

UNIVERZITET U BEOGRADU

STOMATOLOŠKI FAKULTET

Bojan D. Dželetović

**UTICAJ ŽIVOTNE DOBI,
ESTROGENSKOG STATUSA I
KAROTIDNE ATEROSKLEROZE NA
PROTOK KRVI KROZ ZUBNU PULPU**

doktorska disertacija

Beograd, 2012

UNIVERSITY OF BELGRADE
SCHOOL OF DENTAL MEDICINE

Bojan D. Dželetović

**THE INFLUENCE OF AGE, ESTROGEN
STATUS AND CAROTID
ATHEROSCLEROSIS ON DENTAL PULP
BLOOD FLOW**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2012

MENTOR

Prof. dr Dragica Stojić,
redovni profesor Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu

KOMENTOR

Prof. dr Elena Kršljak,
redovni profesor Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu

KOMISIJA ZA OCENU I ODBRANU ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE

Prof. dr Aleksandra Lukić
redovni profesor Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Đurica Grga
vanredni profesor Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Nina Japundžić Žigon
redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

DATUM ODBRANE

Zahvalnost dugujem:

SVOJOJ PORODICI

Prof. dr Dragici Stojić, izuzetnom mentoru, i pre svega plemenitoj ličnosti, na razumevanju, požrtvovanosti i spremnosti da pomogne u prevazilaženju svih problema sa kojima sam se suočavao tokom pisanja ovog rada.

Prof. dr Eleni Kršljak, na pomoći u savladavanju primene metode laser Dopler merenja protoka krvi.

Doc. dr Đorđu Stratimiroviću na pomoći u realizaciji dela istraživanja vezanog za spektralnu analizu laser Dopler signal

Prof. dr Đorđu Radaku, direktoru Klinike za vaskularnu hirurgiju, Instituta za kardiovaskularne bolesti Dedinje, kao i prof. dr Milanu Brajoviću, šefu odseka neinvazivne kardiologije, KBC Zvezdara, na korišćenju resursa njihovih ustanova.

Mr sci. dr Nikoli Aleksiću sa Instituta za kardiovaskularne bolesti Dedinje, na velikoj pomoći i obezbeđivanju ispitanika iz grupe kliničke populacije.

Prof. dr Branislavu Glišiću, šefu tehničke laboratorije Nenadu Rakoviću i Klinici za ortopediju, Stomatološkog fakulteta na izradi splintova neophodnih za laser Dopler merenja.

Studentima i zaposlenima na Stomatološkom fakultetu koji su kao ispitanici učestvovali u ovoj studiji.

Članovima kolektiva Klinike za bolesti zuba koji su mi svojim razumevanjem i podrškom pomogli u izvođenju istraživanja.

Posebnu zahvalnost dugujem dr Vesni Miletic Phd na podstreku sa kojim me je pratila od početka mog istraživačkog puta.

UTICAJ ŽIVOTNE DOBI, ESTROGENSKOG STATUSA I KAROTIDNE ATEROSKLEROZE NA PROTOK KRVI KROZ ZUBNU PULPU

SAŽETAK

Zubna pulpa predstavlja mikrocirkulatorni sistem koji zbog svoje lokalizacije unutar čvrstih dentinskih zidova ima posebne karakteristike. Glavni dovodni krvni sudovi za zubnu pulpu, kao i druge organe i tkiva orofacijalne regije, su zajednička karotidna arterija (ZKA) i spoljašnja karotidna arterija (SKA). Karotidne arterije, kao i mikrocirkulacija zubne pulpe starenjem podležu različitim strukturnim i funkcionalnim promenama. Pokazano je da fiziološke promene nivoa estrogena u plazmi tokom menstrualnog ciklusa, kao i u menopauzi, značajno utiču na protok krvi u mikrocirkulatornim sistemima mozga i kože. U patološkim uslovima, u prisustvu ateroskleroze karotidnih arterija, postoje značajne promene u protoku krvi u tkivima koja one ishranjuju. Imajući sve ovo u vidu postavljena je hipoteza da životna dob, estrogenski status i ateroskleroza karotidnih arterija značajno utiču na protok krvi u zubnoj pulpi.

Ciljevi ovog istraživanja bili su: 1. Odrediti protok krvi kroz krvne sudove zubne pulpe i protok kroz ZKA i SKA kao i debljinu intimo-medijalnog kompleksa (IMK) pomenutih arterija kod zdravih osoba, oba pola, u dve starosne grupe, od 20-25 i od 50-60 godina (opšta populacija); 2. Ispitati zavisnost protoka krvi u zubnoj pulpi, protoka kroz ZKA i SKA kao i debljine IMK pomenutih arterija u odnosu na životnu dob kod opšte populacije; 3. Ispitati korelaciju između protoka krvi kroz krvne sudove zubne pulpe i protoka kroz ZKA i SKA i debljine IMK pomenutih arterija kod opšte populacije; 4. Odrediti protok krvi kroz krvne sudove zubne pulpe i nivo estrogena kod zdravih žena starosti od 20-25 godina u toku redovnog menstrualnog ciklusa (koji traje 28 dana), u fazi kada je visok estrogen (od 10. do 13. dana) i u fazi niskog estrogena (od 26. do 5. dana), kao i kod žena u menopauzi; 5. Ispitati korelaciju između protoka krvi u krvnim sudovima zubne pulpe i estrogenskog statusa žena sa redovnim menstrualnim

ciklusom i žena u menopauzi; 6. Primeniti spektralnu analizu na laser Dopler signal protoka krvi u zubnoj pulpi žena sa redovnim menstrualnim ciklusom i žena u menopauzi i ispitati dinamička svojstva kontrolnih mehanizama pulpne mikrocirkulacije; 7. Odrediti protok krvi kroz krvne sudove zubne pulpe i stepen stenozе karotidne bifurkacije kod pacijenata sa karotidnom aterosklerozom (kliničke populacije); 8. Ispitati korelaciju između protoka krvi kroz krvne sudove zubne pulpe i stepena stenozе karotidne bifurkacije kod kliničke populacije.

Ispitivanjem uticaja životne dobi na protok krvi u zubnoj pulpi obuhvaćeno je: a) 30 zdravih ispitanika oba pola starosti 20-25 godina i b) 30 zdravih ispitanika oba pola starosti 50-60 godina. Merenje protoka krvi kroz zubnu pulpu urađeno je laser Dopler metodom (*laser Doppler flowmetry-LDF*). Hemodinamska svojstva karotidnih arterija utvrđena su ultrazvučnim pregledom ZKA i SKA. Ispitivanjem uticaja estrogenskog statusa na protok krvi u zubnoj pulpi obuhvaćeno je: a) 30 žena starosti 20-25 godina, sa redovnim menstrualnim ciklusom i b) 30 žena u menopauzi, starosti 50-55 godina. Kod žena sa redovnim ciklusom izvedena su po dva merenja protoka krvi kroz zubnu pulpu LDF metodom, između 10. i 13. i između 26. i 5. dana menstrualnog ciklusa, dok je kod žena u menopauzi izvedeno jedno takvo merenje. Dinamička svojstva kontrolnih mehanizama pulpne mikrocirkulacije određena su spektralnom analizom dobijenog laser Dopler signala. Nivo estrogena u serumu određivan je metodom mikročestica enzimskog imunoodređivanja (*microparticle enzyme immunoassay-MEIA*). Ispitivanjem uticaja karotidne ateroskleroze na protok krvi u zubnoj pulpi obuhvaćeni su: a) zdravi ispitanici starosti 50-60 godina (15, opšta populacija) i b) pacijenti sa stenozom karotidne bifurkacije starosti 50-60 godina (15, klinička populacija). Hemodinamski parametri karotidnih arterija zdravih ispitanika i pacijenata sa stenozom praćeni su ultrazvučnim pregledom. Protok krvi kroz zubnu pulpu svih učesnika meren je LDF metodom.

Naši rezultati pokazuju da je protok krvi u opštoj populaciji, u pulpi gornjih centralnih inciziva, značajno veći, za oko 40%, kod mladih u odnosu na starije ispitanike što jasno ukazuje na uticaj životne dobi na protok u pulpi, a što je u saglasnosti sa ranijim histološkim studijama. U opštoj populaciji ne postoji korelacija između protoka krvi kroz karotidne arterije i protoka u pulpi gornjih centralnih inciziva

kako u grupi ispitanika od 50-60 godina starosti tako ni u mlađoj starosnoj grupi, od 20-25 godina. Imajući u vidu veće protoke kroz ZKA i SKA starijih ispitanika može se pretpostaviti da je nepostojanje pomenute korelacije rezultat promena, povezanih sa starenjem, na nivou pulpne mikrocirkulacije a ne posledica redukovanog dotoka krvi iz karotidnih arterija.

Naši rezultati pokazuju da tokom menstrualnog ciklusa (akutne promene nivoa estrogena) dolazi do promene nivoa protoka krvi u zubnoj pulpi, tako da je protok veći u fazi kad je estrogen visok u odnosu na fazu sa niskim estrogenom. S' druge strane u toku hroničnog smanjenja nivoa estrogena, kao što je to slučaj kod žena u menopauzi naši rezultati pokazuju da je protok krvi u zubnoj pulpi značajno manji u poređenju sa mladim ženama u fazi visokog estrogena. Međutim, protok u zubnoj pulpi kod žena u menopauzi ne razlikuje se značajno od protoka kod mladih žena u fazi kad je estrogen bio nizak. Činjenica da postoji značajna korelacija između protoka u pulpi i nivoa estrogena u serumu i kod mladih i kod žena u menopauzi sugerise da su promene protoka u zubnoj pulpi kod žena, osim sa starenjem, povezane i sa promenama nivoa endogenog estrogena. Ovi funkcionalni nalazi direktan su dokaz o postojanju estrogenских receptora (ER) u krvnim sudovima pulpe. Nivo protoka krvi u zubnoj pulpi predstavlja rezultat različitih kontrolnih mehanizama na nivou pulpne mikrocirkulacije. Koristeći Vejvlet spektralnu analizu LDF signala u našem istraživanju potvrdili smo u merenjima dobijenim na zubnoj pulpi postojanje pet specifičnih frekvencija koje odgovaraju: srčanoj aktivnosti 0.6-1.6 Hz, respiraciji 0.2-0.6 Hz, aktivnosti mišića krvnih sudova 0.06-0.2 Hz, simpatičkoj aktivnosti 0.02-0.06 Hz i endotelnoj aktivnosti 0.0095-0.02 Hz. Dobijeni rezultati pokazuju da su relativna amplituda i snaga frekvencijskih intervala koji odgovaraju srčanoj aktivnosti, respiraciji, aktivnosti mišića krvnih sudova i simpatičkoj aktivnosti značajno veće kod žena u menopauzi nego kod žena sa redovnim menstrualnim ciklusom u obe njegove faze. Sa druge strane relativna amplituda i snaga frekvencijskog intervala koji odgovara endotelnoj aktivnosti su značajno manje kod žena u menopauzi u odnosu na mlade žene u obe faze ciklusa. Ovi podaci ukazuju da su ER u zubnoj pulpi lokalizovani u endotelu i mišićnom zidu arterijskih sudova, kao što je slučaj i u drugim arterijama. Smanjenje endotelne komponente oscilacija protoka u zubnoj pulpi najverovatnije se može pripisati smanjenju broja ER, posledično smanjenoj dostupnosti azot-monoksida i endotelnoj

disfunkciji. Veće vrednosti relativnih amplituda i snaga frekvencijskih intervala koji predstavljaju srčanu aktivnost, respiraciju i aktivnost mišićnog sloja krvnih sudova kod žena u menopauzi u odnosu na žene u reproduktivnom periodu verovatno su posledica hemodinamskog prilagođavanja na stanje endotelne disfunkcije. Povećanje simpatičke komponente oscilacija pulpnog protoka kod žena u menopauzi može se pripisati većoj simpatičkoj aktivnosti u menopauzi usled povećane centralne simpatičke aktivnosti.

Pored životne dobi i estrogenskog statusa, kao fizioloških faktora od značaja za mikrocirkulaciju zubne pulpe u opštoj populaciji, ispitan je i uticaj ateroskleroze karotidnih arterija u kliničkoj populaciji pacijenata na mikrocirkulaciju zubne pulpe. Naši rezultati pokazuju da ne postoji korelacija između stepena stenoze karotidne bifurkacije i protoka kroz mikrocirkulaciju zubne pulpe u kliničkoj populaciji pacijenata starosti od 50-60 godina. Ovo ukazuje na postojanje kolateralnog krvotoka za orofacijalnu regiju koji najverovatnije obezbeđuje adekvatan dovod krvi u mikrocirkulaciju pulpe tako da je protok kroz zubnu pulpu kliničke populacije starosti 50-60 godina sličan onome u opštoj populaciji približne starosti.

KLJUČNE REČI: protok krvi u zubnoj pulpi, starenje, estrogen, karotidna ateroskleroza, spektralna Vejvlet analiza

NAUČNA OBLAST: Stomatološke nauke

UŽA NAUČNA OBLAST: Bazične stomatološke nauke

UDK broj: 616.314.18-073:612.15(043.3)

THE INFLUENCE OF AGE, ESTROGEN STATUS AND CAROTID ATHEROSCLEROSIS ON DENTAL PULP BLOOD FLOW

SUMMARY

Dental pulp represents a microcirculatory system which due to localization within dentinal walls has specific characteristics. Major feeding blood vessels of dental pulp, as well as orofacial region, are common carotid artery (CCA) and external carotid artery (ECA). Carotid arteries, like dental pulp microcirculation, undergo different structural and functional age-related changes. It has been shown that physiological changes in plasma estrogen levels during the menstrual cycle, and postmenopause, significantly affect blood flow in the microcirculatory system of the brain and skin. In pathological conditions, in presence of carotid atherosclerosis, there are significant changes in blood flow in tissues they supply. Having all this in mind, it was hypothesized that age, estrogen status and carotid atherosclerosis significantly affect blood flow in the dental pulp.

The aims of this study were to: 1. Determine dental pulp blood flow and blood flow through the CCA and ECA and intima-media thickness (IMT) of these arteries in healthy adults of both sexes in two age groups of 20-25 and 50-60 years (general population); 2. Examine the dependence of dental pulp blood flow, the flow through the CCA and ECA, and IMT of these arteries in relation to age in the general population; 3. Examine the correlation between dental pulp blood flow and flow through the CCA and ECA and IMT of these arteries in the general population; 4. Determine dental pulp blood flow and estrogen levels in healthy women aged 20-25 years during the regular menstrual cycle (which is 28 days), at a phase when estrogen is high (from 10 to 13 days) and a phase when estrogen is low (from 26 to 5 days), and in postmenopausal women; 5. Examine the correlation between dental pulp blood flow and estrogen levels in women with regular menstrual cycle and postmenopausal women; 6. Apply spectral

analysis of laser Doppler blood flow signal in the dental pulp of women with regular menstrual cycle and postmenopausal women and to examine the dynamic properties of pulpal microcirculation control mechanisms; 7. Determine dental pulp blood flow and the degree of stenosis of the carotid bifurcation in patients with carotid atherosclerosis (clinical population); 8. Examine the correlation between dental pulp blood flow and degree of stenosis of the carotid bifurcation in clinical population.

The study of influence of age on dental pulp blood flow was conducted on: a) 30 healthy subjects of both sexes aged 20-25 years and b) 30 healthy subjects of both sexes aged 50-60 years. Dental pulp blood flow measurements were performed using laser Doppler flowmetry (LDF). Hemodynamic properties of carotid arteries were measured by ultrasound examination of CCA and ECA. The influence of estrogen status on dental pulp blood flow was conducted on: a) 30 women aged 20-25 years, with regular menstrual cycles and b) 30 postmenopausal women, aged 50-55 years. Two LDF measurements of dental pulp blood flow were carried out in women with regular cycles, between 10 and 13 day, and between 26 and 5 day of the menstrual cycle, whereas in postmenopausal women single LDF measurement was performed. Dynamic properties of pulpal microcirculation control mechanisms were analyzed using spectral analysis of laser Doppler signals. Serum estrogen levels were determined by microparticle enzyme immunoassay-MEIA. Examination of influence of carotid atherosclerosis on dental pulp blood flow included: a) healthy subjects aged 50-60 years (15, general population) and b) patients with carotid bifurcation stenosis, aged 50-60 years (15, clinical population). Hemodynamic parameters of the carotid arteries of healthy subjects and patients with stenosis were examined by ultrasound. Dental pulp blood flow of all participants was measured by LDF.

Our results show that dental pulp blood flow of upper central incisor is significantly higher, by about 40%, in young compared to older subjects of general population, which clearly indicates the influence of age on dental pulp blood flow, which is in accordance with previous histological studies. There is no correlation between blood flow through the carotid arteries and dental pulp blood flow of upper central incisors in both groups of subjects in general population. Having in mind higher blood flow through the CCA and ECA of elderly subjects it can be assumed that the absence of the mentioned correlations is the result of changes at the level of pulpal

microcirculation, associated with aging, and not the consequence of reduced blood flow in the carotid arteries.

Our results show that there are changes in dental pulp blood flow during the menstrual cycle (short-term changes in estrogen levels), so that the flow is greater in the phase when estrogen is high compared to the low-estrogen phase. On the other hand during long-term reduction in estrogen levels, as is the case in postmenopausal women, our results indicate that dental pulp blood flow is significantly lower compared to young women in a high-estrogen phase. However, dental pulp blood flow in postmenopausal women is not significantly different from that in young women in phase when estrogen is low. The fact that there is a significant correlation between dental pulp blood flow and serum estrogen levels in young and postmenopausal women suggests that dental pulp blood flow levels in women is related to levels of endogenous estrogen, as well as age. These functional findings are the direct evidence of estrogen receptors (ER) existence in the dental pulp blood vessels. The dental pulp blood flow is the result of various control mechanisms at the level of pulpal microcirculation. Using Wavelet spectral analysis of LDF signals from the dental pulp, we confirmed the existence of five specific frequencies that correspond to: heartbeat 0.6-1.6 Hz, respiratory activity 0.2-0.6 Hz, intrinsic myogenic activity 0.06-0.2 Hz, sympathetic activity 0,02-0,06 Hz and endothelial activity 0.0095-0.02 Hz. The results show that the relative amplitude and power of frequency intervals corresponding to heartbeat, respiratory activity, intrinsic myogenic activity and sympathetic activity are significantly higher in postmenopausal women than in women with normal menstrual cycles in both phases. On the other hand, the relative amplitude and power in frequency interval corresponding to endothelial activity are significantly lower in postmenopausal women compared to young women, in both phases of the cycle. These data indicate that the ERs are localized in endothelium and muscular wall in dental pulp arteries, as in other arteries. The reduction of endothelial component of oscillations in dental pulp is most likely attributable to the ER number reduction and consequently reduced availability of nitric oxide, and endothelial dysfunction. Higher values of the relative amplitude and power of frequency intervals corresponding to heartbeat, respiratory activity and intrinsic myogenic activity in postmenopausal women than in women with normal menstrual cycles are probably a consequence of hemodynamic adjustments to the state of

endothelial dysfunction. Increase of sympathetic component of oscillations in postmenopausal women can be attributed to the higher sympathetic activity in postmenopause due to the increased central sympathetic activity.

