и симптоми посматрани у три групе

|                     | Амлодипин без увећања гингиве<br>N (%) | Без амлодипина са увећањем гингиве<br>N (%) | Амлодипин са увећањем гингиве<br>N (%) | p**   |
|---------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------|-------|
| Дисање на уста      |                                        |                                             |                                        |       |
| Не                  | 5 (62,5)                               | 5 (62,5)                                    | 3 (37,5)                               | 0,670 |
| Да                  | 3 (37,5)                               | 3 (37,5)                                    | 5 (62,5)                               |       |
| Бруксизам           |                                        |                                             |                                        |       |
| Не                  | 7 (57,5)                               | 4 (50,0)                                    | 6 (75,0)                               | 0,402 |
| Да                  | 1 (12,5)                               | 4 (50,0)                                    | 2 (25,0)                               |       |
| Дневне парафункције |                                        |                                             |                                        |       |
| Не                  | 7 (87,5)                               | 5 (62,5)                                    | 8 (100,0)                              | 0,273 |
| Да                  | 1 (12,5)                               | 3 (37,5)                                    | 0 (0,0)                                |       |
| Гингивално крварење |                                        |                                             |                                        |       |
| Не                  | 7 (87,5)                               | 6 (75,0)                                    | 4 (50,0)                               | 0,571 |
| Благо               | 1 (12,5)                               | 1 (12,5)                                    | 2 (25,0)                               |       |
| Умерено             | 0 (0,0)                                | 1 (12,5)                                    | 2 (25,0)                               |       |
| Отежано жвакање*    |                                        |                                             |                                        |       |
| Не                  | 8 (100,0)                              | 6 (75,0)                                    | 2 (25,0)                               | 0,007 |
| Да                  | 0 (0,0)                                | 2 (25,0)                                    | 6 (75,0)                               |       |
| Отежан говор        |                                        |                                             |                                        |       |

|                                                    |           |           |           |       |
|----------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-------|
| Не                                                 | 8 (100,0) | 7 (75,0)  | 6 (75,0)  | 0,747 |
| Да                                                 | 0 (0,0)   | 1 (25,0)  | 2 (25,0)  |       |
| Отежано ношење мобилних зубних надокнада           |           |           |           |       |
| Не                                                 | 1 (12,5)  | 1 (12,4)  | 0 (0,0)   | 0,340 |
| Да                                                 | 1 (12,5)  | 0 (0,0)   | 3 (37,5)  |       |
| Није примењиво                                     | 6 (75,0)  | 7 (87,5)  | 5 (62,5)  |       |
| Поремећај укуса                                    |           |           |           |       |
| Не                                                 | 8 (100,0) | 8 (100,0) | 6 (75,0)  | 0,304 |
| Да                                                 | 0 (0,0)   | 0 (0,0)   | 2 (25,0)  |       |
| Халитоза                                           |           |           |           |       |
| Не                                                 | 6 (75,0)  | 5 (62,5)  | 5 (62,5)  | 1,000 |
| Да                                                 | 2 (25,0)  | 3 (37,5)  | 3 (37,5)  |       |
| Прање зуба најмање два пута дневно                 |           |           |           |       |
| Не                                                 | 3 (37,5)  | 0 (0,0)   | 2 (25,0)  | 0,767 |
| Да                                                 | 5 (62,5)  | 8 (100,0) | 6 (75,0)  |       |
| Употреба водица за испирање уста                   |           |           |           |       |
| Не                                                 | 5 (62,5)  | 4 (50,0)  | 4 (50,0)  | 1,000 |
| Да                                                 | 3 (37,5)  | 4 (50,0)  | 4 (50,0)  |       |
| Коришћење зубног конца или интерденталних четкица* |           |           |           |       |
| Не                                                 | 6 (75,0)  | 2 (25,0)  | 8 (100,0) | 0,007 |
| Да                                                 | 2 (25,0)  | 6 (75,0)  | 0 (0,0)   |       |
| Редовни стоматолошки прегледи                      |           |           |           |       |

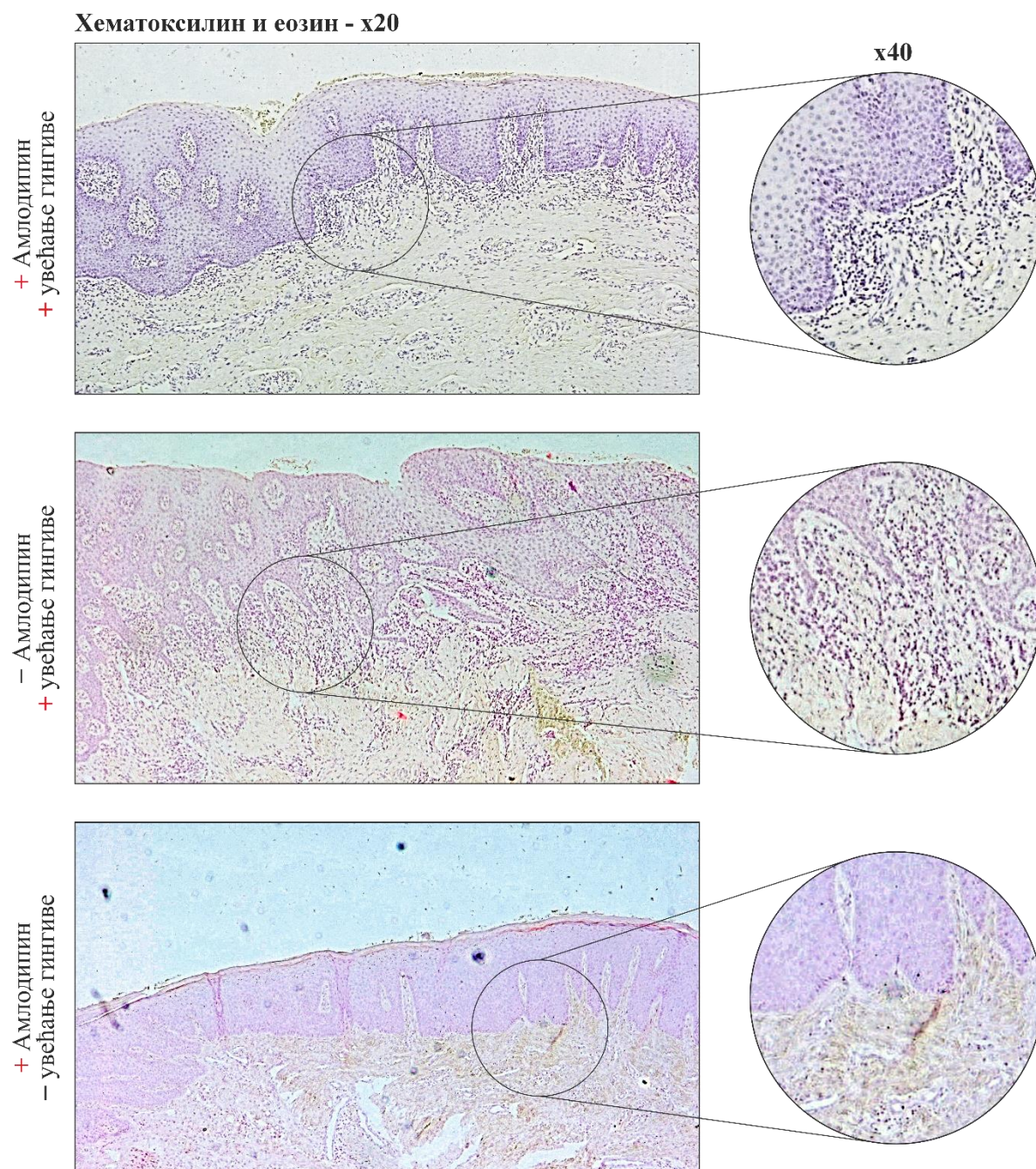
|    |          |          |          |       |
|----|----------|----------|----------|-------|
| Не | 6 (75,0) | 2 (25,0) | 4 (50,0) | 0,191 |
| Да | 2 (25,0) | 6 (75,0) | 4 (50,0) |       |

\* $<0,05$ ; \*\*Fisher's exact test.

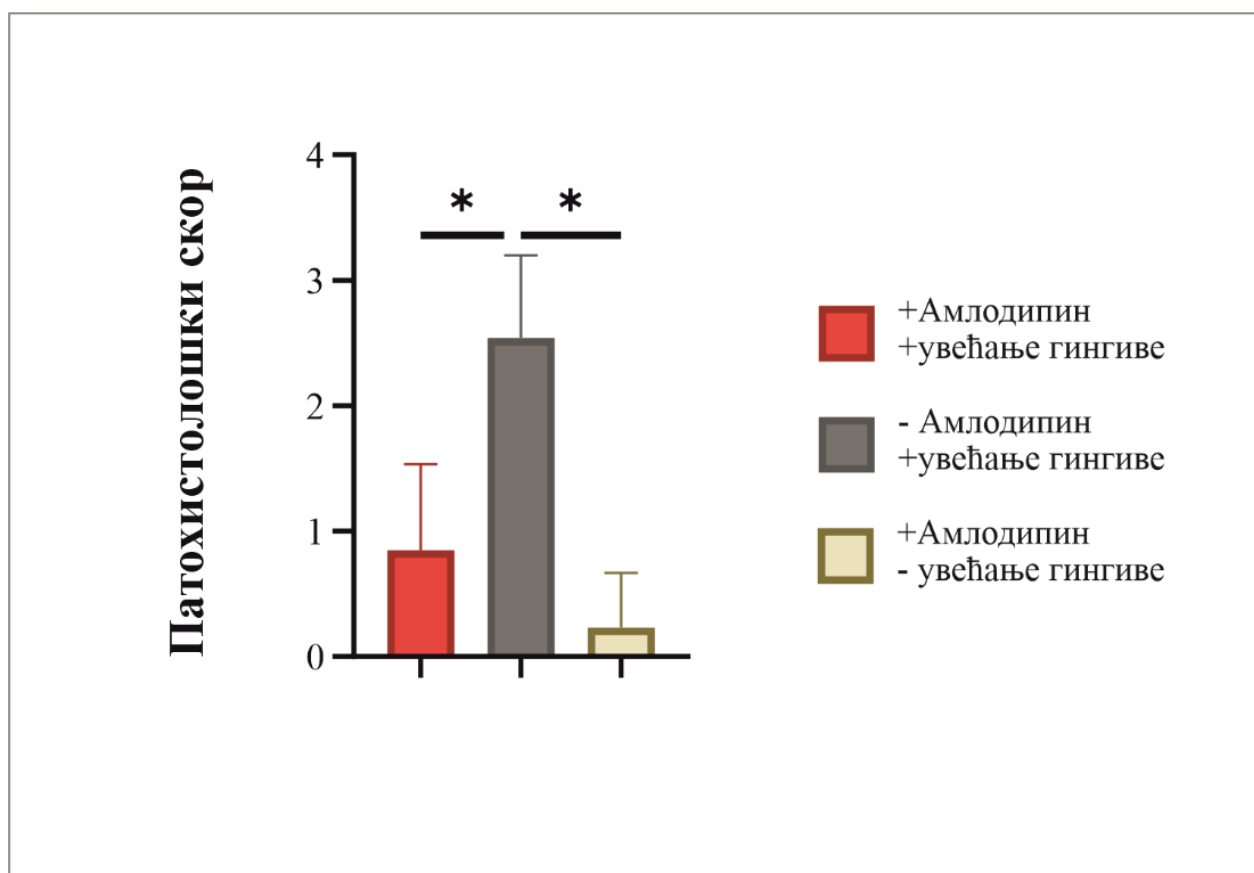
## 4.2 Анализа ткива гингиве

### 4.2.1 Патохистолошка анализа архитектуре ткива гингиве

Патохистолошка анализа изолованог ткива гингиве изведена је на препаратима фиксираним формалином и укалупљеним у парафинске блокове. Коришћењем хематоксилин/еозин технике бојења препарата, у ткиву пацијената са увећањем гингиве установљено је присуство обимне хиперплазије и акантозе епитела и изражених епителних гребена који дубоко задиру између папила везивног ткива, што је карактеристичан налаз код овог типа промена (Слике 8 и 10). Код пацијената на терапији амлодипином са израженим увећањем гингиве, у везивном ткиву гингиве присутни су појединачни фокуси мононуклеарних инфламаторних ћелија. У ткиву пацијената са увећањем гингиве који нису користили амлодипин, у везивном ткиву гингиве, присутна је велика количина инфламаторних ћелија, у виду фокално организованих или дифузно распоређених мононуклеарних ћелија. Патохистолошки скор који је коришћен за анализу показао је статистички значајно веће присуство инфламације у ткиву пацијената који нису користили амлодипин, а имали су увећање гингиве, у односу на друге испитиване групе (Слика 9).

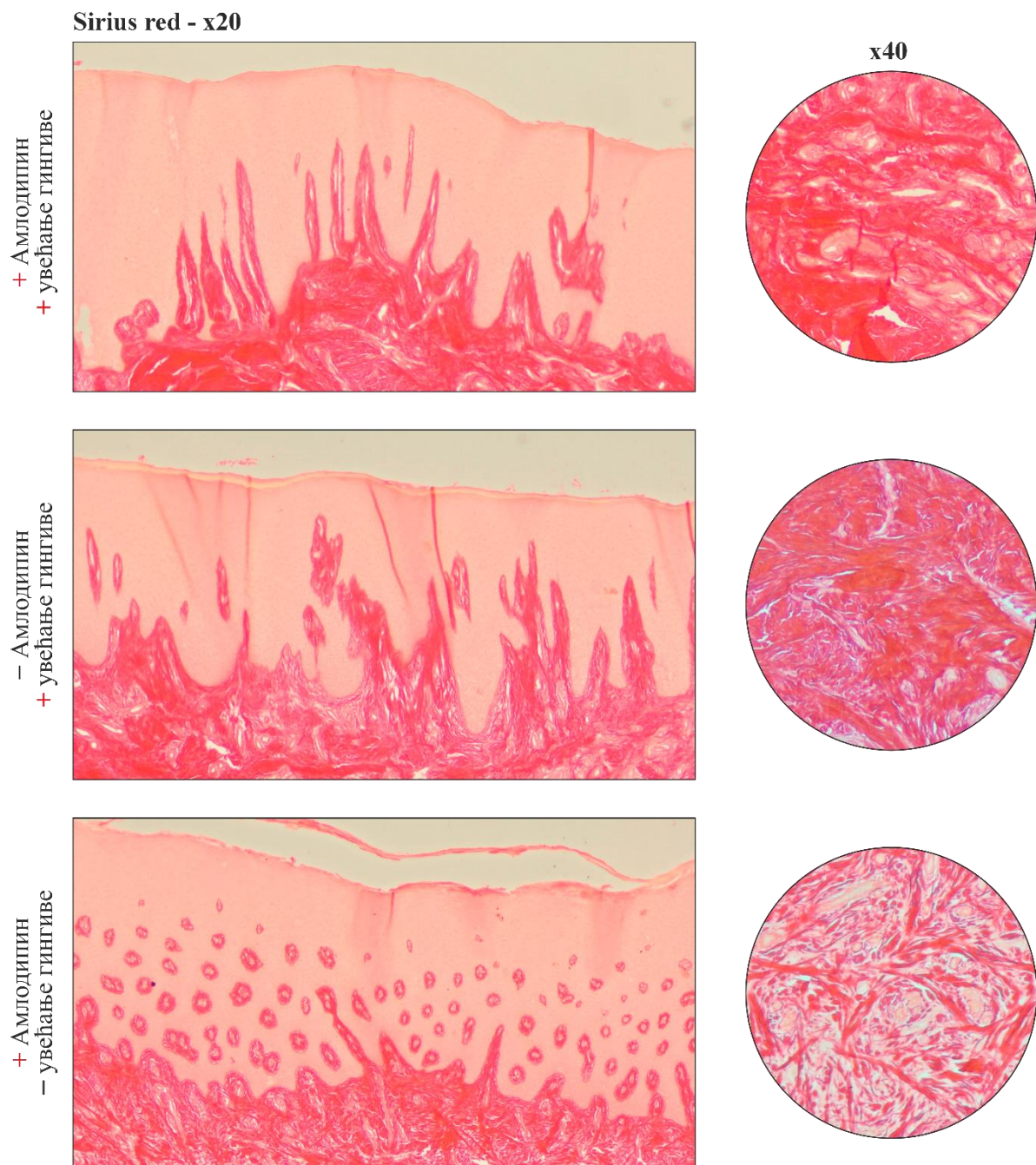


**Слика 8.** Патохистолошка анализа ткива гингиве  
Хематоксилин и еозин техника, фотомикрографије; леви панел x20, десни панел x40

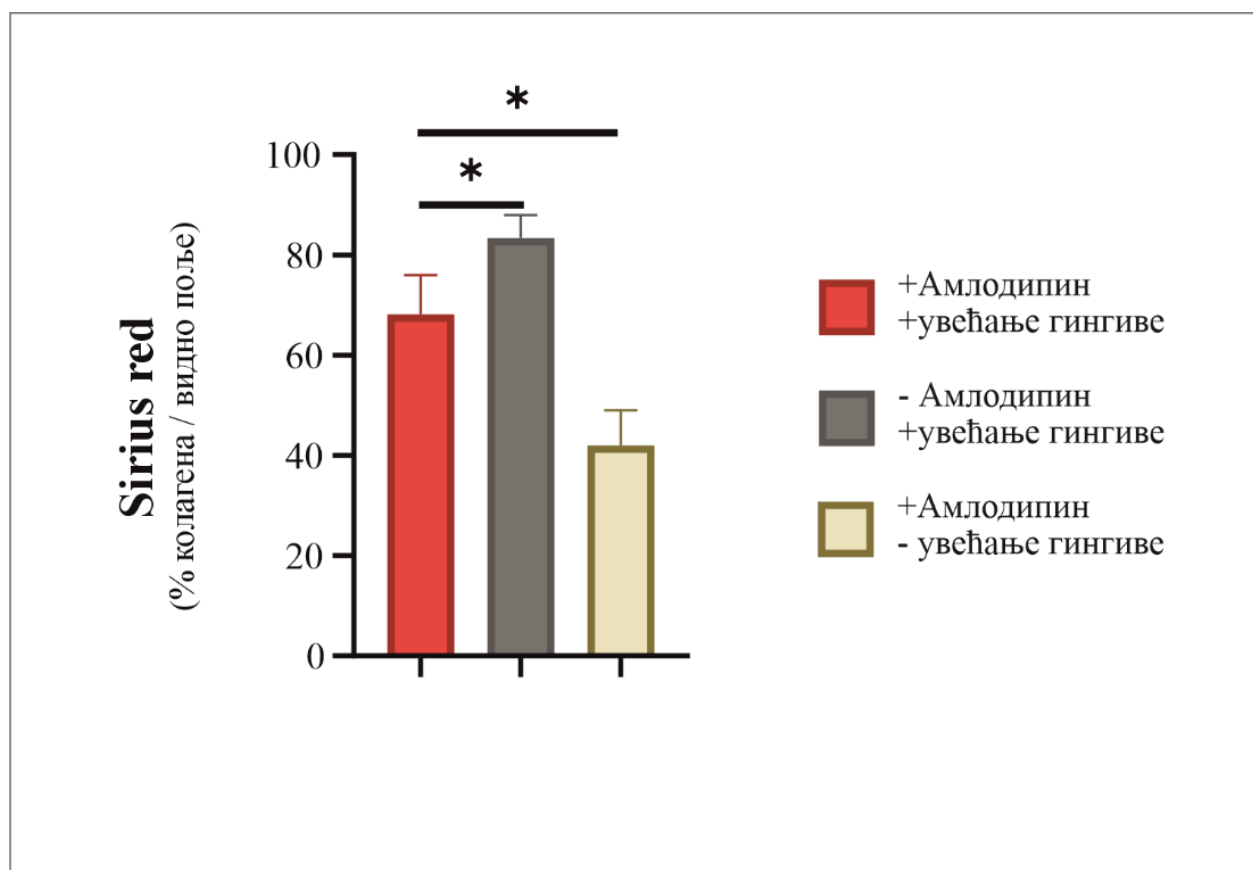


Слика 9. Патохистолошки скор степена инфламације у ткиву гингиве

Коришћењем селективне хистохемијске технике Sirius red, анализирана је архитектура везивног ткива гингиве и структура колагених влакана. На овим препаратима је такође уочено присуство издужених папила везивног ткива испуњених густо распоређеним сноповима колагених влакана код пацијената са увећањем гингиве (Слика 10). У дубљим слојевима везивног ткива гингиве такође је уочено присуство велике количине дебелих снопова колагених влакана, као и повећан број фибробласта и крвних судова у односу на ткиво пацијената без увећања гингиве. Семиквантитативна анализа фотомикрографија је показала да је проценат видног поља које заузимају колагена влакна статистички значајно израженији код пацијената са увећањем гингиве који нису користили амлодипин у поређењу са другим групама (Слика 11).



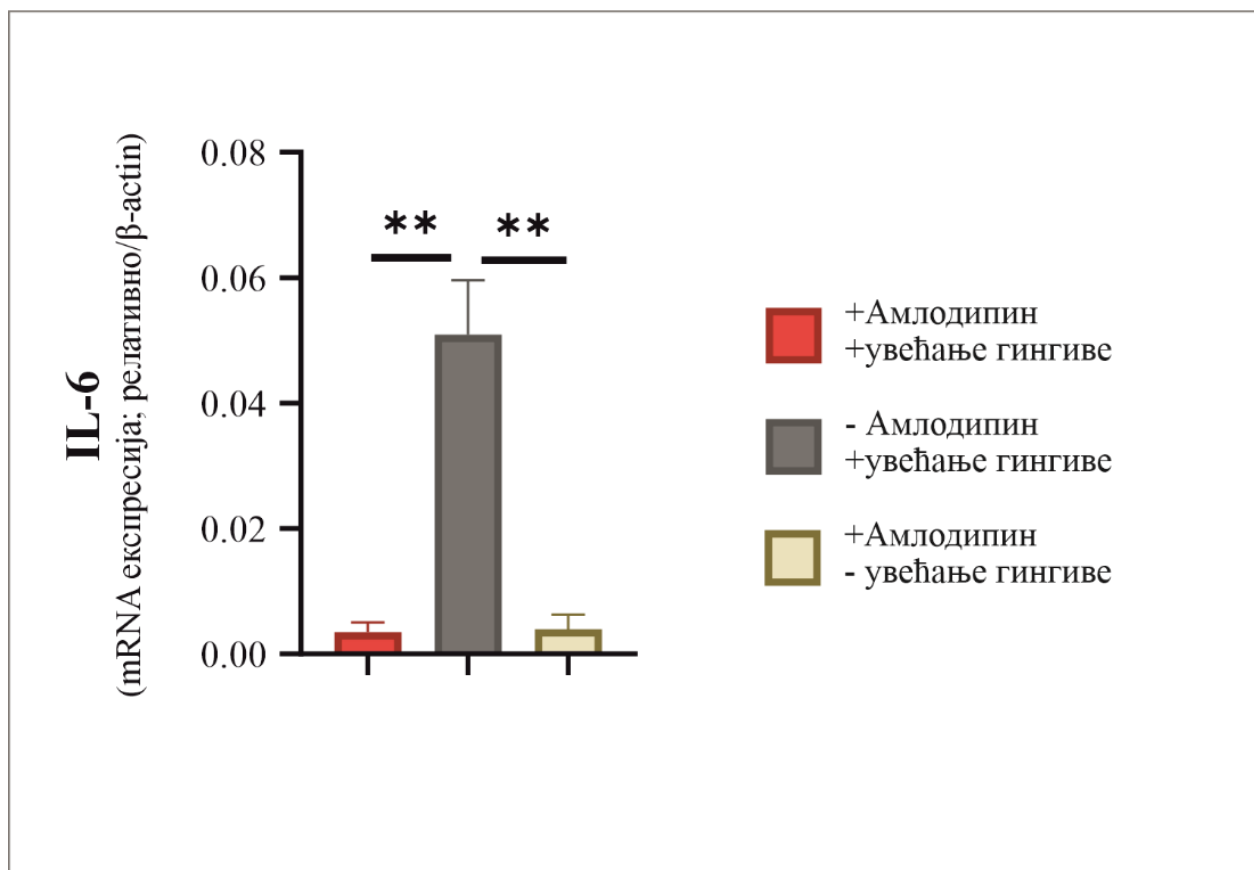
**Слика 10.** Патохистолошка анализа архитектоники везивног ткива гингиве  
Sirius red техника, фотомикрографије; леви панел x20, десни панел x40



