

УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ - СКОПЈЕ

СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - СКОПЈЕ
КЛИНИКА ЗА ДЕТСКА И ПРЕВЕНТИВНА СТОМАТОЛОГИЈА

Беќировиќ Мери

**РЕМИНЕРАЛИЗИРАЧКИ ПОТЕНЦИЈАЛ НА ПЛУНКАТА И
ДЕНТАЛЕН МОРБИДИТЕТ КАЈ МЛАДИТЕ ТРАЈНИ ЗАБИ**

докторска дисертација

Скопје, 1997 година

Универзитет “Св.Кирил И Методиј”
Стоматолошки факултет - Скопје

Клиника за детска и превентивна стоматологија

Беќировиќ Мери

**Реминерализирачки потенцијал на плунката и
дентален морбидитет кај младите трајни заби**

докторска дисертација

Скопје, 1997 година

ментор:

Проф. д-р Миле Царчев

Стоматолошки факултет - Скопје

Членови на рецензиона комисија:

Проф. д-р Мила Мирчева, Стоматолошки факултет - Скопје

Проф. д-р Слобода Џекова-Стојкова, Медицински факултет - Скопје

Проф. д-р Љупка Матовска, Стоматолошки факултет - Скопје

Докторат од областа на стоматолошките науки

Особена чест ми е да изразам посебна благодарност и длабоко почитување за безрезервна и искрена поддршка во изработувањето на овој Труд на проф.д-р Игнатие Богдановски.

За корисните и стручни совети се заблагодарувам на проф.д-р Мила Мирчева.

Особена благодарност му должам на Институтот за медицинска и експериментална биохемија, при Медицински факултет во Скопје, посебно на Асс.д-р Марија Крстевска-Бошковска и Асс д-р Гордана Босилкова, во севкупната реализација на биохемиските и физичко-хемииските истражувања.

Со посебно задоволство исказувам искрена благодарност за несебичната и перманентна помош и соработка од страна на менторот, проф.д-р Миле Царчев, во текот на изработката на дисертацијата.

Истовремено, се заблагодарувам и на сите други кои ми пружија морална поддршка.

АБСТРАКТ

Реминерализирачкиот потенцијал е една од најважните заштитни улоги на плунката за одржување на денталното здравје во детската возраст.

Основен супстрат во реминерализационите и деминерализационите процеси претставува забниот емајл.

Со цел да добиеме сопствени сознанија за учеството на некои саливарни компоненти во репараторните, односно деструктивните процеси на емајловата површина, преземавме испитувања кај деца со млади трајни заби кои се поосетливи кон кариес.

Испитувањата беа извршени кај 70 деца, на возраст од 9-12 години со подеднаква полова припадност, строго анамнестички и клинички селектирани: деца без флуор профилакса, кои земаат храна сиромашна со шеќери и имаат добра орална хигиена. Во зависност од денталниот морбидитет истите беа поделени во две групи; I група деца со низок КЕР (0-3), а II група со висок КЕР (>10).

Биохемиските анализи, кои имаа за цел да ја одредат концентрацијата на калциумот и фосфорот, и активноста на алкалната и киселата фосфатаза, беа извршени во плунка добиена по пат на просто извлекување без употреба на стимулатори.

Физичко-хемиските испитувања беа извршени кај серија деца со ортодонтска индикација за екстракција на заби, кои само што еруптирале, *in vivo*, во услови на рандомизиран клинички дизајн. Користејќи ги методите атомска апсорпциона спектрометрија (AAS), рендгенска емисиона спектрометрија (RFS), беспламена (електротермална) атомска апсорпциона спектрометрија (ETAAS) и индуктивно спрегната плазма (ICP), ја одредувавме процентуалната застапеност на калциумот и фосфорот во емајлот, а експериментално го проследивме степенот на

реминерализација користејќи скенинг електронска микроскопија (SEM) во зависност од калциумовото саливарно депо во период од 30 дена после претходно извршена абразија и деминерализација на سماјловите површини.

Добиените резултати ги истакнаа калциумот и алкалната фосфатаза како реминерализирачки фактори, за разлика од фосфорот и киселата фосфатаза кои ја фаворизираат деминерализацијата на смајлот. Процентуалната застапеност на калциум и фосфор во смајлот на младите трајни заби е пониска од истата кај матуриран смајл, а степенот на реминерализација утврдиваме дека е забележително повисок кај деца со повисока концентрација на калциум во плунката. Природниот реминерализирачки потенцијал на плунката е сложен механизам каде остваруваат партиципација не само неорганските туку и органските саливарни компоненти чие генерирање и конкретна улога треба да бидат предмет на понатамошни истражувања.

Клучни зборови: дентален карис, смајл, плунка, калциум, фосфор, алкална фосфатаза, кисела фосфатаза, реминерализација и деминерализација.

SUMMARY

One of the most important roles of the saliva is the remineralization potential in a way to provide the dental health in the childhood.

The essential substance for re and demineralization process is the dental enamel.

Our aim was to get our individual conclusions about the role of some salivary component in the reparative and destructive processes on the enamel surface. We made our examination on children's permanent teeth which are more sensitive on the caries factors.

The examination was made on 70 children, both sexes, anamnesticaly and clinically selected; children without fluor profilaxis, that take low sugar food and have good oral hygiene. Taking in consideration the dental morbidity they were examined in two different groups : I group consisted children with low DMF (0-3) and the II group with high DMF (>10).

The biochemical analysis in the saliva that was got by simple way without any use of stimulators, had to determinate concentration of calcium and phosphor, and to determinate the activity acid phosphatase (ACP) and alkaline phosphatase (ALP).

Physically-chemical analyzes were made on a group of children with ortodonic indication for extraction of the teeth that have been just erupted in vivo in randomized clinical design. Using the method of Atomic Absorption Spectrometry (AAS), X-ray Fluorescence spectrometry automation (XRF), Electothermal Atomic Absorption Spectrometry (ETAAS), and Inductively Coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP) we measured the percentage of Ca and P in the enamel, and experimentally observed the percentage of remineralization using Scanning Electron Microscope (SEM), depending on the calcium's salivary depo in period of 30 days after already made abrasion and demineralization of the enamel's surface.

The conclusion showed that Ca and ALP were main remineralization factors, despite P and ACP that are favourizeing demineralization of the enamel. The percentage of Ca and P in the enamel in the young permanent teeth is lower than the same at the natural enamel, and the degree of remineralization is significantly higher at the children with higher concentration of Ca in the saliva. The natural remineralization potential of the saliva is a complex mechanism where participation is made between inorganic and organic salivary components which concrete role has to be a subject of future examinations.

Key words: dental caries, enamel, saliva, calcium, phosphor, alkaline phosphatase, acid phosphatase, remineralization, demineralization

СОДРЖИНА

ВОВЕД	1
ПРЕДМЕТ И ЦЕЛ НА ДИСЕРТАЦИЈАТА	14
МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ НА РАБОТА	16
1. Клинички испитувања	16
2. Биохемиски испитувања	18
3. Физичко-хемиски испитувања	23
4. Статистичка (компјутерска) обработка на податоци	31
ПРИКАЗ И АНАЛИЗА НА РЕЗУЛТАТИТЕ	35
1. Резултати од клинички испитувања	35
2. Резултати од биохемиски испитувања	37
3. Резултати од физичко-хемиски испитувања	52
ДИСКУСИЈА	61
ЗАКЛУЧОЦИ	74
ЛИТЕРАТУРА	77

КРАТЕНКИ

AAS	Atomic Absorption Spectrometry
ACP	Acid Phosphatase
ALP	Alkaline Phosphatase
Ca	Calcium
ETAAS	Electothermal Atomic Absorption Spectrometry
ICP	Inductively Coupled Plasma atomic emission spectrometry
P	Phosphor
SEM	Scanning Electron Microscope
XRF	X-ray Fluorescence spectrometry automation

ВОВЕД

Забниот карлес претставува локализирана деструкција на тврдите забни ткива, која започнува од површината на забот и во колку не се санира води кон негово целосно уништување.

Проблемот на забниот карлес е основен проблем на стоматолошката наука и пракса, при што борбата против него, неговите компликации и последици, завземаат централно место во современата стоматологија.

Севкупните досегашни стремежи, насочени кон расветлувањето на етиопатогенезата на карлесот, се преточени во над четиристотини теории, но ни една од нив не дава целосен одговор за неговото настанување од што произлегува сè уште актуелниот мултикаузален карактер на забниот карлес.

Меѓутоа во последните неколку години голем акцент се дава на проучувањето на динамичката рамнотежа на процесите на де и реминерализација, кои се одвиваат во површниот слој на سماјлот при што посебно се анострофираат биолошките перформанси на смајлот, присуството на денгалниот плак и неговите метаболити и електролитниот состав на плунката со својата квантитативна застапеност.

Секое проучување на де и реминерализацијата треба да е поврзано со проучувањето на иницијалната кариозна лезија, каде што се одвива главното дејство. Иницијалната, субмикроскопска состојба на лезијата е невидлива. Дури со прогресија на истата се забележува нетранспарентна бела дамка, обично покриена со дентален плак, која со време потемнува што укажува дека лезијата или споро прогредира или е стопирана. "Белината" на почетната емајлова лезија доаѓа од минералниот губиток (50% и повеќе) под површината, додека минералниот недостаток во површинскиот емајлов слој од 20 - 50 микрометри е помал од 5%. Овој слој и покрај тоа што дава клинички "звучен" емајл овозможува киселинска и бактериска пенетрација во лезијата (65).

Емајлот, кој е главниот супстрат на процесите де и реминерализација, всушност е нечист биолошки материјал составен пред сè од разни типови на апатитни кристали (хидроксиапатит, флуорохидроксиапатит и флуороапатит). Во емајловата структура дополнително се среќаваат и други кристални и аморфни форми на калциум и фосфор (дикалциумфосфат дихидрат и октакалциум фосфат).

Емајловите кристали имаат хексагонален облик, кои меѓусобно градат низи, а нивната големина зависи од брзината на нивното настанување, т.е. од брзината на кристализацијата. Кристалите сместени во емајловата призма се во просек 10 пати поголеми од оние на дентинот или коските. Се смета дека тоа е резултат на побавно темпо на развоток.

Релативно големите димензии на емајловите кристали условуваат помала површина на единица тежина на емајл. Ова својство на емајлот е од големо значење, бидејќи со тоа се намалува ретенционата способност на ова ткиво, што е значајно заради отпорноста спрема карисот. Во овие шестоаголни творби, калциумовите јони може да се столбни (влегуваат во состав на столбовите на кристалиниот апатит) и аксијални (сместени се заедно со ОН-групата во внатрешноста на кристалот). Јоните на калциумот меѓусебно градат триаголници со агли од 60° . Фосфорот во кристалот се наоѓа во форма на групата PO_4 , во која самиот фосфор е централно поставен.

Природните емајлови кристали имаат дефицит на калциум и хидроксил јони. Неорганските јони се застапени 95-96% од тежината на емајлот, органскиот дел (1%) е претставен со подеднакви делови на липиди и протеини, а хидратниот слој кој е 3-4% од тежината изнесува 15% од волуменот на емајлот. Забите кои еруптираат се карактеризираат со емајл кој интензивно матурира, така да таквите млади трајни заби се со значително послабо минерализиран емајл, кој поради тоа е карисс нерезистентен.

Со процесите на адсорпција и јонска измена во составот на апатитот може да настанат промени и тоа на ниво на цеговата кристална решетка. Поради негативните и позитивните јони кои се наоѓаат на површината на кристалната решетка, можна е додатна адсорпција и на катјони

и на аниони. Благодарение на тоа постои разновидна обвивка од адсорбираните јони, што условува создавање на хидратационен слој. При локална промена на рН овие јони може да бидат отстранети (десорбирани). Хидратациониот слој ја зголемува емајловата отпорност кон штетни агенси. При негово сушење, побрзо доаѓа до кариозни лезии. Меѓу јоните на апатитот и околната средина можна е јонска измена, така да скоро една третина од јоните од решетката може да биде заменета. Јонската измена може да биде изојонска, која се одвива непрекинато така да калциумот од емајлот се заменува со калциумот од плунката и ткивната течност, и хетеројонска кога калциумот од решетката е заменет со друг катјон (Na^+ , Mg^{2+} , Sr^{2+} , силикон, хидрониум, H_3O^+).

X За одржување и нормална функција на цврстите забни ткива, посебно емајлот, важна улога зема плунката, не само со количината и конзистенцијата, туку и со квантитативната застапеност на нејзините електролити.

Плунката за емајлот според Vulović (94), е исто што е крвта за клетките на организмот: како што крвта на клетките обезбедува храниливи материи, ги отклонува штетните и ги заштитува, така плунката обезбедува слични функции за емајлот.

Мешовитата плунка претставува продукт на секреција на трите пара големи плунковни жлезди (gll. parotis, gll. sublinguales и gll. submandibulares) и многубројни мали плунковни жлезди сместени во

оралната лигавица, со исклучок на гингивата и слузницата на тврдото неспе. Таа е основен биолошки флуид во усната празнина која е во динамична рамнотежа со оралните ткива, со цел да се очува интегритетот, како на меките така и на тврдите ткива. Квалитативниот состав на плунката е претежно константен, додека во квантитативен поглед, како органскиот, така и неорганскиот саливарен дел, покажува прилично големи варијации. Во неорганскиот дел спаѓаат водата и електролитите, а органскиот дел е претставен пред сè од глико и фосфопротеини.

Главни фактори од кои зависи квантитативната застапеност на саливарните елементи пред сè се: видот на саливарната секреција (мешовита или изолирана секреција на поедини саливарни жлезди), брзината на саливарна секреција (стимулирана или нестимулирана плунка), времето во текот на денот и староста.

Големите варијации кај овие причинители даваат негативни реперкусии во основните функции на саливарниот секрет во обезбедување на мукозно-емајловата бариера преку растворувањата, пуферската и заштитната улога (2, 3, 4).

Хипосаливацијата, која често настанува во човековиот организам како последица на фебрилни состојби, пролонгирани дијареи, анемии, хиповитаминози А и В и употреба на лекови кои содржат атропин кој делува на холинергичките парасимпатикусни нерви, ја придружува висока кариес инциденца. Саливарниот секрет во својата електролитна

композиција покажува сличности со ултрафилтратот од плазмата. Главните електролити се K, Na, Cl, Ca, бикарбонати и аноргански фосфати. Останатите електролити присутни во пониска концентрација од 1 mmol се флуоридите, сулфати, тиоцијанат, јодиди и магнезиум.

Варијациите во бикарбонатната концентрација се водечки детерминанти за саливарниот pH (85%) и истите најповеќе се трошат после конзумацијата на јаглени хидрати проследено со пад на pH. Саливарните протеини имаат занемарлива пуферска улога, а фосфатниот пуфер е релативно неефикасен, бидејќи при засилена секреција на плунката концентрацијата на фосфатите се намалува, за разлика од бикарбонатите, каде е обратно.

Така во нестимулирана плунка бикарбонатите се застапени со 1 mmol, а кај максималната секреција, нивната концентрација расте и до 60 mmol (25). При варијациите на pH, варира и количината на адсорбираните натриумови јони кои обезбедуваат резервоар на површината на хидроксиапатитот: при ацидоза тој се намалува, а при алкалоза се зголемува.

Од макроелементите доминантно место заземаат калциумот и фосфорот. Во нормални услови плунката е презаситена со калциум и фосфати, кои се главни минерали на емајлот, па затоа Silverstone (83) и Shanon (81) плунката ја сметаат за емајл во течен облик. Калциумот и фосфорот во саливата егзистираат во јонизирана и нејонизирана форма.

Некои од јоните се врзани во макромолекули, а некои егзистираат како аноргански делови од комплекси како CaHPO_4 или CaHCO_3 . Во "resting" салива околу 80% од калциумот е во јонизирана форма. Активноста на саливарните јони зависи од јонизирачката сила на саливарната циркулација која е условена од концентрациите на сите јони во саливата, а пред сè на калциумовите, фосфорните и хидроксил јоните (70). Според Симоновски (84) овие саливарни макроеlementи се во корелација со пародонталната болест.

Испитувањата на Arends (5), Gao (30), и Rolla (77) укажуваат дека саливарното ниво на калциум и фосфор влијае на репараторните механизми на емајловата површина, ја поттикнуваат реминерализацијата или обратно, ја фаворизираат деминерализацијата. Здравниот емајл, иако во време на ерупција е добро минерализиран (но не целосно), под дејство на хемиски промени може да претрпи пореметувања во созревањето, кое според Allan (1) е континуиран процес на одржување на динамична јонска измена помеѓу пеликулата, плакот, оралните течности и површината на емајлот и обратно. Нарушувањето на минерализацијата резултира со деминерализациони фази на емајловата површина, која е покриена со плаки, кои продуцирајќи киселини, доведуваат до карис. Карис протективниот ефект на макроеlementите е особено значаен за младите трајни заби со сè уште незавршена матурација, кога забот е повеќе

предиспониран кон карнес, заради неговата послаба неорганска структура.

