

M

Македонски  
Сѐомаѐолошки  
Преглед

16

2016

[www.stomfak.ukim.edu.mk](http://www.stomfak.ukim.edu.mk)



# МЕЃУНАРОДЕН УРЕДУВАЧКИ ОДБОР

## Главен уредник

Љубен Гугувчевски  
Клиника за стоматолошка протетика  
e-mail: [ljguguvcevski@stomfak.ukimedu.mk](mailto:ljuguvcevski@stomfak.ukimedu.mk)

## Помошник на главниот уредник

Елизабета Ѓоргиевска  
Клиника за детска и превентивна стоматологија  
e-mail: [egjorgievska@stomfak.ukim.edu.mk](mailto:egjorgievska@stomfak.ukim.edu.mk)

## Уредувачки одбор

Иван Алајбег, Загреб, Хрватска  
Иван Анастасов, Софија, Бугарија  
Никола Ангелов, Хјустон, САД  
Соња Апостолова, Скопје, Македонија  
Анета Атанасовска, Скопје, Македонија  
Јагода Бајевска, Скопје, Македонија  
Алберто Бенедети, Скопје, Македонија  
Јадранка Бундевска, Скопје, Македонија  
Гурхан Цаглајан, Хачетене, Турција  
Оливер Димитровски, Скопје, Македонија  
Андон Филчев, Софија, Бугарија  
Силвана Георгиева, Скопје, Македонија  
Златко Георгиев, Скопје, Македонија  
Никола Гиговски, Скопје, Македонија  
Домагој Главина, Загреб, Хрватска  
Александар Грчев, Скопје, Македонија  
Киро Ивановски, Скопје, Македонија  
Мира Јанкуловска, Скопје, Македонија  
Петер Јевникар, Љубљана, Словенија  
Лидија Кануркова, Скопје, Македонија  
Билјана Капушевска, Скопје, Македонија  
Христо Кисов, Пловдив, Бугарија  
Дарко Мацан, Загреб, Хрватска  
Љубо Марион, Љубљана, Словенија  
Даница Монева, Скопје, Македонија  
Илијана Муратовска, Скопје, Македонија  
Славе Наумовски, Скопје, Македонија  
Џон Николсон, Лондон, В. Британија  
Јулијана Николовска, Скопје, Македонија  
Маја Пандилова, Скопје, Македонија

Марија Пеева, Скопје, Македонија

Снежана Пешевска, Скопје, Македонија  
Дарије Планчак, Загреб, Хрватска  
Кристина Попова, Софија, Бугарија  
Лидија Поповска, Скопје, Македонија  
Владимир Поповски, Скопје, Македонија  
Мирјана Спасовска, Скопје, Македонија  
Ана Сотировска, Скопје, Македонија  
Саша Станковиќ, Ниш, Србија  
Драгослав Стаменковиќ, Белград, Србија  
Марија Стефановиќ, Скопје, Македонија  
Весна Стевковска, Скопје, Македонија  
Зринка Тарле, Загреб, Хрватска  
Љиљана Тихачек, Белград, Србија  
Георги Томов, Пловдив, Бугарија  
Радомир Угринов, Софија, Бугарија  
Ана Ангелова Валпони, Лондон, В. Британија  
Васка Вандевска, Осло, Норвешка  
Радосвета Василева, Софија, Бугарија  
Борис Величковски, Скопје, Македонија  
Мирослав Вукадиновиќ, Белград, Србија  
Марија Зужелова, Скопје, Македонија

# INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

## Editor in Chief

Ljuben Guguvcevski  
Department for Prosthodontics  
e-mail: [ljguguvcevski@stomfak.ukimedu.mk](mailto:ljguguvcevski@stomfak.ukimedu.mk)

## Managing Editor

Elizabeta Gergievska  
Department for Pedodontics  
e-mail: [egjorgievska@stomfak.ukim.edu.mk](mailto:egjorgievska@stomfak.ukim.edu.mk)

## Editorial Board

Ivan Alajbeg, Zagreb, Croatia  
Ivan Anastasov, Sophia, Bulgaria  
Nikola Angelov, Houston, USA  
Sonja Apostolova, Skopje, Macedonia  
Aneta Atanasovska, Skopje, Macedonia  
Jagoda Bajevska, Skopje, Macedonia  
Alberto Benedeti, Skopje, Macedonia  
Jadranka Bundevska, Skopje, Macedonia  
Gurhan Caglayan, Hacettepe, Turkey  
Oliver Dimitrovski, Skopje, Macedonia  
Andon Filchev, Sophia, Bulgaria  
Silvana Georgieva, Skopje, Macedonia  
Zlatko Georgiev, Skopje, Macedonia  
Nikola Gigovski, Skopje, Macedonia  
Domagoj Glavina, Zagreb, Croatia  
Aleksandar Grchev, Skopje, Macedonia  
Kiro Ivanovski, Skopje, Macedonia  
Mira Jankulovska, Skopje, Macedonia  
Peter Jevnikar, Ljubljana, Slovenia  
Lidija Kanurkova, Skopje, Macedonia  
Biljana Kapushevaska, Skopje, Macedonia  
Hristo Kisov, Plovdiv, Bulgaria  
Darko Macan, Zagreb, Croatia  
Ljubo Marion, Ljubljana, Slovenia  
Danica Monevska, Skopje, Macedonia  
Ilijana Muratovska, Skopje, Macedonia  
Slave Naumovski, Skopje, Macedonia  
Dzhon Nikolson, London, UK  
Julijana Nikolovska, Skopje, Macedonia  
Maja Pandilova, Skopje, Macedonia  
Marija Peeva, Skopje, Macedonia

Snezhana Peshevska, Skopje, Macedonia  
Darije Planchak, Zagreb, Croatia  
Kristina Popova, Sophia, Bulgaria  
Lidija Popovska, Skopje, Macedonia  
Vladimir Popovski, Skopje, Macedonia  
Mirjana Spasovska, Skopje, Macedonia  
Ana Sotirovska, Skopje, Macedonia  
Sasha Stankovikj, Nish, Srbija  
Dragoslav Stamenkovikj, Belgrade, Serbia  
Marija Stevanovikj, Skopje, Macedonia  
Vesna Stevkovska, Skopje, Macedonia  
Zrinka Tarle, Zagreb, Croatia  
Ljiljana Tihachek, Belgrade, Serbia  
Georgi Tomov, Plovdiv, Bulgaria  
Radomir Ugrinov, Sophia, Bulgaria  
Ana Angelova Valponi, London, UK  
Vaska Vandevska, Oslo, Norway  
Radosveta Vasileva, Sophia, Bulgaria  
Boris Velichkovski, Skopje, Macedonia  
Miroslav Vukadinovikj, Belgrade, Serbia  
Marija Zuzhelova, Skopje, Macedonia

Дами и господа,

почитувани читатели, со мало задоцнување пред нас е овогодишниот број на Македонскиот Стоматолошки Преглед. И овој пат во овој број се понудени стручнонаучни и практични теми од одредени области на денталната медицина. Убеден сум дека понудените трудови ќе го побудат вашиот интерес, ќе ви помогнат да ги освежите вашите познавања од одредена проблематика или пак да прочитате нешто што досега не сте го забележале.

Во името на уредувачкиот одбор на МСП и во мое име ви посакувам пријатен летен одмор до следното наше дружење преку страниците на нашиот стручен часопис.

Главен уредник на МСП,

Проф. д-р Љубен Гугувчевски

Dear readers,

I am welcoming you to this year's Macedonian Dental Journal. The volume offers you scientific and practical subjects in the field of dental medicine. As an editor, am convinced that the articles offered will excite your interest, with the goal to help you refresh your knowledge in a certain field, or to just provide you with information you had not received before.

In the name of the editorial board, wishing you a joyful summer vacation season, until our next encounter through the pages of the MDJ.

Editor in chief,

Prof. d-r Ljuben Guguvcevski, DDS, MS, PhD

**ВЛИЈАНИЕТО НА ТЕХНИКАТА НА ЧЕТКАЊЕ НА ЗАБИТЕ  
ВРЗ ОРАЛНО ХИГИЕНСКИОТ СТАТУС КАЈ ПАЦИЕНТИТЕ  
СО ФИКСНОПРОТЕТИЧКИ НАДОМЕСТОЦИ**

**THE INFLUENCE OF TOOTH BRUSHING TECHNIQUES ON  
THE ORAL-HYGIENE STATUS ON PATIENTS WITH FIXED  
PROSTHODONTICS**

1 - 13

**Билјана Капушевска**, Кристијан Шуков, Јадранка Бундевска,  
Анета Мијоска, Марија Андоновска

**ВЛИЈАНИЕ НА МИНЕРАЛИ И ВИТАМИНИ ВРЗ ОРАЛНОТО  
ЗДРАВЈЕ**

**IMPACTS OF VITAMINS AND MINERALS ON ORAL HEALTH**

14 - 27

**Јадранка Бундевска**, Билјана Капушевска, Гордана Ковачевска,  
Ана Спировска, Филип Тантуровски

**ДАРК - ПРОМОТОР ХИПЕРМЕТИЛАЦИОНЕН ГЕН КАЈ  
ОРАЛНИОТ ПЛАНОЦЕЛУЛАРЕН КАРЦИНОМ**

**DARK - PROMOTOR HYPERMETHYLATION GENES IN ORAL  
SQUAMOUS CELL CARCINOMA**

28 - 46

Двојаковска С., Грчев А., Поповиќ- Монеvsка Д., Поповски В.,  
Панчевски Г., Бенедети А.

**ДИГИТАЛНА КОМПЈУТЕРИЗИРАНА ОКЛУЗАЛНА  
АНАЛИЗА СО T-SCAN III СИСТЕМ ПРИ ОКЛУЗИЈА И  
АРТИКУЛАЦИЈА КАЈ ИСПИТАНИЦИ СО НЕУТРООКЛУЗИИ**

**T-SCAN III SYSTEM DIGITAL OCCLUSAL ANALYSIS ON  
OCCLUSAL BALANCE IN NEUTROOCCLUSION**

47 - 71

**Весна Трпевска**, Гордана Ковачевска, Лидија Кануркова,

# ВЛИЈАНИЕТО НА ТЕХНИКАТА НА ЧЕТКАЊЕ НА ЗАБИТЕ ВРЗ ОРАЛНО ХИГИЕНСКИОТ СТАТУС КАЈ ПАЦИЕНТИТЕ СО ФИКСНОПРОТЕТИЧКИ НАДОМЕСТОЦИ

## THE INFLUENCE OF TOOTH BRUSHING TECHNIQUES ON THE ORAL-HYGIENE STATUS ON PATIENTS WITH FIXED PROSTHODONTICS

Билјана Капушевска<sup>1\*</sup>, Кристијан Шуков, Јадранка Бундевска<sup>1</sup>, Анета  
Мијоска<sup>1</sup>, Марија Андоновска<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Катедра за Стоматолошка протетика, Стоматолошки Факултет, УКИМ - Скопје, Република  
Македонија

<sup>2</sup> Катедра за Болести на забите и ендодонтот, Стоматолошки Факултет, УКИМ - Скопје, Република  
Македонија

\*Кореспонденција:

Проф. Д-р Билјана Капушевска

e-mail: [biljanakapusevska@gmail.com](mailto:biljanakapusevska@gmail.com)

Стоматолошки факултет, Универзитет "Св. Кирил и Методиј"

ул. Мајка Тереза 17, 1000 Скопје, Република Македонија

Тел: ++ 389 071 722-434

URL: <http://www.stomfak.ukim.edu.mk/>

### АПСТРАКТ

**Вовед:** Одржувањето на оптимален орално хигиенски статус претставува предизвик за секој пациент. Кај пациентите носители на фикснопротетички надоместоци, тоа е дополнително отежнато. Во моментално достапната литература нема посебно сознание за тоа, која техника на четкање на забите е најсоодветна за овие пациенти.

**Цел:** Основна цел е да завземеме став при препорака која техника на четкање на забите (Bass-ова или Charters-ова) е поадекватна за одржување на оралната хигиена кај пациенти носители на фикснопротетички надоместоци, којашто последователно е во корелација со гингивалниот статус и оралното здравје на пациентите.

**Материјал и метод:** Истражувањето е изведено врз 50 пациенти носители на фикснопротетички надоместоци, поделени во две групи. Едната група пациенти доби инструкции за четкање на забите според Bass-овата техника, додека пак другата според Charters-овата техника на четкање. Резултатите беа евидентирани во четири временски периоди: во првата посета, по 15, 30 и 90 денови.

**Резултати:** Според добиените резултати, најголемо подобрување на орално хигиенскиот статус е нотирано при употреба на Charters-овата техника за четкање на забите кај пациентите носители на фикснопротетички надоместоци.

**Клучни зборови** - техники на четкање на забите, Bass, Charters, фикснопротетички надоместоци, орално здравје, пародонтален статус.

## ВОВЕД

Фикснопротетичките надоместоци се конструкции со кои се надоместуваат изгубените заби, се премостува дефектот и со посебни врски се врзани за забите носачи со што се ограничува дефектот. Овие конструкции, за разлика од мобилните надоместоци, се цементираат за забите и можат да се извадат од устата на пациентот само со демонирање.

За да се одреди орално хигиенскиот статус, потребно е да се направи мониторинг на состојбата на оралната хигиена во усната празнина во која се опфатени тврдите (забни) и меките (потпорни) ткива. Лошата орална хигиена се одразува врз состојбата на забите и индуцира кариес или пак доведува до патолошка афекција на пародонтот и предизвикува пародонтопатија.

Како дел од примарната превенција за појава на пародонтални заболувања, секојдневното механичко отстранување на деналниот плак од забите, јазикот и соседните орални ткива е есенцијално. Најшироко прифатеното средство за плак контрола е механичкото отстранување на деналниот плак со четкање на забите. Четкањето на заби е првенствено најпрепорачаната метода за одржување на орална хигиена, особено во развиените земји. Самата постапка се смета за основен начин на механичко отстранување на плакот како превенција на оралните заболувања, вклучувајќи го гингивитот и кариесот. Секако дека на ваков начин серозно се влијае на одржувањето и естетиката на забите, како и спречување на појава на халитоза. Иако примарна функција на четкањето е механичко отстранување на плакот, со него може превентивно да се нанесува и хемотераписки агенси преку забната паста.

Четкањето на забите е техника која треба да биде добро совладана за да биде ефикасна. Многу истражувања покажуваат дека просечното дневно четкање во времетраење од две минути отстранува само 50% од плакот. Неправилни техники на четкање на забите, особено многу интензивни методи, вообичаено се тесно поврзани со многу несакани ефекти, меѓу кои би ги споменале гингивалните абразии и рецесии. За да биде правилно четкањето на заби, потребни се инструкции за темелност, времетраење, фреквенција, методи и напор. Кога стоматологот им дава инструкции на своите пациенти, најпрво треба да направи проценка на одредени карактеристики на пациентите од кои ќе зависат неговите препораки. Оттука, неможе да се препорача една унифицирана техника за сите пациенти, односно избраната техника мора да се прилагодува на потребите на пациентот и условите во усната празнина.

Најчесто препорачани методи за четкање на забите се: Bass-ова техника, Charters-ова техника, кружен (Roll) метод - кружни движења, модифициран Стилманов (Stillman) метод.

Bass-овата техника е широко прифатена како ефикасен метод за отстранување на оралниот биофилм во непосредна близина и директно под работ на маргиналната гингива



Методот по Charters ја истакнува важноста на превенција со примена на апроксимален метод на четкање.

Според Ashley и сор., ниту четкањето во времетраење од четири минути не ја намалува количината на плак која се акумулира на бочните заби и лингвалните површини на забите во споредба со предните заби и букалните површини. Овој податок ни нагласува дека не е важно само времетраењето на четкањето, туку и техниката на четкање како би се добила максимална ефикасност.

И покрај оваа интересна обсервација, Kay и Locker постулирале дека, кога систематски ќе се анализира ситуацијата, се доаѓа до заклучок дека едукацијата за оптимално орално здравје има генерално краток и привремен ефект врз акумулацијата на дентален плак.

Класични клинички студии, изведени од Lang, Kelner и сор., докажуваат дека кај пациенти со здрав пародонт, прецизно и целосно отстранување на денталниот плак секои 24-48 часа е доволно за да се спречи појава на гингивит.

Цел на овој труд е да заземеме дефинитивен став при препораката на соодветна техника за четкање на забите кај пациентите со фикснопротетички помагала.

## **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД**

Во ова истражување беше извршено набљудување на 50 пациенти, без ограничување при половата дистрибуција, на возраст од 30-60 години, кои имаа фикснопротетички надоместоци во бочната регија. Пациентите беа поделени во две групи по 25, при што едната ја користеше Басс-овата техника, додека пак другата ја користеше Чартерсовата техника за четкање на забите. Со цел да се постигнат што поидентични услови при истражувањето, на пациентите им беа издадени идентични четки и пасти за заби.

Фокусот на ова истражување беа три параметри, имено индексите за дентален плак и забен камен според Green-Vermilion, како и индексот за гингивална инфламација според Cowell. Индексите беа нотирани во четири временски интервали: при првата посета, по 15, 30 и 90 дена.

Статистичката анализа е изведена во статистички програм Statistika 7.1 за Windows. Применети се методите на анализа на сериите со одредување на структурата во проценти, преку изработка на Descriptive Statistics. Разликата во вредностите на дентален плак, забен камен и гингивална инфламација се тестирани со Friedman ANOVA (Chi Sqr).

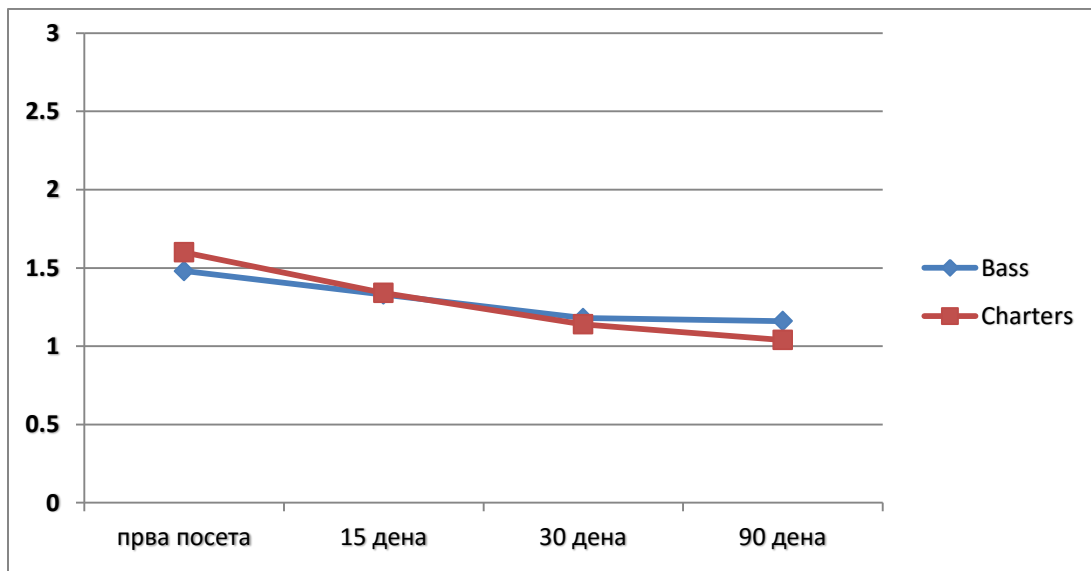
## **РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА**

Од добиените резултати, осознавме дека возраста и полот немаат значајна корелација со крајните резултати, па од таа причина овие параметри беа исклучени од нашата студија.

Индексот за дентален плак (Табела 1. и Графикон 1.) ни укажува дека при последната посета, вредноста изнесувала 1.04 кај пациентите кои ја користеле Charters-овата техника, што е подобрување од 32% во споредба со иницијалната вредност од 1.60. Втората група, која ја користеле Bass-овата техника, покажува подобрување од 22% кога беа споредени вредностите при првата (1.48) и последната посета (1.16). Резултат добен од ова истражување е идентичен со оние извршени од Asadoorian J и Royato-Ferrera M.

Дентален плак низ четирите посети	Прва посета	15 дена	30 дена	90 дена
Bass	1.48	1.33	1.18	1.16
Charters	1.60	1.34	1.14	1.04

**Табела 1. Вредности на индекс за дентален плак кај носачите на фикснопротетички надоместоци при примена на Charters-овата и Bass-овата техника низ четирите посети**

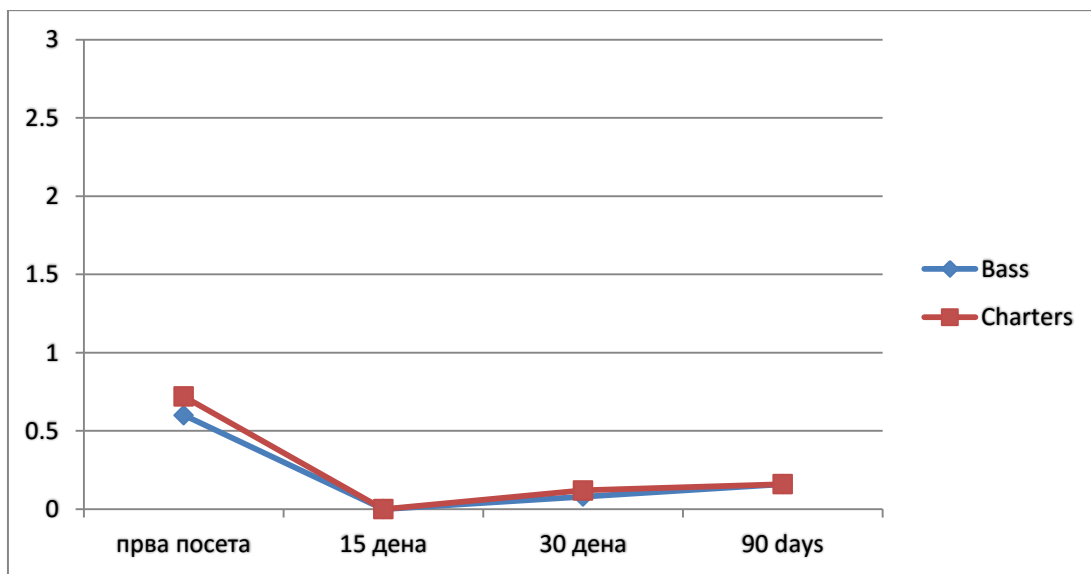


**Графикон 1. Вредности на индекс за дентален плак кај носачите на фикснопротетички надоместоци при примена на Charters-овата и Bass-овата техника низ четирите посети**

Вредностите на индексот за забен камен (Табела 2. и Графикон 2.) е опаднат значително во двете групи. Charters-овата техника покажува подобрување од 77% при компарација на вредностите при првата (0.72) и последната посета (0.16) на истражувањето. Кај Bass-овата техника добивме подобрување од 73% во клиничката слика помеѓу почетната (0.60) и крајната посета, по 90 дена (0.16).

Забен камен низ четирите посети	Прва посета	15 дена	30 дена	90 дена
Bass	0.60	0	0.08	0.16
Charters	0.72	0	0.12	0.16

**Табела 2. Вредности на индекс за забен камен кај носачите на фикснопротетички надоместоци при примена на Charters-овата и Bass-овата техника низ четирите посети**

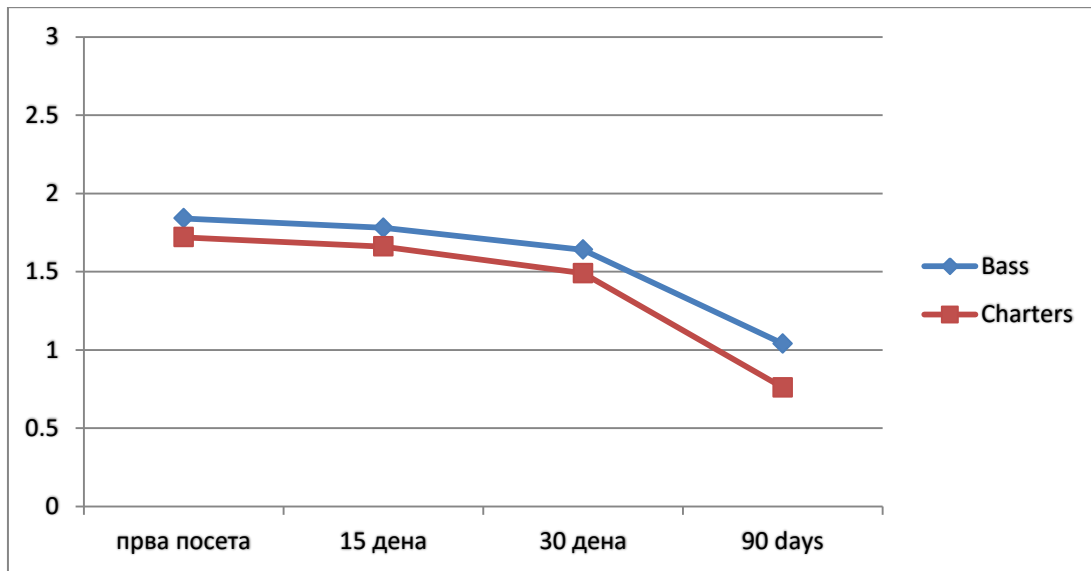


**Графикон 2. Вредности на индекс за забен камен кај носачите на фикснопротетички надоместоци при примена на Charters-овата и Bass-овата техника низ четирите посети**

Последниот испитуван индекс, индексот за гингивална инфламација (Табела 3. и Графикон 3.), исто така покажа подобрување во клиничката слика. Вредностите добиени од пациентите кои ја употребуваа Charters-овата техника опаднаа за 56%, што е значителна вредност кога ќе се споредат иницијалните нотирани вредности (1.72) и крајните резултати (0.76). Од резултатите кај втората група, пациенти кои ја употребуваа Bass-овата техника, можеме да забележиме намалување на вредностите за 43%. Кај овој испитуван индекс почетната вредност изнесуваше 1.84, додека пак крајната нотирана вредност е 1.04. Овој наш резултат соодветствува со резултатите од студијата изведена од Patricia Oehlmeier Nassar.