**Слика 11.** Семиквантитативна анализа заступљености колагених влакана на фотомикрографијама

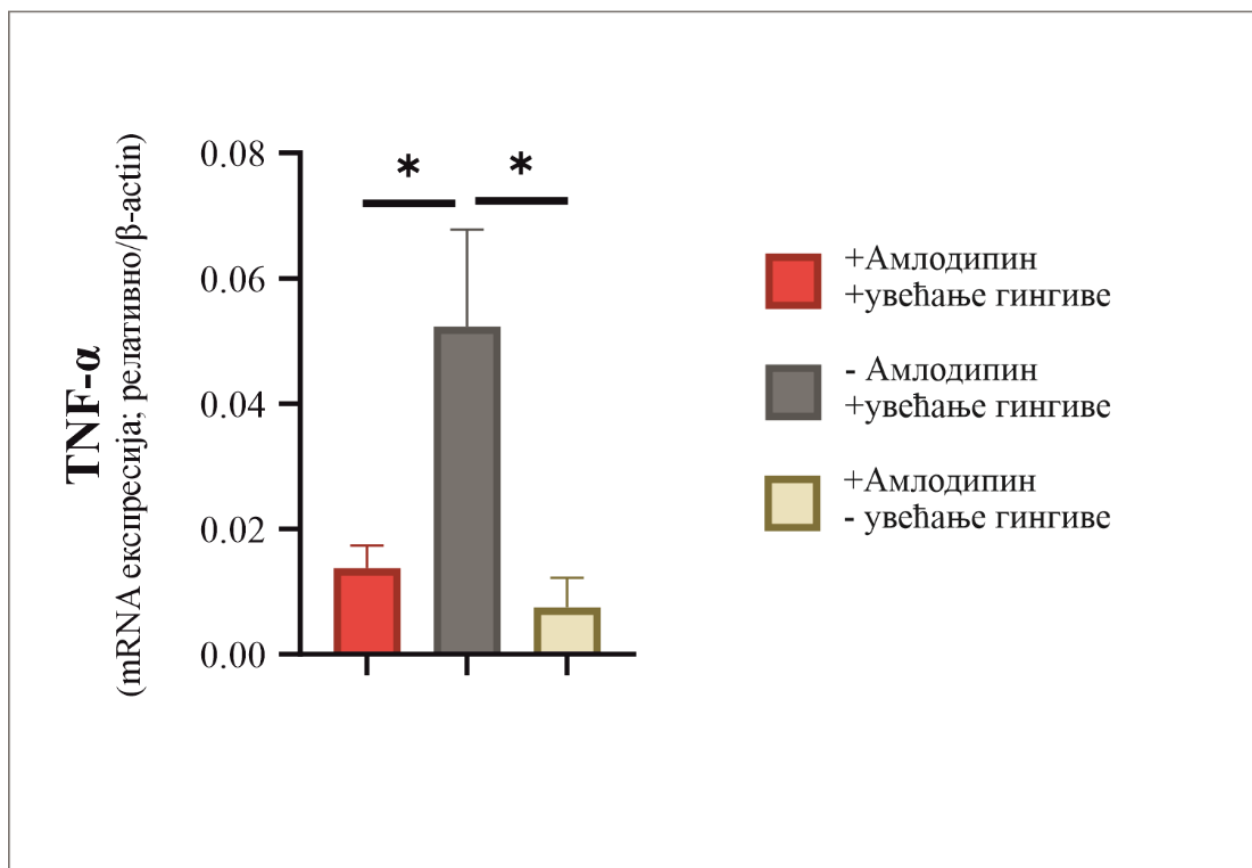
## 4.2.2 Цитокински профил гингивалног ткива

У узорцима гингивалног ткива, RT-PCR анализа је показала значајну разлику у нивоу релативне експресије гена за IL-6 и TNF- $\alpha$ . Конкретно, нивои експресије IL-6 су били су нижи код пацијената који су узимали амлодипин у поређењу са онима који су имали увећање гингиве, а нису узимали амлодипин. Вредности су представљене на Слици 12 као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација (\*\*  $p < 0.01$ )



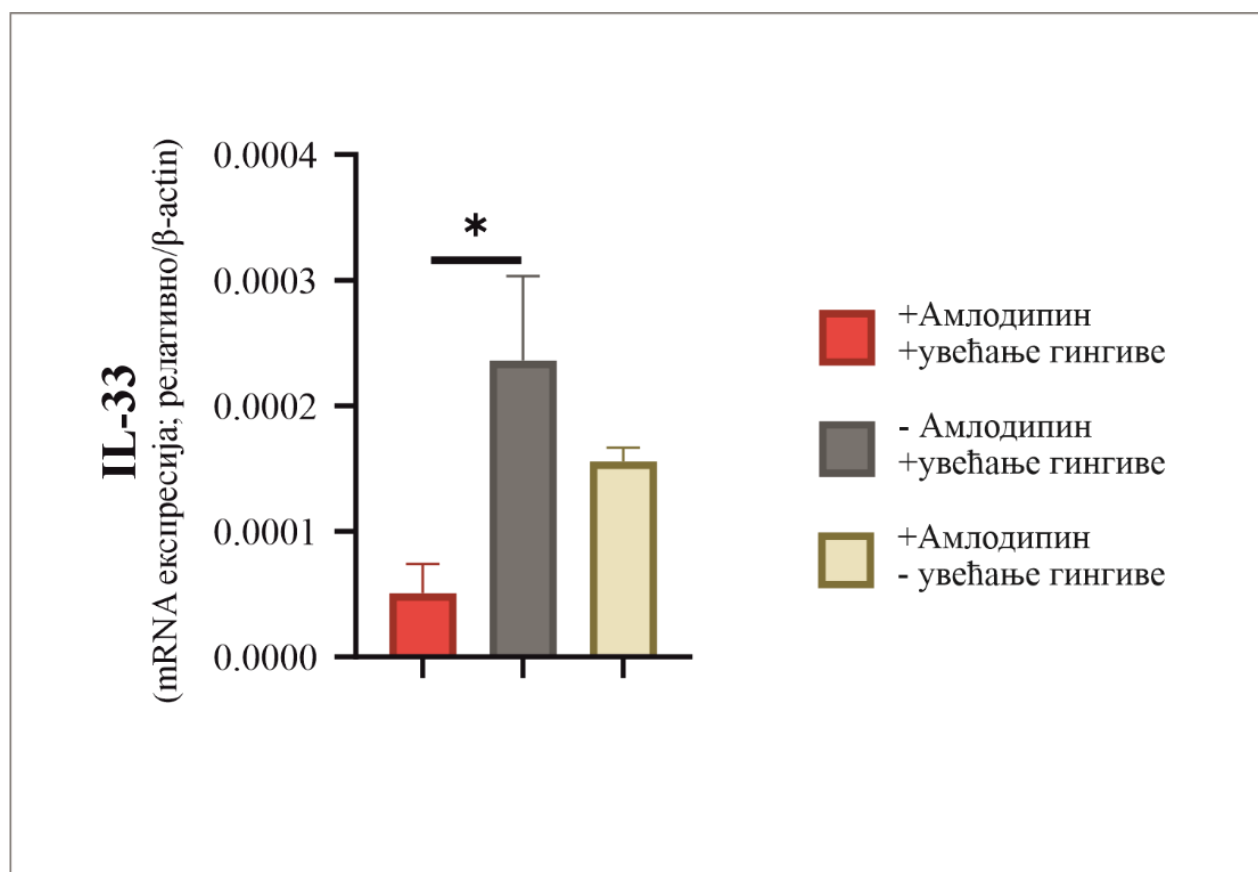
Слика 12. Релативна експресија гена за IL-6 у испитиваној популацији

Релативна експресија гена за TNF- $\alpha$  је била нижа код пацијената који су узимали амлодипин у поређењу са онима који су имали увећање гингиве, а нису узимали амлодипин. Вредности су представљене на Слици 13 као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација (\*  $p < 0.05$ ).



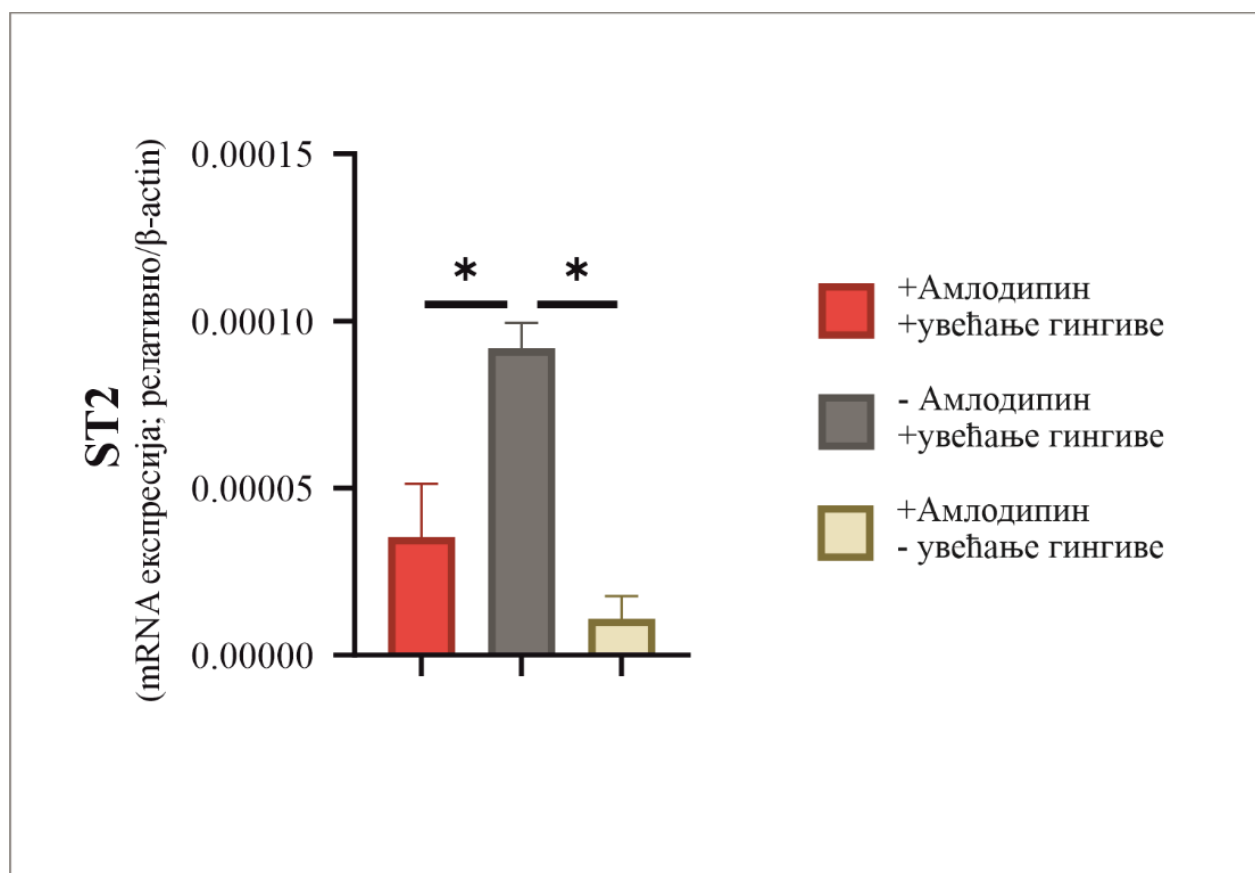
Слика 13. Релативна експресија гена за TNF- $\alpha$  у испитиваној популацији

RT-PCR анализа узорака гингивалног ткива показала је да су нивои релативне експресије гена за IL-33 били значајно нижи код пацијената који су узимали амлодипин и развили увећање гингиве у поређењу са онима који нису узимали амлодипин, али су развили увећање гингиве. Вредности су приказане на Слици 14 као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација (\* $p < 0.05$ ).



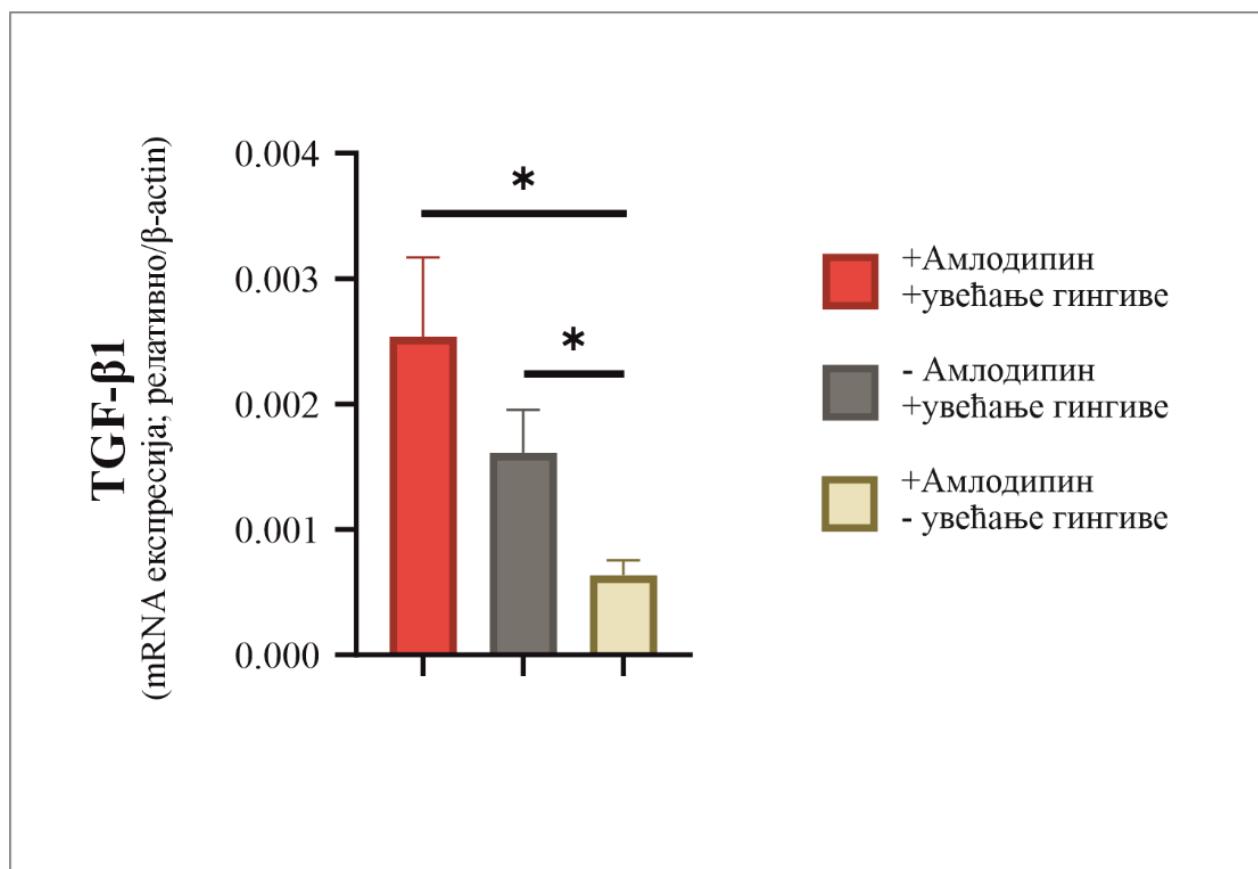
Слика 14. Релативна експресија гена за IL-33 у испитиваној популацији

Нивои релативне експресије гена за ST2 били су значајно различити између групе пацијената који су узимали амлодипин и развили увећање гингиве у поређењу са онима који нису узимали амлодипин, али су имали увећање гингиве, као и између пацијената који нису узимали амлодипин и имали су увећање гингиве и пацијената који су узимали амлодипин, али нису имали овај нежељени ефекат. Вредности су приказане на Слици 15 као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација (\* $p < 0.05$ ).



**Слика 15.** Релативна експресија гена за ST2 у испитиваној популацији

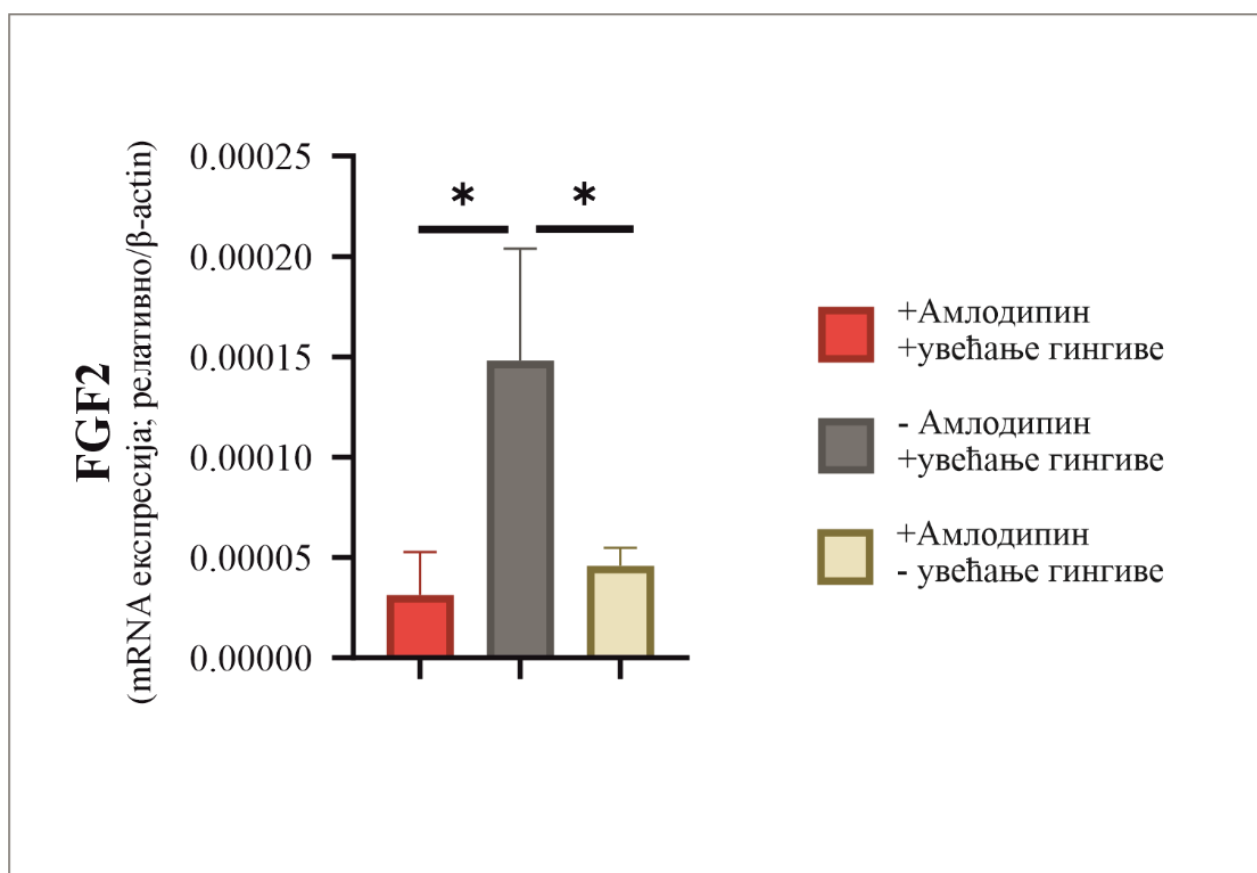
Уочене су значајне разлике у нивоима релативне експресије гена за TGF- $\beta$ 1, као што је приказано на Слици 16, представљено као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација (\* $p < 0.05$ ). Пацијенти који су узимали лек амлодипин и имали развијено увећање гингиве, имали су значајно већи ниво експресије гена за TGF- $\beta$ 1 у односу на пацијенте који нису узимали лек амлодипин, а имали су развијено увећање гингиве, као и у односу на пацијенте који су били на терапији амлодипином, а нису имали увећање гингиве. Такође, пацијенти са развијеним увећањем гингиве који нису узимали лек, имали су значајно веће нивое експресије за TGF- $\beta$ 1 у односу на пацијенте који нису имали увећање гингиве, а узимали су лек амлодипин.



**Слика 16.** Релативна експресија гена за TGF- $\beta$ 1 у испитиваној популацији

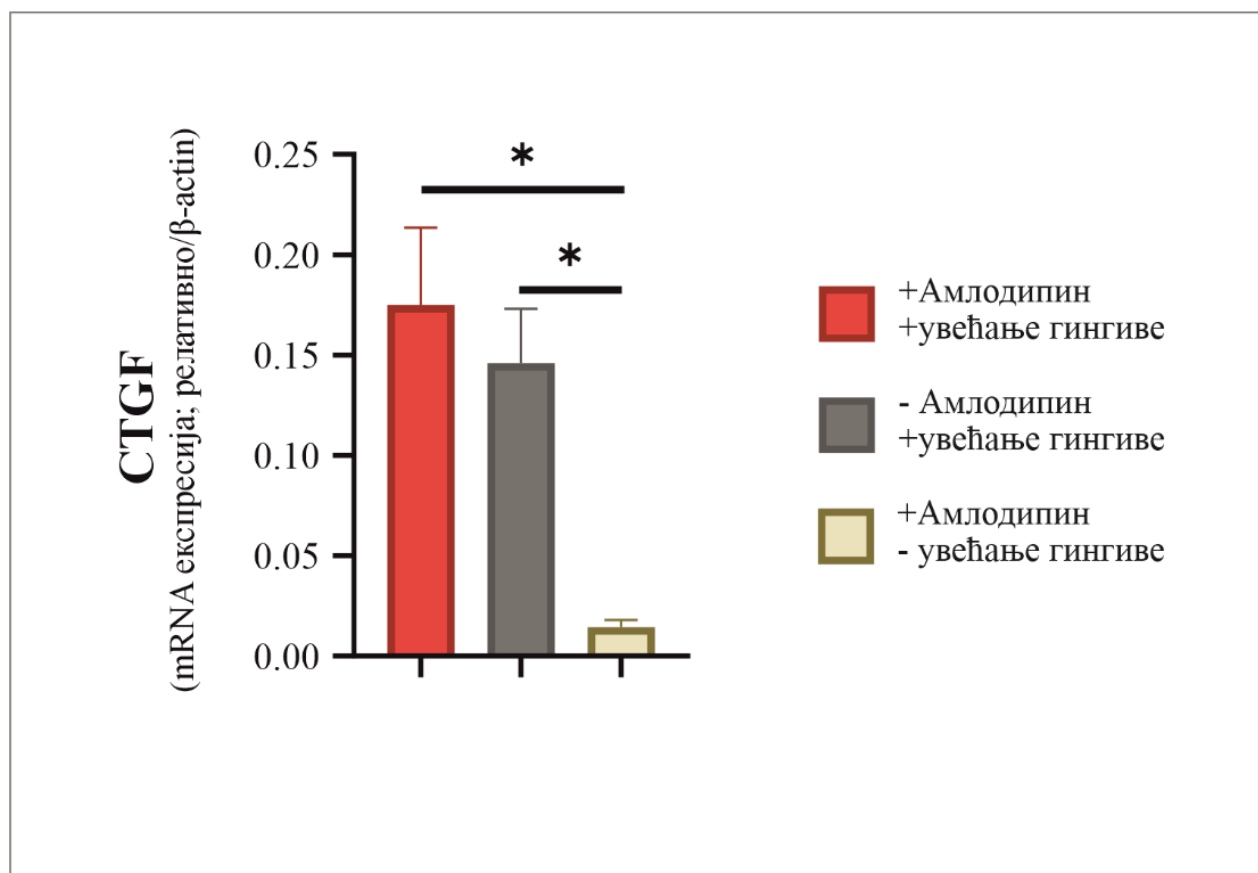
#### 4.2.3 Релативна експресија фактора раста у гингивалном ткиву

Уочене су значајне разлике у експресији FGF-2 између групе пацијената који су узимали амлодипин и развили увећање гингиве у поређењу са онима који нису узимали амлодипин, али су имали увећање гингиве, као и између пацијената који нису узимали амлодипин и имали су увећање гингиве и пацијената који су узимали амлодипин, али нису имали увећање гингиве. Вредности су представљене на Слици 17 као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација (\* $p < 0.05$ ).