Постојат свидентни докази дека за време на покасниот стадиум од емајловото формирање (матурација) различна е количината на солубилните протеини и водата од органскиот матрикс. Самата калцификација (минерализација) потекнува од две фази:

- *иницијална*, кога секој инкремент од органскиот матрикс делумно се минерализира веднаш по неговата депозиција, и
- *секундарна* фаза, која веднаш уследува како "heavy" минерализација, и претставува позначајна, поизразена калцификација.

Оваа фаза започнува во емајлодентинската граница и се шири цервикално и периферно низ емајловата површина.

Првоформираните кристали се тенки - 15 Å, за да после втората фаза изнесуваат 250 Å, а матурирани 400 - 1600 Å. Органскиот материјал е точно селектиран за органскиот матрикс, меѓутоа утврдено е дека со емајловата матурација се менува количината на аминокиселините. Во исто време се смета дека настанува парцијална деградација на органскиот матрикс во емајлот преку ангажирањето на хидролитичните ензими. Притоа постојат потенциуми за ензимската дифузија низ периферната зона на младиот емајл, кој сè уште се минерализира, да стигне во подлабоките емајлови зони. За време на матурацијата како што се губат протеините, така растат емајловите кристали. Scott & Symons (80) сметаат

дека органскиот матрикс се однесува како тиксотропичен гел како резултат на притисокот од површините на кристалите кои растат, при што голема концентрација на алкалната фосфатаза за целото време на процесот е присутна во *stratum intermedium*, и истите корелира со калцификацијата на емајлот и синтезата на протеини потребни за изградба на органски матрикс.

Испитувањата за реминерализацијата, датираат уште со ацидогената теорија, предложена од Miller (67) придружени со постојани напори за изнаоѓање на нови материјали за надокнада на минералниот губиток настанат за време на карнозниот процес. Ваквиот приод кон карнес превенцијата многу години беше заноставен, за да од 60-тите години на овој век се повеќе се зголемува интересот за реминерализирачкиот потенцијал на слунката за превенцијата на карнесот.

Најдобар пример за природната реминерализација е 6 годишната студија на Backer - Dirks (6) за постеруптивните промени во денталниот емајл. Испитувањата покажале дека најголем број бели дамки, 51% од вкупно 72 кај 9-годишни деца исчезнале, 36% покажале непроменета состојба, а само 13% прогредирале во карнес. Ненито послаби резултати се добиени, исто после 6 годишно испитување, од Pot и sor. (73): 13% исчезнале, а 50% и понатаму перзистирале.

Исчезнувањето на белите дамки секако дека се должи на реминерализацијата, но таа која пред сè зависи од елиминирањето или редуцирањето на кариес причинителите и надоместување на минералите таму каде се инсуфициентни. Иако реминерализација скоро секогаш се јавува, таа сепак не е целосна, посебно кај длабоки бели дамки, бидејќи јонскиот транспорт во длабочина е лимитиран и телото на лезијата никогаш не е целосно реминерализирано.

Gelhard (33) истражувајќи ги биофизичките и биохемиските процеси во системот смајл-салива констатира дека ниските концентрации на саливарните електролити пред сè Ca, PO₄ и F и нивното континуирано присуство за денталното здравје е од поголемо значење од присуството на истите елементи во повисока концентрација, во пократок временски период.

Современите сфаќања за ефектите на кариес превентивните агенции опфаќаат изучување на двата спротивставени процеси де и реминерализацијата преку лабораториски де и реминерализирачки модели (хемиски или бактериски). Клучен момент кај нив е взаемната меѓусебна интеракција на биолошките процеси, кои ги инволвираат саливарните ензими, при што шанси за игра според Cate (14) во "утакмицата" имаат сите чинители. Меѓутоа, треба да се дискутира и размислува за валидноста на *in vitro* моделите за предвидување на *in vivo* ефекти. Како еден од најоригиналните модели е рН- кружниот модел

на Cate (15) кој трае 16 дена, при што депозицијата и дисолуцијата на минералите во емајлот се следи преку "цикличниот ден" претставен преку 6-те кариогени оброци дневно кои предизвикуваат деминерализација и преку реминерализацијата која се одвива меѓу оброците и за време на "ноќта". Притоа е потребно одвоено мерење на минералниот внес во емајлот за време на реминерализирачките фази и минералниот губиток за време на деминерализирачкиот циклус.

Суптилните биохемиски испитувања опфаќаат и ензимски испитувања. Треба да се нагласи дека ензимите егзистираат и во латентна форма, а под дејство на одредени фактори се активираат или инхибираат. Во групата на најзастапени ензими во плунката спаѓаат: каликреинот, амилазата и лизозимот, меѓутоа во процесите на ре и деминерализацијата се истакнуваат алкалната и киселата фосфатаза. Алкалната фосфатаза е важна компонента кај ткивото во фаза на минерализација, а висока нејзина ензимска активност е регистрирана и во периодонталниот лигамент.

Зголемената активност на алкалната фосфатаза многу повеќе е испитувана кај пародонталната болест и плаковниот флуид (12) или при постекстракционо зараснување (58), отколку нејзината поврзаност со кариесот. Истото се покажува и за киселата фосфатаза, која најчесто се поврзува со воспалително дистрофичните процеси во ткивата.

Del Balso (22) експериментално користејќи ја киселата фосфатаза предизвикал пулпина инфламација, а Karjalainen (54) наоѓа нејзина зголемена активност при иницијални дентински лезии и дентинска депозиција. Одредувајќи ја активноста на алкалната и киселата фосфатаза во мешовита плунка Љубишковиќ (60), нашол нивни зголемени вредности кај пациенти со предиспозиција кон создавање на забен камен. Негативното влијание на киселата фосфатаза и нејзината партиципација во кариес динамиката го потенцира Цветковиќ (20, 21), а Веѓиговиќ (9) утврдува позитивна корелација на киселата фосфатаза со денталниот плак.

Кога зборуваме за настанување на кариозни лезии, зборуваме и за критичен рН. Современите познавањата од областа на неорганска хемија и составот на оралните флуиди покажуваат дека нема специфичен критичен рН, туку дека е битна композицијата на флуидот што ги промива забите. Според законот на "mass action" во солуцијата се покачува нивото на H^+ јони (низок рН), дисолуцијата се акцелерира, се зголемува Ca^{2+} и HPO_4 концентрацијата и дисолуцијата престанува.

Значи во колку саливата поседува поголеми количества на Ca^{2+} и HPO_4 повеќе H^+ јони се потребни за растварање на емајлот. Нормално рН на плаковиот флуид за започнување на деминерализацијата е 5,2 - 5,5, меѓутоа важно е и присуството на други елементи, како на пример

флуорот, бидејќи создадениот флуоропатит е помалку растворлив од хидроксиapatитот, па и понизок рН не го раствара.

Затоа веќе подолго време (последните децении) флуорот егзистира како најважен фактор за реминерализација, применет било ендогено или екзогено. Неговата примена беше, и сè уште е толку фаворизирана и масовна, па поради преголемата и неконтролирана негова употреба се појавуваат и несакани дејства. Поаѓајќи од тоа препорака на последниот FDI Конгрес е: да се намалат досега употребуваните дози на флуор.

Оттука произлегува актуелниот интерес во превентивната стоматологија за преземање на нови суптилни испитувања асоцирани пред сè со биофизичките и биохемиските процеси меѓу емајлот и плунката, а посебно улогата на калциумовото и фосфорното депо, кое претставува природен реминерализирачки потенцијал на плунката.

ПРЕДМЕТ И ЦЕЛ НА ДИСЕРТАЦИЈАТА

Проучувањето на природниот саливарен реминерализирачки потенцијал во детска возраст, кој е и предмет на нашите испитувања е од особено значење за младата популација пред сè поради фактот што понискиот степен на матурација на цврстите забни ткива е една од главните причини за пивната поголема подложност кон карисс афекција.

Мотивирани од досегашните реализирани испитувања и добиени сознанија за учеството на калциумот и фосфорот во репараторните механизми на емајловата површина, а со тоа и инхибитори на процесите на деструкција особено значајни кај младите емајлови површини, си поставивме за цел да ги испитаме истите кај деца со различна карисс инциденција преку:

- реализирање на клиничките испитувања строго насочени кај испитаници со сличен хигиено - диететски режим, со што би го исклучиле нееднаквото влијание на флуорот, шеќерите и денталниот плак врз денталното здравје;

- спроведување на биохемиски анализи на плунката и корелирање на добиените вредности на калциум, фосфор и алкална и кисела фосфатаза со саливарното рН и денталниот морбидитет кај децата од училишна возраст;

- реализирање на физичко - хемиски испитувања на емајловата површина заради:

1) здобивање поегзактни податоци за неорганската застапеност на калциум и фосфор во емајлот на младите трајни заби.

2) анализа на степенот на реминерализација во зависност од саливарното калциумово депо.

Врз база на добиените наоди и сознанија споредени со досегашните констатации на други автори ќе предложиме превентивни мерки, кои пред сè ќе имаат за цел да го подигнат нивото на реминерализирачкиот потенцијал на плунката, посебно кај кариес ризичните групи на пациенти. Тоа според наше мислење би претставувало значаен прилог кон општите стремежи за изнаоѓање на нови средства и методи во превенцијата на забниот кариес кои применети во раната детска возраст додека се одвива постеруптивната матурација на забите, ќе резултираат во повисок процент на редукција на кариесот.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ НА РАБОТА

Реализацијата на поставената цел го насочи истражувањето кон преземање на:

1. Клинички испитувања
2. Биохемиски анализи
3. Физичко - хемиски истражувања
4. Статистичка (компјутерска) обработка на податоци

1. Клинички испитувања

Клиничките испитувања се извршени кај 70 деца на возраст од 9-12 години одбрани меѓу пациентите од Клиниката за детска и превентивна стоматологија - Скопје, после земена исцрпна анамнеза и извршените темелни клинички прегледи.

За испитување беа земени само оние деца кај кои преку анамнестичките податоци установивме дека е исклучена флуор профилакса, земаат храна сиромашна со шеќер и редовно ги мијат забите утврдено преку задоволителното ниво на оралната хигиена. Индексот на оралната хигиена (ОИ) го одредувавме преку квантифицирање на присутните наслаги со помош на симплифицираната метода по Greene-Vermilium (39) според која, со:

0 - го означуваме отсуството на наслаги , со

1 - присуството на наслаги во гингивалната третина на клиничката коронка , со

2 - присуство на наслаги во средната третина , а со

3 - присуството на наслаги во оклузалната т.е инцизалната третина на клиничката коронка

Кај симплифицираниот метод индексот на оралната хигиена (ОНИ-S) се оценуваат само шест површини на шест заби , кои претставуваат репрезентативен примерок за целата дентиција :

16	11	26
<hr/>		
46	31	36

-(вестибуларна површина на : горните први молари , горниот десен централен инцизив и долниот лев централен инцизив ; оралната површина на долните први молари)

Индексот на орална хигиена беше пресметан по следната формула:

$$\text{ОНИ - S} = \frac{\text{СУМА на дијагностицирани забни површини}}{\text{број на оценетите заби}}$$

Со регистрацијата на забниот статус, на дневна светлина со сонда и огледалце, беа дијагностицирани кариозните, екстрахираните, пломбираниите и вкунскиот број на здрави заби.

Врз основа на регистрираната состојба денгалниот морбидитет на забите беше следен преку КЕР индексот

- КЕР = вкупен број на кариозни, екстрахирани и пломбирани заби

- структура на КЕР

К - кариозни

Е - екстрахирани

Р - пломбирани

Z - здрави заби

Според денгалниот морбидитет децата се поделени во две групи со поеднаква застапеност на мајки и женски испитаници за поголема хомогеност на групите. Испитаниците од првата група имаат задоволителен (0-3), додека испитаниците од втората група имаат загрижувачки КЕР (>10).

2. Биохемиски анализи

При биохемиските испитувања како материјал се користеше плунката добиена по пат на просто извлекување без употреба на стимулатори. Плунката земена наутро во посебни конусни спрувети веднаш ја транспортиравме до Институтот за медицинска и

експериментална биохемија при Медицинскиот факултет - Скопје каде
беа извршени следните биохемиски анализи:

1. Одредување на рН на плунката со рН-метар "ISKRA MA 5704"

Плунката се центрифугира 5 минути на 3000 вртежи во минута за да се
исталожат остатоците од храна, разни други партикли и слично.
Центрифугираната плунка се префрла во други специјални кивсти и се
чува во фрижидер на +4°C.

Ензимите, алкална и кисела фосфатаза се работени веднаш откако ќе
се исцентрифутираше плунката заради малата стабилност на ензимите (3
дена). Останатата плунка се чува на -20°C. Седмиот ден се одмрзува и во
неа се одредуваат во серија калциумот и неорганскиот фосфор (на -20°C
калциумот е стабилен 32 недели, а неорганскиот фосфор 10 дена)

2. Концентрацијата на калциумот беше одредувана по методот на Gibitz (35) кој се базира на комплексометриска титрација во присуство на калцеин како индикатор.

Принцип

Индикаторот калцеин во алкална средина со јоните на калциумот
гради темно зелен и силно флуоресцентен комплекс, чија константа на
стабилност е помала од константата на стабилност на комплексот што го
градат јоните на калциумот со ЕДТА (етилендиаминотетраацетат).

Заради тоа при титрација на флуоресцентниот комплекс со ЕДТА истиот се разложува и се создава постабилен комплекс, а флуоресценцијата постепено слабее. Во точката на еквиваленција доаѓа до промена на бојата на растворот во слабо црвено-виолетова, со малку заостаната флуоресценција. Концентрацијата на Са во плунката се изразува во mmol/L.

Постапка

Во кивети се инјектира 0.2 мл плунка, 1.6 мл редестилирана вода, 0.4 мл индикаторска смеша и 0.6 мл патриум хидроксид. Се титрираат со 0.001 М ЕДТА (комплексот III) до губењето на зелената флуоресценција и појава на црвено-виолетова боја.

3. Концентрацијата на фосфорот се определувааше спектрофотометриски по методот на King (53).

Принцип

Неорганскиот фосфор се одредува во филтратот после таложување на протеините со трихлороцетна киселина. Фосфорот реагира со молибден сулфурна киселина при што се претвара во фосфомолибденска киселина, а оваа со додавање на редуктивно средство (хидрохинон) поминува во молибденови оксиди со сина боја. Интензитетот на

обојувањето се мери на црвен филтер. Концентрацијата на P во плунката се изразува во $\mu\text{mol/L}$.

Постапка

Во кивета се пипетира 0.5 мл плунка, 4.5 мл дејонизирана вода и 1.0 мл трихлороцетна киселина. Се остава да стои 5 минути се центрифугира 5 минути на 3000 вртежи во минута и од бистриот супернатант се пипетира во друга кивета 5 мл, се додава 1.0 мл хидрохинон и 1.0 мл молибденсулфурна киселина. После 30 минути се мери апсорбенцијата на црвен филтер.

4. Активноста на алкалната фосфатаза (E.C.3.1.3.1) во плунката по препорака на IFCC (52) се определува кинетичко-колориметриски. Применета е методата препорачана од DGCC (23).

Принцип

Алкалната фосфатаза го разградува p-нитрофенилфосфатот, при што се ослободува p-нитрофосфат на кого континуирано се мери зголемување на апсорбацијата на 405 nm. Концентрацијата на каталитичката активност на алкална фосфатаза во плунката се изразува во U/L.

Постапка

Во кивета се пипетира 1.0 мл од пуферираната супстратна смеса и 0.02 мл плунка. Се меша, се инкубира на 37°C и се мери зголемувањето на апсорбацијата на 405 nm на секоја минута за време од 3 минути во однос на воздухот.

Китовите за одредување на алкалната фосфатаза се производство на Randox, United Kingdom.

5. Активноста на киселата фосфатаза (E.C.3.1.3.2) во плунката ја одредуваме со кинетико - колориметриската метода по Hillmann (48).

Принцип

Киселата фосфатаза го хидролизира натриум алфанафтилфосфатот при pH = 5.5. Ослободениот нафтол реагира со диазониумовата сол на 4-хлоро-о-толуидин при што се создава обоен азопродукт на кој му се мери зголемувањето на апсорбацијата на 405 nm. Концентрацијата на каталитичката активност на кисела фосфатаза во плунката се изразува во U/L.

Постапка

Во кивета се пипетира 1.0 мл од пуферираната супстратна смеса и 0.1 мл плунка. Се меша, се инкубира 5 минути на 37°C и се мери

опремувањето на апсорбацијата на 405 nm на секоја минута за време од 3 минути во однос на воздухот.

Китовите за одредување на киселата фосфатаза се производство на Randox, United Kingdom.

