



Универзитет “Св. Кирил и Методиј”
Стоматолошки факултет, Скопје,
Р. Северна Македонија



МАГИСТЕРСКИ ТРУД

АКТИВНОСТ НА БИОМАРКЕРИТЕ (АЛКАЛНА ФОСФАТАЗА, АСПАРТАТ
АМИНОТРАНСФЕРАЗА И ЛАКТАТ ДЕХИДРОГЕНАЗА) ВО ГИНГИВАЛНИОТ
ФЛУИД ПРИ ОРТОДОНТСКО ПРИДВИЖУВАЊЕ НА ЗАБИТЕ

BIOMARKER ACTIVITY (ALCALINE PHOSPHATASE, ASPARTAT
AMINOTRANSFERASE AND LACTATE DEHYDROGENASE) IN
GINGIVAL CREVICULAR FLUID DURING ORTHODONTIC TOOTH
MOVEMENT

Д-р Ангела Тасевска

Ментор:

Проф. Д-р Мирјана Поповска

Коментор:

Проф. Д-р Наташа Тошеска-Спасова

Ноември, 2019

АБСТРАКТ

Цел: Да се евалуира активноста на АЛП, АСТ и ЛДХ во гингивалниот флуид. Да се процени дали испитуваните маркери можат да бидат соодветна дијагностичка алатка преку која ќе се мониторираат биохемиските случувања во пародонтот по апликација на различни ортодонтски сили. Преку нив да се детерминираат евентуалните разлики во ефектите врз алвеоларната коска.

Материјал и метод: Испитаничкиот примерок се состои од 20 пациенти со фиксен ортодонтски апарат, кај кои во тераписки цели е применета индицирана екстракциона терапија на првите премолари. На еден канин е аплициран кетен за дистализација-тестиран канин (ТК), додека на контралатералниот делува само силата од челичниот лак-контролен канин. Земан е примерок од гингивален флуид, од мезијалната и дисталната страна на двата заби со помош на хартиени абсорбенти. Интервалите на земање на примерокот се: пред апликација на силата (Т₀), 7 ден (Т₁), 14 ден (Т₂) и 21 ден (Т₃). Ензимската ективност во примерокот гингивален флуид е одредувана со UV спектрофотометар - Lambda 16, Perkin Elmer.

Резултати: АЛП активноста се покачува на мезијалната и дисталната страна на тестираниот канин, со највисока активност 14 ден од апликацијата на силата. АСТ активноста незначително се покачи на мезијалната страна, но значително е поголема нејзината активност на дисталната страна на тестираниот канин, со највисоки вредности измерени во Т₃ т.е. 21 ден. ЛДХ се покачува повеќе на дисталната во споредба со мезијалната страна на тестираниот канин, со највисоки вредности 14 ден. Активноста на сите ензими кај тестираниот канин е сигнификантно поголема од активноста кај контролниот канин.

Заклучок: АЛП, АСТ и ЛДХ се специфични, валидни и прецизни биомаркери за мониторирање на коскената ремоделација (апозиција и ресорпција) што се случува на забот кој е подложен на дејство на ортодонтски сили. Споредувани различно дозираните сили условуваат различни вредности во GCF кај тестираниот и контролниот заб што условува различен одговор на потпорното ткиво како одговор на различната сила.

Клучни зборови: биомаркери, гингивален цервикален флуид, ортодонтско движење, алвеоларна коска, ензимска активност.

ABSTRACT

Aim: To evaluate ALP, AST and LHD activity in gingival crevicular fluid. To estimate if the biomarkers can be used as a diagnostic tool for monitoring biochemical events in the underlying periodontium, after the application of different orthodontic forces. Furthermore, to determinate the eventual differences in the alveolar bone response.

Material and Methods: The study included 20 subjects which had fixed orthodontic appliance, and who were indicated for an extraction therapy. Elastic chain for retraction was applied to one maxillary canine- test canine, while the contralateral canine- control canine was loaded only with the force from the stainless steel arcchwire. GCF samples were taken from the mesial and distal sites of both teeth. The interval of sampling was before the application of the elastic force(T0), on 7th day(T1), 14th day(T2) and 21st day(T3). The enzyme activity in the GCF was evaluated with the UV Spectrophotometer - Lambda 16, Perkin Elmer.

Results: ALP activity is elevated on both, the mesial and the distal site of the tested canines, with activity peak at day 14. AST activity has been noted insignificantly increasing on the mesial site, but significantly elevated on the distal site of the tested canine. The peak activity was seen on T3 e.g. 21st day. LDH activity showed greater values on the distal site in comparioson with the mesial site of the tested canine, with peak activity measured on day 14. The overall enzyme activity in the tested canines was significantly greater than in the control canines.

Conclusion: Our results suggest that ALP, AST and LDH in GCF are potential, significant and precise biomarkers for monitoring alveolar bone remodeling events (apposition and resorption) during orthodontic tooth movement. Different orthodontic forces induce different enzyme levels in GCF of the tested and control canines. As a result of that the periodontal tissue response differs.

Key words: biomarkers, gingival crevicular fluid, orthodontic tooth movement, alveolar bone, enzyme activity

Содржина:

1. Вовед.....	6
2. Литературен преглед.....	13
2.1. Осврт кон гингивалниот флуид, анализа и дијагностичка вредност.....	14
2.2. Осврт кон клинички значајните биомаркери на пародонталниот и коскениот одговор, во гингивалниот флуид и нивната улога при ортодонтското поместување на забите.....	17
3. Цел на студијата.....	28
4. Материјал и метод.....	31
4.1 Материјал.....	32
4.2.1. Припрема на пациентите.....	33
4.2.2. Тековен ортодонтски третман.....	34
4.2.3. Тест и контролни заби.....	31
4.2.4. Метод за земање на примероци од гингивален флуид(GCF).....	35
4.2.5. Определување на активност на ензимите ALP, AST и LDH во примероци од гингивален флуид.....	36
4.2.6. Биостатистичка анализа на добиените податоци за ензимската активност.....	37
5. Резултати.....	38
5.1. Генерални карактеристики на примерокот.....	39
5.2. <u>Анализа на селектирани клинички параметри.....</u>	42
5.2.1. <u>Анализа на биомаркери ALP, AST, и LDH - нулто време.....</u>	42
5.2.2. <u>Анализа на ТМ, TD, КМ и КD за ALP во четири времиња.....</u>	52
5.2.3. <u>Анализа на ТМ, TD, КМ и КD за AST во четири времиња.....</u>	65
5.2.4. <u>Анализа на ТМ, TD, КМ и КD за LDH во четири времиња.....</u>	77
5.2.5. <u>Споредба на TD за AST и TD за LDH во четири времиња.....</u>	87
6. Дискусија.....	89
7. Заклучоци.....	101
8. Референци.....	104

1. ВОВЕД

Алвеоларната коска и периодонталниот лигамент кои ја даваат потпората на забот, се значително динамични и активни ткива, кои подлежат на константни промени како одговор на дејство на различни механички, нутритивни хормонски и други влијанија.

Забите, иако навидум во фаза на мирување, постојано се изложени на дејство на најразлични сили (функционални оптеретувања, сили на мастикација) и прават минорни движења во алвеолата. Силите преку забот се пренесуваат врз потпорниот апарат, делуваат врз периодонталниот лигамент и алвеоларната коска кои осцилираат помеѓу ткивна деградација и ткивна репарација. Затоа сидот на алвеоларната чашка постојано се ремоделира и неговата структурна организација се менува по неговата должина.

Кај нив почнуваат промени, на почетокот клеточни а потоа и метаболни кои предизвикуваат одредени структурни отстапувања на ткивата со цел да се одржи интегритетот и функцијата на ткивото. Тој таканаречен turnover на клетките во потпорните ткива ја обезбедува ткивната хомеостаза под дејство на најразлични секојдневни физиолошки или патолошки сили. Иако целата формација и регулација на алвеоларната коска во главно се исти како и кај коските во другите анатомски делови, сепак алвеоларната коска е специфична по исклучително брзиот turnover на клетките. Во овој контекст евидентна е голема меѓусебна зависност на сите периодонтални ткива кои функционираат и се менуваат како целина.

Кај секоја здрава индивидуа потребно е да постои баланс помеѓу парните процеси на ресорпција од страна на остеокластите и апозицијата кои ја обезбедуваат остеобластите. За време на миграцијата на забот, силата се дистрибуира, таа предизвикува ресорпција на едната страна на забот. Но балансот се постигнува од спротивната страна на забот каде се депонира нова коска. Овој баланс на коската на алвеоларната чашка заедно со континуираната депозиција на цемент во текот на целиот живот успеваат да одржуваат повеќе или помалку, константен однос на коренската површина и алвеоларната чашка. Во физиолошки услови овие процеси се многу внимателно регулирани од системските хормони и локалните фактори.

Наспроти физиолошките процеси одговорни за ремоделација на коската, при ортодонтски третман, со дејството на аплицирани, насочени и до одреден

степен внимателно дозирани сили, се прошируваат границите на нормалната физиологија на периодонциумот^{1,2}.

Успехот на ортодонтскиот третман зависи од многу фактори, вклучувајќи ги пародонталното здравје, оралната хигиена како и примена на оптимални ортодонтски сили. Ортодонтското движење на забите може да се опише како континуиран и балансиран процес кој се карактеризира со ремоделирачки промени во денталните и пародонталните ткива на забот (минерализирани и неминерализирани) по апликацијата на ортодонтска сила³⁻⁶.

Ткивата, изложени на различна јачина и времетраење на механичката сила, покажуваат микроскопски и макроскопски промени. Ортодонтското придвижување на забот во одредена мера се разликува од нормалното физиолошко придвижување, бидејќи се формираат јасно дефинирани зони на тензија и компресија во периодонталниот лигамент. Физиолошкото придвижување е подолготраен процес, кој обично е движење во мезијална насока или насока на движење кон помал отпор. Во спротивно, ортодонтското индуцирано придвижување може да биде диригирано брзо и побавно (зависно од физичките карактеристики на зададената сила) во било која зададена насока⁶. Сите овие ефекти се последица на два неразделни процеси: инфламаторен кој се случува во периодонталниот лигамент и коскена ремоделација (ресорпција и апозиција) кој се случува во алвеоларната коска.

Во раната фаза на ортодонтското придвижување се јавува типичен акутен инфламаторен одговор, кој се карактеризира со васкуларни промени т.е. вазодилатација на крвните капилари во периодонталниот лигамент, кој истовремено предизвикува миграција на леукоцитите надвор од нив⁷. Леукоцитите ослободуваат цитокини-локални биохемиски сигнални молекули, кои дејствуваат директно или индиректно на таргет клетките. Овие промени се причина за синтеза и ослободување на супстанции како невротрансмитери, цитокини, фактори на раст, колоно-стимулирачки фактори, ензими и пропација на сигнални каскадни реакции. Тие хемиски супстанции ги индуцираат клетките (остеобластите и остеокластите) да се активираат, а истовремено и ги стимулираат клетките прекурсори во периодонталниот лигамент да се трансформираат во соодветни за да ја реализираат својата биолошка функција⁸⁻¹⁰.

Биолошките механизми, што ја контролираат промената од тоа како стимулот (аплицираната ортодонтска сила) предизвикува одговор (кој се отгчитува преку поместувањето на забот во алвеоларната чашка), можат да бидат опишани потпирајќи се на теоријата на “компресија-тензија”.

Според оваа теорија, на страната на компресија, периодонталниот лигамент е притиснат, васкуларизацијата се намалува, клетките-оosteобласти изумираат, а се активираат остеоκластите кои ја започнуваат ресорпцијата на коската. Овој процес е круцијален за да се ослободи простор за забот. Од другата страна на забот-страната на тензија, се активираат клетките за создавање коскено ткиво-osteобласти ¹¹⁻¹⁵.

Биолошките механизми со кои се постигнува ортодонтското придвижување на забот се тема на истражување уште многу одамна. Постои голема база на податоци кои се однесуваат на механизмите и реакциите почнувајќи од периодонталниот лигамент, каскадно поврзани со последователните механизми во алвеоларната коска. Правени се многубројни истражувања кои помеѓу себе се разликуваат според видот на експериментот, експерименталниот примерок, дијагностичкиот метод, предметот што се евалуира и многу други параметри. Докажаната теорија за текот на дистрибуцијата на сила од ортодонтската направа кон забите, патиштата низ кои минува ремоделацијата, воспалителниот одговор на периодонталниот лигамент во процесот на коскено реструктурирање, како и евалуацијата на значително зголемениот број цитокини во тек на диригираното моделирање на коската, како показател на примарна неспецифична воспалителна реакција е предмет на многу опсежни истражувања. Интересот од овој аспект, примарно може да биде насочен на одговорот на ткивото, од osteолошка гледна точка. Поконкретно, таргетот на истражувањето може да биде еден вид осврт кон евалуација на коскена ремоделација која се случува по апликација на ортодонтската сила, употребувајќи ги биомаркерите (продукти на биолошки механизми кои се одваат во ткивата) како дијагностичка алатка.

Повеќе потенцијални биомаркери кои ги презентираат биолошките промени, се посочуваат како битни посредници при специфичните случувања во текот на ортодонтската терапија, како инфламаторни нарушувања и отстапувања, коскена ресорпција и апозиција, промени во периодонталниот лигамент и васкуларни и неврални промени на ткивата ^{7,12}. Кај одреден број научни истражувачи, но и искусни клиничари вниманието е насочено кон степенот на

ремоделација што се случува во пародонталните ткива за време на ортодонтското придвижување или ретенција на забите, преку следење на нивоата и активноста на одредени биохемиски медијатори. Се верува дека овие сознанија може да бидат исклучително корисни од клинички аспект, посебно, заради нивната важна улога во движење на забите, а воедно и на оштетување на ткивата ¹⁶.

Во суштина биомаркерите претставуваат супстанции, кои се мерат и евалуираат објективно како индикатори на нормален биолошки, патолошки процес или фармаколошки одговор по применета терапевтска процедура. Како показатели за одредени случувања, биомаркерите треба да задоволат одредени критериуми за да одговорат на задачата за која се применуваат. Тие треба да бидат специфични и сензитивни и да поседува способност да нуди информации за биолошката состојба, од аспект на промени во пародонталното ткиво и евентуално нивна поврзаност со одредена фаза од ортодонтското поместување на забите.

Значењето и разбирањето на одреден клеточен процес кој се случува во ткивата, е од суштинско значење, бидејќи е солиден показател при дозирање на соодветна сила, со цел скратување на времето на ортодонтскиот третман, избегнување компликации и несакани ефекти од спроведената терапија.

Кога е во прашање ортодонтско придвижување на забите неколку супстанции се предложени како биомаркери. Тоа се оние кои се претставници на патогенетските ткивни случувања, инфламација, коскена ремоделација, и ресорпција на коренот ¹⁷.

Највалидно следење на процесите што се случуваат во денталните и пародонталните ткива е ткивна биопсија со имунохистохемиска анализа. Но поради агресивната постапка, оштетување на ткивата како и тешкотии и несекојдневност на изведување на овој метод, не е можно методот да биде вообичаено користен за константно следење на промените. Во светот при овие состојби се превземаат други методолошки постапки. Намногу користен е методот на квантитативно и квалитативно следење на биомаркерите во различни медиуми. За овие цели најискористливи се примероците од гингивален флуид, серум и плунка.

Серумот е премногу општ медиум, кој е подложен на многу варијации во неговиот состав, повеќе е показател на системскиот статус на индивидуите и неговите отстапувања може да бидат последица повеќе на системски, отколку на локални фактори.

Плунката е локален флуид, вредна и корисна дијагностичка алатка, која се користи во овие цели, но за неа се вели дека во најголем дел од случаите ја одразува состојбата во устата, во кои пародонталните биохемиски отстапувања се застапени во многу мал дел заради нејзината дилуција.

Сепак како најблагодарен и искористлив медиум за истражувачите, кога е потребно да се следат промените во пародонталните ткива, кој воедно е најприменлив дијагностички медиум е гингивалниот флуид ¹². Тој многу лесно, едноставно, брзо и атрауматично може да биде колекциониран од гингивалниот сулкус со различни методолошки приоди. Во суштина тој е најреалниот индикатор на биохемиските случувања во пародонтот.

Се вели дека, следење на нивоата на биохемиските маркери во гингивалниот флуид во тек на ортодонтскиот третман може да биде корисна процедура во проценка на степенот на коскената ремоделација. Главно, постојат претпоставки кои велат дека гингивалниот флуид ја рефлектира имунолошката реакција, интеракцијата домаќин-патоген и реакцијата на одговор стрес-сила. Биохемиската анализа на гингивалниот флуид, може да даде солидни информации за случувањата подлабоко во периодонциумот. Литературата зборува дека долги години повеќе од 50 компоненти во гингивалниот флуид се следени, одредувани, мерени и проценувани. Наодите сугерираат дека на овој план постои поврзаност со иницијација и прогресија на пародонталната болест ¹⁸.

Опсежните пребарувања на литературата, опфаќајќи истражувања добиени околу делувањето на ортодонтските сили врз пародонтот од многу аспекти, преку студии изведувани на експериментални животни и студии *in vivo* на различни примероци (серум, плунка, гингивален флуид) прикажаа дека одредување присуството, концентрации или активност на одредени специфични биомаркери може да ги отсликаат случувањата во периодонциумот или коската при ортодонтските придвижувања на забите, како маркери за правилно детектирање на прекумерно или штетно дозирање на силите, што за терапевтот е важен знак за предупредување уште во најраната фаза на ремоделацијата.

Успешна ортодонтска терапија значи дозирање оптимална сила која правилно ќе ги придвижи забите во посакуваната насока, без минимално оштетување на коската, кое во спротивност би се одразило со оштетени пародонтални ткива и на нестабилност на забот во алвеолата т.е. луксација. Континуираната долготрајна сила би резултирала со сериозна повреда на

пародонталните ткива, коскена ресорпција и губиток на забите, што значи крајно компромитирана ортодонтска терапија.

2 ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД

2.1. Осврт кон гингивалниот флуид, анализа и дијагностичка вредност

Многу истражувачи го истражувале гингивалниот флуид користејќи го како дијагностички медиум. Од нивните искуства прилегуваат ставови кои укажуваат дека биохемискиот состав на флуидот е варијабилен, а делумно зависи од составот на денталниот плак, инфламаторните клетки и ткивото на домаќинот но, секако и серумот ¹⁷⁻²⁰. За потеклото на гингивалниот флуид и неговото својство во случај на промени на пародонтот да биде опишан како инфламаторен ексудат според одредени истражувачи, ова објаснување не е комплетно разјаснето. Иако почетоците на истражувањето на овој план почнало уште многу одамна, теориите сеуште се многу контраверзни.

Меѓу првите кои се обидуваат да дадат одговор на ова прашањето е Alfano во 1974 ²¹. Тој објаснува дека на страните каде не е присутна воспалителна компонента, не постои субгингивален плак, гингивалниот флуид се дренира по пат на осмотска дифузија, од крвните садови на гингивалниот плексус во интерстицијалната течност во гингивалното ткиво, минувајќи низ базалната мембрана и припојниот епител каде доаѓа до сулкусниот простор.

Од друга страна, кај инфламира на гингива гингивалниот флуид се дренира во поголеми количини, а воедно и неговиот биохемиски состав е изменет ²¹.

Студиите укажуваат дека за време на патолошки состојби на гингивалното ткиво како гингивитис или пародонтална болест, инфламаторниот ексудат количински се зголемува дури и до 5 пати повеќе ^{19,22,23}.

Долгогодишните истражувања поврзани со патолошките состојби на пародонтот, се темелеле на исклучителната дијагностичка важност што ја поседува гингивалниот флуид благодарение на богатата молекулна, ензиматска содржина од една страна, а воедно и лесната и репетибилна постапка на колекционирање ^{24,25}.

Alfano ²¹ и Attström ²⁶ во експерименти на кучиња, го анализирале присуството на леукоцити во гингивалниот флуид од хронично воспалена и клинички здрава гингива. Наодите потврдуваат присуство во двата примероци леукоцитна квантитатива, со преобладаантност во флуидот екстрахиран од инфламираната гингива ²⁶.

Подоцна на тие истражувања се надоврзале уште многу претраги кои се прошириле во обемот на клиничките претраги. Така во '90-те години најмногу внимание е посветено на маркерите на инфламација присутни во флуидот, поврзувајќи ги со патолошки променетиот пародонт. Поврзаноста помеѓу нивоата на биомаркерите од флуидот и пародонталните заболувања досега се опсежно истражени ²⁷.

Во последните години, неколку супстанции кои се дел од составот на гингивалниот флуид се покажаа дека се дијагностички значајни за одредување на типот на воспалението и степенот на ткивната деструкција при пародонталната болест ²⁸⁻³².

Од клетките на сулкусниот и припојниот епител, се ослободуваат бројни цитокини. Цитокинската продукција може да произлезе и од дендритичните клетки, макрофагите и неутрофилите. Од неутрофилите, фибробластите и остеокластите пак се ослободуваат бројни ензими како матрикс металопротеинази, кои доведуваат до деструкција на колагенот и алвеоларната коска. До сега се евидентирани повеќе од 90 компоненти во гингивалниот флуид поврзани со дијагностика на пародонталната болест. ³³

Првично била забележана зголемена дренажа на гингивалниот флуид која одговарала на состојбата на воспалениот пародонциум, уште во 1976-та година од страна на истражувачот Golub ³⁴.

Многубројни истражувања во 90-те години објавиле дека биомаркерите се поврзани со напредокот на пародонталната болест. Макрофагите и неутрофилите, како одговор на бактериите, продуцираат значајни инфламаторни медијатори како TNF- α , IL-6, IL-1, но и други цитокини кои се поврзуваат со коскената и ткивната деструкција ^{35,36}.

Благодарение на повеќе истражувања ³⁷⁻³⁹ и многу други се заклучило дека во воспалените пародонтални џебови присутни се интерлеукините IL-1 β , IL-6, TNF- α и ниско молекуларните протеински молекули ³⁸.

Матриксните металопротеинази (MMP) се значајна група на протеинази поврзани со деструкција на колагенот за време на деструктивниот процес на пародонтопатијата. Тие исто така можат да бидат одредувани во гингивалниот флуид. Kinney ⁴¹ анализирајќи 100 пациенти со пародонтопатија, во тек на 12 месеци, утврдил дека дефинитивно има зголемени вредности на MMP-8, MMP-9, Osteoprotegerin, and IL-1 β . Наодите се потврдени и од други автори ^{40,41}.

Биомаркери посебно важни во процесите на коскена хомеостаза, а кои исто така се битни во коскената деструкција се ICTP, RANKL, osteoprotegerin (OPG), и osteocalcin. Vostanci⁴² мерејќи ги количините на RANKL и OPG и нивниот сооднос, докажал дека секаде каде е регистрирана коскена деструкција, RANKL е зголемен во гингивалниот флуид, а OPG е намален. Оваа состојба е обратна кај здрава гингива или гингивит каде сеуште коската не е засегната.

Интересот околу составот и карактеристиките на гингивалниот флуид, растел, додека паралелно се развивале и техниките на негово колекционирање²⁴. Методологијата на колекционирање се менувала и со текот на годините се усовршувала. Започнувајќи од најстариот и наједноставен washing метод⁴³, преку методот со примена на микроваскулани пипети се доаѓа до примената на хартиени апсорбенти како едноставен, но сигурен метод.

Покрај опсежните информации за изменетиот состав на гингивалниот флуид при пародонтопатијата, зголемена концентрација на инфламаторни медијатори и клетки, посебен интерес на овој план покажале пародонтолозите, за подоцна посебно внимание на флуидот му посветиле и ортодонтите. Употребата на гингивалниот флуид како дијагностичка алатка во ортодонцијата започнала со ентузијазам давајќи значаен поттик на останатите истражувачи да го прошират полето на интерес околу оваа проблематика (спој помеѓу пародонтологијата и ортодонцијата).

Истражувањата од втората половина на 20-от век откриле многу промени кај клетките и ткивата кај кои што е аплицирана механичка сила. Овие информации би требало да бидат главна поткрепа на ортодонтската терапија, каде се аплицираат сили на забите во терапевтски цели. Покрај константната експанзија на нови и нови сознанија, наоди, заклучоци кои потекнуваат од биолошките, биохемиските, цитолошките и многу други истражувања во ткивата до нивната практична клиничка примена во ортодонтската терапија сеуште има голема непозната дистанца.

Меѓу ортодонтите големото прашање секогаш постои која е оптималната сила која треба да се аплицира врз ткивата без да настане форсирано недозволено оптеретување, а од друга страна да се постигне брзо и правилно движење на забот без околни последици. Во врска со оваа состојба прозлегле прилично разнородни и неусогласени теории. (Storay⁴⁴, Schwarz, Burstone...)

Истражувањата сугерираат дека постојат многу молекули, клеточни медијатори, ензими кои се ослободуваат во различни фази на ортодонтското поместување на забите. Зависно од фазата на терапија (иницијална, нивелација, бодили поместување, или фаза на стабилизација и ретенција), кој процес се анализира или споредува (инфламација, респорција и апозиција на коска), активностите на одредени биомаркери се од битно значење (задоволителни терапевтски резултати, без попатни компликации) ⁴⁴.

2.2. Осврт кон клинички значајните биомаркери на пародонталниот и коскениот одговор, во гингивалниот флуид и нивната улога при ортодонтското поместување на забите

Storey ⁴⁴ со хистолошки студии се обидува да одговори на прашањето кои се коскените промени поврзани со движењето на забот. Посочил дека во раните фази на ортодонтската терапија прво настанува акутна инфламација, со карактеристично ширење на капиларите и миграција на леукоцитите. Тие ослободуваат инфламаторни медијатори кои го покренуваат целиот процес на коскена ресорпција и апозиција.

Во врска со оваа проблематика постојат многу студии кои ги објаснуваат патогенетските случувања во коската при ослободување на инфламаторните медијатори во периодонциумот при ортодонтското придвижување на забите со кои се потврдува оваа претпоставка ^{12,17}. Како најглавни инфламаторни медијатори се споменуваат цитокините, простагландините и факторите на раст. Сите тие влијаат на коскените клетки и на супстанциите кои што се излучуваат. Затоа Storey ⁴⁴ понатаму се концентрирал на видот на силата која се применува (слаби и јаки сили) и важноста од нивното правилно аплицирање. Ја дефинирал природата на забното поместување и промените кои се случуваат во ткивата под дејство на јаки и слаби сили. Анализирајќи ги горе наведените инфламаторни медијатори може да се има увид во видот на процесите што се случуваат и кои се причините да се дефинира оптималната сила која треба да се ординира.

Uematsu ⁴⁵ низ серија студии го потврдил порастот на инфламаторните медијатори како IL-1, IL-6, TNF- α , EGF, B2 microglobulin за време на ортодонтската терапија. Со ова сознание се согласил авторот кој го потврдил овој факт во друга студија ⁴⁶. Во еден од своите експерименти, на 12 пациенти кои се

подложени на ортодонтска фиксна терапија со цел дистализација на максиларните канини, земајќи примерок од гингивалниот флуид околу канинот кој се дистализира, а како контрола бил вклучен канинот на кој не е применувана сила. Резултатите укажале значаен скок во активноста на IL-1 и IL-6 во првите 24 часа од апликацијата на силата, кај оптоварениот канин. Посебно внимание е посветено на пародонциумот околу канините да биде комплетно здрав без знаци на инфламација, што ја отфрла можноста дека овие инфламаторни медијатори се последица на гингивална инфламација ⁴⁵. Овие факти создаваат нови дилеми помеѓу ортодонтите и пародонтолозите.