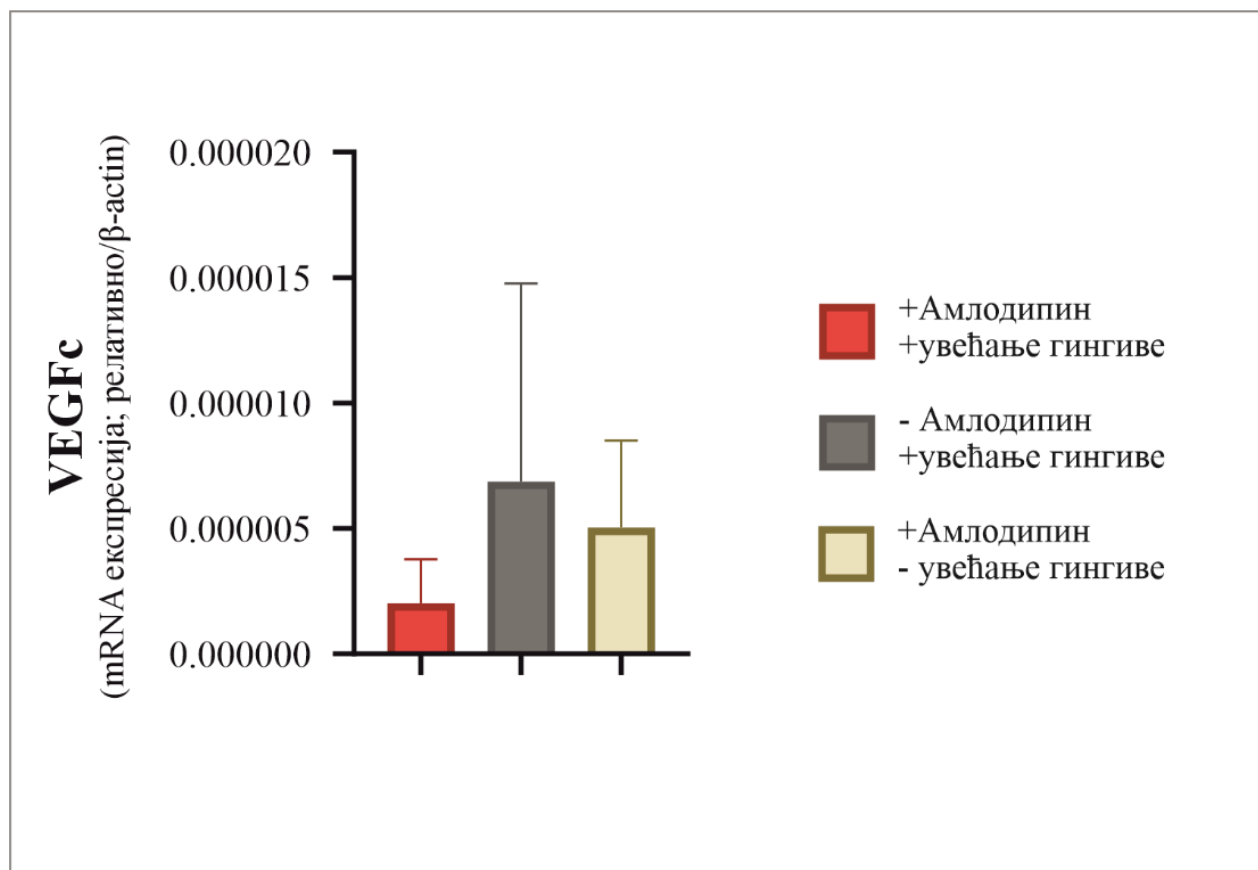
**Слика 17.** Релативна експресија гена за FGF-2 у испитиваној популацији

Постојале су значајне разлике у нивоу експресије CTGF између групе пацијената који су узимали амлодипин и развили увећање гингиве у поређењу са онима који су узимали амлодипин, али нису имали увећање гингиве, као и између пацијената који нису узимали амлодипин и имали су увећање гингиве. Такође, постојала је и статистички значајна разлика између пацијената који су имали увећање гингиве друге етиологије и пацијената на терапији амлодипином без увећања гингиве. Вредности су приказане на Слици 18 као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација (\* $p < 0.05$ ).



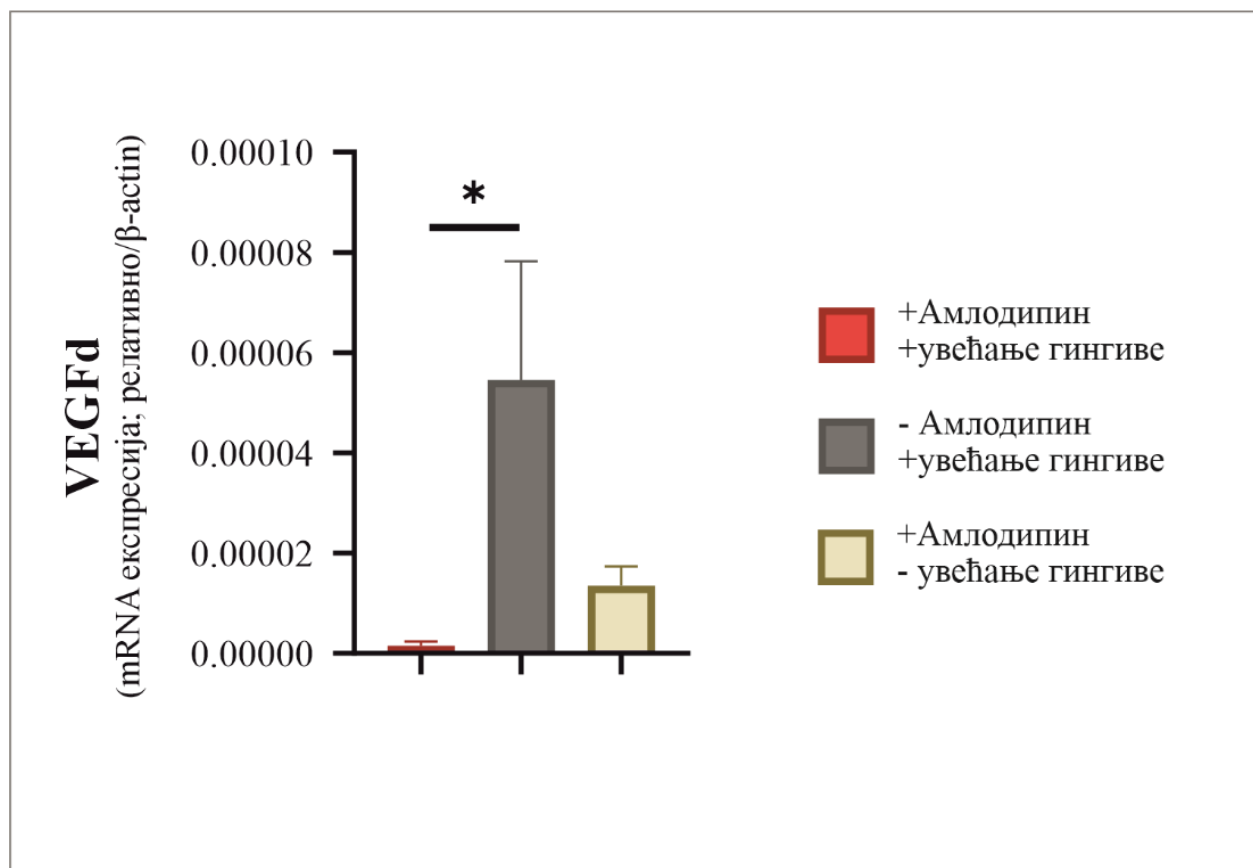
**Слика 18.** Релативна експресија гена за CTGF у испитиваној популацији

Није постојала статистички значајна разлика између група пацијената у случају релативне експресије гена за VEGF-C (Слика 19). Вредности су представљене као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација.



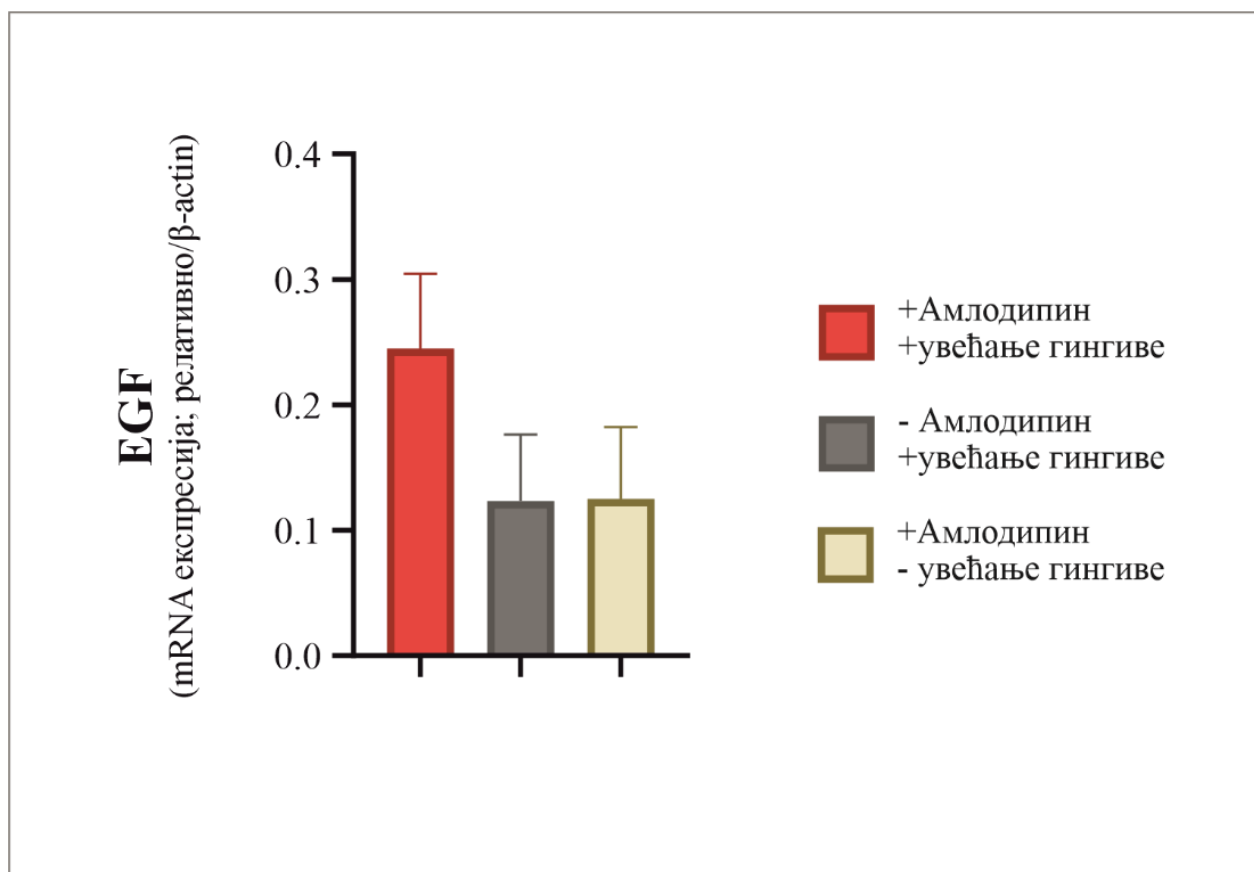
**Слика 19.** Релативна експресија гена за VEGF-C у испитиваној популацији

Пацијенти који су узимали амлодипин и имали развијено увећање гингиве су имали значајно нижи ниво експресије гена за VEGF-D у односу на пацијенте који су имали увећање гингиве друге етиологије (Слика 20). Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација.



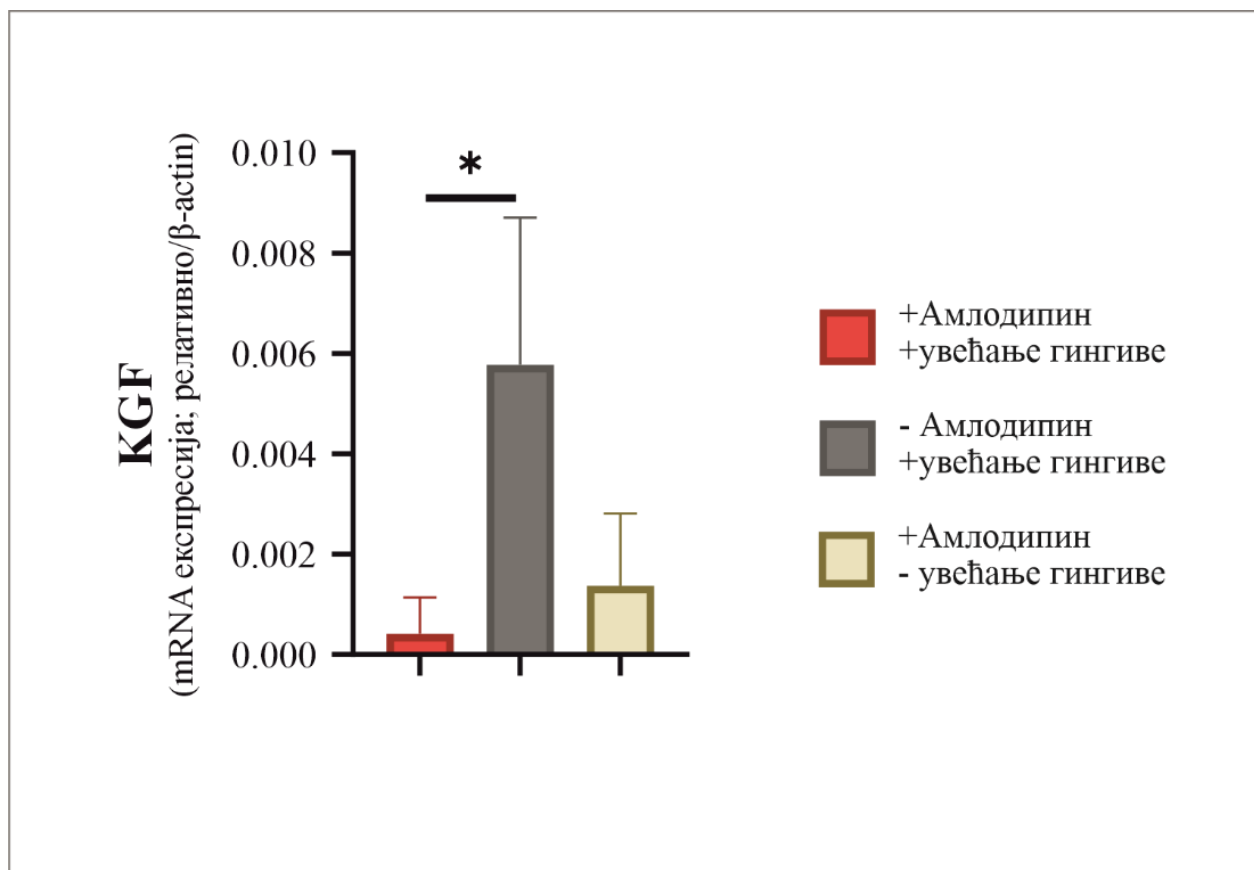
**Слика 20.** Релативна експресија гена за VEGF-D у испитиваној популацији

Није уочена статистички значајна разлика између група испитиваних пацијената у случају релативне експресије гена за EGF (Слика 21). Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација.



Слика 21. Релативна експресија гена за EGF у испитиваној популацији

Установљена је статистички значајна разлика у нивоу релативне експресије гена за KGF између групе пацијената који су имали развијено увећање гингиве и који су узимали лек амлодипин и групе пацијената који су имали развијено увећање гингиве, а нису били на терапији амлодипином (Слика 22). Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација (\* $p < 0.05$ ).

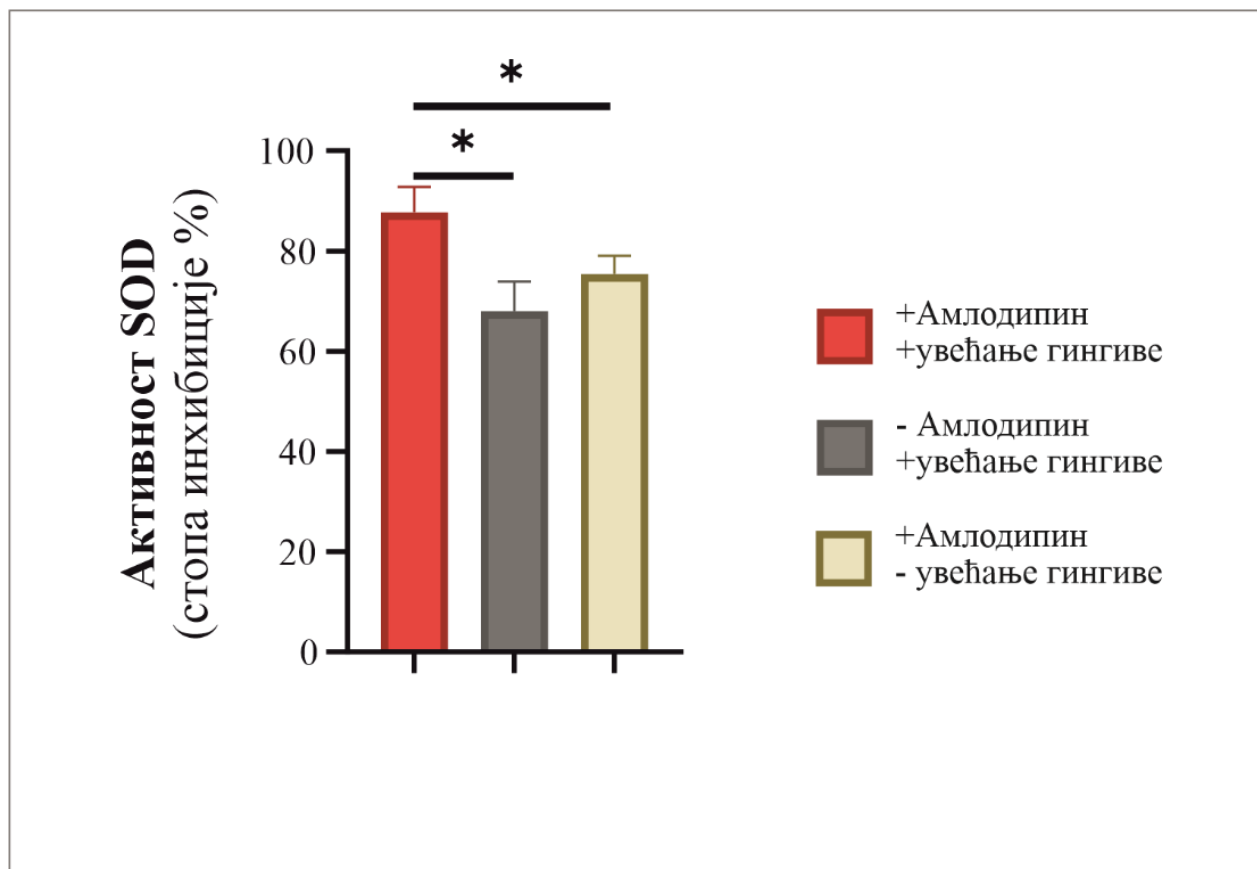


Слика 22. Релативна експресија гена за KGF у испитиваној популацији

#### 4.2.4 Оксидативни статус

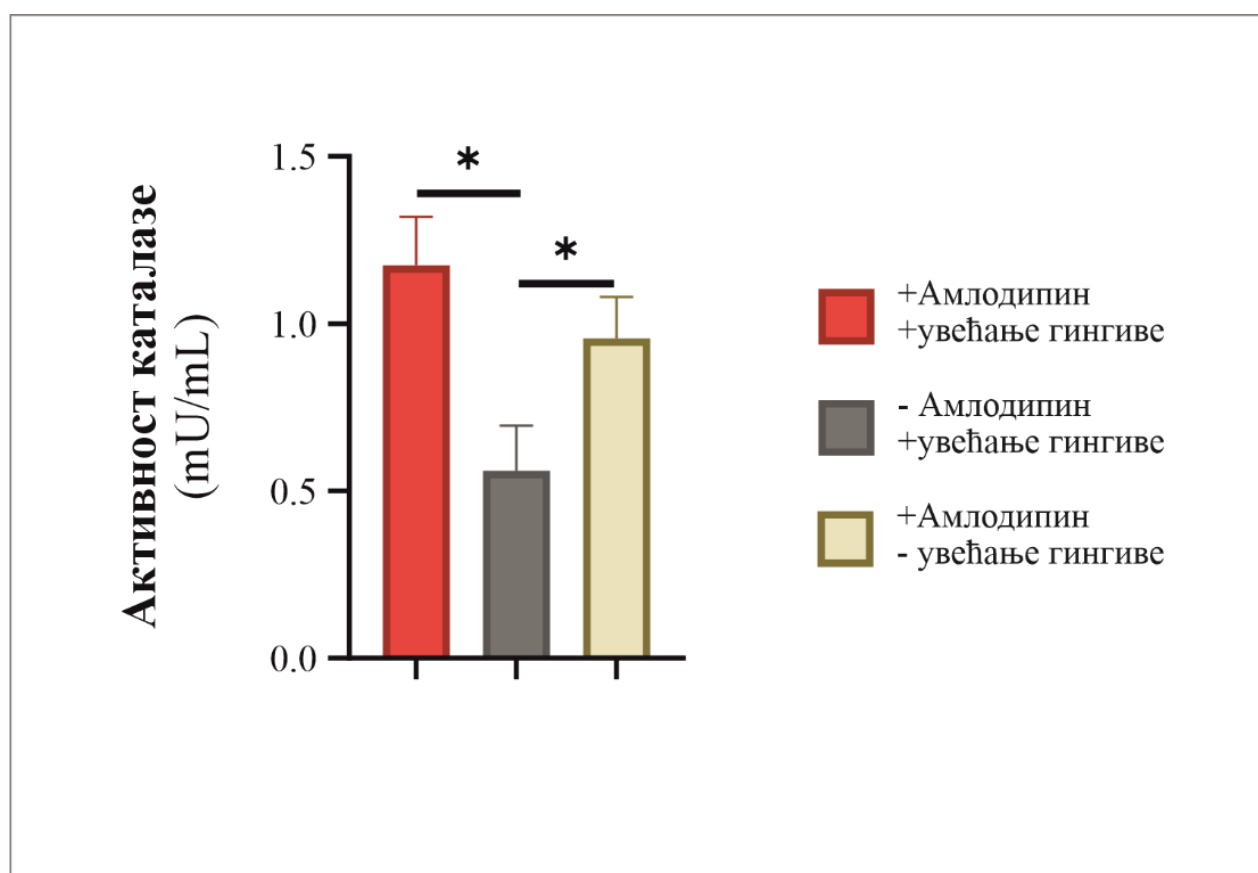
Планирано је да се спектофотометријом одреде нивои азот монооксида (NO) у форми нитрита ( $\text{NO}_2^-$ ), индекса липидне пероксидације (мерено као *Thiobarbituric acid reactive substances* - TBARS), водоник пероксида ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), супероксид анјон радикала ( $\text{O}_2^-$ ), супероксид дизмутаза (SOD) и каталазе (CAT). Међутим, у току експеримента, због немогућности колектовања довољне количине узорка ткива гингиве, посебно у случају пацијената који немају развијено увећање гингиве, и финализирања истраживања овом методом, спектрофотометријска анализа је замењена колориметријском анализом ткива, и одређене су вредности SOD, CAT и MDA.

Коришћењем колориметријског теста, установљен је значајно виши ниво активности SOD у групи пацијената који су узимали амлодипин и развили увећање гингиве у поређењу са пацијентима који су узимали амлодипин, али нису имали увећање гингиве, као и у поређењу са пацијентима који су имали увећање гингиве друге етиологије (Слика 23). Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација (\* $p < 0.05$ ).

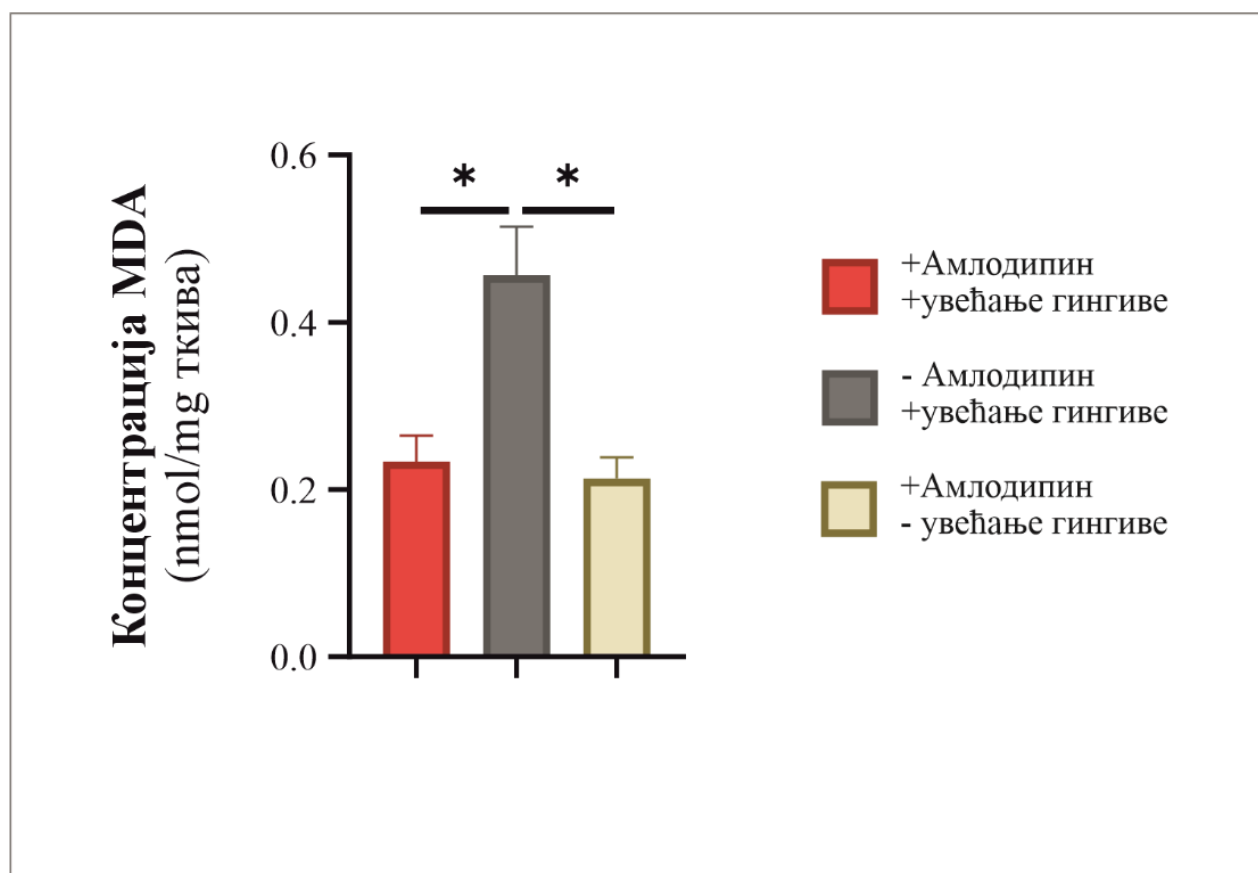


Слика 23. Ниво активности SOD у испитиваној популацији

Нивои активности САТ и концентрација МДА такође су били значајно различити између групе пацијената који су узимали амлодипин и имали увећање гингиве у поређењу са онима који нису узимали амлодипин, али су имали увећање гингиве, као и између пацијената који нису узимали амлодипин и имали су увећање гингиве и пацијената који су узимали амлодипин, али нису имали увећање гингиве (Слике 24 и 25). Вредности су показане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација (\* $p < 0.05$ ).