3. Физичко-хемиски испитувања

Физичко-хемиски испитувања на емајлот се извршија кај серија одбрани испитаници, кај кои постоеше ортодонтска индикација за екстракција на премоларите.

3.1. Одредувањето на калциумовата и фосфорната застапеност во емајлот кај 20 деца беше анализирана со атомско апсорциона спектрометрија, рендгенска емисиона спектрометрија и спектрометрија со индуктивно спрегната плазма. Екстрахираните премолари после извршената екстракција беа обработувани со цел да се издвои емајлот. Со остар фисурен дијамантски борер ја одделувавме коронката од коренот на забот, потоа коронката надолжно ја прескувавме. Од двете добиени забни половинки со остар челичен округол борер внимателно го отстранивме дентинот. Така добисните емајлови примероци од секој премолар ги внесувавме во посебни флакончиња, исполнети со физиолошки раствор. Истите беа испратени во лабораторијата на Техничката контрола при Рудници и Железарници - Скопје каде 1 недела се сушени над фосфор пентоксид (P_2O_5) во ексикатор.

I. Определување на содржината на калциум со пламена атомска апсорпциона спектрометрија (AAS).

Определувањето на содржината на калциум е вршено со пламена атомска апсорпциона спектрометрија со атомски апсорпциони спектрометар Perkin Elmer 375.

Резонантното монохроматско зрачење е продуцирано со Lumina Calcium hollow cathode lamp, со јачина на струјата на лампата од 10 mA. Мерења на апсорпцијата на резонантната линија на 422.7 nm од страна на атомите на калциум добиени со атомизација во пламен ацетилен-воздух. Процепот (slit) со кој е ограничена широчината на спектралната апсорпциона линија, изнесуваше 0.7 nm.

За калибрација на инструментот користен е Calcium standard solution од фирмата Merck, No 9943, со почетна концентрација од 1 g/L. Од овој раствор во одмерни тиквици од 100 mL припремени се работни раствори со концентрација од 10 - 100 $\mu\text{g/mL}$. Кон секој од овие раствори додаден е 1 mL раствор на натриум фосфат (Na_2HPO_4) со концентрација 50 $\mu\text{g/mL}$, за симулација на матриксот.

За анализа со атомска апсорпциона спектрометрија, 0.1 g проба од забена емајл е топена на 1000°C со натриум тетраборат, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$. Стопената маса е растварана во 50 mL 20 % хлороводородна киселина. По комплетното растварање, растворот е префрлен во одмерна тиквица од 100 mL. 10 mL од овој раствор се разредени во одмерна тиквица од 100 mL со 5 % хлороводородна киселина, со што е припремен работен раствор.

II. Определување на содржината на калциум со рендгенска емисиона спектрометрија (XRF).

За потврдување на точноста на определувањето на калциумот со атомска апсорпциона спектрометрија, по препорака на Erhardt (26) истите проби се анализирани со рендгенски флуоресцентен спектрометар ARL 72000 во Техничка контрола при Рудници и железарница Скопје, со рендгенска цевка со анода од родиум. Анализата е вршена со мерење на интензитетот на рендгенското флуоресцентно зрачење на калциумовата $K\alpha$ линија, ексцитирана при напонот на рендгенската цевка од 50 kV и јачина на струјата од 40 mA.

Пробата е припремена со топење со литиум тетраборат ($Li_2B_4O_7$) во однос 1:50 (0.2 g проба и 10 g $Li_2B_4O_7$) во муфолна печка на 1100 C^o за време од 15 минути, во лонче од платина, легирано со 5 % злато. По топењето, масата е излеана во калап од платина, со што е добиен диск со дебелина 3 mm и пречник 35 mm. Овака припремената проба е излагана во спектрометарот на рендгенско зрачење од рендгенската цевка за време од 30 секунди. Карактеристичното зрачење на калциумот, ексцитирано на овој начин, е одвоено од останатото рендгенско зрачење со монохроматор со кристал од LiF, и детектирано со сцинтилационен детектор.

За пресметување на содржината на калциумот во анализираниите проби, користена е калибрациона крива конструирана со помош на

интернационални референтни материјали од минерални сировини (NBS 633, BCS 174/1, BCS 381, SARM 32)

III. Определување на содржината на фосфор со беспламена (електротермална) атомска апсорпциона спектрометрија (ETAAS).

Определувањето на содржината на фосфор е вршено со беспламена атомска апсорпциона спектрометрија со атомски апсорпциони спектрометар Varian 640 со Zeeman-ов коректор. Мерсњата се извршени во Институтот за хемија при Природно-математичкиот факултет во Скопје.

Резонантното монохроматско зрачење е продуцирано со Varian Phosphorus hollow cathode lamp, со јачина на струјата на лампата од 35 mA. Мерена е апсорпцијата на резонантната линија на 213.6 nm. Проценот (slit) со кој е ограничена широчината на спектралната апсорпциона линија, изнесување 0.2 nm. Користена е графитна кивета обложена со паладиум. Времето на сушењето на растворот изнесуваше 45 секунди, на температура од 90 C⁰, и 10 секунди на температура од 105 C⁰. Температурата на жарењето изнесување 800 C⁰, а температурата на атомизацијата 2100 C⁰, за време од 3 секунди.

За калибрација на инструментот користен е Phosphate standard solution од фирмата Merck, No 9870, со почетна концентрација од 0.326 mg P/mL. Од овој раствор во одмерни тиквици од 100 mL припремени се

работни раствори со концентрација од 15 - 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Кон секој од овие раствори додаден е 1 mL раствор на калциум хлорид (CaCl_2) со концентрација 50 $\mu\text{g Ca}/\text{mL}$, за симулација на матрицот.

За анализа со атомска апсорпциона спектрометрија, користени се истите раствори на проби, припремени за анализа на калциум. Од секој раствор, разреден во однос 1:20, земени се со микрошпета 20 μL и внесени во графитната кивета.

IV. Определување на содржината на фосфор со спектрометрија со индуктивно спрегната плазма (ICP).

Заради добивање на попрецизни податоци покрај атомска апсорпциона спектрометрија, пробите се анализирани и со атомски емисиони спектрометар со индуктивно спрегната плазма. Користен е Varian ICP AES Liberty 220, инсталиран на Рударско-геолошки факултет во Штип. Фосфорот е одредуван со мерење на емисионата линија на 213.618 nm. Плазмата е одржувана во стабилен режим со проток на аргон од 16.5 L/min. Фреквенцијата на генераторот изнесува 40.5 MHz. Детекцијата е вршена со Solar Blind R166 фотомултипликатор.

За анализа се користени растворите од пробите припремени за анализа со атомска апсорпциона спектрометрија.

За пресметување на содржината на фосфорот во анализираните проби, конструирана е калибрациона крива со помош на стандардните раствори употребени за определувањето на фосфорот со ETAAS.

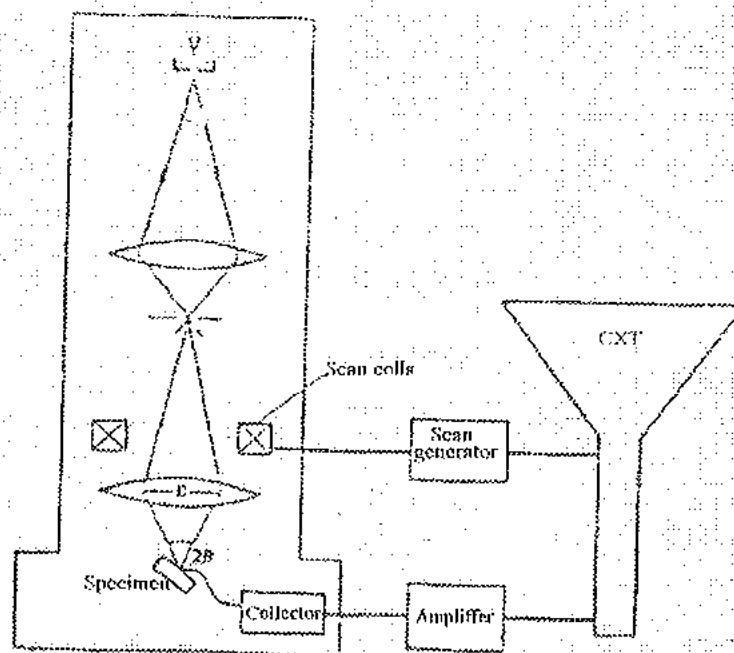
3.2. Кај десет специјално одбрани пациенти : едните со предходно определено ниско , другите со високо калциумово саливарно депо, беше експериментално следен степенот на реминерализацијата, во услови на рандомизиран клинички дизајн. Кај децата кај кои постоеше ортодонтска индикација на два премолаара билатерално поставени , со согласност на ортодонтот, беше извршена одредена постапка на емајловата површина на обата премолаара: деминерализација и абразија со абразивна паста (Parodont) и киселина за нагризување (37% ортофосфорна киселина) во траење од 30 секунди. Веднаш беше екстрахиран едниот премолар , додека другиот го екстрахиравме после 30 дена. Екстрахираните премолари ги внесувавме во специјални флакончиња исполнети со 96% алкохол и ги транспортиравме до Институтот за биомедицински истражувања при Медицинскиот факултет во Ниш , каде беше извршена скенинг електронска микроскопија на примероците. На емајловата површина беше следена и анализирана реминерализацијата после едномесечно делување на саливарниот реминерализирачки потенцијал. На двасетте примероци се вршише дехидратација , сушење , па потоа прекривање со тенок слој злато со методата по Goodhew (37) на вакуумско

напарување (JEOL, JEE 4X) и во апаратот за катодно распрашување →
"sputter" (JEOL, JFC - 1100E) по Goldstein et al (36).

Скенинг електронската микроскопија е работена на скенинг
електронски микроскоп JSM 5300 од јапонската фирма JEOL

Инструментарниум

SEM (Scanning Electron Microscope) употребува W или LaB₆ конец за
да ги снабди електроните со термичка емисија. Тие електрони се тогаш
забрзани заради примерокот кој употребува потенцијална разлика од 2.5 -
50 kV. Електроните се фокусирани од сондата (сонда е електронски зрак
кој содејствува со мал волумен од примерокот) до точка формирајќи леки
систем и се распрскани низ примерокот. Заради ова е наречен Сканирачки
Електронски Микроскоп. Инцидентниот електронски зрак содејствува со
примерокот и повеќе видови сигнали се генерирани. Овие сигнали се
собрани од детектори и излезот од овие е засилен и се употребени да го
модулираат интензитетот на CRT екранот. Четвороаголниот растер е
направен на предниот дел од CRT набљудуваните варијации на јаснотија се
подесени да сигнализираат секоја варијација од точка до точка што ќе се
јави на површината на примерокот.



SEM има два CRT-а: еден за видео презентација со долго перзистирачки фосфор и еден за фотографско снимање со кратко перзистирачки фосфор.

Зголемување

Зголемување во SEM е конечната димензија на сликата поделена со полето сканирано на примерокот, на пример: ако сондата сканира 1mm^2 од примерокот и излезот е прикажан на CRT екран како 100mm^2 зголемувањето е $\times 100$.

4. Статистичка (компјутерска) обработка на податоците

Користен е тестот на значајност на разликите меѓу две пропорции по формулата

$$t = \frac{P_1 - P_2}{S}$$

\bar{P} = пондерирана вредност на процентот

$$\bar{P} = \frac{P_1 \cdot n_1 + P_2 \cdot n_2 + P_3 \cdot n_3 + \dots + P_x \cdot n_x}{n_1 + n_2 + n_3 + \dots + n_x}$$

P_1 = пропорција на обележје на првиот примерок

P_2 = пропорција на обележје на вториот примерок

S = стандардна грешка на разликите

$$S = \sqrt{\frac{P_1 q_1}{n_1} + \frac{P_2 q_2}{n_2}}$$

q_1 = пропорција на случаи без обележје на серијата (n_1)

q_2 = пропорција на случаи без обележје на серијата (n_2)

n_1 = големина на првиот примерок

n_2 = големина на вториот примерок

За секој параметар пресметувани се средните аритметички големина на добиените резултати (\bar{X}), стандардни девијации (SD), стандардни грешки (SE) и сигнификантност на разликите на вредностите, по формулата:

- за средна аритметичка големина

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2 + \dots + X_n}{n}$$

X = индивидуални големини

n = број на случаи

- стандардна девијација (SD), која претставува стандардно отстапување на членовите од серијата во однос на средната аритметичка големина

$$SD = \sqrt{\frac{\sum X^2}{n}}$$

$\sum X^2 = \sum (X_i - \bar{X})^2$ сума на квадратите на индивидуалните отстапувања на секоја вредност од средната големина

- за стандардна грешка (SE), која ги одредува граничните вредности на аритметичката средина

$$SE = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

- сигнификантноста на разликите меѓу вредностите од испитуваната и контролната група е одредувана со помош на "t" вредноста по формулата:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{SE_1^2 + SE_2^2}}$$

- степенот на слобода е одредуван по формулата:

$$dF = n_1 + n_2 - 2$$

Во зависност од степените на слобода (dF) вредностите за "t" се споредуваат од табелата од Fisher и Yates (1942)

Статистички значајни беа земани само оние разлики каде $p < 0.05$.

Меѓусебната зависност меѓу испитуваните параметри, беше одредувана преку коефициентот на корелација (Pearson) по формулата:

$$r = \frac{\sum(d_x \cdot d_y)}{\sqrt{\sum d_x^2 \cdot d_y^2}}$$

$d_x \cdot d_y$ = производ од отстапувањата на поодделните големини на секоја појава од нивната средна големина.

Непараметарската корелација по Spearman (или Spearman-ов коефициент на непараметарска корелација:

$$RO = 1 - \frac{6 \cdot \sum d^2}{n(n^2 - 1)}$$

каде "d" е разлика на рангови и се добива кога од рангот на независно-променливата "x" се одземе рангот на зависно-променливата "y". Ако е $n \geq 9$ потребно е да се направи и дополнителен t-тест по следната формула:

$$t = RO \cdot \sqrt{\frac{n-2}{1-RO^2}}$$

каде бројот на степени на слободата е: $DF = n-2$ и граничните вредности се читаат од таблицата на t-тестот.

За обликот на поврзаноста на двете варијабели кај кои е добиена позитивна или негативна, статистички значајна или високо-значајна корелација се користи регресионата анализа. Општиот облик на поврзаноста е даден со равенката:

$$y = a + bx, a$$

$$b = \frac{SD_{xy}}{SD_x^2}$$

каде SD_x е стандардна девијација на независно-променливата x , а SD_{xy} е коваријанса и се добива од формулата:

$$SD_{xy} = \frac{\sum x \cdot y}{n} - \bar{x} \cdot \bar{y}$$

$\sum xy$ = с збир на производите на x и y

n = с број на испитувани парови

\bar{x} = с аритметичка средина на x

\bar{y} = с аритметичка средина на y

и сега "а" се добива од формулата:

$$a = \bar{y} - b \cdot \bar{x}$$

Резултатите се сметаат за значајни ако с веројатноста на отфрлувањето на нултата хипотеза $0,01 \leq p \leq 0,05$, а за високо-значајни ако $p \leq 0,01$ и за незначајни ако с $p > 0,05$.

Добиените резултати се обработени комјутерски со IBM-PC 586 со статистичка програма на Институтот за социјална медицина, статистика и здравување во здравството при Медицински факултет - Белград. Резултатите се прикажани се табеларно и графички со столпчести и корелациони грами. При целата статистичка обработка на податоците користена е литературата од Radotić (75).

ПРИКАЗ И АНАЛИЗА НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Добиените резултати од клиничките, биохемиските и физичкохемиските испитувања и статистичката обработка на податоците се претставени на соодветни табеларни и графички прикази кои следат.

1. Резултати од клиничките испитувања

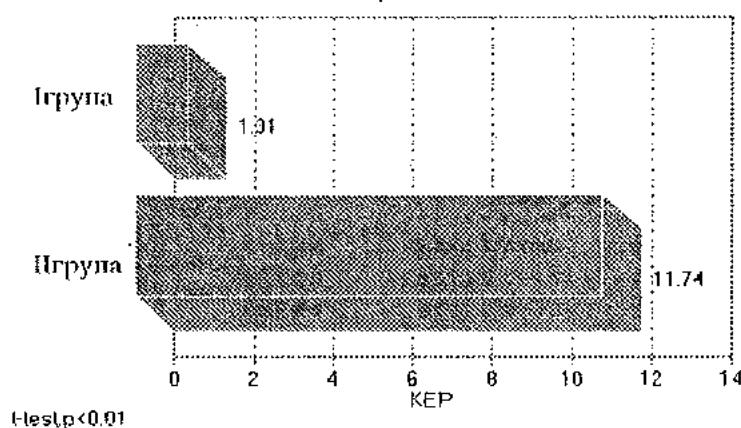
На табела 1 е прикажан вкупниот број на испитаници од двете испитувани групи според возраста и полот. Од истата се забележува дека испитувањата се извршени кај 70 испитаници на возраст од 9 - 12 години со подеднаква полова застапеност за апсолутна хомогеност на групите.