Гингивална инфламација низ четирите посети	Прва посета	15 дена	30 дена	90 дена
Bass	1.84	1.78	1.64	1.04
Chartres	1.72	1.66	1.49	0.76

Табела 3. Вредности на индекс за гингивална инфламација кај носачите на фикснопротетички надоместоци при примена на Charters-овата и Bass-овата техника низ четирите посети



Графикон 3. Вредности на индекс за гингивална инфламација кај носачите на фикснопротетички надоместоци при примена на Charters-овата и Bass-овата техника низ четирите посети

## ЗАКЛУЧОК

Од добиените резултати, дојдовме до заклучок дека Charters-овата техника е за 41% поефикасна при испитување на индексот за деналниот плак, 21% поефикасна индексот за забниот камен и 17% поефикасна при испитување на индексот за гингивалната инфламација. Сето тоа не води кон нов заклучок дека Charters-овата техника за четкање на забите е најсоодветна техника за четкање на забите кај пациенти носители на фикснопротетички надоместоци. Доколку оваа техника се употребува правилно, пациентите може веднаш да очекуваат позитивни резултати, коешто води кон целовкупно подобрување на нивното орално здравје.

Исто така сакаме да ја потенцираме важноста на стоматолозите и стоматолошките работници, кои мораат да пружаат правилна и континуирана едукација на своите пациенти, потсетувајќи ги за важноста на правилното четкање на забите.

# THE INFLUENCE OF TOOTH BRUSHING TECHNIQUES ON THE ORAL-HYGIENE STATUS ON PATIENTS WITH FIXED PROSTHODONTICS

**Biljana Kapusevska<sup>1\*</sup>, Kristijan Shukov, Jadranka Bundevska<sup>1</sup>, Aneta Mijoska<sup>1</sup>, Marija Andonovska<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Department of Prosthodontics, Faculty of Dental Medicine, UKIM - Skopje, Republic of Macedonia

<sup>2</sup>Department of Diseases of the Teeth and Endodontium, Faculty of Dental Medicine, UKIM - Skopje, Republic of Macedonia

\*Corresponding author:

Biljana Kapusevska, MD, PhD

e-mail: biljanakapusevska@gmail.com

Faculty of Dental Medicine, University St. Cyril and Methodius,

Majka Tereza, PO BOX 17, 1000 Skopje, Republic of Macedonia

Tel: ++ 389 071 722-434

URL: <http://www.stomfak.ukim.edu.mk/>

## ABSTRACT

**Introduction:** Maintaining an optimal oral-hygiene status is a challenge for any patient. These procedures are made even more difficult for patients with fixed prosthodontics. In the available literature there is no consensus on the most appropriate tooth brushing techniques regarding these patients i.e. patients with fixed prosthodontics.

**Goal:** The primary goal is to take a stance regarding which one of the most common tooth brushing techniques (Bass and Charters) suggested by dentist is the most appropriate for patients with fixed prosthodontics. This also correlates with the state of the periodontium and the patient's oral health

**Materials and Method:** The study was conducted on 50 patients with fixed prosthodontics, divided in two groups. One of the groups received instructions on Bass' technique, while the other one received instructions on Charters' technique. The results were noted at four points in time: at the beginning of the study, after 15 days, after 30 days and 90 days on the periodontium of the fixed prosthodontics.

**Results:** From the data we gathered through the course of our study, the biggest improvement, on the periodontium of the fixed prosthodontics was noted with patients from the group using Charters' technique.

**Key words:** tooth brushing techniques, Bass. Charters, fixed prosthodontics, oral health, periodontium.

## INTRODUCTION

Fixed prosthodontics are structures that compensate the lost teeth, by bridging and limiting the defect. These structures, unlike removable prosthodontics, are cemented to the abutment teeth and can only be removed by disassembling them.

In order to determine the oral hygiene status, it's necessary to monitor the condition of the oral hygiene in the oral cavity, including both hard and soft tissues. Poor oral hygiene affects the condition of the teeth and induces caries and can lead to pathological changes of the soft tissue, causing parodontopathy.

As part of the primary prevention of periodontal diseases, daily mechanical removal of dental plaque from the teeth, tongue and adjacent oral tissue is essential. The most widely accepted method for plaque control is the mechanical removal via tooth brushing. It's the most recommended method for maintaining oral hygiene, especially in developed countries. The method itself is considered as the principal method for prevention of oral diseases, including gingivitis and caries. Although its primary function is mechanical removal of plaque, it can be used to apply preventive and chemotherapeutic agents through the tooth paste.

Tooth brushing needs to be mastered in order for it to be effective. Many studies show that if performed once daily, for an average time of two minutes, it only removes 50% of the plaque. For it to be done properly, patients need to receive instructions on the thoroughness, duration, frequency, method and force used. When instructing patients, the patients first and foremost need to be assessed on their specific characteristics, characteristics that directly influence the recommendations of the physician. Hence, a single unified technique can't be recommended to all patients, i.e. the selected technique must adapt to the specific needs of the patients and the condition of their oral cavity.

The most commonly recommended methods for tooth brushing are Bass' technique, Charters' technique, Roll's circular method, Stillman's modified method etc.

Bass' technique is widely accepted as an effective method for removing dental plaque adjacent to and directly below the edge of the marginal gingiva.

Charters' technique emphasizes the importance of the removal of the dental plaque from the aproximal surfaces of the teeth, massaging the gingiva in the process.

According to Ashley et al, even brushing the teeth for four minutes does not diminish the amount of plaque accumulated on the aproximal and lingual surfaces of the teeth. This emphasizes that the duration isn't the key factor in achieving maximum efficiency when it comes to tooth brushing, but a combination of all factors.

Despite this interesting observation, Kay and Locker postulated that educating patients and giving them proper instructions on proper oral hygiene generally has a short term and temporary effect on dental plaque accumulation.

The classical clinical study performed by Lang, Kelner et al. proved that patients with a healthy periodontal tissue, by accurately and completely removing the dental plaque every 24-48 hours will prevent gingivitis.

The goal of the study is to definitively assume a position when recommending a tooth brushing technique to patients with fixed prosthodontics.

## MATERIAL AND METHOD

In this study, 50 patients were observed, from both genders, between the ages of 30 and 60 years, who had fixed prosthodontics in the lateral regions. The patients were divided into two groups consisting of 25 subjects, one using the Bass and the other using the Charters technique. In order to limit the variables, all subjects were issued identical toothbrushes and toothpaste.

The emphasis of the study was on three parameters, namely dental plaque and tartar noted using Green-Vermilion's index, and gingival inflammation using Cowell's index. The indices were noted in four time periods: at the initial visit, after 15, 30 and 90 days.

The statistical analysis was done in the statistical program Statistika 7.1 on Microsoft Windows. The following methods were used: series analysis (%), Descriptive Statistics, as well as Friedman ANOVA's test (Chi Sqr) in testing the differences in the dental plaque, tartar and gingival inflammation values.

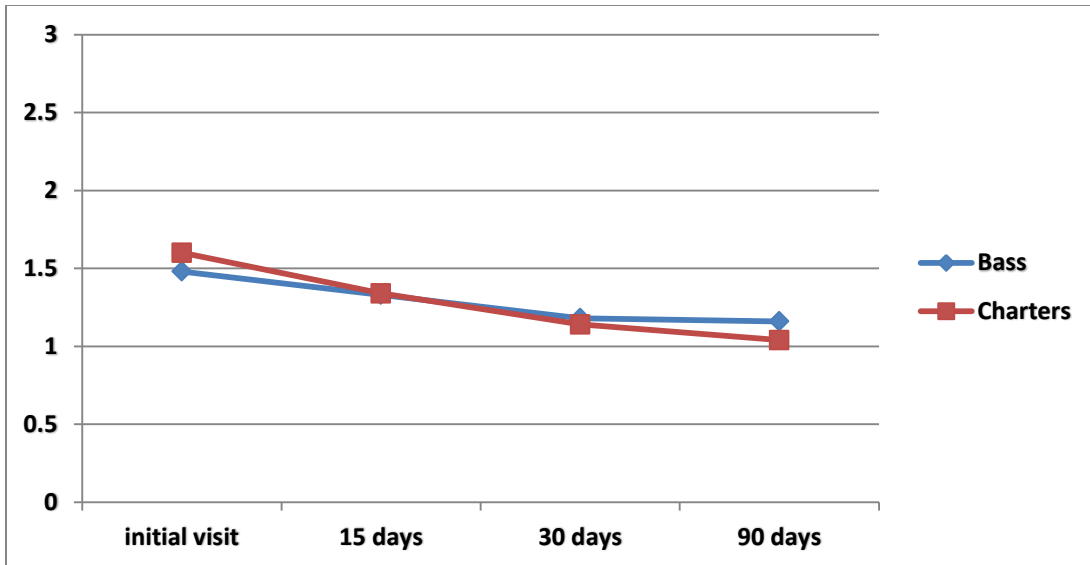
## RESULTS AND DISCUSSION

The age and gender distribution of the subjects, and the final results showed no significant correlation, leading us to removing these parameters as factors in our study.

The dental plaque index results (Table 1 & Graph 1.) showed that at the final visit (1.04) there was an improvement of 32% in the group using Charters' technique compared to their initial visit (1.60). The other group, using Bass' technique, showed improvement of 22% when comparing the initial visit (1.48) to the 90 day mark (1.16), results that are in line with previous studies done by Asadoorian J and Poyato-Ferrera M.

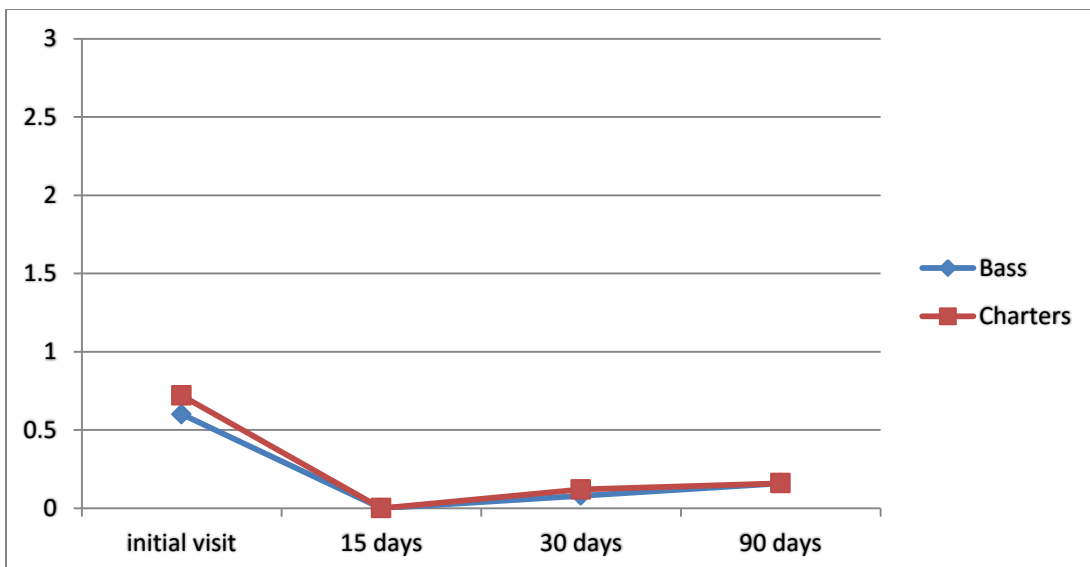
<b>Dental plaque</b>	<b>First visit</b>	<b>15 days</b>	<b>30 days</b>	<b>90 days</b>
<b>Bass</b>	<b>1.48</b>	<b>1.33</b>	<b>1.18</b>	<b>1.16</b>
<b>Charters</b>	<b>1.60</b>	<b>1.34</b>	<b>1.14</b>	<b>1.04</b>

**Table.1 Dental plaque values when using Chartres' and Bass' tooth brushing techniques throughout the four phases**



**Graph.1 Dental plaque values when using Chartres' and Bass' tooth brushing techniques throughout the four phases**

The tartar index (Table 2. & Graph 2.) values dropped considerably in both groups, with the group using Chartres' technique showing an improvement of 77% between initial (0.72) and final stage (0.16), and the Bass technique group showing an improvement of 73% when comparing the first (0.6) to the final (0.16) visit.



**Graph.2 Tartar values when using Chartres' and Bass' tooth brushing techniques throughout the four phases**



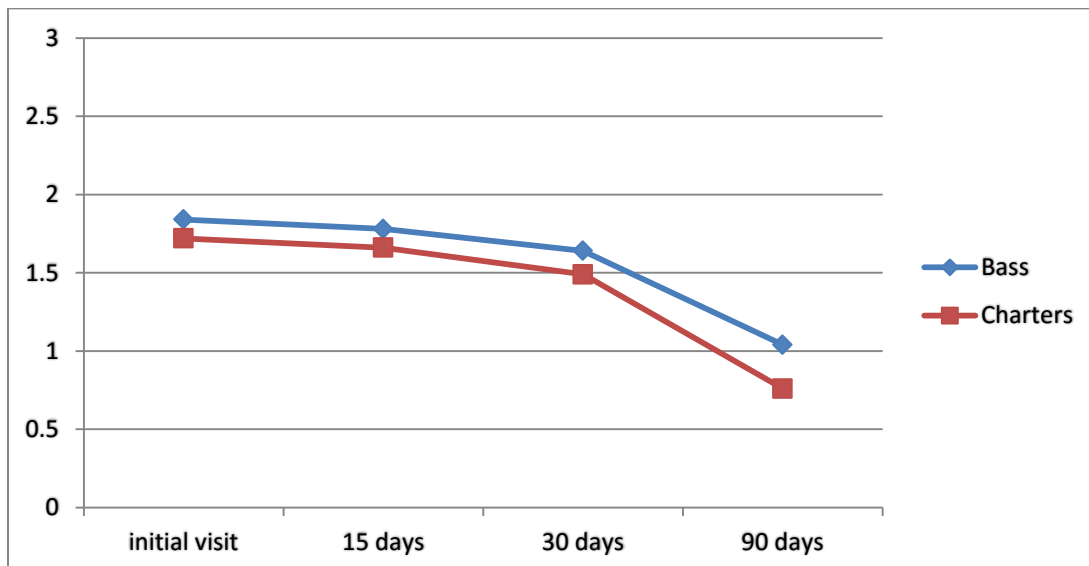
Tartar	First visit	15 days	30 days	90 days
Bass	0.60	0	0.08	0.16
Chartres	0.72	0	0.12	0.16

**Table.2 Tartar values when using Chartres' and Bass' tooth brushing techniques throughout the four phases**

An improvement was noted in gingival inflammation (Table 3. & Graph 3.) as well. The Chartres' group had an improvement of 56%, a significant decrease in the noted values on the initial visit (1.72) when compared to the end result (0.76). Similar results (43%) were observed in the Bass group, where the initial value of the index of 1.84, dropped to 1.04. This final result is in accordance with a study previously conducted by Patricia Oehlmeier Nassar.

Gingival inflammation	First visit	15 days	30 days	90 days
Bass	1.84	1.78	1.64	1.04
Chartres	1.72	1.66	1.49	0.76

**Table.3 Gingival inflammation values when using Chartres' and Bass' tooth brushing techniques throughout the four phases**



**Graph.3 Gingival inflammation values when using Chartres' and Bass' tooth brushing techniques throughout the four phases**

## **CONCLUSION**

Based on the results of this study, we can observe that Charters' technique was 41% more effective in dental plaque control, 21% more effective in tartar control and 17% more effective in reducing gingival inflammation. With this in mind we can conclude that Charters' technique is the most appropriate for patients with fixed prosthodontics. If used properly it can yield very good results short term, and long term, improving the patients overall oral health status.

We would also like to emphasize the importance of the physicians and dental health workers, who need to provide proper and continuous education for their patients, reminding them of the importance of tooth brushing.

## ЛИТЕРАТУРА/ REFERENCES

1. Kapusevska B. - *Technology of fixed prosthodontics (bridges). Magnasken, Skopje 2013: 12-40*
2. Fejerskov O, Kidd E.- *Dental caries-The disease and its clinical management . 2008:4-10*
3. Robinson PG, Deacon SA, Deery C, Heanue M, Walmsley AD, Worthington HV, Glenny AM, Shaw WC. *Manual versus powered toothbrushing for oral health. Cochrane Database Syst Rev. 2005;(2):CD002281*
4. Terezhalmay GT, Bartizek RD, Biesbrock AR. *Relative plaque removal of three toothbrushes in a nine-period crossover study. J Periodontol. 2005;76(12):2230-35*
5. Gupta P, Gupta G. - *Toothbrush and tooth brushing Indian Journal of Dental Sciences 2009;1(2): 5-8*
6. Ashley PF, Attrill DC, Ellwood RP, Worthington HV, Davies RM. *Toothbrushing habits and caries experience. Caries Research 1999;33:401-402*
7. Kay EJ, Locker D. *Is dental health education effective? A systematic review of current evidence. Community Dentistry and Oral Epidemiology 1996;24:231-235*
8. Lang NP, Cumming BR, Loe H. *Toothbrushing frequency as it relates to plaque development and gingival health. Journal of Periodontology 1973;44:396-405*
9. Asadoorian J. *Position Paper on Tooth Brushing. CJDH. 2006; 40(5): 232-248*
10. Poyato-Ferrera M et al - *Comparison of modified Bass technique with normal tooth brushing practices for efficacy in supragingival plaque removal.. Int J Dent Hyg. 2003 May;1(2):110-4.*
11. Patricia Oehlmeyer Nassar et al- *Periodontal evaluation of different tooth brushing techniques in patients with fixed orthodontic appliances. Dental Press J. Orthod. vol.18 no.1 Maringá Jan./Feb. 2013*

# ВЛИЈАНИЕ НА МИНЕРАЛИ И ВИТАМИНИ ВРЗ ОРАЛНОТО ЗДРАВЈЕ

## IMPACTS OF VITAMINS AND MINERALS ON ORAL HEALTH

**Јадранка Бундевска, Билјана Капушевска, Гордана Ковачевска, Ана  
Спировска, Филип Тантуровски**

*Катедра за Стоматолошка протетика, Стоматолошки Факултет, УКИМ - Скопје, Република  
Македонија*

\*Кореспонденција:

Проф. Д-р Јадранка Бундевска  
Стоматолошки факултет, Универзитет “Св. Кирил и Методиј”  
ул. Мајка Тереза 17, 1000 Скопје, Република Македонија  
URL: <http://www.stomfak.ukim.edu.mk/>

### АПСТРАКТ

Оралното здравје се смета за важен дел од целокупната општа здравствена состојба на пациентот.

Цел на трудот е да се согледаат сознанија од автори кои анализирале како определени дози на витамини и минерали ја подобруваат состојбата на оралното здравје кај пациентите.

Материјалот го сочинуваат трудови и податоци пронајдени на интернет, кои се дел од часописи, списанија или онлајн натписи од стручни лица кои се занимавале со тематиката на витамините, минералите и нивното значење како за општото здравје, така и подетално за усната празнина и стоматогнатниот систем. Факторите кои влијаат на оралното здравје се уште не се целосно истражени. Тука спаѓаат: исхраната богата со калциум, фосфор, витамин D, хормонални нарушувања, метаболна коскена болест, одредени бубрежни заболувања, хормонални постменопаузни нерамнотежи кај жените, возраст, пол, околина на живеење, животни навики.

Улогата на стоматологот во делот на оралното здравје е да знае да ги дијагностицира системските фактори кои доведуваат до негово пореметување, а додека пак локалните причинители да знае да ги сведе на најниско можно ниво. Сето ова досега кажано е важно за стоматолошката протетика бидејќи резултира со ресорпција на алвеоларните гребени. Стремежот на секој човек треба да е насочен кон внес на оптимални, а не минимални колични од овие елементи.

**Клучни зборови:** орално здравје, системски фактори, калциум, фосфор, витамин D.

## ВОВЕД

Оралното здравје се смета за важен дел од целокупната општа здравствена состојба на пациентот. Подобрувањето на оралното здравје, а со тоа и квалитетот на живот на пациентот, се главна цел на современата стоматолошка практика. Тоа се состои од излекување на болката, проблемите поврзани со цвакањето, говорот и естетиката.

Светската здравствена организација (SZO) во 1946 година направила пресврт во промоцијата на дефиницијата за здравјето која гласи: „Здравјето е состојба на комплетната физичка, социјална и ментална благосостојба, а не само отсуство на болест и немоќ“.<sup>(1)</sup> Од стоматолошко гледиште ова би значело дека крајната цел на стоматолошкиот третман не е само санирање на кариесот, пародонталната или некоја друга орална болест, туку таа би требало да ги опфати целосната психичка и социјална состојба на пациентот.

Забниот кариес е најчестото заболување на забите и едно од најраспространетите оболувања на човекот. За настанување на кариесот се одговорни бактериите во деналниот плак кои делуваат на метаболизмот на јаглените хидрати, со паѓање на рН вредноста. Важен момент за оваа болест е недостаток на калциум и фосфор во емајлот со негова деминерализација како почетен стадиум во настанувањето на кариесот. Интересен е фактот што овој процес може да биде повратен, доколку дојде до тоа рН вредноста повторно се зголеми. Заради овој факт, кариесот се смета за динамичен процес кој се карактеризира со епизоди на деминерализација и реминерализација, кои се јавуваат во одреден период.<sup>(2)</sup>

Пародонтопатијата или болеста на гингивите е тип на инфекција предизвикана од бактерии кои се наталожуваат во просторот помеѓу забите и непцата и воедно е главниот причинител за рано губење на забите, уништување на виличната коска. Истражувачите веруваат и дека улогата на калциумот во изградбата на коскениот ткиво резултира со формирање на појаки вилични коски со што се зајакнува борбата против болеста на непцата.

Старењето е една голема енигма на животот која претставува еден колективен термин за збир на процеси кои придонесуваат за нарушување на здравјето на една индивидуа која доведува на крај до смрт како крајна последица. Тоа е стабилен, предвидлив процес, во кој се вброени растот и развојот на живите организми, а се објаснува како сложен билошки процес кој предизвикува промени на молекуларно, мобилно и органско ниво. Тие промени се прогресивни и неизбежни за секоја индивидуа, а зависат од генетиката, влијанието на животната средина и начинот на живеење.

## ЦЕЛ НА ТРУДОТ

Цел на трудот е да се согледаат сознанија од автори кои анализирале како определени дози на витамини и минерали ја подобруваат состојбата на оралното здравје кај пациентите.

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

Материјалот го сочинуваат трудови и податоци пронајдени на интернет, кои се дел од часописи, списанија или онлајн натписи од стручни лица кои се занимавале со тематиката на витамините, нивното значење како за општото здравје, така и подетално за усната празнина и стоматогнатниот систем.