Слична студија за нивоата на интерлеукините е спроведена од Iwasaki ²⁰, кај случаи на премоларна екстракција и дистализација на максиларни канини. Земајќи примерок од гингивален флуид, соодветно од мезијалната и дисталната страна на канините кои се поместувале бодили кон празниот простор. Мерењето е поместувањето на забот и неговата корелација со порастот на концентрациите на IL-1. Позитивна корелација е забележана, и тоа со поголема концентрација кај примероците земани од дисталната страна на ретрахираните канини (споредено со мезијалната).

Grieve ⁴⁷ дошол до слични резултати при анализа на гингивалниот флуид, но конкретно за Prostaglandin E и Interleukin 1B. Додека пак Lowney ⁴⁸ ја докажал покачената вредност на TNF α во гингивалниот флуид за време на ортодонтското придвижување на забите, мерејќи го нивото на TNF- α пред и после апликација на ортодонтска сила.

Миелопероксидазната активност во гингивалниот флуид многу поконкретно го одсликува локалното воспаление кое настанува како последица на апликација на ортодонтските сили сугерира Navarro-Palacios ⁴⁹. Поттикнати од овие сознанија Asma ⁵⁰ и соработниците, ја мереле активноста на миелопероксидазите во обид да ги споредат реакциите на ткивото, во почетокот на ортодонтската терапија односно во фазата на нивелација. Споредувани се резултатите од три типа жици, и докажана е важноста на гингивалниот флуид и миелопероксидазите како дијагностички валидни параметри.

Неколку компоненти на минерализираното ткиво се користат рутински при анализи на коскената ресорпција и апозиција, при заболувања кои ја афектираат коската како Morbus Paget, остеопороза или хиперпаратиреоидизам. Истите тие, се искористени при анализите на ортодонтско оптоварување на забите.

За поставените цели користен е и остеокалциот како матриксен протеин на калцифицирачкото ткиво. Го создаваат остеобластите. Тој е посочен како добар маркер за одредување на нивната функција. Докажано е дека неговата концентрација е зголемена во гингивалниот флуид кај индивидуи со пародонтопатија. Во врска со ова Griffiths ⁵¹ ја испитувал корелацијата на нивоата на остеокалцитонините и докажал покачени вредности во гингивалниот флуид за време на апликација на ортодонтска сила. Земан е примерок од дисталните страни на максиларни канини на 20 пациенти во различни фази од ортодонтската терапија. Во текот на истражувањето забележана е голема разлика меѓу вредностите кај различни пациенти.

Авторите овој податок го поврзале со стадиумот на раст. Имено, кај мешовита дентиција кога забите се во фаза на ерупција, односно раст, овој ензим е покачен, затоа неможе да биде индикатор само за ортодонтското движење. Повеќе автори го концентрирале своето внимание кон потесна група медијатори-ензими. За да ги испитаат ефектите на ортодонтските сили врз алвеоларната коска ги анализирале нивоата на ензимите во гингивалниот флуид за време на различни стадиуми на ортодонтското придвижување на забите ⁵².

Алкална фосфатаза (ALP) е ензим кој го ослободуваат формативните клетки - фибробластите и остеобласите. Неговата позитивна корелација со формирањето на коскено ткиво е испитувана и докажана во многу истражувања околу коскениот метаболизам при повеќе состојби и болести ⁵³⁻⁵⁵. Поради неговото зголемено лачење и докажана активност при позитивен коскен метаболизам, тој важи за сигурен биомаркер на коскена апозиција ⁵⁶⁻⁵⁷.

Улогата на ALP како биомаркер за коскена апозиција при ортодонтски третман е ветувачка, и се базира на сознанијата на повеќе автори. Преку варијациите на неговата активност во гингивалниот флуид, во различни фази од ортодонтската терапија, се детектира динамиката на процесот на апозиција на коската – односно може да се одреди кога започнува процесот на апозиција, после колку време од процесот на ресорпцијата, кога е пикот на најјаката активност и колку е нејзиното времетраење. Ова дава надеж дека понатаму може да се одреди времето кое е потребно за фазата на ретенција, за да се создаде коска по иницијалното поместување на забите.

Insoft ⁵⁸ во 1996 со соработниците ја испитувале активноста на ALP и ACP (Ацидната Фосфатаза) во гингивалниот флуид, за да увидат дали коскениот

turnover може да се мониторира преку овие два ензима, за време на ортодонтското придвижување на забите. Само 3 женски индивидуи биле лонгитудинално следени, а нивните премолари биле експериментални заби. Едниот премолар служел како контрола без апликација на сила, додека на контралатералниот била зададена сила на влеча од 100 гр. која го букализирала забот. Колекцијата на гингивалниот флуид се одвивала на најопшто прифатениот начин, со микроцелулозни ленти. Било забележано значајно покачување на вредноста на ALP кај влечениот заб, со пик на активност меѓу првата и третата недела. Иако испитуваната група била многу мала, докажано е дека ALP може да биде успешно мерен. Истовремено докажана е валидноста на ALP како дијагностички биомаркер, но и дека неговата вредност зависи директно од плак акумулацијата и гингивална инфламација. Подоцна литературата е надополнета со поопсежни лонгитудинални истражувања базирани на истите параметри.

Perinetti ⁵⁹ во едно од своите истражувања од низата спроведени претраги посветени на ALP во гингивалниот флуид, ја испитувал активноста во воспалени пародонтални џебови, пред обработка и по еден месец од обработка кога воспалението е редуцирано или отсуствува. Докажана е корелација на промена на активноста на ALP соодветно со краткорочни подобрувања на пародонталниот статус по спроведената обработка, со понагласени позитивни тераписки ефекти во подлабоките џебови.

Истиот автор ⁶⁰, со друго истражување во 2002, ја докажал корелацијата и зголемувањето на ALP во однос на времето од дозираната ортодонтска сила, но и во однос на страната на тензија и компресија. Кај млади пациенти кои биле подложени на ортодонтска теарпија, и кај кои се дистализирале првите молари, се земале примероци од мезијалната и дисталната страна на моларите. Едниот од моларите служел како контролен, бил само вклучен во ортодонтскиот фиксен апарат, но на него не делувала никаква дополнителна сила, додека експерименталниот молар бил активно дистализиран со сила од жичана Ni-Ti опруга (федер). Овој дизајн на студијата овозможил да се има увид во различната активност на алкалната фосфатаза при апликација на различни видови сила - кога се врши поместување на моларот со помош на активна сила - Ni-Ti опруга (федер) и кога дејствува само пасивната сила на поставениот ортодонтски лак, без дополнително аплицирана сила на движење. При истражувањето паралелно е вршено споредување со антагонистичкиот молар кој не е воопшто вклучен во

ортодонтската терапија, односно не е механички оптеретен. Резултатите покажале зголемена вредност на ALP на страната на влеча, во однос на страната на компресија и тоа кај експерименталниот молар, додека кај контролниот молар немало значаен скок во активноста на ALP.

Авторот своето искуство на овој план го дополнува понатаму со испитување на активноста на AST и LDH ^{61,62}, на истиот принцип на дистализирање на канини. Во овој случај биле добиени спротивни резултати т.е. зголемена активност на овие ензими на страната на компресија каде е очекувана ресорпција на коската (кај активно дистализираните канини многу повеќе одколку кај контролните канини). Најголем пик на активност е досигнат 7-от ден. Вообичаено за дистализација на канините е користен жичан федер за отворање простори, поставен меѓу латералниот инцизив и канинот, дозирајќи сила од 250 гр. Дистализираните канини се придвижиле околу 2 mm во насока.

На истата тема свој придонес дал и Vatra ¹⁸ кој ја мерел активноста на ALP кај канините кои ги дистализирал, кај 10 индивидуи од женски пол каде е извршена екстракција на првите премолари. По завршената прва фаза на нивелација на забите, следи фазата на дистализација на канините кон празниот простор која авторот ја извршил со помош на жичани опруги кои дозираат сила од 100 гр. Примерок од гингивален флуид бил земен на самиот почеток на аплицирање сила и потоа последователно секои 7 дена, во времетраење од 1 месец. Споредбата на добиените резултати докажала зголемување на активноста на ALP значително повеќе кај дистализираниот канин во споредба со контролниот, а доминирала вредноста на истиот на мезијалната страна во однос на дисталната. Но, примероците во оваа студија биле земани со микропипети, не била користена препорачаната филтер хартија што фрла мала сомнеж на прецизност на наодите.

Значаен број автори, од универзитетот во Малезија, дале голем придонес во оваа област, во периодот од 2008-2015 активно ги истражувале ензимите R.M.A. Wahab^{65,66}, A.A.A.Asma^{67,68}, S.H.Z. Ariffin и Z.Z. Ariffin⁶⁴ и до јавноста приложиле валидни сознанија, потврдени експериментално, кои претставуваат издржана од каде потекнуваат и се темелат бројни размислувања, хипотези и истражувачки цели. Нивното поле на истражување, со посебен осврт кон ензимите на коскена апозиција и ресорпција, сепак покрива различни варијации на испитувачки дизајн затоа што при постапката се вметнувани различни варијабли.

Почнувајќи со ензимот алкална фосфатаза, истражувачите пред се се обиделе да дадат одговор на прашањето дали овој ензим е значаен дијагностички биомаркер на ортодонтското придвижување на забите и во кој медиум. Правени се истражувања за одредување на концентрацијата во плунка ⁶⁴ земајќи примероци пред поставување фиксен апарат и последователно на секои 7 дена. Позитивно потврдувајќи си ја хипотезата дека ензимот е мерлив во плунка, подоцна направиле компарација на истиот и во гингивален флуид. Истовремено одредувана е стабилност на истиот при присуство на протеаза инхибитор ⁶³. Студиите се дизајнирани со лонгитудинално следење на пациентите, земање примерок на секои 7 дена анализирајќи ја активноста на ензимот спектрофотометриски. Заклучокот што следи сугерира ефективно сторирање на примероците ензими со перзервација на нивната активност. Докажано е дека протеаза инхибиторот е неопходен за да ги стабилизира ензимските активности и во плунка и во гингивален флуид.

Паралелно со претходните истражувања истите години поедини автори ^{67,68} се концентрираат исклучиво на активноста на ALP во гингивалниот флуид при ортодонтско придвижување на забите. Авторите спроведуваат компаративни истражувања за флукуацијата на ензимот во почетните фази на нивелација на лаковите и подоцна во втората фаза при дистализација на канините кога се употребува друг вид сила, за да види како реагира потпорното ткиво односно алвеоларната коска на овие различни сили преку ослободување на ALP. Како тест заб ги зема максиларните канини, т.е. од мезијалната и дисталната страна зема примероци од гингивален флуид.

За колекционирање на медиумот користени се абсорбенти аплицирајќи по 3 на секоја страна, за да собере поголем волумен флуид. Во почетните 4 недели од апликацијата на фиксен апарат кај случаи со збиеност, додека се одвива фазата на нивелација на лаковите и делуваат силите од никел титаниумските лакови-не се регистрирани сигнификантни разлики во ослободувањето на овој ензим. Авторите потврдиле дека нема специфична одредена крива на создавање коскено ткиво во првите 4 недели од поставувањето на ортодонтскиот апарат која треба да ги следи поместувањата на забите што се случуваат во овој период. Со второто истражување во 2008, Asma ⁶⁸ ја одредува активноста на ALP во фазата на канинаска дистализација. По завршетокот на нивелацијата на лаковите и екстракција на првите премолари, го одложува процесот во тек од 1 месец кога е

потребно ткивото да се консолидира, држејќи ги забите на челични лакови. Потоа за дистализација употребува NiTi отварачки федер (опруга), поставена помеѓу латералниот инцизив и канинот кој аплицира сила од 150 гр. Силата е мерена со динамометар Correx gauge, Dentaugum. Примероците од гингивален флуид се земани на истиот начин, на почетокот пред да биде аплицирана силата, и на 1,4,8 и 12та недела. Овде се добиени сигнификантни резултати кои ја отсликуваат апозицијата на коската особено на мезијалната страна (страната на тензија) на дистализираните канини во споредба со дисталната страна на компресија. Одреден е и пикот на највисока активност на алкалната фосфатаза.

Соработувајќи со колегите, подоцна во 2013, Wahab ⁶⁹ го употребува ALP при состојби со дистализација на канини кај класа II/1 екстракциони случаи, но испитувањата проширувајќи ги оние од Asma ⁶⁷ во 2008 кога на дистализацијата делува со 2 сили -100 и 150 гр. со цел да испита дали постои разлика во ресорптивните процеси и процесите на создавање коска. Силата е дозирана со никел титаниумски отварачки федер поставен помеѓу латералниот инцизив и канинот. Силата со која федерот го бутка канинот е мерена со Correx Gauge. Овде примероците на флуид се земани со метилцелуозни филтер хартии, од мезијалната и дисталната страна на канините, во интервали од 7 дена во рок од 6 недели. Авторот сепак заклучил дека активноста на ALP е иста при двата вида сила. Во врска со ова авторот сугерира дека поповолно за пациентот е да се употребува помалата сила, затоа што се постигнува истиот ефект на поместување на забите како и со поголема сила т.е. 150 гр. Овој начин на дозирање сила воедно го промовира како прилично безбеден од аспект на ресорпција на коренот. Понатаму во 2015 преку компарации на дејството на обичните брекети и самолегирачките на дистализацијата на канините авторот преку наодите доаѓа до сопствени сознанија ⁷⁰. Задаваната сила е 100 и 150 гр. Со NiTi затворачки федер, оптегнат помеѓу канинот и првиот молар. Паралелно е мерено придвижувањето на канинот во милиметри и следена е ресорпцијата на коренот на ретроалвеоларни снимки ^{66,71}.

Аспартат Аминотрансферазата (AST) е растворлив ензим, што нормално се наоѓа интрацелуларно во цитоплазмата на клетките, но се ослободува во екстрацелуларниот простор по смрт и деградацијата на клетките. По откривање на можноста за негово детектирање во гингивалниот флуид, тој станува опција за

мониторирање на ресорптивните процеси во коската, при кои има уништување и умирање на клетките. Многу студии се потпреле на оваа хипотеза, така низ литературата се среќаваат податоци за валидноста на овој ензим како индикатор на промените во пародонталниот лигамент. Но повеќето од нив ја испитуваат и докажуваат поврзаноста на пародонтопатијата и зголемувањето на овој ензим во гингивалниот флуид ⁷², а многу помалку се оние кои се концентрираат на поврзаноста на биомаркерите во гингивалниот флуид и ортодонското придвижување на забите. Уште во 1990 година Person ⁷³ овој ензим го прикажал преку резултати кои се однесуваат на пораст во активноста на AST кај гингивитис и пародонтопатија. Paoloantonio ⁷⁴ ја искористил AST како показател за ресорптивните процеси кај денталните импланти. Сепак, многу малку студии ја потенцирале флукуацијата на овој ензим во гингивалниот флуид како индикатор за ресорптивните процеси во пародонциумот при ортодонско оптоварување на забите ⁷⁵⁻⁷⁸.

Обид на овој план (во однос на ортодонското поместување на забите) направил, Siljue ⁷⁹ кој врз база на примероците од гингивалниот флуид кај 5 машки и 5 женски индивидуи, со здрав пародонциум добил одредени резултати. Кај аплицирана сила на влеча на максиларен молар кој е дистализиран, била испитувана дисталната страна. Најголема активност на AST е забележана 6-от ден од апликацијата на силата.

Во последните години, Perinetti^{61,62} во неговите истражувања посебно внимание обрнал на активноста на овој ензим. Во студијата во 2003 година кај испитаничката група одредува тест заб - прв молар, кој се деистализира со NiTi отварачки федер кој аплицира сила од 250 gr. Контралатералниот молар е вклучен во фиксниот апарат но, на него не дејствува никаква сила, а како контролен е земен антагонистот на кој не е аплицирана сила. Гингивалниот флуид е екстрахиран од мезијалната и дисталната страна на моларите, на стандардизираниот начин со ендодонтски хартиени ленти. Во оваа кратка лонгитудинална студија првиот примерок на гингивален флуид е земен на самиот почеток пред активацијата на дистализирачкиот федер, а потоа на секои 7 дена во времетраење од 4 недели. Резултатите од истражувањето ја потврдуваат елевацијата на аспартат аминотрансферазата кај дистализираниот молар значително повеќе во споредба со другите што укажува на присутни ресорптивни коскени процеси на страната на компресија. Сепак, на крај авторот заклучува дека

оваа хипотеза бара дополнителни истражувања за да може да се потврди и специфицира флукуацијата на аспартат аминотрасферазата при различни фази од ортодонтската терапија.

Во 2009 год. Wahab ⁷⁶ од универзитетот во Малазија дизајнира слична студија со цел да го детектира присуството на AST во гингивалниот флуид. Испитаничката група е мала, се состои од 7 адолесценти и 7 адултни пациенти, кај кои во првичната фаза е спроведена нивелација со лакови. Забите се изложени на благи сили од NiTi лакот (50-75 gr.) кои предизвикуваат ротации и инклинации (не се јаки сили кои бодили ќе го поместуваат забот). Во оваа ситуација тест заби се премоларите. Примероци од гингивален флуид се земани на почетокот, пред поставување на фиксниот апарат, и потоа последователно на секои 7 дена, во рок од 4 недели. Иако се земани примероци од мезијалната и дисталната страна на премоларите, разлика во концентрацијата на ензимот не се покажува затоа што силата од лакот која ги нивелира забите нема специфична насока (за разлика од горенаведената студија каде силата на дистализација е дефинирана со големина и насока). Авторот обрнал внимание и на волуменот на екстрахирираниот флуид. Со мерење на хатиените шилци пред и после собирањето на флуидот, одредил во колкав волумен на гингивален флуид се покачила вредноста на AST.

Наq ⁷⁸ во 2017 ја потврдил хипотезата дека AST се зголемува кај заби кои се оптеретени со ортодонтска сила. Кај пациентите тествани заби биле премоларите, во фазата на нивелација. Контралатералните премолари кои биле третирано како контролни биле исклучени од лакот односно на нив не дејствувала орто сила. Примероци од гингивален флуид биле земани на почеток и секои 7 дена, во рок од 1 месец.

Лактат Дехидрогеназа (LDH) е ензим, кој исто како и AST е интрацелуларен. По смртта на клетката се ослободува во екстраклеточната средина. Несомнено е дека серумската лактат дехидрогеназа важи за валиден биомаркер, за дијагностицирање на сите ресорптивни процеси на коската, при најразлични болести. Неговата вредност при гингивална инфламација и деструкција на ткивото при пародонтална болест е зголемена. Тоа ги навело истражувачите, да ја анализираат нејзината активност во оралните медиуми: плунка и гингивален флуид, кај пациенти со пародонтопатија ^{80,81}. Кај нив ресорптивните промени се нагласени и хипотезата за зголемена ензиматска активност кај инфламирана

гингива и пародонтални џебови била прифатена уште во 1985 од страна на Lamster^{82,83}

Подоцна се појавиле хипотези во кои е посочено нејзиното дијагностичко значење како составен дел од гингивалниот флуид, кој е индикација на ресорптивни процеси во коската предизвикани од дозираните ортодонтските сили.

Serra⁸⁴ заедно со Perinetti во 2003 ја мереле активноста на LDH кај 37 пациенти во почетната фаза на нивелација на лаквите, веднаш по поставата на фиксен ортодонтски апарат. Нивната хипотеза била дека ресорптивните процеси во коската се демонстрираат преку зголемена активност на LDH, кој е мерлив ензим во гингивалниот флуид. Пред поставувањето на фиксниот апарат се земал примерок од флуидот околу канините како тестирани заби, а потоа постапката се повторувала секоја недела од 2 до 12 недела. Освен силата од NiTi лакот, ни една друга сила не дејствувала на канините (односно немало насочена дистализирачка сила). Резултатите биле позитивни, за разлика од контролната група канини што ги претставувале антагонистичките заби на кои не делувала сила во моментот.

Perinetti⁸⁵ ја продлабочил студијата во 2005, кај 17 пациенти во втората фаза од фиксната терапија кога се задаваат сили за бодили придвижување на забите, во конкретниот случај дистализација. Во истражувањето биле вклучени како експериментални заби првите молари кои се дистализирале со дополнителна сила од жичан федер, а контролна група бил спротивниот молар. Авторот нотирал зголемени вредности на LDH на сите страни кај тестираниот и контролниот молар, со таа разлика што зголемени вредности се евидентирани кај тестираниот во однос на контролниот молар. Истовремено се регистрирани и значителни зголемувања на дисталната-компресивната страна во споредба со мезијалната.

Слична студија спровеле S.A. Alfaqeeha и S. Anil⁸⁶ каде експериментална група биле пациенти со екстракциона терапија на премоларите, со цел дистализирање на максиларните канини. Дистализирањето се постигнало со жичан федер кој дозира сила од 125 N. Примероци од гингивален флуид биле земани од 6 места во сулкусот, од сите страни на канинот на кој делувала силата од федерот. Како контрола служел спротивниот канин кој не бил дистализиран активно во тој момент. При истражувањето е регистрирано покачување на активноста на ЛДХ

прогресивно, со мерење на вредностите секоја недела. Најголем пик на активност е нотиран околу 14-от и 21-от ден од почетокот на ретракцијата.

N. Y. Vijay и R.M. Dharma ⁸⁷ во 2017 дизајнирале студија која се базира на фактот дека LDH се покачува во сите фази на ортодонтската терапија. За да ја увидат разликата во флукуацијата на активост на LDH и ALP, при дејство на различни сили, тие ги следеле вредностите на овие биомаркери во гингивалниот флуид во фаза 1 -нивелација на лаковите, последователно и во фаза 2- дистализација на канините. Во фазата на нивелација делувала само силата од никелтитаниумскиот лак, а дистализацијата била изведувана со NiTi затварачки федеар кој дозира сила од 150 гр. Примероците биле земани со микропипети. Резултатите кои ги добиле оделе во прилог на поголеми вредности во втората фаза- дистализација на канините и за АЛП и за ЛДХ , во споредба со првата фаза- нивелација на денални лакови. Исто така значително се разликувале вредностите кај тестираниот и контролниот заб.

3. ЦЕЛ НА СТУДИЈАТА

- Да се идентификуваат одредени биохемиски маркери присутни во гингивалниот флуид.
- Да се евалуира нивното значење како индикатори на биохемиските случувања при ортодонтското придвижување на забите;
- Да се следат нивоата на посочените биохемиски медијатори во гингивален флуид за време на ортодонтското померување на забите.
- Да се регистрираат разликите во активноста на ензимите во одредени временски интервали;
- Да се детерминираат евентуалните разлики во ефектите на ткивото како одговор по примена на два различни видови аплицирана ортодонтска сила: пасивна сила предизвикана од фиксен челичен ортодонтски лак и активна сила предизвикана од дополнителна еластична сила на влеча-кетен;
- Да се дефинираат одредени ставови за оптимизирање на интензитетот на сила со единствена цел да се спречи можноста за оштетување на ткивата вклучени во движење на забите;
- Да се укаже на важноста на испитувањето на биомаркерите во гингивалниот цервикален флуид, заради превенирање, навремено откривање или спречување на штетните ефекти од применетата ортодонтска терапија.

За реализација на целите, истражувањето го конструиравме така да даде одговори на прашањата односно поставените специфични **хипотези**:

1. АЛП, АСТ и ЛДХ се потенцијални и валидни биомаркери за мониторирање на ортодонтско индуцираните процеси во коската и периодонталниот лигамент
2. Ензимската активност на посочените ензими во гингивалниот флуид се соодветни дијагностички индикатори на ресорптивните и апозиционите процеси на алвеоларната коска.
3. Задавањето на еластична сила на влеча на забите, го забрзува неговото движење и ги појачува процесите на инфламација и коскена ресорпција на соодветната страна на компресија.

4. АЛП-како биомаркер за коскена апозиција, има зголемена активност на мезијалната страна на забите (страната на тензија т.е. влеча), додека на дисталната страна на тестираниот заб е присутна зголемена активност на АСТ и ЛДХ биомаркерите кои индицираат последователна коскена ресорпција на таа страна.
5. Процесите на апозиција и ресорпција следени преку биомаркерите се значително поголеми кај тестираниот заб кај кого делува еластичната сила од кетен, во споредба со контралатералниот контролен заб кај кого делува само силата од челичниот лак.
6. Вредностите на ензимите корелираат со степенот на ортодонтско придвижување на забите.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА

4.1 МАТЕРИЈАЛ

Испитаничкиот примерок е составен од 20 пациенти, со перманентна дентиција на возраст од 14-24 год кои се дел од пациентите посетители на Клиниката за ортодонција при Универзитетскиот стоматолошки клинички центар “Св. Пантелејмон од Скопје.“ Кај сите нив поставен е фиксен ортодонтски апарат во горната вилица, со метални брекети Roth 22 Dentaugum.

Кај испитаниците кои се дел од оваа студија поставена е дијагноза збиеност на забите во горната вилица. Пациентите учесници во истражувањето се подложени на екстракција на максиларните први премолари со цел правилно поставување на забите во денталните лакови.

Испитувањето е спроведено во фаза на затворање на екстракционите простори кога кај пациентите е аплициран челичен лак, а горните канини билатерално се забите од кои се земаа примероци од гингивалниот цервикален флуид.

Студијата е дизајнирана како лонгитудинална студија, каде пациентите се следат во временски период од почетокот на третманот до еден месец, во интервал од 7 дена.

Изборот на пациентите во истражувачкиот примерок е лимитиран со почитување одредени критериуми за селекција на пациентите т.е. вклучување и исклучување од студијата.

Критериуми за вклучување во студијата:

1. Пациенти кои се подложени на ортодонтска фиксна терапија со метални брекети во горната вилица, каде е извршена екстракција на првите горни премолари со претходно поставена ортодонтска дијагноза- збиеност на забите;
2. Пациенти кои се на почетокот во фазата на ретракција на канини (претходно завршена фаза на нивелација на лаковите);
3. Пациенти со перманентна дентиција на возраст од 14-24 год
4. Здрави без дијагностицирани системски болести;
5. Пациенти со задоволителен пародонтолошки статус;
 - длабочина на сондирање до 2,5 mm;
 - отсуство на гингивитис;
 - без губиток на алвеоларната коска, регистрирана на рендген снимка;

- плак индекс ≤ 1 ;
6. пациенти без анамнеза на присутна болест и кои не примале терапија со антиинфламаторни лекови во последните 2 месеци.

Критериуми за исклучување од студијата:

1. Индивидуи со млечна дентиција;
2. Индивидуи со компромитирано здравје;
3. Индивидуи со клинички манифестна и напредната пародонтопатија;
4. Индивидуи кои неодржуваат задоволителна орална хигиена.

Истражувачката постапка кај испитаниците кои се дел од студијата опфати неколку последователни фази: припрема на пациентите, тековен ортодонтски третман, следење тест и контролни заби, колекција на гингивален флуид, мерење придвижување на канините и одредување концентрација на посочените ензими.

4.2. МЕТОД

4.2.1. Припрема на пациентите

Пациентите кои се селектирани за учество во студијата, предходно се прегледани, проследени според посочените критериуми и по потреба соодветно приземени, со цел да се исклучат сите пропратни фактори, кои би можеле да предизвикаат лажни, изменети или неточни наоди во клиничкиот наод или ензиматската активност. На почетокот на терапијата спроведено е клиничко испитување кое опфати одредување индекс на дентален плак, и индекс на крварење на сондирање (со цел да се регистрира пародонтолошкиот наод, за да не се компромитираат наодите во случај на постоечко воспалене).