табела 1. Приказ на вкупниот број на испитаници на двете испитувани групи по пол и возраст.

возраст	Група(A)		Група(B)			A-B		n	
	пол		n	пол		n	пол		
	М	Ж		М	Ж		М		Ж
9	4	4	8	4	3	7	8	7	15
10	4	6	10	4	5	9	8	11	19
11	4	5	9	5	5	10	9	10	19
12	5	3	8	5	4	9	10	7	17
n	17	18	35	18	17	35	35	35	70

1.1. Испитувањата беа преземени само кај деца со драстични разлики во КЕР-индексот, што го покажува соодветниот графикон 1.

графикон 1 Разлики во структурата на КЕР-от меѓу двете испитувани групи



За разлика од првата група која ја сочинуваат деца со низок КЕР (0-3), и низок просечен карлес индекс (КЕР=1,31) децата од втората група имаат изразит висок КЕР (>10) и последователно КЕР=11,74.

1.2. Понатамошни истражувања беа преземени само кај оние деца со добра орална хигиена (ОИ-S = 0 - 1) кај двете испитувани групи што го прикажува табела 2.

табела 2. Степен на орална хигиена кај двете испитувани групи

група	n	\bar{x}	t	p
I	35	0,23	0,014	0,986
II	35	0,28		

2. Резултати од биохемиските испитувања

Резултатите од биохемиските испитувања кај двете испитувани групи дадени се на табелите, графиконите и корелациски дијаграми кои следат.

2.1. Анализата на податоците за pH на плунката покажува разлики во висината на добиените средни вредности: во првата група pH = 6,4886, додека во втората група е 6,1486.

табела 3. Разлики во саливарниот pH кај двете испитувани групи

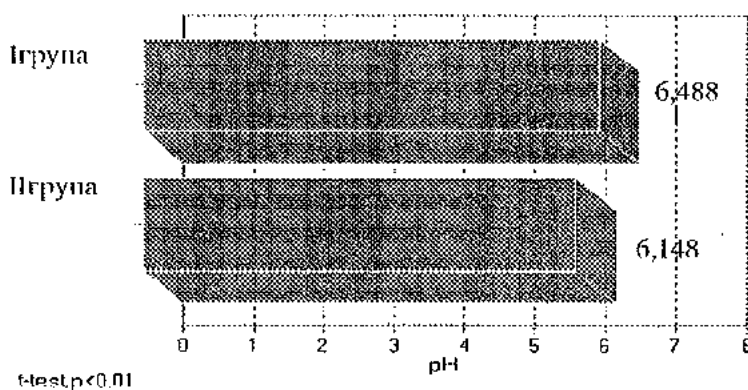
група	n	\bar{x}	SD	SE	t	p
I	35	6,4886	0,197	0,33		
II	35	6,1486	0,131	0,22	8,50	<0,01**

* сигнификантна разлика
 ** високо сигнификантна разлика

Со тестирањето на статистичката значајност на разликите на средните вредности, утврдени се сигнификантни разлики ($t = 8,50$; $p < 0,01$), кои укажуваат на значајно сигнификантно повисок pH кај испитаниците

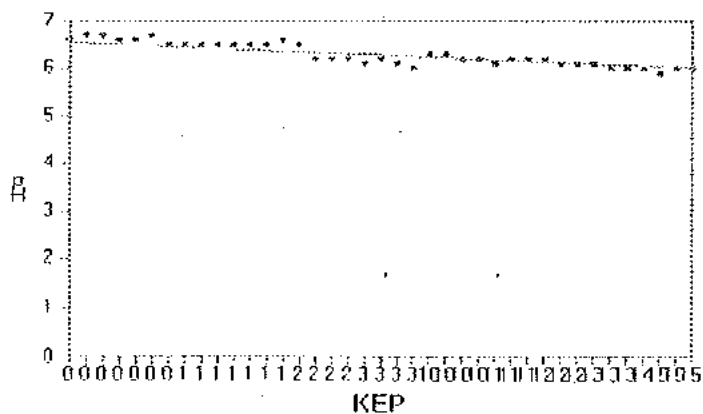
од првата (со низок КЕР) во однос на втората група (со висок КЕР) што може да се види од графичкиот приказ 2.

графикон 2 Висина на саливарниот рН кај двете испитувани групи



Тестот за корелација покажа постоење на негативна меѓусебна зависност меѓу рН на саливата и денталниот морбидитет, ($RO = -0,851$; $p < 0,01$) прикажано на корелациониот дијаграм 1.

дијаграм 1 Корелација меѓу висината на саливарниот рН и вкупниот дентален КЕР



$$RO = -0,851; p < 0,01; y = 6,554 - 0,036x$$

2.2. Резултатите за концентрацијата на саливарниот калциум (Ca) кај двете испитувани групи дадени се на табела 4 и графикон 3.

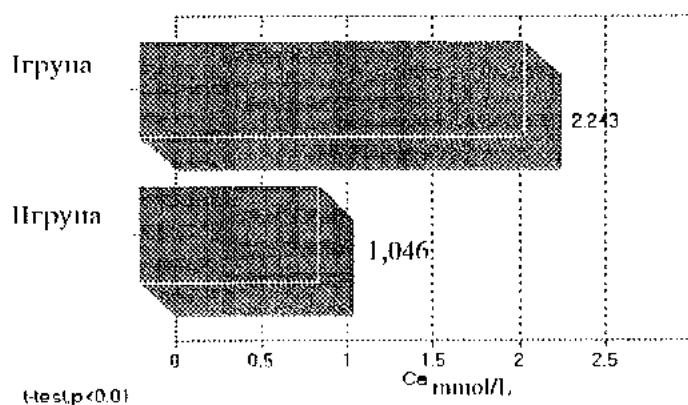
табела 4 Разлики во концентрацијата на саливарниот калциум кај двете испитувани групи

група	n	\bar{x}	SD	SE	t	p
I	35	2,2429	0,639	0,108	9,92	<0,01**
II	35	1,0457	0,318	0,054		

* - сигнификантна разлика

** - високо сигнификантна разлика

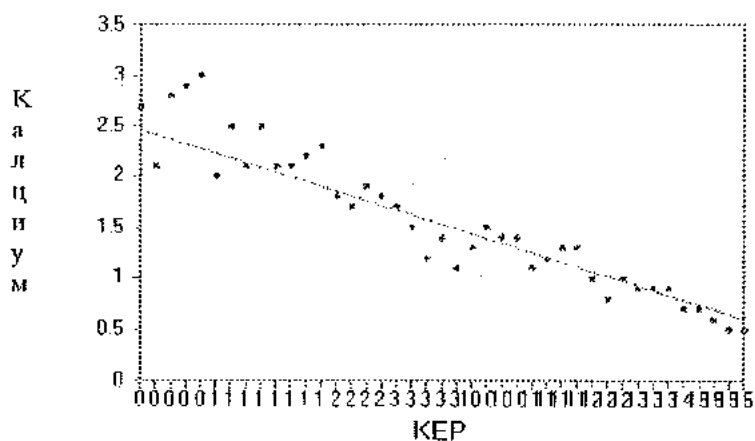
графикон 3 Концентрација на калциум во слунката кај двете испитувани групи



Сигнификантно утврдените разлики во концентрацијата на калциумот ($t = 9,92$; $p < 0,01$) укажуваат на значајно поголемо калциумово саливарно дено кај испитаниците со низок КЕР.

Спроведениот тест на корелација на дијаграмот 2, покажува дека постои високо сигнификантна негативна корелација меѓу концентрацијата на калциум и КЕР-от ($RO = -0,942$; $p < 0,01$).

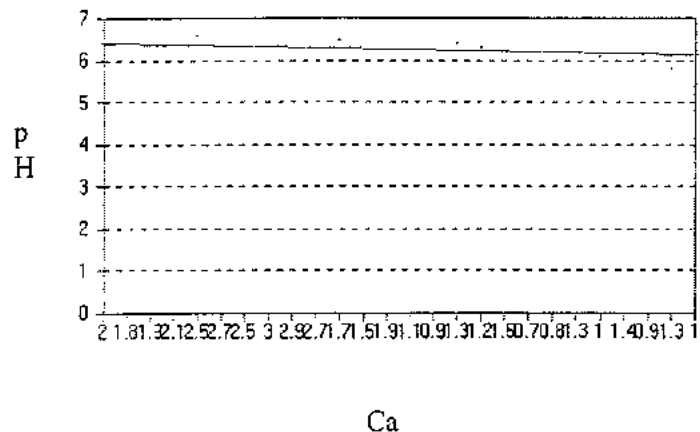
дијаграм 2 Корелација меѓу салварната концентрација на калциум и вкупниот дентален КЕР



$$RO = -0,942; p < 0,01; y = 2,457 - 0,124x$$

На корелациониот дијаграм 3, се гледа дека постои сигнификантна корелација меѓу концентрацијата на калциумот и рН на плунката ($r = 0,9092$; $p < 0,01$).

дијаграм 3 Корелација на концентрацијата на калциумот и висината на рН во плунка



$$r=0.9092; p<0.01; y=5.861-0.279x$$

2.3. Разликите од спектрофотометриските саливарни испитувања за концентрацијата на фосфорот (P) кај двете групи деца, прикажани се на табела 5 и графикон 4.

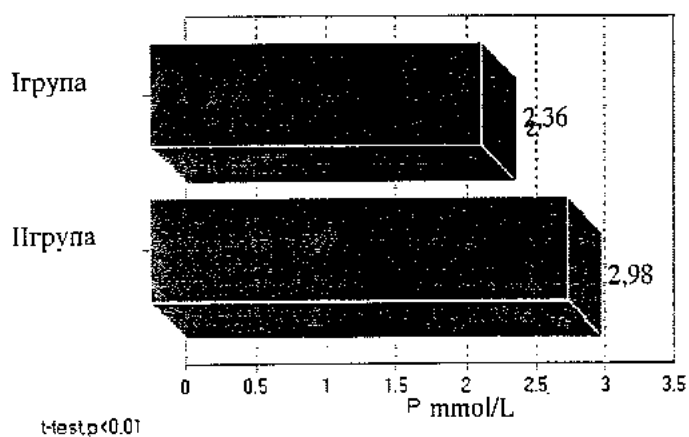
табела 5 Разлики во концентрацијата на саливарниот фосфор кај двете испитувани групи

група	n	\bar{x}	SD	SE	t	p
I	35	2.3600	0.619	0,105	4,13	<0,01**
II	35	2.9829	0.641	0,108		

* - сигнификантна разлика

** - високо сигнификантна разлика

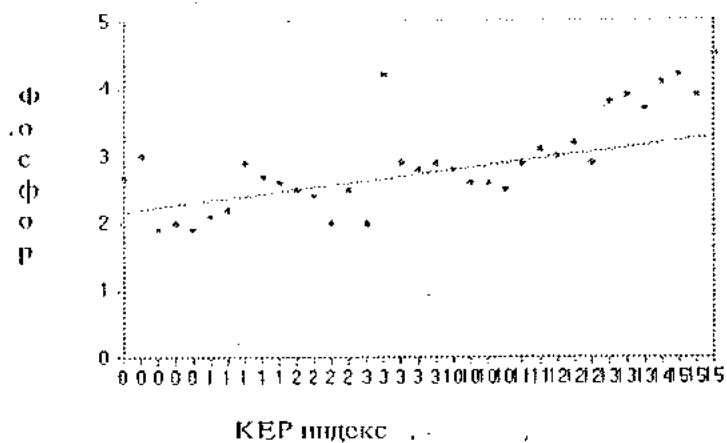
графикон 4 Концентрација на фосфор во плунка кај двете испитувани групи



Утврдени се статистички високо значајни разлики во концентрацијата на саливарниот фосфор меѓу двете групи ($t = 4,13$; $p < 0,01$) при што се уочува значајно поголемо саливарно фосфорно депо во втората група.

Корелационата анализа посочи постоење на високо значајна меѓусебна зависност меѓу концентрацијата на фосфор во саливата и КЕР-от ($RO = 0,66$; $p < 0,01$) прикажана на дијаграмот 4.

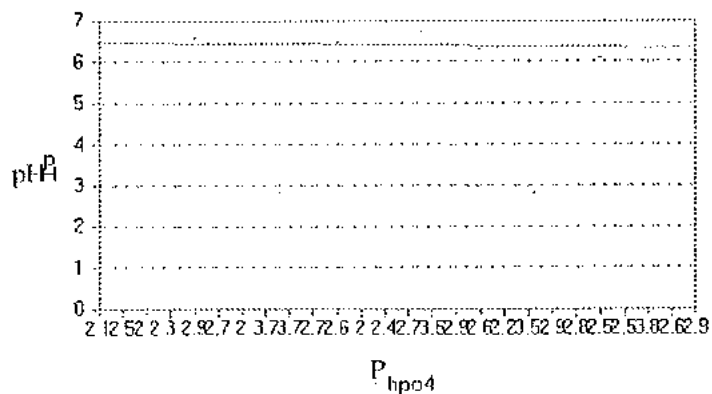
дијаграм 4 Корелација меѓу саливарната концентрација на фосфор и вкупниот дентален КЕР



$$RO = 0,66; p < 0,01; y = 2,185 + 0,074x$$

Корелациониот дијаграм 5 покажува високо негативна значајна корелација ($r = -0,5591$; $p < 0,01$) меѓу саливарниот фосфор и саливарниот рН.

дијаграм 5 Корелација на концентрацијата на фосфор и висина на рН во плунката



$$r = 0,5591; p < 0,01; y = 6,55 - 0,063x$$

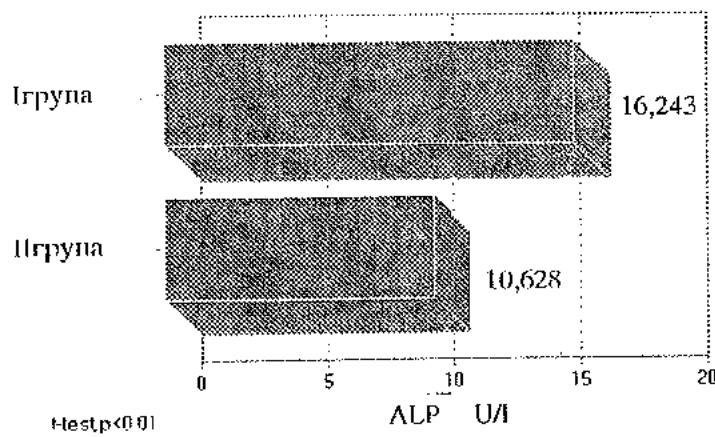
2.4. Добиени резултатите за активноста на алкалната фосфатаза (ALP) во саливата кај двете групи деца прикажени се на табела 6 и соодветниот графикон 5.

табела 6 Разлики во активноста на алкалната фосфатаза во саливата кај двете испитувани групи

група	n	\bar{x}	SD	SE	t	p
I	35	16,2429	1,045	0,177	23,63	<0,01**
II	35	10,6286	0,940	0,159		

* - сигнификантна разлика
 ** - високо сигнификантна разлика

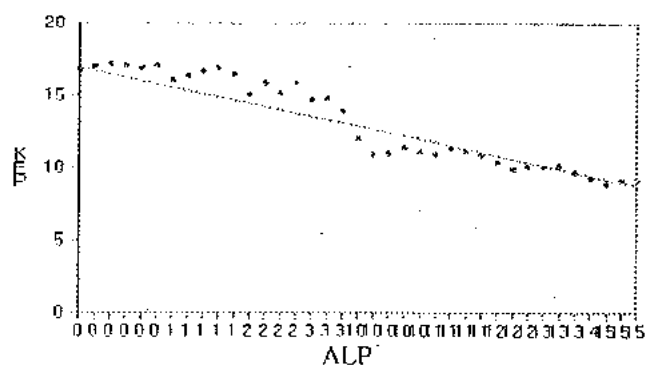
графикон 5 Активност на алкална фосфатаза во слюнка кај двете испитувани групи



Со тестирање на статистичката значајност утврдени се сигнификантни разлики во активноста на ензимот меѓу групите ($t = 23,63$; $p < 0,01$), што зборува за поголема активност на алкалната фосфатаза кај децата со добро дентално здравје.

Спроведениот тест на корелација покажува дека постои високо сигнификантна негативна меѓусебна зависност меѓу активноста на алкалната фосфатаза во саливата и КЕР-от ($RO = -0,956$; $p < 0,01$) што е прикажано на дијаграм 6.