## ДИСКУСИЈА

Улогата на стоматологот во делот на оралното здравје е да знае да ги дијагностицира системските фактори кои доведуваат до негово пореметување, а додека пак локалните причинители да знае да ги сведе на најниско можно ниво. Денес на почетокот на дваесет и првиот век, многу малку се знае за тоа кој е најважниот фактор за индивидуалните разлики во нарушување на оралното здравје, па затоа неговата етиологијата и факторите кои влијаат на него се уште не се целосно истражени. Тука спаѓаат: исхраната (Са, Р, вит. D), хормонални нарушувања, метаболна коскена болест (остеопороза), одредени бубрежни заболувања, хормонални постменопаузни нерамнотежи кај жените, возраст, пол, околина на живеење, животни навики.

Системските фактори го контролираат конечниот степен на дијагностицираното орално здравје т.е. тие имаат доминантна улога во подоцнежниот период на манифестација на некое заболување, а додека пак локалните фактори доминираат во првата фаза по вадењето на забите.

Како најраспространет минерал во телото на човекот е калциумот (Са), кој има главна улога во развојот и одржувањето на нормалната функција на коските, а воедно и забите. Активната улога на калциумот во изградбата на коскениот ткиво може да потврди дека калциумот е од особено значење при зајакнување на виличните коски.

Со ниската застапеност во крвта, калциумот се користи од таргет ткивата и наоѓа свој пат до крвта; со висока застапеност во крвта, калциумот повторно се депонира во коските и забите. Кога има недостаток на калциумот во крвта, т.е. неговото ниво е прениско, се чини дека телото прво настојува да го надокнади во ткивото на забите, а потоа во останатите коски. Калциумот е од особено значење за развитокот на цврстиот емајл на забот кај децата, каде што тој делува локално на забите од надвор.<sup>(3)</sup>

Калциумот може да се додаде во исхраната на повеќе начини. Голем број на продукти се богати со калциум, а некој се дополнуваат со калциум за да се олесни соодветниот внес на овој минерал. Тоа се продуктите на сокот од брусница (или коктел во комбинација со други овошја), житариците, вафлите, па се до сокот од портокал и брашното. Исто така може да се внесува преку таблети, сируп и суспензии. Тие мора да се чуваат на собна температура, подалеку од влага и сончева светлина, течните форми не треба да се замрзнуваат. Калциумот најдобро се апсорбира во вид на цитрат, малат или преку одредени видови на сокови. Калциум цитратот го има во антицидите и подобро се апсорбира кога се зема во оброк и многу вода. Препорачлива дневна доза за калциум е: за возрасни 800 mg; за бремени жени и помлади лица 1200 mg.; за лица над 50 годишна возраст 1000

mg. дневно и тоа калциум во комбинација со витамин D. За најдобра апсорпција калциумот треба да се зема max. 500 mg. одеднаш.

Како за сите производи така и за калциумот постојат несакани ефекти. Тој иако покажува големо ниво на толеранција, сепак во големи количини можни се мачнини, вртоглавици, губење на апетит, опстипација, болки во стомакот, жед, сува уста, зголемено мокрење и малаксаност.

Добрата исхрана е важна за сите возрасти со цел да се одржат здрави коските. Со внесот на калциум се намалува губењето на коскената маса и ризикот од фрактури. Во текот на детството калциумот се зема на пример преку млекото и млечните производи, па така густината на коските се зголемува во зрелото доба, а тоа резултира со намалување на ризикот од фрактури во подоцнежниот стадиум од животот. Калциумот исто така е користен и за други органски системи, при што игра улога во намалување на крвниот притисок и нивото на холестеролот. Суплементите на калциумот и витаминот D<sub>3</sub> се корисни во превенцијата на губењето на забите кај возрасните.

Фосфорот (P) има многу близок физиолошки сооднос со калциумот и е веднаш зад него во нашето тело и многу поефикасно се апсорбира во телото и тоа околу 60 - 70%. Тој е важен во минерализацијата на коските, за одржување на одредениот рН на телото и за продукција на енергија. Фосфорот е доста застапен во секојдневната храна, во форма на фосфати, па веројатно затоа се посветува помало внимание на неговиот недостиг. За разлика од калциумот, кај здравиот организам може да се задржи фосфорот во потребната количина во коските, каде што заедно со калциум во форма на хидроксиапатит е важно за градење на истите. Присутен е и во меките ткива и крвта, во форма на фосфопротеини, фосфолипиди и нуклеински киселини.

Во нашата земја не доаѓа до недостаток на фосфор, заради преголемата консумација на храна. Но, недостаток може да се случи само со глад, при што доаѓа до губење на коскената густина, остеопороза и зголемена можност за фрактури на коските, а посебно на мандибулата. Многу растителни храни содржат малку биоактивен фосфор, но тоа не значи дека луѓето кои јадат многу растителна и непреработена храна доведува до недостаток на фосфорот.

Европската управа за безбедност на храната (EFSA) за користење ја означува истата, како добар извор на фосфор за подобрување на здравјето тврдејќи дека со неа се: придонесува кон нормални енергетски постигнувања на метаболизмот, има улога во функционирањето на клеточните мембрани, помага да се задржат здрави коските и придонесува за одржување на здрави заби.

Важно е да се нагласи дека возрасните во ЕУ во просек дневно внесуваат помеѓу 1017 и 1422 mg. фосфор, што е далеку над препораките. За здравјето на коските е од клучно значење соодветна рамнотежа на калциум и фосфор.

Забите можат да бидат цврсти и стабилни само во здрава коска и во здрав пародонтален апарат, како би можеле да се класифицираат како добра потпора на цвакалниот систем. Витаминот D игра улога во подршка за целокупното превенирање на здравјето на мускулоскелетниот систем, вклучувајќи ги и вилиците и непцата. Недостаток на витамин D може да допринесе за губење и омекнување на коскените структури (остеопороза, остеопенија), како и до настанување и развој на хронични воспалителни болести предизвикани од пореметена рамнотежа на минералите (на пример калциум апсорпција).

Неодамнешните студии ја истражувале поврзаноста на густината на коската на вилицата (алвеоларната коска), остеопорозата и губитокот на забите. Тие дошле до заклучок дека здравјето на пародонталниот апарат зависи од високата концентрација на витаминот D во крвта<sup>(4-6)</sup> Освен тоа, статусот на витаминот D исто така изгледало дека е клучен за успешно заздравување по операција заради воспалителните промени во непцата (периодонтитис).<sup>(7)</sup> Пациентите со хроничен периодонтитис имале бенефит од додатно примениот витамин D во комбинација со калциум.<sup>(8)</sup> Како и да е во основа е важно добро снабдување со витаминот D кое се препорачува за спречување на пореметувања во вилиците и пародонталниот апарат.

Како дел од имунозацврстувачките анти-инфламаторни својства на основата на витаминот D, имунолошката одбрана на гингивата против инфламаторните микроорганизми исто така е поврзана со некои конкретни видови на гени (полиморфизам) на витаминските D рецептори (ВДР). Па така истражувачите откриле дека имало луѓе со делимичен ВДР полиморфизам кои пателе од хронична агресивна пародонтопатија.<sup>(9)</sup> Се претпоставува дека витаминот D индицира синтеза на антимикробен пептид преку врските со ВДР.

Трудните жени често патат од крварења на непцата или од инфламација на непцата и периодонтот. Студиите покажале дека освен запоставената орална хигиена и посетата на стоматолог, добрата подршка на витамин D исто така може да биде корисна за превенција на инфламацијата.<sup>(10)</sup> Оптимален статус на витамин D е од корист не само за трудните жени, туку исто така и за нивното потомство. Резултатите од истражувањата покажале дека децата на возраст од 9 до 23 месеци кои имале мајки со добро ниво на витамин D во крвта, имале значајно помалку застапеност на кариес.<sup>(11,12)</sup>

Витаминот D<sub>3</sub> познат е во историјата на медицината како "анти" или популарно познат како "сонце" витамин. Овој витамин има големо влијание на физичките процеси, а особено во метаболизмот на калциум, неговата рамнотежа во телото, ја подобрува неговата експлоатација на дигестивниот систем и е важен за нормален раст и минерализација на коските и забите. Витаминот D<sub>3</sub> се произведува од ултравиолетовата светлина (од сончевата светлина) и зависи од периодот на денот, сезоната, пигментацијата на кожата, околината на живеење. Производството на витаминот D<sub>3</sub> може да се намали или воопшто да го нема во текот на зимата. Преку храната тој се наоѓа во масната риба - скуша, лосос, туна, го има во млекото, сокот од портокал и житариците. Многу е тешко да се добие потребниот износ на витаминот од храната, па затоа додатоките се неопходни за здравјето на коските (мултивитамински суплементи на калциум).

Витаминот D<sub>3</sub> игра голема улога во заштитата на коските на телото. Децата имаат потреба од овој витамин за да се оформат нивните коски во силни и цврсти коски, а кај возрасните тоа им користи во одржување на цврстината и здравјето на коскената структура на нивните организми.

Потребното количество на витамин D<sub>3</sub>: за возрасни до 50 години 400 - 800 IU дневно; за над 50 години 800 - 1000 IU дневно. Некои луѓе имаат потреба од повеќе витамин D<sub>3</sub>, па така горната граница изнесува 4000 IU на ден, одредено од страна на институтот за медицина (ИОМ).

Антиоксидантот витамин E и C, исто како и каротеноиди (бета-каротен) го неутрализираат оксидативниот стрес во сите клетки и ткива на организмот. Па



така тие служат за да го засилат имуниот отпор на гингивата преку антиоксидансите и да делува против инвазијата на микроорганизми во мукозната мембрана на устата. Студиите наоѓале поврзаност помеѓу ниското ниво на антиоксидансите во серумот и зголемената појава на парадонтитис.<sup>(13,14)</sup> Недоволното ниво на витамин С представува ризик за настанување на болести на гингивата и пародонталниот апарат. Од друга страна, добрата снабденост на организмот со витамин С може да ги спречи тие болести.<sup>(15,16)</sup> Едно типично значајно пореметување од недоволно количество на витамин С во организмот е болеста скорбут, додека пак најблагоото типично пореметување е гингивитисот.

Пореметената синтеза на DNA како резултат на витаминот B<sub>12</sub> и недостатокот на фолати може да доведе до алтерација на забрзано делење на епителните клетки во слuzницата на устата. Типичен недостаток на витамин B<sub>12</sub> може да предизвика црвен, отечен и воспален јазик, испукана усна и аглите на усната, како и пореметување во осетот за вкус.<sup>(17,18)</sup>

Локално делувачките флуориди го прават клучниот елемент за зачувување на здравјето на забите и штитат од настанување на кариес и напад од киселини. Флуоридните јони го зајакнуваат тврдото забно ткиво со нивно депонирање во емајлот на забот со што се спречува пореметување на балансот на депонираниот калциум во забното ткиво.<sup>(19)</sup> Постојат и индикации дека флуоридите можат да го инхибираат метаболизмот на бактериите кои го предизвикуваат кариесот, така што произведуваат помалку органска киселина која го напаѓа емајлот на забот.<sup>(20)</sup>

## ЗАКЛУЧОК ОД ПРОТЕТИЧКО ГЛЕДИШТЕ

Сето ова досега кажано е важно за стоматолошката протетика бидејќи резултира со ресорпција на алвеоларните гребени. Ресорпцијата во мандибулата е два пати поголема во однос на максилата во првата година по екстракцијата, а односот на ресорпција се зголемува во сооднос 4:1 по 7 години. Бидејќи постои физиолошка ресорпција, процесот на зараснување никогаш не завршува како *restitutio ad integrum* на предходниот алвеоларен коскен волумен.

Според резултатите од некои автори, ресорпцијата на алвеоларниот гребен запира по 10 години во горната вилица, а продолжува континуирано во долната вилица, со просечна ресорпција од 1 mm. годишно. Затоа велеме дека ресорпцијата на алвеоларниот гребен е сериозен клинички проблем, особено кај постарите лица, бидејќи тоа доведува до намалување на ретенцијата и стабилизацијата на горната и долната тотална протеза.

Законот на коскените трансформации според Wolf (1892) гласи дека: „Коската постојано се преобликува како резултат на физиолошките процеси кои вклучуваат апозиција на нова коска и ресорпција на постоечката коска. Промените во функцијата на коската се производ на прилагодливи промени во трабекуларната архитектура и нејзината надворешна форма“.

Тестирана е хипотеза дека дневната количина на калциум, фосфор и витамин D<sub>3</sub> има тенденција за намалување на стапката и степенот на ресорпција на алвеоларниот гребен по екстракција на забите. Постои позитивна корелација помеѓу тешка ресорпција и комбинација на низок внес на калциум и оскудна исхрана со калциум - фосфор сооднос во исхраната. Исто така постои позитивна корелација помеѓу минималната ресорпција и комбинација на висока доза на

калциум и односот на калциум - фосфор во исхраната. Витаминот D<sub>3</sub> пак е од суштинско значење за апсорпција и метаболизам на калциум. Дневни дози од 750 mg. за калциум и 375 IU на витамин D<sub>3</sub> резултира со 34% намалена ресорпција на горната вилица и 39% помала во долната вилица. Стапката и сериозноста на ресорпцијата на алвеоларниот гребен е поврзана со адекватноста на внесот на калциум и соодносот на калциум - фосфор во исхраната. Значителен степен на заштита од ресорпција на алвеоларната коска може да биде стекнато со доследна примена на додаток кој содржи калциум и витамин D<sub>3</sub>. Врз основа на резултатите од стоматолошките прегледи, процената на панорамските рентген слики и вкупното ниво на калциум и фосфор со користење на калориметарски метод пропишани се дневните дози од: калциум 750 -1000 mg., фосфор 1000 - 1300 mg. и витамин D<sub>3</sub> 375 - 400 IU.

Стремежот на секој човек треба да е насочен кон внес на оптимални, а не минимални колични од овие елементи. Реминерализацијата на ресорбираните резидуални гребени ќе ја помогнеме со додавање на 3 gr. калциум, 1,5 gr. магнезиум, 120 mg. калиум и 400 IU витамин D<sub>3</sub>. Протетичарот треба да е запознаен со оваа проблематика кај своите пациенти и да се насочи кон подобрување на нивните услови за во иднина да се изработат соодветни тотални протези.

## IMPACTS OF VITAMINS AND MINERALS ON ORAL HEALTH

**Jadranka Bundevska, Kapusevska Biljana, Kovacevska Gordana,  
Spirovska Ana, Tanturovski Filip**

Department of Prosthodontics, Faculty of Dental Medicine, UKIM - Skopje, Republic of Macedonia

\*Corresponding author:

Jadranka Bundevska

Faculty of Dental Medicine, University St. Cyril and Methodius,

Majka Tereza, PO BOX 17, 1000 *Skopje*, Republic of Macedonia

URL: <http://www.stomfak.ukim.edu.mk/>

### ABSTRACT

Oral health is considered an important part of the overall general health of the patient.

Aim of the paper is to consider the findings of the authors analyzed how certain do vitamins and minerals improve the state of oral health in patients.

The material consists papers and data found on the Internet that are part of a journal, magazine or online articles from experts who have dealt with the subject of vitamins, minerals and their significance as for general health and detail of the oral cavity and stomatognathic system.

Factors affecting oral health are not yet fully explored. These include a diet rich with calcium, phosphorus, vitamin D, hormonal disorders, metabolic bone disease, certain kidney diseases, hormonal imbalances postmenopausal women, age, sex, area of residence, lifestyle.

The role of the dentist in the area of oral health is to know how to diagnose systemic factors that lead to its disorder, and while local agents know to reduce to the lowest possible level.

All this that was said is important for dental prosthetics because it affect resorption of alveolar ridges.

Every person should be directed to the optimal intake, not minimum quantities of these elements.

**Keywords:** oral health, systemic factors, calcium, phosphorus, vitamin D.

## INTRODUCTION

Oral health is considered as an important part of the overall general health of the patient. Improving oral health and thus the quality of life of the patient, are the main target of the modern dental practice. It consists of healing the pain, problems with chewing, speech and aesthetics.

The World Health Organization (SZO) in 1946 made a breakthrough in promoting the definition of health which was: "Health is a state of complete physical, social and mental well-being, not only missing of disease and infirmity."<sup>(1)</sup> From the dental point of view this would mean that the ultimate goal of dental treatment is not only restoring the caries, periodontal or other oral disease, but it's supposed to contain full mental and social condition of the patient.

Dental caries is the most common disease of the teeth and one of the most widespread illnesses of man. Bacteria are responsible for dental plaque, which affect the metabolism of carbohydrate hydrated, with falling pH. An important moment for this disease is lack of calcium and phosphorus in the enamel that affect on its demineralization and resulting like an initial stage in the incidence of cavities. An interesting fact is that this process could be recovered, with increasing the pH value. Because of this fact, caries is considered a dynamic process that is characterized by episodes of demineralization and remineralization that occur in a certain period.<sup>(2)</sup>

Parodontopathy or gum disease is a type of infection caused by bacteria that accumulate in the space between the teeth and gums and it is the main cause of early tooth loss and destruction of the jawbone. Researchers believe that the role of calcium in building bone tissue resulting in the formation of stronger jaw bones which strengthens the fight against the disease of the gums.

Aging is a big enigma of life, which is a collective term for a set of processes that contribute to the deterioration of the health of an individual, leading eventually to death as the ultimate consequence. It is a stable, predictable process which was calculating growth and development of living organisms, and explains how complex is biological process that causes changes in the molecular, cellular and organ level. This change is progressive and unavoidable for every person and depends on genetics, environmental impact and lifestyle.

## AIM

The aim of the paper is to consider the findings of authors that analyzed the influence of certain doses of vitamins which improve the state of oral health in patients.

## MATERIAL AND METHOD

The material consists papers and data found on the internet that are part of a journal, magazine or online articles from experts who have dealt with the subject of vitamins, their importance as for general health as well as details about the oral cavity and stomatognathic system.

## DISCUSSIONS

The role of the dentist in the area of oral health, is to know how to diagnose systemic factors that lead to its disorder, and while local agents know to reduce to the lowest possible level.

Today, at the beginning of the twenty-first century, we have a little information about the most important factor for individual differences in the disruption of oral health. The etiology and factors that affect oral health are not yet fully explored. These include: nutrition (Ca, P, vit. D), hormonal disorders, metabolic bone disease (osteoporosis), certain renal diseases, hormonal imbalances postmenopausal women, age, sex, area of residence, lifestyle.

Systemic factors control the final level of oral health i.e. they have a dominant role in the later period of the manifestation of a disease, and while local factors dominated in the first phase after extraction of teeth.

As the most widespread mineral in the human body is calcium (Ca), which plays a major role in developing and maintaining the normal function of bones, as well as teeth. The active role of calcium in building bone tissue can confirm that calcium is essential in strengthening the jaw bones.

The low representation in the blood, calcium is used by target tissues and finds its way to the blood; with the high level of calcium in the blood, through the specific way, it goes back in bones and teeth. When there is a lack of calcium in the blood, ie its level is too low, it appears that the body first tries to catch up in the tissue of the teeth, and then the remaining bones. Calcium is essential for the development of solid enamel of teeth in children, where it acts locally on the teeth from the outside.<sup>(3)</sup>

The calcium could be added to the diet in many ways. A number of products are rich in calcium and some of them complement with calcium to facilitate adequate intake of this mineral. These are products of cranberry juice (or cocktail in combination with other fruits), cereal, waffles, orange juice and flour. It can also be administered via tablets, syrup and suspensions. They must be kept at room temperature away from moisture and sunlight, the liquid forms should not be frozen. Calcium is best absorbed in the form of citrate, malate or by certain types of juices. Calcium citrate is contained in antacid and it is better absorbed when taken in a meal and plenty of water. Recommended daily intake of calcium is: adult 800 mg.; for pregnant women and young people 1200 mg.; for persons over the age of 50, 1000 mg. daily and calcium in combination with vitamin D. For best absorption of calcium should be taken max. 500 mg. at once.

There are side effects of calcium, also like for all other derivatives. It shows little tolerance, however in large quantity are possible: nausea, dizziness, loss of appetite, constipation, abdominal pain, thirst, dry mouth, increased urination and fatigue.

Good nutrition is important for all ages in order to maintain healthy bones. With the intake of calcium, we reduce bone loss and fracture risk. During childhood calcium is taken by dairy products, so bone density increases in adulthood, which results in reducing the risk of fractures in later stages of life. Calcium is also used for other organ systems, which play a role in reducing blood pressure and cholesterol. Supplements of calcium and vitamin D<sub>3</sub> are useful in the prevention of tooth loss in adults.

Phosphorus (P) has a very close physiological relation to calcium and is right behind him in the body and efficiently absorbed by the body, around 60-70%. It is important in bone mineralization, to maintain the specified pH of the body for energy

production. Phosphorus is very prevalent in our daily food, in the form of phosphates, and probably therefore pays less attention to its scarcity. Unlike calcium, phosphorus can keep in the required amount to the bones in a healthy, where together with calcium in the form of hydroxyapatite play an important role for building the bone tissue. It is presented in the blood and soft tissues in the form of phosphoproteins, phospholipids and nucleic acids.

In our country it comes to lack of phosphorus because of excessive consumption of a food. But deficiency can occur only hunger, with a loss of bone density, osteoporosis and increased possibility of bone fractures, especially of the mandible. Many plant foods contain little bioavailable phosphorus, but it does not mean that people who eat a lot of plant and unprocessed food leads to a shortage of phosphorus.

European Authority for Food Safety (EFSA) to use marks it as a good source of phosphorus for improving health arguing with her: contributes to normal energy achievements metabolism plays a role in the functioning of cell membranes, helping to maintain healthy bones and helps to maintain healthy teeth.

It is important to emphasize that the adults in the EU have an average daily inserts between 1017 and 1422 mg. of phosphorus, which is well above recommendations. For bone health it is important to have proper balance of calcium and phosphorus.

The teeth can be firm and stable only in healthy bone and healthy periodontal apparatus, so that they could be classified as a good grip of the masticatory system. Vitamin D plays a role in preventing support for overall health of the musculoskeletal system, including dentures and gums. Vitamin D deficiency may contribute to softening and loss of bone structure (osteoporosis, osteopenia), and the occurrence and development of chronic inflammatory diseases caused by debalanced minerals (for example calcium absorption). Recent studies have investigated the relationship of the density of the jawbone (alveolar bone) osteoporosis and loss of teeth. They came to the conclusion that the health of paradoncium depends on a high concentration of vitamin D in the blood (4-6) In addition, vitamin D status also appeared to be a key to successful recovery after surgery because of inflammatory changes in the gums (periodontitis).(7) Patients with chronic periodontitis had received additional benefits from vitamin D combined with calcium.(8) However, it is basically important that good supply of vitamin D is recommended for the prevention of disorders in the jaws and periodontal apparatus.

As part of anti-inflammatory properties on the basis of vitamin D, immune defense against inflammatory gingival microorganisms is also associated with some types of specific genes (polymorphism) of the vitamin D receptor (VDR). So researchers found that there were people with partial VDR polymorphism who suffered from chronic aggressive paradontopathy.(9) It is assumed that vitamin D indicate synthesis of the antimicrobial peptide through links with VDR.

Pregnant women often suffer from bleeding gums or gum inflammation and paradontopathy. Studies have shown that despite of neglected oral hygiene and visit of the dentist, good support of vitamin D can also be useful for the prevention of inflammation.(10) Optimal vitamin D status is beneficial not only for pregnant women, but also for their offspring. The results showed that children aged 9 to 23 months who had mothers with a good level of vitamin D in their blood were significantly less prevalence of caries.(11,12)

Vitamin D<sub>3</sub> is known in medical history as "anti" or popularly known as the "sunshine" vitamin. This vitamin has a major impact on physical processes, especially in the metabolism of calcium, its balance in the body, improves its exploitation of the digestive system and is important for normal growth and mineralization of bones and teeth. Vitamin D<sub>3</sub> is produced by ultraviolet light (sunlight) and depends on the time of day, season, skin pigmentation, surrounding the residence. Production of vitamin D<sub>3</sub> may be reduced or may be canceled in the winter. Through the food it is founded in oily fish - mackerel, salmon, tuna, can be found in milk, orange juice and cereals. It is very difficult to get the required amount of vitamins from food, so supplements are necessary for bone health (multivitamin supplements of calcium).

Vitamin D<sub>3</sub> plays a major role in protecting the bones of the body. Children need vitamin D to form their bones strong and in adults it will be useful in maintaining the strength and health of the bone structure of their organisms.

The required amount of vitamin D<sub>3</sub>: Adult 50 years 400 - 800 IU daily; for over 50 years 800 - 1000 IU per day. Some people need more vitamin D<sub>3</sub>, so the upper limit is 4000 IU a day designated by the Institute of Medicine (IOM).