In addition to age and estrogen status, as physiological factors relevant to the microcirculation of the dental pulp in the general population, we examined the impact of carotid atherosclerosis on dental pulp microcirculation, in clinical population. Our results show that there is no correlation between the degree of stenosis of the carotid bifurcation and dental pulp blood flow in clinical population (patients aged 50-60 years). This indicates the existence of collateral circulation for orofacial region that probably ensures the adequate blood supply to dental pulp microcirculation, thus the dental pulp blood flow in clinical population (aged 50-60 years) is similar to that in general population of similar age.

KEY WORDS: dental pulp blood flow, ageing, estrogen, carotid atherosclerosis, spectral analysis, wavelet analysis

SCIENTIFIC FIELD: Dental Sciences

SPECIFIC SCIENTIFIC FIELD: Basic Dental Sciences

UDC: 616.314.18-073:612.15(043.3)

SADRŽAJ

UVOD.....	1
Vaskularizacija zubne pulpe.....	2
Krvni sudovi sistemske cirkulacije: starenje, estrogen i ateroskleroza.....	4
Krvni sudovi zubne pulpe: starenje, estrogen i ateroskleroza.....	7
Registrowanje i analiza protoka krvi u mikrocirkulaciji.....	8
HIPOTEZA.....	10
CILJEVI.....	12
MATERIJAL I METOD.....	15
Ispitanici.....	16
Merenje protoka krvi kroz zubnu pulpu.....	17
Spektralna analiza.....	18
Ultrazvučni pregled karotidnih arterija.....	19
Laboratorijsko određivanje nivoa estrogena u serumu.....	20
Statistička obrada podataka.....	20
REZULTATI.....	21
Protok krvi kroz zubnu pulpu u odnosu na starosnu dob, protok krvi kroz karotidne arterije i debljinu njihovog IMK.....	22
Protok krvi kroz zubnu pulpu u odnosu na estrogenski status.....	28

Spektralna analiza LDF signala protoka krvi kroz zubnu pulpu kod žena sa različitim estrogenskim statusom.....	31
Protok krvi u zubnoj pulpi pacijenata sa karotidnom aterosklerozom.....	39
DISKUSIJA.....	41
ZAKLJUČCI.....	51
LITERATURA.....	53

UVOD

U fiziološkim uslovima glavni dovodni krvni sudovi za organe i tkiva orofacijalne regije su zajednička karotidna arterija (ZKA) i spoljašnja karotidna arterija (SKA). Međutim u uslovima velikih stenoza izazvanih aterosklerozom na pomenutim dovodnim arterijama dovod krvi za organe orofacijalne regije odvija se preko kolateralnih veza (Keller i sar., 1984; Nassauer Mónica i sar., 2005; Oguzkurt i sar., 2005). Glavne arterije orofacijalne regije kao što su lingvalna, facijalna ili maksilarna imaju sve karakteristike mišićnih srednjih arterija makrocirkulacije. Značajno je istaći da su fizički zakoni protoka krvi u makrocirkulatornim i mikrocirkulatornim sistemima različiti i da se patološki procesi na krvnim sudovima različito ispoljavaju na ovim sistemima. Jedna od glavnih funkcionalnih razlika između ova dva sistema je uloga makrocirkulacije da kompenzuje srčane pulsacije kako bi protok u kapilarima bio kontinuiran dok je mikrocirkulacija glavno mesto nastanka perifernog otpora (Nichols i O'Rourke, 2005; Hashimoto i Ito, 2009). Interesantno je istaći da se u pojedinim organima orofacijalne regije nalaze mikrocirkulatorni sistemi sa posebnim karakteristikama, kao što je to slučaj sa pljuvačnim žlezdama i zubnom pulpom. Mikrocirkulatorni sistem zubne pulpe zbog svoje lokalizacije unutar dentinskih zidova često se upoređuje sa mikrocirkulatornim sistemom mozga koji se nalazi unutar lobanje i, šta više, pokazano je da je protok krvi u mirovanju kroz oba ova sistema vrlo sličan i veći u odnosu na druge mikrocirkulatorne sisteme (Tonder, 1980; Kim, 1985b).

VASKULARIZACIJA ZUBNE PULPE

Zubna pulpa je dobro vaskularizovano tkivo čija je prokrvljenost slična sa prokrvljenošću tkiva mozga i jezika (Vongsavan i Matthews, 1992). Krvni sudovi snabdevaju pulpno tkivo kiseonikom i hranljivim materijama i uklanjaju proizvode metabolizma, čime učestvuju u održavanju homeostaze i očuvanju njegovog integriteta. Krv za zube gornje i donje vilice dospeva preko spoljašnje karotidne arterije, maksilarne

arterije i njenih odgovarajućih grana (Moore, 1992). Grane ovih arterija na putu od korenskog vrha ka kruničnom delu zuba daju veliki broj bočnih grana koje se završavaju kapilarnom mrežom (Corpron i sar., 1973; Yoshida i Ohshima, 1996). Pored ovih glavnih krvnih sudova postoje i pomoćni krvni sudovi koji u pulpu dospevaju kroz lateralne kanale korena zuba (Corpron i sar., 1973; Yoshida i Ohshima, 1996). Glavni dovodni krvni sudovi pulpe su po građi arteriole, dijametra oko 50 μm (Zhang i sar., 1998; Seltzer, 2002). Na osnovu nalaza skening elektronske mikroskopije u zubnoj pulpi se može razlikovati šest vaskularnih segmenata: mišićne arteriole, terminalne arteriole, prekapilarne arteriole, kapilari, postkapilarne venule i mišićne venule (Zhang i sar., 1993; Tabata i sar., 1998). U pulpi postoje i brojne arterio-venske anastomoze koje, ako su otvorene, prave direktnu vezu između arteriola i venula, zaobilazeći kapilarnu mrežu, što omogućuje smanjenje intrapulpnog pritiska, ukoliko je to potrebno (Kim i sar., 1984; Kim, 1985a). Grananjem terminalnih arteriola nastaju prekapilari na koje se nadovezuju kapilari (Seltzer, 2002) gradeći u subodontoblastnom regionu pulpe razgranati subodontoblastni kapilarni pleksus (Corpron i sar., 1973; Yoshida i Ohshima, 1996). Kako mikrocirkulaciju čine male arterije i arteriole, promera manjeg od 400 μm odnosno 100 μm , i kapilari (Christensen i Mulvany, 2001; O'Rourke i Hashimoto, 2007) to pulpa predstavlja mikrocirkulatorni sistem koji po strukturi i funkciji liči na mikrocirkulatorni sistem mozga.

U fiziološkim uslovima, vaskularni tonus i protok krvi kroz zubnu pulpu su pod kontrolom nervnih, lokalnih i humoralnih mehanizama. Inervacija krvnih sudova zubne pulpe razlikuje se od inervacije ostalih krvnih sudova po tome što je čine pored vegetativnih nerava, uglavnom simpatičkih, i senzitivni trigeminalni nervi (Olgart, 1996). Senzitivni nervi zubne pulpe potiču od maksilarne i mandibularne grane trigeminalnog nerva i u subodontoblastnom regionu grade gustu mrežu nervnih vlakana. Stimulacija senzitivnih nerava, uglavnom C vlakana, u pulpi dovodi do povećanja protoka krvi (Kerezoudis i sar., 1993; Olgart, 1996; Ajcharanukul i sar., 2007). Peptid vezan za kalcitoninski gen (*calcitonin gene related peptide-CGRP*) i peptidi iz tahikininske grupe kao što su supstanca P (SP) i neuropeptid KA (NKA) su neuropeptidi odgovorni za vazodilataciju izazvanu stimulacijom senzitivnih nerava pulpe (Berggreen i Heyeraas, 1999; Berggreen i Heyeraas, 2000). Jacobsen i Heyeraas (1997) su pokazali da presecanje donjeg alveolarnog nerva, koji sadrži senzitivne nerve, značajno utiče na

bazalni protok u pulpi lasice. Simpatička nervna vlakna pulpe potiču iz vratnog simpatičkog gangliona i prateći pravac senzitivnih vlakana dospevaju do krvnih sudova. Pokazano je da stimulacija simpatičkih nerava pulpe, kod ljudi, redukuje protok krvi za 70-90% (Edwall i Scott, 1971; Tonder i Naess, 1978). Borda i sar. (2007) i Sterin-Borda i sar. (2007) su pokazali da aktivacija muskarinskih holinergičkih receptora izaziva vazodilataciju koja je posledica oslobađanja ne samo acetilholina, kao neurotransmitera, već u nekim slučajevima i oslobađanja proinflamatornih medijatora čime je pokazan fiziološki značaj parasimpatičke inervacije zdrave zubne pulpe.

Na regulaciju protoka krvi kroz pulpu pored nervne kontrole značajno utiče i činjenica da se pulpa nalazi u malom prostoru ograničenom tvrdim zubnim tkivima što pulpu karakteriše kao sistem sa malom komplijansom. Povećanje protoka krvi ili ekstravazacija u pulpi povećava pritisak intersticijalne tečnosti, što može dovesti do kompresije krvnih sudova i poništavanja homeostatske kontrole povećanog protoka (Kim, 1985b). Stoga, za razliku od drugih tkiva, svaka vazodilatacija, i sledstveno povećan protok krvi, u pulpi je kratkotrajna i praćena dugotrajnom vazokonstrikcijom, koja za razliku od drugih tkiva nije odbrambena reakcija, već dovodi do ishemije i nekroze pulpe (Rodd i Boissonade, 2003).

KRVNI SUDOVI SISTEMSKE CIRKULACIJE: STARENJE, ESTROGEN I ATEROSKLEROZA

Poznato je da starenjem velike sprovodne arterije (aorta, karotidne arterije) podležu strukturnim i funkcionalnim promenama. Glavne strukturne promene čine povećanje debljine intimo-medijalnog kompleksa (IMK) (Howard i sar., 1993; Nagai i sar., 1998; Tanaka i sar., 2001; Lakatta i Levy, 2003), povećanje dijametra lumena (Vasan i sar., 1995) i povećanje krutosti (*stiffness*) njihovog zida (Nichols i O'Rourke, 2005). Povećanje debljine arterijskog zida uglavnom je posledica hiperplazije intime (Virmani i sar., 1991). Uvećani dijametar elastičnih arterija posledica je degeneracije

elastičnih lamela arterijskog zida (Hashimoto i Ito, 2009); povećana krutost elastičnih arterija je posledica prvenstveno degeneracije medijalnog sloja zida arterije (Nichols i O'Rourke, 2005).

Za razliku od velikih elastičnih arterija, u mišićnim arterijama srednje veličine starenje ne utiče značajno na promene strukture njihovog zida. Ovo stoga, što su manje arterije izložene manjem stepenu istezanja od velikih elastičnih arterija (Hermenegildo i sar., 2006). U svim arterijskim krvnim sudovima promene na endotelu, u toku starenja, značajno utiču na funkcionalnost krvnih sudova. Tako, na primer, pokazano je da se količina azot-monoksida (NO) i endotelno zavisna vazodilatacija progresivno smanjuju starenjem (Taddei i sar., 2001). Starenjem se povećava broj endotelnih ćelija sa iscrpljenim reparatornim mogućnostima što dovodi do slabljenja endotelne funkcije (Burrig, 1991). U osnovi molekularnog mehanizma endotelne disfunkcije značajnu ulogu ima i oksidativni stres (Taddei i sar., 2001).

Strukturne promene u arterijskim krvnim sudovima izazvane starenjem takođe utiču na funkcionalnost mikrocirkulatornog sistema, kako je to pokazano u mozgu i bubrezima (Safar, 2004; O'Rourke i Safar, 2005). Naime, povećanjem krutosti arterija pulsacije nastale protokom krvi u nedovoljnoj meri se prigušuju tako da je mikrocirkulacija izložena povećanom stresu (Hashimoto i Ito, 2009). U mikrocirkulatornim sistemima koji imaju visok protok krvi (na primer mozak i bubrezi) pulsacije se u većoj meri prenose ka kapilarima u odnosu na tkiva sa manjim protokom (Christensen i Mulvany, 2001; Schofield i sar., 2002; Nichols i O'Rourke, 2005).

Osim starenja, drugi fiziološki faktor značajan za stanje krvnih sudova je i estrogenski status. Poznato je da estrogen modulira endotelno zavisnu vazodilataciju izazvanu NO i prostaciklinom, kako u *in vivo* tako i *in vitro* uslovima (Williams i sar., 1992; Stirone i sar., 2005a; Li i sar., 2007). Mehanizam ovog estrogenskog efekta posledica je stimulacije ekspresije gena za NO sintazu (NOS) i ciklooksigenazu (COX) u endotelu (McNeill i sar., 1999; Stirone i sar., 2003; Hermenegildo i sar., 2006). Takođe estrogen ima i brze efekte na produkciju NO direktnim povećanjem aktivnosti NOS sintaze (Knot i sar., 1999; Stirone i sar., 2005a). Pored vazodilatatornog dejstva estrogen smanjuje vazokonstriktorne faktore kao što su endotelin-1 (Barber i sar., 1996; Barber, 1998; Best i sar., 1998; Dubey i sar., 2001) i renin-angiotenzin sistem (Brosnihan i sar., 1994; Nickenig i sar., 1998; Gallagher i sar., 1999). Smanjenjem

mitochondrijalne proizvodnje reaktivnih kiseoničnih radikala (ROS) estrogen značajno smanjuje vaskularni oksidativni stres koji je inače u osnovi mehanizma nastanka disfunkcije endotela vezane za starenje ili neke bolesti kao što je ateroskleroza ili dijabetes (Stirone i sar., 2005a; Stirone i sar., 2005b; Duckles i sar., 2006; St-Pierre i sar., 2006). Estrogen stimuliše i angiogenezu koja je praćena proliferacijom endotelnih progenitorskih kao i samih endotelnih ćelija (Goldschmidt-Clermont, 2003; Strehlow i sar., 2003; Bulut i sar., 2007). Pored ovih, direktnih, efekata na krvnim sudovima smanjenje nivoa estrogena dovodi do povećanja aktivnosti simpatikusa, posebno u stresu (Saab i sar., 1989; Owens i sar., 1993; Vongpatanasin i sar., 2001; Liu i sar., 2003; Wyss i Carlson, 2003; Fernander i sar., 2004).

U patološkim uslovima, u slučaju ateroskleroze, zapažaju se značajne promene u debljini IMK kao i disfunkcija endotela arterija (Chambless i sar., 2000; Tanaka i sar., 2001; Eckstein i sar., 2003). Tako, na primer, u karotidnim arterijama, povećanje debljine IMK kod zdravih ljudi predstavlja adaptivni odgovor, a kod pacijenata sa aterosklerozom ove promene su u značajnoj korelaciji sa difuznim aterosklerotskim promenama (Chambless i sar., 2000; Tanaka i sar., 2001). Takođe, disfunkcija endotela koju karakteriše gubitak homeostatskih mehanizama endotela povezana je sa nastankom i razvojem aterosklerotskog procesa (Sitia i sar., 2010). Prisustvo ateroskleroze dovodi do strukturalnih promena zida krvnih sudova. Tako je pokazano povećanje dijametra arterijskog zida usled ekspanzivnog remodelovanja, čime se delimično kompenzuje smanjenje lumena uzrokovano aterosklerotskim plakom (Glagov i sar., 1987; Pasterkamp i sar., 2004). Ukoliko dođe do konstriktivnog remodelovanja javlja se smanjenje dijametra arterijskog zida što dodatno smanjuje lumen (Pasterkamp i sar., 1995; Nishioka i sar., 1996). Strukturne promene arterijskog zida izazvane aterosklerozom praćene su funkcionalnim promenama kao što je povećana krutost arterija (Izuhara i sar., 2008; Nakamura i sar., 2008) i smanjenje protoka krvi kroz arterije, kako je pokazano i na karotidnim arterijama sa stenozom (Eckstein i sar., 2003).

KRVNI SUDOVI ZUBNE PULPE: STARENJE, ESTROGEN I ATEROSKLEROZA

Promene arterijskih sudova zubne pulpe izazvane starenjem su, na primer, smanjenje broja arteriola koje ulaze u pulpu kroz apikalni otvor korena zuba kao i smanjenje kapilarne mreže (Bennett i sar., 1965; Bernick, 1967; Ketterl, 1983; Saad, 1997). Takođe je pokazano da starenjem dolazi do kalcifikacije arteriola, proliferacije endotela i alteracije elastina zidova pulpnih arteriola (Bernick, 1967). Kod ljudi iznad 40 godina dolazi do zadebljanja intime pulpnih arterija i kalcifikacije njihove adventicije (Ketterl, 1983). Čelije kapilarnog endotela pulpe vremenom pokazuju ultrastrukturne morfološke promene na nivou citoskeleta, ćelijskih organela, endoplazmatskih depozita i transendotelnog transporta (Espina i sar., 2003). U kojoj meri se ove promene mogu odraziti na promenu protoka krvi u pulpi, koja nastaje starenjem, za sada se malo zna. Jedini rad koji se odnosi na to je studija Ikawa i sar. (2003) u kojoj je pokazano da se u populaciji ljudi od 8 do 75 godina protok značajno smanjuje u funkciji životne dobi.

Interesantan je podatak da je imunohistohemijski pokazano prisustvo estrogenskih receptora (ER) u odontoblastima i endotelnim ćelijama krvnih sudova zubne pulpe (Hietala i sar., 1998). Dalle i sar. (2002) koristeći metod reverzne transkripcije praćene lančanom reakcijom polimeraze (RT-PCR) utvrdili su ekspresiju ER β u ćelijskim kulturama zubne pulpe ali ne i u sveže izolovanom pulpnom tkivu. S' druge strane, prisustvo ER α u odontoblastima, endotelnim i Švanovin ćelijama pulpe pokazali su imunohistohemijskom metodom Jukić i sar. (2003).

Što se tiče aterosklerotičnih promena u krvnim sudovima zubne pulpe Oguntebi i sar. (1992) su na eksperimentalnom modelu ateroskleroze (male svinje sa hiperholesterolemijom) pokazali razvoj ateromatoznog plaka u krvnim sudovima pulpe. S' druge strane kod majmuna sa eksperimentalno izazvanom aterosklerozom, Krell i sar. (1994) nisu otkrili prisustvo aterosklerotskih promena u krvnim sudovima pulpe. Kod pacijenata sa kardiovaskularnim oboljenjima (koronarna bolest, ishemijska bolest srca, hipertenzija) zapažena je povećana učestalost kalcifikacija u zubnoj pulpi (Maranhao de Moura i de Paiva, 1987; Edds i sar., 2005).

Značajno je istaći da za sada nema značajnijih podataka o funkcionalnosti mikrocirkulatornog sistema pulpe u odnosu na parametre kao što su starenje, ateroskleroza ili estrogenski status.