Кај групата испитаници кои се дел од оваа студија длабочината на сондирање не смееше да надмине 2,5 mm. На пациентите се даваа одредени упатства за одржување орална хигиена, инструкции за правилно четкање на забите, користење водички за испирање, примена на интердентални четкички, забен конец или други дополнителни или помошни средства.

На сите испитаници е демонстрирано правилно четкање на забите (со четкичка за заби и паста), а во иднина од нив се бараше да ја следат демонстрираната

техника. Беа отстранети супрагингивалните тврди и меки наслаги. Состојбата на оралното здравје т.е. оралниот и пародонталниот статус беа евалуирани при секоја посета.

Кај сите оние кај кои беше евидентирана несоработливост од било кој облик и причина или беше дијагностицирана инфламација на гингивата, испитаниците беа исклучени од студијата.

Родителите на пациентите и пациентите лично беа известени за видот на истражувањето. Од нив беше побарана двострана согласност доколку станува збор за малолетни лица во писмена форма.

4.2.2. Тековен ортодонтски третман

Пациентите селектирани за учество во студијата имаа фиксен ортодонтски апарат во горната вилица, со метални брекети Roth 22 Dentaugum, Испитувањето беше извршено после фазата на нивелација на забите, односно во фазата на челичен лак и кога беше потребно да се затвараат екстракционите простори со ретракција на максиларните канини. На едниот канин беше аплицирана дополнителна активна еластична сила со кетен со цел да се изврши дистализација, додека контралатералниот канин беше пасивно вклучен во терапијата и лигиран со жичана лигатура на лакот. Еластичниот синцир-кетен со нормален проред беше аплициран од брекетот на тестираниот канин преку брекетот на вториот премолар до тубата на првиот молар.

4.2.3. Тест и контролни заби

Како истражувачки примерок во студијата беа земени максиларните канини, кои се дистализираа кон празниот простор на екстрахираните први максиларни премолари. За време на испитувачкиот период се пристапи кон собирање податоци за анализа од пациентите. Само кај едниот од канините (лев или десен) беше аплицирана дополнителна еластична сила за ретракција-кетен. Тој го претставува тестираниот заб - канин (ТК). На контралатералниот канин, на кој

има бондирано метален брекет и со лигатура е поврзан со челичниот лак, немаше аплицирана никаква дополнителна сила за дистализација. Тој беше третиран како контролен канин (**КК**). Примероци од гингивален флуид од гингивалниот сулкус беа земани и од двата максиларни канини, од нивните мезијални и дистални страни соодветно.

4.2.4. Метод за земање на примероци од гингивален флуид (GCF).

Пред колекционирањето на гингивалниот флуид, по селектираниот метод, страните од кои се земаше флуидот кај тестираните заби и контролата беа изолирани со хартиени ватеролни. Забната површина на канините беше исчистена со памучно топче од супрагингивален плак и плунка. Забот беше измиен со млаз вода и потоа нежно издуван со пустер, за да се исуши регијата. Контаминацијата на примероците на гингивален флуид беше сведена на минимум со предходо превземаните мерки .. Примероците од гингивален флуид се собираа користејќи метилцелулозни ленти со димензии 2 x 5 mm. (Whatmann 3 MM Chromatography paper)(ендодонтски хартиени траки со дебелина 25). Метилцелулозната лента со помош на пинцета нежно и внимателно се внесуваше во гингивалниот сулкус, во длабочина од 1мм се оставаше да стои 30 сек. за да се насобере поголем волумен на флуид. На овој начин гингивалниот флуид навлегува во хартијата по пат на капиларни сили. Големо внимание се обрнуваше на поставата на шилците во сулкусот за да не се нанесе механичка повреда која би предизвикала крварење. По истекот на времето, лентата со примерокот се пренесуваше во Eppendorf епрувети за микроцентрифугирање, соодветно кои преходно беа одбележани за секој пациент и примерок. Собраниот гингивален флуид се чуваше замрзнат на температура од – 20 °C до изведување на анализите. Примероците беа наменети за одредување концентрација и активност на алкална фосфатаза, аспартат аминотрансфераза и лактат дехидрогеназа.

Примероците од секој пациент, се земаа на почетокот –пред аплицирањето на еластичната сила (T₀), потоа за 7 дена (T₁), 14 дена (T₂) и 28 дена (T₄) од спроведената постапка

Земените примероци беа доставени до Фармацевтскиот факултет, а се работеа на Институтот за применета хемија и фармацевтски анализи.

4.2.5. Определување на активност на ензимите ALP, AST и LDH во примероци од гингивален флуид

Метилцелулозните ленти со примерок од гингивален флуид се пренесуваат во Eppendorf епруветка за микроцентрифуга (Eppendorf, Германија) во која беа додавани 250 μ L фосфатен пуфер (phosphate buffer saline, pH=7.4. Примерокот се центрифугира и добиениот центрифугат се користеше за одредување на активноста на горенаведените ензими. Постапката за определување на активноста на ензимите беше извршена во согласност со предложените методи од производителот на ензимските китовин(и тоа: Ензимски кит за одредување на каталитичка активност на алкална фосфатаза (ALP), Ензимски кит за одредување на каталитичка активност на лактат дехидрогеназа (LDH), Ензимски кит за одредување на каталитичка активност на аспартат аминотрансфераза (AST)).

Принципот на методот за одредување на ензимската активност се базира на мерење на брзината на ензимската реакција односно следење на промената на концентрацијата на продуктот односно намалување на концентрацијата на супстратот. Ензимската активност е одредена на UV спектрофотометар (Lambda 16, Perkin Elmer), а користени се и термостат LT-400 и хронометар (штоперка), E-Delta . Активноста на ензимите е изразена како IU/L.

4.2.6. Биостатистичка анализа на добиените податоци за ензимската активност

Податоците од истражувањето се обработени во *Statistica for Windows 7,0* и *SPSS* верзија 20, а истите се прикажани табеларно и графички.

Анализата на атрибутивните (квалитативни) серии е направена преку одредување на коефициент на односи, пропорции и стапки, а истите се прикажани како апсолутни и релативни броеви. Нумеричките (квантитативни) серии се анализирани со мерките на централна тенденција (просек, медијана, минимални вредности, максимални вредности, интерактивни рангови), како и со мерки на дисперзија (стандардна девијација, и стандардна грешка). *Shapiro-Wilk W* тест е користен за утврдување на правилноста на дистрибуцијата на фреквенцијата на испитуваните варијабли.

Pearson Chi square test за хомогеност е користен за утврдување на асоцијацијата меѓу одредени белези во групите испитаници. Пресметувањето на ризиците се одредува со помош на стапки на предимство (Odd ratio – OR). За споредба на пропорциите е користен *Difference test*. *Sperman Rang Order Correlation test* е користен за утврдување на поврзаноста помеѓу две варијабли. За споредба на коефициентите на корелација е користен *Z-test*. Темпото на промена е анализирано со индекси на динамика со постојана и подвижна база.

Два и повеќе независни примероци со неправилна дистрибуција се споредувани, соодветно со *MannWhitneyU test* и *Kriskal Wallis test*. Анализата на два и повеќе зависните примероци е правена со *Friedman test* и *Wilcoxon signed rank test*.

За утврдување на статистичка значајност е користена двострана анализа со ниво на сигнификантност од $p < 0,05$.

5.РЕЗУЛТАТИ

Истражувањето претставува проспективна рандомизирана клиничка студија за активност на биомаркерите (ALP, AST и LDH) во гингивалниот флуид при ортодонско придвижување на забите. Студијата е спроведена на Клиниката за ортодонција при Универзитетскиот стоматолошки клинички центар “Св. Пантелејмон од Скопје“, а со неа се опфатени вкупно 20 пациенти со фиксен ортодонски апарат. Студијата е имплементирана во 2019 година, а испитаниците од примерокот се следени во период од 1 месец на интервал од 7 дена.

5.1. Генерални карактеристики на примерокот

Анализата на генералните карактеристики на примерокот се однесува на полот, и возраста на пациентите вклучени во истражувањето.

5.1.1. Анализа на примерокот според пол

Студијата опфати вкупно 20 пациенти од кои 8 (40%) машки и 12 (60%) женски со однос помеѓу половите 1,7:1. Процентуалната разлика помеѓу застапеноста на испитаниците од двата пола во примерокот, за $p > 0,05$, беше статистички несигнификантна (Difference test: Difference 20% [(-10,18-45,62) 95% CI]; Chi-square=1,560; df=1; $p=0,2117$) (Табела 1).

Табела 1. Дескриптивна анализа на примерокот според пол

Пол		Вкупно
мажи	Број	8
	%	40%
жени	Број	12
	%	60%
Вкупно	Број	20
	%	100%

Графичкиот приказ на дистрибуцијата на испитаниците во примерокот според пол е дадена на График 1.

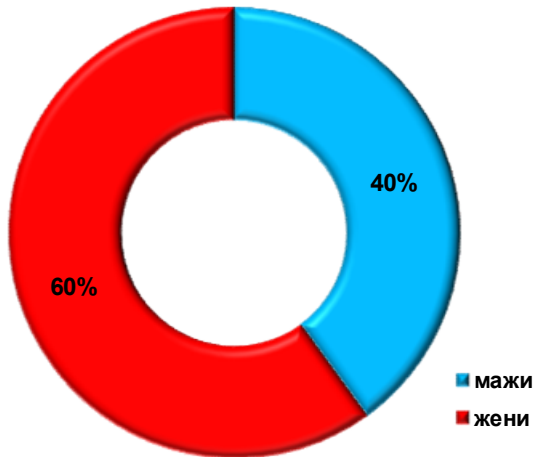


График 1. Дистрибуција на примерокот според пол

5.1.2. Анализа на примерокот според возраст

Анализата на фреквенциите на возраста изразена во години, укажа на постоење на неправилна дистрибуција за вредностите за Shapiro-Wilk $W=0,6264$; $p=0,00001$ (График 2). Согласно утврдената дистрибуција, во понатамошната статистичка анализа беа применети непараметарски тестови.

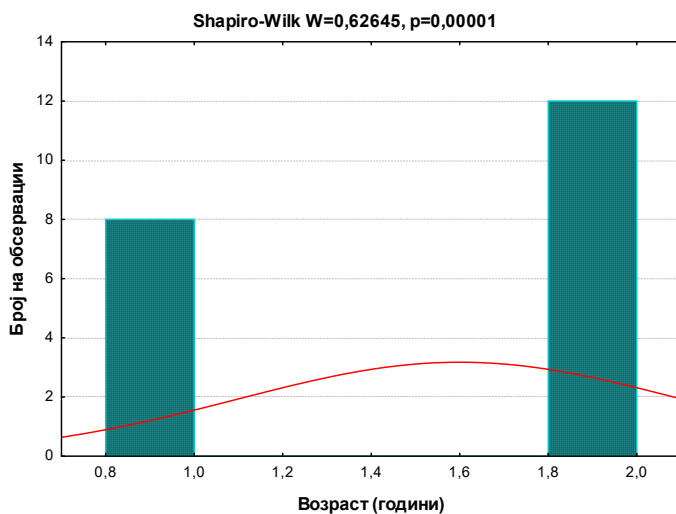


График 2. Хистограм на дистрибуција на фреквенции на возраст (години)

Согласно инклузионите критериуми за учество во студијата, испитаниците од примерокот беа на возраст од 13-28 години. Просечната возраст во целиот примерок изнесуваше $18 \pm 4,6$ години со мин/мак возраст 13/28 години. Анализата укажа дека 50% од испитаниците беа постари од 16 години за Median (IQR)=16 (14,5-22,5) години (Табела 2). Кај испитаниците од машки односно од женски пол просечната возраст иснесуваше $18 \pm 4,4$ за Median (IQR)=16,5 (14,5-23) vs. $18 \pm 4,9$ за Median (IQR)=16 (14,5-22) години. Минимална возраст на пациентите кај двата пола беше 13 години, додека максимална возраст изнесуваше кај машките 23 а кај женските 28 години (Табела 2).

Табела 2. Анализа на примерокот според возраст во години и пол

Пол	Просек (Mean)	Број (N)	Стандардна девијација (Std. Dev.)	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
Mann-Whitney U Test: $Z=0,3086$; $p=0,7576$								
Мажи	18	8	4,4	13	23	14,5	16,5	23,0
Жени	18	12	4,9	13	28	14,5	16,0	22,0
Вкупно	18	20	4,6	13	28	14,5	16,0	22,5

*сигнификантно за $p < 0,05$

За $p > 0,05$, анализата не укажа на статистички сигнификантна разлика помеѓу двата пола во однос на возраста (Mann-Whitney U Test: $Z=0,3086$; $p=0,7576$) (Табела 2 и График 3).

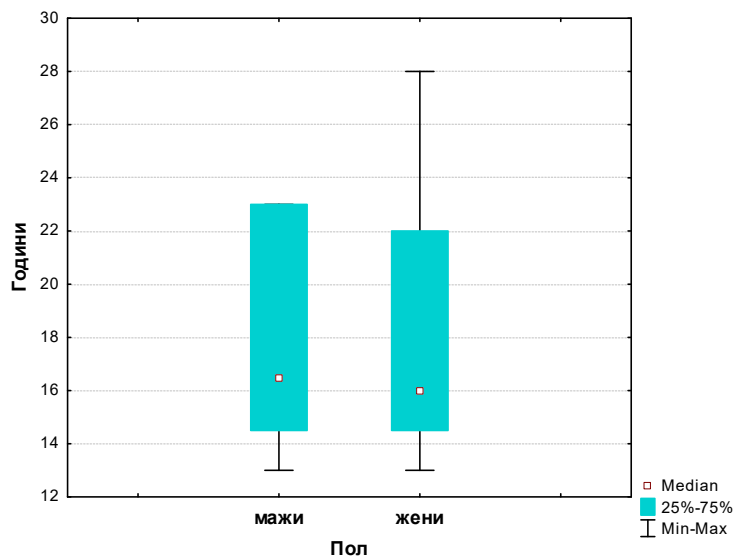


График 3. Анализа на примерокот според возраст во години и пол

5.2. Анализа на селектирани клинички параметри

За да се испитаат ефектите на ортодонтските сили врз алвеоларната коска во различни стадиуми на ортодонтското придвижување на забите, во примероци на гингивален флуид определувана е активност на три селектирани биомаркери (ALP, AST, и LDH). Примероци на гингивален флуид од гингивалниот сулкус се земани од мезијалните и дисталните страни на двата максиларни канини (ТМ, ТД, КМ и КД). Анализата е правена во четири времиња на мерење и тоа на: а) почеток пред аплицирањето на еластичната сила – нулто време (Т₀); б) 7 ден (Т₁); в) 14 ден (Т₂) и г) 28 ден (Т₃) од спроведената постапка.

5.2.1. Анализа на биомаркери ALP, AST, и LDH - нулто време

Во овој дел од истражувањето направена е анализа на добиените вредности на трите биомаркери ALP, AST, и LDH од мезијалните и дисталните страни во нулто време на мерење.

5.2.1.1. Анализа на ALP во нулто време

Во рамките на истражувањето, алкалната фосфатаза - ALP во НУЛТО време е мерена мезијално и дистално **кај** двата максиларни канини.

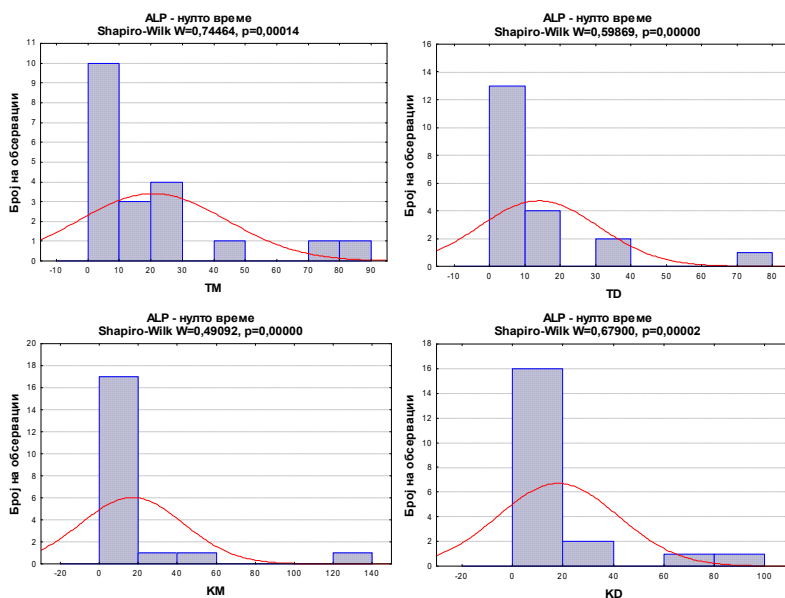


График 4. Дистрибуција на вредности на ALP за ТМ, ТД, КМ и КД во нулто време

Тестирањето на вредностите на ALP на TM, TD, KM и KD укажаа дека кај сите постои неправилна дистрибуција на фреквенциите за консеквентно Shapiro-Wilk $W=0,7446$; $p=0,0001$ vs. Shapiro-Wilk $W=0,5987$; $p=0,00001$ vs. Shapiro-Wilk $W=0,4909$; $p=0,00001$ vs. Shapiro-Wilk $W=0,6790$; $p=0,00002$ (График 4).

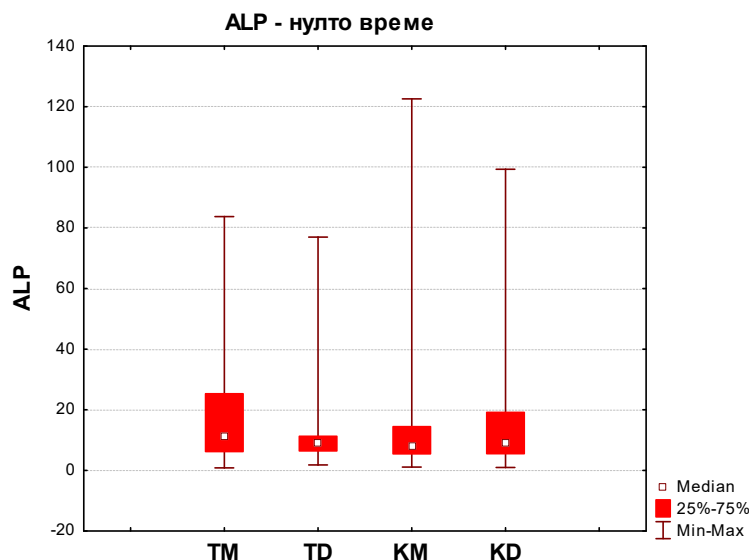
Табела 3. Анализа на ALP според TM, TD, KM и KD - нулто време

ALP – нулто време	Број (N)	Просек (Mean)	Стандардна девијација (Std. Dev.)	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
Kruskal-Wallis H test: Chi-square (3)=0,534; p=0,911								
TM ¹	20	20,69	23,42	0,83	83,75	6,22	11,12	25,29
TD ²	20	13,93	16,92	1,80	76,98	6,43	9,05	11,26
KM ³	20	16,79	26,43	1,11	122,58	5,45	8,22	14,44
KD ⁴	20	18,17	23,80	0,97	99,37	5,52	8,98	19,14

*сигнификантно за $p<0,05$

¹TM-тест мезијална; ²TD-тест дистална; ³KM-контрола мезијална; ⁴KD-контрола дистална

Просечните вредности на ALP за TM, TD, KM и KD во нулто време изнесуваа консеквентно $20,7\pm 23,4\text{mm}$ vs. $13,9\pm 16,9\text{mm}$ vs. $16,8\pm 26,4\text{mm}$ vs. $18,2\pm 23,8\text{mm}$ (Табела 3 и График 5). Минималната односно максималната вредност на ALP во нулто време изнесуваше за: а) TM (0,8/83,7); б) TD (1,8/76,9); в) KM (1,1/122,6) и г) KD (0,9/99,4). Кај 50% од пациентите, вредноста на ALP беше помала од: а) 11,1мм за Median (IQR)=11,1 (6,2-25,3) кај TM б) 9мм за Median (IQR)=9 (6,4-11,3) кај TD; в) 8,2мм за Median (IQR)=8,2 (5,4-14,4) кај KM; и г) 8,9мм за Median (IQR)=8,9 (5,5-19,1) кај KD. За $p>0,05$, анализата не укажа на сигнификантна



разлика меѓу вредностите на ALP за TM, TD, KM и KD во нулто време (Kruskal-Wallis H test: Chi-square (3)=0,534; $p=0,911$) (Табела 3 и График 5).

График 5. Анализа на ALP за TM, TD, KM и KD во нулто време

5.2.1.2. Анализа на AST во нулто време

Во овој дел се анализирани вредностите на аспартат аминотрансфераза - AST за ТМ, ТД, КМ и КД во нулто време.

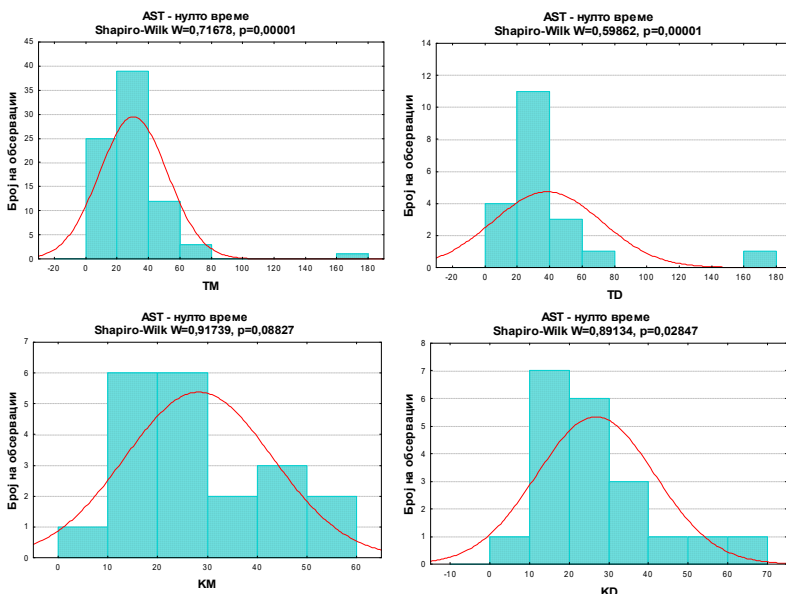


График 6. Дистрибуција на фреквенции за AST за ТМ, ТД, КМ и КД во нулто време

Тестирањето на вредностите на AST за ТМ, ТД, КМ и КД укажаа дека кај сите постои неправилна дистрибуција на фреквенциите за консеквентно Shapiro-Wilk $W=0,7168$; $p=0,00001$ vs. Shapiro-Wilk $W=0,5986$; $p=0,00001$ vs. Shapiro-Wilk $W=0,9174$; $p=0,08827$ vs. Shapiro-Wilk $W=0,8914$; $p=0,0285$ (График 6).

Табела 4. Анализа на AST според ТМ, ТД, КМ и КД - нулто време

AST – нулто време	Број (N)	Просек (Mean)	Стандардна девијација (Std. Dev.)	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
Kruskal-Wallis H test: Chi-square (3)=2,525; p=0,471								
ТМ ¹	20	28,51	16,45	3,33	76,83	17,91	27,99	28,51
ТД ²	20	38,49	33,75	11,33	169,32	25,83	29,58	38,49
КМ ³	20	28,25	14,83	9,33	58,83	14,41	24,33	28,25
КД ⁴	20	26,73	14,96	2,83	66,66	18,0	23,91	26,73

*сигнификантно за $p < 0,05$

¹ТМ-тест мезијална; ²ТД-тест дистална; ³КМ-контрола мезијална; ⁴КД-контрола дистална

Просечните вредности на AST за ТМ, ТД, КМ и КД во нулто време изнесуваа консеквентно $28,5 \pm 16,4 \text{ mm}$ vs. $38,5 \pm 33,7 \text{ mm}$ vs. $28,2 \pm 14,8 \text{ mm}$ vs. $26,7 \pm 14,9 \text{ mm}$ (Табела 4 и График 7). Минималната односно максималната вредност на AST во нулто време изнесуваше за: а) ТМ (3,3/76,8); б) ТД (11,3/169,3); в) КМ (9,3/58,8) и

г) **KD** (2,8/66,7). Кај 50% од пациентите, вредноста на AST беше помала од: а) 28mm за Median (IQR)=28 (17,9-28,5) кај **TM** б) 29,6mm за Median (IQR)=29,6 (25,8-38,5) кај **TD**; в) 24,3mm за Median (IQR)=24,3 (14,4-28,2) кај **KM**; и г) 23,9mm за Median (IQR)=23,9 (18-26,7) кај **KD**. За $p > 0,05$, анализата не укажа на сигнификантна разлика меѓу вредностите на AST за **TM**, **TD**, **KM** и **KD** во нулто време (Kruskal-Wallis H test: Chi-square (3)=2,525; $p=0,471$) (Табела 4 и График 7).