Antioxidants vitamin E and C, as well as carotenoids (beta-carotene) neutralize oxidative stress in all cells and tissues of the body. So they serve to enhance the immune response of the gingiva through antioxidants and act against invading microorganisms in the mucous membrane of the mouth. Studies have found an association between low levels of antioxidants in serum and increased occurrence of periodontitis.<sup>(13,14)</sup> Insufficient levels of vitamin C represents a risk for the occurrence of diseases of the gums and periodontal apparatus. On the other hand, the good supply the body with vitamin C can prevent these diseases.<sup>(15,16)</sup> There is one typically significant disorder of insufficient amount of vitamin C in the body that is called scurvy, while also there is typical light disease that is called gingivitis.

Impaired synthesis of DNA due to vitamin B<sub>12</sub> and folate deficiency can result in alteration of the rapidly dividing epithelial cells in the mucosa of the mouth. A typical vitamin B<sub>12</sub> deficiency can cause a red, swollen and inflamed tongue, cracked lip corners of the mouth, and disturbance in sense of taste.<sup>(17,18)</sup>

Locally acting fluorides make key element for maintaining the health of teeth and protect against the occurrence of caries and attack by acids. Fluoride ions strengthen the hard dental tissue, they are deposited in the enamel of the tooth which prevents disorders of deposited calcium in the gum tissue.<sup>(19)</sup> There are indications that fluoride can inhibit the metabolism of bacteria that cause cavities, so that they produce less organic acid that attacks the enamel of the tooth.<sup>(20)</sup>

## **CONCLUSION OF PROSTHETIC VIEW**

All this that has been said is important for dental prosthetics because it resulting in resorption of alveolar ridges. Resorption in the mandible is twice higher than the maxilla in the first year after the extraction, and the absorption increases in the ratio of 4:1 in 7 years. Because there is a physiological resorption, process of healing never ends as restitution ad integrum of the previous alveolar bone volume.

According to the results of some authors, resorption of alveolar ridge stops after 10 years in the upper jaw, and goes continuously in the lower jaw, with an average absorption of 1 mm. per year. Therefore, we say that the resorption of alveolar ridge is a serious clinical

problem, especially in the elderly, because it leads to reduced retention and stabilization of the upper and lower dentures.

Law of bony transformations according Wolf (1892) says that: „The bone constantly reshaped as a result of physiological processes, involving the new bone apposition and resorption of existing bone. Changes in the function of bone are the product of adaptive changes in trabecular architecture and its external form. “

It has been tested a hypothesis that the daily amount of calcium, phosphorus and vitamin D<sub>3</sub> tends to reduce the rate degrees of alveolar ridge resorption after tooth extraction. There is a positive correlation between resorption and difficult combination of low calcium intake and poor food intake of calcium - phosphorus ratio in the diet. There is also a positive correlation between the minimum resorption and a combination of high calcium intake and the ratio of calcium - phosphorus intake. Vitamin D<sub>3</sub> is essential for the absorption and metabolism of calcium. Daily doses of calcium are 750 mg. and 375 IU of vitamin D<sub>3</sub>, resulting in reduced absorption between 34% to 39% per lower mandible. Rate of absorption of alveolar ridge is related to the adequacy of calcium intake ratio of calcium - phosphorus intake. Significant degree of protection against resorption of alveolar bone can be gained by consistently applying a supplement containing calcium and vitamin D<sub>3</sub>. Based on the results of dental examinations, assessment of panoramic X-ray images and the overall level of calcium and phosphorus with using of calorimetrical method. There are summarized daily doses of calcium: 750 - 1000 mg., phosphorus 1000 - 1300 mg. and vitamin D<sub>3</sub> 375 - 400 IU.

Striving of every person should be directed to the optimal intake, not minimum quantities of these elements. Remineralization of resorbed residual ridges will be helped by adding 3 gr. calcium, 1.5 gr. magnesium mg., 120 mg. kalium and 400 IU vitamin D<sub>3</sub>. Prosthodontics should be informed with this issue of their patients and should be focused on improving their living conditions in the future to develop appropriate dentures.



## ЛИТЕРАТУРА/ REFERENCES

1. World Health Organization. Constitution of the World Health Organization. Geneva: World Health Organization, 1948.
2. <http://www.stetoskop.info/Zubni-karijes-378-s1-content.htm>
3. Navia J. M. Nutrition in dental development and disease. *Hum Nutr.* 1979; 1:333-362.
4. Stein S. H. and Tipton D. A. Vitamin D and its impact on oral health -an update. *J Tenn Dent Assoc.* 2011; 91(2):30-33; quiz 34-35.
5. Al Habashneh R. et al. Association between periodontal disease and osteoporosis in postmenopausal women in Jordan. *J Periodontol.* 2010; 81(11):1613-1621.
6. Moedano D. E. et al. Osteoporosis, the risk of vertebral fracture, and periodontal disease in an elderly group in Mexico City. *Gerodontology.* 2011; 28(1):19-27.
7. Bashutski J. D. et al. The impact of vitamin D status on periodontal surgery outcomes. *J Dent Res.* 2011; 90(8):1007-1012.
8. Garcia M. H. et al. One-year effects of vitamin D and calcium supplementation on chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2011; 82(1):25-32.
9. Martelli F. S. et al. VDR TaqI polymorphism is associated with chronic periodontitis in Italian population. *Arch Oral Biol.* 2011.
10. Boggess K. A. et al. Vitamin D status and periodontal disease among pregnant women. *J Periodontol.* 2011; 82(2):195-200.
11. Schrott R. et al. Influence of maternal vitamin D status on infant oral health. Abstract No. 1646; *Internat. Assoc for Dental Research.* 2008.
12. Schrott R. et al. Prevalence of Caries among Preschool-Aged Children in a Northern Manitoba Community: *J Can Dent Assoc.* 2005; 71(1):27.
13. Chapple I. L. et al. The prevalence of inflammatory periodontitis is negatively associated with serum antioxidant concentrations. *J Nutr.* 2007; 137(3):657-664.
14. Linden G. J. et al. Antioxidants and periodontitis in 60-70-year-old men. *J ClinPeriodontol.* 2009; 36(10):843-849.
15. Staudte H. et al. Vitamin C attenuates the cytotoxic effects of *Porphyromonasgingivalis* on human gingival fibroblasts. *Arch Oral Biol.* 2010; 55(1):404-405.
16. Amaliya, Timmerman M. F. et al. Java project on periodontal diseases: the relationship between vitamin C and the severity of periodontitis. *J ClinPeriodontol.* 2007; 34(4):299-304.
17. De Rossi S. S. et al. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod.* 2003; 95(2):131-141.
18. Red-blue lesions. In: Regezi J. A. et al. *Oral pathology: clinical pathologic correlations.* Philadelphia: Saunders; 2007. 107-125.
19. Navarro M. et al. Calcium Fluoride Uptake by Human Enamel after Use of Fluoridated Mouth rinses. *Braz Dent J.* 2001; 12(3):178-182.
20. CDC Centers for Disease Control and Prevention: Recommendations for Using Fluoride to prevent and Control Dental Caries in the United States, *MMWR Recommendations and Reports August 1 2001/50(RR14);* 1-42

# ДАРК - ПРОМОТОР ХИПЕРМЕТИЛАЦИОНЕН ГЕН КАЈ ОРАЛНИОТ ПЛАНОЦЕЛУЛАРЕН КАРЦИНОМ

## ДАРК - PROMOTOR HYPERMETHYLATION GENES IN ORAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA

Двојаковска С., Грчев А., Поповиќ- Монеvsка Д., Поповски В., Панчевски Г.,  
Бенедети А.

*Универзитет,, Св. Кирил и Методиј,, Скопје, Стоматолошки факултет  
ЈЗУ У Клиника за максилофацијална хирургија*

### АПСТРАКТ

Протеин киназата асоцирана со апоптоза (Death-associated protein kinase, DAPK) е сугериран како тумор- супресивен ген, специфичен за оралниот карцином и поради неговата висока инциденца на хиперметилација кај карциномите е предложен за потенцијален биомаркер. DAPK се користи како туморски маркер во стратегијата на молекуларна детекција на OSCC.

**Целта** на оваа студија беше да се испита статусот на DAPK промотор гените и да се востанови нивната можна улога во туморигенезата, развоотј и дијагнозата кај пациенти со OSCC.

**Материјал и методи:** Спроведовме проспективна студија и молекуларни анализи кај 60 пациенти, проследени според хируршкиот протокол за карциноми. Секој од испитаните транскрипти беше спореден помеѓу трите групи на биоптични материјали: туморско ткиво и контралатерално нормално ткиво и од здрави индивидуаи.

**Резултати:** DAPK- тумор супресорните гени се метилирани во 75% од примероците во туморското ткиво, што ја потврдува хиперметилацијата како клучен играч во оралната карциногенеза. Во контралатералните ткива регистриравме фреквенции на DAPK кај 33,3%. Сите DAPK гени се конзистентно (неметилирани) во здравите примероци, најчесто хиперметилирани во туморите и често во контралатералните нормални примероци, со што се нагласува нивната улога на потенцијални биомаркери за OSCC. DAPK промотор хиперметилацијата покажа позитивна предиктивна вредност во откривањето на OSCC од 89,6%.

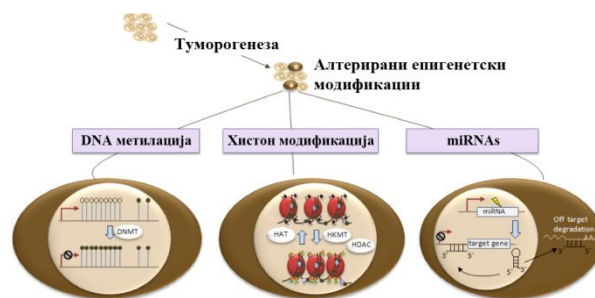
**Заклучок:** ДНК метилационите модели на DAPK промотор гените, покажа карактеристичен модел со големо значење за оралната карциногенеза. Ја потврдивме туморската хетерогеност и улогата на DAPK како непобитен фактор во иницијалната и развојната орална карциногенеза.

**Клучни зборови:** орален карцином, епигенетика, ДНК метилација, DAPK тумор-супресорни гени

## ВОВЕД

Карциномот на глава и врат (HNSC) е шеста најчеста малигна неоплазма во светот, а најчеста негова форма (96 %) отстајува на оралниот карцином (OSCC). Според Association of American Cancer Institutes (AACI), неговата инциденца се зголемила за околу 25% во последните 5 години, поради што OSCC е еден од главните светски здравствени проблеми во текот на изминатата деценија. Третманот подразбира ексцизија на туморот, придружена со дисекција на вратот, зрачна терапија, а во напредните стадиуми и хемотерапија. Пациентите подлежат на високо мутилантни хируршки и радио/хемо терапии, што доведува до губиток на оралните ткива отежнат говор и исхрана и многу лош квалитет на живот<sup>2,6,23</sup>. Меѓутоа, кога се користи и најдобрата комбинација на хируршки и нехируршки пристапи, повеќе од 50% од пациентите со OSCC доживуваат релапс и голема стапка на смртност, што го прави оралниот карцином "главен убиец" на модерните времиња. Во последната деценија прогресот во генетиката нуди можности за подобро разбирање на молекуларна патогенезата на карциномите и можност за нивно рано откривање, дијагностицирање и терапија.

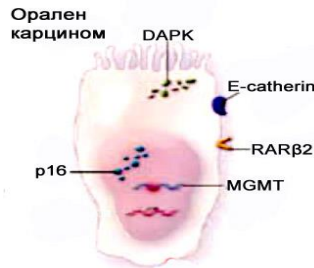
Од аспект на молекуларна биологија, неопластичната трансформација е повеќестепен процес на ткивни хомеостатски нарушувања, која се карактеризира со генетски и епигенетски промени, а нивната прогресивна акумулација доведува до малигна трансформација на нормалните клетки. Генетските алтерации предизвикуваат неповратни промени во ДНК секвенцата, а терминот "епигенетика" ги дефинира сите наследни промени во генската експресија и хроматинската структура кои не се шифрирани-променети во ДНК секвенцата. Сите диференцијациони процеси се активираат и одржуваат преку епигенетски механизми, кои вклучуваат: ДНК метилација, хистонска модификација и РНК. Тие овозможуваат стабилно ширење на генската активност низ целиот животот на клетката и се наследуваат низ генерациите (Feinberg, 2006). Нарушување на кои било од овие механизми, доведува до несоодветни генската експресија што резултира со развој на карцином (слика бр.1.).



**Сл.1. Нарушување на трите епигенетски механизми кои доведуваат до несоодветни генски експресија и појава на карцином**

Сведоци сме на голем подем и огромно темпо на истражувања, особено во областа на DNA- метилацијата, кои ветуваат подобро разбирање на туморигенезата и развојот на нови стратегии за превенција, лекување и следење на пациентите (Yu, 2011).

Хиперметилацијата кај карциномите се одвива во одредени региони на тумор-супресорните гени, познати како промотори (*Shi,2011; Shaw , 2008*). (слика бр.2.).



## Сл.2. Тумор-супресорни гени специфични за OSCC

Еден од најексплоатираните и добро познати тумор-супресорните гени, кои се инактивираат преку хиперметилација и се клучни и специфични за прогресијата на OSCC се DAPK тумор супресивните гени. DAPK (death-associated protein kinase1) се протеини, посредници на апоптозата и контролори на автофагијата. DAPK промотор хиперметилацијата е реверзибилна и може да се промени при третман со DNA метилтрансфераза (Dnmt инхибитори) - негова можна клиничка имплементација во терапијата на карциномите. Идентификацијата и анализите на DAPK гените со дисрегулирани DNA метилации, овозможува напредок во разбирањето на молекуларните механизми во иницијацијата, прогресијата и експанзијата на OSCC. Фреквенцијата на промотор хиперметилацијата на DAPK гените во примарните OSCC, во литературата се движи од 35-83%, за контралатералните нормални ткива од 18%-45,3%<sup>23</sup>, а во здравите ткива 0-2%. Во нашата студија, се обидовме да обезбедиме сеопфатна и висока продуктивност во истражувањето на податоците за потврдување на DAPK гените како потенцијални биомаркери<sup>13</sup>. Нивото на метилација на DAPK гените, се користи за утврдување на нивната улога во туморигенезата, развој, напредок и прогнозата на OSCC. Секој од испитуваните транскрипти, во компарација помеѓу трите групи на биопстични материјали покажува карактеристичен модел на метилација, со што ќе се обидеме да допринесеме во потврдување на овој туморски супресорен ген како можен биомаркер за OSCC. Овие сознанија сеуште остануваат во фаза на дефинирање и се сметаат за главен предизвик во иднина, за можна нивна клиничка апликабилност во донесување на одлука за екстензивност на хируршкиот третман.

## ЦЕЛ НА ТРУДОТ

Со цел оваа студија да даде свој придонес во разрешување на централната догма, за откривање на компатибилни податоци за DNA метилациониот статус на DAPK, како и нивната улога во патогенезата на OSCC, ги поставивме следните цели:

- да се утврди нивото и улогата на DNA- метилацијата на DAPK гените во туморските примероци од OSCC, во однос на здравите ткива, со цел на

утврдување на нивните предиктивни вредности во развојната орална карциногенеза

- да се утврди нивото на DNA- метилација на DAPK гените, во клинички непроменетата слузница, во однос на здравите ткива, со цел на утврдување на нивните предиктивни вредности во почетната орална карциногенеза
- Да се корелира DNA- метилациониот статус на DAPK гените, меѓу трите групи на ткивни примероци, со цел на утврдување на нивната предиктивна вредност и улога како потенцијални биомаркери во детекција на OSCC

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

За реализирање на поставените цели, беше спроведена ретроспективна студија на 60 пациенти, третирани на Клиниката за максилофацијална хирургија, во период од 6 години и од нив беа добиени 100 биоптични примероци . 20 пациентите беа здрави индивидуи, 40 пациентите со дијагностициран OSCC-хируршки третирани, според терапевтски протоколи за карцином на орална шуплина- радикална ексцизија на туморот придружена со соодветна дисекција на вратот и избрани со услов, да не биле подложени на зрачна радиотерапија или хемотерапија. (слика бр.3.).



**Сл.3. Ексцизија на тумор на мандибула со радикална вратна дисекција**

Биоптичните материјали (ткивните примероци), беа перспективно собрани за време на операцијата и се состојеја од 3 дела : I група - 40 ткивни примероци од туморско ткиво, со 5 mm<sup>3</sup> материјал од рамките на туморска маса и хистолошка верификација на туморот (планоцелуларен карцином); II група - 40 примероци од контралатералното, нормално ткиво, макроскопски нормални ткива, земени контралатерално од истите пациенти и III група - 20 ткивни примероци, земени од здрава слузница, од пациенти кои немаат претходна историја на малигни заболувања. Овие примероци, беа анализирани за добивање на референтни, нормални вредности за нивото на DAPK метилацијата и понатаму користени за корелација со вредностите од претходните 2 групи на ткивни примероци.

Биоптични материјали беа чувани на температура од -80 °C и по одмрзнувањето беше изолирана геномска DNA. Определувањето на концентрацијата на добиената ДНК беше утврдена со автоматски спектрофотометар Thermo Scientific NanoDrop. Потоа следеше определување на вредноста на метилација на DAPK гените во ткивните примероци, со следните методи : **In vitro бисулфитна модификација на DNA** - Беше испитувано присуството на метилни групи на одредени региони на гените со помош на метилација-специфичен PCR. Најпрво примероците беа подложени на процес на бисулфитна конверзија, со што се индуцира разлика во секвенцата помеѓу метилираните и неметилираните секвенци во одредени региони во геномот која последователно се детектираше со PCR реакција. Реакцијата за бисулфитна конверзија се изведуваше со помош на реагенси од китот *Imprint DNA Modification kit (Sigma Aldrich)*. Потоа примероците беа подложени на 7 посебни **квантитативна полимераза верижни реакции во реално време (RT-qPCR)**, (во дупликат) со соодветни прајмери и TaqMan проби со кои се детектира присуство само на метилирани секвенци на DAPK гените. Присуството на сигнал во оваа реакција укажуваше на присуство на ДНК примерок, адекватен за анализа на метилација со другите прајмер сетови. Секвенците на прајмерите и пробите се дадени во Табела за секој ген посебно. (табела бр.1)

gene	primer/probe	sequences 5'-3'
DAPK	DAPK F	GGATAGTCGGATCGAGTTAACGTC
	DAPK R	CCCTCCCAAACGCCGA
	DAPK P	6FAM – TTCGGTAATTTCGTAGCGGTAGGGTTTGG – TAMRA

**Табела бр.1. Секвенци на прајмери и TagMan проби кои се користени за детекција на присуство на метилирана ДНК во промотерите на испитуваните гени**

Примероците во кои беше детектиран сигнал кој е со поголема јачина од базната линија ( $\square Ct=0.5$ ) во реакцијата со специфичните прајмери се сметаа за позитивни, односно за ткиво во кое постои метилација во испитуваните секвенци. Потоа следеше статистичка обработка на добиените податоци. т.е.корелација на нивоата метилациониот статус на DAPK гените меѓу трите групи на ткивни примероци, за да се утврди нивната предиктивна вредност како потенцијални биомаркери во оралната туморогенеза и детекцијата на OSCC.

## РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Резултатите од извршените анализи на четириесет туморски ткива, соодветните не-туморски контралатерални ткива и 20 примероци од здрава нормална лигавица, во кои ДНК беше екстрахирана од секој примерок го потврдија статусот на метилација на DAPK гените. Техниката на MS-PCR овозможи прецизно мапирање на метилационите модели во CpG острови на геномната ДНК кај сите примероци. Резултатите се прикажани на слика 4.

	<b>а) туморско ткиво</b>	<b>б) Контралатерална страна</b>	<b>в) здраво ткиво</b>
гени	DAPK	DAPK	DAPK
М 03			
М 04			
М 05			
М 06			
М 07			
М 08			
М 09			
М 10			
М 11			
М 12			
М 13			
М 14			
М 15			
М 16			
М 17			
М 18			
М 19			
М 20			
М 21			
М 22			
М 23			
М 24			
М 25			
М 27			
М 28			
М 29			
М 30			
М 31			
М 32			
М 33			
М 35			
М 36			
М 37			
М 38			
М 40			
М 44			
М 45			
М46			
М47			
М48			

**Слика 4. метилационен статус на DAPK гените во трите биоптични примероци а) туморско ткиво; б) контралатерално, нормално ткиво в) здраво ткиво  
\* М+ (метирирани гени); \* М – (неметирирани гени)**

Пропорциите на промотор метилацијата на гените во оваа студија беа пресметани во проценти во мострите. Анализата на DAPK во трите групи биоптични материјали, покажа фреквенција на хиперметилација кај 30/40 пациенти во OSCC дијагностицираните примероци, т.е. DAPK, беше потврдена во 75% во туморските ткива, што ја потврдува хиперметилацијата како клучен играч во оралната карциногенеза. Освен тоа, нашите податоци потврдија дека DAPK хиперметилационите стапки во соодветните не- туморски контралатерални ткива покажуваат фреквенции од 33,3% т.е. кај 13/39 пациенти. Соседните ткива претставуваат клинички нормални ткива со висока фреквенција на хиперметилации, факт што укажува на молекуларната патологија, односно, епигенетските аберации и релативно поголем ризик од прогресија кон малигни промени. ДНК хиперметилационите обрасци беа конзистентни (неметирирани) во здравите примероци- 0%. DAPK гените во нашата студија покажаа карактеристичен модел со различно значење и улога во туморигенезата и развојот на OSCC. Резултатите се прикажани во табела бр. 2.

Групи на биоптични примероци	DAPK метирирани гени
туморски ткива	30/40 (75%)
Контралатерални нормални ткива	13/39 (33,3%)
здрави пациенти (n = 20)	0/20 (0%)

**Табела 2. Аберантна метилација на DAPK гените во туморските ткива, во контралатералните нормални ткива и здравите ткива**

Во литературата, фреквенцијата на промотор хиперметилацијата на DAPK гените во примарните OSCC се движи од 35-83%; за контралатералните нормални ткива од 18%- 45,3%<sup>23</sup>, а во здравите ткива 0-2%. Нашите наоди се совпаѓаат со студиите на Righini (2007); Al-Kaabi (2014) Dong (2012) , Steele и Meyers (2011); Li и Steinmann (2009); Kulis и Michie (2010), кои ги предложиле DAPK гените за потенцијални тумор маркери во молекуларните истражувања. Ја поддржуваме и хипотезата на Wong<sup>2</sup> (2011), за минимална резидуална болест во слuzницата во околината на туморот, која не е потврдена со патохистолошка анализа. Алтернативно, епигенетските влијанија се појавуваат во почетокот на карциногенезата како резултат на изложеност на карциномот, што резултира со хетерогена структура (поликлоналност на клетките на туморот и околната слuzница). Отсуството на метилации во здравата лигавица, укажува дека хиперметилацијата е важен и непобитен настан кој може да биде користен во рано откривање на карциномите (Bhatia, 2014; Jacqueline A Gasche, 2012, Kulkarni, 2004).

Значително почести метилации на DAPK, беа потврдени во туморските и контралатералните нормални ткива, во споредба со здравите ткива. Разликата помеѓу трите испитувани групи во однос на DAPK е статистички значајна (Kruskal-Wallis test:  $H = 29,377$   $p = 0,0000$ ). Разликата во метилирањето на DAPK е статистички значајна помеѓу туморското ткиво и ткивото од здравите пациенти ( $p=0,0000$ ), како и помеѓу контралатералните нормални ткива и здравите ткива ( $p=0,0000$ ).



Во однос на метилирањето на DAPK гените, во туморското ткиво и контралатералното нормално ткиво, постои статистички значајна разлика (Mann-Whitney U Test:  $Z = 3,186$   $p = 0,0014$ ). Овие резултати се совпаѓаат со наодите на *Steele u Meyers (2011); Li u Steinmann (2009); Kulis u Michie (2010), Smith(2004)*. Во табелата.3.се претставени предиктивните вредности според метилацијата на DAPK гените во примарниот орален карцином во однос на метилацијата во здравите ткива.

гени	Сензитивност	Специфичност	(+) предиктивна вредност	(-) предиктивна вредност
DAPK	75%	100%	100%	66,7%

**Табела 3. Сензитивност, специфичност, позитивна и негативна предиктивна вредност на метилацијата на DAPK гени во примарниот орален карцином**

Според нашите добиени резултати за метилацијата на DAPK гените во примарниот орален карцином во однос на метилацијата во здравите ткива, регистриравме голема сензитивност за DAPK (75%). Анализата на податоците за вредноста на метилацијата на DAPK во туморските ткива, покажа сигурност од  $\approx 83.6$  во детекција и дијагностицирање вистина позитивните/заболени, односно, имаат голема дијагностичка вредност при откривањето and invasive phenotype in OSCC.