REGISTROVANJE I ANALIZA PROTOKA KRVI U MIKROCIRKULACIJI

Protok krvi u sistemima mikrocirkulacije se u poslednje vreme vrlo efikasno i pouzdano registruje primenom laser Doppler metode merenja protoka (*laser Doppler flowmetry-LDF*). Pokazano je tako, na primer, da se primenom ove metode mogu pratiti okularna mikrocirkulacija (Riva i sar., 2010), efikasnost mikrocirkulacije u slobodnim hirurškim režnjevima (Smit i sar., 2010) kao i endotelna disfunkcija u različitim mikrocirkulatornim sistemima (Rossi i sar., 2008b). Sa druge strane za merenje protoka krvi kroz zubnu pulpu Gazelius i sar., (1986) su po prvi put primenili ovu metodu i pokazali sinhronu oscilaciju protoka u pulpi sa srčanim radom. Merenje protoka krvi kroz zubnu pulpu može se efikasno koristiti za različite dijagnostičke svrhe: ispitivanje vitaliteta pulpe (Gazelius i sar., 1986; Ingolfsson i sar., 1994); praćenje efekata ortodontskih sila (Ikawa i sar., 2001; Sano i sar., 2002) ili ortognatske hirurgije (Sato i sar., 2003; Harada i sar., 2004b; Harada i sar., 2004a) na pulpnu cirkulaciju; praćenje stanja protoka krvi u pulpi traumatizovanih zuba radi izbora adekvatne terapije (Emshoff i sar., 2004; Strobl i sar., 2004; Strobl i sar., 2005; Emshoff i sar., 2008). U istraživačkom smislu ovaj metod je od značaja za analizu fizioloških kontrolnih mehanizama kao što su starenje, senzitivna i vegetativna kontrola protoka krvi kroz pulpu (Raab i sar., 1988; Chng i sar., 1996; Ahn i Pogrel, 1998; Goodis i sar., 2000; Ikawa i sar., 2003).

Osim samog protoka krvi, LDF omogućuje i analizu dinamičkih svojstava fizioloških procesa koji leže u osnovi kardiovaskularnih funkcija. Naime, poznato je da kardiovaskularne funkcije karakteriše vremenski zavisna ritmičnost, koja se u vaskularnom signalu dobijenom sa LDF ispoljava sa nekoliko oscilatornih komponenti. Oscilacije protoka krvi u mikrocirkulatornim sistemima mogu se okarakterisati amplitudom i energijom pomoću Furije analize (Rossi i sar., 2004; Stewart i sar., 2004)

ili Vejvlet spektralne analize (Stefanovska i sar., 1999). Kako fiziološke procese karakteriše promenljivost frekvencija na kojima se odvijaju i širok spektar u kome se te frekvencije javljaju dobra frekvencijska i vremenska rezolucija čini Vejvlet metodu metodom izbora pri analizi kardiovaskularnih funkcija (Stefanovska i Bračić, 1999; Shiogai i sar., 2010). Spektralna analiza Vejvlet metodom omogućuje razlaganje signala dobijenog LDF metodom na frekvencijske komponente (frekvencije) od kojih svaka karakteriše određeni kontrolni kardiovaskularni mehanizam (Stefanovska i sar., 1999). Merenjem protoka krvi kroz mikrocirkulaciju kože otkriveno je šest karakterističnih frekvencija koje odražavaju funkciju sledećih šest kontrolnih mehanizama: srčane aktivnosti (1Hz), respiratorne aktivnosti (0,3Hz), aktivnosti mišićnog zida krvnih sudova (0,1Hz), simpatičke aktivnosti (0,04 Hz), NO zavisne endotelne funkcije (0,01Hz) i NO nezavisne endotelne funkcije (0,007Hz) (Bernjak i sar., 2008). Za sada nema podataka o spektralnoj analizi LDF signala registrovanog na zubnoj pulpi.

HIPOTEZA

Na protok krvi kroz zubnu pulpu značajno utiču životna dob, estrogenski status i ateroskleroza ZKA i SKA.

CILJEVI

Imajući u vidu činjenicu da do sada ne postoje istraživanja protoka krvi kroz zubnu pulpu u odnosu na životnu dob, estrogenski status i aterosklerozu karotidnih arterija (dovodnih arterija za orofacijalnu regiju) i, sa druge strane, nepostojanje spektralne analize LDF signala protoka krvi kroz zubnu pulpu kojom se ispituju dinamička svojstva kontrolnih mehanizama pulpne mikrocirkulacije, postavljeni su sledeći ciljevi:

1. Odrediti protok krvi kroz krvne sudove zubne pulpe i protok kroz ZKA i SKA kao i debljinu IMK pomenutih arterija kod zdravih osoba, oba pola, u dve starosne grupe, od 20-25 i od 50-60 godina (opšta populacija).
2. Ispitati zavisnost protoka krvi u zubnoj pulpi, protoka kroz ZKA i SKA kao i debljine IMK pomenutih arterija u odnosu na starosnu dob kod opšte populacije.
3. Ispitati korelaciju između protoka krvi kroz krvne sudove zubne pulpe i protoka kroz ZKA i SKA i debljine IMK pomenutih arterija kod opšte populacije.
4. Odrediti protok krvi kroz krvne sudove zubne pulpe i nivo estrogena kod zdravih žena starosti od 20-25 godina u toku redovnog menstrualnog ciklusa (koji traje 28 dana), u fazi kada je visok estrogen (od 10. do 13. dana) i u fazi niskog estrogena (od 26. do 5. dana), kao i kod žena u menopauzi.
5. Ispitati korelaciju između protoka krvi u krvnim sudovima zubne pulpe i estrogenskog statusa žena sa redovnim menstrualnim ciklusom i žena u menopauzi.
6. Primeniti spektralnu analizu na laser Dopler signal protoka krvi u zubnoj pulpi žena sa redovnim menstrualnim ciklusom i žena u menopauzi i ispitati dinamička svojstva kontrolnih mehanizama pulpne mikrocirkulacije.
7. Odrediti protok krvi kroz krvne sudove zubne pulpe i stepen stenoze karotidne bifurkacije kod pacijenata sa karotidnom aterosklerozom (klinička populacija).

8. Ispitati korelaciju između protoka krvi kroz krvne sudove zubne pulpe i stepena stenoze karotidne bifurkacije kod kliničke populacije.

MATERIJAL I METOD

ISPITANICI

Ispitivanjem su obuhvaćene tri grupe ispitanika:

1. Grupa zdravih ispitanika, pacijenata Klinike za bolesti zuba, Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, sastavljena od:
 - a) 30 ispitanika oba pola starosti 20-25 godina
 - b) 30 ispitanika oba pola starosti 50-60 godina
 2. Grupa zdravih ispitanica, studentkinja i zaposlenih na Stomatološkom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, sastavljena od:
 - a) 30 žena starosti 20-25 godina, sa redovnim menstrualnim ciklusom (koji traje 28 dana) koje nisu na kontraceptivnoj terapiji
 - b) 30 žena u menopauzi, starosti 50-55 godina
- Svi ispitanici 1. i 2. grupe su bili normotenzivni (<140/90 mm Hg), negojazni i nisu bolovali od hroničnih bolesti, što se utvrdilo anamnestičkim podacima.
3. Grupa od 15 žena i muškaraca, starosti 50-60 godina, sa hemodinamski značajnom stenozom karotidne bifurkacije, pacijenata Klinike za vaskularnu hirurgiju, Instituta za kardiovaskularne bolesti Dedinje.

Sve osobe koje su učestvovalе u studiji, pismeno su upoznate sa ciljevima, procedurom i očekivanim ishodom istraživanja i potpisale su pristanak za učešće u istraživanju. Sa svim ispitanicima postupalo se po principima Dobre kliničke prakse. Studija je odobrena od strane Etičkog odbora Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu (Saglasnost br. 36/43).

MERENJE PROTOKA KRVI KROZ ZUBNU PULPU

Kod ispitanika 1., 2. b) (žene u menopauzi) i 3. grupe izvedeno je po jedno merenje protoka krvi kroz zubnu pulpu laser Doppler metodom. Kod ispitanica 2. a) grupe (žene sa redovnim menstrualnim ciklusom) izvedena su po 2 takva merenja, između 10. i 13. i između 26. i 5. dana ciklusa.

Prilikom merenja ispitanici su bili u ležećem položaju supinacije, uz konstantnu ambijentalnu temperaturu. Pre merenja protoka krvi kroz zubnu pulpu izmerene su vrednosti krvnog pritiska, pulsa i aksilarne temperature. Protoci krvi su ispitivani na vitalnim, intaktnim ili sa minimalnim restauracijama, bez karijesa, stalnim maksilarnim centralnim incizivima. Vitalitet zuba je kontrolisan konvencijalnim elektrotestom, a status periapikalnih tkiva retroalveolarnim radiografijama.

Protok krvi kroz zubnu pulpu meren je laser Doppler meračem protoka (PeriFlux System PF 5000, Masters, Perimed, Jarfalla, Sweden). Princip rada ovog aparata sastoji se u tome što svetlost talasne dužine 632,8 nm koju proizvodi 1mW helium-neonski laser prenosi eferentno fiber-optičko vlakno do sonde dijametra 1mm (407-2, Perimed). Sonda se postavlja pod pravim uglom na labijalnu površinu zuba tako da emitovana laserska svetlost prolazi do pulpe kroz tvrda zubna tkiva zahvaljujući njihovoj kristalnoj strukturi. Svetlost odbijena od tkiva provodi se nazad ka aparatu sa dva aferentna fiber-optička vlakna i pretvara se u električni signal. Deo svetlosti, odbijen od stacionarnih delova tkiva pulpe ima nepromenjenu frekvenciju, dok deo svetlosti, odbijen od delova tkiva koji se kreću ima izmenjenu frekvenciju u odnosu na upadnu svetlost. Odnos svetlosti sa izmenjenom i svetlosti sa nepromenjenom frekvencijom direktno je povezan sa brojem i brzinom elemenata koji se kreću, na osnovu čega se izračunava protok. Kako su pokretni elementi tkiva pulpe krvne ćelije znači da su dobijene vrednosti direktno proporcionalne protoku krvi u pulpi. Eferentna i aferentna fiber-optička vlakna su dijametra 125 μ m i nalaze se na međusobnoj udaljenosti 250 μ m. Aparat je kalibrisan pre početka merenja standardnim rastvorom za kalibraciju (Perimed Motility Standard). Prikupljeni podaci obrađuju se pomoću Perisoft software (Version 5.0, Perimed,

Stockholm, Sweden) programa. Protok se izražava u perfuzionim jedinicama (PU) koje predstavljaju 1/250 deo vrednosti dobijene merenjem u standardnom rastvoru za kalibraciju (Perimed Motility Standard). Obzirom da je perfuzionna jedinica arbitrarna veličina ne može joj se dati fiziološka definicija. Svako pojedinačno merenje trajalo je najmanje 20 minuta a srednja vrednost merenja izračunavana je uprosečavanjem vrednosti izmerenih u toku 20 minuta svakog pojedinačnog merenja.

Za stabilizaciju sonde korišćeni su individualno izrađeni plastični splintovi (Bioplast, Schen-Dental, Iserlohn, Germany) sa perforacijama za držač sonde (pH 07-6 Perimed, Sweden). Splintom i držačem sonda je pozicionirana na centralnom delu labijalne površine krunice zuba, perpendikularno na površinu gleđi.

SPEKTRALNA ANALIZA

Spektralna analiza zasnovana na metodologiji originalno predloženoj od Morlet (1983) izvedena je na LDF signalu dužine 20 min. Ovaj metod daje optimalnu frekvencijsku rezoluciju i vremensku lokalizaciju kao i dužinu prozora prilagodljivu trenutno analiziranoj frekvenciji. Spori događaji se analiziraju sa širim prozorom dok se brzi događaji analiziraju sa kraćim prozorom. Kako frekvencije koje karakterišu pojedine kontrolne mehanizme mikrocirkulacije variraju u vremenu i između pojedinih osoba, definisani su delovi spektra (frekvencijski intervali) u okviru kojih će se nalaziti pomenute frekvencije kod svih osoba. Određivane su amplituda i snaga oscilacija celog spektra od 0,0095 do 1,6 Hz (prosečna amplituda i prosečna snaga) i amplituda i snaga svakog pojedinačnog frekvencijskog intervala (spektralna amplituda, spektralna snaga). Rezultati su izražavani kao prosečna amplituda i prosečna snaga celog spektra, i kao relativna amplituda i snaga svakog pojedinačnog frekvencijskog intervala. Relativne vrednosti amplitude i snage za svaki interval predstavljaju odnos spektralne amplitude (snage) svakog pojedinačnog intervala i prosečne amplitude (snage) celog spektra. Ove

vrednosti su izabrane jer relativna amplituda i snaga daju informaciju o doprinosu svake komponente ukupnim promenama protoka. Opisana metodologija je u saglasnosti sa metodologijom Bračić i Stefanovska (1998).

ULTRAZVUČNI PREGLED KAROTIDNIH ARTERIJA

Karotidne arterije su pregledane kod 1. i 3. grupe ispitanika, bilateralno ultrazvučnim aparatom (Aloca, Alpha 10), upotrebom linearne sonde frekvence 4-7 MHz. Sve preglede je uradio isti ekspert za neuroangiološku ultrasonografsku dijagnostiku. Pri pregledu, pacijenti su bili u ležećem položaju, na leđima i glavom blago okrenutom na stranu u odnosu na ispitivača. Protokol pregleda karotidnih arterija podrazumeva pregled u longitudinalnom (anterolateralnom, lateralnom i posterolateralnom) i transferzalnom položaju sonde. Ovim pregledom merena je debljina intimo-medijalnog kompleksa (IMK) i protok krvi, kao parametri stanja karotidnih arterija (zajedničke i spoljašnje).

IMK se definiše kao rastojanje od unutrašnje ivice tunike intime do spoljašnje ivice lamine elastike tunike medije. Merenje IMK se izvodi na 1,5cm ispod karotidne bifurkacije u zajedničkoj karotidnoj arteriji (ZKA), kao i na 1-1,5 cm iznad karotidne bifurkacije u spoljašnjoj karotidnoj arteriji (SKA).

Protok krvi je meren upotrebom postojećeg ultrasonografskog softvera (Aloca, Alpha 10), a uz pomoć linearne sonde 4-7 MHz i pod uglom insonacije od 60°. Merenje protoka je vršeno na 1- 1,5 cm ispod karotidne bifurkacije za ZKA i 1-1,5 cm iznad karotidne bifurkacije za SKA. Protok krvi predstavlja količinu krvi koja u jedinici vremena prođe kroz arteriju poznatog dijametra lumena i brzine protoka krvi, a izražava se u ml/min.

Stepen stenozе, izražen u procentima, izračunavan je iz odnosa neopstruisanog lumena i lumena koji bi postojao na tom mestu da nema patološke promene, prema ECST kriterijumima (European Carotid Surgery Trialists, Collaborative Group, 1991).

LABORATORIJSKO ODREĐIVANJE NIVOVA ESTROGENA U SERUMU

Nivo estrogena određivan je koncentracijom estradiola u serumu metodom mikročestica enzimskog imunoodređivanja (microparticle enzyme immunoassay-MEIA). U te svrhe je korišćen kit AXSYM Estradiol Reagent Pack (Nemačka) i aparat Abbott AXSYM System (Nemačka). Ovaj hormon je određivan iz jutarnjeg uzorka venske krvi (2ml), na dan merenja protoka krvi u pulpi zuba.

STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška srednje vrednosti (SEM). Za poređenje statističke značajnosti razlika srednjih vrednosti između rezultata ponovljenih merenja kod istih grupa ispitanika korišćen je T-test za zavisne uzorke. T-test za nezavisne uzorke korišćen je za poređenje statističke značajnosti razlika srednjih vrednosti između rezultata merenja kod različitih grupa ispitanika. Korelacija različitih parametara istih ispitanika je rađena Pirsonovom korelacijom. Statistička značajnost za sve testove je utvrđivana za nivo vrednosti $p < 0,05$. Za analizu podataka korišćen je statistički program (SPSS 10.0, SPSS, Chicago).

REZULTATI

PROTOK KRVI KROZ ZUBNU PULPU U ODNOSU NA STAROSNU DOB, PROTOK KRVI KROZ KAROTIDNE ARTERIJE I DEBLJINU NJIHOVOG IMK

U tabeli 1 prikazan je protok krvi u zubnoj pulpi desnog gornjeg centralnog sekutića, protok krvi kroz desnu ZKA i SKA i debljina njihovog IMK. U zubnoj pulpi desnog gornjeg centralnog sekutića protok krvi je za oko 42% veći kod mladih u odnosu na grupu starijih ispitanika (**P=0,012**). Međutim, protok krvi kroz karotidne arterije je veći u grupi starijih ispitanika u odnosu na mlade i to kroz SKA za oko 30%, što je statistički značajno (**P=0,018**) i za oko 4% kroz ZKA što nije statistički značajno ($P=0,535$). Vrednosti debljine IMK desne ZKA i SKA su veće kod starijih osoba. Statistički značajna razlika od oko 43% pokazana je samo za vrednosti izmerene na ZKA (**P=0,001**), dok razlika od oko 15% na nivou SKA između ispitivanih grupa nije statistički značajna ($P=0,156$).

Tabela 1: Protok krvi u zubnoj pulpi desnog gornjeg centralnog sekutića, protok krvi kroz desnu zajedničku i spoljašnju karotidnu arteriju (protok krvi u ZKA i protok krvi u SKA) i debljina njihovog intimo-medijalnog kompleksa (IMK- ZKA i IMK- SKA).

Grupa (starost)	N	Protok krvi u zubnoj pulpi	Protok krvi u ZKA	Protok krvi u SKA	IMK- ZKA	IMK- SKA
1.a (20-25)	30	3,41±0,22	522,86±25,15	171,71±12,11*	0,51±0,03	0,39±0,02
1. b (50-60)	30	2,39±0,31*	544,00±18,11	223,00±16,55	0,73±0,05*	0,45±0,03
P-vrednost		P=0,012	P=0,535	P=0,018	P=0,001	P=0,156

Vrednosti su izražene u obliku: srednja vrednost ± SEM

* T-Test za nezavisne uzorke, 1. a : 1. b, bold pokazuje statističku značajnost, $p < 0.05$

N-broj ispitanika

Na levoj strani u zubnoj pulpi gornjeg centralnog sekutića izmereni protok je značajno veći, za oko 37%, kod mladih u odnosu na grupu starijih ispitanika (**P=0,037**). Vrednosti protoka krvi kroz levu ZKA i SKA su veće u grupi starijih učesnika istraživanja, oko 11 odnosno 31%. Statistička značajnost razlike u protocima između dve grupe zapaža se za SKA (**P=0,013**), dok takve razlike nema na nivou ZKA ($P=0,163$). Debljina IMK obeju karotidnih arterija je manja kod mladih ispitanika. Naime, ovaj parametar je kod starijih ispitanika veći za oko 54% u ZKA (**P<0,001**), a za oko 18% ($P=0,061$) u SKA (Tabela 2).

Tabela 2: Protok krvi u zubnoj pulpi levog gornjeg centralnog sekutića, protok krvi kroz levu zajedničku i spoljašnju karotidnu arteriju (protok krvi u ZKA i protok krvi u SKA) i debljina njihovog intimo-medijalnog kompleksa (IMK- ZKA i IMK- SKA).