Слика 24. Ниво активности САТ у испитиваној популацији



Слика 25. Концентрација MDA у испитиваној популацији

### 4.3 Анализа квалитета живота пацијената

Просечна вредност ОНIP-14 скорa износила је  $9,38 \pm 9,139$ , при чему је минимална вредност износила 0, а максимална 32. Вредност скорa ОНIP-14 скале се није разликовала у односу на социодемографске карактеристике. У Табели 13 су представљене медијане вредности ОНIP-14 у односу на различите социодемографске карактеристике.

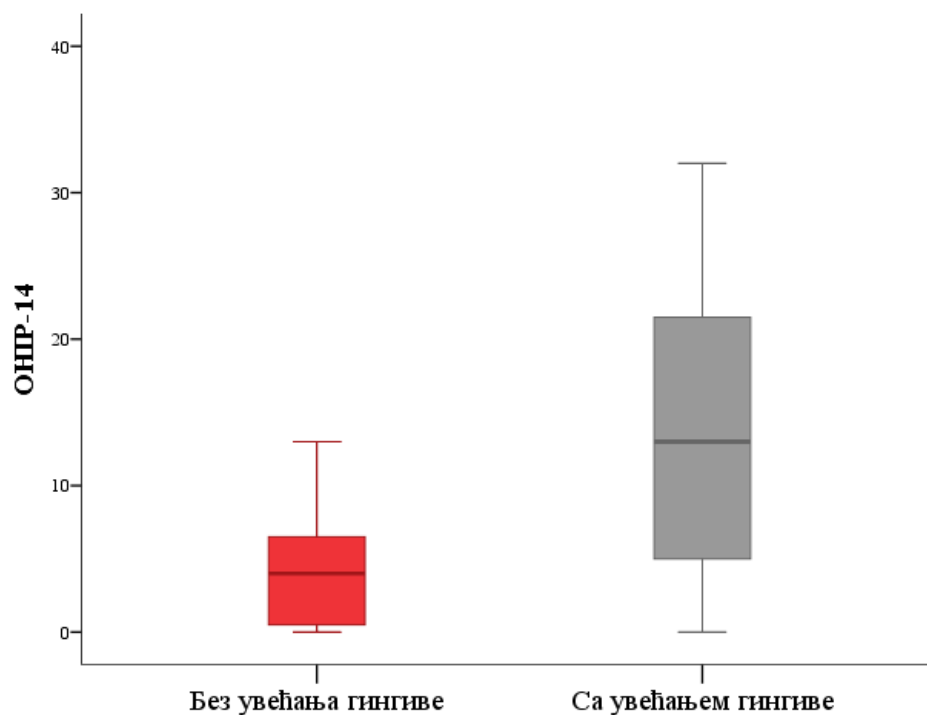
**Табела 13.** Вредност скорa ОНIP-14 скале у односу на социодемографске карактеристике

| Характеристике    |                         |       |
|-------------------|-------------------------|-------|
|                   | ОНIP-14<br>Median (IQR) | p     |
| Пол               |                         |       |
| Мушки             | 4 (7)                   | 0,232 |
| Женски            | 9 (18)                  |       |
| Степен образовања |                         |       |
| Основна           | 20 (-)                  | 0,272 |
| Средња            | 5 (10)                  |       |
| Факултет          | 2 (12)                  |       |
| Мастер/докторат   | 13 (-)                  |       |
| Запосленост       |                         |       |
| Да                | 5 (10)                  | 0,664 |
| Не                | 4,5 (10)                |       |
| У пензији         | 16 (22)                 |       |
| Брачно стање      |                         |       |
| Самац             | 5 (-)                   | 0,836 |

|                      |          |       |
|----------------------|----------|-------|
| У вези               | - (-)    |       |
| У браку              | 5 (11)   |       |
| Разведен/а           | 13 (25)  |       |
| Удовац/ца            | 12 (22)  |       |
| Конзумирање алкохола |          |       |
| Не                   | 4 (18)   | 0,536 |
| Умерено              | 8 (9)    |       |
| Физичка активност    |          |       |
| Не                   | 17 (19)  | 0,099 |
| Повремено            | 5 (10)   |       |
| Редовно              | 4 (7)    |       |
| Придружена обољења   |          |       |
| Да                   | 3,5 (18) | 0,404 |
| Не                   | 6,5 (10) |       |
| Додатна терапија     |          |       |
| Да                   | 9 (20)   | 0,775 |
| Не                   | 13 (12)  |       |
| Примена лека         |          |       |
| Не примењује         | 5 (10)   |       |

|              |           |       |
|--------------|-----------|-------|
| Амлодипин    | 2,5 (16)  | 0,389 |
| Комбинација  | 12 (18)   |       |
| Доза         |           |       |
| Не примењује | 5 (10)    | 0,738 |
| 5mg          | 10,5 (19) |       |
| 10mg         | 15 (-)    |       |

Када су посматрани пацијенти у односу на присуство увећања гингиве, постојала је разлика ( $p=0,002$ ) у вредностима скорa ОНП-14 скале при чему су пацијенти са увећањем гингиве имали веће вредности, као што је приказано на Слици 26.



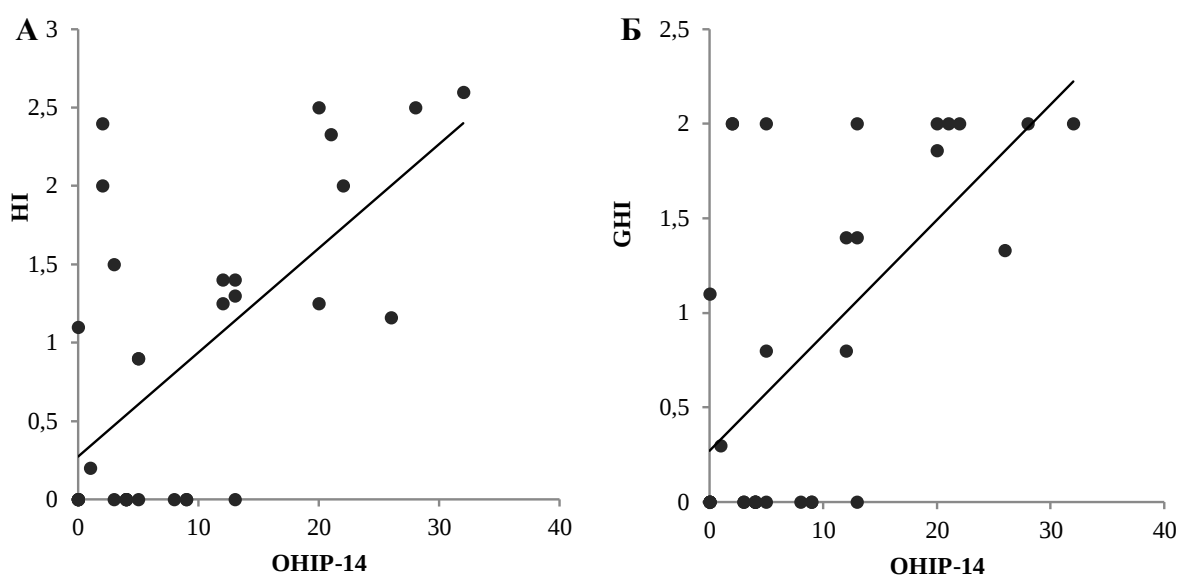
**Слика 26.** Скор ОНП-14 скале код пацијената са и без увећања гингиве

Показана је позитивна корелација између вредности скорa ОНIP-14 скале и систолног притиска и вредности PBI (Табела 14).

**Табела 14.** Корелација вредности скорa ОНIP-14 скале и осталих параметара

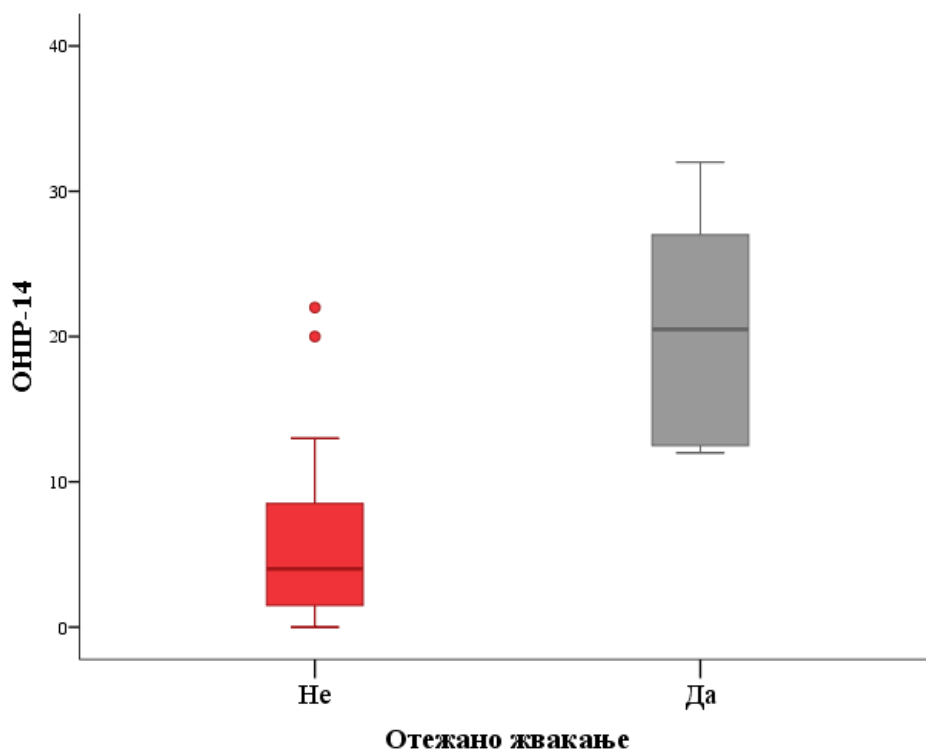
|                                   | ОНIP-14<br>Spearman rho/p |
|-----------------------------------|---------------------------|
| Старост                           | 0,181/0,320               |
| Дужина примене лека у месецима    | 0,218/0,323               |
| Дужина трајања болести у годинама | 0,279/0,122               |
| Систолни притисак                 | <b>0,554/0,026</b>        |
| Дијастолни притисак               | 0,217/0,419               |
| CCI                               | 0,154/0,401               |
| CCI<br>проценат                   | -0,118/0,520              |
| PI                                | 0,100/0,585               |
| PBI                               | <b>0,351/0,049</b>        |
| CAL                               | -0,202/0,269              |

Такође, показана је позитивна корелација између вредности ОНП-14 и НІ ( $\rho=0,639$ ,  $p=0,000$ ) и GHI ( $\rho=0,621$ ,  $p=0,000$ ) што је приказано на Слици 27.



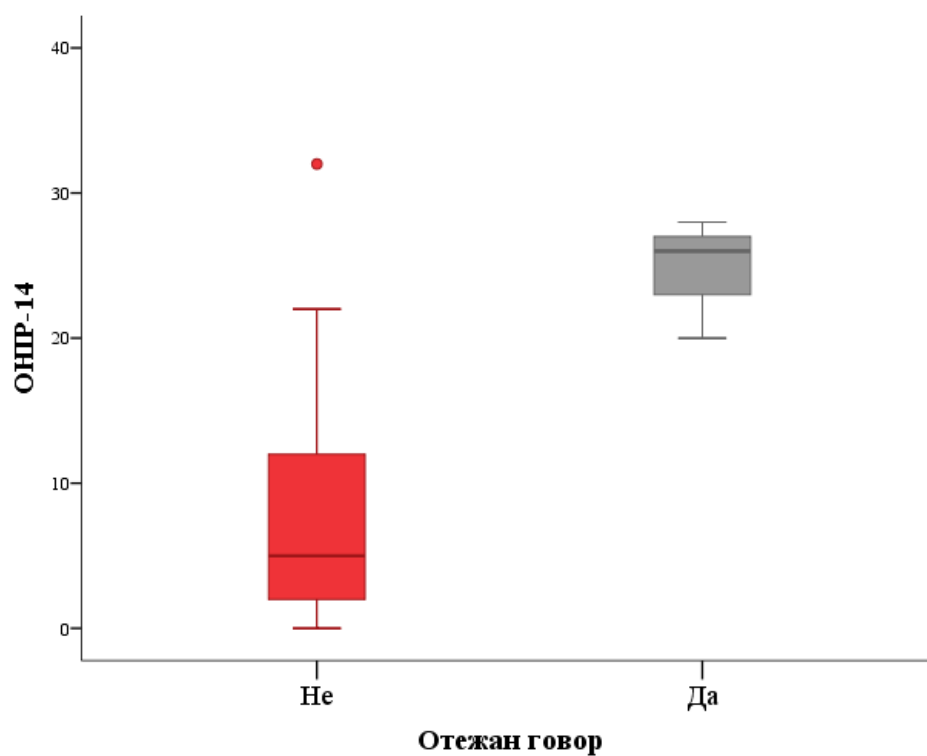
Слика 27. Корелација скова ОНП-14 скале и (А) НІ и (Б) GHI

Вредности сора ОНП-14 скале су се значајно разликовале код пацијената у односу на присуство отежаног жвакања ( $p=0,000$ ) или не, при чему је вредност медијане биле већа код пацијената са отежаним жвакањем (Слика 28).



**Слика 28.** Вредности сора ОНП-14 скале у односу на постојање отежаног жвакања

Такође, разлика је показана и у зависности од присуства отежаног говора код пацијената када су посматране вредности ОНП-14 скала, при чему су пацијенти са присутним отежаним говором имали већу вредност медијане у односу на пацијенте који нису имали ову карактеристику, што је приказано на Слици 29 ( $p=0,006$ ).



**Слика 29.** Вредности скала ОНП-14 скале у односу на постојање отежаног говора

Разлика у вредностима скорa ОНIP-14 скале у односу на друге клиничке карактеристике није показана (Табела 15).

**Табела 15.** Понашања у вези са оралним здрављем и симптоми у односу на ОНIP-14

|                                          | ОНIP-14<br>Median (IQR) | P     |
|------------------------------------------|-------------------------|-------|
| Дисање на уста                           |                         |       |
| Не                                       | 4,5 (12)                | 0,289 |
| Да                                       | 10,5 (14)               |       |
| Бруксизам                                |                         |       |
| Не                                       | 8 (17)                  | 0,483 |
| Да                                       | 5 (12)                  |       |
| Дневне парафункције                      |                         |       |
| Не                                       | 6,5 (13)                | 1,000 |
| Да                                       | 4,5 (14)                |       |
| Гингивално крварење                      |                         |       |
| Не                                       | 4 (11)                  | 0,248 |
| Благо                                    | 12 (17)                 |       |
| Умерено                                  | 9 (19)                  |       |
| Отежано ношење мобилних зубних надокнада |                         |       |
| Не                                       | 1,5 (-)                 | 0,099 |
| Да                                       | 21 (18)                 |       |
| Није примењиво                           | 5 (10)                  |       |
| Поремећај укуса                          |                         |       |
| Не                                       | 5 (11)                  | 0,048 |
| Да                                       | 23,5 (-)                |       |

|                                                   |          |       |
|---------------------------------------------------|----------|-------|
| Халитоза                                          |          |       |
| Не                                                | 5 (11)   | 0,389 |
| Да                                                | 5 (17)   |       |
| Прање зуба најмање два пута дневно                |          |       |
| Не                                                | 4 (21)   | 0,920 |
| Да                                                | 5 (11)   |       |
| Употреба водица за испирање уста                  |          |       |
| Не                                                | 4,5 (19) | 0,925 |
| Да                                                | 7 (10)   |       |
| Коришћење зубног конца или интерденталних четкица |          |       |
| Не                                                | 9 (17)   | 0,208 |
| Да                                                | 5 (13)   |       |
| Редовни стоматолошки прегледи                     |          |       |
| Не                                                | 4 (20)   | 0,910 |
| Да                                                | 5 (10)   |       |

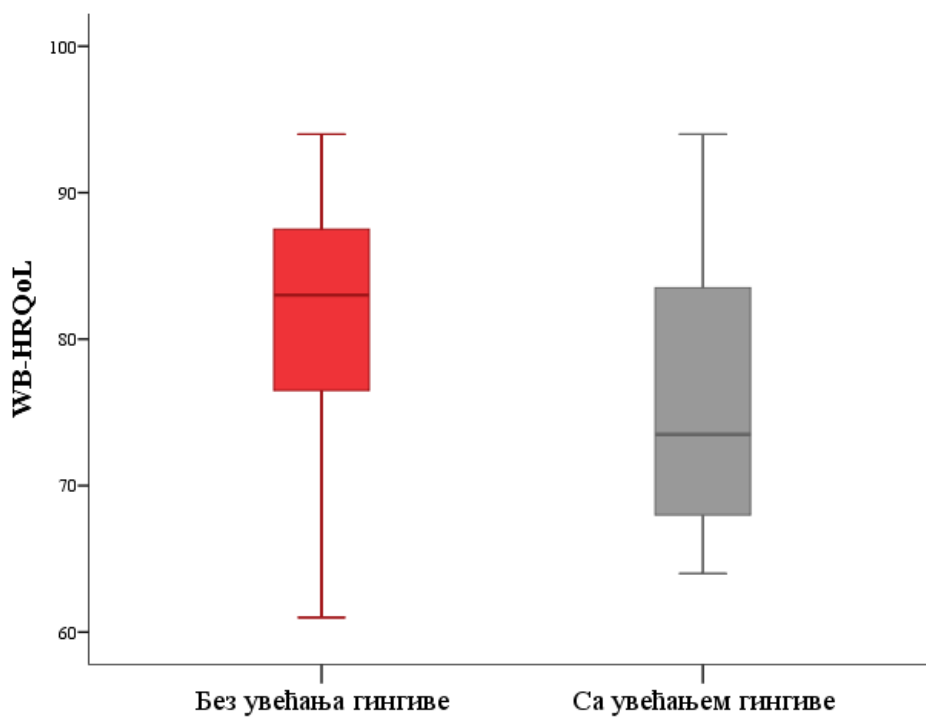
Просечна вредност WB-HRQoL скорa износила је  $78,31 \pm 9,552$ , при чему је минимална вредност износила 61, а максимална 94. Вредност WB-HRQoL се значајно разликовала у односу на пол, запосленост, брачно стање, физичку активност, придружена обољења и примену лека. У Табели 16 су представљене медијане вредности WB-HRQoL у односу на различите социодемографске карактеристике.

**Табела 16.** Вредност скорa WB-HRQoL скале у односу на социодемографске карактеристике

| WB-HRQoL<br>Median (IQR) |          |       | P |
|--------------------------|----------|-------|---|
| Пол                      |          |       |   |
| Мушки                    | 86 (14)  | 0,017 |   |
| Женски                   | 76 (14)  |       |   |
| Степен образовања        |          |       |   |
| Основна                  | 73 (-)   | 0,405 |   |
| Средња                   | 81 (12)  |       |   |
| Факултет                 | 78 (20)  |       |   |
| Мастер/докторат          | 76,5 (-) |       |   |
| Запосленост              |          |       |   |
| Да                       | 84 (14)  | 0,038 |   |
| Не                       | 79 (10)  |       |   |
| У пензији                | 67 (13)  |       |   |
| Брачно стање             |          |       |   |
| Самац                    | 86 (-)   | 0,034 |   |
| У вези                   | - (-)    |       |   |
| У браку                  | 79 (16)  |       |   |
| Разведен/а               | 80 (15)  |       |   |
| Удовац/ца                | 66 (10)  |       |   |

| Конзумирање алкохола |           |       |
|----------------------|-----------|-------|
| Не                   | 80 (20)   | 0,711 |
| Умерено              | 79 (13)   |       |
| Физичка активност    |           |       |
| Не                   | 68 (8)    | 0,033 |
| Повремено            | 81 (13)   |       |
| Редовно              | 86 (16)   |       |
| Придružена обољења   |           |       |
| Да                   | 69,5 (20) | 0,046 |
| Не                   | 81,5 (14) |       |
| Додатна терапија     |           |       |
| Да                   | 72 (13)   | 0,075 |
| Не                   | 88 (22)   |       |
| Примена лека         |           |       |
| Не примењује         | 85 (11)   | 0,030 |
| Амлодипин            | 76,5 (23) |       |
| Комбинација          | 72 (14)   |       |
| Доза                 |           |       |
| Не примењује         | 85 (11)   | 0,027 |
| 5mg                  | 73 (16)   |       |
| 10mg                 | 65,5 (-)  |       |

Када су посматрани пацијенти у односу на присуство увећања гингиве, није постојала разлика ( $p=0,149$ ) у вредностима WB-HRQoL, као што је приказано на Слици 30.



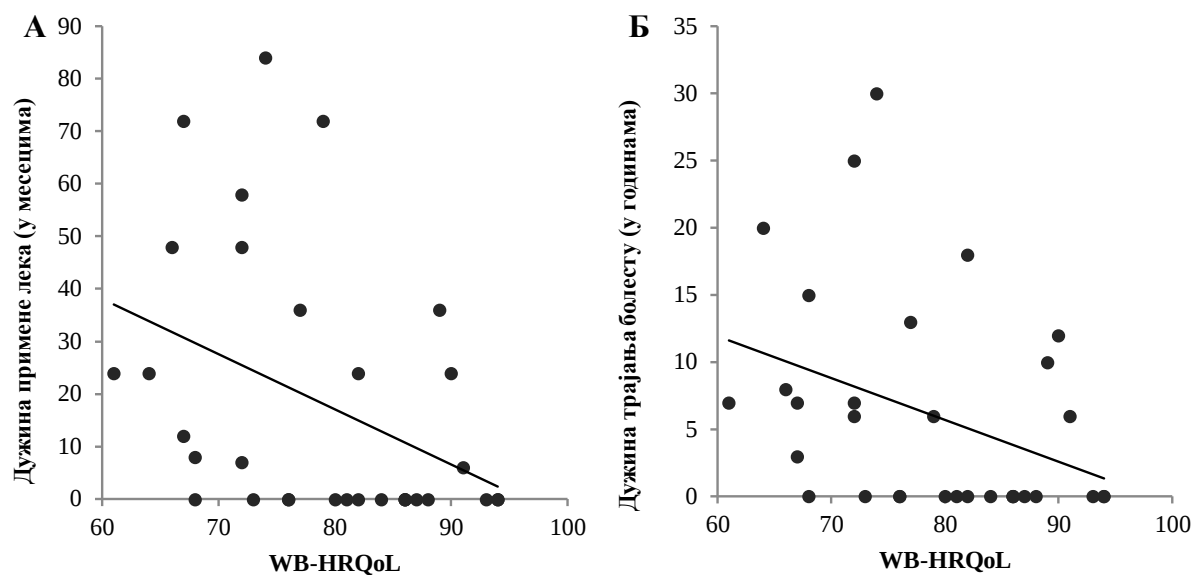
**Слика 30.** Скор WB-HRQoL скале код пацијената са и без увећања гингиве

Показана је негативна корелација између вредности WB-HRQoL и старости, као и CCI и CCI изражено процентуално (Табела 17).