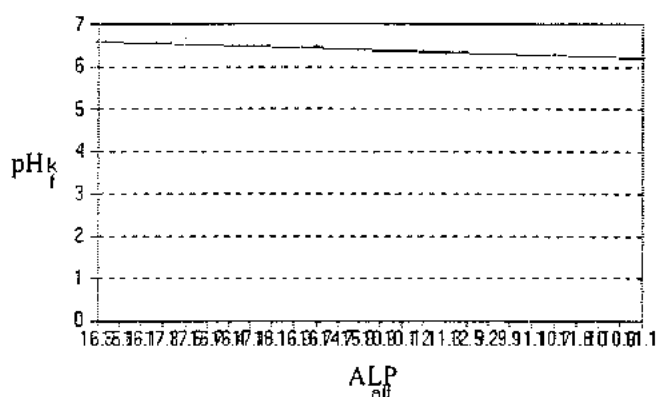
дијаграм 6 Корелација меѓу саливарната активност на алкалната фосфатаза и вкупниот дентален КЕР



$$RO = -0,956; p < 0,01; y = 16,987 - 0,543x$$

Корелационата анализа на дијаграм 7 всушност покажа постоење на високо значајна корелација ($r = 0,8634$; $p < 0,01$) меѓу активноста на алкалната фосфатаза и pH на саливата.

дијаграм 7 Корелација на активност на алкалната фосфатаза и висината на pH во плунаката



$$r = 0.8634; p < 0.01; y = 5.466 + 0.067x$$

2.5. Добиени резултатите за активноста на киселата фосфатаза (ACP) во саливата кај двете групи деца прикажени се на табела 7.

табела 7 Разлики во активноста на киселата фосфатаза во саливата кај двете испитувани групи

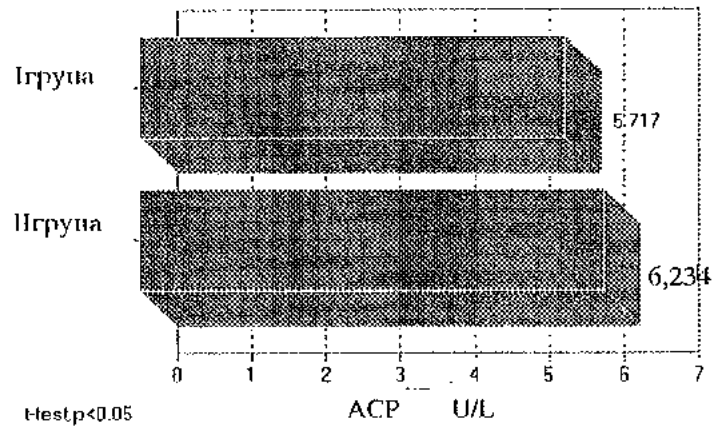
група	n	\bar{x}	SD	SE	t	p
I	35	5,7171	1,023	0,173	2,44	<0.05*
II	35	6.2343	0,723	0,122		

* - сигнификантна разлика

** - високо сигнификантна разлика

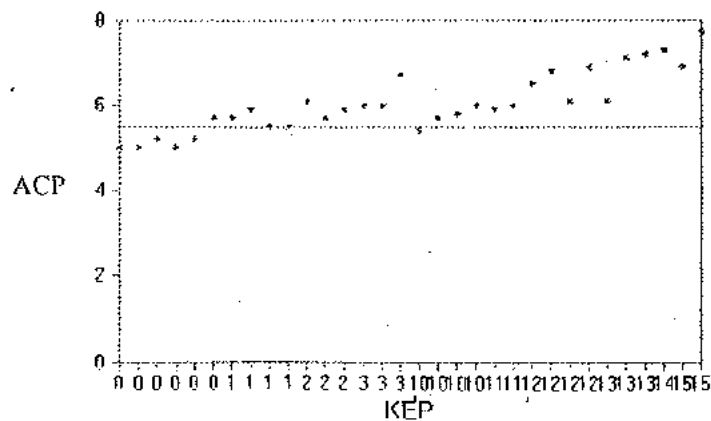
Утврдените сигнификантни разлики за активноста на ензимот меѓу групите ($t = 2.44; p < 0.005$), укажува на поголема активност на ензимот кај децата со висок КЕР што е прикажано и графички.

графикон 6 Активностите на киселата фосфатаза во плунката кај двете испитувани групи



Тестот на корелација покажа постоење на високо значајна корелација меѓу активноста на киселата фосфатаза ($RO = 0,678$; $p < 0,01$) во саливата и КЕР-от кое е видливо на дијаграмот 8.

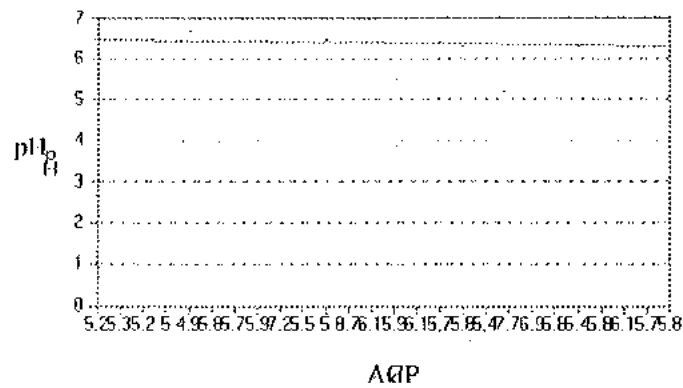
дијаграм 8 Корелација меѓу саливарната активност на киселата фосфатаза и вкупниот денгален КЕР



$$RO = 0,678; p < 0,01; y = 5,49 + 0,074x$$

Корелациониот дијаграм 9 ја покажува високо сигнификантна негативната корелација ($r = -0,7145$; $p < 0,01$) меѓу саливарната кисела фосфатаза и саливарниот pH.

дијаграм 9 Корелација на активност на кисела фосфатаза и висина на pH во слунка

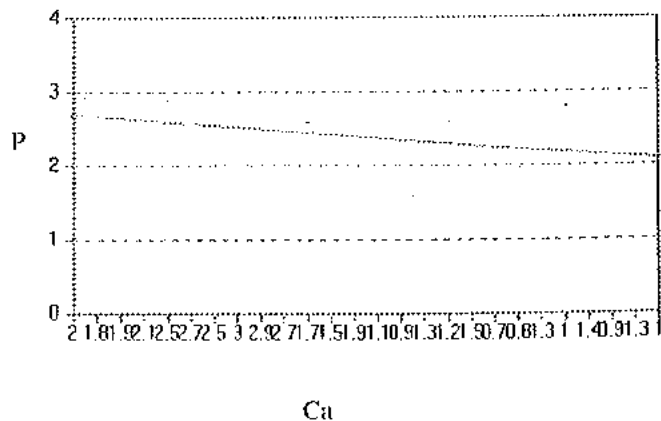


$$r = -0,7145; p < 0,01; y = 7,163 - 0,131x$$

2.6. Корелациона анализа на резултатите од биохемиските испитувања

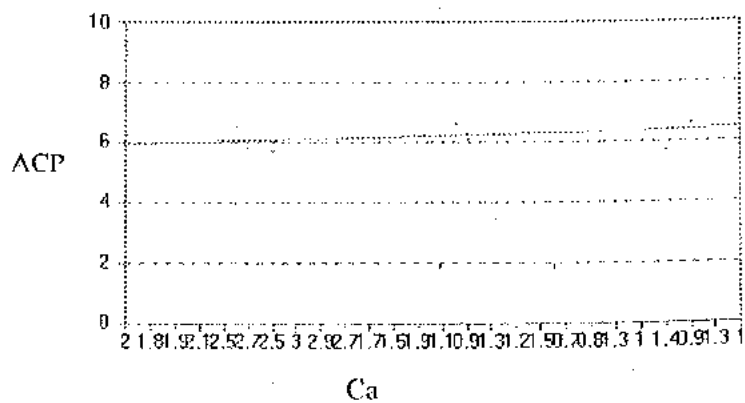
Резултатите од корелационата анализа на двете групи испитаници, кои го даваат степенот на меѓусебната зависност помеѓу следените параметри при биохемиските испитувања во слунката, презентирани се на корелационските дијаграми 10, 11, 12, 13, 14, 15.

дијаграм 10 Корелација на концентрацијата на калциум и фосфор во плунка



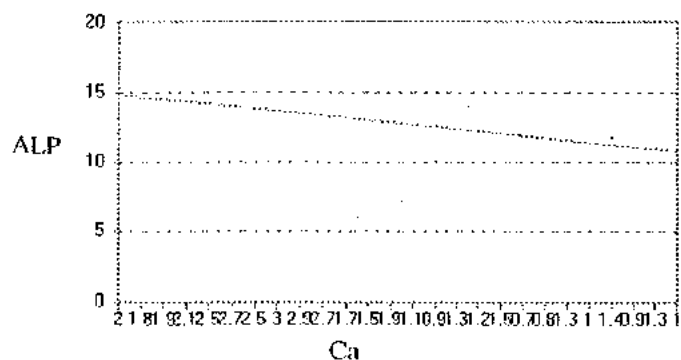
$r = -0,5962; p < 0,01; y = 3,277 - 0,284x$

дијаграм 11 Корелација на концентрацијата на калциум и активноста на кисела фосфатаза во плунка



$r = -0,5738; p < 0,01; y = 3,277 - 0,284x$

дијаграм 12 Корелација на концентрација на калциум и активноста на алкалната фосфатаза во слунката

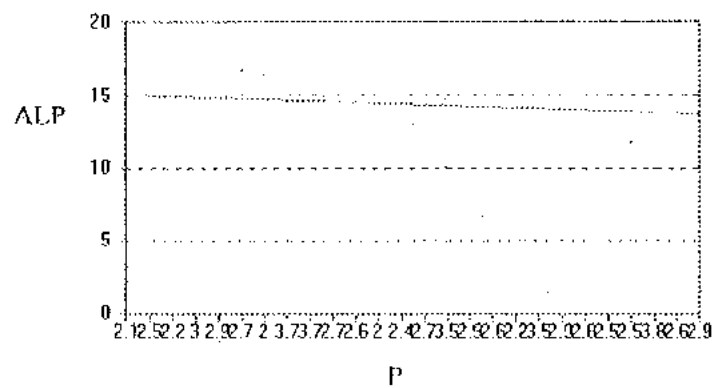


$$r = 0.8972; p < 0.01; y = 6.856 + 3.968x$$

проведениот тест на корелација на дијаграмите 10, 11, 12 покажуваат постоење на високо сигнификантна негативна корелација помеѓу концентрацијата на калциум и фосфор ($r = -0.5962$; $p < 0.01$) и концентрацијата на калциум и кисела фосфатаза ($r = -0.5738$; $p < 0.01$), иако меѓусебната зависност за калциумот и алкалната фосфатаза во слунката е високо позитивна ($r = 0.8972$; $p < 0.01$).

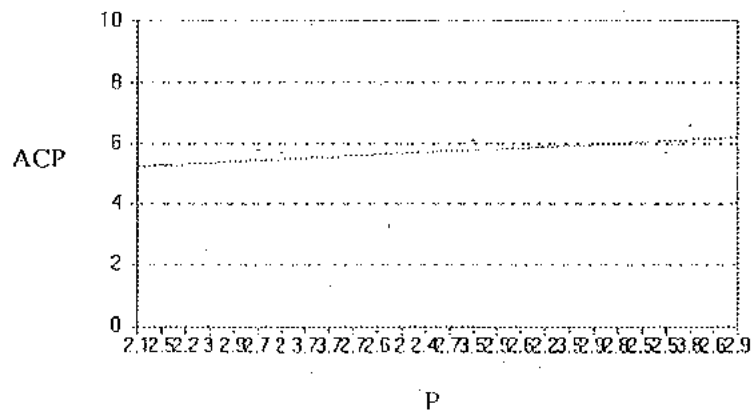
Резултатите за тестот на корелација зборуваат за постоење на висок негативен коефициент на корелација меѓу концентрацијата на фосфор и активноста на алкалната фосфатаза ($r = -0.5828$; $p < 0.01$) и високо позитивен коефициент на корелација помеѓу концентрацијата на фосфор и активноста на киселата фосфатаза во саливата ($r = 0.5668$; $p < 0.01$) прикажано на корелационен дијаграм 13 и 14.

дијаграм 13 Корелација на концентрација на фосфор и активноста на алкалната фосфатаза во плунката



$$r = 0,5828; p < 0,01; y = 19,055 - 1,963x$$

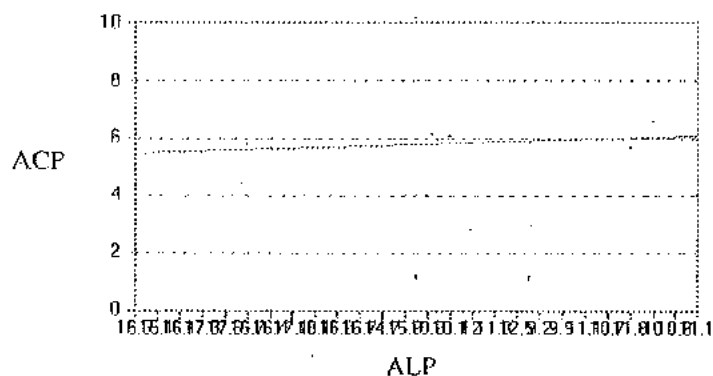
дијаграм 14 Корелација на концентрација на фосфор и активноста на кисела фосфатаза во плунката



$$r = 0,5668; p < 0,01; y = 2,805 + 1,176x$$

Утврдениот коефициент на корелацијата меѓу активноста на алкалната и киселата фосфатаза во саливата ($r = -0,4891$; $p < 0,01$) дадени на дијаграм 15, покажува дека има високо значајна негативна корелација меѓу активноста на двата саливарни ензими.

дијаграм 15 Корелација на активност на алкалната фосфатаза и активноста на кисела фосфатаза во слунката



$$r = -0,4891; p < 0,01; y = 7,432 - 0,115x$$

3. Резултати од физичко-хемиски испитувања

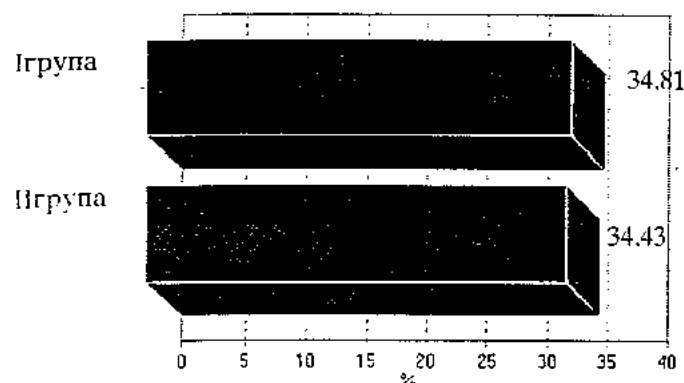
Резултатите од физичко-хемиските испитувања прикажани се табеларно, графички, на корелациони дијаграми и слики.

3.1. На табела 8 и графикон 7 прикажан е масниот удел на калциумот во % во проби од емајл, со пламсена атомска апсорбциона спектрометрија (AAS).

табела 8 Масен удел на Са во проби од емајл добиени со ААС

група	n	%	t	p
I	10	34,8	0,013	0,987
II	10	34,4		

графикон 7 Масен удел на Са²⁺ во проби од емајл добиени со ААС



t-тест за пропорции; $p > 0,05$

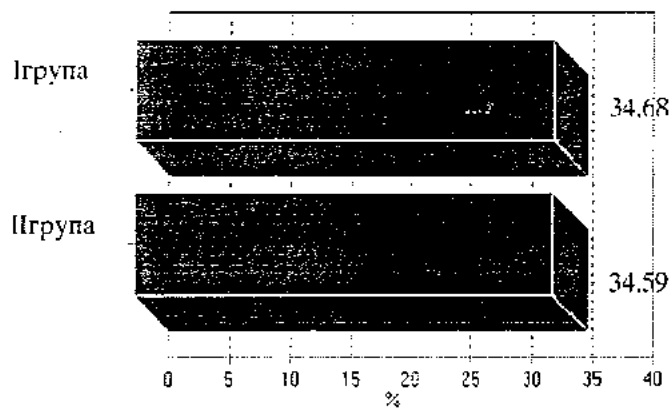
Никакви значајни разлики помеѓу двете групи не се најдени ($t = 0,013$; $p = 0,987$).

Исто така, статистички значајни разлики за процентуалната калциумова застапеност во емајлот меѓу групите утврдена со помош на рентгенска емисиона спектрометрија (XRF) не се евидентирани ($t = 0,03$; $p = 0,993$) табела 9 и графикон 8.