Grupa (starost)	N	Protok krvi u zubnoj pulpi	Protok krvi u ZKA	Protok krvi u SKA	IMK- ZKA	IMK- SKA
1. a (20-25)	30	3,48±0,32	539,93±30,00	174,14±12,37	0,52±0,04	0,39±0,02
1. b (50-60)	30	2,51±0,24*	598,30±22,69	228,00±16,22*	0,80±0,05*	0,46±0,03
P-vrednost		P=0,037	P=0,163	P=0,013	P<0,001	P=0,061

Vrednosti su izražene u obliku: srednja vrednost ± SEM

* T-Test za nezavisne uzorke, 1. a : 1. b, bold pokazuje statističku značajnost, $p < 0.05$

N-broj ispitanika

U tabeli 3 prikazana je korelacija između protoka krvi u zubnoj pulpi desnog i levog gornjeg centralnog sekutića i protoka krvi i debljine IMK ZKA i SKA sa iste strane. Korelacija protoka krvi u zubnoj pulpi desnog gornjeg centralnog sekutića i protoka krvi kroz ZKA i SKA sa iste strane ne pokazuje statističku značajnost u grupi mladih ispitanika ($P=0,926$ odnosno $P=0,708$). Takođe, korelacija istih parametara u grupi starijih ispitanika nije statistički značajna ($P=0,545$ odnosno $P=0,431$). Kako se iz tabele 3 vidi ne postoji značajna korelacija protoka u pulpi desnog gornjeg centralnog sekutića i debljine IMK ni za ZKA, niti za SKA kod mladih osoba ($P=0,060$ odnosno $P=0,679$). U grupi starijih ispitanika povezanost protoka u pulpi centralnog sekutića i debljine IMK karotidnih arterija takođe nije značajna ($P=0,963$ odnosno $P=0,600$). Korelacija protoka krvi u zubnoj pulpi levog gornjeg centralnog sekutića sa protokom i debljinom IMK karotidnih arterija sa iste strane ne pokazuje statističku značajnost ni u grupi mladih, ni u grupi starijih ispitanika. P-vrednosti urađenih testova korelacije kod mladih su $P=0,404$, $P=0,876$ za protok i $P=0,160$, $P=0,863$ za debljinu IMK ZKA, odnosno SKA. Odgovarajuće P-vrednosti u grupi starijih ispitanika su $P=0,723$ odnosno $P=0,360$ za protok i $P=0,810$ odnosno $P=0,476$ za debljinu IMK karotidnih arterija.

Tabela 3: Korelacija između protoka krvi u zubnoj pulpi desnog i levog gornjeg centralnog sekutića i protoka krvi (protok krvi u ZKA i protok krvi u SKA) i debljine intimo-medijalnog kompleksa zajedničke i spoljašnje karotidne arterije sa iste strane (IMK- ZKA i IMK- SKA).

Grupa (starost)	Protok krvi u ZKA	Protok krvi u SKA	IMK- ZKA	IMK- SKA
1. a (20-25) -Protok krvi u zubnoj pulpi desnog centralnog sekutića	-0,027 P=0,926	-0,178 P=0,542	0,515 P=0,060	0,122 P=0,679
1. a (20-25) -Protok krvi u zubnoj pulpi levog centralnog sekutića	-0,242 P=0,404	-0,094 P=0,748	0,397 P=0,160	0,051 P=0,863
1. b (50-60) -Protok krvi u zubnoj pulpi desnog centralnog sekutića	-0,218 P=0,545	0,470 P=0,171	0,017 P=0,963	0,190 P=0,600
1. b (50-60) -Protok krvi u zubnoj pulpi levog centralnog sekutića	0,129 P=0,723	0,310 P=0,383	-0,088 P=0,810	0,255 P=0,476

Pirsonova korelacija, $p < 0.05$

PROTOK KRVI KROZ ZUBNU PULPU U ODNOSU NA ESTROGENSKI STATUS

Koncentracije estrogena u serumu žena sa redovnim menstrualnim ciklusom, prikazane u tabeli 4, značajno se razlikuju između dve faze ciklusa ($P<0,001$). U fazi niskog estrogena nivo hormona u serumu je za oko 71% manji u odnosu na fazu ciklusa sa visokim estrogenom. Statistička značajnost je utvrđena u razlici koncentracija estrogena u serumu, oko 54%, kada su upoređene žene u menopauzi i žene sa redovnim ciklusom u fazi kad je estrogen nizak ($P<0,001$). Takođe, značajna razlika, od oko 87%, u koncentracijama estrogena u serumu pokazana je i između žena koje su bile u fazi visokog estrogena i grupe žena u menopauzi ($P<0,001$).

Tabela 4: Koncentracija estrogena u serumu žena sa redovnim menstrualnim ciklusom i žena u menopauzi

Ispitanice	Koncentracija estrogena u serumu
1. Žene sa redovnim menstrualnim ciklusom	
a) Faza visokog estrogena	277,93±22,39
b) Faza niskog estrogena	80,00±3,96; $P<0,001^x$
2. Žene u menopauzi	36,79±1,61; $P<0,001^*$; $P<0,001^*$

Vrednosti su izražene u obliku: srednja vrednost ± SEM

* T-Test za nezavisne uzorke, 1. a) : 2. i 1. b) : 2., bold pokazuje statističku značajnost, $p<0.05$

^x T-Test za zavisne uzorke, 1. a) : 1. b), bold pokazuje statističku značajnost, $p<0.05$

U tabeli 5 prikazani protok krvi u zubnoj pulpi žena sa redovnim ciklusom je za oko 39% manji u fazi niskog estrogena u odnosu na fazu ciklusa sa visokim nivoom estrogena. Zapažena razlika je statistički značajna (**P<0,001**). Kod žena u menopauzi protok krvi u zubnoj pulpi je oko 47% manji od protoka kod žena u fazi visokog estrogena (**P<0,001**). Razlika protoka krvi u pulpi između žena u menopauzi i žena sa redovnim ciklusom u fazi kad je estrogen nizak od oko 15% nije statistički značajna (P=0,223). Tipičan signal LDF merenja na gornjem centralnom sekutiću prikazan je na Slici 1.

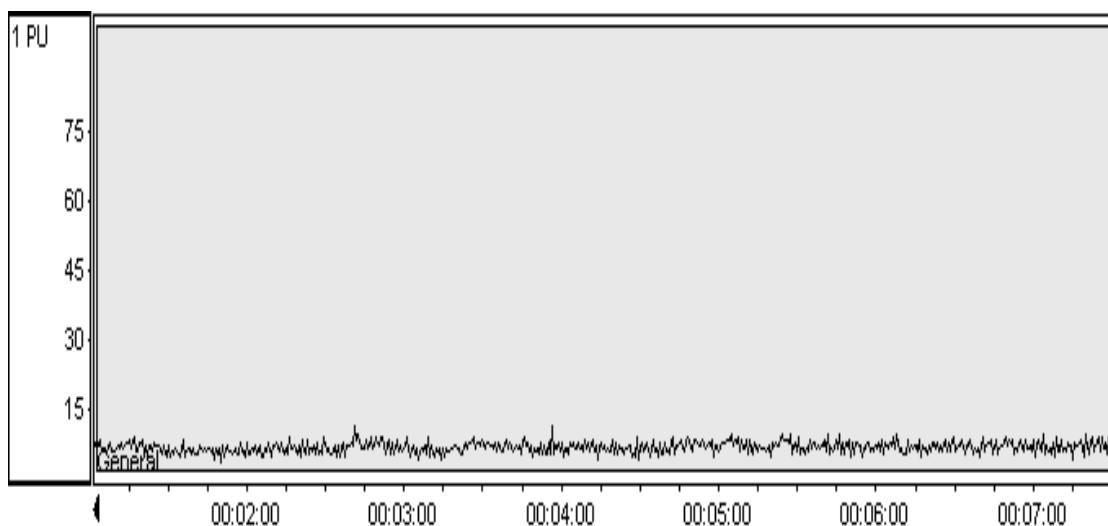
Tabela 5: Protok krvi u zubnoj pulpi žena sa redovnim menstrualnim ciklusom i žena u menopauzi

Ispitanice	Protok krvi u zubnoj pulpi
1. Žene sa redovnim menstrualnim ciklusom	
a) Faza visokog estrogena	6,43±0,31
b) Faza niskog estrogena	3,93±0,21; P<0,001 ^x
2. Žene u menopauzi	3,41±0,36; P<0,001 *; P=0,223*

Vrednosti su izražene u obliku: srednja vrednost ± SEM

* T-Test za nezavisne uzorke, 1. a) : 2. i 1. b) : 2., bold pokazuje statističku značajnost, p<0.05

^x T-Test za zavisne uzorke, 1. a) : 1. b), bold pokazuje statističku značajnost, p<0.05



Slika 1: Prikaz signala laser Dopler merenja protoka krvi na centralnom sekutiću (ispitanik starosti 22 godine; PU-perfuzione jedinice)

Primenom Pirsonove korelacije utvrđeno je da postoji statistički značajna povezanost nivoa protoka krvi u zubnoj pulpi i koncentracije estrogena u serumu kod žena u menopauzi (0,910; **P<0,001**). Povezanost protoka u pulpi i koncentracije estrogena je značajna i u grupi žena sa redovnim menstrualnim ciklusom i to u obe faze mesečnog ciklusa, sa visokim i niskim estrogenom (0,939; **P<0,001** odnosno 0,826; **P<0,001**) (Tabela 6).

Tabela 6: Korelacija protoka krvi u zubnoj pulpi i koncentracije estrogena u serumu žena sa redovnim menstrualnim ciklusom i žena u menopauzi

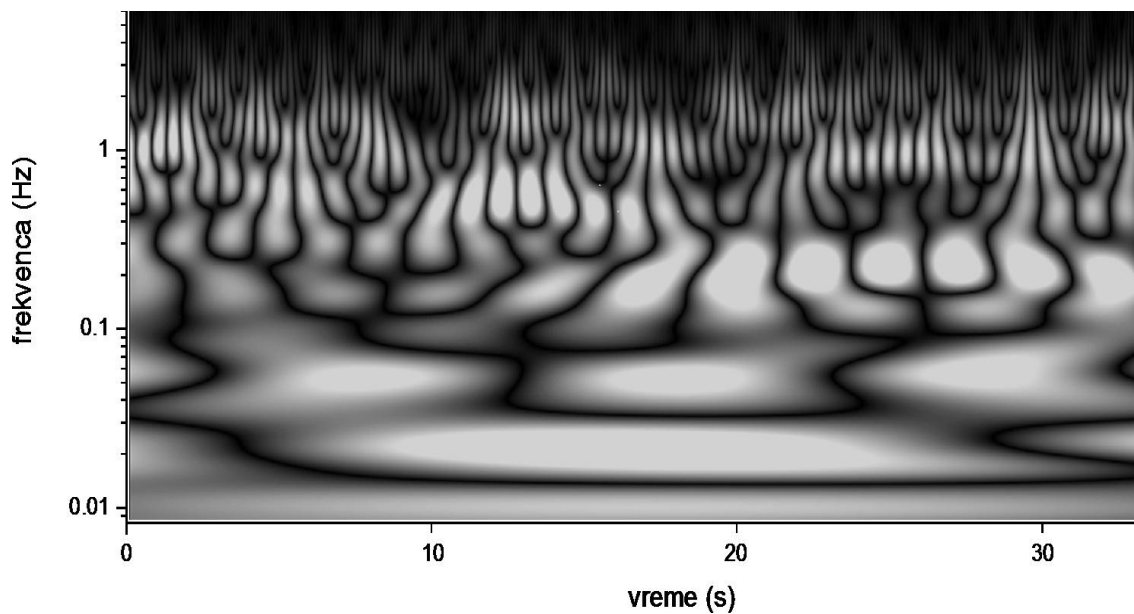
Ispitanice	Protok krvi u zubnoj pulpi	Koncentracija estrogena u serumu	Korelacije
1. Žene sa redovnim menstrualnim ciklusom			
a) Faza visokog estrogena	6,43±0,31	277,93±22,39	0,939; P<0,001
b) Faza niskog estrogena	3,93±0,21	80,00±3,96	0,826; P<0,001
2. Žene u menopauzi	3,41±0,36	36,79±1,61	0,910; P<0,001

Pirsonova korelacija, bold pokazuje postojanje statistički značajne korelacije, $p < 0.01$

Vrednosti su izražene u obliku: srednja vrednost ± SEM

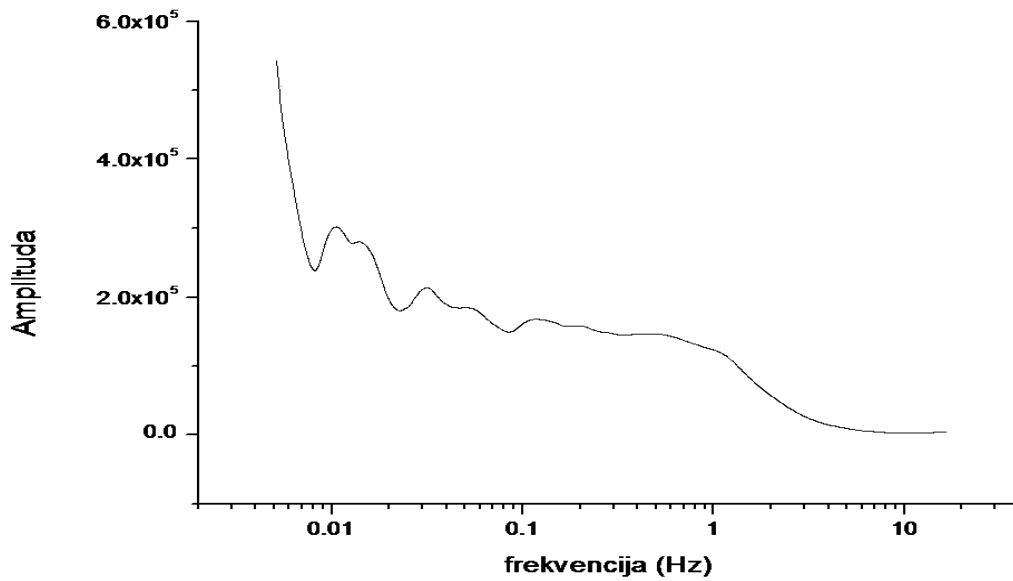
SPEKTRALNA ANALIZA LDF SIGNALA PROTOKA KRVI KROZ ZUBNU PULPU KOD ŽENA SA RAZLIČITIM ESTROGENSKIM STATUSOM

Na slici 2 ilustrativno su prikazane Vejevlet amplitude dobijene transformacijom dela laser Dopler signala protoka krvi kroz zubnu pulpu centralnog sekutića kod ispitanice sa redovnim menstrualnim ciklusom u fazi niskog estrogena.

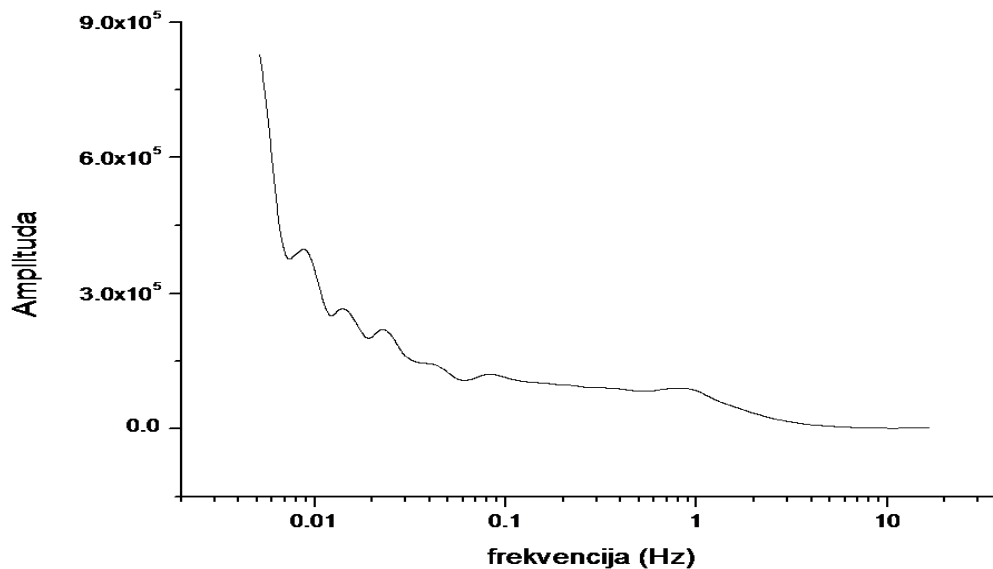


Slika 2: Ilustrativni prikaz Vejvlet amplituda dobijenih transformacijom dela laser Dopler signala protoka krvi kroz zubnu pulpu centralnog sekutića kod ispitanice sa redovnim menstrualnim ciklusom u fazi niskog estrogena (intenzitet boje odgovara jačini amplitude).

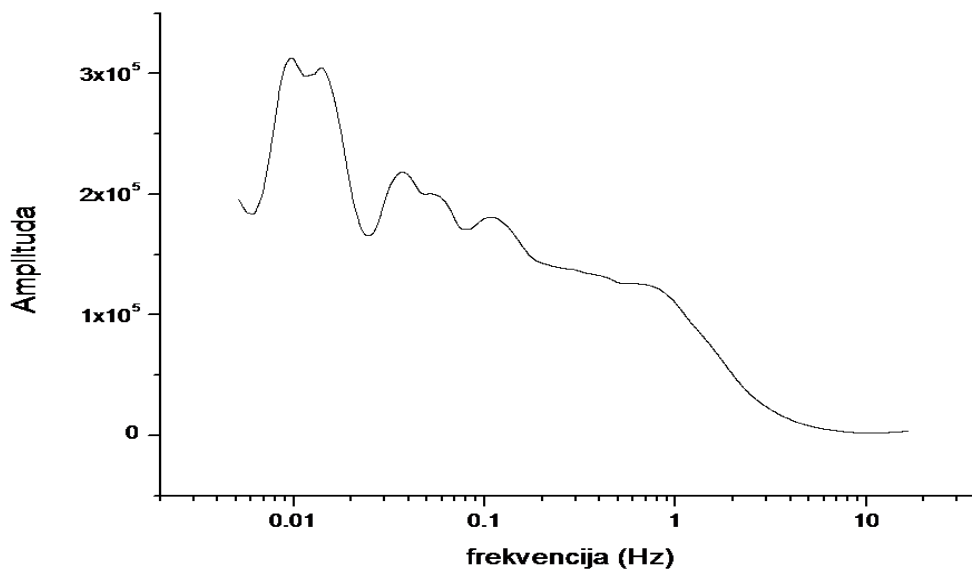
Slika 3 prikazuje Vejvlet spektar amplituda laser Dopler signala protoka krvi kroz zubnu pulpu centralnog sekutića kod ispitanice: a) sa redovnim menstrualnim ciklusom u fazi visokog estrogena, b) sa redovnim menstrualnim ciklusom u fazi niskog estrogena i c) u menopauzi.



Slika 3: a) Vejvlet spektar amplituda laser Dopler signala (trajanja 20 minuta) protoka krvi kroz zubnu pulpu centralnog sekutića kod ispitanice sa redovnim menstrualnim ciklusom u fazi visokog estrogena.



Slika 3: b) Vejvlet spektar amplituda laser Dopler signala (trajanja 20 minuta) protoka krvi kroz zubnu pulpu centralnog sekutića kod ispitanice sa redovnim menstrualnim ciklusom u fazi niskog estrogena.



Slika 3: c) Vejvlet spektar amplituda laser Dopler signala (trajanja 20 minuta) protoka krvi kroz zubnu pulpu centralnog sekutića kod ispitanice u menopauzi.