**Табела 17.** Корелација вредности скорa WB-HRQoL скале и осталих параметара

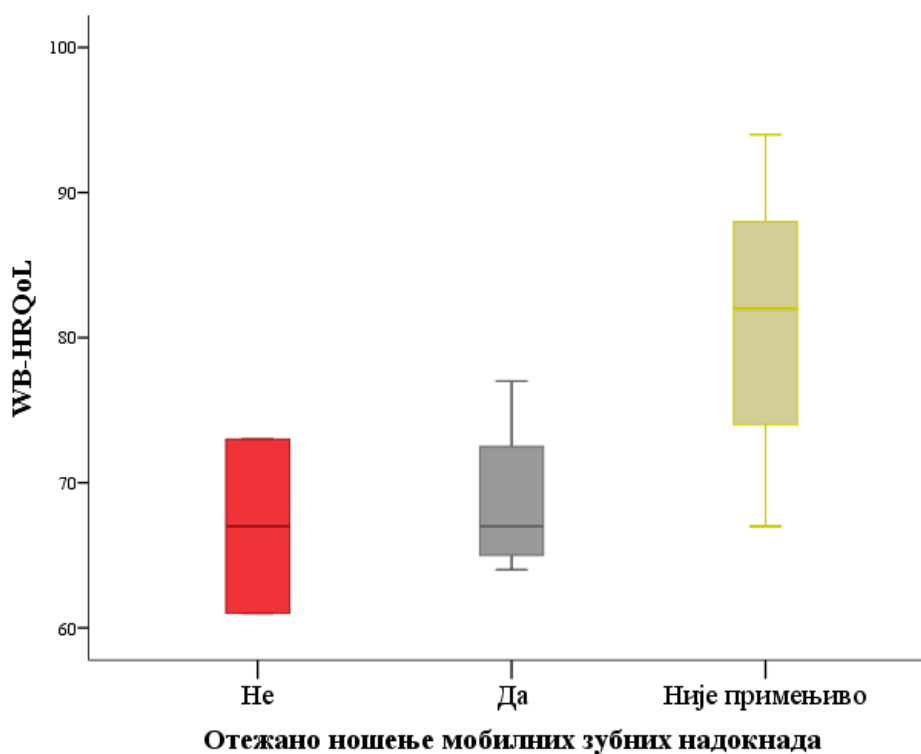
|                     | WB-HRQoL<br>Spearman rho/p |
|---------------------|----------------------------|
| Старост             | <b>-0,393/0,026</b>        |
| Систолни притисак   | -0,156/0,563               |
| Дијастолни притисак | 0,342/0,195                |
| CCI                 | <b>-0,464/0,007</b>        |
| CCI<br>проценат     | <b>0,394/0,026</b>         |
| PI                  | -0,016/0,932               |
| PBI                 | 0,146/0,425                |
| HI                  | -0,3330/0,065              |
| GHI                 | -0,326/0,069               |
| CAL                 | 0,004/0,984                |

Такође, негативна корелација је показана између вредности WB-HRQoL и дужине примене лека у месецима ( $\rho=-0,396$ ,  $p=0,025$ ), као и дужине трајања болести у годинама ( $\rho=-0,366$ ,  $p=0,040$ ) (Слика 31).



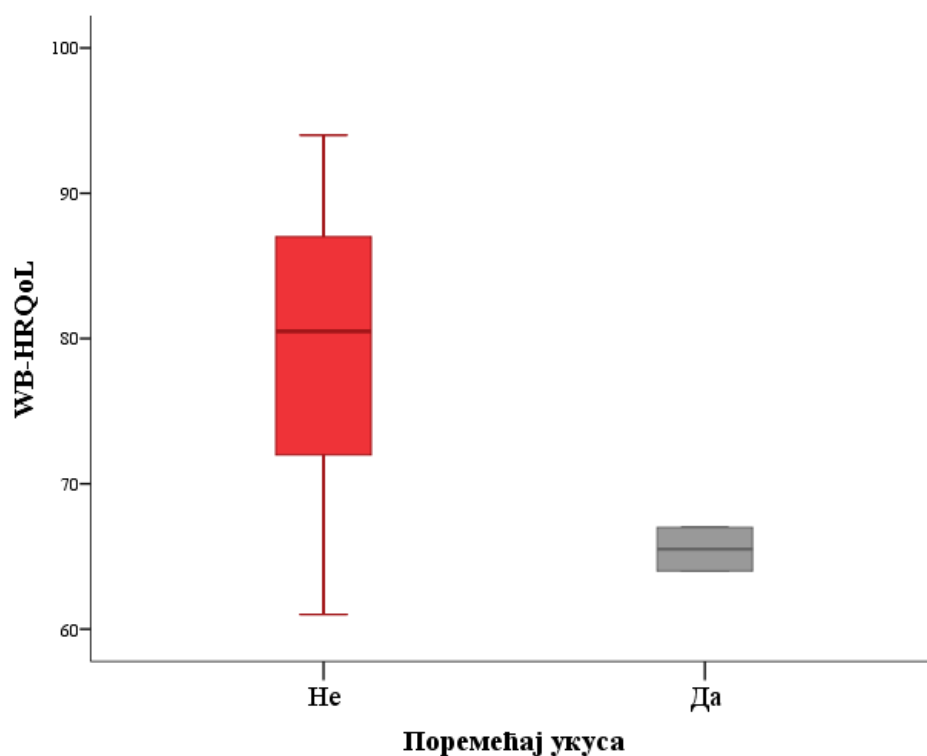
**Слика 31.** Корелација WB-HRQoL и (А) дужине примене лека и (Б) дужине трајања болести

Вредности скорa WB-HRQoL скале су се значајно разликовале код пацијената у односу на то да ли је постојало отежано ношење мобилних зубних надокнада ( $p=0,014$ ), при чему је вредност медијане биле највећа код пацијената који нису носили мобилне зубне надокнаде (Слика 32).



**Слика 32.** Вредности скорa WB-HRQoL скале у односу на постојање отежаног ношења зубних надокнада

Такође, разлика у вредностима WB-HRQoL је показана у зависности од присуства поремећаја укуса код пацијената, при чему су пацијенти са присутним поремећајем укуса имали мању вредност медијане у односу на пацијенте који нису имали ову карактеристику ( $p=0,024$ ) (Слика 33).



**Слика 33.** Вредности сора WB-HRQoL скале у односу на постојање поремећаја укуса

Разлика у вредностима WB-HRQoL у односу на друге клиничке карактеристике није показана (Табела 18).

**Табела 18.** Понашања у вези са оралним здрављем и симптомима

|                | WB-HRQoL<br>Median (IQR) | p     |
|----------------|--------------------------|-------|
| Дисање на уста |                          |       |
| Не             | 80,5 (19)                | 0,604 |
| Да             | 79,5 (10)                |       |
| Бруксизам      |                          |       |
| Не             | 77,0 (18)                | 0,198 |

|                                    |           |       |
|------------------------------------|-----------|-------|
| Да                                 | 86,0 (20) |       |
| Дневне парафункције                |           |       |
| Не                                 | 78,5 (17) | 0,724 |
| Да                                 | 82,5 (12) |       |
| Гингивално крварење                |           |       |
| Не                                 | 79,0 (16) | 0,896 |
| Благо                              | 84,0 (21) |       |
| Умерено                            | 76,5 (17) |       |
| Отежано жвакање                    |           |       |
| Не                                 | 82,0 (16) | 0,124 |
| Да                                 | 73,0 (11) |       |
| Отежан говор                       |           |       |
| Не                                 | 81,0 (16) | 0,164 |
| Да                                 | 74,0 (-)  |       |
| Халитоза                           |           |       |
| Не                                 | 81,0 (20) | 0,389 |
| Да                                 | 76,0 (14) |       |
| Прање зуба најмање два пута дневно |           |       |
| Не                                 | 74,0 (16) | 0,060 |
| Да                                 | 82,0 (16) |       |
| Употреба водица за испирање уста   |           |       |
| Не                                 | 78,0 (14) | 0,750 |
| Да                                 | 81,5 (24) |       |

| Коришћење зубног конца или интерденталних четкица |           |       |
|---------------------------------------------------|-----------|-------|
| Не                                                | 76,0 (18) | 0,074 |
| Да                                                | 86,0 (13) |       |
| Редовни стоматолошки прегледи                     |           |       |
| Не                                                | 74,0 (17) | 0,071 |
| Да                                                | 82,0 (16) |       |

#### 4.4 Повезаност клиничких карактеристика ткива гингиве и гингивалних индекса

Вредност PI се разликовала код пацијената у односу на присуство бруксизма ( $p=0,037$ ), халитозе ( $p=0,004$ ) и употребу зубног конца или интерденталних четкица ( $p=0,030$ ). HI ( $p=0,003$ ) и GHI ( $p=0,010$ ) су се разликовали код пацијената у зависности од присуства отежаног жвакања. Параметар CAL се разликовао код пацијената у односу на присуство дневних парафункција ( $p=0,018$ ) (Табела 19).

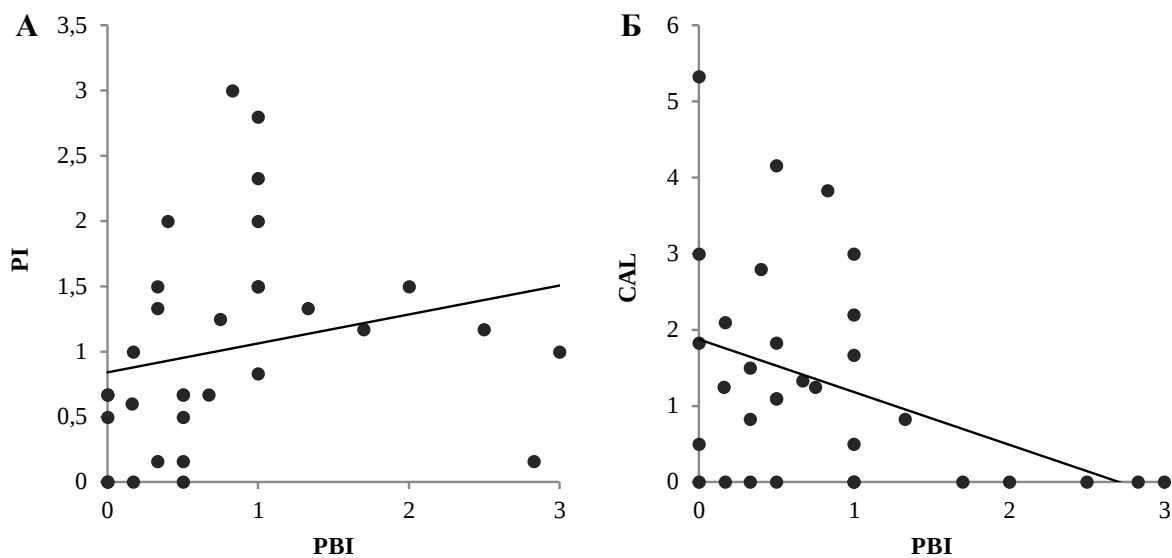
**Табела 19.** Повезаност гингивалних индекса и понашања и симптома у вези са оралним здрављем

|                | PI              | PBI          | HI           | GHI          | CAL              |
|----------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|------------------|
| Дисање на уста |                 |              |              |              |                  |
| Да             | 0,670<br>(0,91) | 0,922 (0,63) | 1,325 (2,30) | 1,400 (2,00) | 1,175<br>(1,62)  |
| Не             | 1,085<br>(1,26) | 0,585 (0,83) | 0,100 (1,29) | 0,00 (1,73)  | 0,665<br>02,18() |
| <i>P</i>       | 0,754           | 0,695        | 0,167        | 0,1551       | 0,662            |
| Бруксизам      |                 |              |              |              |                  |
| Да             | 0,500<br>(0,92) | 0,500 (1,67) | 0,900 (1,35) | 0,800 (2,00) | 0,500<br>(1,67)  |
| Не             | 1,170<br>(0,83) | 0,670 (0,67) | 0,200 (2,00) | 0,000 (2,00) | 1,250<br>(2,20)  |
| <i>P</i>       | <b>0,037</b>    | 0,658        | 0,983        | 0,473        | 0,593            |

|                                                 |                 |              |              |              |                 |
|-------------------------------------------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|-----------------|
| <b>Дневне парафунција</b>                       |                 |              |              |              |                 |
| Да                                              | 1,335<br>(1,50) | 0,665 (2,00) | 0,450 (1,60) | 0,400 (2,00) | 0,000<br>(0,58) |
| Не                                              | 0,750<br>(0,87) | 0,500 (0,71) | 1,00 (1,63)  | 0,550 (2,00) | 1,290<br>(2,35) |
| <i>P</i>                                        | 0,923           | 0,846        | 0,705        | 0,938        | <b>0,018</b>    |
| <b>Гингивално крварење</b>                      |                 |              |              |              |                 |
| Не                                              | 0,830<br>(0,92) | 0,400 (0,92) | 0,900 (1,40) | 0,300 (1,93) | 1,330<br>(2,65) |
| Благо                                           | 1,500<br>(1,33) | 1,000 (1,20) | 0,000 (2,33) | 0,000 (2,00) | 0,000<br>(1,67) |
| Умерено                                         | 0,415<br>(1,07) | 0,625 (2,06) | 1,150 (1,63) | 1,700 (1,65) | 0,550<br>(1,21) |
| <i>P</i>                                        | 0,226           | 0,115        | 0,890        | 0,493        | 0,174           |
| <b>Отежано жвакање</b>                          |                 |              |              |              |                 |
| Да                                              | 1,000<br>(0,79) | 0,750 (1,33) | 1,400 (1,21) | 1,630 (0,65) | 1,100<br>(1,58) |
| Не                                              | 0,750<br>(1,34) | 0,500 (0,84) | 0,000 (1,25) | 0,000 (1,78) | 1,040<br>(2,65) |
| <i>P</i>                                        | 0,498           | 0,161        | <b>0,003</b> | <b>0,010</b> | 0,929           |
| <b>Отежан говор</b>                             |                 |              |              |              |                 |
| Да                                              | 0,065 (-)       | 1,33 (-)     | 1,250 (-)    | 1,860 (-)    | 0,830 (-)       |
| Не                                              | 0,670<br>(1,17) | 0,500 (0,75) | 0,200 (1,45) | 0,000 (2,00) | 1,100<br>(2,02) |
| <i>P</i>                                        | 0,299           | 0,362        | 0,166        | 0,137        | 0,792           |
| <b>Отежано ношење мобилних зубних надокнада</b> |                 |              |              |              |                 |
| Да                                              | 0,835<br>(0,57) | 0,165 (0,57) | 1,750 (1,13) | 1,665 (1,67) | 1,250<br>(1,58) |
| Не                                              | 2,400 (-)       | 0,700 (-)    | 1,30 (-)     | 1,150 (-)    | 2,900 (-)       |
| Није примењиво                                  | 0,750<br>(1,34) | 0,585 (0,75) | 0,000 (1,33) | 0,000 (1,90) | 0,830<br>(1,83) |
| <i>P</i>                                        | 0,117           | 0,216        | 0,062        | 0,323        | 0,193           |
| <b>Поремећај укуса</b>                          |                 |              |              |              |                 |

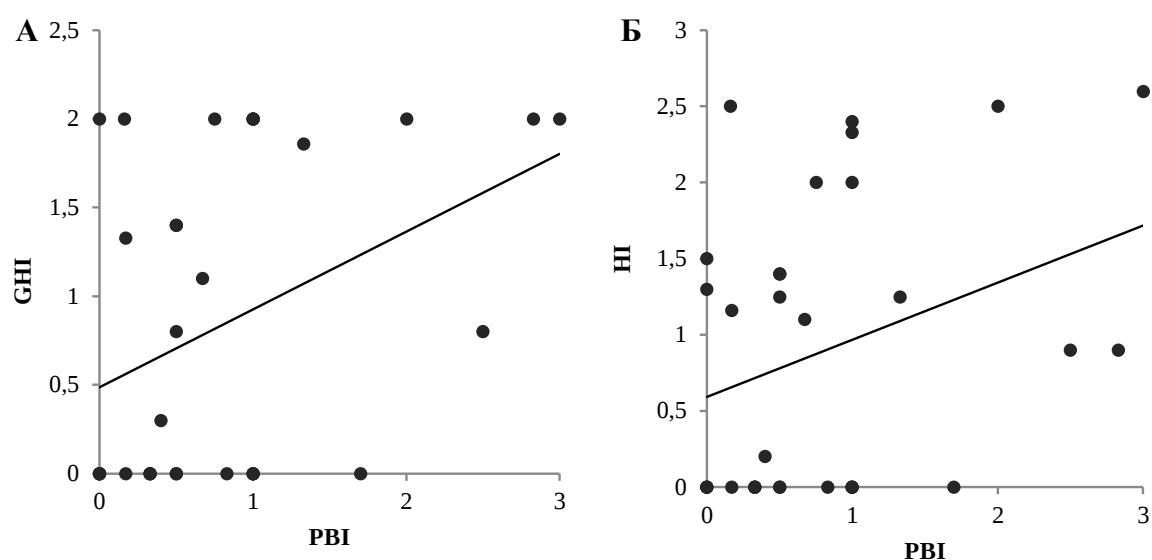
|                                                          |                 |              |              |              |                 |
|----------------------------------------------------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|-----------------|
| Да                                                       | 1,665 (-)       | 0,585 (-)    | 1,745 (-)    | 1,665 (-)    | 1,885 (-)       |
| Не                                                       | 0,750<br>(1,09) | 0,500 (0,71) | 0,550 (1,42) | 0,150 (2,00) | 0,965<br>(1,92) |
| <i>P</i>                                                 | 0,257           | 0,875        | 0,255        | 0,212        | 0,266           |
| <b>Халитоза</b>                                          |                 |              |              |              |                 |
| Да                                                       | 1,500<br>(0,83) | 1,000 (1,00) | 0,900 (2,33) | 0,800 (2,00) | 0,830<br>(2,20) |
| Не                                                       | 0,670<br>(0,92) | 0,500 (0,63) | 0,900 (1,45) | 0,300 (2,00) | 1,10<br>(1,83)  |
| <i>P</i>                                                 | <b>0,004</b>    | 0,089        | 0,983        | 0,899        | 0,952           |
| <b>Прање зуба најмање два пута дневно</b>                |                 |              |              |              |                 |
| Да                                                       | 0,670<br>(1,34) | 0,670 (0,67) | 0,900 (2,00) | 0,800 (2,00) | 1,100<br>(1,83) |
| Не                                                       | 1,330<br>(0,92) | 0,330 (0,78) | 1,160 (1,28) | 0,300 (1,60) | 0,830<br>(2,04) |
| <i>P</i>                                                 | 0,201           | 0,229        | 0,807        | 0,677        | 0,811           |
| <b>Употреба водица за испирање уста</b>                  |                 |              |              |              |                 |
| Да                                                       | 0,670<br>(1,09) | 0,500 (0,71) | 1,00 (1,55)  | 1,250 (2,00) | 1,100<br>(1,54) |
| Не                                                       | 1,210<br>(1,00) | 0,625 (0,91) | 0,550 (1,63) | 0,150 (1,90) | 1,040<br>(2,35) |
| <i>P</i>                                                 | 0,062           | 0,954        | 0,921        | 0,440        | 0,756           |
| <b>Коришћење зубног конца или интерденталних четкица</b> |                 |              |              |              |                 |
| Да                                                       | 0,670<br>(1,00) | 0,670 (2,50) | 0,900 (1,30) | 0,800 (2,00) | 0,500<br>(1,83) |
| Не                                                       | 1,250<br>(0,87) | 0,500 (0,67) | 1,160 (1,75) | 0,300 (1,93) | 1,250<br>(2,45) |
| <i>P</i>                                                 | <b>0,030</b>    | 0,905        | 0,604        | 0,767        | 0,248           |
| <b>Редовни стоматолошки прегледи</b>                     |                 |              |              |              |                 |
| Да                                                       | 0,670<br>(1,17) | 0,500 (0,67) | 0,900 (1,40) | 0,800 (2,00) | 0,830<br>(1,50) |
| Не                                                       | 1,125<br>(1,17) | 0,500 (0,92) | 1,160 (2,17) | 0,300 (2,00) | 1,670<br>(2,90) |
| <i>P</i>                                                 | 0,248           | 0,685        | 0,508        | 0,854        | 0,217           |

Параметар PBI је био у позитивној корелацији са параметром PI ( $\rho=0,489$ ,  $p=0,005$ ) а негативно је корелирао са вредностима параметра CAL ( $\rho=-0,356$ ,  $p=0,046$ ) (Слика 34).



**Слика 34.** Корелација PBI са (А) PI и (Б) CAL

Такође, вредности PBI су биле у позитивној корелацији са GHI ( $\rho=0,372$ ,  $p=0,036$ ), док са параметром HI ( $\rho=0,258$ ,  $p=0,154$ ) није показана статистички значајна корелација (Слика 35).



**Слика 35.** Повезаност вредности PBI са (А) GHI и (Б) HI

Вредности CAL нису биле у значајној корелацији са PI ( $\rho=0,156$ ,  $p=0,395$ ), HI ( $\rho=-0,107$ ,  $p=0,651$ ) и GHI ( $\rho=-0,080$ ,  $p=0,665$ ). Вредности PI такође нису биле у значајној корелацији са HI ( $\rho=0,131$ ,  $p=0,473$ ) и GHI ( $\rho=0,093$ ,  $p=0,611$ ).

## **5. Дискусија**

Нежељена дејства лекова која се испољавају у усној дупљи су значајна не само у смислу клиничких манифестација, већ и у погледу њиховог вишеструког утицаја на свакодневни живот пацијената, имајући у виду да ометају бројне физиолошке функције и нормално свакодневно функционисање пацијената. Упркос многобројним и различитим клиничким презентацијама нежељених дејстава лекова које утичу на орално здравље, у доступној медицинској документацији која прати процесе регистрације лекова не постоји посебан одељак који се бави управо утицајем лекова на ткива усне дупље. Стога је улога доктора стоматологије у благовременом откривању ових нежељених ефеката у модерним здравственим системима од суштинског значаја. Поред тога, потребе професионалне заједнице за процену штетних утицаја лекова на орално здравље превазилазе само представљање клиничких манифестација и захтевају свеобухватну евалуацију (116-118).

Увећање гингиве може бити узроковано употребом преко тридесет различитих група лекова, међу којима амлодипин, блокатор канала за калцијум, заузима истакнуто место као етиолошки агенс због своје широке употребе у лечењу хипертензије, веома распрострањеног обољења. Циљеви овог истраживања су обухватили процену кључних фактора који доприносе настанку и прогресији увећања гингиве код пацијената на хроничној терапији амлодипином, као и процену и локалних и системских последица овог нежељеног дејства.

Резултати ове студије показали су статистички значајну разлику у вредностима систолног притиска код пацијената код којих постоји развијено увећање гингиве. Иако су пацијенти са увећањем гингиве на први поглед постигли оптималне вредности крвног притиска препоручене за пацијенте који су оболели од хипертензије (испод 140/90 mmHg и 140/85 mmHg за пацијенте са кардиоваскуларним болестима или хроничном бубрежном болешћу, и за пацијенте са *Diabetes mellitusom*, тим редоследом), уочена разлика се може објаснити другим карактеристикама ове групе. Наиме, у овој субпопулацији пацијената евидентирано је дуже трајање хипертензије и били су лечени амлодипином, било самостално или у комбинацији, током дужег периода, и то вероватно због неконтролисане хипертензије. Осим тога, присуство нежељених оралних дејстава, као што је увећање гингиве, доказано повећава ризике од кардиоваскуларних болести. Ова корелација наглашава међусобну уску повезаност између оралног здравља и системског здравља. Лоше орално здравље и орална нежељена дејства лекова могу погоршати стање на нивоу читавог организма, стварајући двосмерну везу где контролисање једног стања директно утиче на друго. Ова чињеница истиче потребу за интегрисаним приступима у оквиру здравствених система који истовремено обухватају и орално и кардиоваскуларно здравље (119, 120).

Резултати овог истраживања нису показали корелацију између режима дозирања лека, трајања болести и терапије и појаве увећања гингиве изазваног амлодипином, што је у сагласности са резултатима студија истраживача *Umezudike* и аутора (121) и *Guttal* и аутора (117).

Анализирајући резултате који се односе на утицај увећања гингиве изазваног амлодипином на квалитет живота пацијената, уочена је статистички значајна већа вредност скорa ОНIP-14 скале за процену квалитета живота код пацијената са развијеним увећањем гингиве. Овакви резултати указују на ниже вредности квалитета живота код пацијената са развијеним увећањем гингиве, истичући да ово нежељено дејство има и клинички и функционални значај. Ово нежељено дејство амлодипина евидентно омета

оклузију, мастикацију, исхрану, оралну хигијену и у најизраженијим стадијумима, може довести до губитка зуба. Поред тога, присуство увећања гингиве доприноси развоју тешких облика пародонтопатије, која сама по себи представља и фактор ризика за бројне кардиоваскуларне болести (121). Поред нарушавања функције и повећаног ризика од кардиоваскуларних обољења, увећање гингиве представља и значајан естетски проблем за ове пацијенте. С обзиром на све претходно поменуте последице, негативан утицај увећања гингиве на квалитет живота је очекиван. Стога, ово локално нежељено дејство амлодипина треба сматрати значајним и у смислу његовог утицаја на опште здравље (53, 103).

Иницијални дизајн овог истраживања је подразумевао поделу пацијената у две примарне групе. Ова категоризација имала је за циљ да утврди било какве уочљиве разлике које се могу приписати употреби испитиваног лека. Накнадна анализа открила је специфичне карактеристике ткива на локалном нивоу које су повезане са терапијом амлодипином, што је довело до даљег прецизирања наших студијских група. Конкретно, додатно смо сегментисали нашу популацију пацијената ( $n=24$ ) у три различите групе како бисмо темељно испитали карактеристике самог гингивалног ткива. Овај циљани приступ је омогућио детаљнију анализу фокусирану на специфичне молекуларне и хистолошке карактеристике повезане са употребом амлодипина. Такође, значајно је и то што пацијенти који нису имали развијено увећање гингиве нити су користили испитивану терапију ( $n=8$ ), накнадно били искључени из ове циљане анализе, јер њихово укључивање није значајно допринело примарним циљевима ове студије.