Специфичноста е многу висока (100%) за DAPK гените, што значи дека DAPK гените со сигурност од  $\approx 100\%$  ги дијагностицираат вистина негативните, односно здравите лица. Во табелата бр.4 се прикажани пресметаните предиктивни вредности според метилацијата на DAPK гените во контралатералните нормални ткива во однос на метилацијата во здравите ткива.

гени	Сензитивност	Специфичност	(+) предиктивна вредност	(-) предиктивна вредност
DAPK	33,3%	100%	96,7%	43,5%

**Табела бр.4. Сензитивност, специфичност, позитивна и негативна предиктивна вредност на метилацијата на 5-те зададени гени во контралатералните нормални ткива**

Според добиените резултати за метилацијата на DAPK гените во контралатералните нормални ткива во однос на метилацијата во здравите ткива, за DAPK (33,3%) сензитивноста е значајно пониска. Тоа значи дека метилацијата на DAPK гените во контралатералните нормални ткива со сигурност од  $\approx 41,3\%$  ги дијагностицираат вистина позитивните/заболени, односно, немаат сигнификантна дијагностичка вредност, во почетниот, ран настан во карциногенезата. Специфичноста и тука е многу висока (100%) за DAPK гените, што значи дека сите зададени гени (неметилирани) со сигурност од  $\approx 100\%$  ги дијагностицираат вистина негативните, односно здравите лица.

Речиси идентични со нашите наоди се резултатите во речиси сите објавени студии на Righini, 2007 и Wong<sup>29</sup>(2011), а се спротивни на Bhatia (2014); Santoro (2012)

Kozomara( 2011), во однос на наодите на наодите на пониски вредности на сензитивност и специфичност на DAPK гените во OSCC.

Потребни се дополнителни скрининг студии за да се подржи оваа хипотеза за апликабилноста на DAPK гените како дијагностичка метода во молекуларната придобивка во дијагнозата на OSCC. Нашите резултати ќе придонесат во востановување на неговата улога како дијагностички биомаркер, како и во неговата клиничка употреба во планирањето на екстензивноста и типот на дисекција која ќе треба да се изведе <sup>14,3,19</sup>.

## ЗАКЛУЧОК

Врз основа на добиените сознанија и резултати за процена на аберантните промотор хиперметилациони DAPK гени и нивната потенцијална улога во дијагнозата и детекцијата на OSCC може да ги истакнеме следниве заклучоци:

1. Аберантната хиперметилација на DAPK гените се специфичен наод со висока сигнификантност за OSCC која не е најдена во здравите ткива. DAPK- тумор супресорните гени се често метилирани во примероците од тумор, што ја потврдува хиперметилацијата како клучен играч во оралната карциногенеза. Метилирните DAPK гени во оралниот карцином покажаа висок дискриминирачки потенцијал во одредување на неговата предвидувачка вредност во развојната карциногенеза .
2. Во контралатералните, нормални ткива, се регистрирани поретки, но сепак застапени метилилации на DAPK гените. Со ова откритие ја потврдивме туморската хетерогеност и улогата на ДНК метилацијата на DAPK како клучен и непобитен фактор во почетната орална карциногенезата како глобален ефект врз целата орална слузница.
3. DAPK промотор хиперметилацијата покажа голема позитивна предиктивна вредност и сигурност во откривањето и детекцијата на OSCC. Статусот на метилација на DAPK гените дефинитивно ги издвојува како кандидати, биомаркери за дијагностицирање на OSCC. Сепак, потребни се повеќе потенцијални студии за потврдување на клиничките применливоста на DAPK хиперметилацијата во поголема групи на испитаници.
4. Во однос на клинички и хируршки применливост во иднина, потврдата на специфични прогностичка DAPK биомаркери за OSCC, ќе биде пресуден индикатор во одлучувањето за видот на дисекција и обемот и агресивноста на третманот.

## DAPK- PROMOTOR HYPERMETHYLATION GENES IN ORAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA

Dvojakovska S., Grcev A., Popovic- Monevska D., Popovski V., Pancevski G., Benedeti A.

<sup>1</sup> Department of Prosthodontics, Faculty of Dental Medicine, UKIM - Skopje, Clinic for maxillofacial surge-  
Skopje, Republic of Macedonia

\*Corresponding author:

D-r Suzana Dvojakovska  
Faculty of Dental Medicine, University St. Cyril and Methodius,  
Majka Tereza, PO BOX 17, 1000 Skopje, Republic of Macedonia  
Tel: ++ 389 070 346 673  
URL: <http://www.stomfak.ukim.edu.mk/>

### ABSTRACT

Death-associated protein kinase (DAPK) has been suggested as a tumor suppressor gene and its high frequency of DNA methylation has been noted in oral cancer patients. It has been used as a tumor marker in novel molecular detection strategies in OSCC, in the field of molecular biology with special emphasis on epigenetic mechanisms.

**The aim of the study:** was to explore DAPK promoter gene status and to establish their possible role in tumorigenesis, development and predictive value in diagnosis in OSCC patients.

**Material and methods:** We conducted a prospective study and molecular analysis in 60 patients followed up through the surgical protocol. Each of the examined transcripts was compared within the three groups of bioptical materials: tumor tissue, normal contralateral and tissues from healthy individuals.

**Results:** DAPK- tumor suppressor genes were methylated in 75% of tumor samples, which confirmed hypermethylation as a key player in oral carcinogenesis. In the contralateral mucosa we registered frequencies of DAPK in 33.3%. All DAPK genes were consistent (unmethylated) in healthy samples, a commonly hypermethylated in the tumor and often in contralateral normal samples, which emphasizes its role as a potential biomarker in OSCC. DAPK promoter hypermethylation showed a positive predictive value and security in detection of OSCC = 89,6.

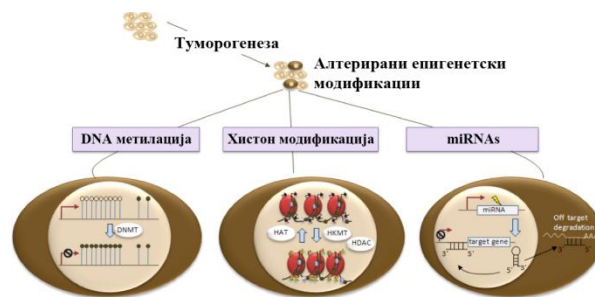
**Conclusion:** DNA methylation patterns of DAPK promoter genes showed characteristic pattern with great importance in oral carcinogenesis. Tumor heterogeneity was confirmed and the role of DAPK as a indisputable factor in the initiation and late oral carcinogenesis.

**Key words:** OSCC- oral cancer, epigenetics, DNA methylation, DAPK tumor suppressor gene

## INTRODUCTION

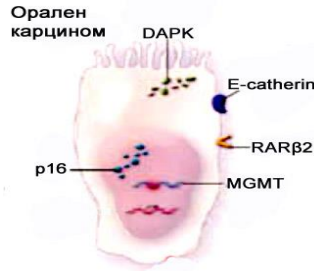
Head and Neck carcinoma (HNOC) is the sixth most common malignant neoplasm worldwide and its most common form (96%) belongs to oral carcinoma (OSCC). According to the Association of American Cancer Institutes (AACI), its incidence has increased by about 25% in the last 5 years, so OSCC is one of the world's major health problems over the past decade. Treatment involves excision of the tumor, followed by neck dissection, radiation therapy and chemotherapy in advanced stages. Patients undergo high mutilating surgical and radio / chemo therapies, leading to loss of oral tissues, difficulties in speech and appalling quality of life<sup>2,6,23</sup>. However, when we used the best combination of surgical and nonsurgical approaches, more than 50% of patients with OSCC experiencing a relapse and a high rate mortality, making oral carcinoma "the main killer" of modern times. In the last decade, progress in genetics offers opportunities for better understanding the molecular pathogenesis of cancer and opportunity for early detection, diagnosis and therapy.

From the molecular biology aspect, neoplastic transformation is a multistage process of homeostatic tissue disorders, characterized by genetic and epigenetic changes and their progressive accumulation leading to malignant transformation of normal cells. Genetic alterations cause irreversible changes in DNA sequence, and the term "epigenetics" defines all heritable changes in gene expression and chromatin structure which are not coded- altered in the DNA sequence. All the differential processes are activated and maintained through epigenetic mechanisms, which include: DNA methylation, RNA and histone modification. They provide a steady expansion of gene activity throughout the cell life and are inherited through the generations (Feinberg, 2006). Disruption of any of these mechanisms lead to inappropriate gene expression resulting in development of oral cancer. (Figure No.1.).



**Figure 1. Impairments of the three epigenetic mechanisms that lead to inadequate gene expression and occurrence of cancer**

We are witnesses of great achievement and intensive research, particularly in the field of DNA - methylation, which promises better understanding of tumorigenesis and the development of new strategies for prevention, treatment and monitoring of patients (Yu, 2011). Hypermethylation in cancer, takes place in certain regions of tumor suppressor genes, known as promoters (Shi, 2011; Shaw, 2008). (Picture 2).



**Figure 2. Tumor suppressor genes specific for OSCC**

One of the most exploited and well known tumor suppressor genes, inactivated by hypermethylation and specific for progression in OSCC is DAPK tumor suppressive genes. DAPK (death-associated protein kinase1) are proteins, mediators of apoptosis and controllers of autophagy. DAPK promoter hypermethylation is reversible and can be modified by treatment with DNA methyltransferase (Dnmt inhibitors) - a possible implementation in clinical therapy of cancer. Identification and analysis of DAPK dysregulated genes with DNA methylation, enabled advances in understanding the molecular mechanisms in the initiation, progression and expansion of OSCC. In the literature, the frequency of the promoter hypermethylation of DAPK genes in primary OSCC range between 35-83%, for the contralateral normal tissues varies 18% - 45.3%, and 0-2% in healthy tissues. In our study, we tried to provide a comprehensive and high productivity in research data confirming DAPK genes as potential biomarkers<sup>13</sup>. The level of DAPK genes methylation are used to determine their role in tumorigenesis, development, progress and prognosis of OSCC . Each examined transcripts correlate in the three groups of biopsy samples and shows a characteristic pattern of methylation. This study can contribute to the validation of the tumor suppressor gene as a possible biomarker for OSCC. These findings still remain in the phase of definition and are considered as a major challenge in the future, especially for their possible clinical applicability in planning the extensivity of surgery.

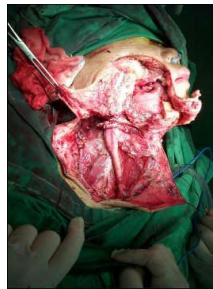
## **OBJECTIVES**

In order to contribute to the resolution of the central dogma for detecting DNA compatible data for the value of methylation status of DAPK genes and their role in the pathogenesis of OSCC, we have set up the following objectives:

- to determine the level and role of DNA- methylation in the promoter regions of DAPK genes in tumor tissues, compared with healthy tissues, in order to determine their predictive values in development oral carcinogenesis
- to determine the level of DNA- methylation status of DAPK genes in clinical unchanged contralateral mucosa, compared with healthy tissues, in order to determine their predictive values in initiating oral carcinogenesis
- To correlate DNA- metilaconiot status DAPK genes among the three groups of tissue samples in order to determine their predictive value and potential role as a biomarkers in detection of OSCC

## MATERIAL AND METHODS

In order to achieve the objectives, we conducted a retrospective study of 60 patients, treated in the Clinic for maxillofacial surgery Skopje, in 6 years period and received 100 biopsy materials from them. 20 patients were healthy individuals, 40 patients were oral cancer patients and the selection criteria for them was not to be radiotherapy or chemotherapy treated before primary surgery. Patients were further treated according to diagnostic and therapeutic protocols for oral cancer- radical excision of the tumor together with a neck dissection (figure.3.)



**Figure 3. mandibular tumor excision with radical neck dissection**

The biopsy material (tissue samples) were prospectively excised during surgery and consisted of 3 groups: I group -40 tumor tissue samples - taken 5 mm<sup>3</sup> from the tumor mass, accompanied by histological verification; II group - 40 samples of the contralateral normal tissue, collected during the intervention and III group - 20 samples taken from healthy mucosa from patients who have no previous history of cancer. These samples were analyzed in order to obtain the referent, normal values for DNA methylation status of DAPK genes and furthermore used for correlation with the values of the previous two groups of tissue samples. First, biopsy material were kept at a temperature of -80 ° C and after unfreezing we isolated genomic DNA. The determination of the concentration and purity of the DNA was found on the automated spectrophotometer- Thermo Scientific NanoDrop. Afterwards, we determine the methylation level of DAPK genes in tissue samples, using the following methods:

**In vitro bisulfite modification of DNA-** Samples were examined for the presence of methyl groups in certain regions of the gene using methylation-specific PCR. First, all samples were subjected to bisulfite conversion process, which induces a difference in sequence between methylated and unmethylated sequences in certain regions of the genome that can subsequently be detected by PCR reaction. The reaction of bisulfite conversion was performed using reagents from the Imprint DNA Modification kit (Sigma Aldrich). Then the samples were subjected to seven separate quantitative PCR reactions in real time (**Real-time quantitative Polymerase Chain Reaction - RT-qPCR**), (in duplicate) with appropriate primers and TaqMan probes which detect the presence of only methylated sequences in DAPK genes promoters. The presence of the response signal indicating the completeness of the bisulfite conversion and the presence of the DNA sample is adequate for analysis of

methylation in the other regions examined primer sets .. Sequences of primers and probes are given in the Table for each gene individually. (Table No.1)

gene	primer/probe	sequences 5'-3'
DAPK	DAPK F	GGATAGTCGGATCGAGTTAACGTC
	DAPK R	CCCTCCCAAACGCCGA
	DAPK P	6FAM – TTCGGTAATTCGTAGCGGTAGGGTTTGG – TAMRA

**Table 1. Sequences of primers and TagMan samples that are used to detect the presence of methylated DNA in the promoters of genes tested**

Samples in which the signal was detected with higher intensity from baseline ( $\Delta Ct = 0.5$ ) in the reaction with the specific primers were considered positive, i.e the tissue which is methylated in the investigated sequences.

Afterwards, we performed statistical analysis of the the obtained data- we correlate the levels of DAPK methylation status among the three groups of tissue samples in order to determine their value as potential predictive biomarkers in oral tumorigenesis and detection of OSCC.

## RESULTS AND DISCUSSION

The results of completed analysis from forty tumor tissues, forty corresponding contralateral non-tumor tissues and 20 samples from healthy normal mucosa in which DNA was extracted from each sample, confirmed the methylation status of DARK promoter genes . The technique of MS-PCR enables precise mapping of methylated patterns in CpG islands of genomic DNA, in all samples. The results are shown in Figure 4.

	а) туморско ткиво	б) Контралатерална страна	в) здраво ткиво
гени	DAPK	DAPK	DAPK
M 03			
M 04			
M 05			
M 06			
M 07			
M 08			
M 09			
M 10			
M 11			
M 12			
M 13			
M 14			
M 15			
M 16			
M 17			
M 18			
M 19			

M 20			
M 21			
M 22			
M 23			
M 24			
M 25			
M 27			
M 28			
M 29			
M 30			
M 31			
M 32			
M 33			
M 35			
M 36			
M 37			
M 38			
M 40			
M 44			
M 45			
M46			
M47			
M48			

**Figure 4. methylation status of DAPK genes in tree biopsy samples in: a) OSCC tissues b) contralateral, normal tissues в) haelthy individuals**  
\* M+ (methylated); \* M – (unmethylated genes)

The proportions of promoter methylation of genes in this study were calculated as a percentage of the test sample. Analysis of DAPK among the three groups of biopsy material, demonstrated hypermethylation frequency in 30/40 patients in OSCC samples. Our results confirmed DAPK hypermethylation in 75% of tumor tissue, which confirmed hypermethylation as a key player in oral carcinogenesis. Furthermore, our data showed that DAPK hypermethylation rates in the corresponding contralateral non-tumor tissues shows CpG region frequencies in 13 / 39 patients (33.3%). The adjacent tissues represent clinically normal tissues with a high frequency of hypermethylation, which may indicate a molecular pathology, epigenetic aberrations and a relatively higher risk of progression toward malignant changes. DNA hypermethylation patterns were consistent (unmethylated) in healthy samples- 0%. DAPK hypermethylation genes in our study showed characteristic pattern with a different importance and role in tumorigenesis and development of OSCC. The results are shown in table.2.

Групи на биоптични примероци	DAPK метилирани гени
туморски ткива	30/40 (75%)
Контралатерални нормални ткива	13/39 (33,3%)
здрави пациенти (n = 20)	0/20 (0%)

**Table 2. Aberrant methylation of DAPK genes in tumor tissue, in the contralateral normal tissue and healthy tissue**

In the literature, frequency of the promoter hypermethylation of DAPK genes in primary OSCC range from 35-83%; in contralateral normal tissues 18% - 23 45.3%, and 0-2% in healthy tissues. Our findings are identical with the studies of Righini (2007); Al-Kaabi (2014) Dong (2012) , Steele и Meyers (2011);Li и Steinmann (2009); Kulis и Michie (2010), who



proposed DAPK genes as potential tumor markers in molecular research of OSCC. Also we support the hypothesis of Wong<sup>2</sup> (2011), for minimal residual disease in the surrounding tissue, which is not confirmed by pathohistological analysis. Alternatively, epigenetic influence appear in early carcinogenesis due to exposure cancer, resulting in a heterogeneous structure (polyclonality of tumor cells and surrounding mucosa). The absence of methylation in healthy mucosa, suggesting that hypermethylation is an important event that may be used in early detection of cancer (Bhatia, 2014; Jacqueline A Gasche, 2012, Kulkarni, 2004).

Significantly higher methylation of DAPK, were found in the tumor and contralateral normal tissue compared to healthy tissues. The difference among the three groups of biopsy samples, regarding DAPK is statistically significant (Kruskal-Wallis test:  $H = 29,377$   $p = 0,0000$ ). The difference in the methylation of DAPK is statistically significant between samples of tumor tissue and healthy patients ( $p = 0,0000$ ), and between samples of the contralateral normal tissues and normal tissue ( $p = 0,0000$ ).

The methylation of DAPK, between tumor and contralateral normal tissue samples, showed statistically significant difference (Mann-Whitney U Test:  $Z = 3,186$   $p = 0,0014$ ). These our results are supported by Steele and Meyers (2011), Li and Steinmann (2009); Kulis and Michie (2010), Smith (2004), who reported significant values ( $p = 0.014$ ). In table.3. are represented the calculated predictive values of DAPK genes in primary oral cancer compared with methylation in healthy tissues.

гени	Сензитивност	Специфичност	(+) предиктивна вредност	(-) предиктивна вредност
DAPK	75%	100%	100%	66,7%

**Table 3. Sensitivity, specificity, positive and negative predictive value methylation of DAPK in primary oral cancer**

According our results, DAPK methylation in primary oral cancer compared with methylation in healthy tissues demonstrated great sensitivity for DAPK (75%). DAPK methylation in tumor tissues demonstrated accuracy of  $\approx 83.6$  in the detection and diagnosis true positive / diseased patients. This confirms significant diagnostic value in detecting in invasive phenotype in OSCC. The specificity is very high (100%) DAPK genes, meaning that DAPK genes with  $\approx 100\%$  accuracy, diagnosed true negative, free from cancer patients. In table No. 4 are illustrated calculated predictive values of DAPK methylation in the contralateral normal tissue in comparison with methylation in healthy tissues.

гени	Сензитивност	Специфичност	(+) предиктивна вредност	(-) предиктивна вредност
DAPK	33,3%	100%	96,7%	43,5%

**Table 4. Sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of DAPK genes in the contralateral normal tissues**

The results for the methylation of DAPK genes in the contralateral, normal tissue demonstrated sensitivity of 33.3% compared with unmethylated genes in healthy tissues which is significantly lower sensitivity than in tumor tissues. It means that the methylation of DAPK

genes in the contralateral normal tissue, with accuracy of  $\approx 41.3\%$  detected and diagnosed true positive/ diseased patients, respectively, do not have significant diagnostic value in early event in oral carcinogenesis. Specificity here is very high (100%) for DAPK genes, which means that all DAPK genes (unmethylated) with accuracy of  $\approx 100\%$  i diagnosed healthy/cancer free patients.

Almost identical findings with the results obtained in our study, published almost everyone, Righini<sup>10,24</sup> (2007); Worsham<sup>25</sup> (2010) and Wong<sup>24</sup> (2011) etc. Contrary to ours results published Bhatia<sup>3</sup> (2014) and Santoro<sup>14</sup> (2012) who found lower sensitivity and specificity values for DAPK genes.

Additional screening studies are needed to support this hypothesis for evaluating DAPK genes applicability as a diagnostic method for the molecular assessment in diagnosis of OSCC. Our findings will contribute in its possible role as a diagnostic biomarker and its impact in planning of extensiveness of the surgery and the type of dissection which will be performed<sup>14,3,19</sup>.

## CONCLUSION

Concerning the findings and results of evaluation of aberrant promoter hypermethylation of DAPK genes and their potential role in the diagnosis and detection of OSCC, we can highlight the following conclusions:

1. Aberrant hypermethylation of DAPK is a cancer-specific finding, since it is significantly observed in OSCC and is not found in healthy control tissue. DAPK- tumor suppressor genes were frequently methylated in tumor samples, which confirmed hypermethylation as a key player in oral carcinogenesis. Methylated genes in oral cancer showed high discriminatory potential in determining their predictive value in the developmental carcinogenesis in patient with OSCC.
2. In the contralateral mucosa we registered less often, but a lot of methylated DAPK genes. This finding confirms the tumor heterogeneity and the role of DNA methylation as a key and indisputable factor in the initiation of oral carcinogenesis, as a global effect on the entire oral mucosa.
3. DAPK promotor hypermethylation showed a positive predictive value and security in detection of OSCC. The methylation status of DAPK is definitely interesting as a candidate biomarker for predicting the clinical course of OSCC. However, more prospective studies are needed to affirm the clinical applicability of DAPK hypermethylation in larger groups of patients.
4. Regarding the clinical and surgical applicability in future, confirmation of specific prognostic value of DAPK biomarkers for OSCC, would be a decisive indicator in deciding the type of dissection and extensiveness and aggressiveness of treatment.