Spektralnom analizom LDF signala utvrđeno je prisustvo sledećih pet karakterističnih spektralnih-frekvencijskih intervala: 0.6-1.6 Hz, 0.2-0.6 Hz, 0.06-0.2 Hz, 0.02-0.06 Hz i 0.0095-0.02 Hz. U tabeli 7 su prikazane relativne amplitude LDF signala zubne pulpe kod žena sa redovnim menstrualnim ciklusom i žena u menopauzi. Relativne amplitude spektralnih intervala 0.06-0.2 Hz i 0.02-0.06 Hz su statistički značajno veće, za oko 17 i 10%, dok su u intervalu 0.0095-0.02 Hz značajno manje, za oko 7%, u fazi visokog u odnosu na fazu niskog estrogena kod žena sa redovnim menstrualnim ciklusom (**P=0,006**; **P=0,001** odnosno **P=0,018**). Odgovarajuće vrednosti amplituda u intervalima 0.6-1.6 Hz i 0.2-0.6 Hz takođe su veće za oko 18 i 2% u fazi kada je estrogen visok ali razlika nije značajna ($P=0,052$; odnosno $P=0,650$). Vrednosti relativnih amplituda svih pet spektralnih intervala kod žena u menopauzi značajno se razlikuju u odnosu na žene sa redovnim ciklusom. Tako su amplitude intervala 0.6-1.6 Hz, 0.2-0.6 Hz, 0.06-0.2 Hz i 0.02-0.06 Hz u grupi žena u menopauzi veće, za oko 22, 29, 22 odnosno 11%, od odgovarajućih vrednosti kod žena sa redovnim menstrualnim

ciklusom u fazi visokog estrogena (**P=0,007**; **P<0,001**; **P=0,001** odnosno **P=0,034**). Razlike amplituda istih intervala između žena u menopauzi i žena sa redovnim ciklusom u fazi niskog estrogena su oko 44, 32, 43 odnosno 22% (**P<0,001**; **P<0,001**; **P<0,001** odnosno **P=0,001**). Relativna amplituda spektralnog intervala 0.0095-0.02 Hz u grupi žena u menopauzi je značajno manja, za oko 12 i 18%, od amplitude istog intervala kod žena sa redovnim ciklusom u fazi visokog estrogena, odnosno fazi niskog estrogena (**P<0,001** odnosno **P<0,001**).

Tabela 7: Relativna amplituda u svakom spektralnom intervalu od 0.0095 do 1.6 Hz kod žena sa redovnim menstrualnim ciklusom i kod žena u menopauzi

Ispitanice	Relativna amplituda u intervalima				
	0.6-1.6 Hz	0.2-0.6 Hz	0.06-0.2 Hz	0.02-0.06 Hz	0.0095-0.02 Hz
1. Žene sa redovnim menstrualnim ciklusom					
a) Faza visokog estrogena	0,0046±0,0003	0,0150±0,0004	0,0633±0,0024	0,2317±0,0045	0,689±0,0043
b) Faza niskog estrogena	0,0039±0,0001	0,0147±0,0004	0,0539±0,0009	0,2103±0,0046	0,7397±0,0150
2. Žene u menopauzi	0,0056±0,0002	0,0194±0,0006	0,0773±0,0023	0,2575±0,0104	0,6085±0,0119
P-vrednost (1.a) : 1.b))	P=0,052	P=0,650	P=0,006^x	P=0,001^x	P=0,018^x
P-vrednost (1.a) : 2.)	P=0,007*	P<0,001*	P=0,001*	P=0,034*	P<0,001*
P-vrednost (1.b) : 2.)	P<0,001*	P<0,001*	P<0,001*	P=0,001*	P<0,001*

Vrednosti su izražene u obliku: srednja vrednost ± SEM

* T-Test za nezavisne uzorke, bold pokazuje statističku značajnost, $p < 0.05$

^x T-Test za zavisne uzorke, bold pokazuje statističku značajnost, $p < 0.05$

U tabeli 8 su prikazane relativne snage LDF signala zubne pulpe kod žena sa redovnim menstrualnim ciklusom i žena u menopauzi. Relativna snaga spektralnog intervala 0.0095-0.02 Hz je značajno manja, za oko 5%, dok je u intervalima 0.06-0.2 Hz i 0.02-0.06 Hz statistički značajno veća, za oko 30 odnosno 18%, u fazi sa visokim u odnosu na fazu sa niskim estrogenom kod žena sa redovnim menstrualnim ciklusom (**P=0,003**; **P=0,017** odnosno **P=0,005**). Vrednosti relativne snage intervala 0.6-1.6 Hz i 0.2-0.6 Hz su za oko 20, odnosno 27%, veće u fazi kada je estrogen visok ali ta razlika nije značajna ($P=0,165$ odnosno $P=0,067$). Razlika relativne snage svih spektralnih intervala između žena sa redovnim mesečnim ciklusom i žena u menopauzi pokazala je statističku značajnost. Relativna snaga intervala 0.6-1.6 Hz, 0.2-0.6 Hz, 0.06-0.2 Hz i 0.02-0.06 Hz u grupi žena u menopauzi je veća, za oko 61, 55, 53 odnosno 45%, od istih vrednosti snage kod žena sa redovnim menstrualnim ciklusom u fazi visokog estrogena (**P=0,001**; **P<0,001**; **P<0,001** odnosno **P=0,002**). Kada je analizirana razlika relativnih snaga istih intervala između žena u menopauzi i žena sa redovnim ciklusom u fazi niskog estrogena dobijene su značajno veće vrednosti, oko 93, 97, 99 odnosno 71%, u grupi žena u menopauzi (**P<0,001**; **P<0,001**; **P<0,001** odnosno **P<0,001**). Snaga spektralnog intervala 0.0095-0.02 Hz ima značajno veću vrednost u fazama kad je estrogen visok, za oko 14%, kao i kad je estrogen nizak, za oko 20%, u odnosu na grupu žena u menopauzi (**P=0,003** odnosno **P<0,001**).

Tabela 8: Relativna snaga u svakom spektralnom intervalu od 0.0095 do 1.6 Hz kod žena sa redovnim menstrualnim ciklusom i kod žena u menopauzi

Ispitanice	Relativna snaga u intervalima				
	0.6-1.6 Hz	0.2-0.6 Hz	0.06-0.2 Hz	0.02-0.06 Hz	0.0095-0.02 Hz
1. Žene sa redovnim menstrualnim ciklusom					
a) Faza visokog estrogena	0,0018±0,0002	0,0080±0,0007	0,0366±0,0028	0,1728±0,0092	0,7807±0,0107
b) Faza niskog estrogena	0,0015±0,0001	0,0063±0,0003	0,0281±0,0007	0,1463±0,0054	0,8205±0,0053
2. Žene u menopauzi					
	0,0029±0,0002	0,0124±0,0007	0,0561±0,0032	0,2504±0,0187	0,6831±0,0263
P-vrednost (1.a) : 1.b))	P=0,165	P=0,067	P=0,017^x	P=0,005^x	P=0,003^x
P-vrednost (1.a) : 2.)	P=0,001*	P<0,001*	P<0,001*	P=0,002*	P=0,003*
P-vrednost (1.b) : 2.)	P<0,001*	P<0,001*	P<0,001*	P<0,001*	P<0,001*

Vrednosti su izražene u obliku: srednja vrednost ± SEM

* T-Test za nezavisne uzorke, bold pokazuje statističku značajnost, $p < 0.05$

^x T-Test za zavisne uzorke, bold pokazuje statističku značajnost, $p < 0.05$

PROTOK KRVI U ZUBNOJ PULPI PACIJENATA SA KAROTIDNOM ATEROSKLEROZOM

Protok krvi u zubnoj pulpi oba gornja centralna sekutića nije značajno različit kod pacijenata sa stenozom karotidne bifurkacije u odnosu na grupu zdravih ispitanika od 50-60 godina starosti ($P=0,593$ -desno i $P=0,197$ -levo) (Tabela 9).

Tabela 9: Odnos protoka krvi u zubnoj pulpi zdravih ispitanika starosti 50-60 godina i pacijenata sa stenozom karotidne bifurkacije starosti 50-60 godina.

Ispitanici	N	Desno	Levo
Zdravi od 50-60 godina	15	$2,39 \pm 0,31$	$2,51 \pm 0,2$
Ispitanici sa stenozom karotidne bifurkacije	15	$2,7 \pm 0,52$	$3,17 \pm 0,4$
T-Test		$P=0,593$	$P=0,197$

Vrednosti su izražene u obliku: srednja vrednost \pm SEM

N-broj ispitanika

T-Test za nezavisne uzorke, $p < 0.05$

U tabeli 10 prikazana je korelacija između protoka krvi u zubnoj pulpi gornjih centralnih sekutića i stepena stenozе karotidne bifurkacije kod pacijenata kliničke populacije. Protok krvi u zubnoj pulpi centralnih sekutića i stepen stenozе karotidne bifurkacije ne pokazuju statistički značajnu povezanost kod pacijenata sa

aterosklerozom ni na desnoj ni na levoj strani (0,144; P=0,734 odnosno 0,045; P=0,915).

Tabela 10: Korelacija protoka krvi u zubnoj pulpi i stepena stenozе (%) kod pacijenata sa stenozom karotidne bifurkacije.

Parametri karotidnog i pulpnog protoka	N	Desno	Levo
Stenoze karotidne bifurkacije (%)	15	67,88±11,86	64,38±8,84
Protok krvi u zubnoj pulpi	15	2,70±0,52	3,17±0,46
Korelacije		0,144	0,045
		P=0,734	P=0,915

Vrednosti su izražene u obliku: srednja vrednost ± SEM

N-broj ispitanika

Pirsonova korelacija, $p < 0.05$

DISKUSIJA

Zubna pulpa, kao i druga tkiva u ljudskom organizmu, podleže promenama koje su uslovljene starenjem organizma. Ove promene teško je odvojiti od fizioloških, odbrambenih i patoloških promena (Morse, 1991). Najveći broj radova u kojima je ispitivan uticaj starenja na zubnu pulpu uglavnom se donosi na strukturne promene elemenata pulpe dobijene histološkim metodama. Starenjem, veličina i volumen zubne pulpe se smanjuju usled fiziološkog procesa kontinuirane apozicije sekundarnog dentina (Solheim, 1992; Morse i sar., 1993). Usled toga, vaskularne, limfatične i nervne strukture postaju nedovoljno kompetentne (Morse, 1991; Saad, 1997). Mada još uvek nije dokazano, ove promene u cirkulaciji i inervaciji vezane za starenje najverovatnije su početni nivo u procesu starenja zubne pulpe (Morse, 1991). Ostale promene zubne pulpe vezane za starenje uključuju degeneraciju odontoblasta, smanjenje veličine i broja fibroblasta povećanje zrelih kolagenih vlakana, lipidnu infiltraciju i kalcifikacije (Morse, 1991; Saad, 1997).

Kako je u uvodu već pomenuto, na nivou krvnih sudova zubne pulpe u toku starenja karakteristična troslojna vaskularna mreža (prekapilari, kapilari i postkapilarne venule) se zamenjuje jednostavnom direktnom vezom sa venulama (Kishi i sar., 1989; Takahashi, 1990). Imajući u vidu ovakve strukturne promene u mikrocirkulaciji zubne pulpe pretpostavljeno je da dolazi i do smanjenja cirkulacije u izvesnom stepenu sa starenjem u zubnoj pulpi.

Naši rezultati pokazuju da je protok krvi u pulpi gornjih centralnih inciziva značajno veći, za oko 40%, kod mladih u odnosu na starije ispitanike što jasno ukazuje na uticaj životne dobi na protok u pulpi. Ovo je u saglasnosti sa histološkom studijom Benet i sar., (1965) koji su pokazali smanjenje broja arterijskih sudova koji kroz apikalni otvor snabdevaju pulpu krvlju kad se uporede ljudi u starosnim grupama od 10-20, od 20-40 i od 40-70 godina. Veći broj histoloških studija je pokazao da starenjem dolazi do smanjenje broja arteriola kao i redukcije vaskularne mreže (Bernick, 1967; Ketterl, 1983; Saad, 1997). Od posebnog značaja je nalaz Espina i sar., (2003), koji su elektronskom mikroskopijom, pokazali da starenjem kapilarni endotelijum u pulpi podleže morfološkim promenama kao što su pojačan transendotelijalni transport, promene citoskeleta, hipertrofija Goldži kompleksa i citoplazmatskih depozita. Jedina funkcionalna studija protoka krvi kroz zubnu pulpu ljudi je studija Ikawa i sar. (2003)

na 22 zdrava ispitanika od 8 do 75 godina starosti. Autori su pokazali da se, kako bazalni protok krvi kroz pulpu gornjih centralnih sekutića, tako i protok stimulisan hlađenjem značajno smanjuju starenjem.

Stoga naši rezultati o protoku krvi kroz zubnu pulpu u dve različite starosne grupe, od 20-25 i od 50-60 godina, kao i rezultati Ikawa i sar. (2003) u grupi ispitanika opšte populacije predstavljaju doprinos za razumevanje funkcionalnog stanja mikrocirkulacije pulpe što je od posebnog značaja za odgovor pulpe na terapijske postupke.

Imajući u vidu činjenicu da se orofacijana regija, samim tim i zubna pulpa, snabdeva krvlju iz ZKA i SKA od značaja je bilo ispitati u kojoj meri u opštoj populaciji (zdravi ispitanici) protok krvi kroz ove dovodne arterije kao i debljina IMK, kao parametar pretkliničke ateroskleroze, koreliraju sa protokom krvi kroz zubnu pulpu.

Naši rezultati pokazuju da su protoci krvi kroz ZKA i SKA kod zdravih ispitanika veći u starosnoj dobi od 50-60 godina nego kod mlađih ispitanika. Ovo je u saglasnosti sa radovima Schoning i sar. (1994) i Schoning i Hartig (1996) koji su pokazali da protok kroz SKA raste sa starošću ispitanika u opštoj populaciji. S' druge strane nekoliko studija na opštoj populaciji pokazuju da promene protoka krvi kroz ZKA nisu u značajnoj korelaciji sa starosnom dobi kod zdravih ispitanika (Schoning i sar., 1994; Schoning i Hartig, 1996; Schoning i Hartig, 1998).

Vrednosti debljine IMK ZKA i SKA kod naših ispitanika opšte populacije bile su veće kod starijih nego kod mlađih ispitanika. Debljina IMK je široko prihvaćen i pouzdan pokazatelj rane ateroskleroze (Howard i sar., 1993; De Groot i sar., 2004). Klinička istraživanja u kojima je analizirana zavisnost debljine IMK karotidnih arterija od starosne dobi pokazuju da se starenjem povećava debljina IMK kod zdravih ljudi (Howard i sar., 1993; Stein i sar., 2004). Naši rezultati su u saglasnosti sa rezultatima Howard-a i sar. (1993) koji pokazuju da se u opštoj populaciji prosečna debljina IMK ZKA kreće od 0,5 do 1 mm u zavisnosti od starosne dobi. Smatra se da povećanje debljine IMK sa starošću kod zdravih ljudi verovatno predstavlja odgovor na intravaskularne hemodinamske promene lokalnog arterijskog pritiska (Tanaka i sar., 2001).

Naši rezultati ukazuju da nema korelacije između protoka krvi kroz karotidne arterije i protoka u pulpi gornjih centralnih inciziva, kako u grupi ispitanika od 50-60 godina starosti, tako ni u mlađoj starosnoj grupi, od 20-25 godina. Imajući u vidu veće protoke kroz ZKA i SKA starijih ispitanika može se pretpostaviti da je nepostojanje pomenute korelacije rezultat promena, povezanih sa starenjem, na nivou pulpne mikrocirkulacije a ne posledica redukovanog dotoka krvi iz karotidnih arterija. Međutim, interesantno je istaći da su Chu i sar. (2000), ispitujući korelaciju između protoka krvi u dovodnim arterijama za mikrocirkulatorni sistem kao što je mozak, utvrdili da postoji korelacija između protoka krvi u ZKA i protoka krvi u moždanom tkivu.

Učestalost pojave kardiovaskularnih oboljenja kod premenopauzalnih žena je nekoliko puta manja nego kod muškaraca; međutim, u menopauzi, ova razlika između polova se smanjuje i rizik od pojave ateroskleroze se značajno povećava. Šta više, kod žena iste starosne dobi, učestalost kardiovaskularnih oboljenja se razlikuje u zavisnosti od toga da li su žene u premenopauzalnom ili postmenopauzalnom periodu (Minino i sar., 2007). Postmenopauzalno povećanje učestalosti kardiovaskularnih oboljenja vezano je za gubitak kardioprotektivnog efekta estrogena koji se ostvaruje njegovim vaskularnim efektima (Dubey i sar., 2005). Na vaskularni sistem estrogen ostvaruje svoje efekte direktnim i indirektnim dejstvom preko mehanizama koji uključuju genomske i negenomske signalne puteve ER. Smatra se da su direktni efekti estrogena na vaskulaturu glavni za njegovo protektivno dejstvo (Mendelsohn, 2002; Beral, 2003).

Direktni vaskularni efekti estrogena su: arterijska vazodilatacija, prevencija ateroskleroze, stimulacija angiogeneze i stvaranja kolateralnih krvnih sudova izazvana proliferacijom endotelnih ćelija i inhibicija proliferacije mišićnih ćelija krvnih sudova (Mendelsohn, 2002). Ovi efekti se delom ostvaruju negenomskim dejstvom estrogena na membranske ER čija je posledica stimulacija endotelijalne NOS (eNOS) i zaštite NO bioaktivnosti preko antioksidativnih efekata (Arnal i sar., 1996; Kauser i Rubanyi, 1997) i izazivanje brze vazodilatacije koja može biti endotelno zavisna i endotelno nezavisna (Mendelsohn, 2002). Transdukcioni signal ovih membranskih receptora uključuje aktivaciju MAP-kinaze (mitozom aktivirana protein kinaza) ili tirozin kinaze (Russell i sar., 2000). Direktna genomska dejstva estrogena, koja uključuju gensku transkripciju su inhibicija proliferacije glatkih mišićnih ćelija krvnih sudova (Nakamura

i sar., 2004), stimulacija ekspresije faktora rasta vaskularnog endotela (VEGF) i njegovih receptora, smanjenje proinflamatornih signalnih molekula (Zanger i sar., 2000; Shifren i sar., 2008).

Indirektni efekti estrogena su povećanje nivoa HDL holesterola (holesterol visoke gustine - HDL) i triglicerida kao i katabolizma LDL holesterola (lipoproteini male gustine - LDL) (Zegura i sar., 2006). Oksidacija LDL holesterola se smanjuje posredstvom endotelijalnih efekata ER (Rifici i Khachadurian, 1992). Ostali poznati indirektni efekti estrogena su smanjenje koncentracije fibrinogena, antitrombina, proteina S, inhibitora plazminogen aktivatora tip 1, renina, angiotenzinkonvertirajućeg enzima i endotelin-1 (Mendelsohn, 2002).

Poznato je da se protok krvi u različitim mikrocirkulatornim sistemima ljudskog organizma, kao na primer, u mozgu i u koži, menja u zavisnosti od akutnih promena koncentracije estrogena u plazmi u toku menstrualnog ciklusa (Krejza i sar., 2003; Rossi i sar., 2009), kao i usled dugotrajno smanjenog nivoa estrogena u menopauzi (Haenggi i sar., 1995; Slopian i sar., 2003).