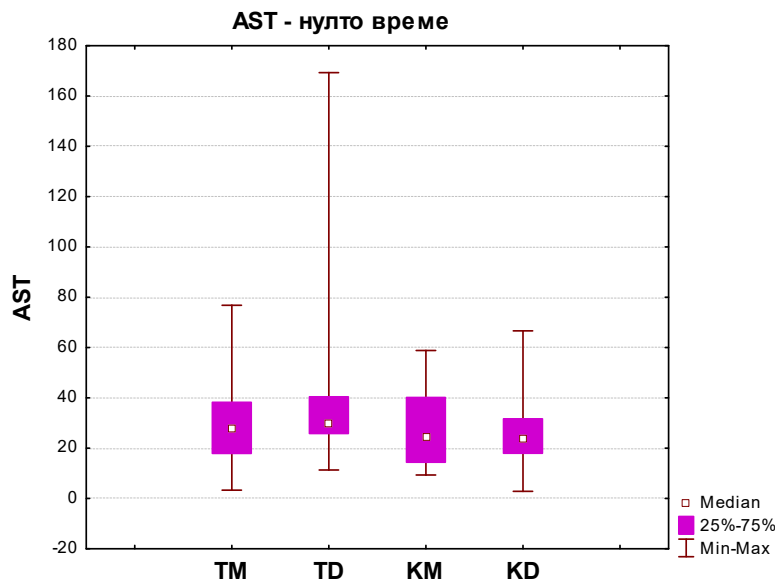


График 7. Анализа на вредности на ALP за **TM, **TD**, **KM** и **KD** во нулто време**

5.2.1.3. Анализа на LDH во нулто време

Анализирана е дистрибуцијата на фреквенциите за добиените вредности на лактат дехидрогеназа - LDH во НУЛТО време за **TM**, **TD**, **KM** и **KD**. Тестирањето укажаа дека кај сите мерења постои неправилна дистрибуција на фреквенциите за консеквентно Shapiro-Wilk $W=0,7478$; $p=0,00016$ vs. Shapiro-Wilk $W=0,7009$; $p=0,00004$ vs. Shapiro-Wilk $W=0,7471$; $p=0,00016$ vs. Shapiro-Wilk $W=0,7973$; $p=0,00079$ (График 4). Согласно неправилната дистрибуција на фреквенциите на испитуваните параметри, во понатамошната анализа се применети непараметарски тестови

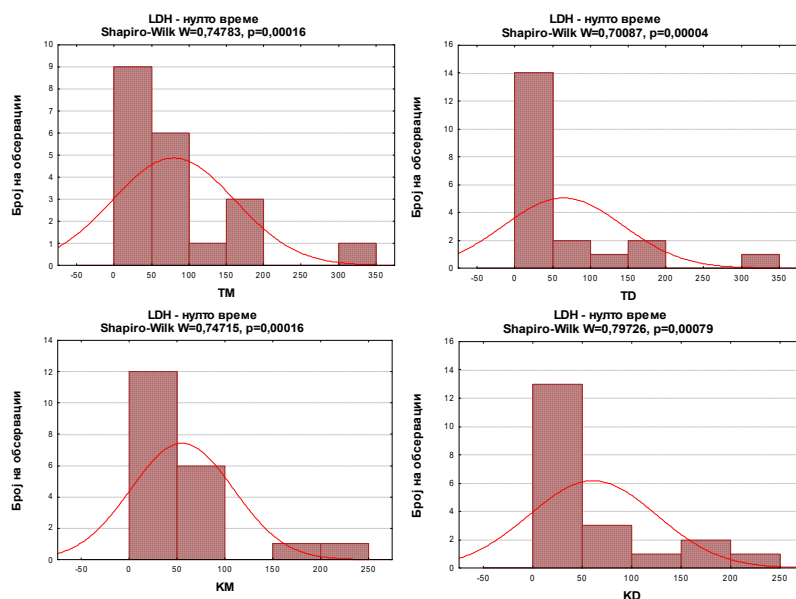


График 8. Дистрибуција на вредности на LDH за TM, TD, KM и KD во нулто време

Просечните вредности на LDH за TM, TD, KM и KD во нулто време изнесуваа консеквентно $79,6 \pm 81,9\text{mm}$ vs. $66,9 \pm 77,8\text{mm}$ vs. $60,9 \pm 56,7\text{mm}$ vs. $81,9 \pm 72,8\text{mm}$ (Табела 5 и График 9). Минималната односно максималната вредност на LDH во нулто време изнесуваше за: а) TM (5,7/347,28); б) TD (13,8/308,8); в) KM (10,9/228,7) и г) KD (7,7/215,5). Кај 50% од испитаниците во истражувањето, вредноста на LDH беше помала од: а) 56,1mm за Median (IQR)=56,1 (29,3-90,7) кај TM б) 36,2mm за Median (IQR)=36,2 (19,6-72,6) кај TD; в) 37,8mm за Median (IQR)=37,8 (20,4-83,8) кај KM; и г) 41,7mm за Median (IQR)=41,7 (32,8-163,5) кај KD. За $p > 0,05$, анализата не укажа на сигнификантна разлика меѓу вредностите на LDH за TM, TD, KM и KD во нулто време (Kruskal-Wallis H test: Chi-square (3)=2,210; $p=0,530$) (Табела 5 и График 9).

Табела 5. Анализа на LDH според TM, TD, KM и KD - нулто време

LDH – нулто време	Број (N)	Просек (Mean)	Стандардна девијација (Std. Dev.)	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
Kruskal-Wallis H test: Chi-square (3)=2,210; p=0,530								
TM ¹	20	79,56	81,92	5,67	347,28	29,34	56,06	90,66
TD ²	20	66,94	77,81	13,76	308,82	19,63	36,22	72,65
KM ³	20	60,87	56,71	10,93	228,68	20,44	37,84	83,78
KD ⁴	11	81,91	72,84	7,69	215,33	32,78	41,69	163,50

*сигнификантно за $p < 0,05$

¹TM-тест мезијална; ²TD-тест дистална; ³KM-контрола мезијална; ⁴KD-контрола дистална

Графичкиот приказ на добиените вредности на LDH за TM, TD, KM и KD во нулто време е даден на График 9.

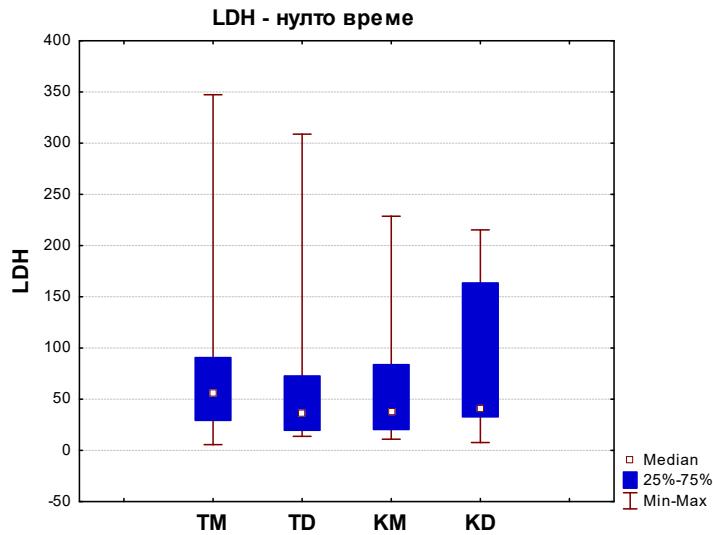


График 9. Анализа на LDH за TM, TD, KM и KD во нулто време

5.2.1.4. Пол и висина на ALP, AST, и LDH - нулто време

Направена беше анализа на евентуалната разлика во вредностите на ALP, AST, и LDH за TM, TD, KM и KD во нулто време според пол (машки/женски) (Табела 6-8).

Табела 6. Анализа на ALP за TM¹, TD², KM³ и KD⁴ според пол - нулто време

ALP нулто време		Број (N)	Просек (Mean)	Стандардна девијација (Std. Dev.)	Percentiles			p
					25th	50th (Median)	75th	
TM	мажи	8	25,22	34,15	4,77	7,60	45,05	Mann-Whitney U Test: Z=-0,5015; p=0,0616
	жени	12	17,68	13,42	6,36	17,41	25,29	
TD	мажи	8	16,15	24,79	5,45	8,70	10,64	Mann-Whitney U Test: Z=-0,2314; p=0,8169
	жени	12	12,45	9,88	6,43	9,46	14,16	
KM	мажи	8	23,94	40,02	7,19	10,71	14,09	Mann-Whitney U Test: Z=0,7715; p=0,4404
	жени	12	12,03	11,22	4,97	7,73	14,99	
KD	мажи	8	25,19	35,45	5,52	8,98	36,07	Mann-Whitney U Test: Z=1929; p=0,8470
	жени	12	13,48	10,91	5,52	11,26	19,14	

*сигнификантно за $p < 0,05$

¹TM-тест мезијална; ²TD-тест дистална; ³KM-контрола мезијална; ⁴KD-контрола дистална

Вредностите на ALP во нулто време за мажи односно жени изнесуваат за: а) ТМ - 25,2±34,1 vs. 17,7±13,5; б) TD - 16,5±24,8 vs. 12,4±9,9; в) КМ - 23,9±40,0 vs. 12,0±11,2; и г) KD - 25,2±35,4 vs. 13,5±10,9 (Табела 6 и График 10).

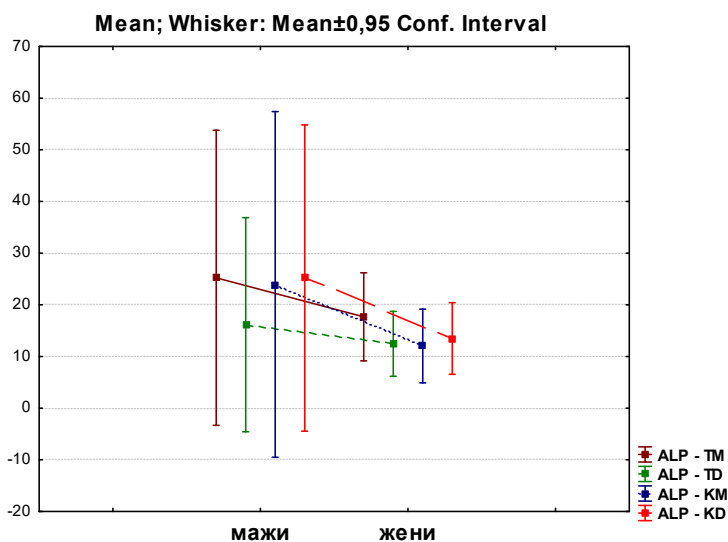


График 10. Анализа на ALP за ТМ, TD, КМ и KD во нулто време

За $p > 0,05$, во нулто време, анализата не укажа на статистички сигнификантна разлика помеѓу половите во однос на висината на ALP за: ТМ (Mann-Whitney U Test: $Z = -0,5015$; $p = 0,0616$), TD (Mann-Whitney U Test: $Z = -0,2314$; $p = 0,8169$), КМ (Mann-Whitney U Test: $Z = 0,7715$; $p = 0,4404$) и KD (Mann-Whitney U Test: $Z = 1,929$; $p = 0,8470$). Табеларниот и графичкиот приказ е даден во Табела 6 и График 10)

Табела 7. Анализа на AST за ТМ¹, TD², КМ³ и KD⁴ според пол - нулто време

AST нулто време	Број (N)	Просек (Mean)	Стандардна девијација (Std. Dev.)	Percentiles			P	
				25th	50th (Median)	75th		
ТМ	мажи	8	27,43	10,01	20,83	27,99	30,91	Mann-Whitney U Test: $Z = -0,0771$; $p = 0,9385$
	жени	12	29,23	20,05	17,25	26,08	38,99	
TD	мажи	8	33,87	6,679	28,74	30,41	40,41	Mann-Whitney U Test: $Z = 1,0801$; $p = 0,2801$
	жени	12	41,56	43,74	17,99	26,91	45,58	
КМ	мажи	8	28,77	11,16	22,24	24,33	32,16	Mann-Whitney U Test: $Z = 0,5401$; $p = 0,5891$
	жени	12	27,91	17,32	13,58	19,91	42,91	
KD	мажи	8	24,98	12,03	18,16	21,16	24,66	Mann-Whitney U Test: $Z = -0,4629$; $p = 0,6434$
	жени	12	27,89	17,05	15,25	28,33	32,41	

*сигнификантно за $p < 0,05$

¹ТМ-тест мезијална; ²TD-тест дистална; ³КМ-контрола мезијална; ⁴KD-контрола дистална

Вредностите на AST во нулто време за мажи односно жени изнесуваше за: а) ТМ - 27,4±10,0 vs. 29,2±20,0; б) TD - 33,9±6,68 vs. 41,6±43,7; в) КМ - 28,8±11,2 vs. 27,9±17,3; и г) KD - 25,0±12,0 vs. 27,9±17,1 (Табела 7 и График 11). Во нулто време, за $p > 0,05$, анализата не укажа на сигнификантна разлика помеѓу половите во однос на висината на AST за: ТМ (Mann-Whitney U Test: $Z = -0,0771$; $p = 0,9385$), TD (Mann-Whitney U Test: $Z = 1,0801$; $p = 0,2801$), КМ (Mann-Whitney U Test: $Z = 0,5401$; $p = 0,5891$) и KD (Mann-Whitney U Test: $Z = -0,4629$; $p = 0,6434$).

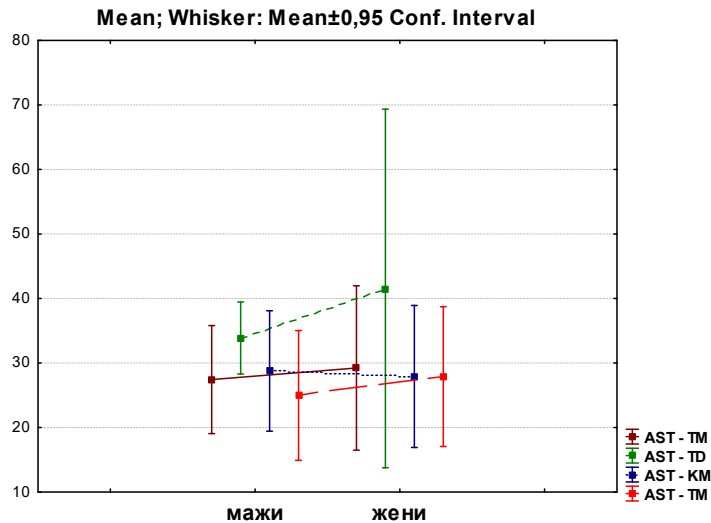


График 11. Анализа на AST за ТМ, TD, КМ и KD во нулто време

Вредностите на LDH во нулто време за мажи односно жени изнесуваат за: а) ТМ - 69,1±43,1 vs. 86,5±101,4; б) TD - 33,6±26,4 vs. 84,7±96,3; в) КМ - 44,4±25,5 vs. 62,6±66,5; и г) KD - 44,3±58,9 vs. 71,5±68,5 (Табела 8 и График 12).

Табела 8. Анализа на LDH за ТМ¹, TD², КМ³ и KD⁴ според пол - нулто време

LDH пулто време	Број (N)	Просек (Mean)	Стандардна девијација (Std. Dev.)	Percentiles			p	
				25th	50th (Median)	75th		
ТМ	мажи	8	69,11	43,08	41,49	64,96	72,65	Mann-Whitney U Test: $Z = 0,6943$; $p = 0,4874$
	жени	12	86,52	101,38	22,46	35,01	131,7	
TD	мажи	8	33,64	26,39	16,80	24,89	39,26	Mann-Whitney U Test: $Z = -0,8487$; $p = 0,3961$
	жени	12	84,73	96,27	16,39	38,25	151,78	
КМ	мажи	8	44,37	25,46	22,46	44,32	68,20	Mann-Whitney U Test: $Z = 0,1543$; $p = 0,8774$
	жени	12	62,63	66,48	21,05	36,22	76,09	
KD	мажи	8	44,32	58,97	12,54	28,73	38,65	Mann-Whitney U Test: $Z = -0,8487$; $p = 0,3961$
	жени	12	71,51	68,53	14,77	47,96	111,51	

*сигнификантно за $p < 0,05$

¹ТМ-тест мезијална; ²TD-тест дистална; ³КМ-контрола мезијална; ⁴KD-контрола дистална

Во нулто време, за $p > 0,05$, анализата не укажа на статистички сигнификантна разлика помеѓу половите во однос на висината на LDH за TM (Mann-Whitney U Test: $Z=0,6943$; $p=0,4874$), TD (Mann-Whitney U Test: $Z=-0,8487$; $p=0,3961$), KM (Mann-Whitney U Test: $Z=0,1543$; $p=0,8774$) и KD (Mann-Whitney U Test: $Z=-0,8487$; $p=0,3961$).

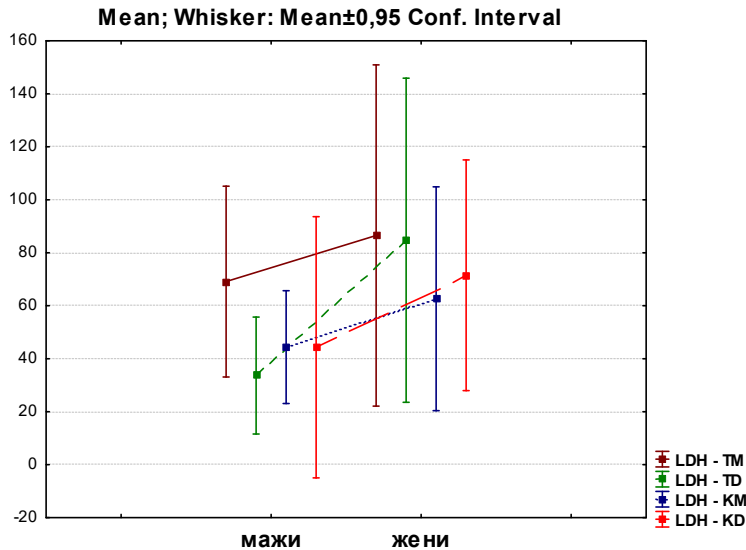


График 12. Анализа на LDH за TM, TD, KM и KD во нулто време

5.2.1.5. Возраст и висина на ALP, AST, и LDH - нулто време

Направена беше анализа на поврзаноста помеѓу возраста (години) и вредностите на TM, TD, KM и KD за трите анализирани биомаркери ALP, AST, и LDH во нулто време. За $p > 0,05$, анализата укажа на постиење на несигнификантна линеарна корелација во сите анализирани комбинации (Табела 9). Најголемиот дел од корелациите беа линеарни негативни, односно со растење на возраста вредностите на TM, TD, KM и KD се намалуваа. Исклучок беше поврзаноста помеѓу возраста и параметрите како ALP-TM₀, ALP-KD, LDH-TD₀ и LDH-KD₀ каде беше утврдена позитивна линеарна корелација, односно кај постарите пациенти вредности за овие параметри беа повисоки (Табела 9)

Во нулто време, согласно Табела 9, за $p > 0,05$, утврдена беше гранично несигнификантна негативна линеарна умерена корелација помеѓу возраста и вредноста на AST-TM₀ за Spearman Rank Order Correlations: $R=-0,424$; $p=0,0626$. Со растењето на возрста на пациентите гранично несигнификантно се намалуваше вредноста на AST-TM₀ во нулто време.

Табела 9. Возраст и висина на ALP, AST, и LDH - нулто време

Години &	Spearman Rank Order Correlations			
	Број (N)	Spearman (R)	t(N-2)	p-level
ALP-TM ₀	20	0,092091	0,39238	0,699387
ALP-TD ₀	20	-0,006469	-0,02745	0,978405
ALP-KM ₀	20	-0,012177	-0,05167	0,959362
ALP-KD ₀	20	0,151075	0,64840	0,524912
AST-TM ₀	20	-0,423765	-1,98492	0,062609
AST-TD ₀	20	-0,203133	-0,88017	0,390367
AST-KM ₀	20	-0,154442	-0,66320	0,515607
AST-KD ₀	20	-0,262574	-1,15452	0,263386
LDH-TM ₀	20	-0,085209	-0,36283	0,720956
LDH-TD ₀	20	0,074558	0,31721	0,754737
LDH-KM ₀	20	-0,109977	-0,46944	0,644392
LDH-KD ₀	20	0,252585	1,10754	0,282642

Графичкиот приказ на добиените корелации помеѓу возраста на пациентите и вредностите на TM, TD, KM и KD за трите анализирани биомаркери ALP, AST, и LDH во нулто време даден на График 13.

График 13 . Корелација на возраст и вредностите на TM, TD, KM и KD за ALP, AST, и LDH за во нулто време



5.2.2. Анализа на ТМ, ТD, КМ и КD за ALP во четири времиња

Во овој дел од истражувањето направена е споредба на вредностите на ТМ, ТD, КМ и КD за ALP во четирите времиња на мерење нулто време (Т₀); б) 7 ден (Т₁); в) 14 ден (Т₂) и г) 28 ден (Т₃) од спроведената постапка.1

5.2.2.1. Споредба на ТМ за ALP во четири времиња

Направена е анализа на измерените вредности на ТМ (мезијалната страна на тестираниот заб) за ALP во секое од четирите времиња на мерење (Т₀- Т₃). Согледано беше дека просечните вредности на ТМ за ALP изнесуваат консеквентно: 20,7±23,4 за Т₀ vs. 30,5±35,5 за Т₁ vs. 105,3±123,6 за Т₂ vs. 77,2±96,7 за Т₃ (Табела 10 и График 14). Кај 50% од испитаниците, ТМ за ALP беше: а) >18,5 во Т₁ со мин/мак 2,1/147,6; б) >92,6 во Т₂ со мин/мак 2,3/517,6; и в) >30,3 во Т₃ со мин/мак 7,5/292,8.

Табела 10. Анализа на примерокот според ТМ¹ за ALP во четири времиња

ALP -ТМ	Број (N)	Просек (Mean)	Стандардна девијација (Std. Dev.)	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
Friedman Test: N=20; Chi-Square=26,186; df=3; p=0,00001*								
ТМ - Т ₀	20	20,69	23,42	0,83	83,75	6,22	11,12	25,98
ТМ - Т ₁	20	30,53	35,491	2,07	147,60	6,70	18,52	49,61
ТМ - Т ₂	20	105,34	123,62	2,35	517,56	9,98	92,59	146,49
ТМ - Т ₃	20	77,19	93,68	7,46	292,85	10,12	30,27	103,75

* сигнификантно за $p < 0,05$

¹ТМ-тест мезијална; Т₀ – нулто време; Т₁ – прва недела; Т₂ – втора недела; Т₃ – трета недела

Најниската просечна вредност на ТМ за ALP беше во Т₀ (нулто време), а највисоката (peak activity) во Т₂ следена со намалување на вредностите во Т₃ и Т₁. Процентуалната промена на просечна вредност на ТМ за ALP во однос на Т₀ укажа: а) ↑9,8% кај ТМ-Т₁; б) ↑84,6% кај ТМ-Т₂; и в) ↑56,5% кај ТМ-Т₃ (Табела 11).

За утврдување на темпото на промена на ТМ за ALP во четирите времиња беше користена постојана база, и подвижна база (Табела 11). При анализа на темпото на промена на ТМ за ALP во однос на Т₀ (како постојана база), утврдено беше темпо на пораст за: а) ↑47,6% кај ТМ-Т₁; б) ↑409,1% кај ТМ-Т₂; и в) ↑273% кај ТМ-Т₃. При анализа на темпото на промена со подвижна база, каде секое претходно мерење

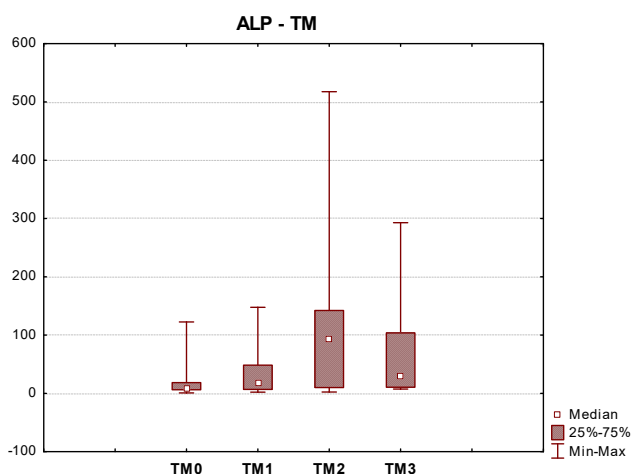
на ТМ за ALP беше сметано како база за наредното, утврден беше темпо на: а) ↑47,6% кај ТМ-Т1 во однос на ТМ-Т0; б) ↑245,0% кај ТМ-Т2 во однос на ТМ-Т1; и в) ↓26,7% кај ТМ-Т3 во однос на ТМ-Т2.

Табела 11. Анализа на промена на просечна вредност на ТМ¹ за ALP (процентна промена, темпо со постојана база и темпо со подвижна база)

ТМ во четири времиња	Промена на просечна вредност на ТМ за ALP		
	Процентна промена (прва-Т0)	Темпо на промена со постојана база (прва-Т0)	Темпо на промена со подвижна база (секоја претходна)
ТМ - Т0	=	=	=
ТМ - Т1	↑ 9,8%	↑ 47,6%	↑47,6%
ТМ - Т2	↑ 84,6%	↑ 409,1%	↑245,0%
ТМ - Т3	↑ 56,5%	↑ 273,0%	↓ 26,7%

¹ТМ-тест мезијална; Т0 – нулто време; Т1 – прва недела; Т2 – втора недела; Т3 – трета недела

Согласно Табела 10, анализирана беше вредноста на ТМ за ALP во четирите времиња на мерење (Т0-Т3). За $p < 0,05$, анализата укажа на сигнификантна



разлика меѓу вредностите на ТМ за ALP во четирите времиња на мерење за Friedman Test: $N=20$; Chi-Square=26,186; $df=3$; $p=0,00001$ (Табела 10 и График 14)

График 14. Анализа на ТМ за ALP во четири времиња

Дополнително беше аплицирана Post Hoc Test анализа за да се утврди на што се должи сигнификантноста во разликите меѓу вредностите на ТМ за ALP во четирите времиња на мерење. Анализирани беа разликите меѓу вредностите на ТМ за ALP во шест комбинации (ТМ1- ТМ0; ТМ2- ТМ0; ТМ3- ТМ0; ТМ2- ТМ1; ТМ3- ТМ1; ТМ3- ТМ2) преку тестирање со Wilcoxon signed rank test. Со цел за избегнување на Тип 1 грешка, согласно корекцијата со Bonferroni, за толкувањето на добиените резултати, прифатено беше ниво на сигнификантност од $p < 0,01$ (Табела 12).

Табела 12. Wilcoxon signed rank test на TM^1 за ALP во шест временски комбинации

Wilcoxon Signed Ranks Test	$TM_1 - TM_0$	$TM_2 - TM_0$	$TM_3 - TM_0$	$TM_2 - TM_1$	$TM_3 - TM_1$	$TM_3 - TM_2$
Z	(1,690) ^b	(3,285) ^b	(3,379) ^b	(2,912) ^b	(2,800) ^b	(0,784) ^c
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,091	0,001*	0,001*	0,004*	0,005*	0,433

* согласно корекција со Bonferroni сигнификантно за $p < 0,01$

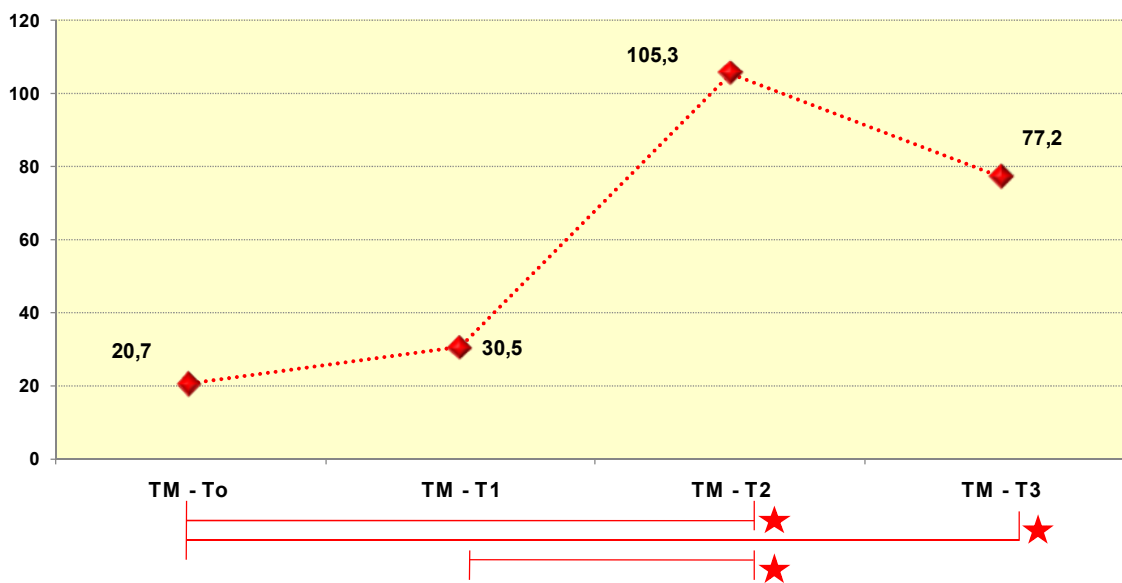
b. базирано на позитивни рангови

c. базирано на негативни рангови

¹TM-тест мезијална;

Тестирањето со Wilcoxon signed rank test, за $p > 0,01$, укажа дека нема статистички сигнификантна разлика во вредноста на ALP помеѓу TM_1/TM_0 и TM_3/TM_2 (Табела 12 и График 15). Во сите четири останати тестирани комбинации со Wilcoxon signed rank test, за $p < 0,01$, беше согледана сигнификантна разлика во вредноста на ALP и тоа за: а) $TM_2 - TM_0$ за $Z=1,690$; $p=0,001$ во прилог на повисока вредност во TM_2 ; б) $TM_3 - TM_0$ за $Z=3,379$; $p=0,001$ во прилог на повисока вредност во TM_3 ; в) $TM_2 - TM_1$ за $Z=2,912$; $p=0,004$ во прилог на повисока вредност во TM_2 ; и г) $TM_3 - TM_1$ за $Z=2,899$; $p=0,005$ во прилог на повисока вредност во TM_3 .