Разумевање увећања гингиве изазваног лековима захтева свеобухватно испитивање гингивалног ткива и његових молекуларних карактеристика. Ова студија је имала за циљ да расветли основне механизме овог нежељеног дејства, са посебним фокусом на пацијенте који су били подвргнути хроничној терапији амлодипином. Анализом узорака гингивалног ткива настојали смо да идентификујемо кључне факторе укључене у патогенезу увећања гингиве и њихову потенцијалну модулацију амлодипином.

У циљу истраживања потенцијалне улоге инфламаторне компоненте у патогенези увећања гингиве изазваног амлодипином, испитали смо релативну експресију гена за IL-6 и TNF- $\alpha$ . IL-6 припада групи проинфламаторних цитокина, а његова улога је мултифункционална у патогенези многих обољења. Секретују га разне ћелије, као што су Б-лимфоцити, моноцити, макрофаги, кератиноцити, ендотелне ћелије и фибробласти; међутим, секреција овог цитокина није очекивана спонтано, односно без стимулуса, у случају интактних, нормалних ћелија, већ је неопходна активација ћелија посредством неког, на пример, бактеријског агенса (122). Овај цитокин има улогу у патогенези пародонтопатије и оралног карцинома, а његово дејство се огледа у промовисању регрутовања ћелија имуног система на место инфекције и стимулисању производње других инфламаторних цитокина, чиме се појачава инфламаторни одговор. Поред тога, повишени нивои IL-6 су повезани са повећаном ресорпцијом кости и деструкцијом ткива у случају пародонтопатије (123). TNF- $\alpha$  је проинфламаторни цитокин који учествује у процесу миграције ћелија на више нивоа, подстичући повећање експресије адхезионих молекула и производњу хемокина, хемотактичких цитокина укључених у миграцију ћелија на место инфекције и инфламације. TNF- $\alpha$  је присутан у високим концентрацијама и у гингивалној цервикалној течности у случају пародонтопатије, где је такође и позитивно корелиран са експресијом MMP и рецептора назива *Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand* (RANKL). У студијама на хуманим узорцима, али и у

анималним студијама на пацовима и приматима где је коришћен експериментални модел пародонотопатије, јасно је показано да TNF- $\alpha$  игра централну улогу у инфламаторној реакцији, ресорпцији алвеоларне кости и губитку везивног ткива (124). Резултати овог истраживања показали су да је експресија ових цитокина смањена код пацијената који узимају амлодипин, без обзира на то да ли су развили увећање гингиве или не. Такође, резултати су у складу са претходним студијама које су испитивале експресију и нивое ових цитокина у крвној плазми пре и након примене амлодипина код пацијената који болују од атеросклерозе и конгестивне срчане слабости (125, 126). Студија *Navarro-Gonzalez* и сарадника је испитивала серумске нивое и експресију гена за TNF- $\alpha$  и IL-6 код пацијената са хипертензијом и дијабетесом, као и ефекте примене амлодипина на ове параметре. Резултати наведеног истраживања су показали да су пацијенти који болују од хипертензије и дијабетеса имали повишене нивое TNF- $\alpha$  и IL-6 у серуму и повећану експресију ових цитокина у односу на здраве испитанике. Примена амлодипина је довела до значајног смањења нивоа TNF- $\alpha$  и IL-6 у серуму и супресије њихове генске експресије. Ови резултати сугеришу да амлодипин не само што снижава крвни притисак и регулише хипертензију, већ може имати и антиинфламаторне ефекте, што може бити корисно у контролисању инфламаторних компликација код хипертензивних пацијената који болују и од дијабетеса (125). Студија коју су спровели *Mohler* и сарадници је истраживала улогу цитокина у механизму дејства амлодипина у контексту срчане инсуфицијенције. Ова студија, позната као PRAISE (енг. *Prospective Randomized Amlodipine Survival Evaluation*), бавила се испитивањем како амлодипин утиче на нивое различитих цитокина код пацијената са срчаном инсуфицијенцијом. Резултати студије су показали да испитивани лек смањује нивое проинфламаторних цитокина, као што су TNF- $\alpha$  и IL-6. Овај ефекат сугерише да амлодипин не само што побољшава хемодиманске параметре код пацијената са срчаном инсуфицијенцијом, већ такође има антиинфламаторна својства која могу допринети његовим повољним ефектима, а резултати ове студије истичу да смањење нивоа ових цитокина може играти важну улогу у побољшању клиничког исхода код пацијената третираних амлодипином (126). У случају резултата ове дисертације, смањена експресија гена ова два кључна медијатора инфламације, у поређењу са пацијентима са увећањем гингиве узрокованим неким од инфламаторних агенаса, а не употребом лекова, сугерише да амлодипин може имати делимично антиинфламаторно дејство и на нивоу гингивалног ткива (125). Поред тога, овај резултат указује на то да инфламација можда и не игра кључну улогу у настанку овог нежељеног дејства, иако би могла погоршати већ постојаће стање и довести до тежих последица у напреднијим фазама овог обољења, како су претходне студије закључиле (60). Ово је посебно релевантно јер увећање гингиве изазвано амлодипином може отежати и нарушити оралну хигијену, доводећи на тај начин до инфламаторних процеса уз постојеће стање (60). Важно је напоменути да међу пацијентима који нису били на терапији амлодипином, али код којих је постојало увећање гингиве друге природе, на пример инфективне, где су нивои експресије ових цитокина били најизраженији, такође је постојао и највиши РВІ скор, који представља осетљив индикатор тежине гингивалне инфламације, што указује на доследност између клиничке презентације и резултата анализе ткива гингиве.

С обзиром на недовољно истражену улогу IL-33 у патогенези увећања гингиве изазваног амлодипином, било је важно испитати релативну експресију гена за овај интерлеукин у случајевима настанка испитиваног нежељеног дејства. IL-33 припада фамилији IL-1 цитокина, а може активирати мастоците, лимфоците и еозинофиле за даљу производњу цитокина повезаних са Th2 (енг. *T helper type 2*) инфламаторним одговором ткива. IL-33 делује као и интрацелуларни нуклеарни транскрипциони фактор, али и као

екстрацелуларни цитокин. Значајно је да је откривен у хуманој гингивалној цервикалној течности и код пацијената са пародонтопатијом, што указује на његову улогу у посредовању инфламаторног одговора у случају пародонтопатије. IL-33 се такође експримира у периапикалним грануломима и радикуларним цистама, и може бити укључен у процес инфламације у регији периапикалног ткива, као и у настанак фиброзе ткива (127). *Tana Gegen* и сарадници су показали да IL-33 може представљати и протективни фактор у патогенези апикалног периодонтитиса, супримирањем RANKL и индуковањем остеопротегерина (енг. *osteoprotegerin*, OPG), на тај начин представљајући потенцијални нови терапијски модалитет у лечењу ове болести (127). С друге стране, студија коју су спровели *Malcolm* и сарадници указује на улогу овог цитокина у случајевима израженијег губитка кости када је у питању бактеријска инфекција присутна у патогенези пародонтопатије, и такође сугеришу на потребу за даљим истраживањима функције овог интерлеукина и важност истог у савременијим приступима лечења пародонтопатије (128). Истраживање аутора *Sujatha Pai Ballambettu* и других је показало да се IL-33 може сматрати потенцијалним биомаркером у дијагностиковању и прогнози пародонтопатије. У почетним фазама запаљења, IL-33 појачава Th2 одговор, који је типично антиинфламаторни. Међутим, у случају пародонтопатије, присуство високих нивоа проинфламаторних цитокина због бактеријске инфекције стимулише даљу производњу IL-33, што може утицати повољно на остеоκластогенезу. Поред тога, дегранулација мастоцита подстиче диференцијацију циркулишућих CD14(+) моноцита у остеоκласте, те овај феномен може објаснити повећану концентрацију IL-33 у случају оболелих од пародонтопатије у поређењу са здравим испитаницима (129). Нижи нивои експресије цитокина који су детектовани код пацијената који користе амлодипин, нарочито оних са развијеним увећањем гингиве, могу се објаснити резултатима претходних истраживања који сугеришу да постоји повећана експресија IL-33 током прогресивне или стабилне фазе пародонтопатије, када доминира Th2 инфламаторни одговор, вероватно због профибротичке улоге IL-33 (127-129). Међутим, анализа ткива у овом истраживању није потврдила доказе за ове тврдње током проучавање фазе у којој се дато гингивално ткиво налазило у тренутку узимања узорак ткива пацијената; уместо тога, повишени нивои експресије TGF-β1 указују на његову вероватно доминантну улогу у фибротичкој компоненти патогенезе овог нежељеног дејства. TGF-β1 је такође мултифункционални цитокин који игра кључну улогу у регулацији имунолошких одговора, инфламације и хомеостазе ткива (130, 131).

TGF-β1 је укључен у одржавање имунолошке толеранције, инхибицију пролиферације и активације Т ћелија и промоцију диференцијације регулаторних Т ћелија (енг. *T-regulatory cells*, Tregs). У контексту репарације ткива, TGF-β1 стимулише производњу компоненти екстрацелуларног матрикса, помажући зарастање рана и фиброзу. Међутим, дисрегулација TGF-β1 сигнализације може допринети патогенези обољења са фибротичком компонентом, као и карцинома. У усној дупљи, TGF-β1 је важан за одржавање здравља пародонцијума, али његова претерана експресија може довести до прекомерне фиброзе ткива и дисрегулације регенерације ткива (130, 131). CTGF игра значајну улогу у адхезији, миграцији, пролиферацији и диференцијацији ћелија. Овај фактор раста игра кључну улогу у регулацији репарације ткива и фиброзе. Индукује га TGF-β1, и често је повезан са фибротичким поремећајима због своје способности да промовише синтезу компоненти екстрацелуларног матрикса. У контексту оралних ткива, CTGF је укључен у регенерацију пародонталних ткива и одржавање интегритета гингиве. Међутим, његова претерана експресија може довести до прекомерне фиброзе и формирања ожиљног ткива, што може нарушити нормалну физиолошку функцију ткива (132, 133). Студија коју су спровели *Wright, Chapple* и

*Matthews* је истраживала улогу изоформи TGF- $\beta$  и њихових рецептора у развоју увећања гингиве узрокованог лековима (циклоспорин, нифедипин, фенитоин) и наследне гингивалне фиброматозе. Истраживачи су анализирали експресију TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 и TGF- $\beta$ 3 изоформи, као и њихових рецептора у узорцима гингиве узетих од пацијената са различитим типовима увећања гингиве, указујући да постоје значајне разлике у нивоу експресије ових изоформи и рецептора између узорака лековима индукованог и наследног увећања гингиве. Ова открића указују на то да TGF- $\beta$  игра кључну улогу у патогенези ових обољења и могу помоћи у развоју нових терапијских стратегија за лечење увећања гингиве ове етиологије (134). Студија спроведена од стране *Al-Hamilly* и сарадника је истраживала више фактора раста, између осталих и TGF- $\beta$  и CTGF, код увећања гингиве изазваног циклоспорином и фенитоином. У експерименталној студији на животињама, аутори су упоређивали ефекте ових лекова на експресију CTGF и TGF- $\beta$  у гингивалном ткиву. Резултати су показали да оба лека значајно повећавају експресију ових фактора раста, али са различитим обрасцима експресије. Ова открића сугеришу да и CTGF и TGF- $\beta$  играју важне улоге у развоју увећања гингиве изазваног овим лековима (циклоспорин, фенитоин) и могу помоћи у бољем разумевању патогенезе овог нежељеног дејства, као и у развоју нових терапијских приступа (135). Слично претходним студијама, и у случају терапије амлодипином, анализа гингивалног ткива спроведена у овој докторској дисертацији открила је повећану експресију TGF- $\beta$ 1 и CTGF код пацијената са увећањем гингиве који су узимали испитивани лек. Описани резултати подржавају теорију да TGF- $\beta$ 1 потенцијално доводи до акумулације екстрацелуларног матрикса стимулишући фибробласте и инхибирајући разградњу матрикса, што узрокује настанак увећања гингиве (134, 136, 135). Такође, заједничка активност ових фактора раста може потенцијално играти кључну улогу у настанку увећања гингиве изазваног амлодипином, с обзиром на доказано присуство фибротичке компоненте у овом нежељеном дејству. Наши резултати такође подстичу разматрање да ли сам амлодипин утиче на повећану продукцију TGF- $\beta$ 1, као што је показала претходна студија која је проучавала моноклеарне ћелије (137). Истраживачи *Kaynar* и сарадници су испитивали потенцијалну способност антихипертензива у модулацији фактора раста на култури хуманих моноклеарних ћелија, и дошли су до закључка да амлодипин повећава ниво TGF- $\beta$ , тиме сугеришући на постојање његовог потенцијалног антиинфламаторног дејства (137). Међутим, с обзиром на то да је релативна експресија гена за TGF- $\beta$ 1 повећана у групи пацијената са увећањем гингиве без терапије амлодипином и значајно нижа у групи пацијената без увећања, а који узимају лек, потребна су даља истраживања о директном утицају амлодипина на нивое овог фактора раста.

Истраживање спроведено у оквиру ове дисертације је показало значајно нижу релативну експресију гена за факторе раста из породице фактора раста фибробласта, FGF-2 и KGF, код пацијената који узимају амлодипин, без обзира на то да ли су развили увећање гингиве или не, у поређењу са пацијентима са увећањем гингиве инфламаторне природе. Описани налази могу се објаснити чињеницом да ови фактори раста играју значајну улогу у репарацији ткива након повреде или трауме (138), што је свакако случај код увећања гингиве изазваног инфламацијом код пацијената који не узимају амлодипин. FGF-2 је кључан фактор раста за различите ћелијске процесе, укључујући пролиферацију, диференцијацију и репарацију ткива. Студија *Shin-ichi Takayama* и сарадника је показала да FGF-2 значајно повећава пролиферацију и миграцију гингивалних епителних ћелија, што је од суштинског значаја за одржавање хомеостазе и репарацију гингивалног ткива. Промовишући ове активности, FGF-2 игра важну улогу у процесу зарастања рана гингиве (138), а самим тим може допринети патолошким

стањима као што је увећање гингиве услед инфламације. KGF је такође познат и као фактор раста фибробласта-7 (енг. *fibroblast growth factor-7*, FGF-7), а исто тако игра и кључну улогу у одржавању хомеостазе гингивалног ткива, као и у репарацији. KGF се примарно производи од стране фибробласта и делује на епителне ћелије, подстичући њихову пролиферацију, миграцију и диференцијацију. Овај фактор раста помаже у зарастању рана гингиве повећавајући регенерацију самог епителног слоја, што је од суштинске важности за заштиту ткива од бактеријске инфекције и других оштећења. Поред тога, KGF доприноси хомеостази гингивалног ткива тако што регулише обнову епителних ћелија. Његова улога је посебно важна у условима где је потребна брза репарација ткива, као што је случај након пародонталне терапије или као одговор на инфламацију (139), што је у сагласности са резултатима наше студије. Такође, наши резултати су у складу са претходним студијама које сугеришу да ова два фактора раста делују заједно са инфламаторним цитокинима (140, 141), као што је потврђено у овој докторској дисертацији.

VEGF-C и VEGF-D имају важну улогу у физиолошким процесима и оптималном функционисању ткива усне дупље, и то најзначајнију у случају лимфангиогенезе и ангиогенезе. Ови фактори раста промовишу формирање нових лимфних и крвних судова, што је кључно за одржавање здравља гингивалног ткива и зарастање рана. У условима инфламације, повишени нивои VEGF-C и VEGF-D могу допринети побољшаном снабдевању крвљу и лимфном дренажом, чиме се смањује акумулација интерстицијалне течности и побољшава имунолошки одговор. Ови фактори такође могу бити укључени у регулацију патолошких стања као што су пародонтопатија и увећање гингиве, где могу играти улогу у одговору на инфламацију и у репаративним процесима (142). Претходне студије су показале повишене нивое VEGF-D током инфламаторних стања (142), а у нашој студији је био значајно виши код пацијената са увећањем гингиве инфламаторне етиологије у поређењу са испитаницима са увећањем гингиве изазваним амлодипином. Ово сугерише да инфламаторна компонента потенцијално не доприноси значајно настанку увећања гингиве изазваног амлодипином. С друге стране, *Kumar* и сарадници су истраживали утицај БКК L-типа на концентрације VEGF у ћелијама мрежњаче и серуму људи, истичући да терапија овим лековима доводи до значајног повећања нивоа VEGF-a, како у ћелијама мрежњаче, тако и у серуму људских испитаника. Овај налаз сугерише потенцијални механизам којим БКК могу директно утицати на статус крвних судова, посебно у условима који укључују функције мрежњаче и системске васкуларне функције, што указује да повећање нивоа VEGF-a може имати импликације за терапеутску употребу БКК-a у лечењу болести које карактерише нарушена васкуларна компонента (143). Такође, студија *Menger* и сарадника је истраживала ефекте амлодипина на зарастање костију у моделу стабилне затворене фрактуре бедрене кости код мишева. Резултати поменуте студије су показали да амлодипин убрзава процес зарастања прелома костију, односно да терапија која је подразумевала амлодипин доводи до бржег формирања калуса и побољшаног ремоделовања костију у поређењу са контролним групама. Такође, *Western blot* анализом су показали повишену експресију VEGF код животиња третираних амлодипином. Ови налази сугеришу да амлодипин, који се обично примењује у терапији хипертензије, може имати позитивне ефекте и изван својих кардиоваскуларних индикација (144). Резултати приказани у овој докторској дисертацији не указују на повишени ниво експресије овог фактора раста на локалном нивоу код особа које узимају амлодипин, што се разликује од налаза претходних студија, вероватно због варијација у типовима испитиваних ткива, сугеришући комплексни механизам дејства овог фактора раста који будућа истраживања потенцијално могу разјаснити.

С обзиром на улогу EGF у стимулацији диференцијације ћелија и у медијацији протеолизе везивањем за специфичне ћелијске рецепторе, било је значајно испитати релативну експресију гена за овај пептид у случају увећања гингиве. Претходна студија (145) која је истраживала хистоморфометријске карактеристике и експресију EGF и његовог рецептора у епителним ћелијама здраве гингиве и у случају наследне гингивалне фиброматозе је показала да се код овог обољења примећује повишена експресија EGF и његовог рецептора у поређењу са здравим гингивалним ткивом. Анализа хистоморфометријских карактеристика је указала на значајне промене у структурним својствима и функцији епителних ћелија у случају наследне гингивалне фиброматозе. Ови резултати су указали на потенцијалну улогу EGF-а у патогенези овог наследног обољења и подржавају потребу за даљим истраживањем у циљу разумевања механизма који доводе до оваквих промена у ткиву. Међутим, резултати у овом истраживању нису показали статистички значајну разлику у релативној експресији гена за EGF између група, што сугерише да епидермални фактор раста потенцијално не игра кључну улогу у настанку увећања гингиве изазваног амлодипином.

Значај оксидативног стреса у патогенези многих болести, као што су AIDS, дијабетес, малигна обољења, пародонтопатија, укључујући и гингивитис, и најважније, болести са фибротичком компонентом, већ је добро документован у литератури (146, 147). Стога је било важно истражити да ли оксидативни стрес игра улогу у амлодипином изазваном увећању гингиве, с обзиром на то да не постоје подаци који повезују ова два концепта. Претходне студије (146, 148, 149) су пронашле везу између повишених нивоа оксидативног стреса и циклоспорином изазваног увећања гингиве, које има претежно инфламаторно порекло због механизма деловања лека. Друге студије које су истраживале утицај амлодипина на организам (150, 151) такође сугеришу да сам амлодипин може имати потенцијалне антиоксидативне ефекте, што је чинило неопходним испитивање ових параметара у гингивном ткиву пацијената који узимају овај лек.

Неколико биолошких процеса доводи до стварања ендогених слободних радикала, који представљају веома реактивне молекуле због присуства неупареног електрона. Ова хемијска карактеристика им даје високу нестабилност и, последично, потребу да реагују како би постигли већу стабилност. Радикал, током свог кратког постојања, настоји да ухвати електрон од других молекула, што доводи до ланчане реакције која неповратно мења хемијску структуру ћелијских компоненти са којима ступи у контакт. Ћелијске компоненте које су највише изложене штетном деловању слободних радикала су липидне структуре, липопротеини ниске густине, протеини и нуклеинске киселине. Интеракција са овим структурама је одговорна за оксидативно оштећење организма, подстичући мутагенезу и карциногенезу. Физиолошки, слободни радикали се производе током имунолошких реакција, репарације ткива, синтезе АТП-а; с друге стране, могу се генерисати након дугог и поновљеног излагања јонизујућем зрачењу, хемијским супстанцама (одређени лекови, пестициди, загађивачи), пушењу цигарета и продуженом психолошком стресу. Људски организам се супротставља оксидативном стресу путем активирања посебних антиоксидативних система, као што су антиоксиданти који делују као „ловци“ на слободне радикале и неутралишу вишак ROS. Антиоксидативни систем се састоји од ензима ниске молекуларне тежине, као што су SOD и глутатион пероксидаза (енг. *glutathione peroxidase* GPx) (152).

Претходне студије су показале да је прекомерна продукција ROS, као што су

водоник пероксид, супероксид и хидроксил радикали, има значајну улогу у оштећењу ћелија и губитку функције у многим ткивима и органима. Водоник пероксид ( $H_2O_2$ ) представља веома реактивно једињење које изазива оштећење ћелија. Модел оксидативног стреса изазван  $H_2O_2$  се широко користи за проучавање реакције ћелија на оксидативни стрес. Оксидативни стрес је један од главних фактора који доводе до апоптозе ћелија, а инкубација ћелија са потенцијално штетним молекулима, као што је  $H_2O_2$ , изазива субцитотоксични стрес и доводи ћелије у стање налик старењу, познато као прерано старење ћелија изазвано оксидативним стресом. Међутим, овај процес зависи од типа ћелија, и претходне студије су показале да ROS имају различите ефекте на оралне кератиноците и фибробласте. Конкретно, оксидативни стрес у фибробластима изазива старење ћелија, што заузврат доводи до продукције ROS (153). Такође, резултати претходне студије (154) која се бавила испитивањем нитрита и нитрата у пљувачки, гингивалној цервикалној течности и серуму код пацијената са увећањем гингиве изазваног лековима (фенитоин, дилтиазем, нифедипин, циклоспорин), указују да се саливарни нитрити и нитрати могу користити као биомаркер прогресије пародонтопатије у случају увећања гингиве изазваног фенитоином. Такође, истраживање *Ahmadreza Sardarian* и сарадника (154) које се бавило испитивањем утицаја циклоспорина А на оралне епителне ћелије, са фокусом на промене у оксидативном статусу и експресији интегрина, показало је да третман циклоспорином А доводи до поремећаја у равнотежи оксидативних процеса, што може утицати на функционалност ћелија. Поред тога, уочене су значајне промене и у експресији интегрина. Такође, у још једној студији која је испитивала повезаност терапије циклоспорином и увећања гингиве (146), анализирани су нивои транслутаминазе-2 и маркера оксидативног стреса у гингивалној цервикалној течности и плазми код пацијената са увећањем гингиве изазваним циклоспорином. Резултати су показали повишене нивое свих параметара оксидативног стреса, што указује на повећани оксидативни стрес и промене у ензимској активности које узрокује примена овог лека. Такви резултати су пружили нове увиде у патофизиолошке механизме увећања гингиве изазваног циклоспорином, и могу допринети развоју нових терапијских приступа за спречавање настанка и третирање овог нежељеног дејства, када је изазвано циклоспорином. Због недовољне истражености повезаности увећања гингиве изазваног амлодипином, који такође, попут циклоспорина, има делимичну инфламаторну компоненту, и параметара оксидативног стреса, резултати наше пилот студије имају посебан значај.

SOD игра кључну улогу у управљању концентрацијама различитих реактивних кисеоничних врста и азота, ублажавајући њихово потенцијално штетно дејство и надгледајући широк спектар ћелијских процеса кроз своје сигналне функције. Ензим SOD је од виталног значаја за регулацију ћелијског раста и сматра се примарним одбрамбеним механизмом против оксидативног стреса у аеробним ћелијским системима. У свим аеробним организмима, различити SOD протеини су стратешки позиционирани у различитим ћелијским и интрацелуларним локацијама. Активирањем SOD спречава се штетан утицај супероксидног радикала на GPx, чиме се спречава његова деактивација, тако да SOD продужава активну фазу ензима GPx. Људски организам садржи три јединствене изоформе SOD-а: Zn/CuSOD (SOD1) који се налази у цитоплазми и једру, MnSOD (SOD2) који је смештен у матриксу митохондријалног мембранског простора, и Ec-SOD (SOD3) присутан у ванћелијском простору, а Cu/ZnSOD и MnSOD представљају главне изоформе овог ензима (156). Приказани налази су показали статистички значајну разлику у активности SOD између пацијената који узимају амлодипин са увећањем гингиве и оних који не узимају овај лек, као и између пацијената без увећања гингиве, али који узимају амлодипин. Ово указује да повећана активност или потреба за

активношћу овог ензима сугерише појачану потребу за оксидативном заштитом због повећане продукције ROS код пацијената који узимају амлодипин и који су развили увећање гингиве, јер је овај ензим активнији у одговору на повећану продукцију супероксидних радикала. С обзиром на знатно нижу активност овог ензима код пацијената без увећања гингиве који узимају лек, можемо закључити да један од разлога за појаву овог нежељеног дејства само код одређене групе пацијената може потенцијално бити повезан са повећаном продукцијом ROS-а.