Naši rezultati pokazuju da tokom menstrualnog ciklusa (akutne promene nivoa estrogena) dolazi do promene nivoa protoka krvi u zubnoj pulpi, tako da je protok veći u fazi kad je estrogen visok u odnosu na fazu sa niskim estrogenom. Interesantno je da su u istraživanju efekata endogenog estrogena na endotelno-zavisnu relaksaciju u koži žena tokom menstrualnog ciklusa endotelno-zavisni i endotelno-nezavisni vazodilatatorni odgovor mikrocirkulacije bili značajno veći u fazi visokog estrogena u odnosu na menstrualnu fazu (Arora i sar., 1998). Takođe, povećanje nivoa estrogena u serumu tokom menstrualnog ciklusa kod zdravih žena praćeno je povećanjem protoka krvi kroz unutrašnju karotidnu arteriju (Krejza i sar., 2003), povećanjem adaptacione sposobnosti cerebrovaskularnog sistema (Diomedes i sar., 2001) i povećanjem vaskularizacije endometrijuma (Raine-Fenning i sar., 2004).

Sa druge strane u toku hroničnog smanjenja nivoa estrogena, kao što je to slučaj kod žena u menopauzi naši rezultati pokazuju da je protok krvi u zubnoj pulpi značajno manji u poređenju sa mladim ženama u fazi visokog estrogena. Međutim, protok u zubnoj pulpi kod žena u menopauzi ne razlikuje se značajno od protoka kod mladih žena u fazi kad je estrogen bio nizak. Činjenica da postoji značajna korelacija između

protoka u pulpi i nivoa estrogena u serumu, i kod mladih i kod žena u menopauzi, sugeriraju da su promene protoka u zubnoj pulpi kod žena različite životne dobi, osim sa starenjem, kako su pokazali naši i rezultati Ikawa i sar., (2003), povezane i sa promenama nivoa endogenog estrogena. Ova zavisnost pulpne mikrocirkulacije od endogenog estrogena direktan je funkcionalni dokaz o postojanju ER u krvnim sudovima pulpe. Naime, ranije su, na prisustvo ER u krvnim sudovima pulpe ukazali Dale i sar. (2002) primenom RT-PCR metode i Jukic i sar. (2003) primenom imunohistohemijske metode.

Nivo protoka krvi u zubnoj pulpi predstavlja rezultat različitih kontrolnih mehanizama na nivou pulpne mikrocirkulacije. S' obzirom da kardiovaskularne kontrolne mehanizme karakteriše ritmičnost u njihovoj aktivnosti (Hyndman i sar., 1971; Akselrod i sar., 1981), spektralnom analizom protoka krvi mogu se dobiti dodatni podaci o njihovim fiziološkim karakteristikama. Naime, spektralnom analizom je moguće LDF signal protoka krvi u mikrocirkulaciji razložiti na komponente različitih frekvencija koje odlikavaju funkcije kontrolnih mehanizama mikrocirkulacije (Meyer i sar., 1988; Intaglietta, 1989; Muck-Weymann i sar., 1996). Brojne studije sugeriraju da amplituda različitih komponenta reflektuje efikasnost odgovarajućeg kontrolnog mehanizma mikrocirkulacije (Kvernmo i sar., 1999; Rossi i sar., 2004; Stewart i sar., 2004). Dve važne osobine protoka krvi utiču na izbor metoda spektralne analize koji se koristi, a to su stalna, prirodna promenljivosti frekvencija koje odlikavaju kontrolne mehanizme i širok spektar u kome se te frekvencije javljaju (odnos najniže i najviše 1:100). Usled toga, neophodno je da se odabranim metodom dobija dobra frekvencijska i vremenska rezolucija pri analizi. Pokazano je da je Vejllet spektralna analiza najpodesnija za signale protoka krvi u mikrocirkulaciji jer se koristi dužina prozora prilagodljiva analiziranoj frekvenciji, odnosno za spore događaje koriste se duži prozori a za brže događaje kraći prozori čime se dobija logaritamska frekvencijska rezolucija (Bracic i Stefanovska, 1998). U okviru spektra Vejllet analizom dobijenih frekvencija postoji pet specifičnih frekvencija koje reflektuju uticaj srčane aktivnosti (oko 1 Hz), respiracije (oko 0.3 Hz), aktivnosti mišića krvnih sudova (oko 0.1 Hz), simpatičke aktivnosti (oko 0.04 Hz) i endotelne aktivnosti (oko 0.01 Hz) (Kvernmo i sar., 1998; Kvandal i sar., 2003; Rossi i sar., 2009).

U brojnim studijama izučavano je fiziološko poreklo oscilacija sa specifičnim frekvencijama u spektru dobijenom spektralnom analizom. Fiziološki mehanizmi koji se ogledaju u oscilacijama sa frekvencijama od oko 1 i oko 0.3 Hz uočavaju se poređenjem LDF i elektrokardiografskog (ECG), signala dobijenog praćenjem krvnog pritiska i respiracije (Bernjak i sar., 2008). Pretpostavljeno je da su ove oscilacije sa frekvencijom oko 0.1 Hz posledica spontane aktivnosti mišića krvnih sudova obzirom da se njihov intenzitet nije menjao posle jontoforeze acetilholina i posle simpatektomije (Kastrup i sar., 1989; Stefanovska i sar., 1999). Pošto je intenzitet oscilacija sa frekvencijom oko 0.04 Hz smanjen kod mikrovaskularnog flapa, bez simpatičke inervacije, u poređenju sa susednom intaktnom kožom zaključeno je da su ove oscilacije simpatičkog porekla (Soderstrom i sar., 2003). Kako endotelno zavisni vazodilatori specifično povećavaju oscilacije sa frekvencijom oko 0,01 Hz i pošto je taj efekat poništen sa NG-monomethyl-L-arginin (inhibitor sinteze NO) a ponovo uspostavljen sa L-argininom (supstrat za sintezu NO) to je produkcija NO iz endotela odgovorna za oscilacije sa pomenutom frekvencijom (Kvernmo i sar., 1999; Stefanovska i sar., 1999; Kvandal i sar., 2003). Koristeći spektralnu analizu LDF signala dužine 30 minuta autori su otkrili i endotelno zavisne oscilacije sa specifičnom frekvencijom oko 0.007 Hz, međutim još uvek je nepoznat mehanizam njihovog nastanka (Kvandal i sar., 2006; Bernjak i sar., 2008).

Obzirom da predstavlja jedini neinvazivni metod za praćenje različitih regulatornih mehanizama mikrocirkulacije i njihovih odnosa in vivo spektralna analiza LDF signala može se koristiti za proučavanje protoka u bazalnim uslovima, patološkim stanjima ili pod dejstvom vazoaktivnih supstanci (Kvernmo i sar., 1999; Soderstrom i sar., 2003; Azman-Juvan i sar., 2008). Tako je ovom metodom ispitivana endotelna funkcija u različitim poremećajima periferne cirkulacije izazvanim: arterijskom opstruktivnom bolešću (Anvar i sar., 2000; Rossi i sar., 2005), arterijskom hipertenzijom (Rossi i sar., 2006), oboljenjima bubrega (Stewart i sar., 2004; Rossi i sar., 2008c), sistemskom sklerozom (Rossi i sar., 2008a), dijabetesom (Schmiedel i sar., 2007), gojaznošću (de Jongh i sar., 2008) i hroničnim pušenjem (Rossi i sar., 2007). Različite studije su pokazale da je spektralna analiza LDF signala senzitivnija u proceni endotelne funkcije od drugih metoda (Rossi i sar., 2005; Rossi i sar., 2007; Rossi i sar., 2008c).

Koristeći Vejvlet spektralnu analizu LDF signala u našem istraživanju potvrdili smo u merenjima dobijenim na zubnoj pulpi postojanje pomenutih pet specifičnih frekvencija koje odgovaraju: srčanoj aktivnosti 0.6-1.6 Hz, respiraciji 0.2-0.6 Hz, aktivnosti mišića krvnih sudova 0.06-0.2 Hz, simpatičkoj aktivnosti 0.02-0.06 Hz i endotelnoj aktivnosti 0.0095-0.02 Hz. Dobijeni rezultati pokazuju da su relativna amplituda i snaga frekvencijskih intervala koji odgovaraju srčanoj aktivnosti, respiraciji, aktivnosti mišića krvnih sudova i simpatičkoj aktivnosti značajno veće kod žena u menopauzi nego kod žena sa redovnim menstrualnim ciklusom u obe njegove faze. Sa druge strane, relativna amplituda i snaga frekvencijskog intervala koji odgovara endotelnoj aktivnosti su značajno manje kod žena u menopauzi u odnosu na mlade žene u obe faze ciklusa. Ovi podaci ukazuju da su ER u zubnoj pulpi lokalizovani u endotelu i mišićnom zidu arterijskih sudova, kao što je slučaj i u drugim arterijama (Shughrue i sar., 1997; Kuiper i sar., 1998). Izmenjena endotelna funkcija pulpnih krvnih sudova kod žena u menopauzi može biti rezultat promena na nivou ER, njihovog broja, afiniteta ili transdukcionog signala ili/i na nivou funkcionalnosti endotelnih ćelija. Utvrđeno je da je vaskuloprotektivni efekat estrogena posredovan ER čiji je transdukcioni signal aktivacija eNOS praćena povećanjem dostupnosti NO (Hayashi i sar., 1997; Chen i sar., 1999; Hodgkin i sar., 2002). U perifernim venama žena u menopauzi pokazano je smanjenje endotelnih ER α , eNOS i smanjena aktivnost eNOS (Gavin i sar., 2009). Takođe, menopauza sa posledičnim smanjenjem nivoa estrogena, smanjuje produkciju NO što je praćeno endotelnom disfunkcijom (Salhotra i sar., 2009). U nekoliko studija ukazano je na potencijalne mehanizame endotelne disfunkcije u menopauzi koji mogu delovati direktno posredstvom ER ili indirektno dislipidemijom (McCrohon i sar., 2000; Salhotra i sar., 2009; Bechlioulis i sar., 2010). Najverovatnije da se smanjenje endotelne komponente oscilacija protoka u zubnoj pulpi može pripisati smanjenju broja ER, posledično smanjenoj dostupnosti NO i endotelnoj disfunkciji koja se karakteriše poremećenom ravnotežom u korist endotelnih vazokonstriktornih u odnosu na vazodilatatorne faktore. Takođe se može pretpostaviti da je povećanje komponente oscilacija u pulpnom protoku koja odgovara aktivnosti mišića krvnih sudova posledica endotelne disfunkcije izazvane menopauzom. Ovo stoga, što je pokazano da primena egzogenog estrogena dilatira srčane arterije direktnim dejstvom na glatke mišićne ćelije arterija, kod žena sa disfunkcionalnim endotelom (Reis i sar., 1994). Veće vrednosti

relativnih amplituda i snaga frekvencijskih intervala koji predstavljaju srčanu aktivnost i respiraciju kod žena u menopauzi u odnosu na žene u reproduktivnom periodu verovatno su posledica hemodinamskog prilagođavanja na stanje endotelne disfunkcije. Povećanje simpatičke komponente oscilacija pulpnog protoka kod žena u menopauzi može se pripisati većoj simpatičkoj aktivnosti u menopauzi usled povećane centralne simpatičke aktivnosti (Deecher i Dorries, 2007; Oneda i sar., 2008; Hogarth i sar., 2011).

Poređenjem relativnih vrednosti amplituda i snaga dobijenih merenjima kod žena u reproduktivnom periodu zapaža se značajno smanjenje pomenutih vrednosti u intervalima aktivnosti mišića krvnih sudova i simpatičke aktivnosti dok se u intervalu endotelne aktivnosti zapaža značajno povećanje istih vrednosti u fazi niskog u odnosu na fazu sa visokim estrogenom. Ovi rezultati pokazuju uticaj akutnog smanjenja nivoa endogenog estrogena (mlade žene) na vazomotorne mehanizme u zubnoj pulpi koji je suprotan u odnosu na uticaj hroničnog smanjenja nivoa endogenog estrogena (žene u menopauzi). Zanimljivo je da se spektralna snaga frekvencijskih intervala koji karakterišu bazalnu vazomotoriku mikrocirkulacije kože (aktivnost mišića zida krvnih sudova, simpatička i endotelna aktivnost) ne razlikuje značajno između faza menstrualnog ciklusa sa visokim i niskim estrogenom (Rossi i sar., 2009). Gavin i sar. (2009) su pokazali da je u fazi menstrualnog ciklusa sa niskim nivoom estrogena smanjena ekspresija ER α i eNOS u perifernim venama. Povećanje komponente oscilacija pulpnog protoka koja predstavlja endotelnu aktivnost tokom faze sa smanjenim nivoom estrogena može predstavljati kompenzatornu reakciju endotelnog hiperpolarizujućeg faktora (EDHF) na privremeno smanjeni nivo NO. Naime, EDHF deluje kao zaštitni endotelni vazodilatator u uslovima smanjenja nivoa NO, čime endotelna disfunkcija može, makar privremeno, biti kompenzovana (Feletou i Vanhoutte, 2006; Feletou i Vanhoutte, 2007). Sa druge strane, smanjenje komponenti oscilacija pulpnog protoka koje predstavljaju simpatičku i aktivnost mišića krvnih sudova u toku faze sa niskim estrogenom ukazuje da kratkotrajno smanjeni nivo estrogena pokreće kompenzatorne mehanizme u cilju održavanja homeostaze.

Naši rezultati pokazuju da akutno (u fazi ciklusa sa niskim estrogenom) i hronično (žene u menopauzi) smanjenje nivoa estrogena dovodi do sličnog smanjenja protoka krvi u zubnoj pulpi ali različito utiče na dinamiku protoka u poređenju sa fazom ciklusa

kad je estrogen visok. Imajući u vidu značaj protoka krvi za očuvanje vitaliteta zubne pulpe ovi rezultati doprinose boljem razumevanju uticaja endogenog estrogena na kontrolne mehanizme mikrocirkulacije pulpe. Pored toga naši rezultati predstavljaju osnovu za bližu analizu reakcije zubne pulpe na dentalne materijale koji sadrže komponente sa estrogenskim dejstvom.

Na ovaj način je prikazan značaj dva fiziološka faktora: životne dobi i estrogenskog statusa za mikrocirkulaciju zubne pulpe u opštoj populaciji. Međutim, imajući u vidu činjenicu da je jedno od danas značajnih kardiovaskularnih oboljenja ateroskleroza karotidnih arterija od značaja je bilo ispitati u kojoj meri u kliničkoj populaciji pacijenata značajna stenoza karotidne bifurkacije utiče na mikrocirkulaciju pulpe. Poznato je da stenoza ZKA i unutrašnje karotidne arterije, kao dovodnih arterija, utiče na protok krvi u mikrocirkulaciji mozga (Yamauchi i sar., 1992; Trivedi i sar., 2005; Jones i sar., 2006). Naši rezultati pokazuju da ne postoji korelacija između stepena stenozе karotidne bifurkacije i protoka kroz mikrocirkulaciju zubne pulpe u kliničkoj populaciji pacijenata starosti od 50-60 godina. Poznato je da se pored postojanja glavnih dovodnih arterija za orofacijalnu regiju ukoliko dođe do stenozе karotidnih arterija, uspostavljaju kolateralni putevi dotoka krvi u ovu regiju. Tako su u uslovima okluzije ZKA ili SKA pokazane kolaterale između SKA i drugih arterija kao na primer: vertebralnih arterija, kontralateralne SKA preko tiroidne arterijske mreže, unutrašnje karotidne arterije, tirocervikalnog i kostocervikalnog stabla kao i perzistentnih embrionalnih anastomoza (Moore i sar., 1967; Weibel i Fields, 1969; Pretre i sar., 1994; Osborne, 1999; Nassauer Mónica i sar., 2005). Postoji nekoliko radova koji pokazuju da se kolateralni krvotok formira ne samo kod potpune okluzije već i u uslovima stenozе karotidnih arterija kao i odsustva patoloških promena na ovim krvnim sudovima (Suzuki i sar., 2000; Savva i sar., 2010). Ovo je u saglasnosti sa našim rezultatima koji ukazuju na postojanje kolateralnog krvotoka za orofacijalnu regiju koji najverovatnije obezbeđuje adekvatan dovod krvi u mikrocirkulaciju pulpe tako da je protok kroz zubnu pulpu kliničke populacije starosti 50-60 godina sličan onome u opštoj populaciji starosti 50-60 godina.

Imajući u vidu značaj protoka krvi za očuvanje vitaliteta zubne pulpe, naši rezultati doprinose boljem razumevanju funkcionisanja orofacijalne cirkulacije kako u stanju zdravlja tako i u uslovima ateroskleroze karotidnih arterija.

ZAKLJUČCI

1. Protoci krvi u zubnoj pulpi značajno su veći kod mladih ispitanika u odnosu na grupu starijih ispitanika.
2. Protoci krvi i debljine IMK karotidnih arterija su veći kod starijih u odnosu na grupu mladih ispitanika.
3. Ne postoji korelacija između protoka krvi kroz zubnu pulpu i debljine IMK odnosno protoka krvi kroz ZKA i SKA ni u grupi mladih ni u grupi starijih ispitanika.
4. Koncentracija estrogena u serumu žena sa redovnim menstrualnim ciklusom značajno se razlikuje u fazi visokog i fazi niskog estrogena. Koncentracija estrogena kod žena u menopauzi je značajno manja u odnosu na koncentraciju u obe faze ciklusa kod žena sa redovnim ciklusom.
5. Protoci krvi u zubnoj pulpi žena sa redovnim ciklusom značajno su veći u fazi kada je estrogen visok u odnosu na fazu niskog estrogena, kao i u odnosu na protoke kod žena u menopauzi. Protoci krvi u zubnoj pulpi ne razlikuju se značajno između žena u menopauzi i žena sa redovnim ciklusom u fazi niskog estrogena.
6. Postoji značajna korelacija između protoka krvi u zubnoj pulpi i koncentracije estrogena kod žena sa redovnim ciklusom i kod žena u menopauzi.
7. Relativne amplitude i snage intervala koji karakterišu aktivnost mišića krvnih sudova, simpatičku i endotelnu aktivnost značajno se razlikuju između faze menstrualnog ciklusa kada je estrogen visok i kada je estrogen nizak.
8. Relativne amplitude i snage intervala koji karakterišu srčanu, respiratornu, aktivnost mišića krvnih sudova, simpatičku i endotelnu aktivnost značajno se razlikuju između žena u menopauzi i obe faze ciklusa žena sa redovnim menstrualnim ciklusom.
9. Protoci krvi u zubnoj pulpi nisu značajno različiti kod pacijenata sa stenozom karotidne bifurkacije u odnosu na zdrave ispitanike slične životne dobi, 50-60 godina starosti.
10. Ne postoji korelacija između protoka krvi kroz zubnu pulpu i stepena stenozе karotidne bifurkacije kod kliničke populacije.

LITERATURA

Ahn J, Pogrel MA. The effects of 2% lidocaine with 1:100,000 epinephrine on pulpal and gingival blood flow. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;85:197-202.

Ajcharanukul O, Kraivaphan P, Wanachantararak S, Vongsavan N, Matthews B. Effects of potassium ions on dentine sensitivity in man. *Arch Oral Biol.* 2007;52:632-9.

Akselrod S, Gordon D, Ubel FA, Shannon DC, Berger AC, Cohen RJ. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science.* 1981;213:220-2.