График 15. Споредба на просечни вредности на TM за ALP во четирите времиња



¹TM-тест мезијална; T₀ – нулто време; T₁ – прва недела; T₂ – втора недела; T₃ – трета недела

5.2.2.2. Споредба на TD за ALP во четири времиња

Анализата на измерените вредности на TD за ALP во секое од четирите времиња на мерење (T₀- T₃) укажа дека тие изнесуваат консеквентно: 13,9±16,9 за T₀ vs. 54,1±73,6 за T₁ vs. 163,4±248,1 за T₂ vs. 90,7±122,2 за T₃ (Табела 13 и График 16). Кај 50% од пациентите, TD за ALP беше: а) >20,2 во T₁ со мин/мах 1,8/76,9; б) >60,7 во T₂ со мин/мах 0,97/705,51; и в) >41,0 во T₃ со мин/мах 3,73/394,0.

Табела 13. Анализа на примерокот според TD¹ за ALP во четири времиња

ALP -TD	Број (N)	Просек (Mean)	Стандардна девијација (Std. Dev.)	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
Friedman Test: N=20; Chi-Square=19,409; df=3; p=0,00001*								
TD - T ₀	20	13,93	16,92	1,80	76,98	6,39	9,05	11,57
TD - T ₁	20	54,08	73,63	2,90	306,25	7,88	20,25	80,43
TD - T ₂	20	163,42	248,13	0,97	705,51	9,29	60,74	166,15
TD - T ₃	20	90,75	122,16	3,73	394,01	9,22	41,04	95,12

*сигнификантно за p<0,05

¹TM-тест дистална; T₀ – нулто време; T₁ – прва недела; T₂ – втора недела; T₃ – трета недела

Најниската просечна вредност на TD за ALP беше во T₀ (нулто време), а највисоката (peak activity) во T₂ следена со намалување на вредностите последователно во T₃ и T₁. Процентуалната промена на просечна вредност на TD за ALP во однос на T₀ укажа: а) ↑40,1% кај TM-T₁; б) ↑109,3% кај TM-T₂; и в) ↑76,8% кај TM-T₃ (Табела 14).

Табела 14. Анализа на промена на просечна вредност на TD¹ за ALP (процентна промена, темпо со постојана база и темпо со подвижна база)

TD во четири времиња	Промена на просечна вредност на TD за ALP		
	Процентна промена (прва-T ₀)	Темпо на промена со постојана база (прва-T ₀)	Темпо на промена со подвижна база (секоја претходна)
TD - T ₀	=	=	=
TD - T ₁	↑ 40,1%	↑ 288,2%	↑ 288,2%
TD - T ₂	↑ 109,3%	↑ 1073,1%	↑ 202,2%
TD - T ₃	↑ 76,8%	↑ 551,5%	↓ 44,3%

¹TM-тест дистална; T₀ – нулто време; T₁ – прва недела; T₂ – втора недела; T₃ – трета недела

За утврдување темпо на промена на TD за ALP во четирите времиња беше користена постојана база и подвижна база (Табела 15). При анализа на темпото на промена на TD за ALP во однос на T₀ (како постојана база), утврдено беше темпо

на пораст за: а) ↑288,2% кај TD-T1; б) ↑1073,11% кај TD-T2; и в) ↑551,5% кај TD-T3. При анализа на темпото на промена во однос на подвижна база, каде секое претходно мерење на TD за ALP беше сметано како база за наредното, утврдено беше: а) темпо на пораст од ↑288,2% кај TD-T1 во однос на TD-To; б) ↑202,2% кај TD-T2 во однос на TD-T1; и в) ↓ 44,3% кај TD-T3 во однос на TD-T2.

За $p < 0,05$, анализата укажа на сигнификантна разлика меѓу вредностите на TD за ALP во четирите времиња на мерење за Friedman Test: $N=20$; $\text{Chi-Square}=19,409$;

$df=3$; $p=0,00001$ (Табела 13 и График 16).

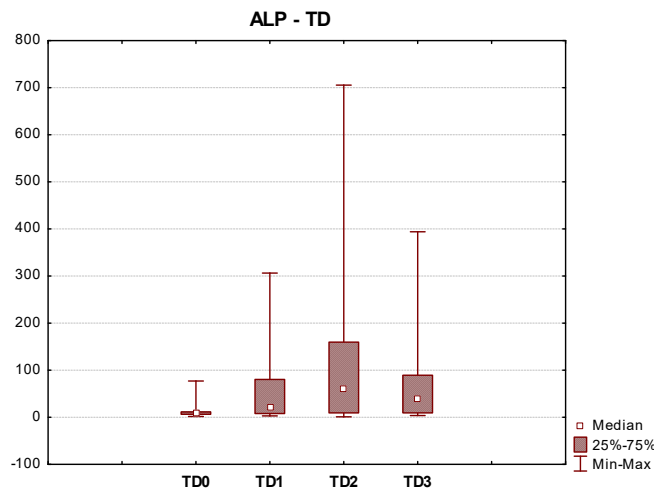


График 16. Анализа на TD за ALP во четири времиња

Дополнително беше аплицирана Post Hoc Test анализа за да се утврди на што се должи сигнификантноста во разликите меѓу вредностите на TD за ALP во четирите времиња. Анализирани беа разлики меѓу вредностите на TD за ALP во шест комбинации (TD1-TD0; TD2-TD0; TD3-TD0; TD2-TD1; TD3-TD1; TD3-TD2) преку тестирање со Wilcoxon signed rank test. Со цел избегнување Тип 1 грешка, согласно корекцијата со Bonferroni, за толкувањето на добиените резултати, прифатено беше ниво на сигнификантност од $p < 0,01$ (Табела 15).

Табела 15. Wilcoxon signed rank test на TD¹ за ALP во шест временски комбинации

Wilcoxon Signed Ranks Test	TD1 - TD0	TD2 - TD0	TD3 - TD0	TD2 - TD1	TD3 - TD1	TD3 - TD2
Z	(2,575) ^b	(3,018) ^b	(3,715) ^b	(1,419) ^b	(,672) ^b	(,187) ^c
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,010	0,003*	0,001*	0,156	0,502	0,852

* согласно корекција со Bonferroni сигнификантно за $p < 0,01$

b. базирано на позитивни рангови

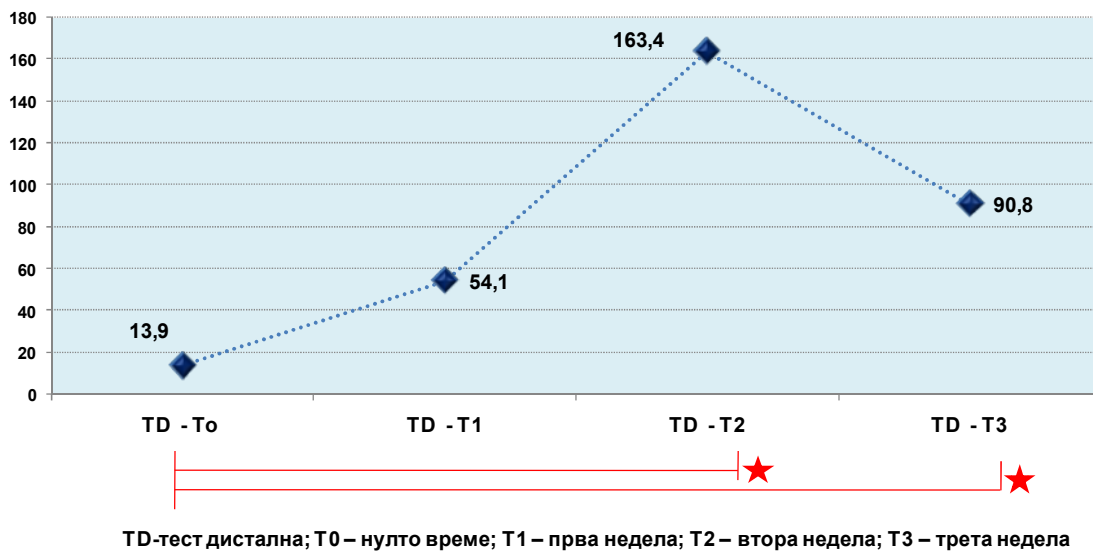
c. базирано на негативни рангови

¹TD-тест дистална;

Според Wilcoxon signed rank test, за $p > 0,01$, не беше утврдена сигнификантна разлика во вредноста за ALP четири од анализираниите шест комбинации и тоа: комбинациите TD₁/TD₀, TD₂/TD₁, TD₃/TD₁ и TD₃/TD₂ (Табела 15).

Во двете останати тестирани комбинации со Wilcoxon signed rank test, за $p < 0,01$, беше согледана сигнификантна разлика во вредноста на ALP и тоа за: а) TD₂-TD₀ за $Z=3,018$; $p=0,003$ во прилог на повисока вредност во TD₂; и б) TD₃-TD₀ за $Z=3,715$; $p=0,001$ во прилог на повисока вредност во TD₃ (Табела 15 и График 17).

График 17. Споредба на просечни вредности на TD за ALP во четирите времиња



5.2.2.3. Споредба на TM и TD за ALP во четири времиња

Во анализите дадени погоре во текстот (Табела 10 и Табела 13), беше утврдено дека просечните вредности на TM за ALP беа пониски од вредностите на TD за ALP во исто време на мерење. Со оглед неправилната дистрибуција на фреквенциите на испитуваните параметри, направена беше дополнителна анализа за утврдување евентуална сигнификантност на разликата помеѓу вредностите на TM и TD за ALP поединечно за секое од четирите времиња на мерење (T₀- T₃). Споредбата на вредностите на TM и TD за ALP во четири времиња на мерење е дадена во Табела 16.

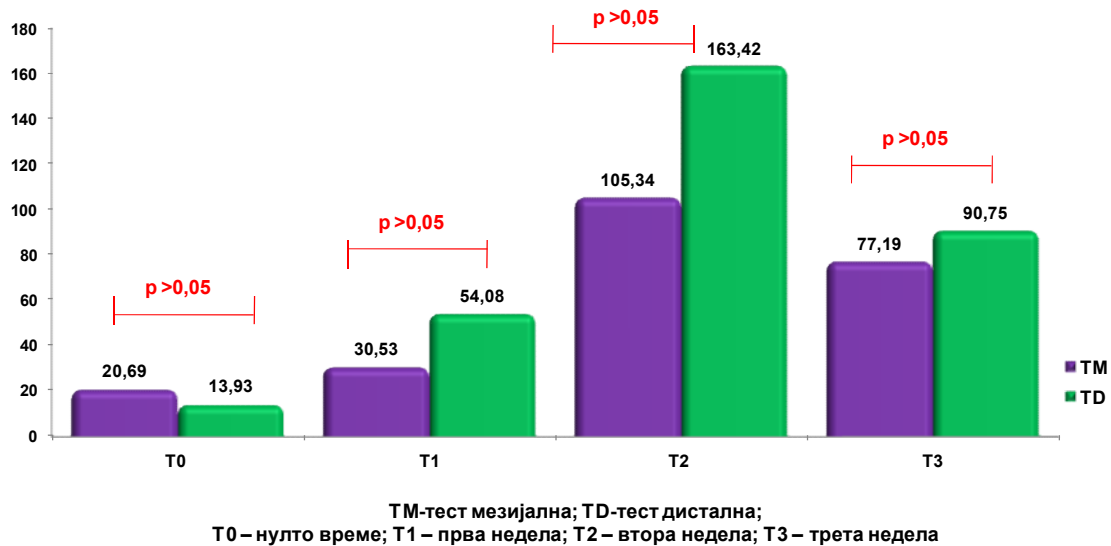
Табела 16. Споредба на ТМ¹ и ТD² за ALP во четири времиња на мерење

Mann-Whitney U Test	ТM ₀ – ТD ₀	ТM ₁ – ТD ₁	ТM ₂ – ТD ₂	ТM ₃ – ТD ₃
Mann-Whitney U	180,00	169,00	194,50	198,00
Z	0,5410	(0,8385)	0,1488	(0,0541)
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,5885	0,4017	0,8817	0,9568

*сигнификантно за $p < 0,05$ ¹ТМ-тест мезијална; ²ТD-тест дистална;

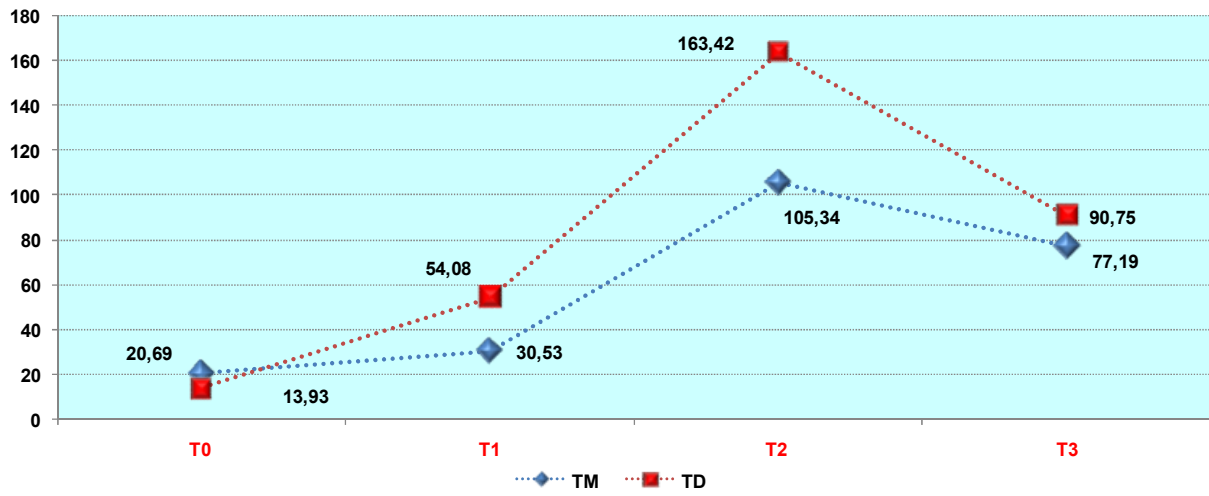
Анализата укажа дека, за $p > 0,05$, нема статистички сигнификантна разлика помеѓу вредностите на ТМ и ТD за ALP во ни едно од четирите испитувани времиња за консеквентно: ТM₀/ТD₀ (Mann-Whitney U Test: Z=0,5410; p=0,5885) vs. ТM₁/ТD₁ (Mann-Whitney U Test: Z=-0,8385; p=0,4017) vs. ТM₂/ТD₂ (Mann-Whitney U Test: Z=0,1488; p=0,8817) vs. ТM₃/ТD₃ (Mann-Whitney U Test: Z=0,0541; p=0,9568) (Табела 16) . Споредбата на ТМ и ТD за ALP во четирите времиња на мерење е прикажана на График 18.

График 18. Споредба на ТМ и ТD за ALP во четири времиња на мерење



Дополнителната анализа укажа дека вредностите на ТD за ALP споредено со вредностите на ТМ за ALP, во четирите времиња на мерење од Т1- Т3, беа несигнификантно повисоки со несигнификантно поголема крива на активност на дисталната страна (ТD за ALP) во споредба со мезијалната (ТМ за ALP). Графичкиот приказ на кривите на активности ТМ и ТD за ALP во четирите времиња на мерење е прикажана на График 18а.

График 18а. Криви на активности на ТМ и ТД за ALP во четири времиња на мерење



ТМ-тест мезијална; ТД-тест дистална;
Т0 – нулто време; Т1 – прва недела; Т2 – втора недела; Т3 – трета недела

5.3.2.4. Анализа на КМ и КД за ALP во четири времиња

Дополнително, направена беше анализа на измерените вредности на КМ (контрола мезијална) и КД (контрола дистална) за ALP во секое од четирите времиња на мерење (Т₀-Т₃).

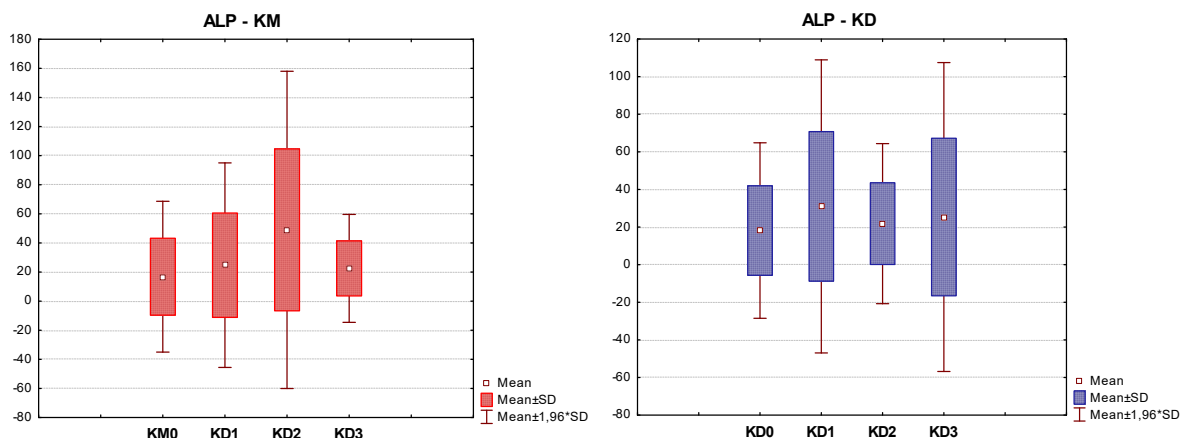
Табела 17. Анализа на КМ¹ и КД² за ALP во четири времиња

ALP	Број (N)	Просек (Mean)	Стандардна девијација (Std. Dev.)	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
ALP КМ¹ - Friedman Test: N=20; Chi-Square=9,682; df=3; p=0,051								
КМ - Т ₀	20	16,79	26,43	1,11	122,58	5,28	8,22	14,75
КМ - Т ₁	20	24,70	35,87	1,11	138,48	4,80	7,67	30,40
КМ - Т ₂	20	48,96	55,63	1,80	171,78	8,60	19,00	77,18
КМ - Т ₃	20	22,49	18,93	4,98	59,29	7,91	14,65	36,17
ALP КД² - Friedman Test: N=20; Chi-Square=1,742; df=3; p=0,628								
КД - Т ₀	20	18,17	23,80	0,97	99,37	4,97	8,98	19,38
КД - Т ₁	20	31,02	39,76	0,97	129,36	5,53	7,81	51,82
КД - Т ₂	20	21,84	21,71	6,08	98,67	8,33	16,45	24,67
КД - Т ₃	20	25,35	41,91	2,07	194,59	8,29	12,58	27,39

*сигнификантно за $p < 0,05$ ¹КМ-контрола мезијална; ²КД-контрола дистална
Т₀ – нулто време; Т₁ – прва недела; Т₂ – втора недела; Т₃ – трета недела

Согледано беше дека просечните вредности на КМ и КД за ALP изнесуваа: а) $16,8 \pm 26,4$ vs. $18,2 \pm 23,8$ за Т₀; б) $24,7 \pm 35,9$ vs. $31,0 \pm 39,8$ за Т₁; в) $48,9 \pm 55,6$ vs. $21,8 \pm 21,7$ за Т₂; и г) $22,5 \pm 18,9$ vs. $25,3 \pm 41,9$ за Т₃ (Табела 17 и График 19). Кај 50% од пациентите, КМ и КД за ALP беа: а) $>8,2$ vs. >9 во Т₀ со мин/мах $1,1/122,6$ vs. $0,9/99,4$; б) $>7,7$ vs. $7,8$ во Т₁ со мин/мах $1,1/138,5$ vs. $0,9$ vs. $129,4$; в) $>19,9$ vs. $16,4$ во Т₂ со мин/мах $1,8/171,8$ vs. $6,1/98,7$; и г) $>14,6$ vs. $12,6$ во Т₂ со мин/мах $4,9/59,3$ vs. $2,1/194,6$.

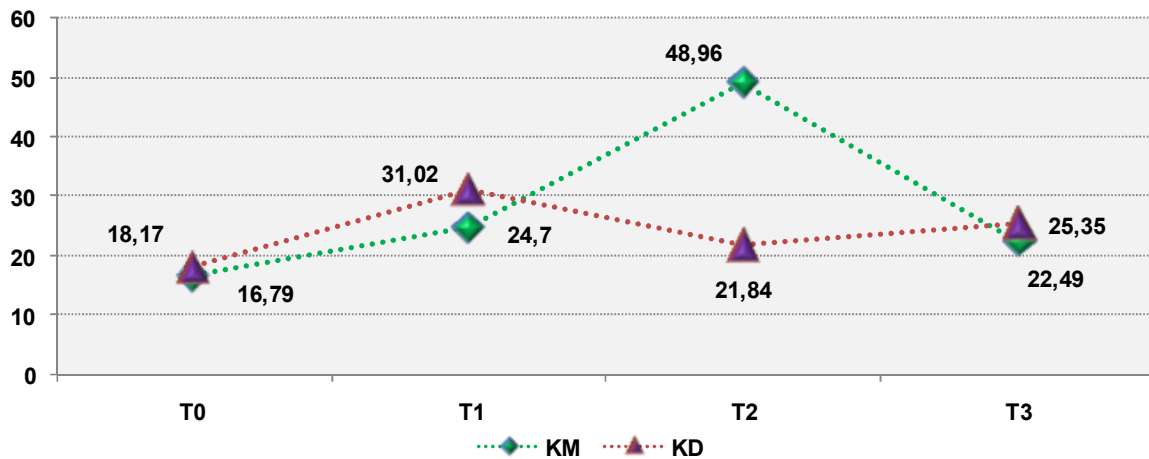
График 19. Анализа на КМ и КД за ALP во четири времиња



Контролите за ALP мезијално и дистално имаа најниска просечна вредност во Т₀. Највисоката просечна вредност на KM за ALP беше во Т₂, а на KD за ALP беше во Т₁ (Табела 17 и График 20).

Анализата укажа дека, за $p > 0,05$, нема сигнификантна разлика меѓу вредностите на KM и KD за ALP во четирите времиња на мерење за консеквентно Friedman Test: $N=20$; Chi-Square=9,682; $df=3$; $p=0,051$ vs. Friedman Test: $N=20$; Chi-Square=1,742; $df=3$; $p=0,628$. Споредбата на KM и KD за ALP во четирите времиња на мерење е дадена на График 18 подолу во текстот.

График 20. Анализа на просечни вредности на KM и KD за ALP во четири времиња



5.3.2.5. Споредба на KM и KD за ALP во четири времиња

Во рамките на истражувањето, направена беше дополнителна анализа за утврдување евентуална сигнификантност на разликата помеѓу вредностите на KM и KD за ALP поединечно за секое од четирите времиња на мерење (Т₀- Т₃). Споредбата на вредностите на KM и KD за ALP во четири времиња на мерење е дадена во Табела 18.

Табела 18. Споредба на KM¹ и KD² за ALP во четири времиња на мерење

Mann-Whitney U Test	KM ₀ – KD ₀	KM ₁ – KD ₁	KM ₂ – KD ₂	KM ₃ – KD ₃
Mann-Whitney U	190,00	174,00	164,00	179,00
Z	(0,2705)	(0,7033)	0,9738	0,5680
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,7878	0,4819	0,3301	0,5700

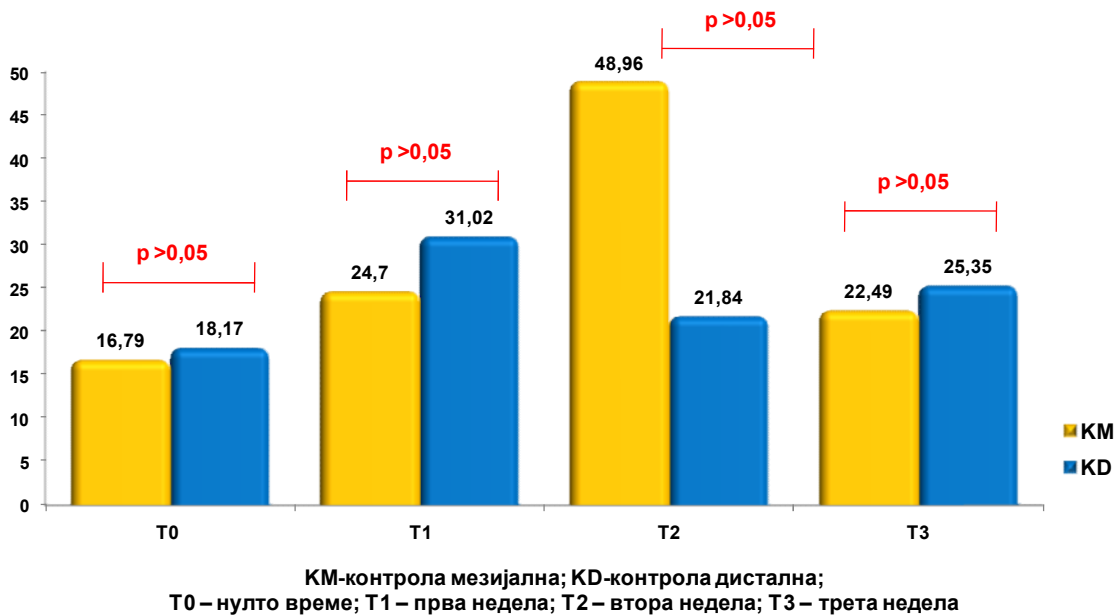
*сигнификантно за $p < 0,05$

¹KM-контрола мезијална;

²KD-контрола дистална;

Анализата укажа дека, за $p > 0,05$, нема статистички сигнификантна разлика помеѓу вредностите на КМ и КД за ALP во ниедно од четирите испитувани времиња за консеквентно: КМ₀/КД₀ (Mann-Whitney U Test: $Z=0,2705$; $p=0,78785$) vs. КМ₁/КД₁ (Mann-Whitney U Test: $Z=-0,7033$; $p=0,4819$) vs. КМ₂/КД₂ (Mann-Whitney U Test: $Z=0,9738$; $p=0,3301$) vs. ТМ₃/ТД₃ (Mann-Whitney U Test: $Z=0,5680$; $p=0,5700$) (Табела 18 и График 21).

График 21. Споредба на КМ и КД за ALP во четири времиња на мерење



5.3.2.6. Споредба на ТМ/ КМ и ТД/ КД за ALP во четири времиња

Дополнително во истражувањето направена беше споредба на ТМ/КМ односно на ТД/КД за ALP поединечно за четирите времиња на мерење (Т₀-Т₃).