CAT и SOD играју комплементарне улоге у заштити ћелија усне дупље од оксидативног стреса. SOD прва делује у антиоксидативном систему, конвертујући супероксидне радикале у  $H_2O_2$ . Иако је овај процес важан за неутрализацију високо реактивних супероксидних радикала, он ствара  $H_2O_2$ , који такође може бити штетан за ћелије. У овом тренутку се активира каталаза, која брзо разграђује  $H_2O_2$  на безопасне молекуле воде и кисеоника. Стога, каталаза и SOD заједно функционишу у континуитету, смањујући ризик од оксидативног оштећења и доприносећи здрављу усне дупље (157). Наши резултати су у складу са претходним истраживањима, односно, показују највишу активност овог ензима у случају пацијената који примају амлодипин и имају развијено увећање гингиве у односу на пацијенте који имају увећање гингиве друге етиологије, те да вредности активности каталазе прате вредности активности SOD.

Липидна пероксидација или реакција кисеоника са незасићеним липидима производи широк спектар оксидативних производа. Главни примарни производи липидне пероксидације су липидни хидропероксиди (енг. *lipid hydroperoxides*, LOOH). Од великог броја различитих алдехида који се могу формирати као секундарни производи током липидне пероксидације, малондиалдехид, пропанал, хексанал и 4-хидроксиноненал (енг. *4-hydroxynonenal*, 4-HNE) су најчешће проучавани и истраживани. MDA је најмутагенији производ липидне пероксидације, док је 4-HNE највише токсичан (158).

Повишени нивои MDA раније су примећени у инфламраним пародонталним ткивима, и могу играти улогу у деструктивним процесима, на пример, у случају пародонтопатије, што указује на улогу ROS у патогенези овог обољења (159).

У случају нашег истраживања, нивои MDA, биомаркера оксидативног оштећења, били су највиши код пацијената са увећањем гингиве који не узимају амлодипин. Увећање гингиве у овој групи узроковано је инфламацијом и могућом бактеријском инфекцијом, што доводи до повећане липидне пероксидације. Као резултат тога, оксидативна заштита код ових пацијената је најнижа, што резултира највећим оксидативним оштећењем. Највиши нивои MDA у овој групи указују на озбиљно оксидативно оштећење због недовољне оксидативне заштите у присуству сталне инфламације и инфекције. У групи пацијената са увећањем гингиве који узимају амлодипин, нивои MDA су били нижи, што сугерише да, иако је оксидативно оштећење и даље присутно, оно је мање озбиљно, потенцијално због антиоксидативних ефеката (150) амлодипина који ублажавају део оксидативног стреса. Потенцијална антиоксидативна својства амлодипина, укључујући његову способност да смањи продукцију ROS и побољша антиоксидативну заштиту, могу допринети смањењу нивоа MDA упркос присуству увећања гингиве. Овај могући антиоксидативни ефекат делимично је повезан са хемијском структуром и липофилношћу амлодипина. Због своје високе липофилности, амлодипин може продрети у ћелијске мембране и интераговати са липидним пероксидима, потенцијално помажући у спречавању липидне пероксидације. Дихидропиридински прстен унутар амлодипина може играти улогу у овом процесу потенцијалним донирањем протона, што може помоћи у стабилизацији слободних

радикала и прекиду процеса пероксидације. Поред тога, ароматични прстен амлодипина може привући слободне радикале, што би могло даље допринети његовим антиоксидативним својствима (150). Међутим, перзистенција повишених нивоа MDA указује на то да оксидативно оштећење остаје фактор који доприноси увећању гингиве код ових пацијената, иако у мањој мери него код оних са увећањем гингиве који не узимају амлодипин. Овакви резултати сугеришу да, иако амлодипин може смањити оксидативни стрес и липидну пероксидацију, не елиминише у потпуности оксидативно оштећење повезано са увећањем гингиве.

У претходним студијама (149, 160), показано је да повећана продукција ROS доводи до повећане активације TGF- $\beta$ 1. Наши резултати такође показују повећану генску експресију TGF- $\beta$ 1 код пацијената који узимају амлодипин и имају увећање гингиве у поређењу са онима који узимају амлодипин без овог нежељеног дејства. Можемо закључити да су ова два фактора потенцијално повезана и да њихова заједничка улога потенцијално лежи у патогенези овог нежељеног дејства. Ово откриће сугерише потребу за даљим истраживањем ради бољег разумевања заједничке улоге оксидативног стреса и TGF- $\beta$ 1 у механизму настанка амлодипином изазваног увећања гингиве. Таква истраживања могла би допринети развоју нових стратегија за превенцију и лечење овог нежељеног дејства, као што су нови начини лечења антиоксидативним агенсима, како је предложено у студији која истражује ефекте циклоспорина, другог лека који такође може изазвати увећање гингиве (149).

Резултати униваријантне логистичке регресије, која је спроведена како би се утврдило који су фактори повезани са присуством увећања гингиве код испитиваних пацијената, указују да постоји статистички значајна повезаност између релативне експресије гена за ST2 и увећања гингиве код пацијената. Ови налази показују да што је већа релативна експресија гена за молекулу ST2, специфичног дела рецептора за IL-33, то је и већа вероватноћа да ће се развити увећање гингиве код пацијената. IL-33/ST2 оса је важна за равнотежу између инфламације и регенерације ткива, али и хронично оштећење ткива може изазвати профибротичке одговоре. IL-33 може подстицати фибротичке процесе у јетри, панкреасу, цревима, бубрезима и кожи, што сугерише његову улогу у развоју и прогресији органске фиброзе. IL-33 је кључан цитокин који је одговоран за абнормалну пролиферацију фибробласта, инфилтрацију леукоцита и морфолошку диференцијацију хуманих ендотелних ћелија. Генерално, нови подаци указују на значајан допринос IL-33/ST2 осе у фибрози ткива, и истичу важну улогу Th2 имунолошког одговора у патофизиологији органске фиброзе (161). Како је у ранијим истраживањима препознато профибротичко дејство овог интерлеукина, може се претпоставити да игра улогу и у патогенези увећања гингиве, за шта су потребна даља истраживања на већем броју узорака.

Једно од ограничења спроведене докторске дисертације је величина узорка, што може лимитирати ширу применљивост и статистичку поузданост наших резултата. Узорак није био рандомизован због ограничене доступности пацијената, што уноси потенцијалну пристрасност при одабиру испитаника. Поред тога, као уницентрична студија, локалне праксе лечења могле су утицати на резултате, што даље може утицати на могућност генерализације наших резултата. Једно од ограничења студије је постигнута статистичка снага за неке параметре (SOD, CAT, MDA) која је мања од 80%; међутим, упркос томе, већина резултата је постигла статистичку снагу већу од 80%, што обезбеђује задовољавајућу статистичку поузданост за ове параметре. Мања снага за одређене анализе наглашава потребу за будућим студијама са већим узорцима како би се

додатно верификовали и потврдили налази овог истраживања. Ипак, значајна вредност ове тезе лежи у свеобухватној стратегији узорковања, која укључује гингивална ткива од пацијената са амлодипином изазваним увећањем гингиве, оних без овог нежељеног дејства али на амлодипинској терапији, и појединаца са другим узроцима увећања гингиве. Мултидисциплинарни приступ истраживању је омогућио нове увиде који могу помоћи у даљем расветљивању потенцијалног настанка овог нежељеног дејства. Да би се додатно побољшало разумевање амлодипином изазваног увећања гингиве, будуће студије би требало да укључе више клиничких параметара, лонгитудиналну процену и друге функционалне анализе. Ове допуне би пружиле свеобухватнији увид у основне механизме и помогле у решавању ограничења која су идентификована у извођењу нашег истраживања.

## **6. Заклъучци**

**Главни закључак:**

Ова докторска дисертација истиче значајан утицај амлодипином изазваног увећања гингиве на орално здравље и целокупни квалитет живота пацијената. Резултати нашег истраживања показују сложену интеракцију између терапије амлодипином, оксидативног стреса, инфламаторног одговора и процеса ремоделовања ткива гингиве. Уочено смањење експресије гена за IL-6 и TNF- $\alpha$  сугерише потенцијални антиинфламаторни ефекат амлодипина на локалном нивоу гингиве, доводећи у питање мишљење да инфламација игра доминантну улогу у настанку овог нежељеног ефекта. Штавише, повећана експресија TGF- $\beta$ 1 и CTGF код пацијената са увећањем гингиве изазваног амлодипином указује на фиброзу и акумулацију ванћелијског матрикса као кључне механизме који доприносе настанку овог нежељеног дејства. Важно је напоменути да резултати ове студије наглашавају потребу за интегрисаним здравственим приступима који адресирају и орално здравље и системске импликације, посебно када су у питању пацијенти на хроничној терапији амлодипином.

**Остали закључци:**

1. Квалитет живота пацијената је нижи код пацијената на хроничној терапији амлодипином са развијеним увећањем гингиве, што указује да ово нежељено дејство утиче на целокупно здравље и неопходно је да се пријављује и благовремено третира како не би угрозило целокупно благостање пацијената;
2. Пацијенти са увећањем гингиве су повезани са дужим периодом трајања хипертензије и били су лечени амлодипином, било самостално или у комбинацији, током дужег периода, вероватно због неконтролисане хипертензије, што указује да постоји потенцијална повезаност између успешности лечења хипертензије и појаве овог нежељеног дејства;
3. Испитаници са развијеним увећањем гингиве имали су значајно више вредности РВІ, који представља показатељ здравља гингиве, те ове вредности указују на отежану адекватну хигијену усне дупље услед постојања овог нежељеног дејства и нарушавања оралног здравља;
4. Пацијенти са увећањем гингиве су имали већи скор ОНIP-14 скале, што указује на нарушен квалитет живота у вези са оралним здрављем у случају ових пацијената;
5. Пацијенти са увећањем гингиве су пријављивали отежану мастикацију, која сигурно утиче на опште здравствено стање и квалитет живота;
6. Пацијенти са увећањем гингиве изазваним амлодипином су имали ниже вредности релативне експресије гена за IL-6 и TNF- $\alpha$ , што потенцијално указује да инфламаторна компонента није доминантна у патогенези овог нежељеног дејства;
7. Пацијенти са увећањем гингиве изазваним амлодипином су имали значајно више вредности релативне експресије гена за TGF- $\beta$ 1 и CTGF, што може потенцијално указати да они играју кључну улогу у настанку увећања гингиве изазваног амлодипином, с обзиром на доказано присуство фибротичке компоненте у ткиву

увећане гингиве код пацијената који узимају амлодипин;

8. Пацијенти са увећањем гингиве изазваним амлодипином су имали значајно веће вредности активности SOD у односу на пацијенте који узимају лек, али немају развијено увећање, па се појава овог нежељеног дејства само код одређених пацијената може објаснити и већим присуством ROS-а код тих пацијената;
9. С обзиром да ROS доводи до повишене активације TGF- $\beta$ 1, а пацијенти са увећањем гингиве изазваним амлодипином су имали већу релативну експресију гена за TGF- $\beta$ 1 у поређењу са онима који узимају амлодипин без овог нежељеног дејства, можемо да закључимо да су ова два фактора потенцијално повезана и да њихова заједничка улога потенцијално лежи у патогенези овог нежељеног дејства.
10. Постојала је значајна повезаност између релативне експресије гена за ST2 и појаве увећања гингиве код пацијената, што сугерише да IL-33/ST2 оса, већ позната по својој улози у фибрози ткива, може играти улогу и у патогенези увећања гингиве.

## **7. Литература**

1. Beninger P. Pharmacovigilance: An Overview. *Clin Ther.* 2018;40(12):1991-2004.
2. Агенција за лекове и медицинска средства (АЛИМС) [Internet]. Доступно на: <https://www.alims.gov.rs/>. Последњи пут посећено 03.09.2023.
3. Coca JR, Coca-Asensio R, Esteban Bueno G. Socio-historical analysis of the social importance of pharmacovigilance. *Front Sociol.* 2022;7:974090.
4. Campbell JE, Gossell-Williams M, Lee MG. A Review of Pharmacovigilance. *West Indian Med J.* 2014;63(7):771-4.
5. Rees TD. Drugs and oral disorders. *Periodontol* 2000. 1998;18:21-36.
6. Edwards IR, Aronson JK. Adverse drug reactions: definitions, diagnosis, and management. *Lancet.* 2000;356(9237):1255-9.
7. Lo Russo L, Guida L, Di Masi M, Buccelli C, Giannatempo G, Di Fede O, Di Lorenzo P, Lo Muzio L. Adverse drug reactions in the oral cavity. *Curr Pharm Des.* 2012;18(34):5481-96.
8. Royer RJ. Mechanism of action of adverse drug reactions: an overview. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 1997;6 Suppl 3:S43-50.
9. Hartigan-Go KY, Wong JQ. Inclusion of therapeutic failures as adverse drug reactions. In: Aronson JK, editor. *Side Effects of Drugs Annual.* Vol. 23. Amsterdam: Elsevier; 2000. p. xxvii-xxxiii.
10. Костић МЈ. Увод у фармацеутску праксу. Крагујевац: Факултет медицинских наука у Крагујевцу, 2022.
11. Markiewicz MR, Margarone JE 3rd, Campbell JH, Aguirre A. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: a review of current knowledge. *J Am Dent Assoc.* 2005;136(12):1669-74.
12. Scully C, Bagan JV. Adverse drug reactions in the orofacial region. *Crit Rev Oral Bio Med.* 2004;15(4):221-39.
13. Carnelio S, Khan SA, Rodrigues G. Pharmacovigilance in clinical dentistry: Overlooked or axiomatic? *Gen Dent.* 2011:24-8.
14. Capehart KL. Prescription medications: Effect on healthcare cost and dentistry. *Dent Today.* 2005;24(4):12-4.
15. Sachdev R, Garg K, Singh G, Mehrotra V. Pharmacovigilance: an emerging trend in dental practice of India. *RGUHS J Dent Sci.* 2020;12(1):57-64.
16. Правилник о вигиланци. („Сл. Гласник РС“ бр. 3/2019).
17. Sultana J, Cutroneo P, Trifirò G. Clinical and economic burden of adverse drug reactions. *J Pharmacol Pharmacother.* 2013;4(Suppl 1):S73-7.
18. La Mantia G, Buttacavoli F, Panzarella V, Colella G, Capuano A, Sportiello L, Parrinello G, Morreale I, Oteri G, Bellavia G, et al. Oro-dental pharmacovigilance in the digital age: promoting knowledge, awareness, and practice in Italy through a smart combined system—a conference at the 30th national congress of the Italian College of University Professors of Dental Disciplines. *Oral.* 2023;3(3):411-9.
19. Yuan A, Woo SB. Adverse drug events in the oral cavity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2015;119(1):35-47.
20. Ouanounou A, Ng K, Chaban P. Adverse drug reactions in dentistry. *Int Dent J.* 2020;70(2):79-84.
21. Goriuc A, Foia LG, Minea B, Luchian AI, Surdu AE, Toma V, Costuleanu M, Mârțu I. Drug-induced gingival hyperplasia - experimental model. *Rom J Morphol Embryol.* 2017;58(4): 1371-6.
22. Dongari-Bagtzoglou A, Research, Science and Therapy Committee, American Academy of Periodontology. Drug-associated gingival enlargement. *J Periodontol.* 2004;75(10):1424-31.

23. Greenberg KV, Armitage GC, Shiboski CH. Gingival enlargement among renal transplant recipients in the era of new-generation immunosuppressants. *J Periodontol.* 2008;79(3):453-60.
24. Sekiguchi RT, Paixão CG, Saraiva L, Romito GA, Pannuti CM, Lotufo RF. Incidence of tacrolimus-induced gingival overgrowth in the absence of calcium channel blockers: a short-term study. *J Clin Periodontol.* 2007;34(7):545-50.
25. Nassar CA, Nassar PO, Andia DC, Guimarães MR, Spolidorio LC. The effects of up to 240 days of tacrolimus therapy on the gingival tissues of rats--a morphological evaluation. *Oral Dis.* 2008;14(1):67-72.
26. Cota LO, Oliveira AP, Costa JE, Cortelli SC, Costa FO. Gingival status of Brazilian renal transplant recipients under sirolimus-based regimens. *J Periodontol.* 2008;79(11):2060-8.
27. Tamargo J, Ruilope LM. Investigational calcium channel blockers for the treatment of hypertension. *Expert Opin Investig Drugs.* 2016;25(11):1295-309.
28. McKeever RG, Hamilton RJ. Calcium Channel Blockers. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
29. Tonsekar P, Tonsekar V. Calcium-Channel-Blocker Influenced Gingival Enlargement: A Conundrum Demystified. *Oral.* 2021;1(3):236-49.
30. Lin Y, Ma L. Blood pressure lowering effect of calcium channel blockers on perioperative hypertension: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(48):e13152.
31. Wang AL, Iadecola C, Wang G. New generations of dihydropyridines for treatment of hypertension. *J Geriatr Cardiol.* 2017;14(1):67-72.
32. Wing LMH. Calcium channel antagonists. *Aust Prescr.* 1997;20:5-8.
33. Sheraz MA, Ahsan SF, Khan MF, Ahmed S, Ahmad I. Formulations of Amlodipine: A Review. *J Pharm (Cairo).* 2016;2016:8961621.
34. Bulsara KG, Patel P, Cassagnol M. Amlodipine. 2024. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024.
35. Wang JG, Palmer BF, Vogel Anderson K, Sever P. Amlodipine in the current management of hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2023;25(9):801-7.
36. Sleder AT, Kalus J, Lanfear DE. Cardiovascular pharmacokinetics, pharmacodynamics, and pharmacogenomics for the clinical practitioner. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2016;21(1):20-6.
37. Gandhi S, Fleet JL, Bailey DG, McArthur E, Wald R, Rehman F, Garg AX. Calcium-channel blocker-clarithromycin drug interactions and acute kidney injury. *JAMA.* 2013;310(23):2544-53.
38. Siriangkhawut M, Tansakul P, Uchaipichat V. Prevalence of potential drug interactions in Thai patients receiving simvastatin: The causality assessment of musculoskeletal adverse events induced by statin interaction. *Saudi Pharm J.* 2017;25(6):823-9.
39. Russell RP. Side effects of calcium channel blockers. *Hypertension.* 1988;11(3 Pt 2):II42-4.
40. Bharti V, Bansal C. Drug-induced gingival overgrowth: The nemesis of gingiva unravelled. *J Indian Soc Periodontol.* 2013;17(2):182-7.
41. Tungare S, Paranjpe AG. Drug Induced Gingival Overgrowth. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
42. Tahamtan S, Shirban F, Bagherniya M, Johnston TP, Sahebkar A. The effects of statins on dental and oral health: A review of preclinical and clinical studies. *J Transl Med.* 2020;18:1-42.
43. Quach H, Ray-Chaudhuri A. Calcium channel blocker induced gingival enlargement following implant placement in a fibula free flap reconstruction of the mandible: A case report. *Int J Implant Dent.* 2020;6:1-5.

44. Asif SM, Shaik N, Barthunia B, Kaleem SM, Zakirulla M, Kota MZ, Baig FAH. Nifedipine induced gingival enlargement in an edentulous patient: a case report with one year follow up. *BMC Oral Health*. 2018;18(1):227.
45. Gopal S, Joseph R, Santhosh VC, Kumar VV, Joseph S, Shete AR. Prevalence of gingival overgrowth induced by antihypertensive drugs: A hospital-based study. *J Indian Soc Periodontol*. 2015;19(3):308-11.
46. Dongari A, McDonnell HT, Langlais RP. Drug-induced gingival overgrowth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1993;76(4):543-8.
47. Seymour RA, Jacobs DJ. Cyclosporin and the gingival tissues. *J Clin Perio*. 1992;19:1-11.
48. Casetta I, Granieri E, Desiderá M, Monetti VC, Tola MR, Paolino E, Govoni V, Calura G. Phenytoin-induced gingival overgrowth: a community-based cross-sectional study in Ferrara, Italy. *Neuroepidemiology*. 1997;16(6):296-303.
49. Ellis JS, Seymour RA, Steele JG, Robertson P, Butler TJ, Thomason JM. Prevalence of gingival overgrowth induced by calcium channel blockers: a community-based study. *J Periodontol*. 1999;70(1):63-7.
50. Barclay S, Thomason JM, Idle JR, Seymour RA. The incidence and severity of nifedipine-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol*. 1992;19(5):311-4.
51. Fattore L, Stablein M, Bredfeldt G, Semla T, Moran M, Doherty-Greenberg JM. Gingival hyperplasia: a side effect of nifedipine and diltiazem. *Spec Care Dentist*. 1991;11(3):107-9.
52. Nery EB, Edson RG, Lee KK, Pruthi VK, Watson J. Prevalence of nifedipine-induced gingival hyperplasia. *J Periodontol*. 1995;66(7):572-8.
53. Bajkovec L, Mrzljak A, Likic R, Alajbeg I. Drug-induced gingival overgrowth in cardiovascular patients. *World J Cardiol*. 2021;13(4):68-75.
54. Ishida H, Kondoh T, Kataoka M, Nishikawa S, Nakagawa T, Morisaki I, Kido J, Oka T, Nagata T. Factors influencing nifedipine-induced gingival overgrowth in rats. *J Periodontol*. 1995;66(5):345-50.
55. Seymour RA, Ellis JS, Thomason JM. Risk factors for drug-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol*. 2000;27(4):217-23.
56. Pasupuleti MK, Musalaiah SV, Nagasree M, Kumar PA. Combination of inflammatory and amlodipine induced gingival overgrowth in a patient with cardiovascular disease. *Avicenna J Med*. 2013;3(3):68-72.
57. Livada R, Shiloah J. Calcium channel blocker-induced gingival enlargement. *J Hum Hypertens*. 2014;28(1):10-4.
58. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999;4(1):1-6.
59. Daley TD, Wysocki GP. Cyclosporine therapy. Its significance to the periodontist. *J Periodontol*. 1984;55(12):708-12.
60. Gaur S, Agnihotri R. Is dental plaque the only etiological factor in Amlodipine induced gingival overgrowth? A systematic review of evidence. *J Clin Exp Dent*. 2018;10(6):e610-e9.
61. Ellis JS, Monkman SC, Seymour RA, Idle JR. Determination of nifedipine in gingival crevicular fluid: a capillary gas chromatographic method for nifedipine in microlitre volumes of biological fluid. *J Chromatogr*. 1993;621(1):95-101.
62. Kaur G, Verhamme KM, Dieleman JP, Vanrolleghem A, van Soest EM, Stricker BH, Sturkenboom MC. Association between calcium channel blockers and gingival hyperplasia. *J Clin Periodontol*. 2010;37(7):625-30.
63. Seymour RA, Heasman PA. Drugs and the periodontium. *J Clin Periodontol*. 1988;15(1):1-16.
64. Chojnacka-Purpurowicz J, Wygonowska E, Placek W, Owczarczyk-Saczonek A. Cyclosporine-induced gingival overgrowth-Review. *Dermatol Ther*. 2022;35(12):e15912.