Anvar MD, Khiabani HZ, Kroese AJ, Stranden E. Patterns of skin flow motion in the lower limbs of patients with chronic critical limb ischaemia (CLI) and oedema. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2000;20:536-44.

Arnal JF, Clamens S, Pechet C, Negre-Salvayre A, Allera C, Girolami JP, et al. Ethinylestradiol does not enhance the expression of nitric oxide synthase in bovine endothelial cells but increases the release of bioactive nitric oxide by inhibiting superoxide anion production. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93:4108-13.

Arora S, Veves A, Caballero AE, Smakowski P, LoGerfo FW. Estrogen improves endothelial function. *J Vasc Surg.* 1998;27:1141-6.

Azman-Juvan K, Bernjak A, Urbancic-Rovan V, Stefanovska A, Stajer D. Skin blood flow and its oscillatory components in patients with acute myocardial infarction. *J Vasc Res.* 2008;45:164-72.

Barber D, Miller V. Endothelium-dependent vasoconstrictors. In: *Estrogen and the Vessel Wall.* Berkshire, UK: Harwood Academic Publishers; 1998. p. 167–85.

Barber DA, Sieck GC, Fitzpatrick LA, Miller VM. Endothelin receptors are modulated in association with endogenous fluctuations in estrogen. *Am J Physiol.* 1996;271:H1999-2006.

Bechlioulis A, Kalantaridou SN, Naka KK, Chatzikyriakidou A, Calis KA, Makrigiannakis A, et al. Endothelial function, but not carotid intima-media thickness, is affected early in menopause and is associated with severity of hot flashes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:1199-206.

Bennett CG, Kelln EE, Biddington WR. Age changes of the vascular pattern of the human dental pulp. *Arch Oral Biol.* 1965;10:995-8.

Beral V. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet*. 2003;362:419-27.

Berggreen E, Heyeraas KJ. The role of sensory neuropeptides and nitric oxide on pulpal blood flow and tissue pressure in the ferret. *J Dent Res*. 1999;78:1535-43.

Berggreen E, Heyeraas KJ. Effect of the sensory neuropeptide antagonists h-CGRP(8-37) and SR 140.33 on pulpal and gingival blood flow in ferrets. *Arch Oral Biol*. 2000;45:537-42.

Bernick S. Age changes in the blood supply to human teeth. *J Dent Res*. 1967;46:544-50.

Bernjak A, Clarkson PB, McClintock PV, Stefanovska A. Low-frequency blood flow oscillations in congestive heart failure and after beta1-blockade treatment. *Microvasc Res*. 2008;76:224-32.

Best PJ, Berger PB, Miller VM, Lerman A. The effect of estrogen replacement therapy on plasma nitric oxide and endothelin-1 levels in postmenopausal women. *Ann Intern Med*. 1998;128:285-8.

Borda E, Furlan C, Orman B, Reina S, Sterin-Borda L. Nitric oxide synthase and PGE2 reciprocal interactions in rat dental pulp: cholinceptor modulation. *J Endod*. 2007;33:142-7.

Bracic M, Stefanovska A. Wavelet-based analysis of human blood-flow dynamics. *Bull Math Biol*. 1998;60:919-35.

Brosnihan KB, Moriguchi A, Nakamoto H, Dean RH, Ganten D, Ferrario CM. Estrogen augments the contribution of nitric oxide to blood pressure regulation in transgenic hypertensive rats expressing the mouse Ren-2 gene. *Am J Hypertens*. 1994;7:576-82.

Bulut D, Albrecht N, Imohl M, Gunesdogan B, Bulut-Streich N, Borgel J, et al. Hormonal status modulates circulating endothelial progenitor cells. *Clin Res Cardiol*. 2007;96:258-63.

Burrig KF. The endothelium of advanced arteriosclerotic plaques in humans. *Arterioscler Thromb*. 1991;11:1678-89.

Chambless LE, Folsom AR, Clegg LX, Sharrett AR, Shahar E, Nieto FJ, et al. Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Am J Epidemiol*. 2000;151:478-87.

Chen Z, Yuhanna IS, Galcheva-Gargova Z, Karas RH, Mendelsohn ME, Shaul PW. Estrogen receptor alpha mediates the nongenomic activation of endothelial nitric oxide synthase by estrogen. *J Clin Invest.* 1999;103:401-6.

Chng HS, Pitt Ford TR, McDonald F. Effects of prilocaine local anaesthetic solutions on pulpal blood flow in maxillary canines. *Endod Dent Traumatol.* 1996;12:89-95.

Christensen KL, Mulvany MJ. Location of resistance arteries. *J Vasc Res.* 2001;38:1-12.

Chu BC, Narita A, Aoki K, Yoshida T, Warabi T, Miyasaka K. Flow volume in the common carotid artery detected by color duplex sonography: an approach to the normal value and predictability of cerebral blood flow. *Radiat Med.* 2000;18:239-44.

Corpron RE, Avery JK, Lee SD. Ultrastructure of capillaries in the odontoblastic layer. *J Dent Res.* 1973;52:393.

Dale JB, Sarich SL, Bretz TM, Hatton JF, Zachow RJ. Hormonal regulation of androgen receptor messenger ribonucleic acid expression in human tooth pulp. *J Dent Res.* 2002;81:360-5.

De Groot E, Hovingh K, Wiegman A, Duriez P, Smit AJ, Fruchart JC, et al. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation* 2004;109:III-33-III-8.

de Jongh RT, Serne EH, RG IJ, Jorstad HT, Stehouwer CD. Impaired local microvascular vasodilatory effects of insulin and reduced skin microvascular vasomotion in obese women. *Microvasc Res.* 2008;75:256-62.

Deecher DC, Dorries K. Understanding the pathophysiology of vasomotor symptoms (hot flushes and night sweats) that occur in perimenopause, menopause, and postmenopause life stages. *Arch Womens Ment Health.* 2007;10:247-57.

Diomedi M, Cupini LM, Rizzato B, Ferrante F, Giacomini P, Silvestrini M. Influence of physiologic oscillation of estrogens on cerebral hemodynamics. *J Neurol Sci.* 2001;185:49-53.

Dubey RK, Jackson EK, Keller PJ, Imthurn B, Rosselli M. Estradiol metabolites inhibit endothelin synthesis by an estrogen receptor-independent mechanism. *Hypertension.* 2001;37:640-4.

Dubey RK, Imthurn B, Barton M, Jackson EK. Vascular consequences of menopause and hormone therapy: importance of timing of treatment and type of estrogen. *Cardiovasc Res.* 2005;66:295-306.

Duckles SP, Krause DN, Stirone C, Procaccio V. Estrogen and mitochondria: a new paradigm for vascular protection? *Mol Interv.* 2006;6:26-35.

Eckstein HH, Eichbaum M, Klemm K, Doerfler A, Ringleb P, Bruckner T, et al. Improvement of carotid blood flow after carotid endarterectomy--evaluation using intraoperative ultrasound flow measurement. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2003;25:168-74.

Edds AC, Walden JE, Scheetz JP, Goldsmith LJ, Drisko CL, Eleazer PD. Pilot study of correlation of pulp stones with cardiovascular disease. *J Endod.* 2005;31:504-6.

Edwall L, Scott D, Jr. Influence of changes in microcirculation on the excitability of the sensory unit in the tooth of the cat. *Acta Physiol Scand.* 1971;82:555-66.

Emshoff R, Emshoff I, Moschen I, Strobl H. Laser Doppler flow measurements of pulpal blood flow and severity of dental injury. *Int Endod J.* 2004;37:463-7.

Emshoff R, Moschen I, Strobl H. Treatment outcomes of dental injury diagnoses as related to blood flow measurements from teeth. *J Oral Rehabil.* 2008;35:209-17.

Espina AI, Castellanos AV, Ferreira JL. Age-related changes in blood capillary endothelium of human dental pulp: an ultrastructural study. *Int Endod J.* 2003;36:395-403.

European Carotid Surgery Trialists, Collaborative Group. MRC European Carotid Surgery Trial: interim results for symptomatic patients with severe (70-99%) or with mild (0-29%) stenosis. *Lancet.* 1991;337:1235-43.

Feletou M, Vanhoutte PM. Endothelium-derived hyperpolarizing factor: where are we now? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:1215-25.

Feletou M, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent hyperpolarizations: past beliefs and present facts. *Ann Med.* 2007;39:495-516.

Fernander AF, Duran RE, Saab PG, Schneiderman N. John Henry Active Coping, education, and blood pressure among urban blacks. *J Natl Med Assoc.* 2004;96:246-55.

Gallagher PE, Li P, Lenhart JR, Chappell MC, Brosnihan KB. Estrogen regulation of angiotensin-converting enzyme mRNA. *Hypertension*. 1999;33:323-8.

Gavin KM, Seals DR, Silver AE, Moreau KL. Vascular endothelial estrogen receptor alpha is modulated by estrogen status and related to endothelial function and endothelial nitric oxide synthase in healthy women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:3513-20.

Gazelius B, Olgart L, Edwall B, Edwall L. Non-invasive recording of blood flow in human dental pulp. *Endod Dent Traumatol*. 1986;2:219-21.

Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1987;316:1371-5.

Goldschmidt-Clermont PJ. Loss of bone marrow-derived vascular progenitor cells leads to inflammation and atherosclerosis. *Am Heart J*. 2003;146:S5-12.

Goodis HE, Winthrop V, White JM. Pulpal responses to cooling tooth temperatures. *J Endod*. 2000;26:263-7.

Haenggi W, Linder HR, Birkhaeuser MH, Schneider H. Microscopic findings of the nail-fold capillaries--dependence on menopausal status and hormone replacement therapy. *Maturitas*. 1995;22:37-46.

Harada K, Sato M, Omura K. Blood-flow change and recovery of sensibility in the maxillary dental pulp during and after maxillary distraction: a pilot study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004a;98:528-32.

Harada K, Sato M, Omura K. Blood-flow and neurosensory changes in the maxillary dental pulp after differing Le Fort I osteotomies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004b;97:12-7.

Hashimoto J, Ito S. Some mechanical aspects of arterial aging: physiological overview based on pulse wave analysis. *Ther Adv Cardiovasc Dis*. 2009;3:367-78.

Hayashi T, Yamada K, Esaki T, Mutoh E, Iguchi A. Effect of estrogen on isoforms of nitric oxide synthase: possible mechanism of anti-atherosclerotic effect of estrogen. *Gerontology*. 1997;43 Suppl 1:24-34.

Hermenegildo C, Oviedo PJ, Cano A. Cyclooxygenases regulation by estradiol on endothelium. *Curr Pharm Des*. 2006;12:205-15.

Hietala EL, Larmas M, Salo T. Localization of estrogen-receptor-related antigen in human odontoblasts. *J Dent Res.* 1998;77:1384-7.

Hodgin JB, Knowles JW, Kim HS, Smithies O, Maeda N. Interactions between endothelial nitric oxide synthase and sex hormones in vascular protection in mice. *J Clin Invest.* 2002;109:541-8.

Hogarth AJ, Graham LN, Corrigan JH, Deuchars J, Mary DA, Greenwood JP. Sympathetic nerve hyperactivity and its effect in postmenopausal women. *J Hypertens.* 2011;29:2167-75.

Howard G, Sharrett AR, Heiss G, Evans GW, Chambless LE, Riley WA, i sar. Carotid artery intimal-medial thickness distribution in general populations as evaluated by B-mode ultrasound. ARIC Investigators. *Stroke.* 1993;24:1297-304.

Hyndman BW, Kitney RI, Sayers BM. Spontaneous rhythms in physiological control systems. *Nature.* 1971;233:339-41.

Ikawa M, Fujiwara M, Horiuchi H, Shimauchi H. The effect of short-term tooth intrusion on human pulpal blood flow measured by laser Doppler flowmetry. *Arch Oral Biol.* 2001;46:781-7.

Ikawa M, Komatsu H, Ikawa K, Mayanagi H, Shimauchi H. Age-related changes in the human pulpal blood flow measured by laser Doppler flowmetry. *Dent Traumatol.* 2003;19:36-40.

Ingolfsson AR, Tronstad L, Hersh EV, Riva CE. Efficacy of laser Doppler flowmetry in determining pulp vitality of human teeth. *Endod Dent Traumatol.* 1994;10:83-7.

Intaglietta M. *Progress in Applied Microcirculation.* Basel: Karger; 1989.

Izuhara M, Shioji K, Kadota S, Baba O, Takeuchi Y, Uegaito T, i sar. Relationship of cardio-ankle vascular index (CAVI) to carotid and coronary arteriosclerosis. *Circ J.* 2008;72:1762-7.

Jacobsen EB, Heyeraas KJ. Pulp interstitial fluid pressure and blood flow after denervation and electrical tooth stimulation in the ferret. *Arch Oral Biol.* 1997;42:407-15.

Jones CE, Wolf RL, Detre JA, Das B, Saha PK, Wang J, i sar. Structural MRI of carotid artery atherosclerotic lesion burden and characterization of hemispheric cerebral blood flow before and after carotid endarterectomy. *NMR Biomed.* 2006;19:198-208.

Jukic S, Prpic-Mehicic G, Talan-Hranilovic J, Miletic I, Segovic S, Anic I. Estrogen receptors in human pulp tissue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;95:340-4.

Kastrup J, Bulow J, Lassen NA. Vasomotion in human skin before and after local heating recorded with laser Doppler flowmetry. A method for induction of vasomotion. *Int J Microcirc Clin Exp.* 1989;8:205-15.

Kauser K, Rubanyi GM. Potential cellular signaling mechanisms mediating upregulation of endothelial nitric oxide production by estrogen. *J Vasc Res.* 1997;34:229-36.

Keller HM, Valavanis A, Imhof HG, Turina M. Patency of external and internal carotid artery in the presence of an occluded common carotid artery: noninvasive evaluation with combined cerebrovascular Doppler examination and sequential computed tomography. *Stroke.* 1984;15:149-57.

Kerezoudis NP, Olgart L, Edwall L. Differential effects of nitric oxide synthesis inhibition on basal blood flow and antidromic vasodilation in rat oral tissues. *Eur J Pharmacol.* 1993;241:209-19.

Ketterl W. Age-induced changes in the teeth and their attachment apparatus. *Int Dent J.* 1983;33:262-71.

Kim S, Lipowsky HH, Usami S, Chien S. Arteriovenous distribution of hemodynamic parameters in the rat dental pulp. *Microvasc Res.* 1984;27:28-38.

Kim S. Microcirculation of the dental pulp in health and disease. *J Endod.* 1985a;11:465-71.

Kim S. Regulation of pulpal blood flow. *J Dent Res.* 1985b;64 Spec No:590-6.

Kishi Y, Shimozato N, Takahashi K. Vascular architecture of cat pulp using corrosive resin cast under scanning electron, microscopy. *J Endod.* 1989;15:478-83.

Knot HJ, Lounsbury KM, Brayden JE, Nelson MT. Gender differences in coronary artery diameter reflect changes in both endothelial Ca²⁺ and eNOS activity. *Am J Physiol.* 1999;276:H961-9.

Krejza J, Siemkowicz J, Sawicka M, Szyrak A, Kochanowicz J, Mariak Z, i sar. Oscillations of cerebrovascular resistance throughout the menstrual cycle in healthy women. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;22:627-32.

Krell KV, McMurtrey LG, Walton RE. Vasculature of the dental pulp of atherosclerotic monkeys: light and electron microscopic findings. *J Endod.* 1994;20:469-73.

Kuiper GG, Shughrue PJ, Merchenthaler I, Gustafsson JA. The estrogen receptor beta subtype: a novel mediator of estrogen action in neuroendocrine systems. *Front Neuroendocrinol.* 1998;19:253-86.

Kvandal P, Stefanovska A, Veber M, Kvernmo HD, Kirkeboen KA. Regulation of human cutaneous circulation evaluated by laser Doppler flowmetry, iontophoresis, and spectral analysis: importance of nitric oxide and prostaglandines. *Microvasc Res.* 2003;65:160-71.

Kvandal P, Landsverk SA, Bernjak A, Stefanovska A, Kvernmo HD, Kirkeboen KA. Low-frequency oscillations of the laser Doppler perfusion signal in human skin. *Microvasc Res.* 2006;72:120-7.

Kvernmo HD, Stefanovska A, Bracic M, Kirkeboen KA, Kvernebo K. Spectral analysis of the laser Doppler perfusion signal in human skin before and after exercise. *Microvasc Res.* 1998;56:173-82.

Kvernmo HD, Stefanovska A, Kirkeboen KA, Kvernebo K. Oscillations in the human cutaneous blood perfusion signal modified by endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilators. *Microvasc Res.* 1999;57:298-309.

Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a "set up" for vascular disease. *Circulation.* 2003;107:139-46.

Li L, Hisamoto K, Kim KH, Haynes MP, Bauer PM, Sanjay A, et al. Variant estrogen receptor-c-Src molecular interdependence and c-Src structural requirements for endothelial NO synthase activation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104:16468-73.

Liu CC, Kuo TB, Yang CC. Effects of estrogen on gender-related autonomic differences in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285:H2188-93.

Maranhao de Moura AA, de Paiva JG. Pulpal calcifications in patients with coronary atherosclerosis. *Endod Dent Traumatol.* 1987;3:307-9.

McCrohon JA, Woo KS, Celermajer DS. A comparison of endothelial function in Caucasian and Chinese women before and after the menopause. *Maturitas.* 2000;35:31-7.

McNeill AM, Kim N, Duckles SP, Krause DN, Kontos HA. Chronic estrogen treatment increases levels of endothelial nitric oxide synthase protein in rat cerebral microvessels. *Stroke*. 1999;30:2186-90.

Mendelsohn ME. Protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *Am J Cardiol*. 2002;89:12E-7E.

Meyer JU, Borgstrom P, Lindbom L, Intaglietta M. Vasomotion patterns in skeletal muscle arterioles during changes in arterial pressure. *Microvasc Res*. 1988;35:193-203.

Minino AM, Heron MP, Murphy SL, Kochanek KD. Deaths: final data for 2004. *Natl Vital Stat Rep*. 2007;55:1-119.

Moore KI. *Clinically oriented Anatomy*. 3th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1992.

Moore WS, Blaisdell FW, Hall AD. Retrograde thrombectomy for chronic occlusion of the common carotid artery. *Arch Surg*. 1967;95:664-73.

Morlet J. Sampling theory and wave propagation. In: *Issues in Acoustic Signal - Image Processing and Recognition*. Berlin: Springer-Verlag; 1983.

Morse DR. Age-related changes of the dental pulp complex and their relationship to systemic aging. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1991;72:721-45.

Morse DR, Esposito JV, Schoor RS. A radiographic study of aging changes of the dental pulp and dentin in normal teeth. *Quintessence Int*. 1993;24:329-33.

Muck-Weymann ME, Albrecht HP, Hager D, Hiller D, Hornstein OP, Bauer RD. Respiratory-dependent laser-Doppler flux motion in different skin areas and its meaning to autonomic nervous control of the vessels of the skin. *Microvasc Res*. 1996;52:69-78.

Nagai Y, Metter EJ, Earley CJ, Kemper MK, Becker LC, Lakatta EG, et al. Increased carotid artery intimal-medial thickness in asymptomatic older subjects with exercise-induced myocardial ischemia. *Circulation*. 1998;98:1504-9.