Табела 19. Споредба на ТМ¹ и КМ² за ALP во четири времиња на мерење

Mann-Whitney U Test	КМ ₀ – ТМ ₀	КМ ₁ – ТМ ₁	КМ ₂ – ТМ ₂	КМ ₃ – ТМ ₃
Mann-Whitney U	175,00	150,00	156,00	125,00
Z	(0,676)	(1,353)	(1,191)	(2,029)
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,499	0,183	0,242	0,042*

*сигнификантно за $p < 0,05$ ¹ТМ-тест мезијален ²КМ-контрола мезијална
T₀ – нулто време; T₁ – прва недела; T₂ – втора недела; T₃ – трета недела

Споредбата на ТМ и КМ за ALP во четирите времиња, за $p < 0,05$, укажа на сигнификантна разлика само во третата недела - Т3 (Mann-Whitney U Test: $Z = -2,029$; $p = 0,042$) во прилог на сигнификантно поголема активност на ензимите во ТМ3 споредено со КМ3. За $p > 0,05$, не беше утврдена сигнификантна разлика помеѓу ТМ0/КМ0, ТМ1/КМ1 и ТМ2/КМ2 за ALP во однос на активноста на ензимите на тест и контролниот заб (Табела 19 и График 22).

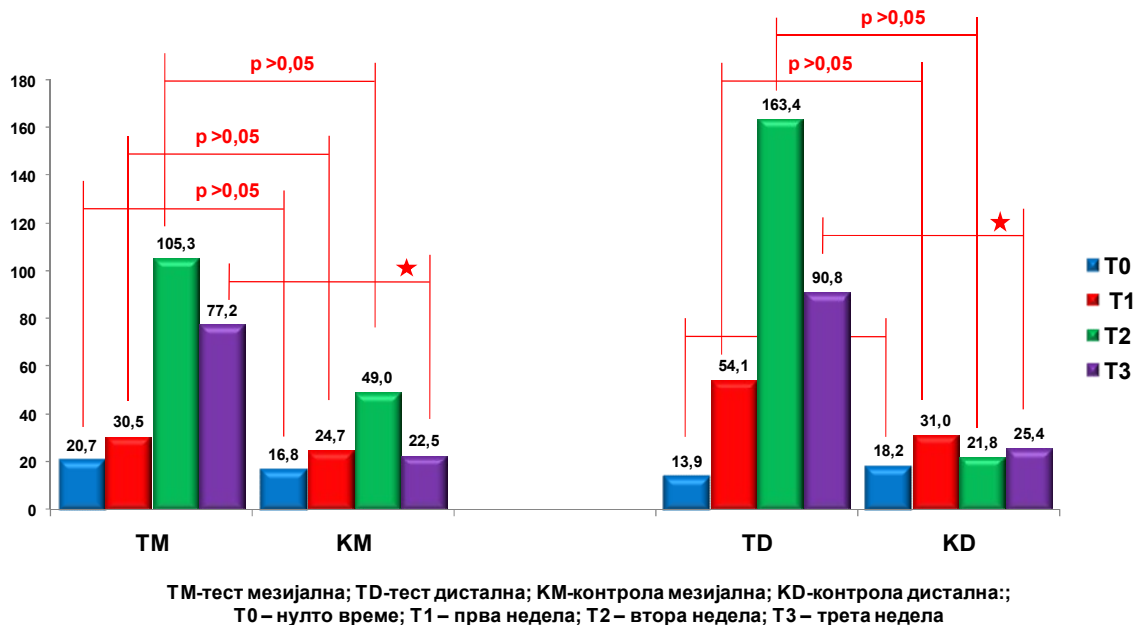
Табела 20. Споредба на TD¹ и KD² за ALP во четири времиња на мерење

Mann-Whitney U Test	KD ₀ – TD ₀	KD ₁ – TD ₁	KD ₂ – TD ₂	KD ₃ – TD ₃
Mann-Whitney U	189,00	152,00	133,00	119,00
Z	(0,298)	1,299	(1,813)	(2,191)
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,779	0,201	0,072	0,028*

*сигнификантно за $p < 0,05$ ¹TD-тест дистален ²KD-контрола дистална
 Т₀ – нулто време; Т₁ – прва недела; Т₂ – втора недела; Т₃ – трета недела

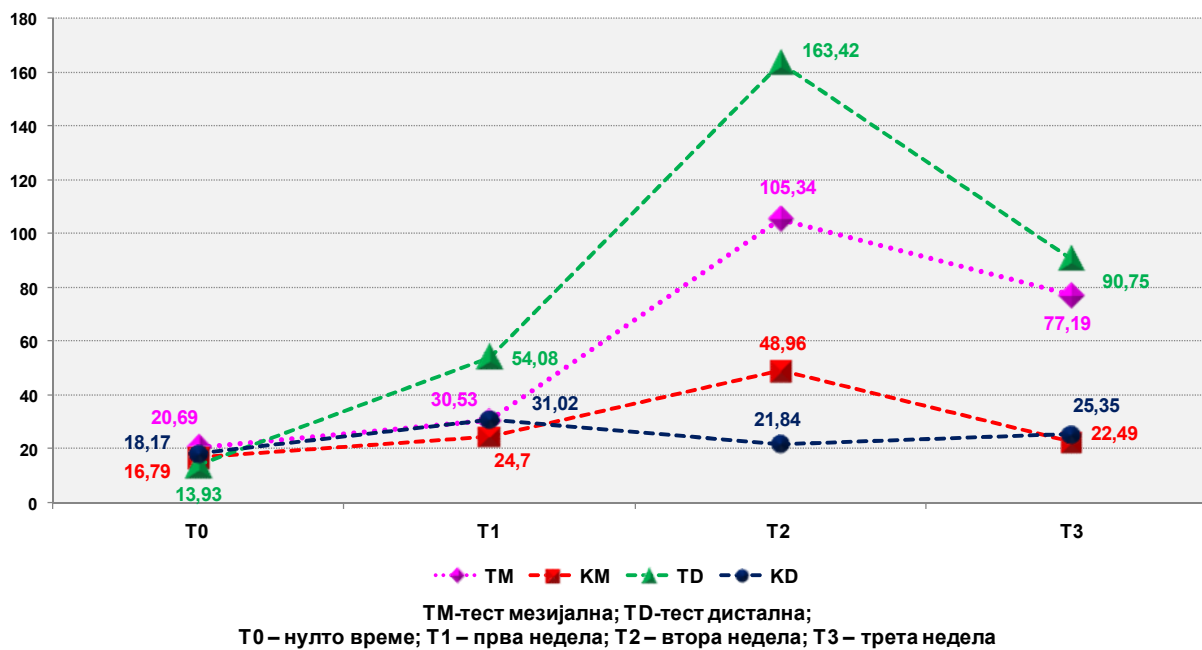
Споредбата на TD и KD за ALP во четирите времиња, за $p < 0,05$, укажа на сигнификантна разлика само во третата недела - Т3 (Mann-Whitney U Test: $Z = -2,191$; $p = 0,028$) во прилог на сигнификантно поголема активност на ензимите во TD3 споредено со KD3. За $p > 0,05$, не беше утврдена сигнификантна разлика помеѓу TD₀/KD₀, TD₁/KD₁ и TD₂/KD₂ за ALP во однос на активноста на ензимите на тест и контролниот заб (Табела 20 и График 22).

График 22. Споредба на ТМ/КМ и ТМ/KD за ALP во четири времиња



Графичкиот приказ на кривите на активноста за ALP на тест и контролниот заб поединечно (TM, KM, TM и KD) во четирите времиња на мерење (T0-T3) е прикажана на График 22a.

График 22a. Криви на активности на TM, KM, TM и KD за ALP во четири времиња на мерење



5.2.3. Анализа на ТМ, ТD, КМ и КD за АСТ во четири времиња

Во овој дел од истражувањето направена е споредба на вредностите на ТМ, ТD, КМ и КD за АСТ во четирите времиња на мерење Т₀-Т₃.

5.2.3.1. Анализа на ТМ за АСТ во четири времиња

Направена е анализа на измерените вредности на ТМ за АСТ во секое од четирите времиња на мерење (Т₀- Т₃).

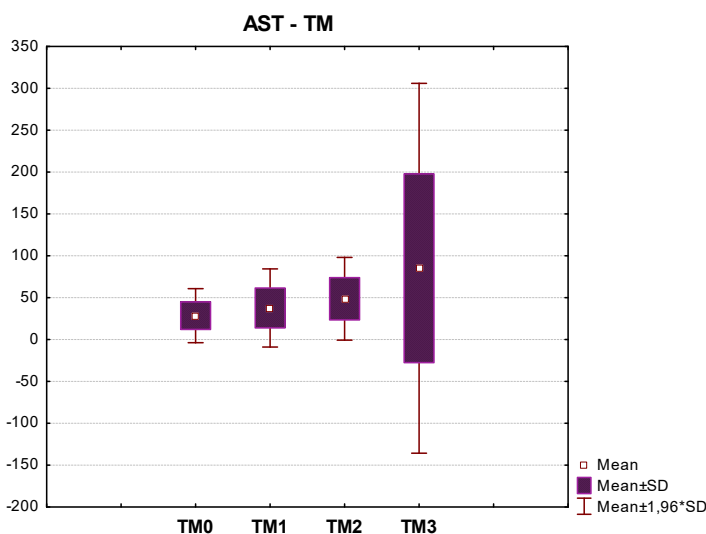
Табела 21. Анализа на примерокот според ТМ¹ за АСТ во четири времиња

AST-TM	Број (N)	Просек (Mean)	Стандардна девијација (Std. Dev.)	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
Friedman Test: N=20; Chi-Square=7,140; df=3; p=0,068								
TM - T ₀	20	28,51	16,45	3,33	76,83	17,87	27,99	38,45
TM - T ₁	20	37,74	23,80	16,17	120,32	24,34	31,49	42,70
TM - T ₂	20	48,69	25,21	9,67	108,49	28,91	49,66	59,04
TM - T ₃	20	85,15	112,68	19,33	519,78	34,08	48,99	67,24

*сигнификантно за $p < 0,05$

¹ТМ-тест мезијална; Т₀ – нулто време; Т₁ – прва недела; Т₂ – втора недела; Т₃ – трета недела

Согледано беше дека просечните вредности на ТМ за АСТ изнесуваа консеквентно: $28,5 \pm 16,4$ за Т₀ vs. $37,7 \pm 23,8$ за Т₁ vs. $48,7 \pm 25,2$ за Т₂ vs. $85,1 \pm 112,7$ за Т₃. Кај 50% од испитаниците, ТМ за АСТ беше: а) $>31,5$ во Т₁ со мин/мах $16,2/120,3$; б) $>49,7$ во Т₂ со мин/мах $9,7/108,5$; и в) $>48,9$ во Т₃ со мин/мах

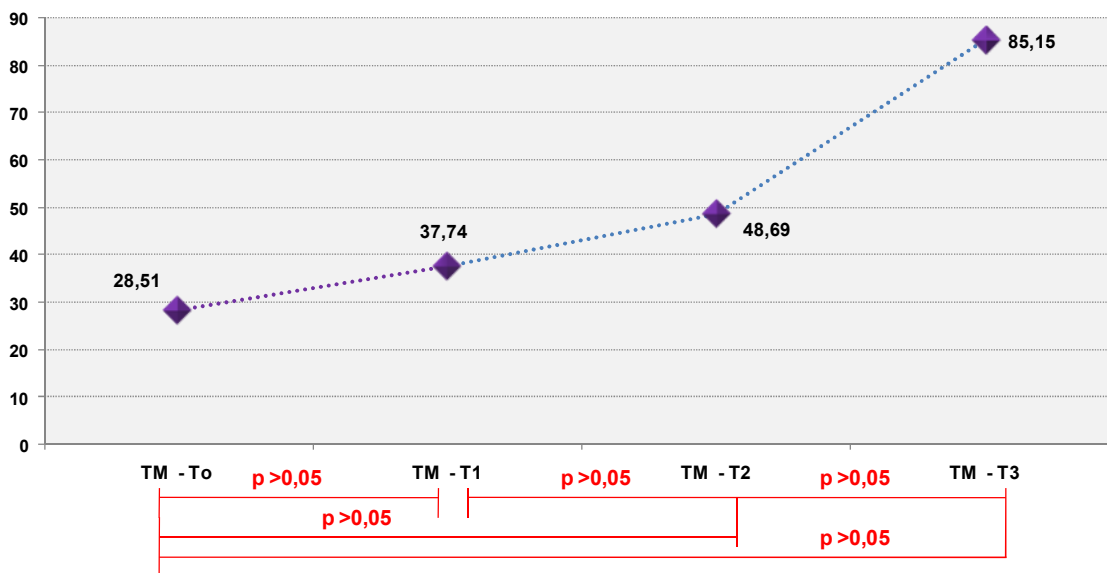


$19,3/519,8$ (Табела 21 и График 23). Најниската просечна вредност на ТМ за АСТ беше во Т₀ (нулто време), а највисоката (peak activity) во Т₃ следена со консеквентно намалување на вредностите во Т₂ и Т₁.

График 23. Анализа на ТМ за АСТ во четири времиња

Согласно Табела 19, за $p > 0,05$, анализата не укажа на сигнификантна разлика меѓу вредностите на ТМ за АСТ во четирите времиња на мерење (Т₀-Т₃) за Friedman Test: N=20; Chi-Square=7,140; df=3; p=0,068 (Табела 21 и График 24).

График 24. Споредба на просечни вредности на ТМ за АСТ во четирите времиња



ТМ-тест мезијална; Т₀ – нулто време; Т₁ – прва недела; Т₂ – втора недела; Т₃ – трета недела

Процентуалната промена на просечна вредност на ТМ за АСТ во однос на Т₀ укажа: а) ↑9,2% кај ТМ-Т₁; б) ↑20,2% кај ТМ-Т₂; и в) ↑56,6% кај ТМ-Т₃ (Табела 22).

За утврдување темпо на промена на ТМ за АСТ во четирите времиња беше користена постојана база, и подвижна база (Табела 22). При анализа темпо на промена на ТМ за АСТ во однос на Т₀ (како постојана база), утврдено беше темпо на пораст за: а) ↑32,4% кај ТМ-Т₁; б) ↑70,6% кај ТМ-Т₂; и в) ↑198,7% кај ТМ-Т₃.

При анализа на темпото на промена со подвижна база, каде секое претходно мерење на ТМ за АСТ беше сметано како база за наредното, утврден беше темпо на: а) ↑32,4% кај ТМ-Т₁ во однос на ТМ-Т₀; б) ↑29% кај ТМ-Т₂ во однос на ТМ-Т₁; и в) ↑ 74,9% кај ТМ-Т₃ во однос на ТМ-Т₂ (Табела 22).

Табела 22. Анализа на промена на просечна вредност на ТМ¹ за АСТ (процентна промена, темпо со постојана база и темпо со подвижна база)

ТМ во четири времиња	Промена на просечна вредност на ТМ за АСТ		
	Процентна промена (прва-То)	Темпо на промена со постојана база (прва-То)	Темпо на промена со подвижна база (секоја претходна)
ТМ - То	=	=	=
ТМ - Т1	↑ 9,2%	↑ 32,4%	↑ 32,4%
ТМ - Т2	↑ 20,2%	↑ 70,8%	↑ 29,0%
ТМ - Т3	↑ 56,6%	↑ 198,7%	↑ 74,9%

¹ТМ-тест мезијална; То – нулто време; Т1 – прва недела; Т2 – втора недела; Т3 – трета недела

5.2.3.2. Анализа на TD за АСТ во четири времиња

Анализата на измерените вредности на TD за АСТ во секое од четирите времиња на мерење (То- Т3) укажа дека тие изнесуваат консеквентно: 38,5±33,7 за То vs. 57,5±77,5 за Т1 vs. 63,6±62,2 за Т2 vs. 86,0±133,6 за Т3. Најниската просечна вредност на TD за АСТ беше во То (нулто време), а највисоката во Т3 (трета недела) следена со Т2 (втора недела) и Т1 (прва недела) (Табела 23 и График 23). Кај 50% од испитаниците, TD за АСТ беше: а) >37,8 во Т1 со мин/мах 15,7/364,8; б) >46,6 во Т2 со мин/мах 22,5/301,1; и в) >43,2 во Т3 со мин/мах 9,2/569,8.

Табела 23. Анализа на примерокот според TD¹ за АСТ во четири времиња

AST -TD	Број (N)	Просек (Mean)	Стандардна девијација (Std. Dev.)	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
Friedman Test: N=20; Chi-Square=9,960; df=3; p=0,019*								
TD - То	20	38,49	33,75	11,33	169,32	25,41	29,58	41,20
TD - Т1	20	57,47	77,46	15,67	364,80	24,29	37,83	47,37
TD - Т2	20	63,63	62,19	22,50	301,14	35,54	46,58	59,49
TD - Т3	20	86,00	133,59	9,17	569,78	29,58	43,25	76,66

¹ТМ-тест дистална; То – нулто време; Т1 – прва недела; Т2 – втора недела; Т3 – трета недела

*сигнификантно за p<0,05

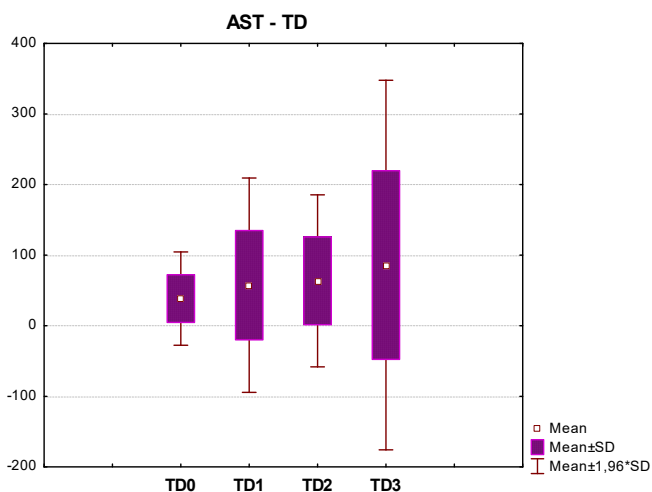
Најниската просечна вредност на TD за АСТ беше во То (нулто време), а највисоката (peak activity) во Т3 следена со намалување на вредностите последователно во Т2 и Т1. Процентуалната промена на просечна вредност на TD за АСТ во однос на То укажа: а) ↑19% кај ТМ-Т1; б) ↑25,1% кај ТМ-Т2; и в) ↑47,5% кај ТМ-Т3 (Табела 23).

Табела 24. Анализа на промена на просечна вредност на TD¹ за AST (процентна промена, темпо со постојана база и темпо со подвижна база)

TD во четири времиња	Промена на просечна вредност на TD за AST		
	Процентна промена (прва-To)	Темпо на промена со постојана база (прва-To)	Темпо на промена со подвижна база (секоја претходна)
TD - To	=	=	=
TD - T1	↑ 19,0%	↑ 49,3%	↑ 49,3%
TD - T2	↑ 25,1%	↑ 65,3%	↑ 10,7%
TD - T3	↑ 47,5%	↑ 123,4%	↑ 35,1%

¹TM-тест дистална; To – нулто време; T1 – прва недела; T2 – втора недела; T3 – трета недела

За утврдување на темпото на промена на TD за AST во четирите времиња беше користена постојана база и подвижна база (Табела 24). При анализа на темпото на промена на TD за AST во однос на To (како постојана база), утврдено беше темпо на пораст за: а) ↑19% кај TD-T1; б) ↑25,1% кај TD-T2; и в) ↑47,55% кај TD-T3. При анализа на темпото на промена во однос на подвижна база, каде секое претходно мерење на TD за AST беше сметано како база за наредното, утврдено беше: а) темпо на пораст од ↑49,3% кај TD-T1 во однос на TD-To; б) ↑10,7% кај TD-T2 во однос на TD-T1; и в) ↑35,1% кај TD-T3 во однос на TD-T2.



За $p < 0,05$, анализата укажа на сигнификантна разлика меѓу вредностите на TD за AST во четирите времиња на мерење за Friedman Test: $N=20$; Chi-Square=9,960; $df=3$; $p=0,019$ (Табела 24 и График 25)

График 25. Анализа на TD за AST во четири времиња

Дополнително беше аплицирана Post Hoc Test анализа за да се утврди на што се должи сигнификантноста во разликите меѓу вредностите на TD за AST во четирите времиња на мерење. Анализирани беа разликите меѓу вредностите на TD за AST во шест комбинации (TD1-TD0; TD2-TD0; TD3-TD0; TD2-TD1; TD3-TD1; TD3-TD2) преку тестирање со Wilcoxon signed rank test. Со цел за избегнување на

Тип 1 грешка, согласно корекцијата со Bonferroni, за толкувањето на добиените резултати, прифатено беше ниво на сигнификантност од $p < 0,01$ (Табела 25).

Табела 25. Wilcoxon signed rank test на TD¹ за AST во шест временски комбинации

Wilcoxon Signed Ranks Test	TD1 - TD0	TD2 - TD0	TD3 - TD0	TD2 - TD1	TD3 - TD1	TD3 - TD2
Z	(0,952) ^b	(2,577) ^b	(1,941) ^b	(1,792) ^b	(1,307) ^b	(0,485) ^c
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,341	0,002*	0,009*	0,073	0,191	0,627

* согласно корекција со Bonferroni сигнификантно за $p < 0,01$

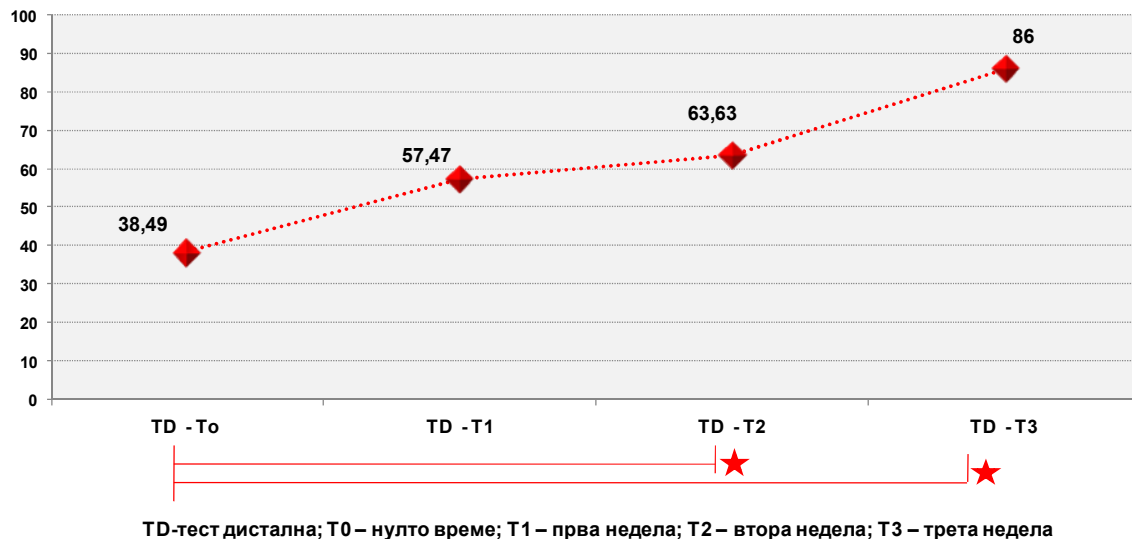
b. базирано на позитивни рангови

c. базирано на негативни рангови

¹TD-тест дистална;

Според Wilcoxon signed rank test, за $p > 0,01$, анализата не укажа на сигнификантна разлика во вредноста за AST во четири од испитуваните комбинации. Во две од тестираните комбинации со Wilcoxon signed rank test, за $p < 0,01$, беше согледана сигнификантна разлика во вредноста на AST и тоа за: а) TD2-TD0 за $Z=2,577$; $p=0,002$ во прилог на повисока вредност во TD2; и а) TD3-TD0 за $Z=1,941$; $p=0,009$ во прилог на повисока вредност во TD3; (Табела 25 и График 26).

График 26. Споредба на просечни вредности на TD за AST во четирите времиња



5.2.3.3. Споредба на TM и TD за AST во четири времиња

Со оглед неправилната дистрибуција на фреквенциите на испитуваните параметри, направена е дополнителна анализа за утврдување на евентуалната сигнификантност на разликата помеѓу вредностите на TM и TD за AST поединечно во секое од четирите времиња на мерење (T₀- T₃).

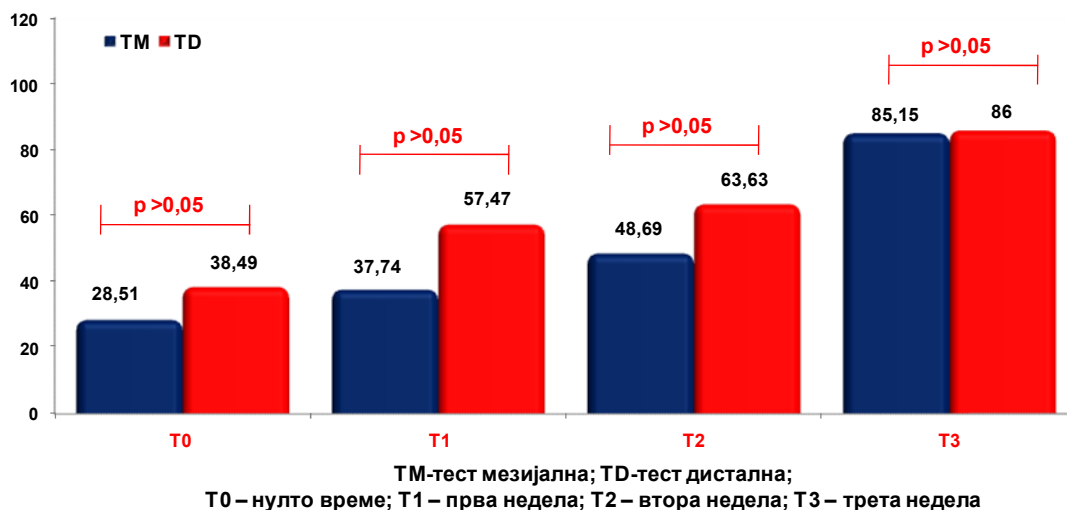
Табела 26. Споредба на TM¹ и TD² за AST во четири времиња на мерење

Mann-Whitney U Test	TM ₀ – TD ₀	TM ₁ – TD ₁	TM ₂ – TD ₂	TM ₃ – TD ₃
Mann-Whitney U	168,50	167,50	182,00	185,00
Z	(0,8521)	(0,8791)	(0,4869)	0,4057
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,3942	0,3793	0,6263	0,6849

*сигнификантно за p<0,05 ¹TM-тест мезијална; ²TD-тест дистална;
T₀ – нулто време; T₁ – прва недела; T₂ – втора недела; T₃ – трета недела

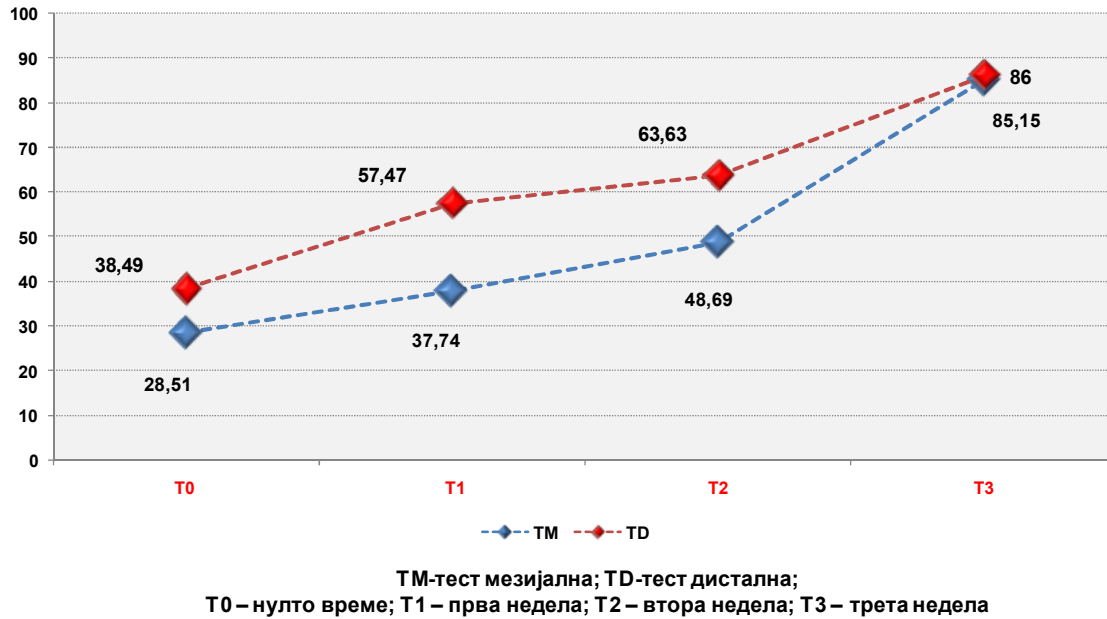
Анализата укажа дека, за p>0,05, нема статистички сигнификантна разлика помеѓу вредностите TM и TD за AST во ни едно од испитуваните времиња за консеквентно: TM₀/TD₀ (Mann-Whitney U Test: Z=0,8521; p=0,3942) vs. TM₁/TD₁ (Mann-Whitney U Test: Z=-0,8791; p=0,3793) vs. TM₂/TD₂ (Mann-Whitney U Test: Z=-0,4869; p=0,6263) vs. TM₃/TD₃ (Mann-Whitney U Test: Z=0,4057; p=0,6849) (Табела 26 и График 27). Вредностите TD споредено со вредностите TM за AST беа несигнификантно повисоки од T₀ - T₃, со несигнификантно поголема крива на активност на дисталната страна во споредба со мезијалната.