65. Damdoun M, Varma SR, Nambiar M, Venugopal A. Calcium Channel Blockers Induced Gingival Overgrowth: A Comprehensive Review from a Dental Perspective. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2022;12(3):309-22.
66. Aldemir NM, Begenik H, Emre H, Erdur FM, Soyoral Y. Amlodipine-induced gingival hyperplasia in chronic renal failure: a case report. *Afr Health Sci.* 2012;12(4):576-8.
67. Tejnani A, Gandevala A, Bhanushali D, Gourkhede S. Combined treatment for a combined enlargement. *J Indian Soc Periodontol.* 2014;18(4):516-9.
68. Takeuchi RE, Matsumoto HI, Akimoto YO, Fujii AK. The inhibitory action of amlodipine for TNF- $\alpha$ -induced apoptosis in cultured human gingival fibroblasts. *Oral Ther Pharmacol.* 2012;31:45-52.
69. Meisel P, Giebel J, Kunert-Keil C, Dazert P, Kroemer HK, Kocher T. MDR1 gene polymorphisms and risk of gingival hyperplasia induced by calcium antagonists. *Clin Pharmacol Ther.* 2006;79(1):62-71.
70. Uzel MI, Kantarci A, Hong HH, Uygur C, Sheff MC, Firatli E, Trackman PC. Connective tissue growth factor in drug-induced gingival overgrowth. *J Periodontol.* 2001;72(7):921-31.
71. Lucas RM, Howell LP, Wall BA. Nifedipine-induced gingival hyperplasia. A histochemical and ultrastructural study. *J Periodontol.* 1985;56(4):211-5.
72. Ramírez-Rámiz A, Brunet-Llobet L, Lahor-Soler E, Miranda-Rius J. On the Cellular and Molecular Mechanisms of Drug-Induced Gingival Overgrowth. *Open Dent J.* 2017;11:420-35.
73. Castro LA, Elias LS, Oton-Leite AF, de Spíndula-Filho JV, Leles CR, Batista AC, Mendonça EF. Long-term effects of nifedipine on human gingival epithelium: a histopathological and immunohistochemical study. *J Oral Sci.* 2010;52(1):55-62.
74. Brown RS, Arany PR. Mechanism of drug-induced gingival overgrowth revisited: a unifying hypothesis. *Oral Dis.* 2015;21(1):e51-61.
75. Thomason JM, Seymour RA, Ellis JS, Kelly PJ, Parry G, Dark J, Wilkinson R, Ilde JR. Determinants of gingival overgrowth severity in organ transplant patients. An examination of the rôle of HLA phenotype. *J Clin Periodontol.* 1996;23(7):628-34.
76. Pernu HE, Knuuttila ML. Macrophages and lymphocyte subpopulations in nifedipine- and cyclosporin A-associated human gingival overgrowth. *J Periodontol.* 2001;72(2):160-6.
77. Nurmenniemi PK, Pernu HE, Laukkanen P, Knuuttila ML. Macrophage subpopulations in gingival overgrowth induced by nifedipine and immunosuppressive medication. *J Periodontol.* 2002;73(11):1323-30.
78. Duncan MR, Berman B. Stimulation of collagen and glycosaminoglycan production in cultured human adult dermal fibroblasts by recombinant human interleukin 6. *J Invest Dermatol.* 1991;97:686-9.
79. Csiszar A, Wiebe C, Larjava H, Häkkinen L. Distinctive molecular composition of human gingival interdental papilla. *J Periodontol.* 2007;78(2):304-14.
80. Walsh P, Häkkinen L, Pernu H, Knuuttila M, Larjava H. Expression of fibronectin-binding integrins in gingival epithelium in drug-induced gingival overgrowth. *J Periodontal Res.* 2007; 42(2):144-51.
81. Lu HK, Tseng CC, Lee YH, Li CL, Wang LF. Flutamide inhibits nifedipine- and interleukin-1 beta induced collagen overproduction in gingival fibroblasts. *J Periodontal Res.* 2010;45: 451-7.
82. Miranda J, Brunet L, Roset P, Farré M, Mendieta C. Reliability of two measurement indices for gingival enlargement. *J Periodontal Res.* 2012;47(6):776-82.
83. Marshall RI, Bartold PM. A clinical review of drug-induced gingival overgrowths. *Aust Dent J.* 1999;44(4):219-32.

84. Lafzi A, Farahani RM, Shoja MA. Amlodipine-induced gingival hyperplasia. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006;11(6):E480-2.
85. Torpet LA, Kragelund C, Reibel J, Nauntofte B. Oral adverse drug reactions to cardiovascular drugs. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2004;15(1):28-46.
86. Quenel L, Keribin P, Giran G, Tessier MH, Lesclous P. Amlodipine-induced gingival enlargement: A case report. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*. 2020;121(3):308-11.
87. Camargo PM, Melnick PR, Pirih FQ, Lagos R, Takei HH. Treatment of drug-induced gingival enlargement: aesthetic and functional considerations. *Periodontol* 2000. 2001;27:131-8.
88. Hall EE. Prevention and treatment considerations in patients with drug-induced gingival enlargement. *Curr Opin Periodontol*. 1997;4:59-63.
89. Thompson AL, Herman WW, Konzelman J, Collins MA. Treating patients with drug-induced gingival overgrowth. *J Dent Hyg*. 2004;78(4):12.
90. Dannewitz B, Krieger JK, Simon I, Dreyhaupt J, Staehle HJ, Eickholz P. Full-mouth disinfection as a nonsurgical treatment approach for drug-induced gingival overgrowth: a series of 11 cases. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2010;30(1):63-71.
91. Pejčić AS, Kesić LG, Živković VD, Obradović RR, Petrović MS, Mirković DS. Gingival overgrowth induced by nifedipine: Gingiva and drugs. *Acta stomatologica Naissi*. 2011;27(64):1104-9.
92. Mavrogiannis M, Ellis JS, Seymour RA, Thomason JM. The efficacy of three different surgical techniques in the management of drug-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol*. 2006;33(9):677-82.
93. Ilgenli T, Atilla G, Baylas H. Effectiveness of periodontal therapy in patients with drug-induced gingival overgrowth. Long-term results. *J Periodontol*. 1999;70(9):967-72.
94. Ciancio SG, Bartz NW Jr, Lauciello FR. Cyclosporine-induced gingival hyperplasia and chlorhexidine: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1991;11(3):241-5.
95. Zhou T, Guan H, Yao J, Xiong X, Ma A. The quality of life in Chinese population with chronic non-communicable diseases according to EQ-5D-3L: A systematic review. *Qual Life Res*. 2018;27(11):2799-814.
96. The WHOQOL Group. Study protocol for the World Health Organization project to develop a Quality of Life assessment instrument (WHOQOL). *Qual Life Res*. 1993;2(2):153-9.
97. Cella D, Nowinski CJ. Measuring quality of life in chronic illness: the functional assessment of chronic illness therapy measurement system. *Arch Phys Med Rehabil*. 2002;83(12 Suppl 2):S10-7.
98. Patrick DL, Erickson P. Health status and health policy: quality of life in health care evaluation and resource allocation. New York: Oxford University Press; 1993.
99. Brown J, Bowling A, Flynn T. Models of quality of life: a taxonomy, overview and systematic review of the literature. *Proceedings of European Forum on Population Ageing Research*. Sheffield, UK; 2004.
100. Manavalan M, Majumdar A, Harichandra Kumar KT, Priyamvada PS. Assessment of health-related quality of life and its determinants in patients with chronic kidney disease. *Indian J Nephrol*. 2017;27(1):37-43.
101. Sprangers MA. Quality-of-life assessment in oncology. Achievements and challenges. *Acta Oncol*. 2002;41:229-37.
102. Sischo L, Broder HL. Oral health-related quality of life: what, why, how, and future implications. *J Dent Res*. 2011;90(11):1264-70.
103. Spanemberg JC, Cardoso JA, Slob EMGB, López-López J. Quality of life related to oral health and its impact in adults. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*. 2019;120(3):234-9.

104. Pequeno NPF, Cabral NLA, Marchioni DM, Lima SCVC, Lyra CO. Quality of life assessment instruments for adults: a systematic review of population-based studies. *Health Qual Life Outcomes*. 2020;18(1):208.
105. Stancić I, Sojić LT, Jelenković A. [Adaptation of Oral Health Impact Profile (OHIP-14) index for measuring impact of oral health on quality of life in elderly to Serbian language]. *Vojnosanit Pregl*. 2009;66(7):511-5.
106. Janković SM, Bogavac-Stanojević N, Mikulić I, Izetbegović S, Iličković I, Krajnović D, Suljic Mehmedika E, Gojak R, Mehičević A, Gazibera B, Mahmutbegović N, Stojadinović M, Janković N, Miljković SK, Popović S, Blidarević B, Mugoša S, Đorđević Z. A Questionnaire for Rating Health-related Quality of Life. *Zdr Varst*. 2021;60(4):260-8.
107. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis*. 1987;40(5):373-83.
108. Fischman SL. Clinical index systems used to assess the efficacy of mouth rinses on plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol*. 1988;15(8):506-10.
109. Angelopoulos AP, Goaz PW. Incidence of diphenylhydantoin gingival hyperplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1972;34(6):898-906.
110. Pernu HE, Pernu LH, Knuuttila ML. Effect of periodontal treatment on gingival overgrowth among cyclosporine A-treated renal transplant recipients. *J Periodontol*. 1993;64(11):1098-100.
111. Seymour RA, Smith DG, Turnbull DN. The effects of phenytoin and sodium valproate on the periodontal health of adult epileptic patients. *J Clin Periodontol*. 1985;12(6):413-9.
112. Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology. 13th ed. Philadelphia: Saunders; 2018.
113. Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nat Protoc*. 2008;3(6):1101-8.
114. Sume SS, Berker E, Ilarslan Y, Ozer Yucel O, Tan C, Goyushov S, Gultekin SE, Tezcan I. Elevated Interleukin-17A expression in amlodipine-induced gingival overgrowth. *J Periodontal Res*. 2020;55(5):613-21.
115. Syahputra A, Pasaribu K, Pulungan D. The Difference of Superoxide Dismutase Levels in Patient's Saliva with Gingivitis Associated with Dental Plaque Only Before and After Scaling at Periodontics Installation, Faculty of Dentistry USU. *Advances in Health Science Research. International Dental Conference of Sumatera Utara 2017 (IDCSU 2017)*. 2017;(8):45-49.
116. Triveni MG, Rudrakshi C, Mehta DS. Amlodipine-induced gingival overgrowth. *J Indian Soc Periodontol*. 2009;13(3):160-3.
117. Guttal KS, Karkera N, Arunkumar S, Nandimath K. Assessment of effects of duration and dosage of amlodipine on gingival health: a prospective study. *J Global Oral Health*. 2023;5:99-104.
118. Teoh L, Stewart K, Moses G. Where are oral and dental adverse drug effects in product information? *Int J Pharm Pract*. 2020;28(6):591-8.
119. Spiering W, Grobbee DE. Target blood pressure values in hypertension treatment; how low is optimal?. *Ned Tijdschr Geneesk*. 2013;157(47):A5638.
120. Gebremichael GB, Berhe KK, Zemichael TM. Uncontrolled hypertension and associated factors among adult hypertensive patients in Ayder comprehensive specialized hospital, Tigray, Ethiopia, 2018. *BMC Cardiovasc Disord*. 2019;19(1):121.
121. Umezudike KA, Olawuyi AB, Umezudike TI, Olusegun-Joseph AD, Bello BT. Effect of Calcium Channel Blockers on Gingival Tissues in Hypertensive Patients in Lagos, Nigeria: A Pilot Study. *Contemp Clin Dent*. 2017;8(4):565-70.

122. Irwin CR, Myrillas TT. The role of IL-6 in the pathogenesis of periodontal disease. *Oral Dis.* 1998;4(1):43-7.
123. Liu YC, Lerner UH, Teng YT. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000.* 2010;52(1):163-206.
124. Garlet GP. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res.* 2010;89(12):1349-63.
125. Navarro-Gonzalez J, Mora-Fernandez C, Gomez-Chinchon M, Muros M, Herrera H, Garcia J. Serum and gene expression profile of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in hypertensive diabetic patients: effect of amlodipine administration. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2010;23(1):51-9.
126. Mohler ER 3rd, Sorensen LC, Ghali JK, Schocken DD, Willis PW, Bowers JA, Cropp AB, Pressler ML. Role of cytokines in the mechanism of action of amlodipine: the PRAISE Heart Failure Trial. Prospective Randomized Amlodipine Survival Evaluation. *J Am Coll Cardiol.* 1997;30(1):35-41.
127. Gegen T, Zhu Y, Sun Q, Hou B. Role of interleukin-33 in the clinical pathogenesis of chronic apical periodontitis. *J Int Med Res.* 2019;47(7):3332-43.
128. Malcolm J, Awang RA, Oliver-Bell J, Butcher JP, Campbell L, Adrados Planell A, Lappin DF, Fukada SY, Nile CJ, Liew FY, Culshaw S. IL-33 Exacerbates Periodontal Disease through Induction of RANKL. *J Dent Res.* 2015;94(7):968-75.
129. Ballambettu SP, Pradeep AR, Purushottam M, Sen S. Higher interleukin-33 levels in aggressive periodontitis cases. *J Indian Soc Periodontol.* 2019;23(5):424-9.
130. Letterio JJ, Roberts AB. Regulation of immune responses by TGF-beta. *Annu Rev Immunol.* 1998;16:137-61.
131. Wahl SM, Costa GL, Mizel DE, Allen JB, Skaleric U, Mangan DF. Role of transforming growth factor beta in the pathophysiology of chronic inflammation. *J Periodontol.* 1993;64(5 Suppl):450-5.
132. Leask A, Abraham DJ. TGF-beta signaling and the fibrotic response. *FASEB J.* 2004;18(7):816-27.
133. Toda N, Mukoyama M, Yanagita M, Yokoi H. CTGF in kidney fibrosis and glomerulonephritis. *Inflamm Regen.* 2018;38:14.
134. Wright HJ, Chapple IL, Matthews JB. TGF-beta isoforms and TGF-beta receptors in drug-induced and hereditary gingival overgrowth. *J Oral Pathol Med.* 2001;30(5):281-9.
135. Al-Hamilly NS, Radwan LR, Abdul-Rahman M, Mourad MI, Grawish ME. Biological roles of KGF, CTGF and TGF- $\beta$  in cyclosporine-A- and phenytoin- induced gingival overgrowth: A comparative experimental animal study. *Arch Oral Biol.* 2016;66:38-43.
136. Kose KN, Yilmaz S, Noyan U, Kuru B, Yildirim HS, Agrali OB, Ozener HO, Kuru L. The gingival crevicular fluid levels of growth factors in patients with amlodipine-induced gingival overgrowth: A pilot study. *Niger J Clin Pract.* 2020;23(4):561-7.
137. Kaynar K, Ulusoy S, Ovali E, Vanizor B, Dikmen T, Gul S. TGF-beta and TNF-alpha producing effects of losartan and amlodipine on human mononuclear cell culture. *Nephrology (Carlton).* 2005;10(5):478-82.
138. Takayama S, Yoshida J, Hirano H, Okada H, Murakami S. Effects of basic fibroblast growth factor on human gingival epithelial cells. *J Periodontol.* 2002;73(12):1467-73.
139. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev.* 2003;83(3):835-70.
140. Sanale AR, Firth JD, Uitto VJ, Putnins EE. Keratinocyte growth factor (KGF)-1 and -2 protein and gene expression in human gingival fibroblasts. *J Periodontal Res.* 2002;37(1):66-74.

141. Mackenzie IC, Gao Z. Keratinocyte growth factor expression in human gingival fibroblasts and stimulation of in vitro gene expression by retinoic acid. *J Periodontol.* 2001;72(4):445-53.
142. Bletsa A, Abdalla H, Løes S, Berggreen E. Lymphatic growth factors are expressed in human gingiva and upregulated in gingival fibroblasts after stimulation. *J Periodontol.* 2018;89(5):606-15.
143. Kumar A, Mutter S, Parente EB, Harjutsalo V, Lithovius R, Mathavan S, Lehto M, Hiltunen TP, Kontula KK, Groop PH. L-type calcium channel blocker increases VEGF concentrations in retinal cells and human serum. *PLoS One.* 2023;18(4):e0284364.
144. Menger MM, Merscher B, Scheuer C, Braun BJ, Herath SC, Rollmann MF, Stenger D, Später T, Pohlemann T, Menger MD, Histing T. Amlodipine accelerates bone healing in a stable closed femoral fracture model in mice. *Eur Cell Mater.* 2021;41:592-602.
145. Araujo CS, Graner E, Almeida OP, Sauk JJ, Coletta RD. Histomorphometric characteristics and expression of epidermal growth factor and its receptor by epithelial cells of normal gingiva and hereditary gingival fibromatosis. *J Periodontal Res.* 2003;38(3):237-41.
146. Becerik S, Celec P, Gürkan A, Öztürk VÖ, Kamodyova N, Atilla G, Emingil G. Gingival Crevicular Fluid and Plasma Levels of Transglutaminase-2 and Oxidative Stress Markers in Cyclosporin A-Induced Gingival Overgrowth. *J Periodontol.* 2016;87(12):1508-16.
147. Akalin FA, Toklu E, Renda N. Analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontally healthy controls. *J Clin Periodontol.* 2005;32(3):238-43.
148. Tsai CH, Yu CC, Lee SS, Yu HC, Huang FM, Chang YC. Upregulation of Slug expression by cyclosporine A contributes to the pathogenesis of gingival overgrowth. *J Formos Med Assoc.* 2016;115(8):602-8.
149. Chin YT, Tu HP, Lin CY, Kuo PJ, Chiu HC, Liu SH, Lee SY, Fu E. Antioxidants protect against gingival overgrowth induced by cyclosporine A. *J Periodontal Res.* 2021;56:397-407.
150. Salehi I, Mohammadi M, Mirzaei F, Soufi FG. Amlodipine attenuates oxidative stress in the heart and blood of high-cholesterol diet rabbits: cardiovascular topics. *Cardiovasc J Afr.* 2012;23:18-22.
151. Kim HJ, Han SJ, Kim DJ, Jang HC, Lim S, Choi SH, Kim YH, Shin DH, Kim SH, Kim TH, Ahn YB. Effects of valsartan and amlodipine on oxidative stress in type 2 diabetic patients with hypertension: a randomized, multicenter study. *Korean J Intern Med.* 2017;32:497.
152. Sardaro N, Della Vella F, Incalza MA, Di Stasio DA, Lucchese A, Contaldo M, Laudadio C, Petruzzini M. Oxidative stress and oral mucosal diseases: an overview. *In Vivo.* 2019;33(2):289-96.
153. Mohammed AI, Sangha S, Nguyen H, Shin DH, Pan M, Park H, McCullough MJ, Celentano A, Cirillo N. Assessment of oxidative stress-induced oral epithelial toxicity. *Biomolecules.* 2023;13(8):1239.
154. Sukuroglu E, Güncü GN, Kilinc K, Caglayan F. Using salivary nitrite and nitrate levels as a biomarker for drug-induced gingival overgrowth. *Front Cell Infect Microbiol.* 2015;5:87.
155. Sardarian A, Andisheh Tadbir A, Zal F, Amini F, Jafarian A, Khademi F, Mostafavi-Pour Z. Altered oxidative status and integrin expression in cyclosporine A-treated oral epithelial cells. *Toxicol Mech Methods.* 2015;25(2):98-104.

156. Mohideen K, Chandrasekaran K, Dhungel S, Ghosh S. Assessment of antioxidant enzyme superoxide dismutase (SOD) in oral cancer: systematic review and meta-analysis. *Dis Markers*. 2024;2024(1):2264251.
157. Chelikani P, Fita I, Loewen PC. Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol Life Sci*. 2004;61(2):192-208.
158. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014:360438.
159. Cherian DA, Peter T, Narayanan A, Madhavan SS, Achammada S, Vynat GP. Malondialdehyde as a marker of oxidative stress in periodontitis patients. *J Pharm Bioallied Sci*. 2019;11(Suppl 2):S297-300.
160. Zhang D, Jin W, Wu R, Li J, Park SA, Tu E, Zanvit P, Xu J, Liu O, Cain A, Chen W. High glucose intake exacerbates autoimmunity through reactive-oxygen-species-mediated TGF- $\beta$  cytokine activation. *Immunity*. 2019;51:671-81.
161. Kotsiou OS, Gourgoulisanis KI, Zarogiannis SG. IL-33/ST2 Axis in Organ Fibrosis. *Front Immunol*. 2018;9:2432.

## Скраћенице

|                    |                                                       |
|--------------------|-------------------------------------------------------|
| 4-HNE              | 4-hydroxynonenal                                      |
| BCP                | 1-bromo-3-chloropropane                               |
| BHT                | Butylated hydroxytoluene                              |
| CAL                | Clinical attachment level                             |
| CAT                | Catalase                                              |
| CCI                | Charlson Comorbidity Index                            |
| CTGF               | Connective tissue growth factor                       |
| ddH <sub>2</sub> O | Дупло дестилована вода                                |
| DIGE               | Drug induced gingival enlargement                     |
| DMSO               | Dimethyl sulfoxide                                    |
| EGF                | Epidermal growth factor                               |
| FDA                | Food and Drug Administration                          |
| FGF-2              | Fibroblast growth factor-2                            |
| FGF-7              | Fibroblast growth factor-7                            |
| GAPDH              | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase              |
| GHI                | Gingival hyperplasia index                            |
| GPx                | Glutathione peroxidase                                |
| HC                 | High Control                                          |
| HI                 | Hyperplasia index                                     |
| HRP                | Horseradish peroxidase                                |
| HRQoL              | Health-related quality of life                        |
| IL-1 $\beta$       | Interleukin-1 $\beta$                                 |
| IL-33              | Interleukin-33                                        |
| IL-6               | Interleukin-6                                         |
| KGF                | Keratinocyte growth factor                            |
| LOOH               | Lipid hydroperoxides                                  |
| MDA                | Malondialdehyde                                       |
| MDR 1              | Multidrug resistance                                  |
| OD                 | Optical Density                                       |
| OHIP-14            | Oral Health Impact Profile                            |
| OHRQoL             | Oral health-related quality of life                   |
| OPG                | Osteoprotegerin                                       |
| PBI                | Papillae bleeding index                               |
| PBS                | Phosphate-buffered saline                             |
| PI                 | Плак индекс по Sillnes Löu-y                          |
| PRAISE             | Prospective Randomized Amlodipine Survival Evaluation |
| RANKL              | Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand   |
| ROS                | Reactive oxygen species                               |
| RT-PCR             | Real-time polymerase chain reaction                   |
| SOD                | Superoxide dismutase                                  |
| ST2                | Suppression of tumorigenicity 2 receptor              |
| TBA                | Thiobarbituric acid                                   |

|                |                                                                                                                |
|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TBARS          | Thiobarbituric acid reactive substances                                                                        |
| TGF- $\beta$ 1 | Transforming growth factor beta 1                                                                              |
| Th2            | T helper type 2                                                                                                |
| TNF- $\alpha$  | Tumor necrosis factor alpha                                                                                    |
| VEGF-C         | Vascular endothelial growth factor C                                                                           |
| VEGF-D         | Vascular endothelial growth factor D                                                                           |
| WB-HRQoL       | Questionnaire for measuring health-related quality of life (HRQoL) in adults residing in western Balkan states |
| WST            | Water-soluble tetrazolium                                                                                      |
| АЛИМС          | Агенција за лекове и медицинска средства                                                                       |
| БКК            | Блокатори канала за калцијум                                                                                   |
| ДХП            | Дихидропиридини                                                                                                |
| ММП            | Матрикс металопротеиназе                                                                                       |
| НДХП           | Недихидропиридини                                                                                              |
| НСАИЛ          | Нестероидни антиинфламаторни лекови                                                                            |
| РНК            | Рибонуклеинска киселина                                                                                        |
| СЗО            | Светска здравствена организација                                                                               |
| ТИМП           | Ткивни инхибитори матрикс металопротеиназа                                                                     |

## Биографија аутора

Јана В. Мојсиловић, доктор стоматологије, рођена је 07.11.1995. године у Крагујевцу, где је завршила основну школу „Трећи крагујевачки батаљон“ и средњу школу, Прву крагујевачку гимназију, обе као носилац дипломе „Вук Караџић“. Факултет медицинских наука, Интегрисане академске студије стоматологије, уписала је 2014. године, а 2019. године завршила са просечном оценом 9,77 (девет и 77/100) као студент генерације и најбољи студент током свих пет година студија. Током студирања је била стипендиста Министарства науке, просвете и технолошког развоја и стипендиста Министарства омладине – Фонда за младе таленте „Доситеја“. Добитница је награде Српског Лекарског Друштва за најбоље дипломираног студента у 2019. години. Постдипломске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје ИП 11 – Истраживања у стоматологији, уписала је 2019. године, а усмени докторски испит положила у јулу 2021. године са оценом 10 (десет). Од 2019. године учествује у извођењу наставе на предмету Пародонтологија и орална медицина као фацилитатор, а од јануара 2020. године до 2023. године је у била звању истраживача приправника МПНТР, након чега је била изабрана у звање истраживач сарадник МПНТР. Од јула 2023. године је запослена као доктор стоматологије ОЈ Завода за стоматологију Факултета медицинских наука, а истовремено уписује и специјалистичке студије из области Пародонтологије и оралне медицине.

## Библиографија

Mojsilović J, Jovičić N, Vujović Ristić S, Stevanović M, Mijailović S, Rosić G, Janković S, Kostić M. Novel Insights into Amlodipine-Induced Gingival Enlargement: A Clinical and Molecular Perspective. *Pharmaceuticals*. 2024;17(8):1075.

**ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

**„Утицај хроничне примене амлодипина на увећање гингиве: процена фактора ризика, параметара оксидативног стреса, хистолошких маркера и квалитета живота“**

представља оригинално ауторско дело настало као резултат сопственог истраживачког рада.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам једини аутор наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији нисам извршио/ла повреду ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

У Крагујевцу, 12.09.2024. године,



потпис аутора

**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ  
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:

**„Утицај хроничне примене амлодипина на увећање гингиве: процена фактора  
ризика, параметара оксидативног стреса, хистолошких маркера и квалитета  
живота“**

истоветне.

У Крагујевцу, 12.09.2024. године,

  
\_\_\_\_\_  
потпис аутора

**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Ја, Јана Мојсиловић,

☒

дозвољавам

☐

не дозвољавам

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

**„Утицај хроничне примене амлодипина на увећање гингиве: процена фактора ризика, параметара оксидативног стреса, хистолошких маркера и квалитета живота“**

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

Овом Изјавом такође

☒

дозвољавам

☐

не дозвољавам<sup>1</sup>

---

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

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

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада<sup>2</sup>**

У Крагујевцу, 12.09.2024. године,

  
\_\_\_\_\_  
потпис аутора

---

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