табела 9 Масен удел на Са во проби од емајл добиени со XRF

група	n	%	t	p
I	10	34,6		
II	10	34,5	0,003	0,993

графикон 8 Масен удел на Са²⁺ во проби од емајл добиени со XRF



t-тест за пропорции; $p > 0,05$

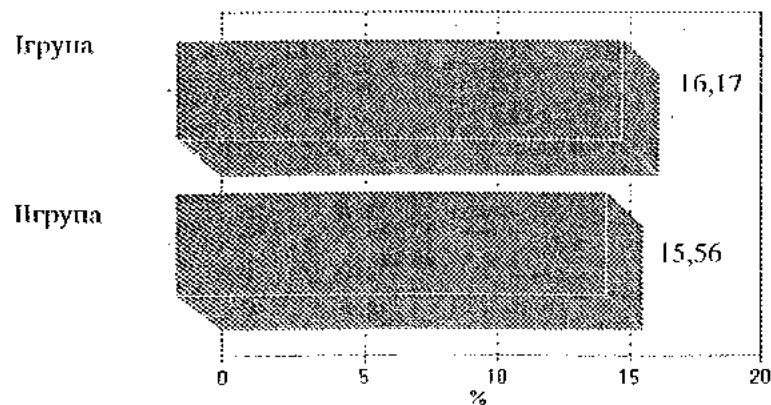
Резултатите за содржината на фосфорот во пробите од емајлот добиени со беспламена електротермална атомска апсорпциона спектрометрија (ETAAS) дадени се на табела 10.

табела 10 Масен удел на Р во проби од емајл добиени со ETAAS

Група	n	%	t	p
I група	10	16,2		
II група	10	15,5	0,030	0,975

Сигнификантни разлики за процентуалната застапеност на фосфор во емајлот меѓу двете испитувани групи не постојат ($t = 0,030$; $p = 0,975$) и е прикажано и графички.

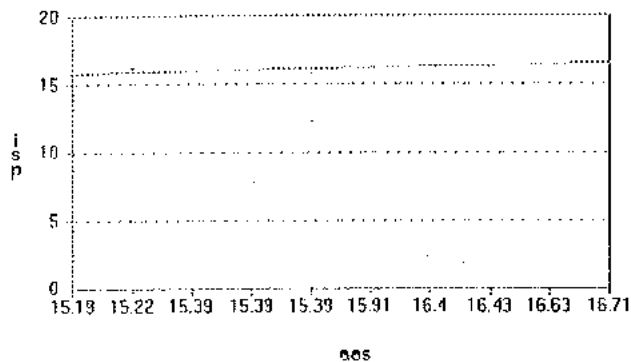
графикон 9 Масен удел на фосфор во проби од емајл добиени со ETAAS



t-тест за пропорции; $p > 0,05$

Податоците добиени за масниот удел на фосфорот во емајлот преку употребувана метода - спектрометрија со индуктивна спрегната плазма (ICP), дадени се на табела 11.

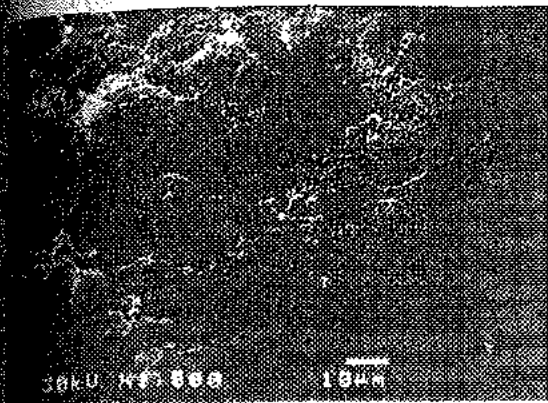
дијаграм 17 Корелација на фосфор во смајл со метода ETAAS и метода ICP



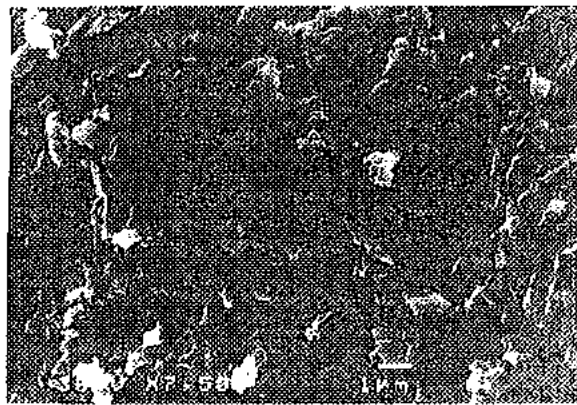
$$r = 0,799; p < 0,01; y = 9,74 + 0,4x$$

3.2. Резултати добиени од скенинг електронска микроскопија (SEM) ќе ги проследиме на сликите што следат

На сликите 1(а и б) и 2(а и б) прикажани се смајлови површини кај пациенти со претходно утврдена ниска концентрација на Са во плунката под различни зголемувања (x1000; x7500). На слика 1а и 1б е прикажана емајловата површина на заб кој е екстрахиран веднаш после извршената деминерализација и абразија. На слика 2а и 2б е прикажана емајлова површина на заб кај кој екстракцијата е направена 30 дена после извршената абразија и деминерализација.



слика 1а

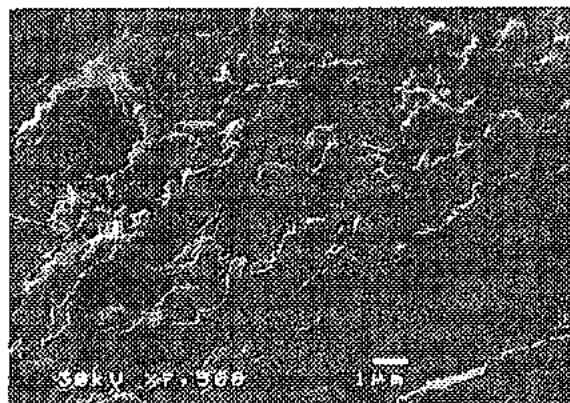


слика 1б

Забележителна е ерозијата и деминерализацијата на површината со многу темни простори.



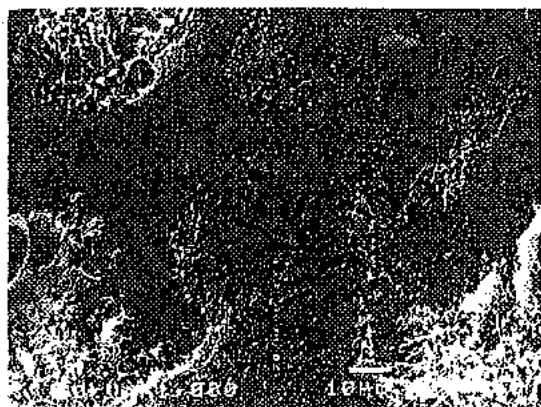
слика 2а



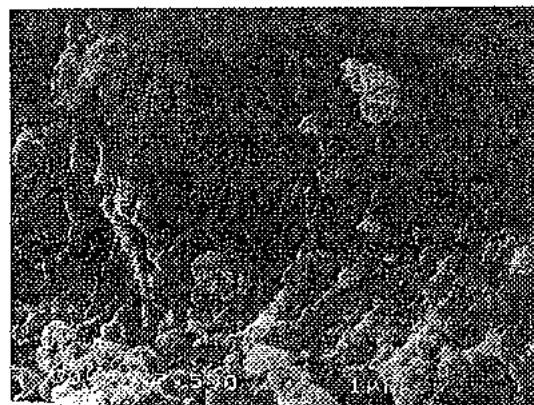
слика 2б

Се забележува делумно смалување на темните простори, стеснување на интерпризматските простори и нерамномерно зарамнување на површината на емајлот, која укажува на иницијална реминерализација.

На сликите 3(а и б) и 4(а и б) прикажани се емајлови површини кај пациенти со претходно утврдена висока концентрација на Са во плунката под различни зголемувања (x1000; x7500). На слика 3а и 3б е прикажана емајлова површина на заб кој е скетрахиран веднаш после извршената абразија и деминерализација. На слика 4а и 4б е прикажана емајлова површина на заб кај кој скетракцијата е направена 30 дена после извршената абразија и деминерализација.

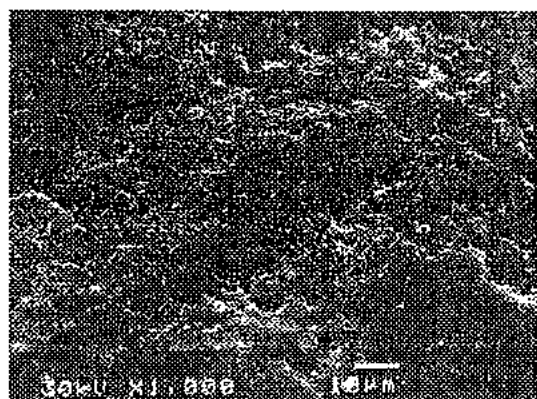


слика 3а

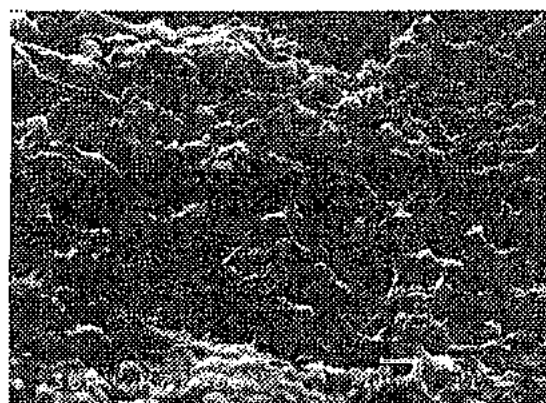


слика 3б

Се гледа микроабрадиран емајл и деминерализирани емајлови кристали со мноштво темни простори



слика 4а



слика 4б

Се гледа јасно намалување на темните простори, добра кристализација, стеснети интерпризматски простори и уедначено зарамнување на површината која укажува на напредната реминерализација

ДИСКУСИЈА

Занемарена од стоматолозите, а игнорирана од физичарите, плунката претставува најнепозната и најобезвредната средина од сите телесни течности. Сепак истата со својата бавна секреција игра витална улога во очување на интегритетот на оралните ткива.

Нејзината протективна улога во однос на кариесот се состои пред сè во неутрализација и пуферизација на киселините од денталниот плак и обезбедување на јони за реминерализација за оневозможување на емајловата деструкција.

Пуферскиот капацитет како една од најважните природни заштитни функции на плунката во одржување на ацидо-базната рамнотежа, односно оралната хомеостаза го истакнуваат Mandel (61, 62) и Navazesh (69).

Студијата на Englander (27) покажала дека пуферскиот капацитет е поголем кај лица резистентни на кариес отколку кај лица кои се со мноштво кариозни заби, каде падот на рН и концентрацијата на лактати во денталниот плак го забрзуваат процесот на дентална деструкција.

Во стручната литература постојат различни вредности за концентрацијата на водородните јони во стимулирана, активна и нестимулирана, пасивна плунка. За нормална концентрација ја земаме вредноста $6,75 \pm 0,2$ што зборува дека саливарната реакција е скоро неутрална.

Добиените резултати од нашите клиничко-биохемиски испитувања покажуваат пониски вредности за рН од нормалните вредности како кај деца со добро орално здравје (рН = 6,49) така и кај децата со нарушено орално здравје (рН = 6,15), што сметање дека се должи на начинот на

собирање на плунка: наутро и без стимулација. Високо значајните разлики во рН меѓу групите ($p < 0,01$) и спроведениот тест за корелација помеѓу саливарниот рН и денталниот морбидитет ($p < 0,01$) се во согласност со досегашните сознанија за меѓусебната обртнопропорционална (негативна) зависност на концентрацијата на Н јони и денталниот карис.

Меѓутоа, сознанијата во однос на улогата на електролитите во динамиката на кариозниот процес, прилично се инеуфициентни, а информациите презентирани во стручната литература се неуредначени и контрадикторни.

Калциумот игра значајна улога во физиолошките процеси во организмот, а неговото правилно користење и регуларен метаболизам зависи од поедини хормони како паратиреоидниот хормон и калцитонинот и витамини, посебно витаминот D.

Нормалната саливарна вредност на концентрација на Са според Dresen и сор. (24) изнесува 0,86-0,95 mmol/L.

Од стручната литература добиваме контрадикторни податоци за саливарната концентрација на калциумот во корелација со возраста на испитаниците. Томеринген (91) кај возрасните групи од 9-15 и 18-48 години не наоѓа осцилации во калциумовата саливарна вредност.

Резултатите од нашите анализи во однос на концентрацијата на калциумот во мепана плунка укажуваат на изразито повисоки вредности на саливарниот калциум како кај испитаниците со добро дентално здравје (2,24mmol/l) така и кај децата со загрижувачки дентален морбидитет (1,05 mmol/l). Нашите наоди се совпаѓаат со резултатите на Todorović (88) која кај испитаници на возраст од 5-20 години поделени во 3 возрасни групи утврдила повисоки вредности на Са јоните кај сите групи и тенденција на опаѓање на истите со возраста.

Промената на концентрацијата на калциумот и фосфорот во плунката се наведуваат како битен фактор во постеруптивната матурација на емајлот, која се одвива непосредно после ерупцијата на забите, односно вградување на овие саливарни макроелементи во кристалите на хидроксиапатитот на емајлот.

Калциумот како локален предиспонирачки фактор во настанокот на забниот карис е изучуван од многу педонтолози и дентални патолози. Податоците кои зборуваат за корелација на овој саливарен електролит и денталниот карис се контрадикторни.

Zenovski (96) утврдил дека концентрацијата на саливарниот калциум е значајно повисока во плунката кај деца со здрави заби за разлика од децата со кариозни заби.

Tokyeva (90) во своите испитувања за квантитативниот состав на меновита плунка во однос на распространетоста на карисот, утврдила тесна поврзаност меѓу калциум и резистентноста на забите кон карис во период на нивна матурација.

Show (82) утврдил дека нема значајни разлики во концентрацијата на саливарниот калциум помеѓу карис-осетливи и карис-резистентни лица.

Vranić-Stanišavljević (93) во своите наоди кај школски деца не нашла меѓусебна зависност помеѓу степенот на распространетост на карисот и концентрацијата на калциум во плунката, а Todorović (89) во плунката на претшколски и школски деца со различна карис фреквенца ($KER=0-6$) поделени во 4 групи уочува разлики во концентрацијата на калциум, меѓутоа истите се статистички незначајни.

Добиените резултати од нашите клиничко-биохемиски испитувања и статистичка значајност на податоците, во однос на саливарната концентрација на калциумот, укажуваат на високо сигнификантни

повисоки вредности на калциум кај деца со добро во споредба со испитаниците со нарушено дентално здравје ($p < 0,01$). Резултатите од спроведената корелациона анализа покажаа висока негативна меѓусебна зависност помеѓу концентрацијата на калциумот во плунката и денталниот морбидитет ($p < 0,01$), што го толкуваме со заштитното дејство на калциумот на појавата и распространетоста на кариесот кај децата особено значајно за младите трајни заби во хипоминерализиран емајл.

Влијанието на саливарниот калциум врз реминерализацијата на деструираната забна површина го истакнал уште 1970 Крушиќ (56), кој постигнал висока кариес редуција кај 40 деца на возраст од 9-10 години за само 7 месеци (кај машки пол 8,32%, а кај женски пол 8,67%) со употреба на препаратот Calcium-Sandos Forte. Заради утврдената кариес протективна улога на калциумот (Ca), Mc Clure (64) и Nizel (71) поедини хранливи продукти ги збогатуваат со калциум (Ca), за да организмот ја добие оптималната количина.

Експерименталните истражувања на глумци спроведен од страна на Constant (17) со калциум дефицит довеле до појава на кариес на моларите на глумците.

Заби не се раствараат во плунката бидејќи плунката е презаситена со Ca, PO₄ и OH јони, а истите ја чинат и минералната структура на забите. Степенот на заситеност е уште поголем во денталниот плак, кој е во директна врска со забната површина. Во овој динамичен еквилибриум, плунката обезбедува бариера за деминерализационите процеси и ја форсира реминерализацијата. Саливарната презаситеност не е доволна кога драматично паѓа pH и води до саливарна ацидоза.

Откривајќи дека стимулираната плунка е со $> pH$ и позаситена со Ca, PO₄ и OH јони од нестимулираната, FDI CORE (29) (Комисија за орално

здравје, истражување и епидемиологија при FDI) сугерира дека стимулираната плунка е добар реминерализирачки раствор.

Во согласност со овие сугестии нашите испитувања покажаа висока меѓусебна зависност помеѓу калциумовата концентрација и pH во плунката ($p < 0,01$).

Нивната заедничка реминерализирачка улога ја истакнува и Sreebny (85) при што укажува на важноста на промените во саливарниот pH за отпуштањето на калциумот од страна на саливарните протеини како статерин, кисели пролин-протеини и фосфопротеини кои имаат способност да го задржуваат калциумот.

Од стручната биохемиска и медицинска литература се наидува на мноштво информации за значајната улога на фосфорот, кој се карактеризира со праг на ресорпција, и во колку концентрацијата на фосфати во плазмата е испод критичната вредност од 1 mmol/L , тие воопшто не се губат со урината.