Nakamura K, Tomaru T, Yamamura S, Miyashita Y, Shirai K, Noike H. Cardio-ankle vascular index is a candidate predictor of coronary atherosclerosis. *Circ J*. 2008;72:598-604.

Nakamura Y, Suzuki T, Miki Y, Tazawa C, Senzaki K, Moriya T, i sar. Estrogen receptors in atherosclerotic human aorta: inhibition of human vascular smooth muscle cell proliferation by estrogens. *Mol Cell Endocrinol.* 2004;219:17-26.

Nassauer Mónica A, Germano A, Biscoito L, M. B. Common Carotid Artery Occlusion: Doppler Ultrasound Findings in Two Patients *Journal of Diagnostic Medical Sonography* 2005;21:502-8.

Nichols WW, O'Rourke MF. McDonald's blood flow in arteries: Theoretical, experimental and clinical principles. 5th ed. London: Hodder Arnold; 2005.

Nickenig G, Baumer AT, Grohe C, Kahlert S, Strehlow K, Rosenkranz S, i sar. Estrogen modulates AT1 receptor gene expression in vitro and in vivo. *Circulation.* 1998;97:2197-201.

Nishioka T, Luo H, Eigler NL, Berglund H, Kim CJ, Siegel RJ. Contribution of inadequate compensatory enlargement to development of human coronary artery stenosis: an in vivo intravascular ultrasound study. *J Am Coll Cardiol.* 1996;27:1571-6.

O'Rourke MF, Safar ME. Relationship between aortic stiffening and microvascular disease in brain and kidney: cause and logic of therapy. *Hypertension.* 2005;46:200-4.

O'Rourke MF, Hashimoto J. Mechanical factors in arterial aging: a clinical perspective. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50:1-13.

Oguntebi BR, Stafford DS, Cerda J, Robbins F. Vascular changes in the dental pulp in the hypercholesterolemic miniature swine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1992;74:351-6.

Oguzkurt L, Kizilkilic O, Tercan F, Turkoz R, Yildirim T. Vertebrocarotid collateral in extracranial carotid artery occlusions: digital subtraction angiography findings. *Eur J Radiol.* 2005;53:168-74.

Olgart L. Neural control of pulpal blood flow. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1996;7:159-71.

Oneda B, Forjaz CL, Bernardo FR, Araujo TG, Gusmao JL, Labes E, i sar. Low-dose estrogen therapy does not change postexercise hypotension, sympathetic nerve activity reduction, and vasodilation in healthy postmenopausal women. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;295:H1802-8.

Osborne AG. Diagnostic cerebral angiography. 2nd ed. Philadelphia: Lippincot Williams and Wilkons; 1999.

Owens JF, Stoney CM, Matthews KA. Menopausal status influences ambulatory blood pressure levels and blood pressure changes during mental stress. *Circulation*. 1993;88:2794-802.

Pasterkamp G, Wensing PJ, Post MJ, Hillen B, Mali WP, Borst C. Paradoxical arterial wall shrinkage may contribute to luminal narrowing of human atherosclerotic femoral arteries. *Circulation*. 1995;91:1444-9.

Pasterkamp G, Galis ZS, de Kleijn DP. Expansive arterial remodeling: location, location, location. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:650-7.

Pretre R, Kalangos A, Bednarkiewicz M, Bruschweiler I, Faidutti B. Reversed flow in the internal carotid artery after occlusion of the common carotid artery. *Thorac Cardiovasc Surg*. 1994;42:358-60.

Raab WH, Magerl W, Muller H. Changes in dental blood flow following electrical tooth pulp stimulation--influences of capsaicin and guanethidine. *Agents Actions*. 1988;25:237-9.

Raine-Fenning NJ, Campbell BK, Kendall NR, Clewes JS, Johnson IR. Quantifying the changes in endometrial vascularity throughout the normal menstrual cycle with three-dimensional power Doppler angiography. *Hum Reprod*. 2004;19:330-8.

Reis SE, Gloth ST, Blumenthal RS, Resar JR, Zacur HA, Gerstenblith G, et al. Ethinyl estradiol acutely attenuates abnormal coronary vasomotor responses to acetylcholine in postmenopausal women. *Circulation*. 1994;89:52-60.

Rifici VA, Khachadurian AK. The inhibition of low-density lipoprotein oxidation by 17-beta estradiol. *Metabolism*. 1992;41:1110-4.

Riva CE, Geiser M, Petrig BL. Ocular blood flow assessment using continuous laser Doppler flowmetry. *Acta Ophthalmol*. 2010;88:622-9.

Rodd HD, Boissonade FM. Immunocytochemical investigation of neurovascular relationships in human tooth pulp. *J Anat*. 2003;202:195-203.

Rossi M, Ricco R, Carpi A. Spectral analysis of skin laser Doppler blood perfusion signal during cutaneous hyperemia in response to acetylcholine iontophoresis and ischemia in normal subjects. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2004;31:303-10.

Rossi M, Bertuglia S, Varanini M, Giusti A, Santoro G, Carpi A. Generalised wavelet analysis of cutaneous flowmotion during post-occlusive reactive hyperaemia in patients with peripheral arterial obstructive disease. *Biomed Pharmacother.* 2005;59:233-9.

Rossi M, Carpi A, Di Maria C, Galetta F, Santoro G. Spectral analysis of laser Doppler skin blood flow oscillations in human essential arterial hypertension. *Microvasc Res.* 2006;72:34-41.

Rossi M, Carpi A, Di Maria C, Galetta F, Santoro G. Absent post-ischemic increase of blood flowmotion in the cutaneous microcirculation of healthy chronic cigarette smokers. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2007;36:163-71.

Rossi M, Bazzichi L, Di Maria C, Franzoni F, Raimo K, Della Rossa A, i sar. Blunted increase of digital skin vasomotion following acetylcholine and sodium nitroprusside iontophoresis in systemic sclerosis patients. *Rheumatology (Oxford).* 2008a;47:1012-7.

Rossi M, Carpi A, Galetta F, Franzoni F, Santoro G. Skin vasomotion investigation: a useful tool for clinical evaluation of microvascular endothelial function? *Biomed Pharmacother.* 2008b;62:541-5.

Rossi M, Cupisti A, Di Maria C, Galetta F, Barsotti G, Santoro G. Blunted post-ischemic increase of the endothelial skin blood flowmotion component as early sign of endothelial dysfunction in chronic kidney disease patients. *Microvasc Res.* 2008c;75:315-22.

Rossi M, Di Maria C, Erba P, Galetta F, Carpi A, Santoro G. Study of skin vasomotion during phollicular and luteal phase in young healthy women. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2009;42:107-15.

Russell KS, Haynes MP, Sinha D, Clerisme E, Bender JR. Human vascular endothelial cells contain membrane binding sites for estradiol, which mediate rapid intracellular signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97:5930-5.

Saab PG, Matthews KA, Stoney CM, McDonald RH. Premenopausal and postmenopausal women differ in their cardiovascular and neuroendocrine responses to behavioral stressors. *Psychophysiology.* 1989;26:270-80.

Saad AY. Regressive changes of the dental pulp complex in retained primary molars with congenitally missing successor teeth. *J Clin Pediatr Dent.* 1997;22:63-7.

Safar ME. Peripheral pulse pressure, large arteries, and microvessels. *Hypertension*. 2004;44:121-2.

Salhotra S, Arora S, Anubhuti, Trivedi SS, Bhattacharjee J. Influence of menopause on biochemical markers of endothelial dysfunction-A case-control pilot study in North Indian population. *Maturitas*. 2009;62:166-70.

Sano Y, Ikawa M, Sugawara J, Horiuchi H, Mitani H. The effect of continuous intrusive force on human pulpal blood flow. *Eur J Orthod*. 2002;24:159-66.

Sato M, Harada K, Okada Y, Omura K. Blood-flow change and recovery of sensibility in the maxillary dental pulp after a single-segment Le Fort I osteotomy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003;95:660-4.

Savva E, Sztajzel R, Landis T, Perren F. Reversed flow in the external carotid artery despite a patent but stenosed common carotid artery. *J Neuroimaging*. 2010;20:187-8.

Schmiedel O, Schroeter ML, Harvey JN. Microalbuminuria in Type 2 diabetes indicates impaired microvascular vasomotion and perfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;293:H3424-31.

Schofield I, Malik R, Izzard A, Austin C, Heagerty A. Vascular structural and functional changes in type 2 diabetes mellitus: evidence for the roles of abnormal myogenic responsiveness and dyslipidemia. *Circulation*. 2002;106:3037-43.

Schoning M, Walter J, Scheel P. Estimation of cerebral blood flow through color duplex sonography of the carotid and vertebral arteries in healthy adults. *Stroke*. 1994;25:17-22.

Schoning M, Hartig B. Age dependence of total cerebral blood flow volume from childhood to adulthood. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1996;16:827-33.

Schoning M, Hartig B. The development of hemodynamics in the extracranial carotid and vertebral arteries. *Ultrasound Med Biol*. 1998;24:655-62.

Seltzer S, Benders IB. *The dental pulp*. Chicago: Quintessence Publishing Co, Inc; 2002.

Shifren JL, Rifai N, Desindes S, McIlwain M, Doros G, Mazer NA. A comparison of the short-term effects of oral conjugated equine estrogens versus transdermal estradiol on C-reactive protein, other serum markers of inflammation, and

other hepatic proteins in naturally menopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:1702-10.

Shiogai Y, Stefanovska A, McClintock PV. Nonlinear dynamics of cardiovascular ageing. *Phys Rep.* 2010;488:51-110.

Shughrue PJ, Lane MV, Merchenthaler I. Comparative distribution of estrogen receptor-alpha and -beta mRNA in the rat central nervous system. *J Comp Neurol.* 1997;388:507-25.

Sitia S, Tomasoni L, Atzeni F, Ambrosio G, Cordiano C, Catapano A, et al. From endothelial dysfunction to atherosclerosis. *Autoimmun Rev.* 2010;9:830-4.

Slopien R, Junik R, Meczekalski B, Halerz-Nowakowska B, Maciejewska M, Warenik-Szymankiewicz A, et al. Influence of hormonal replacement therapy on the regional cerebral blood flow in postmenopausal women. *Maturitas.* 2003;46:255-62.

Smit JM, Zeebregts CJ, Acosta R, Werker PM. Advancements in free flap monitoring in the last decade: a critical review. *Plast Reconstr Surg.* 2010;125:177-85.

Soderstrom T, Stefanovska A, Veber M, Svensson H. Involvement of sympathetic nerve activity in skin blood flow oscillations in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;284:H1638-46.

Solheim T. Amount of secondary dentin as an indicator of age. *Scand J Dent Res.* 1992;100:193-9.

St-Pierre J, Drori S, Uldry M, Silvaggi JM, Rhee J, Jager S, et al. Suppression of reactive oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptional coactivators. *Cell.* 2006;127:397-408.

Stefanovska A, Bračič M. Physics of the human cardiovascular system. *Contemporary Physics.* 1999;40:31-55.

Stefanovska A, Bracic M, Kvernmo HD. Wavelet analysis of oscillations in the peripheral blood circulation measured by laser Doppler technique. *IEEE Trans Biomed Eng.* 1999;46:1230-9.

Stein JH, Douglas PS, Srinivasan SR, Bond MG, Tang R, Li S, et al. Distribution and cross-sectional age-related increases of carotid artery intima-media thickness in young adults: the Bogalusa Heart Study. *Stroke.* 2004;35:2782-7.

Sterin-Borda L, Furlan C, Reina S, Orman B, Borda E. Differential signalling pathways involved in cholinceptor-dependent stimulation of nitric oxide isoforms in dental pulp. *Int Endod J.* 2007;40:544-52.

Stewart J, Kohen A, Brouder D, Rahim F, Adler S, Garrick R, et al. Noninvasive interrogation of microvasculature for signs of endothelial dysfunction in patients with chronic renal failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;287:H2687-96.

Stirone C, Chu Y, Sunday L, Duckles SP, Krause DN. 17 Beta-estradiol increases endothelial nitric oxide synthase mRNA copy number in cerebral blood vessels: quantification by real-time polymerase chain reaction. *Eur J Pharmacol.* 2003;478:35-8.

Stirone C, Boroujerdi A, Duckles SP, Krause DN. Estrogen receptor activation of phosphoinositide-3 kinase, akt, and nitric oxide signaling in cerebral blood vessels: rapid and long-term effects. *Mol Pharmacol.* 2005a;67:105-13.

Stirone C, Duckles SP, Krause DN, Procaccio V. Estrogen increases mitochondrial efficiency and reduces oxidative stress in cerebral blood vessels. *Mol Pharmacol.* 2005b;68:959-65.

Strehlow K, Werner N, Berweiler J, Link A, Dirnagl U, Priller J, et al. Estrogen increases bone marrow-derived endothelial progenitor cell production and diminishes neointima formation. *Circulation.* 2003;107:3059-65.

Strobl H, Emshoff I, Bertram S, Emshoff R. Laser Doppler flow investigation of fractured permanent maxillary incisors. *J Oral Rehabil.* 2004;31:23-8.

Strobl H, Moschen I, Emshoff I, Emshoff R. Effect of luxation type on pulpal blood flow measurements: a long-term follow-up of luxated permanent maxillary incisors. *J Oral Rehabil.* 2005;32:260-5.

Suzuki T, Moriyama T, Moriwaki H, Yagihashi A, Yajima N, Takahashi G. Anomalous artery directly connecting the external and internal carotid arteries. *Ann Anat.* 2000;182:59-63.

Tabata S, Ozaki HS, Nakashima M, Uemura M, Iwamoto H. Innervation of blood vessels in the rat incisor pulp: a scanning electron microscopic and immunoelectron microscopic study. *Anat Rec.* 1998;251:384-91.

Taddei S, Viridis A, Ghiadoni L, Salvetti G, Bernini G, Magagna A, et al. Age-related reduction of NO availability and oxidative stress in humans. *Hypertension*. 2001;38:274-9.

Takahashi K. Changes in the pulpal vasculature during inflammation. *J Endod*. 1990;16:92-7.

Tanaka H, Dinunno FA, Monahan KD, DeSouza CA, Seals DR. Carotid artery wall hypertrophy with age is related to local systolic blood pressure in healthy men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:82-7.

Tonder KH, Naess G. Nervous control of blood flow in the dental pulp in dogs. *Acta Physiol Scand*. 1978;104:13-23.

Tonder KJ. Blood flow and vascular pressure in the dental pulp. Summary. *Acta Odontol Scand*. 1980;38:135-44.

Trivedi RA, Green HA, et al. UK-I, Graves M, Black R, Kirkpatrick PJ, et al. Cerebral haemodynamic disturbances in patients with moderate carotid artery stenosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2005;29:52-7.

Vasan RS, Larson MG, Levy D. Determinants of echocardiographic aortic root size. The Framingham Heart Study. *Circulation*. 1995;91:734-40.

Virmani R, Avolio AP, Mergner WJ, Robinowitz M, Herderick EE, Cornhill JF, et al. Effect of aging on aortic morphology in populations with high and low prevalence of hypertension and atherosclerosis. Comparison between occidental and Chinese communities. *Am J Pathol*. 1991;139:1119-29.

Vongpatanasin W, Tuncel M, Mansour Y, Arbique D, Victor RG. Transdermal estrogen replacement therapy decreases sympathetic activity in postmenopausal women. *Circulation*. 2001;103:2903-8.

Vongsavan N, Matthews B. The vascularity of dental pulp in cats. *J Dent Res*. 1992;71:1913-5.

Weibel J, Fields WS. *Atlas of arteriography in occlusive cerebrovascular disease*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 1969.

Williams JK, Adams MR, Herrington DM, Clarkson TB. Short-term administration of estrogen and vascular responses of atherosclerotic coronary arteries. *J Am Coll Cardiol*. 1992;20:452-7.

Wyss JM, Carlson SH. Effects of hormone replacement therapy on the sympathetic nervous system and blood pressure. *Curr Hypertens Rep.* 2003;5:241-6.

Yamauchi H, Fukuyama H, Fujimoto N, Nabatame H, Kimura J. Significance of low perfusion with increased oxygen extraction fraction in a case of internal carotid artery stenosis. *Stroke.* 1992;23:431-2.

Yoshida S, Ohshima H. Distribution and organization of peripheral capillaries in dental pulp and their relationship to odontoblasts. *Anat Rec.* 1996;245:313-26.

Zanger D, Yang BK, Ardans J, Waclawiw MA, Csako G, Wahl LM, et al. Divergent effects of hormone therapy on serum markers of inflammation in postmenopausal women with coronary artery disease on appropriate medical management. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36:1797-802.

Zegura B, Guzic-Salobir B, Sebestjen M, Keber I. The effect of various menopausal hormone therapies on markers of inflammation, coagulation, fibrinolysis, lipids, and lipoproteins in healthy postmenopausal women. *Menopause.* 2006;13:643-50.

Zhang JQ, Iijima T, Tanaka T. Scanning electron microscopic observation of the vascular wall cells in human dental pulp. *J Endod.* 1993;19:55-8.

Zhang JQ, Nagata K, Iijima T. Scanning electron microscopy and immunohistochemical observations of the vascular nerve plexuses in the dental pulp of rat incisor. *Anat Rec.* 1998;251:214-20.

BIOGRAFIJA

Dr Bojan Dželetović rođen je 1983. godine u Gornjem Milanovcu, gde je završio osnovnu skolu i gimnaziju kao dobitnik diplome Vuk Karadžić. Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu upisao je školske 2002/03. godine a diplomirao oktobra 2007. godine, sa prosečnom ocenom 9,05 (devet 5/100). Kao student bio je autor i koautor više radova nagrađivanih na kongresima studenata medicine i stomatologije (2007, Kopaonik; 2008, Lepenski Vir).

Pripravnički staž obavio je na Stomatološkom fakultetu u Beogradu i novembra 2008. godine položio stručni ispit. Na Kliniku za Bolesti zuba primljen je 2010. godine u zvanje stručnog saradnika u nastavi. Aktivno je uključen u nastavu na predmetima Bolesti zuba pretklinika, Restaurativna odontologija, kao i Pretklinička endodoncija i Endodontologija.

Doktorske studije na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisao je 2008 godine na modulu "Ćelijski i molekularni mehanizmi patogeneze i terapije oralnih oboljenja".

Dr Bojan Dželetović je do sada objavio i saopštio sedam radova, od čega tri u časopisima citiranim u SCI listi. Učestvuje u realizaciji naučnog projekta Ministarstva prosvete i nauke, Republike Srbije, No. 175021. Član je Balkanskog udruženja stomatologa (BASS), Endodontske sekcije SLD.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Бојан Целетовић

број индекса 06/2008

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Утицај животне доби, естрогенског статуса и каротидне атеросклерозе на проток

крви кроз зубну пулпу

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 28.09.2012. године

Бојан Целетовић

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Бојан Целетовић

Број индекса 06/2008

Студијски програм Докторске студије, модул: Ћелијски и молекуларни механизми патогенезе и терапије оралних обољења.

Наслов рада Утицај животне доби, естрогенског статуса и каротидне атеросклерозе на проток крви кроз зубну пулпу

Ментор Проф. др Драгица Стојић

Потписани/а Бојан Целетовић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 28.09.2012.године

Бојан Целетовић

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Утицај животне доби, естрогенског статуса и каротидне атеросклерозе на проток
кроз зубну пулпу

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 28.09.2012.године