## ЛИТЕРАТУРА / BIBLIOGRAPHY

1. Liu Y, Zhou Z, He Q-B, Jiang, W-W. *DAPK promoter hypermethylation in tissues and body fluids of oral precancer patients*, *Medical Oncology*, 2012; 29 (2):729-733
2. Wong Y, Lee Li-Tsu, Chung J. *Hypermethylation of MGMT and DAPK gene promoters is associated with tumorigenesis and metastasis in oral squamous cell carcinoma*. *Journal of Dental Sciences*, 2011; 6: 158-164
3. Bhatia V, Goel MM, Makker A, Tewari S, Yadu A, Shilpi P, Kumar S, Agarwal SP, Goel SK. *Promoter Region Hypermethylation and mRNA Expression of MGMT and p16 Genes in Tissue and Blood Samples of Human Premalignant Oral Lesions and Oral Squamous Cell Carcinoma*. *BioMed Research International*. Volume 2014; Article ID 248419,10.
4. Gasche JA, Goel A. *Epigenetic mechanisms in oral carcinogenesis*. *Future Oncol*, 2012;8(11):1407-1425.
5. Okami K, Sakai A, Onuki J, Hamano T, Iida M, Takahashi M. *Promoter hypermethylation of tumor-associated genes in head and neck cancer*. *Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho*, 2005;108:207-213.
6. Kulkarni, V, Saranath D. *Concurrent hypermethylation of multiple regulatory genes in chewing tobacco associated oral squamous cell carcinomas and adjacent normal tissues*. *Oral Oncol*, 2004;40(2):145-53.
7. Maruya S, Issa JP, Weber RS, Rosenthal DI, Haviland JC, Lotan R, El-Naggar AK, *Differential methylation status of tumor-associated genes in head and neck squamous carcinoma: Incidence and potential implications*. *Clin. Cancer Res*, 2004;10:3825-3830.
8. Mascolo M, Siano M, Ilardi G, Russo D, Merolla F, De Rosa G, Staibano S. *Epigenetic Disregulation in Oral Cancer*. *Int J Mol Sci*, 2012;13(2):2331-2353.
9. Righini CA, Fraipont F, Timsit JF, Faure C, Brambilla E, Reyt E, Favrot MC. *Tumor-specific methylation in saliva: a promising biomarker for early detection of head and neck cancer recurrence*. *Clin Cancer Res*, 2007;13:1179-1185
10. Smith LT, C Plass. *DNA methylation leaves its mark in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas (HNSCC)*. *Current Genomics*, 2004;5(6).
11. Steinmann K, Sandner A, Schagdarsurengin U, Dammann RH. *Frequent promoter hypermethylation of tumor-related genes in head and neck squamous cell carcinoma*. *Oncol Rep*, 2009;22:1519-1526.
12. Steele TO, Meyers A. *Early detection of premalignant lesions and oral cancer*. *Otolaryngol Clin North Am*, 2011;44(1):221-9
13. Shaw RJ, Hall GL, Lowe D, Liloglou T, Field J.K, Sloan P, Risk JM. *The Role of Pyrosequencing in Head and Neck Cancer Epigenetics. Correlation of Quantitative Methylation Data With Gene Expression*. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2008;134(3):251-256
14. Santoro A, Pannone G, Papagerakis S, Serpico R, Guida AL, Muzio L, Bufo P. *Epigenetic Profiling of Oral Cancer*, *Oral Cancer*, (2012) Dr. Kalu U. E. Ogbureke (Ed.), ISBN: 978-953-51-0228-1, InTech, DOI: 10.5772/31386.
15. Lee ES, Issa JP, Roberts DB, Williams MD, Weber RS, Kies MS, El-Naggar AK *Quantitative promoter hypermethylation analysis of cancer-related genes in salivary gland carcinomas: comparison with methylation-specific PCR technique and clinical significance*. *Clin Cancer Res*, 2008;14(9):2664-72.
16. Kulis M, Esteller M. *DNA methylation and cancer*. - *Adv Genet*, 2010 - books.google.com

17. Kovtunenکو O, Shponka I, Tymchuk S, Poslavskay O, Bereznyuk D. Analysis of Expression Markers Intracellular Adhesion in Patients with Oropharyngeal Squamous Cell Cancer. *The Advanced Science Journal*, 2014;12:15.
18. Nagata S, Hamada T, Yamada N, Yokoyama S, Kitamoto S, Kanmura Y, Nomura M, Kamikawa Yi, Yonezawa S, Sugihara K. A noninvasive method for detection of oral squamous cell carcinoma. *Cancer*, 2012;118(17):4298–4308.
19. Michie AM, McCaig AM, Nakagawa R, Vukovic M. Death-associated protein kinase (DAPK) and signal transduction: regulation in cancer. *FEBS Journal*, 2010;277(1):74–80
20. Meneses IS, Souza RR, Jeraldo OVL, Cavalcanted RR, Reis FP, Albuquerque JRC. Death-associated protein kinase is underexpressed in high-grade oral squamous cell carcinoma. *Int. J. Morphol*, 2010;28(2):609-613.
21. McCullough MJ, McCullough MJ, Prasad G, Zhao S, and Farah CS. The Changing Aetiology of Oral Cancer and the Role of Novel Biomarkers to Aid in Early Diagnosis MiRNAs. *Oral oncology*, book edited by Kalu U. E. Ogbureke, 2012. ISBN 978-953-51-0228-1.
22. Marcinkiewicz M, Katarzyna M; Gudas, Lorraine J. Epigenetic Changes in Retinoid Signaling in Oral Cavity Carcinogenesis . *Exp Cell Res*, 2014;320(1):128-43.
23. Rosas SLB, Koch W, Carvalho M, Wu L, Califano J, Westra W, Jen J, Sidransky D. Promoter Hypermethylation Patterns of p16, O6-Methylguanine-DNA-methyltransferase, and Death-associated Protein Kinase in Tumors and Saliva of Head and Neck Cancer Patients. *Cancer Res*, 2001;61:39.
24. Wong YK, Lee LT, Liu CJ. Hypermethylation of MGMT and DAPK genepromoters is associated with tumorigenesis and metastasis in oral squamous cell carcinoma. *Journal of Dental Sciences*, 2011;6(3):158-164.
25. Worsham MJ, Chen KM, Stephen JK, Havard S, Benninger MS. Novel approaches to global mining of aberrantly methylated promoter sites in squamous head and neck cancer. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2010;143:116–121.
26. Kaur J, Demokan S, Tripathi, SC, Macha MA, Begum S, Califano JA, Ralhan R. Promoter hypermethylation in Indian primary oral squamous cell carcinoma. *Int. J. Cancer*, 2010;127:2367–2373
27. Yang Liu, Zeng-Tong Zhou, Qing-Bo He, Wei-Wen Jiang. DAPK promoter hypermethylation in tissues and body fluids of oral precancer patients. *Medical Oncology*, 2012;29(2):729-733.

# ДИГИТАЛНА КОМПЈУТЕРИЗИРАНА ОКЛУЗАЛНА АНАЛИЗА СО T-SCAN III СИСТЕМ ПРИ ОКЛУЗИЈА И АРТИКУЛАЦИЈА КАЈ ИСПИТАНИЦИ СО НЕУТРООКЛУЗИИ

## T-SCAN III SYSTEM DIGITAL OCCLUSAL ANALYSIS ON OCCLUSAL BALANCE IN NEUTROOCCCLUSION

**Весна Трпевска<sup>1</sup>, Гордана Ковачевска<sup>2</sup>, Лидија Кануркова<sup>1</sup>,**

<sup>1</sup> Клиника и Катедра за Ортодонција, Стоматолошки Факултет, УКИМ - Скопје, Република  
Македонија

<sup>2</sup> Катедра за Стоматолошка протетика, Стоматолошки Факултет, УКИМ - Скопје,  
Република Македонија

\*Кореспонденција:  
Д-р Весна Трпевска  
e-mail: vesnarules@hotmail.com

### АПСТРАКТ

#### Цел

Цел на нашето испитување беше да го испитаме и карактеризираме оклузалниот баланс (стабилност) при оклузија и артикулација кај неутрооклузии со T-Scan III систем, да ја утврдиме нивната корелација и важноста од употреба на дигиталната оклузална T-Scan анализа во ортодонцијата.

#### Материјал и метод

Испитувањето го извршивме кај 10 пациенти со неутрооклузија, еугнат загриз, интактно забало, Angle Класа I оклузија, а оклузалниот баланс го утврдивме квантитативно со помош на компјутерска оклузална анализа со T-Scan III системот (Tekscan Inc., Boston, MA, USA), пет снимања кај секој испитаник: при максимална интеркуспидација, при пропулзија и при латеропулзија на лева и десна страна. Извршивме проценка на следните параметри: распределба и местоположба на оклузалните контакти, билатерално, одредување на центарот на силата, време на оклузија (време од првиот оклузален контакт до положба на максимална интеркуспидација), време на дисклузија при мандибуларните движења (време од максимална интеркуспидација до последен оклузален контакт на забите), одредување на типот на артикулација, одредување на присуство и локализација на оклузална интерференција.

#### Резултати и дискусија

Кај нашите испитаници со неутрооклузии при максимална интеркуспидација утврдивме дистрибуција на оклузалните сили во денталниот лак 48.7% од лева и 51.3% од десна страна на денталниот лак. Кај 94% центарот на силата (COF) е лоциран антеропостериорно во регијата на првиот перманентен молар. Кај 39.7% локацијата на COF е во белото поле на двојната елипса, а кај 54.3% локацијата на COF е во сивото поле на двојната елипса. Времето на оклузија кај 90% е помало

или еднакво на 0.4sec, а времето на дисклузија кај 85% од испитаниците со неутрооклузии е помало или еднакво на 0.5sec. При латеропулзија за 0.5mm од положба на максимална интеркуспидација, 64.5% имаат билатерално групна функција и 20% имаат билатерално водство на канините. При растојание од 3mm од положба на максимална интеркуспидација, канините го превземаат водството и 62,5% од испитаниците имаат канин водена оклузија, а само 24% имаат билатерално групна оклузија. При пропулзија, anteriorno водство со дисклузија на забите во постериорната регија имаат 77.5% од нашите испитаници. Кај 22.5% од нашите испитаници постои присуство на оклузална интерференција при мандибуларните движења. Од нив кај 55% оклузални интерференции се сретнуваат кај вторите молари при пропулзија и 45% оклузални интерференции кои се сретнуваат на неработната страна при латеропулзиите.

### **Заклучок**

Анализата со T-Scan III системот овозможува евалуација на оклузалниот баланс. Испитаниците со неутрооклузии се карактеризираат со оклузална стабилност-балансирана (урамнотежена) оклузија, т.е. со оклузија на забите која прикажува хармоничен сооднос на оклузирачките површини во сите центрични и ексцентрични позиции при постоење одредено функционално ниво на мастикација и голтање. Забите имаат истовремени контакти на горните и долните заби на лева и десна страна во дисталните и фронталните оклузални зони при центрични и ексцентрични позиции. Нашите испитаници имаат униформирана дистрибуција на оклузалните сили во двете половини на деналниот лак со билатерално симетричен центар на силата. Постои корелација помеѓу оклузијата и артикулацијата кај пациентите. Идеалната оклузија корелира со идеалната артикулација. Нашите испитаници се карактеризираат со anteriorno водство при пропулзија и заштита на канинот и/или премоларите при латеропулзија, без присуство на позначајни интерференции. Дистрибуцијата на контактите на работната страна при латералните движења на мандибулата се разликува за 0.5mm и 3mm растојание од положба на максимална интеркуспидација. Примената на T-Scan III системот е важна во дијагностиката, планот на терапија и сите фази на ортодонтскиот третман во секојдневната клиничка практика.

**Клучни зборови:** Неутрооклузии, Дигитална Евалуација, Оклузален Баланс, T-Scan III систем.

## ВОВЕД

Оклузијата претставува начин на интеркуспидација на секалните рабови и цвакалните површини на забите од горната и долната вилица. Артикулацијата пак има функционална улога и е претставена со динамичниот сооднос помеѓу антагонистичките оклузални површини на максиларните и мандибуларните заби во текот на орофацијалните функции како што се зборување, голтање и мастикација [1]. Оклузијата не е фиксна анатомска состојба. Таа претрпува промени и адаптивни процеси на ремоделација во текот на животот. Претставува резултат на неуромускуларна контрола на сите компоненти на мастикаторниот систем: коските, забите, периодонталните ткива, темпоромандибуларниот зглоб и соодветните мускули и лигаменти [2,3]. Иако првичниот концепт на оклузијата е претставен преку статичниот однос на вилиците во целокупната анализа влегуваат и околните ткива, ТМЗ како и Шпеовата крива, висината на туберите, кондиларното водство и оклузалната рамнина [4-7]. Индивидуалниот оклузален статус е претставен преку две главни карактеристики: сооднос на забите во денталниот лак и сооднос на забите помеѓу денталните лакови [8].

Неутрооклузија или класа I по Angle подразбира кога мезиовестибуларниот тубер на горниот прв молар лежи во мезиовестибуларната бразда на долниот прв молар. Сите заби, освен долните централни инцизиви и горните трети молари се во контакт со оклузалните површини на два таба од спротивната вилица. Во вертикален смер, интеркуспидацијата на забите од бочниот сектор ја одредува висината на загризот. За оценка на квалитетот на нормооклузијата не е доволно само познавањето на односите на вестибуларните површини туку е неопходно и да се одреди односот на лингвалните тубери и оклузалните површини кои постојат помеѓу забите антагонисти. За стабилноста на оклузијата и висината на загризот од големо значење е меѓусебниот однос на туберите на забите антагонисти и правилно распоредените оклузалните контакти. Најповолен облик е триподизмот или трикуспидацијата каде што врвот на забот антагонист никогаш не го допира дното на јамата туку се ослонува на падините на јамата во три точки, обезбедувајќи добра стабилност.

Иделната оклузија-нормооклузија која се користи како база за согледување на резултатите од ортодонтските третмани, потекнува од публикуваната работа на Angle (1900) и Andrews (1979, 1989) и се фокусира на специфичниот анатомски сооднос на забите и денталните лакови. Кога ќе ги сумираме мислењата на повеќето автори [1-9] доаѓаме до заклучок дека “идеалната” оклузија која во природата многу ретко се среќава треба да ги исполнува следниве услови: неуромускуларна хармонија, оклузална стабилност со стабилни контакти на сите заби кога кондилите се наоѓаат во центрична релација со триточкест контакт помеѓу туберите и антагонистичките јамички, или пак, меѓу туберите и антагонистичките зони на маргиналните гребени, здрав периодонциум, прифатлива естетика, добра мастикаторна функција, нормална фонетика, отсуство на парафункции, отсуство на патологија на ТМЗ, дистрибуција на оклузалниот притисок по надолжната оска на забите аплицирани на центричните запирачи на потпорните тубери. Надолжната оска на забите треба да е поставена така да резултатната на оклузалните и мастикаторните сили не доведува до инклинација на забите и положбата на коронките на забите треба да овозможи најдобра можна

интеркуспидација и ефикасни функционални движења, соодветно антериорно водство од страна на инцизалните рабови на мандибуларните инцизиви по палатиналната површина на максиларните инцизиви со дисклузија на забите од постериорната регија, дисклузија на забите на балансната страна во тек на латеропулзија, добар билатерален баланс на оклузалните сили во положба на максимална интеркуспидација со идеален сооднос на 32 заби со вкупен број на 138 оклузални контакти, минимална мускулна тензија со максимална ефикасност. При контакт на забите од постериорната регија, во оклузија, кај забите од антериорната регија треба да отсутствува контакт со што ќе се избегне латерален стрес на забите и потпорните ткива од антериорната регија. Ова се критериуми кои задоволуваат естетски мерила, но имаат една заедничка особина која е битен недостаток, а тоа е статичноста.

Важен чекор во биомеханиката на оклузијата е проучувањето на комплексните движења на мандибулата во сите три насоки. Правилна оклузија по анатомски и морфолошки критериуми е најдобар начин да се постигне хармонична функција на мастикаторниот апарат. Генерално е прифатено дека идеален оклузален сооднос во положба на оклузија соодветствува со идеален сооднос при артикулација (Andrews 1976, Roth 1976). Оптимален односно идеален тип на артикулација е тешко за идентификување и дијагностицирање. Многу важно во ортодонцијата е утврдување на кој тип на артикулација е асоциран со идеалната (нормална) оклузија. Во текот на латералните движења на мандибулата, во лево и десно, артикулационите контакти на забите од бочната регија може да бидат во сооднос на: балансирана оклузија според Bonwill (забите од бочната регија се во контакт и на неработната и на работната страна), групна оклузија според Вегон (букалните тубери на постериорните заби се во контакт на работната страна, на неработната страна не постои контакт) и канин водена оклузија според D'Amico (на работната страна, контакт постои само на канините, на неработната страна не постои контакт) [10-13].

Според повеќе автори, во текот на мандибуларните движења два фактори играат огромна важност: слобода на движење и заштеда на мускулна енергија. Овие услови се исполнуваат со помош на антериорно водство при протрузивните движења и заштита со канинот (во текот на латеропулзијата на работната страна, контакт постои само на канините) или групна оклузија (во текот на латеропулзијата булакните тубери на постериорните заби се во контакт на работната страна) при латералните движења. Оклузалната шема треба да е во хармонија со мандибуларните движења во сите насоки со цел да се обезбеди минимално присуство на интерференција на забите во текот на мандибуларните движења.

Целите на ортодонтскиот третман вклучуваат добра морфологија на лицето, стабилни резултати од ортодонтскиот третман како и постигнување на оклузија и артикулација каде што постои анатомска и физиолошка хармонија во вилиците и мускулите.

Ash M., Ramfjord S., [3], укажуваат дека идеалната оклузија е мистичен, хипотетичен или теоретски концепт кој ретко се среќава во природата и кој зависи од биолошките посебности на секоја индивидуа.



Евалуација на оклузалните параметри на самиот пациент со цел прецизно да се проучат функциите на неуромускуларниот комплекс е овозможено со употреба на компјутеризирана оклузална анализа со T-Scan III системот.

Целите на нашето испитување ги дефинираме водејќи се според современите научно-истражувачки трендови и бројните литературни податоци. Предмет на нашето испитување е да ја утврдиме важноста од употребата на дигиталната оклузална T-Scan анализа во ортодонцијата и преку систематска евалуација на мастикаторниот систем, со посебен аспект на оклузалните параметри при оклузија и артикулација кај нормооклузиите да добиеме сознание за влијанието на целокупната динамична оклузија на стоматогнатниот систем. Во контекст на објективна, дигитална оклузална дијагностика во ортодонтската практика за постигнување на оптимална функција, естетика и нормална оклузија кај испитаниците ги дефинираме целите на нашето испитување:

- да ја испитаме и карактеризираме оклузалната стабилност (баланс) при оклузија и артикулација кај нормооклузиите;
- одредување на типот на функционална оклузија-артикулација и корелацијата помеѓу идеалната оклузија и идеалната артикулација кај испитаници со нормооклузиите;
- да ја утврдиме важноста од употреба на дигиталната оклузална T-Scan анализа во ортодонцијата.

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

За реализација на поставената цел, во ова испитување се вклучени 10 испитаници на возраст од 15 до 28 години од кои 5 испитаници се од женски пол и 5 испитаници од машки пол. Кај сите пациенти извршивме: клинички испитувања (анамнестички податоци за субјективните и објективните знаци за ортодонтски аномалии и клинички наод за состојбата орално за детерминирање на оклузијата според критериумите на Angle), рентгенолошки испитувања (ортопантомографска снимка) и морфолошки-гнатометриски испитувања (студио-дијагностички модели на кои е извршена гнатометриска анализа со цел нивно групирање во група со Angle Класа I оклузија.

Кај сите 10 испитаници изведовме компјутерска оклузална анализа со T-Scan III системот (Tekscan Inc., Boston, MA, USA), 5 снимања кај секој, во положба на максимална интеркуспидација, при пропулзија и при латеропулзија на лева и десна страна, за проценка на:

- распределба и местоположба на оклузалните контакти при максимална интеркуспидација, пропулзија и латеропулзија;
- вкупна сила во антериорниот и постериорниот сегмент, билатерално;
- одредување на центарот на силата;
- време на оклузија;
- време на дисклузија при мандибуларните движења;
- одредување на типот на артикулација и
- одредување на присуство и локализација на оклузална интерференција;

## КЛИНИЧКА АПЛИКАЦИЈА НА T-SCAN III СИСТЕМОТ

Евалуација на деталите во оклузија и артикулација со помош на T-Scan III системот како софистицирана алатка за дигитална оклузална анализа се почесто се користи во ортодонцијата. T-Scan системот кој како иновација на пазарот, датира од пред околу 25 години, поточно првиот T-Scan I систем е дизајниран во 1987 година и од тогаш со одредените современи технички унапредувања и ревизии на целиот систем и нивно надоградување се постигна алатка, T-Scan III системот, верзија 7.0 чии резултати се независни од операторот. Со оваа прецизна алатка се овозможува статичка и динамичка дигитална анализа на оклузијата во единица време и снимање на дистрибуцијата на оклузалните сили во денталните лакови во различни клинички ситуации [14].

Хардверот на овој систем е составен од еден ракувач на кој се поставува сензорот со кој прецизно се регистрираат информации за секој елемент во денталниот лак како и за други релевантни детали како што се присуство на протетички надоместоци, присуство или отсуство на поедини заби и т.н. Сензорите доаѓаат во две големи: мал и голем за полесно адаптирање во усната празнина. Сензорот се поставува помеѓу централните инцизиви, паралелно со оклузалната рамнина. Сензорот е ултратенок, флексибилен и се состои од 1370 активни притисок сензитивни локации кај големиот и 1122 кај малиот сензор. Овие сензорни локации се нарекуваат сенсели и се наредени во редови и колони. Бидејќи сензорот е поригиден од хартијата, за негово полесно адаптирање пред започнување на снимањето се прават неколку акти на мастикација. Пред секое снимање се врши подесување на сензитивноста која треба да одговара на силата на загризување на секој пациент. Потоа снимањето може да започне со загризување на пациентот на сензорот, држејќи ги своите заби цврсто споени во положба на максимална интеркуспидација 1-2 секунди. Снимените сили се чуваат на хард-драјверот и се достапни за анализа (сл. 1) [21-23].



**Слика 1. Приказ на T-Scan III систем (Tekscan Inc., Boston, MA, USA)**

Во софтверот на системот се внесува измерената ширина на горниот централен инцизив (сл. 2) и самиот софтвер ги пресметува димензиите на

дисталните елементи и нивната релативна позиција во деналниот лак кој се испитува.



**Слика 2. Приказ на пациент за мерење на ширината на горен централен инцизив**

Поставеноста на пациентот на терапевското столче за снимањата зависи од позицијата на мандибулата. За снимање во положба на максимална интеркуспидација, латеропулзија и пропулзија, пациентите се наоѓаат во седната позиција на терапевтското столче, со Франкфуртска рамнина-ГН паралелна на подот за да се избегне влијанието на поставеноста на главата на пациентот врз оклузијата (сл. 3). За избегнување на индивидуални варијации во силата на затворање, за секој пациент подесената сензитивност се одржува во текот на целото снимање и сите снимања треба да се изведуваат од страна на еден ист оператор. Секое снимање го повторивме три пати за да се одржи веродостојноста на податоците, а помеѓу секое снимање направивме пауза во времетраење од една минута.

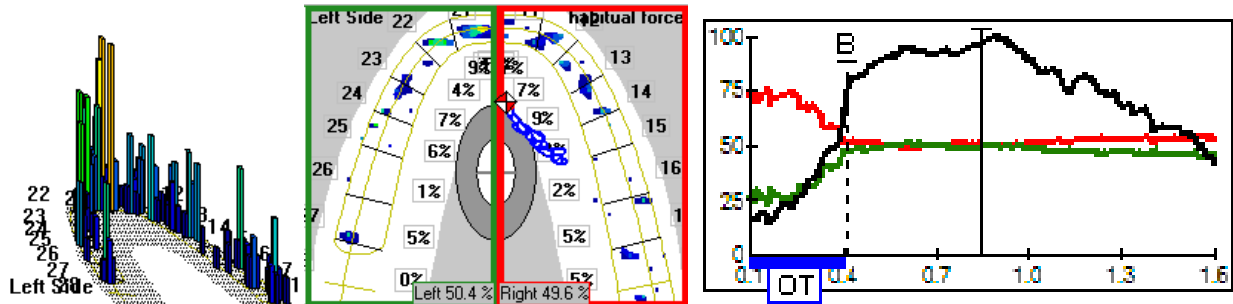


**Слика 3. Приказ на поставеност на пациентот за снимања со T-Scan III систем (Tekscan Inc., Boston, MA, USA) за положба на максимална интеркуспидација, латеропулзија и пропулзија**

Со помош на T-Scan III системот кај пациентите со нормооклузии (сл. 4: а), б) и в)), ги анализиравме контактите на оклузија симултано, од моментот на првите оклузални контакти до моментот на максимална интеркуспидација (сл. 5).