График 27. Споредба на TM и TD за AST во четири времиња на мерење



Графичкиот приказ на ова кривите на активности TM и TD за AST во четирите времиња на мерење е прикажана на График 27а.

График 27а. Криви на активности на TM и TD за AST во четири времиња на мерење



5.2.3.4. Анализа на КМ и КД за АСТ во четири времиња

Дополнително, направена беше анализа на измерените вредности на КМ и КД за АСТ во секое од четирите времиња на мерење (Т₀-Т₃). Согледано беше дека просечните вредности КМ и КД за АСТ изнесуваа: а) 28,2±14,8 vs. 26,7±14,9 за Т₀; б) 41,4±19,2 vs. 34,5±13,1 за Т₁; в) 35,7±23,7 vs. 43,8±35,7 за Т₂; и г) 28,8±12,9 vs. 38,8±23,4 за Т₃.

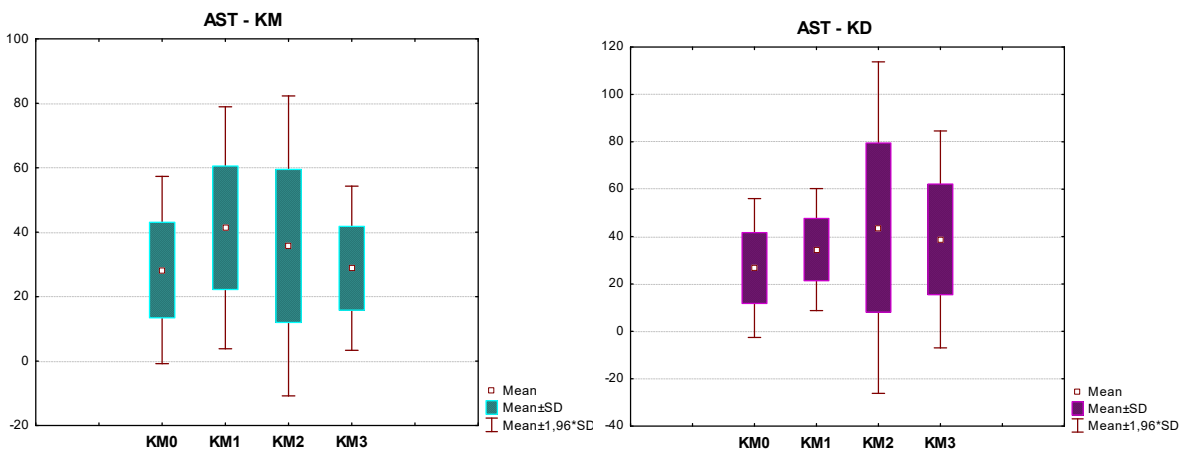
Табела 27. Анализа на КМ и КД за АСТ во четири времиња

AST	Број (N)	Просек (Mean)	Стандардна девијација (Std. Dev.)	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
AST KM¹ - Friedman Test: N=20; Chi-Square=6,773; df=3; p=0,080								
КМ - Т ₀	20	28,25	14,83	9,33	58,83	14,37	24,33	40,32
КМ - Т ₁	20	41,37	19,16	12,17	91,49	29,16	39,08	51,86
КМ - Т ₂	20	35,75	23,75	9,00	111,66	21,08	28,83	42,16
КМ - Т ₃	20	28,81	12,99	12,67	65,49	20,33	26,08	36,58
AST KD² - Friedman Test: N=20; Chi-Square=4,380; df=3; p=0,223								
КД - Т ₀	20	26,73	14,96	2,83	66,66	17,99	23,91	31,91
КД - Т ₁	20	34,52	13,14	15,00	72,99	26,62	30,83	40,83
КД - Т ₂	20	43,80	35,69	15,33	184,98	28,91	32,75	44,91
КД - Т ₃	20	38,82	23,36	12,17	115,66	24,91	31,41	44,79

*сигнификантно за p<0,05 Т₀ – нулто време; Т₁ – прва недела; Т₂ – втора недела; Т₃ – трета недела
¹КМ-контрола мезијална; ²КД-контрола дистална

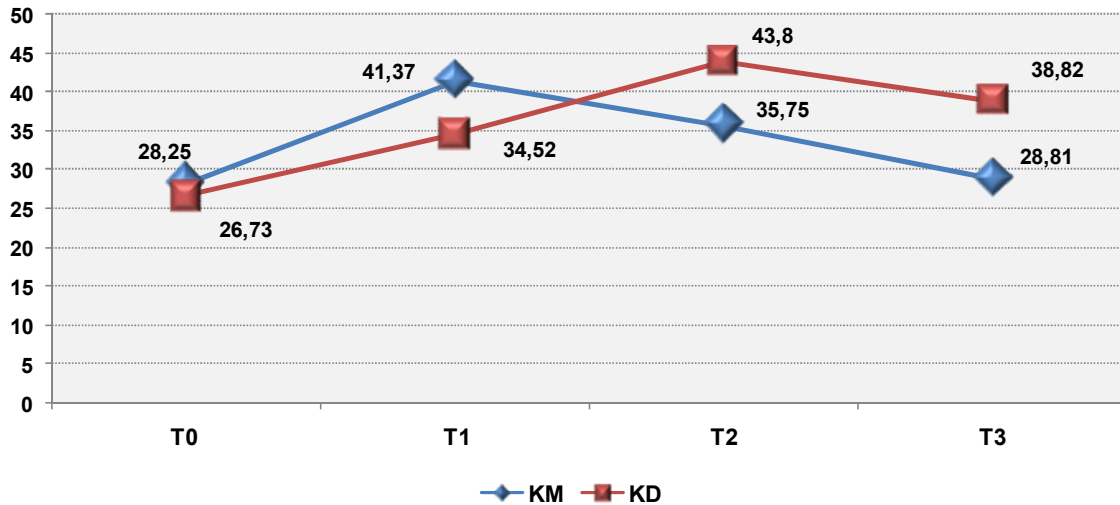
Најниската просечна вредност КМ и КД за АСТ беше во Т₀ (нулто време), а највисоките во Т₁ (прва недела) за КМ и Т₂ (втора недела) за КД (Табела 27 и График 28).

График 28. Анализа на КМ и КД за АСТ во четири времиња



Анализата укаже дека, за $p > 0,05$, нема сигнификантна разлика меѓу вредностите KM и KD за AST во четирите времиња на мерење за консеквентно Friedman Test: $N=20$; Chi-Square=6,773; $df=3$; $p=0,080$ vs. Friedman Test: $N=20$; Chi-Square=4,380; $df=3$; $p=0,223$. Споредбата KM и KD за AST во четирите времиња на мерење е дадена на График 29 подолу.

График 29. Анализа на KM и KD за AST во четири времиња на мерење



5.2.3.5. Споредба на KM и KD за AST во четири времиња

Направена беше дополнителна анализа за утврдување евентуална сигнификантност на разликата помеѓу вредностите на KM и KD за AST поединечно за секое од четирите времиња на мерење (T₀- T₃).

Табела 28. Споредба на KM¹ и KD² за AST во четири времиња на мерење

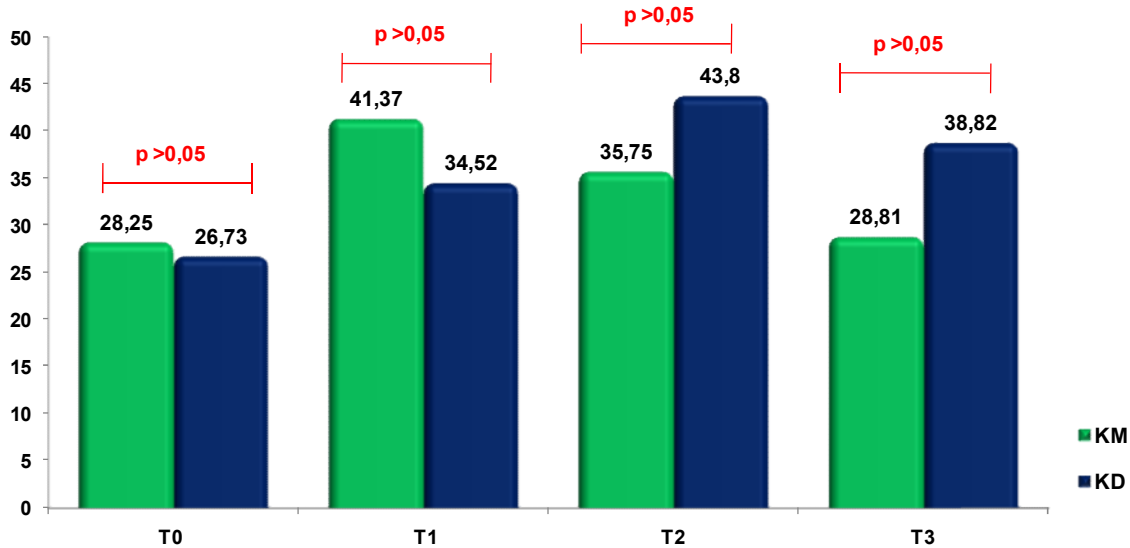
Mann-Whitney U Test	KM ₀ – KD ₀	KM ₁ – KD ₁	KM ₂ – KD ₂	KM ₃ – KD ₃
Mann-Whitney U	194,50	141,50	155,500	137,000
Z	(0,149)	(1,583)	(1,204)	(1,705)
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,882	0,113	0,228	0,088

*сигнификантно за $p < 0,05$ ¹KM-контрола мезијална; ²KD-контрола дистална;
T₀ – нулто време; T₁ – прва недела; T₂ – втора недела; T₃ – трета недела

Анализата укажа дека, за $p > 0,05$, нема статистички сигнификантна разлика помеѓу вредностите KM и KD за AST во ни едно од четирите испитувани времиња за консеквентно: KM₀/KD₀ (Mann-Whitney U Test: $Z=0,149$; $p=0,882$)

vs. KM1/KD1 (Mann-Whitney U Test: $Z=-1,583$; $p=0,113$) vs. KM2/KD2 (Mann-Whitney U Test: $Z=1,204$; $p=0,228$) vs. TM3/TD3 (Mann-Whitney U Test: $Z=1,705$; $p=0,088$) (Табела 28 и График 30).

График 30. Споредба на KM и KD за AST во четири времиња на мерење



KM-контрола мезијална; KD-контрола дистална;
T0 – нулто време; T1 – прва недела; T2 – втора недела; T3 – трета недела

5.2.3.6. Споредба на TM/ KM и TD/ KD за AST во четири времиња

Дополнително во истражувањето направена е споредба на TM/KM односно на TD/KD за ALP поединечно за четирите времиња на мерење (T0-T3).

Табела 29. Споредба на TM¹ и KM² за AST во четири времиња на мерење

Mann-Whitney U Test	KM ₀ – TM ₀	KM ₁ – TM ₁	KM ₂ – TM ₂	KM ₃ – TM ₃
Mann-Whitney U	197,000	149,500	122,500	79,000
Z	(0,081)	(1,366)	(2,097)	(3,274)
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,935	0,172	0,036*	0,001*

*сигнификантно за $p < 0,05$ ¹TM-тест мезијален ²KM-контрола мезијална
T0 – нулто време; T1 – прва недела; T2 – втора недела; T3 – трета недела

Споредбата на TM и KM за AST во четирите времиња, за $p < 0,05$, укажа на сигнификантна разлика во T2 (втора недела) и T3 (третата недела) за консеквентно Mann-Whitney U Test: $Z=2,097$; $p=0,036$ vs. Mann-Whitney U Test: $Z=3,274$; $p=0,001$) во прилог на сигнификантно поголема активност на ензимите

во ТМ2 и ТМ3 споредено со соодветно КМ2 и КМ3. За $p > 0,05$, не беше утврдена сигнификантна разлика помеѓу ТМ0/КМ0, и ТМ1/КМ1 за AST во однос на активноста на ензимите на тест и контролниот заб (Табела 29 и График 28).

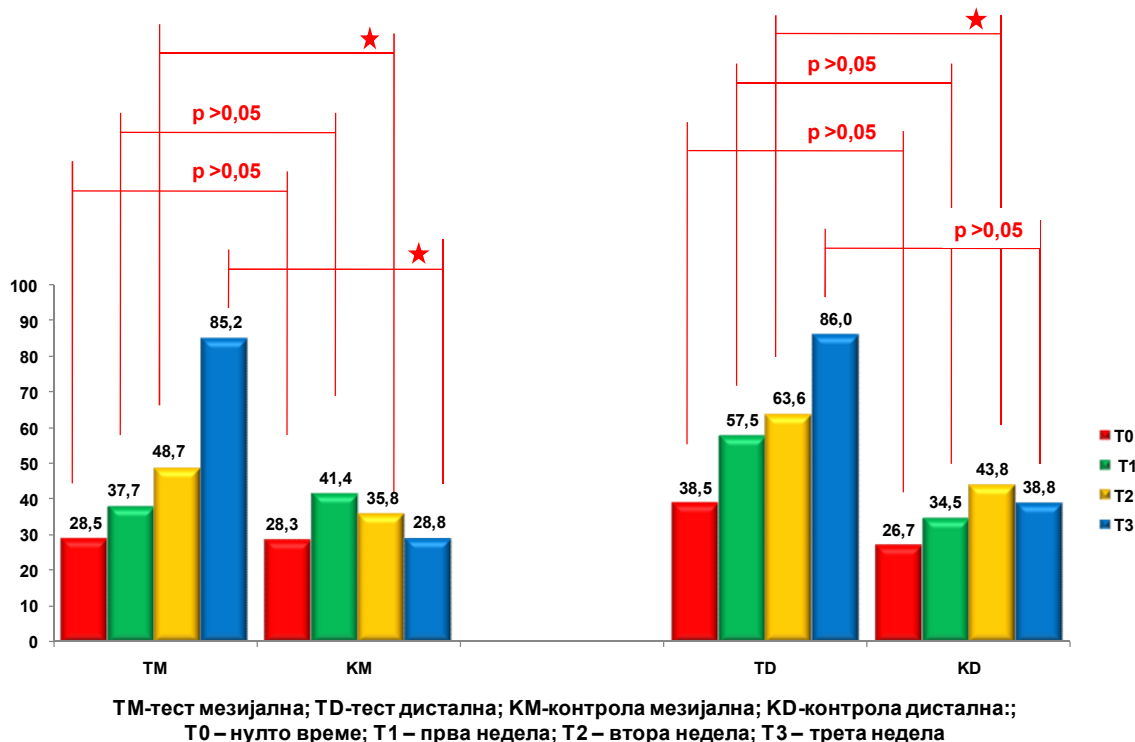
Табела 30. Споредба на TD¹ и KD² за ALP во четири времиња на мерење

Mann-Whitney U Test	KD0 – TD0	KD1 – TD1	KD2 – TD2	KD3 – TD3
U	141,50	171,00	125,50	144,00
Z	(1,583)	(0,785)	(2,016)	(1,515)
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,114	0,433	0,044*	0,130

*сигнификантно за $p < 0,05$ ¹TD-тест дистален ²KD-контрола дистална
 T0 – нулто време; T1 – прва недела; T2 – втора недела; T3 – трета недела

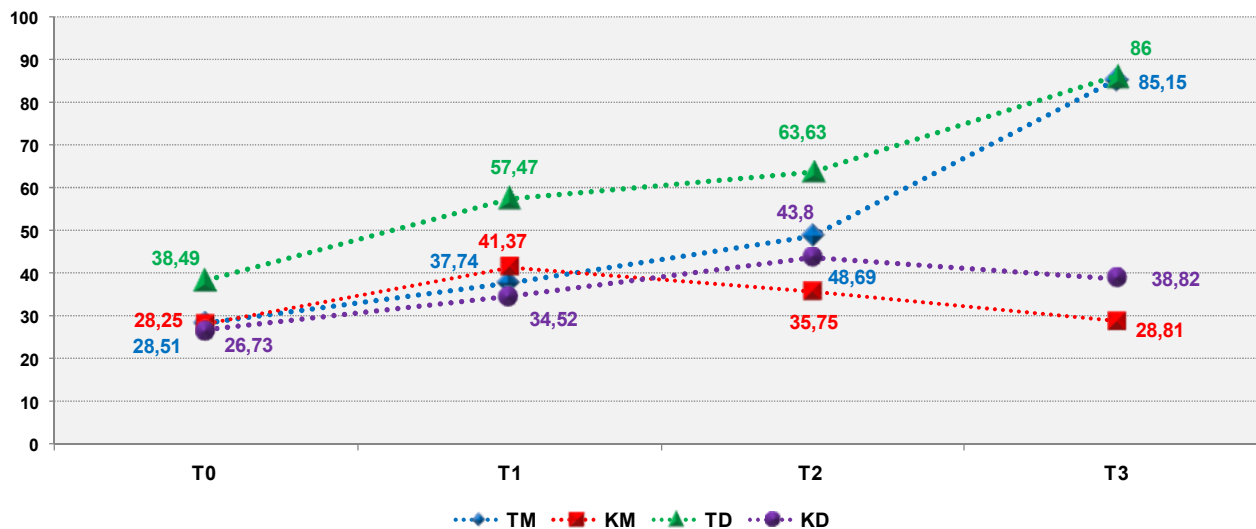
Споредбата на TD и KD за AST во четирите времиња, за $p < 0,05$, укажа на сигнификантна разлика само во втората недела – T2 (Mann-Whitney U Test: Z=-2,016; $p=0,044$) во прилог на сигнификантно поголема активност на ензимите во TD3 споредено со KD3. За $p > 0,05$, не беше утврдена сигнификантна разлика помеѓу TD0/KD0, TD1/KD1 и TD2/KD2 за AST во однос на активноста на ензимите на тест и контролниот заб (Табела 30 и График 31).

График 31. Споредба на ТМ/КМ и TD/KD за AST во четири времиња



Графичкиот приказ на кривите на активноста за AST на тест и контролниот заб поединечно (TM, KM, TM и KD) во четирите времиња на мерење (T0-T3) е прикажана на График 31a.

График 31a. Криви на активности на TM, KM, TM и KD за AST во четири времиња на мерење



TM-тест мезијална; TD-тест дистална; KM-контрола мезијална; KD-контрола дистална;;
T0 – нулто време; T1 – прва недела; T2 – втора недела; T3 – трета недела

5.2.4. Анализа на ТМ, ТD, КМ и КD за LDH во четири времиња

Во овој дел од истражувањето направена е споредба на вредностите на ТМ, ТD, КМ и КD за LDH во четирите времиња на мерење Т₀-Т₃.

5.2.4.1. Анализа на ТМ за LDH во четири времиња

Направена е анализа на измерените вредности на ТМ за LDH во секое од четирите времиња на мерење (Т₀- Т₃).

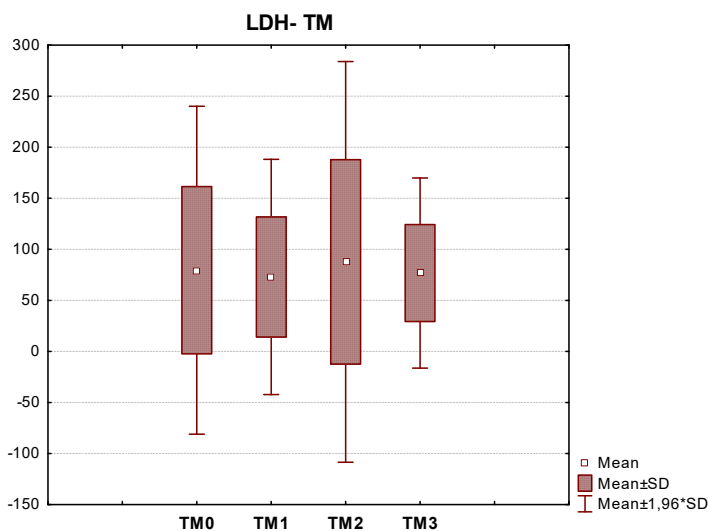
Табела 31. Анализа на примерокот според ТМ¹ за LDH во четири времиња

LDH-ТМ	Број (N)	Просек (Mean)	Стандардна девијација (Std. Dev.)	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
Friedman Test: N=20; Chi-Square=1,500; df=3; p=0,682								
ТМ - Т ₀	20	79,55	81,92	5,67	347,28	28,84	56,06	97,75
ТМ - Т ₁	20	72,94	58,77	21,45	206,02	25,19	44,93	126,59
ТМ - Т ₂	20	87,71	100,12	12,95	455,34	23,17	49,18	115,26
ТМ - Т ₃	20	76,78	47,49	12,95	208,40	40,58	71,24	101,90

*сигнификантно за $p < 0,05$

¹ТМ-тест мезијална; Т₀ – нулто време; Т₁ – прва недела; Т₂ – втора недела; Т₃ – трета недела

Согледано беше дека просечните вредности на ТМ за LDH изнесуваа консеквентно: $79,5 \pm 81,9$ за Т₀ vs. $72,9 \pm 58,8$ за Т₁ vs. $87,7 \pm 100,1$ за Т₂ vs. $87,7 \pm 112,7$ за Т₃. Кај 50% од испитаниците, ТМ за LDH беше: а) $>56,1$ во Т₁ со мин/мах 5,7/347,3; б) $>44,9$ во Т₂ со мин/мах 21,4/206,0; и в) $>48,2$ во Т₃ со мин/мах

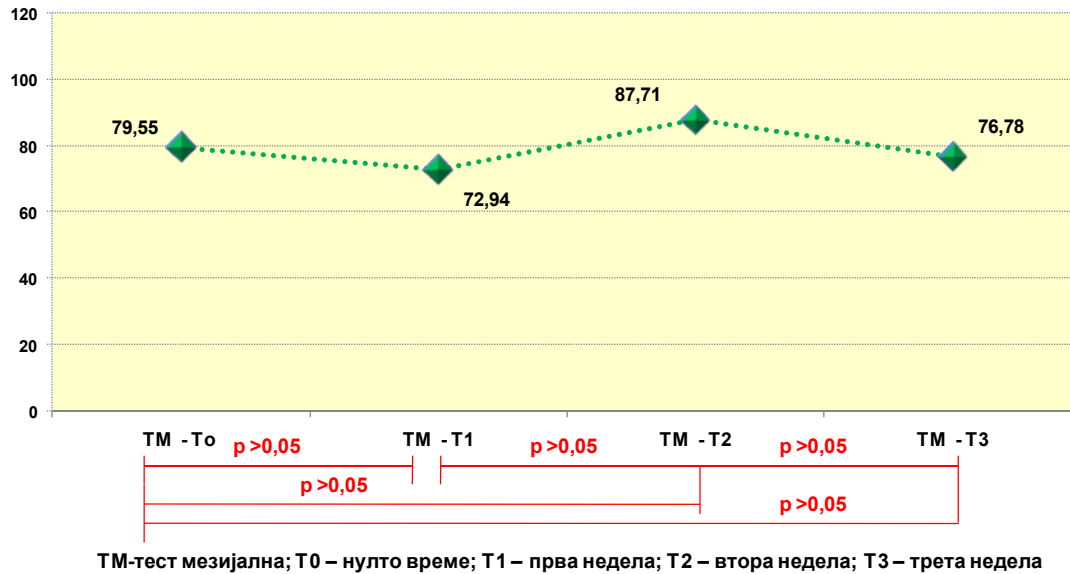


12,9/455,3 (Табела 31 и График 32). Најниската просечна вредност на ТМ за LDH беше во Т₁ (прва недела), а највисоката (peak activity) во Т₂ следена со консеквентно намалување на вредностите во Т₃ и Т₁.

График 32. Анализа на ТМ за LDH во четири времиња

Согласно Табела 31, за $p > 0,05$, анализата не укажа на сигнификантна разлика меѓу вредностите на ТМ за LDH во четирите времиња на мерење (Т₀-Т₃) за Friedman Test: N=20; Chi-Square=1,500; df=3; $p=0,682$ (Табела 21 и График 33).

График 33. Споредба на просечни вредности на ТМ за LDH во четирите времиња



Процентуалната промена на просечна вредност на ТМ за LDH во однос на Т₀ укажа: а) ↓ 6,6% кај ТМ-Т₁; б) ↑ 8,2% кај ТМ-Т₂; и в) ↑↓ 2,8% кај ТМ-Т₃ (Табела 32).

Табела 32. Анализа на промена на просечна вредност на ТМ¹ за LDH (процентна промена, темпо со постојана база и темпо со подвижна база)

ТМ во четири времиња	Промена на просечна вредност на ТМ за LDH		
	Процентна промена (прва-Т ₀)	Темпо на промена со постојана база (прва-Т ₀)	Темпо на промена со подвижна база (секоја претходна)
ТМ - Т ₀	=	=	=
ТМ - Т ₁	↓ 6,6%	↓ 8,3%	↓ 8,3%
ТМ - Т ₂	↑ 8,2%	↑ 10,2%	↑ 20,2%
ТМ - Т ₃	↓ 2,8%	↓ 3,5%	↓ 12,5%

¹ТМ-тест мезијална; Т₀ – нулто време; Т₁ – прва недела; Т₂ – втора недела; Т₃ – трета недела

За утврдување на темпото на промена на ТМ за LDH во четирите времиња беше користена постојана и подвижна база (Табела 22). При анализа на темпото на промена на ТМ за LDH во однос на Т₀ (како постојана база), утврдено беше темпо на пораст за: а) ↓ 8,3% кај ТМ-Т₁; б) ↑ 10,2% кај ТМ-Т₂; и в) ↓ 3,5% кај ТМ-Т₃. При анализа на темпото на промена со подвижна база, каде секое претходно мерење на ТМ за LDH беше сметано

како база за наредното, утврден беше темпо на: а) ↓8,3% кај ТМ-Т1 во однос на ТМ-То; б) ↑20,2% кај ТМ-Т2 во однос на ТМ-Т1; и в) ↓12,5% кај ТМ-Т3 во однос на ТМ-Т2 (Табела 32).