Нормалната вредност на анорганскиот фосфор во облик на фосфатни јони HPO_4^- и H_2PO_4^- изнесува $3-4 \text{ mmol/L}$.

Резултатите од нашите испитувања покажаа нешто пониски вредности на саливарниот фосфор (P) кај двете испитувани групи од добиените нормални вредности, (за I група $-2,36 \text{ mmol/l}$ и за II група $-2,98 \text{ mmol/l}$) што сметаме дека се должи пред сè на фактот дека нашите испитаници се строго селектирани.

Објаснување на овака ниските фосфорни вредности во плунката наоѓаме и во наодите на Howden (46) кај деца и возрасни која уочува дека концентрацијата на фосфорот во плунката со возраста расте, додека концентрацијата на калциумот опаѓа.

За важноста на овој саливарен електролит во очувањето на цврстите забни ткива и како можен локален предиспонирачки фактор во

настанувањето на забниот кариес, стручната литература дава неуедначени информации.

Show (82) утврдил дека концентрацијата на саливарниот фосфор кај деца со здраво забало е повисока од истата кај деца со висока кариес фреквенција.

Други пак автори, како Zenovski(96) и Tokyeva(90) ја негираат асоцијацијата фосфор-кариес сметајќи дека фосфорот ја завршил својата улога уште пред ерупцијата на забите, заедно со калциумот како градител на хидроксиапатитните кристали и нема никакво влијание за денталното здравје.

Резултатите добиени од нашите испитувања зборуваат дека постои висока статистичка разлика во добиените саливарни вредности за концентрацијата на фосфор меѓу групите ($p < 0,01$), а позитивниот високо значаен коефициент на корелација ($RO=0,66$; $p < 0,01$) помеѓу саливарниот фосфор и КЕР-от. го посочува фосфорот како електролит кој ја помага забната деструкција. Нашите наоди се совпаѓаат со констатациите на Vranić-Stavljević (93) за покачени вредности на саливарниот фосфор кај деца склони кон кариес.

Објаснувањето од страна на некои автори дека покачените вредности на концентрацијата на фосфор во плунката се должат на зголеменото разградување на забните ткива како резултат на кариес деструкција, сметаме дека е неприфатливо зашто притоа би се покачиле вредностите и на другите електролити во плунката кои претставуваат интегрален дел на минералната структура на забите, пред се тоа би се однесувало на калциумот. Во нашите испитувања затоа ја спроведовме корелационата анализа меѓу концентрацијата на фосфорот и концентрацијата на калциумот во плунката и утврдивме дека постои негативна статистички значајна меѓузависност помеѓу фосфорот и

калциумот ($p < 0,01$), што ја истакнува уште повеќе негативната улога на фосфорот врз реминерализациските процеси.

Ензимите претставуваат посебен вид на протеини кои најчесто се растворени во клеточната течност, или се наоѓаат адсорбирани во површината на клеточната мембрана и во контакт со разни материи ги катализираат хемиските реакции.

Биохемиските реакции во саливата сè уште останаа неразјаснети во однос на разните ензими во плунката (околу 50) и нивната партиципација во етиопатогенезата на заболувањата на забнопотпорниот орган.

Ензимите на плунката се пред сè хидролази. Алкалната и киселата фосфатаза се естерази во групата на хидролази.

Нивното проучување како и на другите органски состојки на плунката се секако од понов датум, пред сè поради нивната ниска концентрација и потреба од примена на осетливи аналитички методи, па отука до скоро занемарено подрачје од интерес за многу истражувачи (42, 43).

Додека алкалната фосфатаза учествува во процесите на минерализација и е поврзана со општата регулација на ниво на фосфати, киселата фосфатаза се вбројува во групата на лизозомални хидролази, со автолитична улога.

Фосфатазите се извонредно осетливи на промената на pH на плунката и во зависност од концентрацијата на H јоните, истакнува Вутов (95), алкална фосфатаза ќе го изрази своето синтетизирачко дејство, а киселата фосфатаза разградувачкото дејство.

Активноста на алкалната и киселата фосфатаза во однос на напредната и активна кариозна лезија според Karjalainen (54) е спротивна: постои намалување на активноста на алкалната фосфатаза и цела низа други ензими, а зголемена активност на киселата фосфатаза. Во други

свои испитувања Karjalainen (55) утврдува дека активноста на киселата фосфатаза е скоро 15 пати послаба во одонтобластите и предентинот од активноста на алкалната фосфатаза.

Нашите наоди во согласност со тие констатации покажуваат статистички значајни разлики помеѓу децата со добро и нарушено здравје: за алкалната фосфатаза ($p < 0,01$), за киселата фосфатаза ($p < 0,5$).

Меѓутоа, корелационата анализа покажа дека помеѓу алкалната фосфатаза и кариесот постои високо значајна статистички негативна корелација ($RO = -0,96$; $p < 0,01$), додека помеѓу киселата фосфатаза и кариесот истата е позитивна ($RO = 0,68$; $p < 0,01$).

Во однос на саливарниот pH двата ензима се однесуваат сосема спротивно, додека алкалната фосфатаза и pH во плунката се меѓусебно зависни ($r = 0,86$; $p < 0,01$), киселата фосфатаза и pH во плунката негативно корелираат ($r = -0,71$; $p < 0,01$).

И во однос на саливарните електролити калциум и фосфор, двата ензима се однесуваат спротивно, додека алкалната фосфатаза позитивно корелира со калциумот ($r = 0,90$; $p < 0,01$), а негативно со фосфорот ($r = -0,58$; $p < 0,01$), киселата фосфатаза негативно корелира со калциумот ($r = -0,57$; $p < 0,01$), а позитивно со фосфорот ($r = 0,57$; $p < 0,01$).

Ова, го потврдува општо прифатеното мислење дека алкалната фосфатаза заедно со калциум јоните во саливата учествуваат во процесите на реминерализација, а киселата фосфатаза заедно со PO_4 јоните во деминерализационите процеси, а утврдената високо сигнификантна негативна меѓусебна зависност на двете фосфатази ($r = -0,49$; $p < 0,01$) уште еднаш ја нагласува нивната сосема спротивна саливарна функција.

Калциумот претставува интегрален дел на коскениот ткиво и забите, при што целокупната негова количина во организмот (1000-1200g

Ca) 99% е депонирано во минералната кристална структура на коските и забите во вид на хидроксиапатит, а само 1% во останатите ткива. Бројните експерименти на животни покажале дека калциумот заедно со фосфорот тешко се губат од изградените забни ткива додека кај коските овој процес е реверзибилен. За разлика од дентинот и цементот каде имаме брза апсорпција и депозиција на минералните материи (цементот има приближно иста, а дентинот 3 пати поспора размена на минерали од коскениот ткиво), емајлот покажува екстремно спора размена на минерали, па оттука и размислувањата дека се работи за мртва, безживотна, скаменета минерална материја. Меѓутоа, доказите за несомнени хемиски и физички промени и реакции во емајлот, како и присуството на ензими и протеини говорат за неговата виталност и покрај отсуството на некои карактеристики на виталните ткива како што се: раст, регенерација и репродукција.

Емајлот по својот минерален состав се разликува во зависност од степенот на неговата матурација. Така Allan (1) укажува дека младиот емајл содржи 86% аноргански материи додека зрелиот емајл содржи 96-97% аноргански материи, а останатиот органски и хидратен дел видливо се смалува. Поради послабата неорганска структура во фаза на матурација, емајлот е со поголема пропусливост која се изведува преку органските делови и интерпризматската супстанца и истиот е разбирливо поосетлив кон карнес ноксите, истакнува Groeneveld, (41).

Калциумот е главен елемент на хидроксиапатит ($\text{Ca}_3(\text{OH}(\text{PO}_4)_3)$) според Scott и Simons (80) е застапен со 37%. според Curson (19) 36%.

Добнените резултати од нашите физичко-хемиски испитувања и статистичка обработка на податоците, во однос на концентрацијата на калциумот во емајлот кај деца со различен дентален морбидитет укажуваат на ниска процентна застапеност на калциумот во емајлот; кај

двете употребувани методи (пламена апсорпциона спектрометрија и рентгенска емисиона спектрометрија), како за групата со низок КЕР (4,8% и 34,6%) така и за децата со висок КЕР (34,4% и 34,5%). Статистички насигнификантните разлики помеѓу масниот удел на калциумот во емајлот кај двете групи, како кај пламена апсорпциона спектрометрија ($p = 0,987$), така и кај рентгенска емисиона спектрометрија ($p = 0,983$) констатирани во нашите физикохемиски испитувања, сметаме дека се согласни со фактот дека испитуваниот емајл им припаѓа на млади дематурирани заби кои само што изникнале.

Досега, во стручната литература, покрај често спомнуваната и употребувана атомска апсорпциона спектрометрија, не најдовме на податоци за испитување на застапеност на калциумот во емајлот со помош на рентгенска емисиона спектрометрија. Меѓутоа, спроведуваната корелациона анализа на добиените податоци помеѓу овие две методи покажа дека постои сигнификантна корелација меѓу двете методи ($p < 0,01$) што говори дека нема да згрешиме во колку се определиме за било која од овие две методи.

Фосфорот како вторниот важен ологоелемент во изградбата на забите, во облик на неоргански и органски фосфати, 80% е депониран во хидроксилантитот на коските и забите, а 20% се наоѓа во клеточната и меѓуклеточната течност.

Scot и Simons (80) испитувајќи ги неорганските материи во зрел емајл со атомска апсорпциона спектрометрија констатирале 55,5% застапеност на PO_4 , а Curson (19) дава податок дека во 100гр емајлов целел 17,3гр отпаѓа на фосфор.

Добиените резултати од нашите физикохемиски испитувања и статистичка обработка на податоците во однос на концентрацијата на фосфор во емајлот на млади трајни заби се совпаѓаат со оние на

Георгиева (34) и Вутов (95) кои исто така констатирале пониски вредности во однос на оние кај зрел емајл. Масниот удел на фосфорот кај децата со добро орално здравје со помош на електротермална атомска апсорпциона спектрометрија и на спектрометрија со индуктивно спрегната плазма е идентичен 16,2%, додека фосфорната застапеност кај децата со нарушено орално здравје изнесува 15,5% за електротермална атомска апсорпциона спектрометрија односно 16,0% за спектрометрија со индуктивно спрегната плазма. Статистички сигнификантни разлики во вредностите на фосфорот меѓу групите и со двете употребени методи не се најдени ($p < 0,5$).

Коефициентот на корелација меѓу двете употребувани методи ($r = 0,799$; $p < 0,01$) покажа дека постои високо значајна корелација, што овозможува подеднаква употреба на двете методи при вакви или слични истражувања: досега често употребувана електротермална атомска апсорпциона спектрометрија и другата спектрометрија со индуктивно спрегната плазма за која не најдовме на податоци во стручната литература за нејзина употреба во проучувањето на фосфорниот удел во емајловата супстанца.

Реминерализацијата како динамичен процес на минерална надомест на забна површина во последните децении е од посебен интерес и речиси редовно се поврзува со примената на флуорот. Меѓутоа, бидејќи истиот не дава апсолутна редукција на кариесот, во поново време покрај него се почесто се испитуваат саливарните компоненти кои асоцијативно со флуорот делуваат (57, 14, 65, 66, 33).

Посебен акцент се дава на саливарниот калциум и проучувањата на природниот саливарен потенцијал за зголемување на кариес редукција што веќе е постигнато со флуорот според Rolla (77) и Веѓиговиќ (7, 10, 11), а секако здружен со елиминација на главните локални причинители на

кариесот: денталниот плак и шеќерите истакнуваат во своите трудови Margolis (63) и Rose (78).

Додека Backer-Dirks (6) и Pat (73) ја ценеле реминерализацијата преку исчезнувањето на белите дамки на емајлот во тек на различен временски период, денес овој процес во чекор со најновите достигнувања се следи со SEM, како оптимална метода за испитување на процесите што се случуваат во забните ткива (68, 72, 74, 79).

За зголемување на активната површина на емајлот од што зависи минералната пенетрација и инкорпорација, потребна е делумна органска и неорганска елиминација (40, 47, 59).

За подобра реминерализација нагласува Gašić (31, 32) неопходно е киселинско нагризување на емајлот за зголемување на неговата порозност, меѓутоа не подолго од 30 секунди, бидејќи при подолгата експозиција се губи рељефот на површината со комбинација на интра и интерпризматска деминерализација.

Robinson и соработници (76) во своите испитувања на 30 жаби утврдил дека калциумот се вградува во хидроксилapatитот, непречено, во колку се отстрани органскиот емајлов слој со хипохлорит-раствор.

Во своите опсежни студии Berg (13) и Croll (18) дури и кај некои емајлови оштетувања, со помош на микроабразија и отстранување на дел од емајлот (25 - 75 микрометри) и употреба на флуорни раствори, постигнува дополнителна кристализација на оштетениот емајл кое резултира со мазна и сјајна забна површина.

Flutz (28) ја следи реминерализацијата со поларизационо светло и скенинг електро микроскопија употребувајќи раствори со различна калциумова концентрација. Своите резултати за подобра реминерализирачка моќ на растворот со ниска калциумова концентрација (приближни со нормалните вредности на Ca во плунката) ги толкува со

фактот дека истиот овозможува пролонгирана реминерализација со поголем раст на кристалите (50 - 150nm), за разлика од растворот со екстремно висока калциумова концентрација која го блокира минералниот внес и понатамошниот раст на кристалите (50 - 75nm).

Резултатите од нашите експериментални испитувања проследени со SEM ја потврдија репараторната улога на плунката кај двете групи испитаници во услови на елиминирани главни локални кариес-фактори при што треба да се напомене дека експериментот се реализираше *in vivo*, во услови на рандомизиран клинички дизајн што е од посебно значење кога станува збор за вакви или слични клинички испитувања.

Утврдениот поголем степен на реминерализација кај децата со поголема концентрација на калциумот во плунката е во согласност со најновиот тренд во превентивната стоматологија за значајна улога на природната пролонгирана саливарна реминерализација во очување на дентално здравје.

ЗАКЛУЧОЦИ

1. Реминерализирачкиот потенцијал на саливата претставува еден од главните фактори за добро дентално здравје.
2. Емајлот претставува основен патоанатомски супстрат за де- и реминерализирачките процеси.
3. Концентрацијата на калциумот (Ca) во плунката покажа сигнификантно повисоки вредности кај децата со низок КЕР, а воедно корелационата анализа даде високо сигнификантна негативна корелација на саливарниот калциум (Ca) и денталниот морбидитет и високо сигнификантна корелација со саливарниот рН. Сметаме дека ова ја истакнува улогата на калциумот (Ca) во плунката во протективно-репараторните и стабилизациони процеси врз забниот емајл.
4. Концентрацијата на фосфорот (P) во плунката покажа сигнификантно пониски вредности кај испитаниците со добро дентално здравје, и високо сигнификантна меѓусебна корелација меѓу саливарниот фосфор (P) и КЕР индексот како и високо сигнификантна негативна корелација меѓу фосфорот (P) и рН во плунката. Ваквиот наод го сметаме за директна асоцијација на фосфорот (P) во плунката со развојната сволуција на кариес деструкцијата на забот.
5. Активноста на алкалната фосфатаза (ALP) во плунката е повеќе нагласена кај децата со низок КЕР индекс. Константираната високо сигнификантна негативна корелација помеѓу алкалната фосфатаза (ALP) и КЕР-от од една страна и високо сигнификантната позитивна корелација

помеѓу ALP и pH во саливата од друга страна ја нагласува биофизиолошката улога на алкалната фосфатаза (ALP) во репараторните процеси на плунката во кои таа остварува јасна партиципација.

6. Активноста на киселата фосфатаза (ACP) во плунката е послаба кај децата со добро дентално здравје. Константираната високо сигнификантна корелација на саливарната кисела фосфатаза (ACP) и КЕР-от и високо сигнификантна негативна корелација помеѓу киселата фосфатаза (ACP) и pH во плунката, укажуваат на учеството на киселата фосфатаза (ACP) од плунката во минералниот губиток од забното ткиво односно деминерализациските процеси.

7. Додатната корелациона анализа меѓу следените саливарни параметри, ги прикажа калциумот (Ca) и алкалната фосфатаза (ALP) во плунката како реминерализирачки фактори, за разлика од фосфорот (P) и киселата фосфатаза (ACP) кои ги посочуваме како деминерализирачки фактори.

8. Физичко-хемиските испитувања го прикажаа емајловото ткиво кај младите трајни заби како вулнерабилно за кариес нокси, поради утврдената послаба минерална структура

9. Масниот удел на калциумот (Ca) во емајлот кај младите трајни заби нема сигнификантни разлики меѓу групите, а за негово одредување ги препорачуваме како AAS, така и XRF, бидејќи и двете методи даваат подеднакво прецизни резултати.