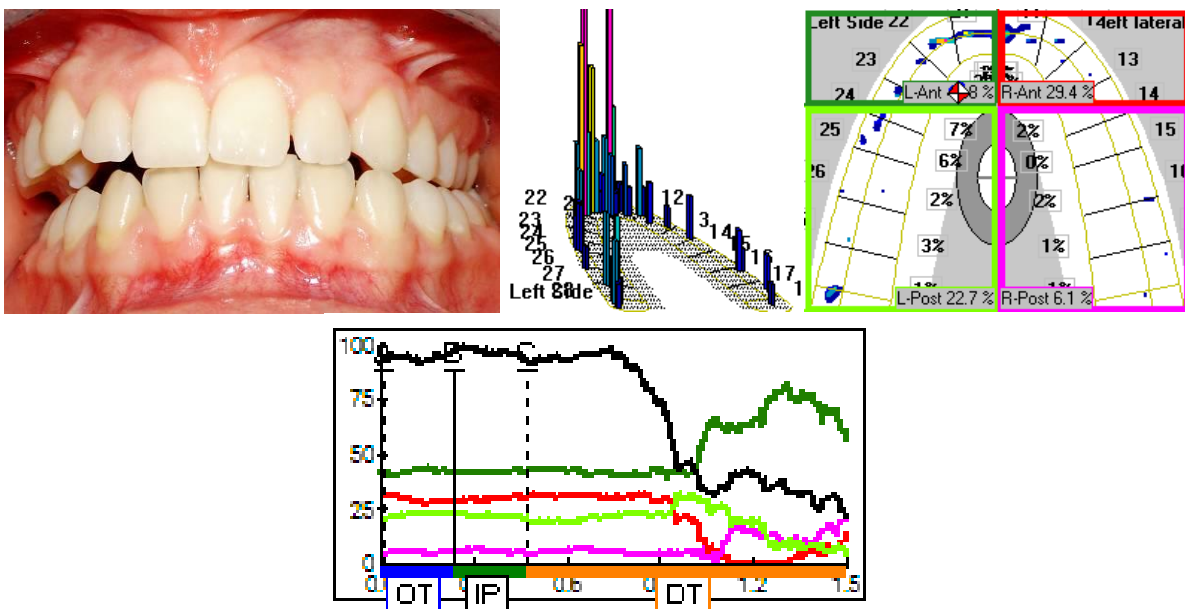


Слика 4. Приказ на интраорален изглед на пациент со нормооклузија: а) десно, б) фронтално и в) лево

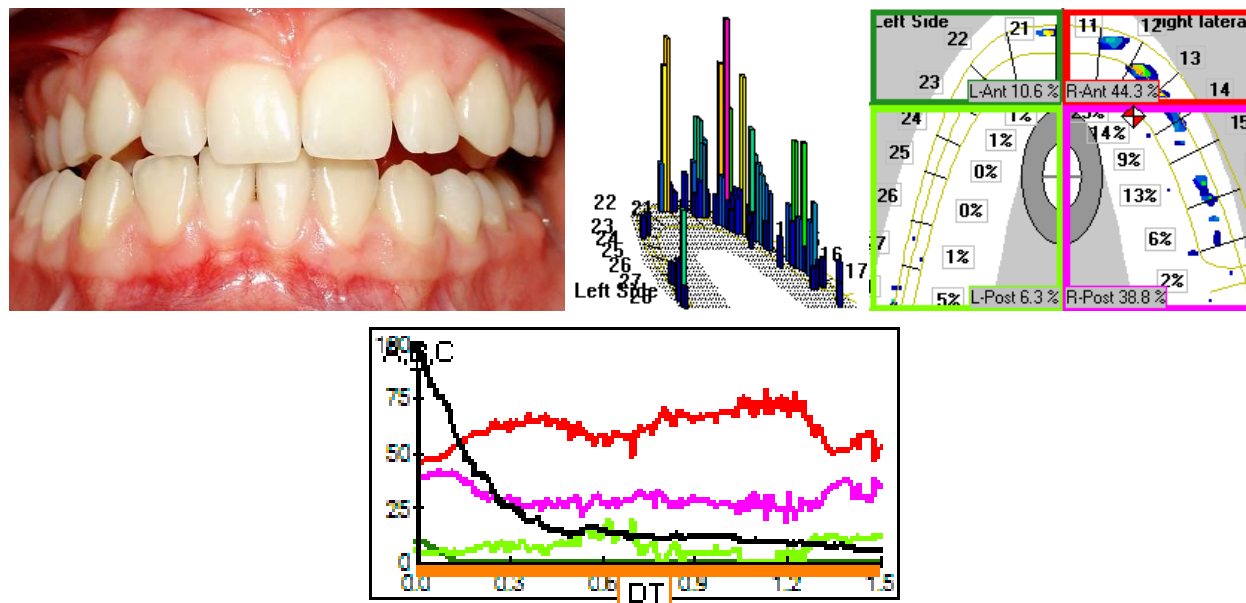


Слика 5. Приказ на оклузограм со снимени сили на оклузалните контакти на хард-драјверот достапни за анализа при максимална интеркуспидација кај пациент со нормооклузија

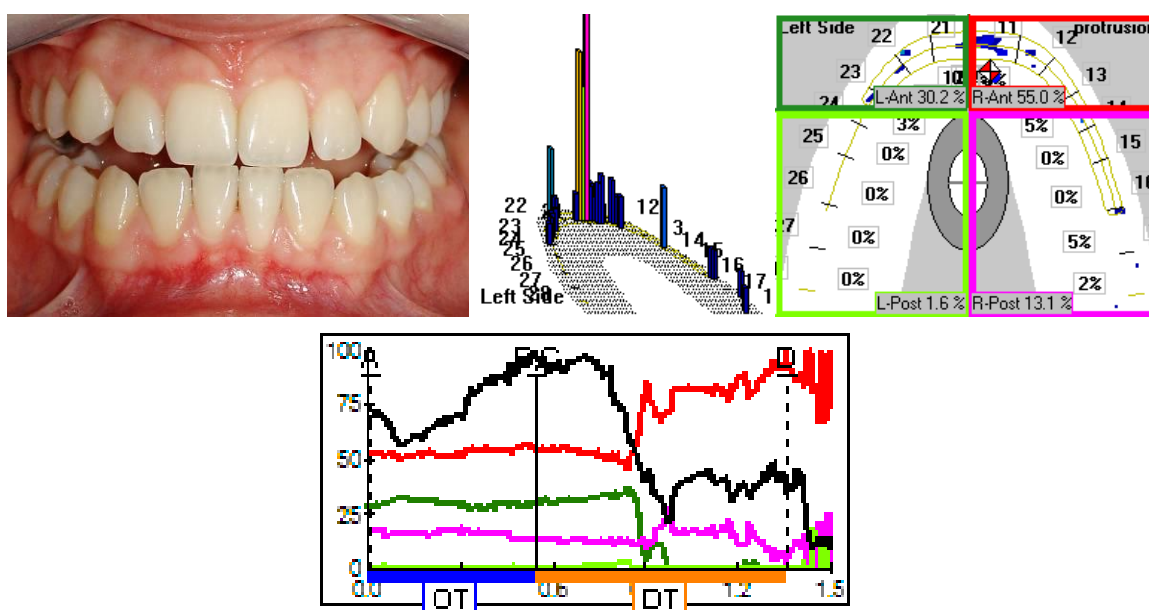
При латералните движења на мандибулата на лева страна (сл. 6: а) и б)), и десна страна (сл. 7: а) и б)), ги снимавме контактите и на работната и на балансната страна. Оклузалните контакти во тек на пропулзивните движења се снимаат во тет-а-тет позиција на инцизивите (сл. 8: а) и б)). По поставувањето на сензорот од позиција на максимална интеркуспидација, фронталните заби со помош на лизгање се носат до заб на заб позиција [15-20].



Слика 6. Приказ на на интраорален изглед на пациент со нормооклузија: а) латеропулзија на лева страна и б) оклузограм со снимени сили на оклузалните контакти на хард-драјверот достапни за анализа при латеропулзија на лева страна кај пациент со нормооклузија



Слика 7. Приказ на на интраорален изглед на пациент со нормооклузија: а) латеропулзија на десна страна и б) оклузограм со снимени сили на оклузалните контакти на хард-драјверот достапни за анализа при латеропулзија на десна страна кај пациент со нормооклузија



Слика 8. Приказ на на интраорален изглед на пациент со нормооклузија:

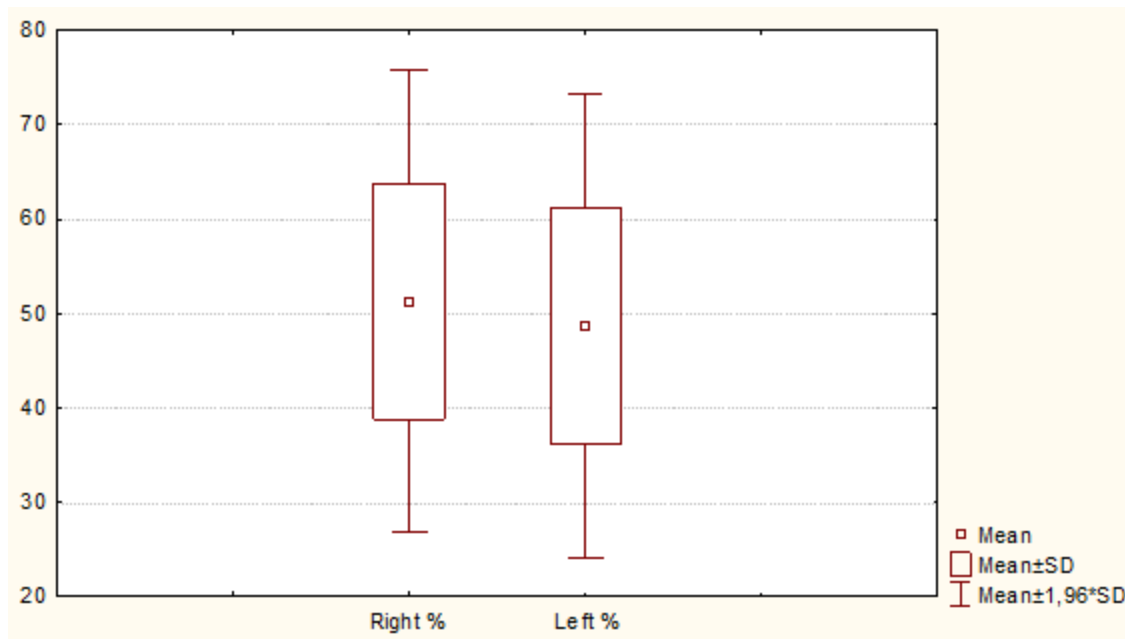
**а) пропулзија б) Оклузограм со снимени сили на оклузалните контакти на хард-драјверот достапни за анализа при пропулзија кај пациент со нормооклузија**

**РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА**

Анализата на комбинација од следниве параметри: редоследот на оклузални контакти, времетраењето на оклузалните контакти, нивната локализација и силата на истите кај пациентите со нормална оклузија, еугнат загриз, интактно забало покажува дека постои тенденција за билатерална, балансирана симетрична распределба на оклузалните контакти околу сагиталната оска и центарот на силата (COF) антеропостериорно е лоциран во регијата на првиот перманентен молар и е билатерално симетричен. Моларите имаат тенденција да оклудираат симултано и секој оклузален контакт пренесува речиси идентичен цвакопритисок. Овие резултати се совпаѓаат со испитувањата на голем број автори [26-31]. Кај нашите испитаници со нормооклузии при максимална интеркуспидација утврдивме дистрибуција на оклузалните сили 48.7% од лева и 51.3% од десна страна на денталниот лак. Во однос на релативната позиција на центарот на оклузалната сила на оклузограмот можеме да забележиме две елипсоидни полиња во центарот на забниот лак. Помала елипса со бела боја во внатрешноста и поголема елипса со сива боја во надворешноста. Посматрајќи ја положбата на центарот на оклузалните сили, при снимањето на загризот при максимална интеркуспидација кај секој пациент, во вид на црвено-бела икона е прикажан центарот на силата кој зборува за избалансираноста на оклузалните сили во текот на оклузијата. Внатрешната елипса ја претставува површината во која се наоѓа COF кај 68% од популацијата, додека надворешната елипса ја прикажува површината во која се наоѓа COF кај 95% од нормалната популација. Испитувањата на Kerstein се совпаѓаат со нашите, забележувајќи дека кај испитаниците со нормооклузија следи нормална дистрибуција. Кај 94.1% од субјектите центарот на силата е лоциран во постериорната регија кога истите загризуваат со максимална сила во положба на максимална интеркуспидација. Кај 54.3% од испитаниците тој е лоциран во белото поле од двојната елипсата, а кај 39.8% е лоциран во сивото поле од двојната елипсата. Дислокација на центарот на силата, надвор од двојната елипса имаме само кај 5.9% [32, 33] (табела и графикон 1 и табела 2).

**Табела и Графикон 1. Приказ на дистрибуцијата на оклузалните контакти лево и десно од медијаната при максимална интеркуспидација**

Параметар	Средна вредност десно	Средна вредност лево	t- вредност	df	p	Valid N десно	Valid N лево
Максимална интеркуспидација	51,31	48,69	0,56	26	0,58	14	14



**Табела 2. Одредување на центарот на оклузална сила**

Центар на оклузална сила	број	процент
Бела елипса	4	40
Сива елипса	5	50
дислокација	1	10,00

Испитувајќи го времето на оклузија (ОТ), параметрите покажаа дека кај пациентите со нормоклузија постои оклузална стабилност со време на оклузија помало од 0.4 sec од првиот до последниот контакт при максимална интеркуспидација. Во однос на оклузалната стабилност, го испитувавме и време на дисклузија (ДТ) кое при пропулзија и латеропулзија во лево и десно е помало од 0.5 sec, што оди во прилог на оклузална стабилност и добра симултаност на оклузалните контакти и отсуство на оклузални интерференции при мандибуларните екскурзии (табела 3).

**Табела 3. Приказ на вредностите за време на оклузија/sec при максимална интеркуспидација и вредностите за време на дисклузија/sec при пропулзија и латеропулзија на лева и десна страна кај испитаниците со нормооклузија**

Испитувани параметри	Испитаници со нормооклузија n=10 Mean Std.Dev.	
Време на оклузија	0.23	0.19

Време на дисклузија при пропулзија	0.39	0.25
Време на дисклузија при латеропулзија на лева страна	0.38	0.41
Време на дисклузија при латеропулзија на десна страна	0.38	0.27

Анализата за утврдување на корелација помеѓу оклузијата и артикулацијата и одредување на оклузална шема кај нашите испитаници со нормооклузии покажа дека дистрибуција на контактите на работната страна (работни контакти) при латералните движења на мандибулата се разликува за 0.5 mm и 3 mm растојание од положба на максимална интеркуспидација. Во текот на латералните движења на мандибулата за растојание од 0.5 mm од положба на максимална интеркуспидација, 64.5% имаат билатерално групна функција и 20% имаат билатерално водство на канините. При растојание од 3 mm од положба на максимална интеркуспидација, канините го превземаат водството и 62,5% од испитаниците имаат канин водена оклузија, а само 24% имаат билатерално групна оклузија.

При пропулзија, anteriorno водство со дисклузија на забите во постериорната регија имаат 77.5% од нашите испитаници. Кај 22.5% од нашите испитаници постои присуство на оклузална интерференција при мандибуларните движења. Од нив кај 55% оклузални интерференции се сретнуваат кај вторите молари при пропулзија и 45% оклузални интерференции кои се сретнуваат на неработната страна при латеропулзиите. Овие резултати се совпаѓаат со испитувањата на Aubrey RB и Timm TA [24,25].

## ЗАКЛУЧОК

Анализата со T-Scan III системот овозможува евалуација на оклузалниот баланс. Испитаниците со нормооклузии се карактеризираат со оклузална стабилност-балансирана (урамнотежена) оклузија, т.е. со оклузија на забите која прикажува хармоничен сооднос на оклудирачките површини во сите центрични и ексцентрични позиции при постоење одредено функционално ниво на мастикација и голтање. Забите имаат истовремени контакти на горните и долните заби на лева и десна страна во дисталните и фронталните оклузални зони при центрични и ексцентрални позиции. Нашите испитаници имаат униформирана дистрибуција на оклузалните сили во двете половини на деналниот лак со билатерално симетричен центар на силата. Постои корелација помеѓу оклузијата и артикулацијата кај пациентите. Идеалната оклузија корелира со идеалната артикулација. Нашите испитаници се карактеризираат со anteriorno водство при пропулзија и заштита на канинот и/или премоларите при латеропулзија, без



присуство на позначајни интерференции. Дистрибуцијата на контактите на работната страна при латералните движења на мандибулата се разликува за 0.5 mm и 3 mm растојание од положба на максимална интеркуспидација. Примената на T-Scan III системот е важна во дијагностиката, планот на терапија и сите фази на ортодонтскиот третман во секојдневната клиничка практика со цел постигнување на оклузален еквилибриум.

## T-SCAN III SYSTEM DIGITAL OCCLUSAL ANALYSIS ON OCCLUSAL BALANCE IN NEUTROOCLUSION

Vesna Trpevska<sup>1</sup>, Gordana Kovacevska<sup>2</sup>, Lidija Kanurkova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Orthodontics, Faculty of Dental Medicine, UKIM - Skopje, Republic of Macedonia

<sup>2</sup> Department of Prosthodontics, Faculty of Dental Medicine, UKIM - Skopje, Republic of Macedonia

\*Corresponding author:

**Vesna Trpevska**

e-mail: [vesnarules@hotmail.com](mailto:vesnarules@hotmail.com)

### ABSTRACT

#### Aim

The objective of this study was to observe and characterise the occlusal balance of static and dynamic occlusal parameters in subjects with neutroocclusion using the T-Scan III System as well as to determine the importance of T-Scan III System digital occlusal analysis in orthodontics.

#### Material and Method

Our study was performed on 10 patients with neutroocclusion, Angle Class I. Occlusal balance was quantitatively evaluated using the T-Scan III System (Tekscan Inc., Boston, MA, USA). We did five recordings on each patient, in position of maximum intercuspitation, protrusive and lateral excursion of the mandible in right and left direction from linea mediana. We analysed the following parameters: occlusal contact distribution, bilaterally, determination of center of occlusal force (COF), occlusal time (OT), disclusion time, determination of functional type of occlusion and presence and localisation of occlusal interferences.

#### Results and discussion

Occlusal contact distribution in our patients was 48.7% on the left side and 51.3% on the right side from the dental arch in position of maximum intercuspitation. Center of occlusal force (COF) was located anteroposteriorly in the region of the first permanent molar at 94% from our patients and is symmetrical bilaterally. 39.7% from our patients had the COF placed in the white ellipse and 54.3% in the grey ellipse. 90% had occlusion time shorter or equal than 0.4sec and disclusion time shorter or equal than 0.5sec per excursion. During lateral mandibular movements for 0.5 mm distance from MIP, 64.5% from our patients have bilateral group function and 20% have bilateral canine guidance. For 3mm distance from MIP, 62.5% have canine guided occlusion and 24% have bilateral group occlusion. During protrusive excursions, anterior guidance with posterior teeth disclusion have 77.5% from our patients. Occlusal interferences were found at 22.5% of our patients. 55% of the occlusal interferences are on the second molars during protrusive excursions, and 45% are found on the non-working side during lateral mandibular excursions.

### **Conclusion**

Analysis with the T-Scan III System allow us to evaluate the occlusal balance. Neutroocclusion patients are characterized by balanced occlusion with uniform distribution of occlusal contacts and bilaterally simmetrical center of occlusal force. Teeth in upper and lower jaw contact simultaneously, both in distal and anterior occlusal zones in both centric and excentric positions. There is a correlation between occlusion and articulation. Ideal occlusion correlates with ideal articulation. Our patients are characterized by anterior guidance during protrusive mandibular movements and canine guidance and/or premolars during lateral excursions of the mandible. Occlusal contacts on the working side during lateral mandibular movements are different for 0.5mm and 3mm distance from MIP. T-Scan III System is a very important diagnostic tool for determination of correct occlusal pattern in orthodontics and provides us with high quality treatment results in every day clinical practice.

**Key words:** Neutroocclusions, Digital Evaluation, Occlusal Balance, T-Scan III System.

## INTRODUCTION

Occlusion is the static relationship between the incisal edges or occlusal surfaces of the maxillary or mandibular teeth. Articulation refers to the occlusal contacts of the maxillary and mandibular teeth during function, speech, mastication and swallowing [1]. Occlusion itself is a result of neuromuscular control of the components of the mastication systems such as: teeth, periodontal structures, maxilla and mandibula, temporomandibular joints and their associated muscles and ligaments [2,3]. The initial concept of occlusion was related to fixed relations of the jaw, but a correct analysis has to take into consideration all tissues involved, including the TMJ, as well as all stimuli that derives from the occlusal contacts like curve of Spee, cusps height, condilar guidance and the occlusal plane [4-7]. Individual occlusal status is characterized by interarch and intraarch teeth relationships [8].

According to Angle clasiffication, the upper and lower molars are in relationship whereby the mesiobuccal cusp of the upper molar occlude in the buccal grove of the lower molar and the teeth are aranged in a smoothly curving line of occlusion. The arch relationships are such that each lower tooth (except the central incisor) contacts the corresponding upper tooth and the tooth anterior to it. The upper arch overlaps the lower anteriorly and laterally. Each arch is regular with the teeth at ideal mesiodistal and buccolingual inclinations and the correct aproximal relationship at each interdental contact area.

The normal(ideal) occlusion descibed by orthodontics today, which is used as the basis upon which to judge outcome following orthodontic treatment is derived from the work published by Angle and Andrews and focuses on specific anatomical relationships of the teeth and dental arches. According to many authors [1-9] normal occlusion should fullfil the following criteria: neuromuscular harmony, occlusal stability, health periodontium, accepted esthetics, good masticatory function, normal phonetics, absence of parafunctional habits, no TMJ pathological evidence, occlusal loads distributed along the vertical axis of teeth, adequate anterior guidance, good bilateral balance, minimum muscular tension plus maximum efficiency, minimum dentar wearing and 138 occlusal contact of all 32 teeth. The posterior teeth should contact equally and evenly upon closure into the occlusion with no occlusal contact of the a anterior teeth, to avoid lateral stresses on anterior teeth and supporting structures. Upon closure into occlusion the stress upon the posterior teeth should be directed as nearly as possible down the long axis of the posterior teeth, so that the resultant stresses are transmitted as tension to the periodontal ligament and the lamina dura.

Considerable emphasis is placed on this static occlusal relationship in assesing the quality of completed orthodontic treatment with less emphasis on the importance of the funtional occlusion. It is generally assumed that an ideal static occlusal relationship is compatible with an ideal functional occlusion (Andrews 1976, Roth 1976). There are three main concepts regarding tooth contact during lateral excursion of mandibular movement: balanced occlusion, which was developed from the work of Bonwill, canine guidance, descibed by D'Amico and group function, as discussed by Beyron [10-13]. During ideal mandibular movements two factors are of umost importance: freedom of movement and economy of muscular energy. These conditions are provided by anterior guidance in protrusive movements and by canine function in lateral excursions.

Ash M., Ramfjord S., [3], state that ideal occlusion is a mystical, hypothetical concept or theoretical concept, rarely found in the nature. The goals of orthodontic treatment are: good facial morphology, a well-functioning occlusion, an esthetically pleasing dental appearance and stable treatment results.

T-Scan III digital, computerized occlusal analysis allows us to evaluate the occlusal parameters of each individual.

The objective of this study was to:

- Observe and characterize the occlusal balance of static and dynamic occlusal parameters in subjects with neutroocclusion
- Determine the type of functional occlusion and to establish a correlation between the 'ideal' occlusion and 'ideal' articulation
- Determine the importance of T-Scan III System digital occlusal analysis in orthodontics

## **MATERIAL AND METHOD**

10 patients, 5 female and 5 male, age 15-28 were selected for occlusal balance evaluation using the T-Scan III System. We did clinical examinations, panoramic radiographs, morphological cast analysis and grouped them in Angle Class I occlusion. We performed digital occlusal T-Scan III analyses of following parameters:

- distribution of occlusal contacts at position of maximum intercuspitation, protrusive excursion and lateral excursion in right and left direction
- Maximum occlusal force, bilaterally, anteroposteriorly
- Center of occlusal force determination (COF)- the force summation of all the occlusal contact points at any given moment in a T-Scan III recording
- Occlusion time (OT) - the duration of elapsed time from first tooth contact to the time-moment that static intercuspitation is initially reached and maintained. It shows how fast and simultaneously teeth contact. The shorter the OT, the less time required to contact all teeth. It is recommended to keep the OT less than 0.4 seconds.
- Disclusion time (DT) - the duration of time required to reach solely the canine or anterior teeth after leaving from MIP (maximum intercuspital position) during a mandibular excursion. DT should be kept less than 0.5 seconds per excursion, preventing the increased muscular excessive force from excessively loading posterior teeth, their supporting periodontal tissues and the temporomandibular joints
- Occlusal interferences-presence and localization

## **CLINICAL APPLICATION OF THE T-SCAN III SYSTEM**

One of the most innovative systems for quantitative occlusal analysis was developed by Maness 25 years ago, and since then the entire system has undergone hardware and software revisions. The T-Scan III system, version 7 today is improved and used in analysis of the order of occlusal contacts, while simultaneously measuring the force percentage changes of those same contacts, from the moment the teeth first begin making occlusal contact, all the way through to maximum intercuspitation [14]. The system is composed of a computer with a specific board and software capable of

converting information recorded by the sensor to visual and numerical information on tooth contact. The T-Scan III sensor is an ultrathin, flexible printed circuit that detects patient's occlusal forces. These sensors are made up of 1370 active pressure sensing locations for the large sensor, and 1122 pressure sensing locations for the small sensor. These sensing locations are called sensels which are arranged in rows and columns on the sensor. The recording is taken by placing the sensor in the patient's mouth, with the sensor support pointer between the two central incisors and keeping the scanning handle parallel to the occlusal plane. (Fig. 1) [21-23].