10. Масниот удел на фосфорот (P) во емајлот кај младите трајни заби меѓу групите статистички сигнификантно не се разликува. За одредување на фосфорот (P) во емајлот и ETAAS и ICP методите даваат податоци кои високо сигнификантно корелираат.

11. SEM е прифатлива и прецизна метода за следење на степенот на реминерализација на емајловата површина.

12. Утврдениот повисок степен на реминерализација (следен после извршената емајлова деминерализација и микроабразија) кај децата со повисоко калциумово саливарно депо уште еднаш го потенцира активното учество на калциумот (Ca) во природната реминерализација.

13. Во прилог на тоа предлагаме кај кариес ризични пациенти да се изврши кондиционирање на плунката, заради добивање на солиден реминерализирачки раствор, преку нејзино стимулирање и внесување на калциум.

14. Природниот реминерализирачки потенцијал на плунката е сложен механизам каде остваруваат партиципација не само неорганските туку и органските саливарни компоненти чие генерирање и конкретна улога треба да бидат предмет на понатамошни истражувања.

ЛИТЕРАТУРА

1. Allan JH. Maturation of enamel. In: Structural and chemical organization of teeth. Academic Press, New York, 1967.
2. Anđić J, Popović V. Mehanizmi zaštite oralne sluzokože. Stomatol Gl Srb 1978; (5): 343-8.
3. Anđić J. Osnovi oralne fiziologije i biohemije. Naučna knjiga, Beograd, 1990.
4. Anđić J, Janković Lj, Gajić M, Todorović T. Uloga salivarnih sastojaka u očuvanju oralnih struktura: mehanizmi oralne homeostaze. Stomatol Gl Srb 1993; 40: 16-23.
5. Arrends J, Gelhard TBFM. In vivo remineralization of human enamel. In: Leach SA, Edgar WM (editors). Remineralization of the teeth. JPL Press Ltd, Oxford 1983; pp. 1 - 15.
6. Backer-Dicks O. Post-eruptive changes in dental enamel. J Dent Res 1966; 45: 503-22.
7. Беќировиќ М, Царчев М, Солева В, Босилкова Т, Крстевска М. Реминерализирачки потенцијал на плунката и дентален морбидитет. Макед Стоматол Прегл 1993; 17 (3-4): 123 - 5.
8. Беќировиќ М, Мирчева М, Царчев М, Босилкова Г, Крстевска М. Нивото на алкалната и киселата фосфатаза во саливата кај деца со различна кариес застапеност. I конгрес на стоматолозите од Македонија (Анстракти). Охрид: Здружение на стоматолозите од Македонија, 1994: 8.
9. Беќировиќ М. Влијанието на оралната хигиена врз саливарното ниво на алкалната и киселата фосфатаза при различна кариес застапеност. XI simpozijum zdravstvenog vaspitanja u stomatologiji (abstrakti). Niš: Medicinski fakultet-Niš, Stomatološka klinika, 1995: 15.

10. Bećirović M, Tsarchev M, Bosilkova G, Krstevska M. Remineralization potential of saliva in children. *IJO BJCL (abstracts)* 1995; 2: 185.
11. Bećirović M, Carčev M. Correlation between Ca and P in children saliva and caries. 2nd Congress of the Balkan Stomatological Society. (abstracts). 1997; 55: 88
12. Блазелковска З. Биохемиска верификација на хидролитичката ензимска активност кај пациенти со прогресивна парадонтопатија (дисертација). Скопје. Стоматолошки факултет. 1989.
13. Berg JH, Donly KJ. The enamel surface and enamel microabrazion, In: Croll TP. Enamel microabrazion. Quintessence Publishing Co. Chicago, 1991; 7: 55 - 60.
14. Cate IM, Duisters PE. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res* 1982; 16: 201-10.
15. Cate IM. Laboratory de- and remineralization models. *International Congress and Symposium Series* 209. London. 1994; 25 - 32.
16. Collys K. Rehardening of surface softened and surface etched enamel in vitro and by intraoral exposure. *Caries Res* 1993; 27: 15 - 20.
17. Constant MA. Dental caries in the cotton rat. *J Nutr.* 1954; 53: 29
18. Croll TP. Enamel Microabrazion: the technique. *Quintessence Int* 1989; 20: 385-400.
19. Curson EJM, Losse FL. Dental caries and trace elements composition of whole human enamel. *J Am Dent Assoc* 1977; 49: 1146 - 50.
20. Цветковиќ Н, Хрисохо Р, Груев Н. Ензимски потенцијал на забната пулпа. *Макед Стоматол Прегл* 1983; (1-2): 5-9.
21. Цветковиќ Н, Хрисохо Р, Груев Т. Активноста на ал. фосфатаза при *Caries profunda*. *Макед Стоматол Прегл* 1984; (1-2): 14-19.
22. Del Belso A, Major C. The effects of thermal injury on pulpal hydrolases. *Oral Surg* 1975; 40: 801-7.
23. Deutsche Gesellschaft für Clinische Chemie. *Enzyms. J Clin Chem Clin Biochem* 1972; 10: 182.

24. Dreisen S, Goodrich YS, Levig MB. Comparison of the salivary glands and salivary electrolytes in man and marmoset. Arch Oral Biol 1968; 13: 229-37.
25. Цекова-Стојкова С. Одбрани текстови од биохемијата. Орална биохемија. Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Скопје, 1993.
26. Ehrhardt H. Röntgenfluoreszenzanalyse. VEB Deutscher für Grundstoffindustrie, Leipzig, 1985, pp11-56.
27. Englander HR, Shklair IL, Fosdick LS. The effects of saliva on the pH and lactate concentrations in dental plaques. Caries rampant individuals. J Dent Res 1959; 38: 848 - 53.
28. Flaitz Cm, Nicks MJ. Role of the acid - etch technique in remineralization of caries - like lesions of enamel: A polarized light and scanning electron microscopic study. J Dent Child 1994; 21 - 27.
29. FDI Working Group 10. CORE. Saliva: Its role in health and disease. Int Dent J 1992; 42: 291 - 304.
30. Gao HJ. Scanning Microradiographic and Microtomographic studies of remineralization of subsurface enamel lesions. J Ch Society-Faraday Transactions 1993; 89: 2907-12.
31. Gašić J, Dačić-Simonović D. Dentalna pelikula - formiranje, sastav i uloga. Stomatol Gl Srb 1995; 42: 109 - 14.
32. Gašić M i sar. Varijacije u izgledu demineralizovane gledi u odnosu na vreme nagrizanja ortofosfornom kiselinom (SEM istraživanja). III simpozijum za elektronsku mikroskopiju Srbije, (abstrakti) Niš, 1992;123.
33. Gelhard TBFM. Arends J. Salivars Properties Related to in vivo Remineralization In: Leach SA, Edggar WM (editors). Factor relating to demineralization and remineralization of the teeth. IRL Press Ltd Oxford, 1983; pp 61-8.
34. Георгиева К. Новости в стоматологията Медицина и физкултура. София, 1980.
35. Gibitz HJ. Calcium. Clin Chem Acta 1967; 10: 238 - 44.

36. Goldstein JI, Newbury DE, Echlin P, Joy DC, Romig AD, Lyman CE, Fiori C, Lifshin E. Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis. Plenum Press. New York, 1992.
37. Goodhew PJ. Specimen preparation in materials science: Practical methods in electron microscopy. North-Holland/American Elsevier. Amsterdam, 1973.
38. Greene IC. Oral hygiene and periodontal disease. *Am J Pub Health* 1963; 53: 913 - 22.
39. Greene JC, Vermillion The simplified oral hygiene index. *J Am Dent Assoc* 1964; 68: 7.
40. Gron P, Hay DI. Inhibition of calcium phosphate precipitation by human secretion. *Arch Oral Biol* 1976; 21: 201 - 5.
41. Groeneveld A, Purdell-Lewis DJ, Arends I. Influence of the mineral content of enamel on caries-like lesions produced in hydroxyethyl cellulose buffer solutions. *Caries Res* 1975; 9:127 - 39.
42. Groeneveld ML, Bos TV, Everts V, Beertsen W. Cell - bound and extracellular matrix - associated alkaline phosphatase activity in rat periodontal ligament. *J Periodont Res* 1996; 31: 73 - 9.
43. Groeneveld ML, Everts V, Beertsen W. Loss of attachment in the marginal periodontium of the rat incisor under noninflammatory conditions: Expression of alkaline phosphatase activity. *J Periodont Res* 1996; 31: 66 - 72.
44. Hayashi I. High resolution electron microscopy of the initial mineral deposition on enamel surface. *J El Microsc* 1993; 42: 342 - 45.
45. Hicks MJ, Silverstone LM. Acid-etching of caries - like lesions of enamel: a polarized light microscopic study. *Caries Res* 1984; 18: 315 - 26.
46. Hicks MJ, Silverstone LM. Acid-etching of caries-like lesions of enamel: a scanning electron microscopic study. *Caries Res* 1984; 18: 327-35.
47. Hillmann GJ. Acid phosphatase. *J Clin Chem Clin Biochem* 1971; 9:273.
48. Howden GF. Soluble Pyrophosphates and Remineralization. *Br Dent J* 1986; 393-5.

49. Ingram GS, Silverstone LM. A chemical and histological study of artificial caries formation. *Caries Res* 1981; 15: 198.
50. Ingram GS, Silverstone LM. A chemical and histological study of artificial caries in human dental enamel in vitro. *Caries Res* 1981; 15: 393-8.
51. Ingram GS, Fejerskov O. A scanning electron microscope study of artificial caries lesion formation. *Caries Res* 1986; 20: 32 - 9.
52. International Federation of Clinical Chemistry. Expert Panel on Enzymes. *J Clin Chem Biochem* 1983; 21: 731 - 48.
53. Karjalainen S, Makinen KK. Phosphonic monoester hydrolase - like activity in the odontoblast - predentine region of the intact and caries human teeth. *Arch Oral Biol*. 1977; 22: 507-10.
54. Karjalainen S. Metabolic alterations in the odontoblast-predentine region during the propagation of caries (dissertation). Turku, Finland, 1979.
55. King RJ. Mikroanaliza u medicinskoj biohemiji. JAZU Zagreb, 1953.
56. Krušić V, Bartenjev M. Vpliv preparata Calcium-Sandoz Forte na redukciju zobne gnilobe. Simpozij o kalciju. Klinične bolnišnice Ljubljana. Ljubljana, 1970; 164 - 7.
57. Larsen MJ. Some notes on the diffusion of acidic and alkaline agents into natural human caries lesions in vitro. *Arch Oral Biol* 1992; 37: 411-6.
58. Lussi A, Linde A. Mineral Induction in-vivo by Dentin Proteins. *Caries Res* 1993; 27: 241-8.
59. Lewison D, Taister Z. Alkaline Phosphatase development in cartilage maturation. *J Dent Res* 1980; 59: 999-1000.
60. Ljubišković Lj i sar. Uticaj vrednosti proteina i nekih enzima mešovite pljuvačke na brzinu formiranja zubnog kamenca. 8. Kongres stomatologa Jugoslavije: Vrnjačka Banja, 1984: 168.
61. Mandel I. Relation of saliva and plaque to caries. *J Dent Res* 1974; 53: 246 - 66.
62. Mandel ID. The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *J Am Dent Assoc* 1989; 119: 298-304.

63. Margolis HC, Zhang VP, Venhoute J, Moreno EC. Effect of sucrose concentration on the cariogenic potential of pooled plaque fluid from caries-free and caries-positive individuals. *Caries Res* 1993; 27: 467 - 73.
64. Mc Clure FJ, Mulerr A. The caries inhibitig effect of dibasic sodium phosphate and dibasic calcium phosphate added to wheat flour and bread diets. *J Am Dent Assoc* 1959; 53: 36-41.
65. Mellberg JR. Remineralization A status report for the American Journal of Dentistry. Part I. *Am J Dent* 1988; 1: 39 - 43.
66. Mellberg JR. Remineralization. A status report for the American Journal of Dentistry. Part II. *Am J Dent* 1988; 1: 85 - 9.
67. Miller WD. A study of certain questions relating to the pathology of the teeth. *Dent Cadmos* 1905; 476: 18 - 39.
68. Mitić N, Dačić-Simonović D. Dentin i pulpa prevencija i terapija (mono-grafija). Prosveta/Niš, 1994.
69. Navazesh M, Christensen CM. A comparison of whole mouth resting and stimulated salivary measurement procedures. *J Dent Res* 1982; 61: 1158-62.
70. Nikiforuk G. Saliva and dental caries. In: Nikiforuk G. Understanding dental caries prevention: Etiology and mechanism. Basel, Karger S. 1985.
71. Nizel AF. Nutrition in preventive dentistry: Science and practice. WB Saunders Co. Philadelphia. 1972.
72. Pantić VR. Elektronska mikroskopija i molekularna biologija ćelije. III simpozijum za elektronsku mikroskopiju Srbije, SEM. Niš, 1992: 6-8.
73. Pot T, Groeneveld A, Purdell-Lewis DJ. The origin and behavior of white spot enamel lesions. *Neth Dent J* 1977; 15: 6-18.
74. Pavlović G. Priprema uzoraka dentina za analizu SEM-om. Optimalan postupak za analizu otvora dentiskih kanalića. *Stomatol Gl Srb* 1991; (1): 57-64.
75. Radutić M. Dotlić R. Janošević S. Marinković J. Osnovi medicinske statistike. Medicinski fakultet, Beograd. 1991.

76. Robinson C, Hallsworth AS, Shore RL, Kirham J. Effect of surface zone deproteinisation on the access of mineral ions into subsurface carious lesions of human enamel. *Caries Res* 1990; 24: 226 - 30.
77. Rolla G, Ogaard B. Studies on the solubility of calcium, fluoride in human saliva
In: Leach SA, Edgar WM (editors). Factors relating to demineralization and remineralization of the teeth. JPL Press Ltd, Oxford 1983; 45 - 50.
78. Rose RK, Dibdin SH, Shollis RP. A quantitative study of calcium-binding and aggregation in selected oral bacteria. *J Dent Res* 1993; 72: 78 - 84.
79. Savić V. Razvoj elektronske mikroskopije u Nišu. III simpozijum za elektronsku mikroskopiju Srbije, SEM. Niš, 1992; 13 - 5.
80. Scott IH, Symons NBB. Introduction to Dental Anatomy. E & S Livingstone - Edingburgh and London. 1971;.
81. Shanon JL. Parotid fluid flow rate, parotid fluid and serum inorganic phosphate concentrations as related to dental caries status in man. *J Dent Res* 1964; 43: 1029 - 38.
82. Shaw L, Murray JJ, Burchell CK, Best JS. Calcium and phosphorus content of plaque and saliva in relation to dental caries. *Caries Res* 1983; 17: 543 - 8.
83. Silverstone LM. Remineralization phenomena. *Caries Res* 1977; 11: 59 - 84.
84. СИМОНОВСКИ М. Промени во минералниот статус кај болни од прогресивна парадонтопатија (докторска дисертација) Скопје. Стоматолошки факултет. 1982.
85. Sreebny LM. Salivary flow in health and disease. *Compen Cont Educ Dent* 1989; 13: 461-69.
86. Стевановиќ М. Аспекти на реакција на пулподентискиот орган при некомплицирани кариозни лезии и процена на нивната реверзибилност (докторска дисертација) Скопје. Стоматолошки факултет. 1991.
87. Todorović T. Koncentracija Ca, Mg i pljuvačke u pacijenta sa različitim stepenom rasprostranetosti. karijesa *Stomatol Gl Srb* 1991; (5): 343-50.

88. Todorović T. Kvantitativna zastupljenost kalcijuma, magnezijuma i fosfata pljuvačke u ispitanika različitog starosnog doba. *Stomatol Gl Srb* 1993; 40: 29-32.
89. Todorović T. Uticaj elektrolita pljuvačke - kalcijuma, magnezijuma i fosfora na pojavu karijesa zuba dece. *Stomatol Gl Srb* 1993; 40: 67-72.
90. Tokyeva M. Mixed saliva Ca and P, the rate of saliva excretiva and the caries resistance of the teeth during of the mineralization period in children. *Stomatologia (Mosk)* 1983; 62: 62-4.
91. Томерштеин ВА. Содержание магния и кальция смешанной слюны, взрослых практически и при заболеваниях желудочно-кишечного тракта и нервной системы. *Стоматология*, 1967.
92. Vojinović J i sar. Preventivni program u stomatologiji. Naučna knjiga, Beograd. 1990.
93. Vranić S. Biokemijske osobitosti sline u nastanku karijesa (doktorska disertacija). Zagreb, 1988.
94. Vulović M. Osnova razumevanje delovanja pljuvačke. Budva, 1996.
95. Вуггов М. Детска стоматология. Медицина и физкультура, София, 1989.
96. Zenovski VP. Mixed salivary Ca and P, the rate of saliva excretion and caries resistance of teeth dependent of the child's age. *Stomatologia (Mosk)* 1983; 63: 63 - 5.