**Figure 1. T-Scan III System (Tekscan Inc., Boston, MA, USA).**

**We enter the sum of the upper central incisor width in the software (Fig.2). The software calculates and customize the dimensions of the distal elements and their position in the dental arch**



**Figure 2. Measuring the upper central incisor width**

Methods for taking occlusal reading depends on position of the mandible. For recording the occlusal data in position of maximum intercuspitation, protrusive and lateral excursion, the patient is asked to sit upright in a dental chair with the Frankfurt horizontal (FH) plane as parallel to the occlusal plane as possible, to avoid the effect of head posture on the occlusal contact pattern (Fig. 3). To avoid and exclude any individual variations all recordings should be performed by the same operator and the sensitivity should be kept the same during the entire recording. For the data reproducibility, we repeat each recording three times with 1 minute pause between each recording.

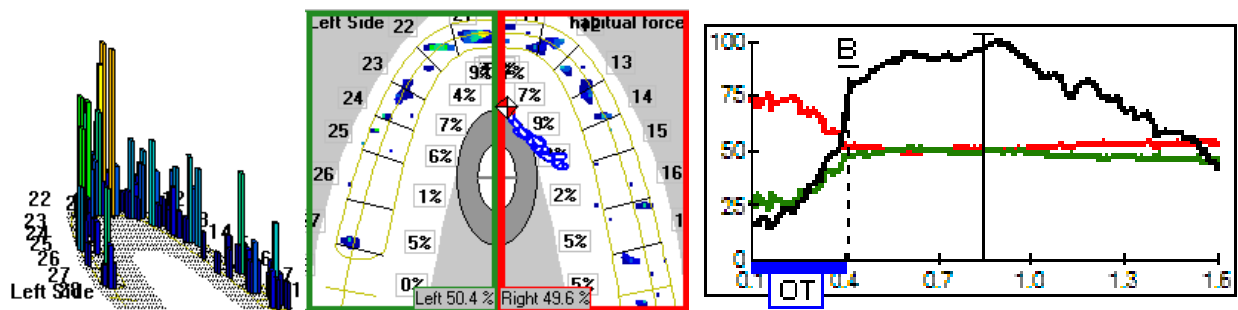


**Figure 3. Patient position for T-Scan III recordings (Tekscan Inc., Boston, MA, USA), in position of maximum intercuspitation, protrusive and lateral mandibular excursions**

Using the T-Scan III System at patients with neutroocclusion (Fig.4: a), b), c)) we analysed the occlusal contacts, simultaneously, from the first occlusal contact until the position of maximum intercuspitation (Fig.5).

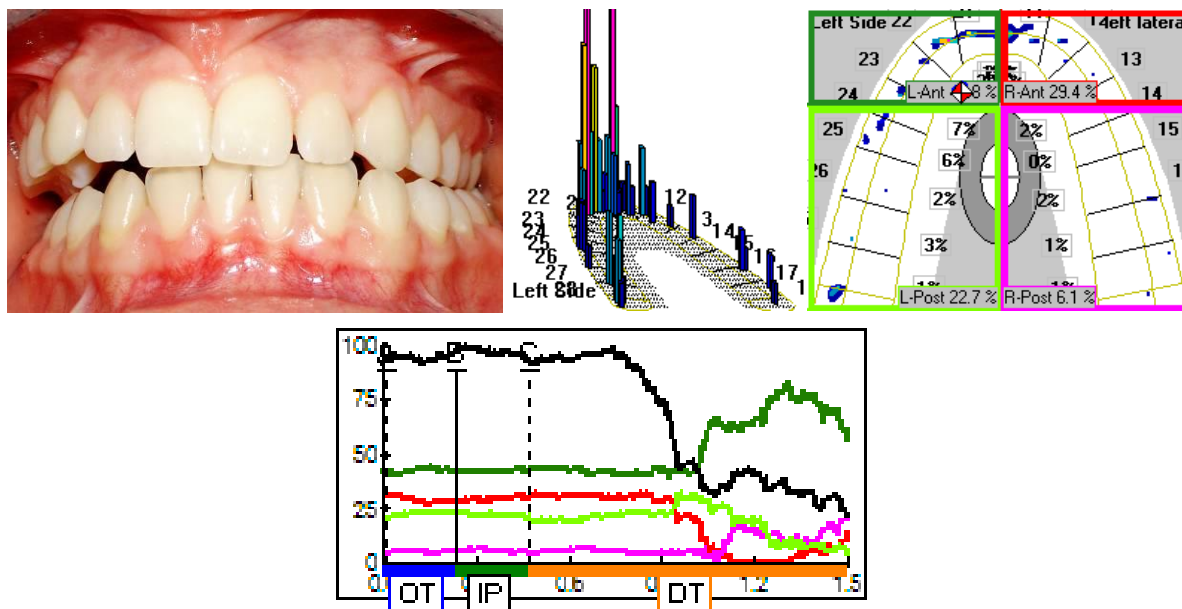


**Figure 4. Intraoral view of patient with neutroocclusion: a) right, b) frontal, c) left**

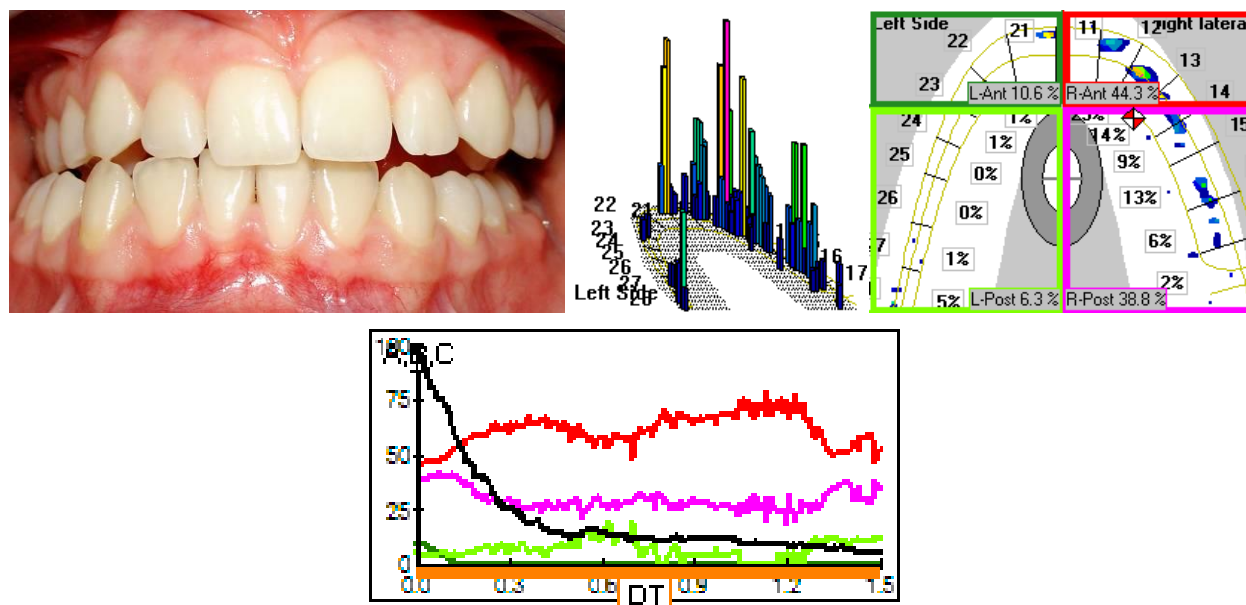


**Figure 5. Image from computerized occlusal analysis software showing the distribution of occlusal contacts in position of maximum intercuspitation in patients with neutroocclusions**

During lateral excursions, left (Fig.6: a) and b)) and right (Fig.7:a) and b)), we recorded the occlusal contacts on the working and balancing side. Occlusal contacts in propulsion are recorded in tet-a-tet position (Fig.8:a0 and b)) [15-20].

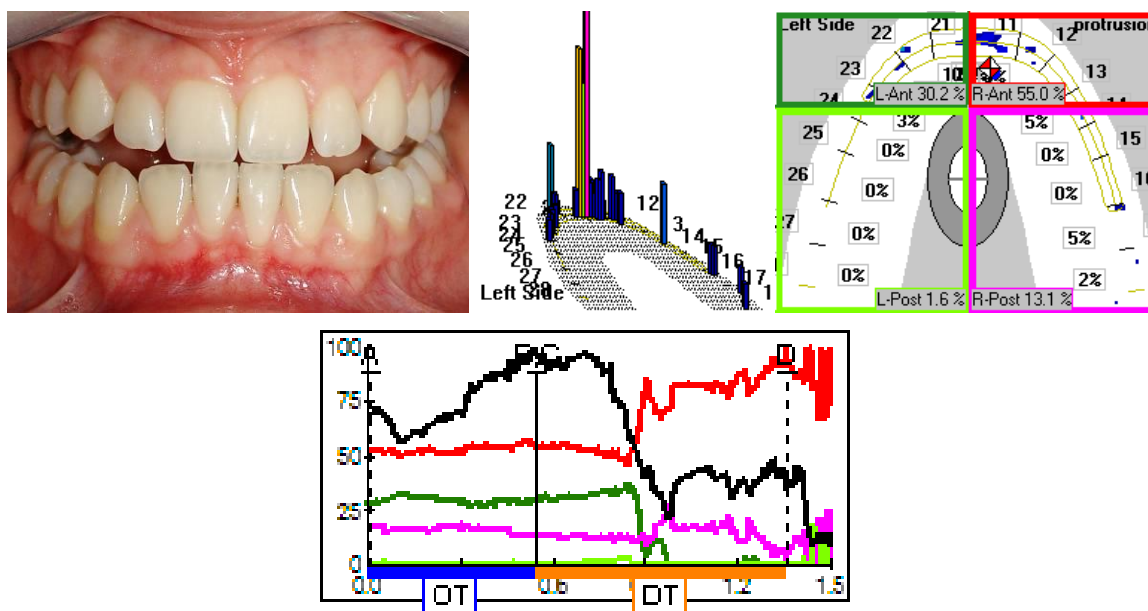


**Figure 6. Intraoral view of patient with neutroocclusion: a) lateral excursion on left side b) image from computerized occlusal analysis showing occlusal contacts on the left side during lateral excursion**



**Figure 7. Intraoral view of patient with neutroocclusion: a) lateral excursion on right side and b) image from computerized occlusal analysis showing occlusal contacts on the right side during lateral excursion**





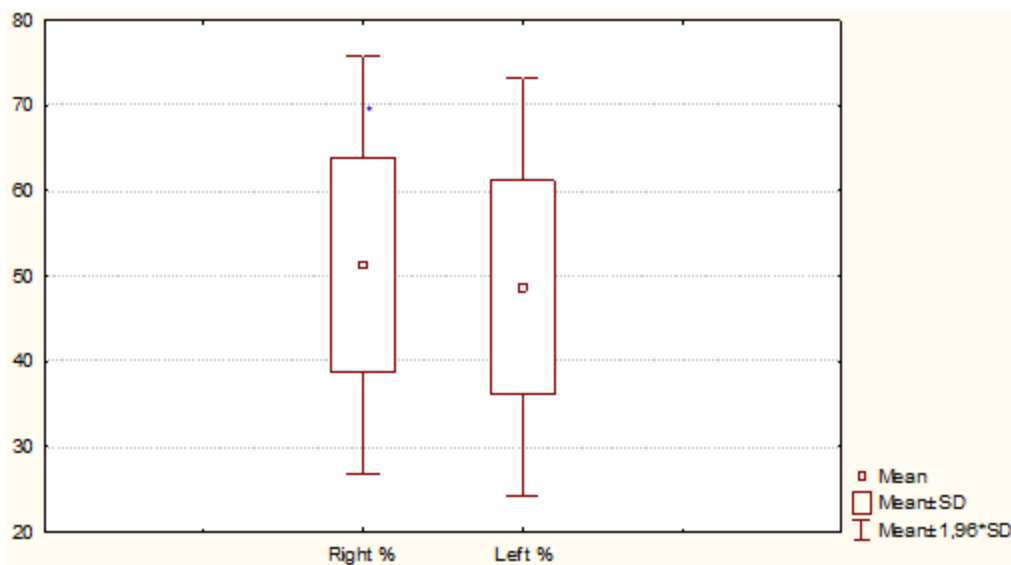
**Figure 8. Intraoral view of patient with neuroocclusion: a)propulsion and b) image from computerized occlusal analysis showing occlusal contacts during propulsion**

## RESULTS AND DISCUSSION

Analysis of the following parameters: occlusal contact order, occlusal contact time sequence, occlusal contact localization and occlusal contact force in patients with neuroocclusion show tendency for bilateral, balanced, symmetrical occlusal contact distribution about the midsagittal axis of occlusal plane. Also, the center of occlusal force (COF) was located anteroposteriorly in the region of the first permanent molar at 94% from our patients and is symmetrical bilaterally. Molar teeth have tendency to occlude simultaneously. Occlusal contact distribution in maximum intercuspitation was 48.7% on the left side and 51.3 % on the right side from the dental arch with  $p > 0,05$  ( $p = 0,58$ ). 39.7% from our patients had the COF placed in the white elipse and 54.3% in the grey elipse (Tab. and Graf. 1 and Tab. 2). These results are in coincidence with the results of many authors [26-31].

**Table and Graficon 1. Descriptive statistics of values of occlusal contact distribution in Maximum intercuspitation (Right % & Left %)**

Parametar	Mean Right	Mean Left	t-value	df	p	Valid N Right	Valid N Left
Maximum intercuspitation	51,31	48,69	0,56	26	0,58	14	14



**Table 2. Determination of Center of occlusal force**

Center of COF	Count	Percent
White elipse	4	40
Grey elipse	5	50
Dislocation	1	10,00

Analyzing the occlusion time parameters, our patients with neuroocclusion had occlusal stability with  $OT < 0.4\text{sec}$ . During protrusive and lateral excursion of the mandible we analyzed disclusion time. Our patients had  $DT < 0.5\text{sec}$  which shows occlusal stability as well as occlusal contacts simultaneity and absence of major occlusal interferences during the mandibular movements (Table 3).

**Table 3. Mean values of occlusion and disclusion time during maximum intercuspitation, protrusive and lateral excursions of the mandible in right and left directions in patients with neuroocclusions**

Parameter	Subjects with neuroocclusions n=10	
	Mean	Std.Dev.
Occlusion time	0.23	0.19
Disclusion time during protrusive excursion	0.39	0.25
Disclusion time during lateral excursion in left direction	0.38	0.41

Disclusion time during lateral excursion in right direction	0.38	0.27
---	------	------

Analysing the correlation between occlusion and articulation and occlusal scheme determination in our patients with neutroocclusions shown that occlusal contact distribution on the working side during the lateral excursions of the mandible is different when the distance from the MIP position is 0.5 mm and 3mm. During lateral mandibular movements for 0.5 mm distance from MIP, 64.5% from our patients have bilateral group function and 20% have bilateral canine guidance. For 3mm distance from MIP, 62.5% have canine guided occlusion and 24% have bilateral group occlusion. During protrusive excursions, anterior guidance with posterior teeth disclusion have 77.5% from our patients. Occlusal interferences were found at 22.5% of our patients. 55% of the occlusal interferences are on the second molars during protrusive excursions, and 45% are found on the non-working side during lateral mandibular excursions. These results are in coincidence with the results of Aubrey RB и Timm TA [24,25].

## CONCLUSION

T-Scan III System allow us to evaluate the occlusal balance. Neutroocclusion patients are characterized by balanced occlusion with uniform distribution of occlusal contacts and bilaterally symmetrical center of occlusal force. Teeth in upper and lower jaw contact simultaneously, both in distal and anterior occlusal zones in both centric and excentric positions. There is a correlation between occlusion and articulation. Ideal occlusion correlates with ideal articulation. Our patients are characterized with anterior guidance during protrusive mandibular movements and canine guidance and/or premolars during lateral excursions of the mandible. Occlusal contacts on the working side during lateral mandibular movements are different for 0.5mm and 3mm distance from MIP. T-Scan III System is very important as diagnostic tool for determination of correct occlusal pattern in orthodontics and provide us with high quality treatment results in every day clinical practice.

## ЛИТЕРАТУРА / BIBLIOGRAPHY

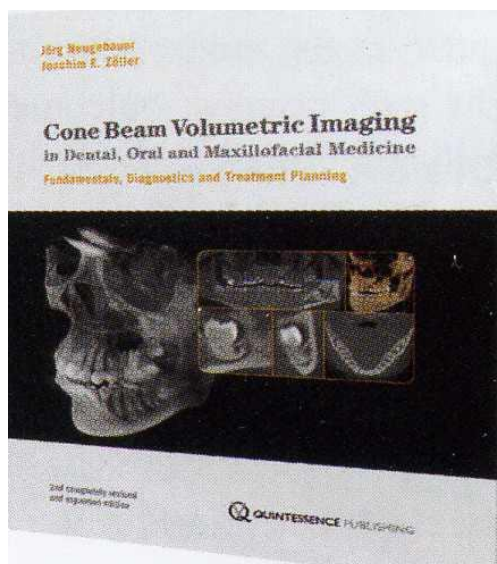
1. Ljuben N.Guguvcevski. Okluzija Skopje: "EIN-SOF", 1997
2. Ramfjord SP, Ash MM. Occlusion, ed 3. Philadelphia: Saunders, 1983: 175-265
3. Ash M., Ramfjord S., - Occlusion, W B Saunders Co; 4<sup>th</sup> edition, 1995
4. Angle EH: Classification of malocclusion. Dental Cosmos 1899, 41:248-264.
5. Andrews LF. Six keys to normal occlusion. Am J Orthod 1972, 62:296-309.
6. Andrews LF, Andrews WA. The six elements of orofacial harmony. Andrews J. 2000;1:13-22.
7. Graber TM. Current orthodontic concepts and techniques. Ed. 2. Philadelphia, WB Saunders Co, 1975,38p.
8. Proffit WR and Fields HW (2000). Contemporary Orthodontics. Chicago: Mosby Year Book, pp. 1-15.
9. Thomson H. Occlusion. Wright, London, 1990, 33-43pp.
10. Roth Rh. A functional occlusion for the orthodontics. J Clin Orthod 1981;15:32-51.
11. Clark JR, Evans RD., Eastman Dental Institute and Hospital, London, UK Functional occlusal relationships in a group of post-orthodontic patients: preliminary findings European Journal of Orthodontics 20 (1998) 103-110.
12. Clark JR, Evans RD., Functional Occlusion: I.A Review, J Orthod. 2001Mar;28(1):76-81.
13. Kazem S. Al-Nimria; Anwar B. Batainehb; Sawsan Abo-Farhac Functional Occlusal Patterns and Their Relationship to Static Occlusion Angle Orthodontist, Vol 80, No 1, 2010.
14. Jin-Hwan Kim. Computerized Occlusal Analysis Utilizing the T-Scan III System. E-book, pg5.
15. Sidana V. Computerized Occlusal Analysis. Indian Journal of Dental Sciences. June 2013 Issue:2, Vol.:5.
16. Коруноска-Стевковска В. T-Scan II компјутерска анализа на оклузални контакти кај пациенти со фикснопротетички изработки. Докторска дисертација, Стоматолошки факултет, Скопје, 2007.
17. Kerstein R.B, Grundset K. Obtaining measurable bilateral simultaneous occlusal contacts with computer-analyzed and guided occlusal adjustments. Quintessence Int 2001;32:7-18.
18. Okuma K, Hirano S, Hayakawa I. Occlusal Pressure Pattern Analysis Of Complete Dentures for Evaluation of Occlusal Adjustment, J Med Dent Sci 2004; 51: 197-203.
19. Kazem S. Al-Nimria; Anwar B. Batainehb; Sawsan Abo-Farhac Functional Occlusal Patterns and Their Relationship to Static Occlusion Angle Orthodontist, Vol 80, No 1, 2010.
20. Pyakurel U et al. Mechanism, accuracy and application of T-Scan System in dentistry- A review. Journal of Nepal Dental Association.
21. Qadeer S, Kerstein RJ, Jin R, Jung-Bo Huh, Sang Wan Shin. Relationship between articulation paper mark size and percentage of force measured with computerized occlusal analysis J Adv Prosthodont 2012;4:7-12.
22. Baldini A. et al. Importanza clinica della valutazione computerizzata dell'occlusione. DENTAL CADMOS 2009 Aprile;77(4).

23. Şoaita, C., Popşor S. Computer analyses of functional parameters and dental occlusion. Scientific Bulletin of the Petru Maior University of Targu Mures;2011, Vol. 8 Issue 2, p192 Dec 2011
24. Aubrey RB. Occlusal objectives in orthodontic treatment. Am J Orthod. 1978 Aug;74(2):162-75
25. [25]. Timm TA, Herremans EL, Ash MM Jr. Occlusion and orthodontics. Am J Orthod. 1976 Aug;70(2):138-45.
26. [26]. Julia Cohen-Lévy, Nicolas Cohen. Computerized analysis of occlusal contacts after lingual orthodontic treatment in adults. Int Orthodont 2011;9:410-431.
27. Hirano S, Okuma K, Hayakawa I. In vitro study on accuracy and repeatability of the T-Scan II system. Kokubyo Gakkai Zasshi. 2002 Sep;69(3):194-201.
28. Julia Cohen-Lévy, Nicolas Cohen. Computerized occlusal analysis in Dentofacial orthopedics: indications and clinical use the T-scan III system. Journal of Dentofacial Anomalies and Orthodontics Vol.15, Issue 02, January 2012.
29. An WW, Wang BK, Bai YK. Occlusal contacts in intercuspal position after orthodontic treatment. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 2009 Dec;44(12):735-8.
30. Sultana MH, Yamada K, Hanada K. Changes in occlusal force and occlusal contact area after active orthodontic treatment: a pilot study using pressure-sensitive sheets. J Oral Rehabil. 2002 May;29(5):484-91.
31. He Shu-zhen, Li Song, Gao Xiao-hui, An Wei-wei. A preliminary study on the occlusal contact changes during retention in adolescent patients. Chinese Journal of Stomatology, 2010, 45(9), 556-9.
32. Koos B, Höller J, Schille C, Godt A. Time-dependent analysis and representation of force distribution and occlusion contact in the masticatory cycle. J Orofac Orthop 2012;73:204-14.
33. V. Trpevska, G. Kovacevska, A. Benedeti, B. Jordanov. T-SCAN III SYSTEM DIAGNOSTIC TOOL FOR DIGITAL OCCLUSAL ANALYSIS IN ORTHODONTIC-modern approach. Prilozi 2014. CONTRIBUTIONS. Sec. Med. Sci., XXXV/2 (2014), 155-160.

# **КОНБИМ ВОЛУМЕТРИСКО СНИМАЊЕ ВО СТОМАТОЛОГИЈАТА, ОРАЛНАТА И МАКСИЛОФАЦИЈАЛНАТА ХИРУРГИЈА: ОСНОВНИ СОЗНАНИЈА, ДИЈАГНОЗА И ТРЕТМАН**

***ЈОРГ НУТЕБАУЕР И ЈОАКИМ Е. ЦОЛЕР***

Конбим волуметриското снимање е неразделив дел од денталната медицина. Оваа едиција е достапна во формат на атлас со илустрации од поголем формат. Првиот дел од книгата го воведува читателот во основните начела на конбим волуметриското снимање и помага во оптимизацијата и во добивањето на квалитетна конбим волуметриска снимка на анатомијата на лицевиот скелет со објаснување на вака добиените снимки. Голем број на клинички случаи се искористени со цел да се објаснат придобивките од употребата на конбим техниката на снимање во комбинација со останатите CAD/CAM техники во третманот и планирањето на имплантите, коскената аугментација, како и во постоперативниот третман на одредени компликации.



## **CONE BEAM VOLUMETRIC IMAGING IN DENTAL, ORAL AND MAXILLOFACIAL MEDICINE: FUNDAMENTALS, DIAGNOSIS AND TREATMENT PLANNING**

***JORG NEUGEBAUER AND JOACHIM E. ZOLLER***

Cone beam volumetric imaging (CBVI) has become an indispensable part of dentistry. This edition is available in atlas format with large-sized illustrations. The first part of the book introduces the readers to the basic principles of cone beam volumetric imaging and helps them optimize the attainable CBVI image quality and relevant system parameters for clinical applications, important aspects of CBVI imaging of the anatomy of the facial skeleton are also discussed. Numerous case examples are used to explain and illustrated the use of cone beam volumetric imaging in conjunction with other CAD/CAM techniques for implant treatment planning, bone augmentation and template manufacture as well as for postoperative evaluation and treatment of complications.

**Подготвил: Проф. Љ. Гугувчевски**