5.2.4.2. Анализа на TD за LDH во четири времиња

Анализата на измерените вредности на TD за LDH во секое од четирите времиња на мерење (То- Т3) укажа дека тие изнесуваат консеквентно: 64,3±79,2 за То vs. 94,2±97,1 за Т1 vs. 102,2±198,7 за Т2 vs. 88,3±68,3 за Т3.

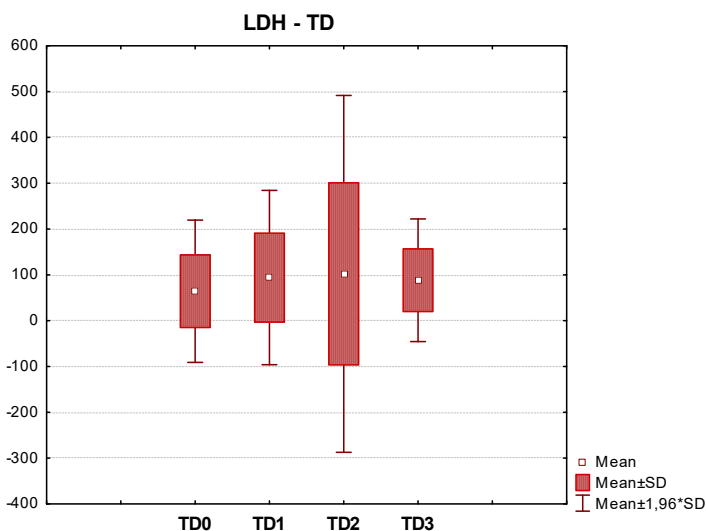
Табела 33. Анализа на примерокот според TD¹ за LDH во четири времиња

LDH - TD	Број (N)	Просек (Mean)	Стандардна девијација (Std. Dev.)	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
Friedman Test: N=20; Chi-Square=5,040; df=3; p=0,169								
TD - То	20	64,29	79,25	7,69	308,82	15,88	32,18	83,07
TD - Т1	20	94,16	97,07	6,48	305,99	26,51	44,72	169,08
TD - Т2	20	102,22	198,72	12,55	931,33	24,49	48,37	102,19
TD - Т3	20	88,32	68,28	14,98	257,42	28,94	73,66	136,80

¹TD-тест дистална; То – нулто време; Т1 – прва недела; Т2 – втора недела; Т3 – трета недела

*сигнификантно за p<0,05

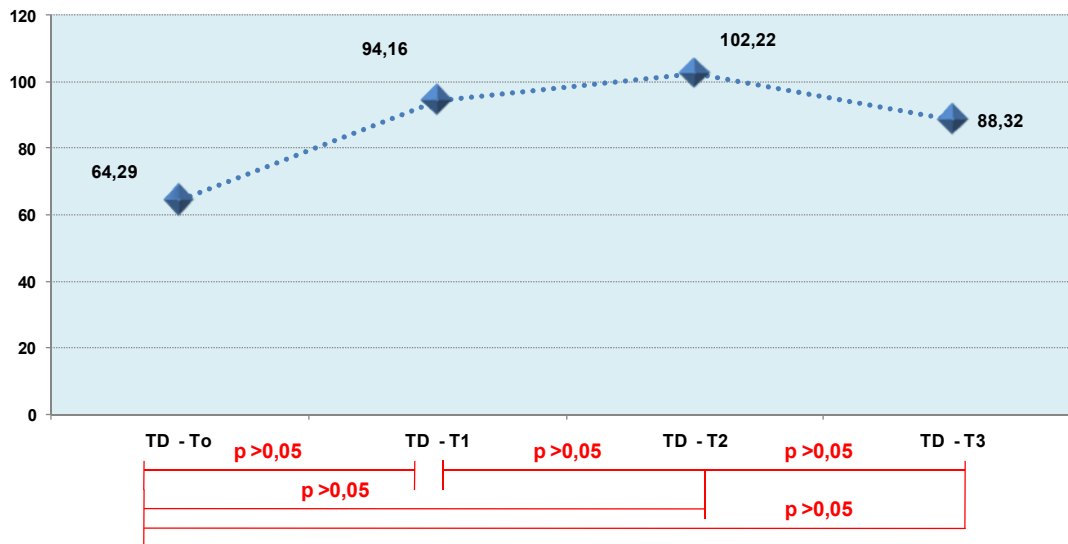
Најниската просечна вредност на TD за LDH беше во То (нулто време), а највисоката во Т3 (трета недела) следена со Т2 (втора недела) и Т1 (прва недела) (Табела 33 и График 34). Кај 50% од испитаниците, TD за LDH беше: а) >32,2 во Т1 со мин/мах 7,7/308,8; б) >44,7 во Т2 со мин/мах 6,5/305,9; и в) >48,4 во Т3 со мин/мах 12,5/931,3.



За p>0,05, анализата не укажа на сигнификантна разлика меѓу вредностите на TD за LDH во четирите времиња на мерење за Friedman Test: N=20; Chi-Square=5,040; df=3; p=0,169 (Табела 34 и График 34)

График 34. Анализа на TD за LDH во четири времиња

График 35. Просечни вредности на TD за LDH во четирите времиња



TM-тест мезијална; T₀ – нулто време; T₁ – прва недела; T₂ – втора недела; T₃ – трета недела

Најниската просечна вредност на TD за LDH беше во T₀ (нулто време), а највисоката (peak activity) во T₂ следена со намалување на вредностите последователно во T₁ и T₃. Процентуалната промена на просечна вредност на TD за LDH во однос на T₀ укажа: а) ↑29,9% кај TM-T₁; б) ↑8,8% кај TM-T₂; и в) ↑13,9% кај TM-T₃ (Табела 34).

Табела 34. Анализа на промена на просечна вредност на TD¹ за LDH (процентна промена, темпо со постојана и темпо со подвижна база)

TD во четири времиња	Промена на просечна вредност на TD за LDH		
	Процентна промена (прва-T ₀)	Темпо на промена со постојана база (прва-T ₀)	Темпо на промена со подвижна база (секоја претходна)
TD - T ₀	=	=	=
TD - T ₁	↑29,9%	↑ 46,5%	↑46,5%
TD - T ₂	↑8,8%	↑ 58,9%	↑8,6%
TD - T ₃	↑13,9%	↑ 123,4%	↓13,6%

¹TM-тест дистална; T₀ – нулто време; T₁ – прва недела; T₂ – втора недела; T₃ – трета недела

За утврдување на темпото на промена на TD за LDH во четирите времиња беше користена постојана база и подвижна база (Табела 34). При анализа на темпото на промена на TD за LDH во однос на T₀ (како постојана база), утврдено беше темпо на пораст за: а) ↑29,9% кај TD-T₁; б) ↑8,8% кај TD-T₂; и в) ↑13,9% кај TD-T₃. При анализа на темпото на промена во однос на подвижна база, каде секое претходно мерење на TD за LDH беше сметано како база за наредното, утврдено беше: а)

темпо на пораст од ↑46,5% кај TD-T1 во однос на TD-To; б) ↑58,9% кај TD-T2 во однос на TD-T1; и в) ↑123,4% кај TD-T3 во однос на TD-T2 (Табела 34).

5.2.4.3. Споредба на TM и TD за LDH во четири времиња

За испитуваните параметри, направена беше дополнителна анализа за утврдување на евентуалната сигнификантност на разликата помеѓу вредностите на TM и TD за LDH поединечно во секое од четирите времиња на мерење (T₀- T₃).

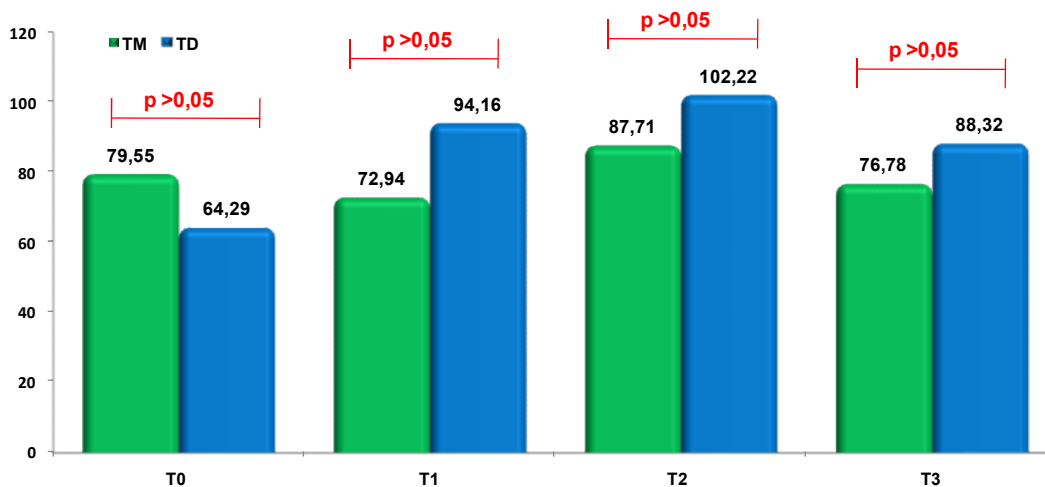
Табела 35. Споредба на TM¹ и TD² за LDH во четири времиња на мерење

Mann-Whitney U Test	TM ₀ – TD ₀	TM ₁ – TD ₁	TM ₂ – TD ₂	TM ₃ – TD ₃
Mann-Whitney U	146,00	194,50	179,50	192,50
Z	(1,461)	(0,149)	(0,555)	(0,203)
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,144	0,882	0,579	0,839

*сигнификантно за $p < 0,05$ ¹TM-тест мезијална; ²TD-тест дистална;
T₀ – нулто време; T₁ – прва недела; T₂ – втора недела; T₃ – трета недела

Анализата укажа дека, за $p > 0,05$, нема статистички сигнификантна разлика помеѓу вредностите на TM и TD за LDH во ни едно од испитуваните времиња за консеквентно: TM₀/TD₀ (Mann-Whitney U Test: Z=1,462; p=0,144) vs. TM₁/TD₁ (Mann-Whitney U Test: Z=-0,149; p=0,882) vs. TM₂/TD₂ (Mann-Whitney U Test: Z=-0,0555; p=0,579) vs. TM₃/TD₃ (Mann-Whitney U Test: Z=0,203; p=0,839) (Табела 35 и График 36).

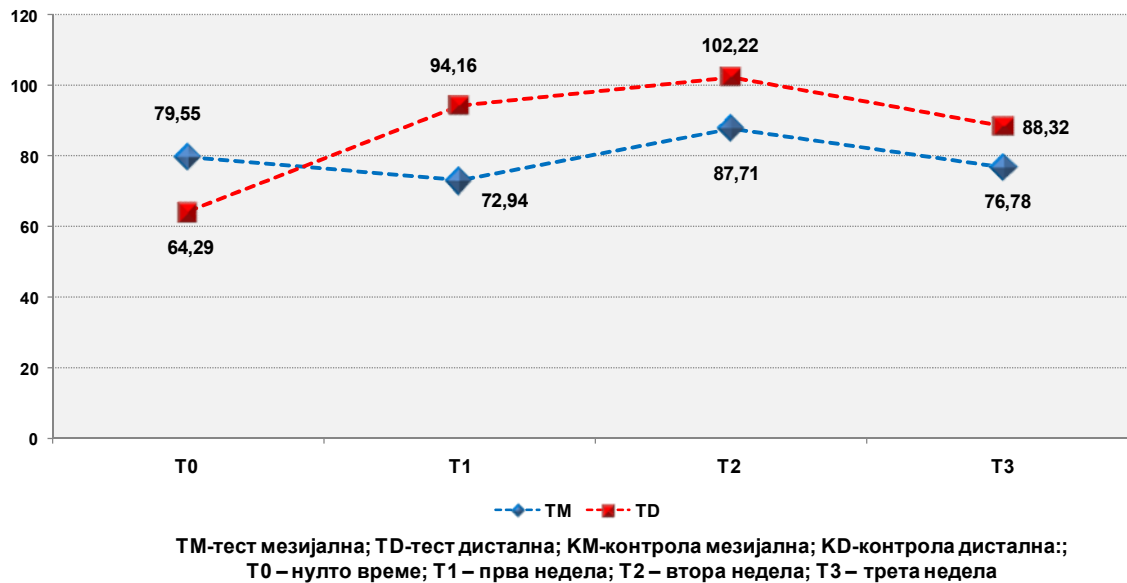
График 36. Споредба на TM и TD за LDH во четири времиња на мерење



Графичкиот приказ на ова кривите на TM-тест мезијална; TD-тест дистална; T₀ – нулто време; T₁ – прва недела; T₂ – втора недела; T₃ – трета недела

активности ТМ и ТD за LDH во четирите времиња на мерење е прикажана на График 36а.

График 36а. Криви на активности на ТМ и ТD за LDH во четири времиња на мерење



5.2.4.4. Анализа на КМ и КД за LDH во четири времиња

Дополнително, направена беше анализа на измерените вредности на КМ и КД за LDH во секое од четирите времиња на мерење (Т₀-Т₃). Согледано беше дека просечните вредности на КМ и КД за LDH изнесуваа: а) 55,3±53,6 vs. 60,6±64,7 за Т₀; б) 83,1±97,2 vs. 83,6±74,8 за Т₁; в) 78,4±86,9 vs. 84,5±165,2 за Т₂; и г) 72,3±96,8 vs. 77,8±67,2 за Т₃ (Табела 36).

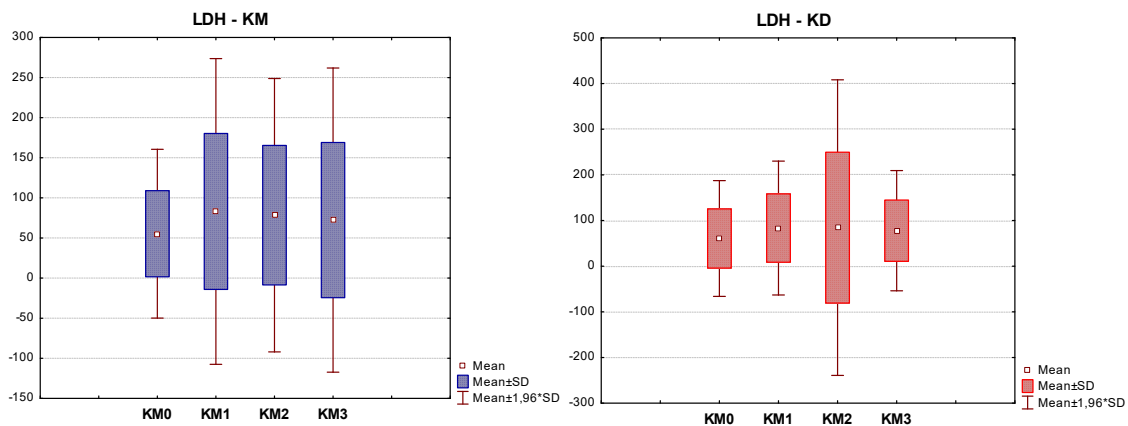
Табела 36. Анализа на КМ и КД за LDH во четири времиња

LDH	Број (N)	Просек (Mean)	Стандардна девијација (Std. Dev.)	Минимум (Min)	Максимум (Max)	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
LDH КМ¹ - Friedman Test: N=20; Chi-Square=1,318; df=3; p=0,725								
КМ - Т ₀	20	55,33	53,68	9,71	228,68	20,24	37,84	69,92
КМ - Т ₁	20	83,09	97,25	3,24	404,35	19,93	44,32	104,63
КМ - Т ₂	20	78,44	86,95	9,31	392,97	27,22	48,37	115,66
КМ - Т ₃	20	72,29	96,76	12,55	433,08	22,06	42,09	64,66
LDH КД² - Friedman Test: N=20; Chi-Square=2,246; df=3; p=0,532								
КД - Т ₀	20	60,63	64,71	4,05	215,33	14,41	34,40	96,13
КД - Т ₁	20	83,56	74,79	12,14	214,92	19,22	46,14	155,42
КД - Т ₂	20	84,53	165,19	10,93	776,72	28,33	36,62	85,09
КД - Т ₃	20	77,77	67,17	7,69	219,78	31,67	58,69	88,23

*сигнификантно за $p < 0,05$ Т₀ – нулто време; Т₁ – прва недела; Т₂ – втора недела; Т₃ – трета недела
¹КМ-контрола мезијална; ²КД-контрола дистална

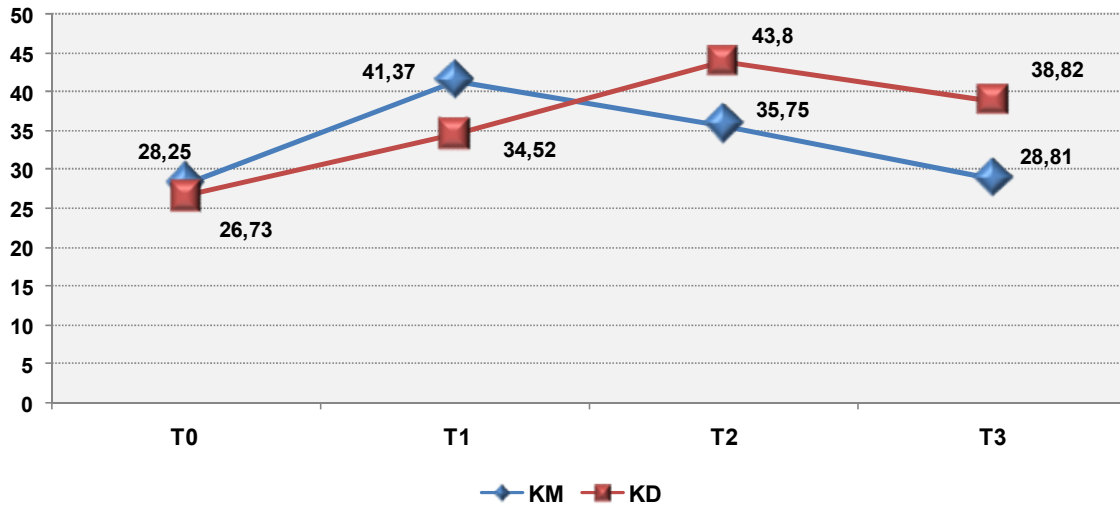
Најниската просечна вредност на на КМ и КД за LDH беше во Т₀, а највисоките во Т₁ за КМ и Т₂ (втора недела) за КД (Табела 36 и График 37).

График 37. Анализа на КМ и КД за AST во четири времиња



Анализата укажа дека, за $p > 0,05$, нема сигнификантна разлика меѓу вредностите на КМ и КД за LDH во четирите времиња на мерење за консеквентно Friedman Test: $N=20$; Chi-Square=1,318; $df=3$; $p=0,725$ vs. Friedman Test: $N=20$; Chi-Square=2,246; $df=3$; $p=0,532$. Споредбата на КМ и КД за AST во четирите времиња на мерење е дадена на График 38 подолу.

График 38. Анализа на КМ и КД за LDH во четири времиња на мерење



5.2.4.5. Споредба на КМ и КД за LDH во четири времиња

Дополнително, со цел за утврдување на евентуалната сигнификантност на разликата помеѓу вредностите на КМ и КД за LDH, направена беше споредба за секое од четирите времиња на мерење (T₀- T₃).

Табела 37. Споредба на КМ¹ и КД² за LDH во четири времиња на мерење

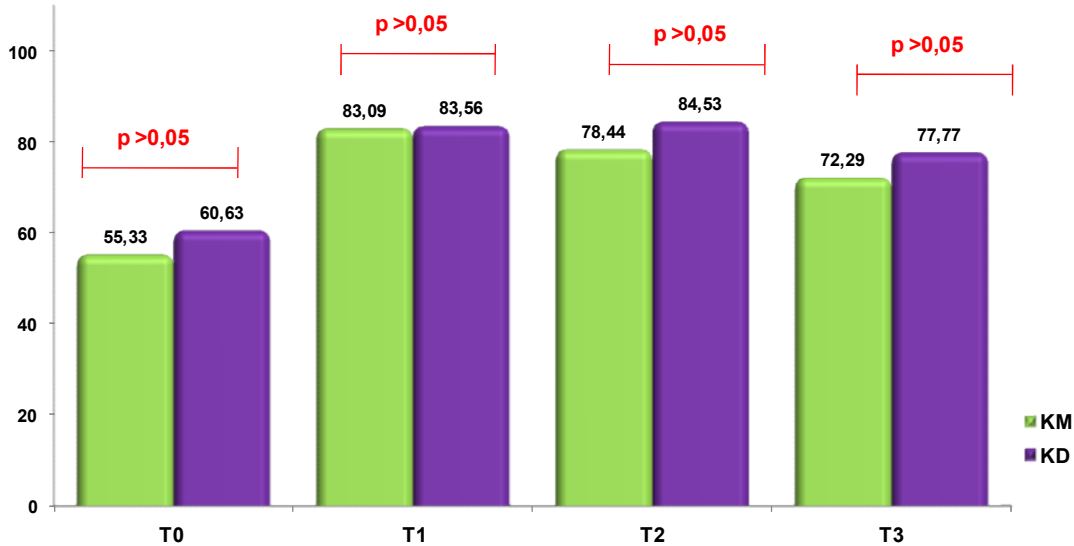
Mann-Whitney U Test	КМ ₀ – КД ₀	КМ ₁ – КД ₁	КМ ₂ – КД ₂	КМ ₃ – КД ₃
Mann-Whitney U	179,50	190,50	177,50	162,50
Z	(0,555)	(0,257)	(0,609)	(1,015)
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,579	0,797	0,543	0,310

*сигнификантно за $p < 0,05$ ¹КМ-контрола мезијална; ²КД-контрола дистална;
T₀ – нулто време; T₁ – прва недела; T₂ – втора недела; T₃ – трета недела

Анализата укажа дека, за $p > 0,05$, нема сигнификантна разлика помеѓу КМ и КД за LDH во ниедно од четирите времиња на мерење за консеквентно: КМ₀/КД₀ (Mann-Whitney U Test: $Z=-0,555$; $p=0,579$) vs. КМ₁/КД₁ (Mann-Whitney U Test: $Z=-$

0,257; $p=0,797$) vs. KM2/KD2 (Mann-Whitney U Test: $Z=-0,609$; $p=0,543$) vs. TM3/TD3 (Mann-Whitney U Test: $Z=-1,015$; $p=0,310$) (Табела 37 и График 39).

График 39. Споредба на KM и KD за LDH во четири времиња на мерење



TM-тест мезијална; TD-тест дистална;
T0 – нулто време; T1 – прва недела; T2 – втора недела; T3 – трета недела

5.2.4.6. Споредба на TM/ KM и TD/ KD за LDH во четири времиња

Дополнително во истражувањето направена беше споредба на TM/KM односно на TD/KD за LDH поединечно за четирите времиња на мерење (T0-T3) (Табела 38).

Табела 38. Споредба на TM¹ и KM² за LDH во четири времиња на мерење

Mann-Whitney U Test	KM ₀ – TM ₀	KM ₁ – TM ₁	KM ₂ – TM ₂	KM ₃ – TM ₃
Mann-Whitney U	153,50	175,50	188,00	140,50
Z	(1,258)	(0,663)	(0,325)	(1,610)
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,208	0,507	0,745	0,107

*сигнификантно за $p < 0,05$ ¹TM-тест мезијален ²KM-контрола мезијална
T0 – нулто време; T1 – прва недела; T2 – втора недела; T3 – трета недела

Анализата укажа дека добиените вредности за TM за LDH беа повисоки од оние на и KM во сите времиња на мерење со исклучок на T2. Сепак за $p > 0,05$, не беше утврдена сигнификантност при споредбата на TM и KM за LDH во ни едно од четирите времиња (T0-T3) за консеквентно Mann-Whitney U Test: $Z=1,258$;

p=0,208 vs. Mann-Whitney U Test: Z=0,663; p=0,507) vs. Mann-Whitney U Test: Z=0,325; p=0,745 vs. Mann-Whitney U Test: Z=1,610; p=0,107) (Табела 38).

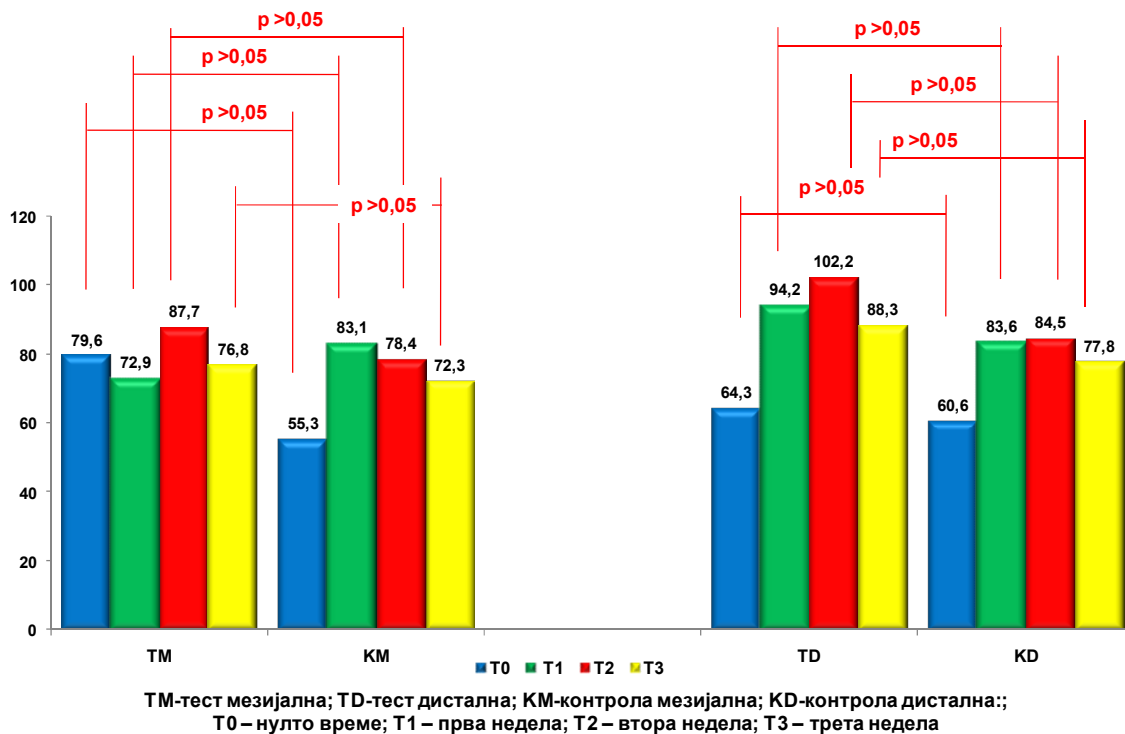
Табела 39. Споредба на TD¹ и KD² за LDH во четири времиња на мерење

Mann-Whitney U Test	KD ₀ – TD ₀	KD ₁ – TD ₁	KD ₂ – TD ₂	KD ₃ – TD ₃
U	197,000	186,000	167,500	180,000
Z	(0,081)	(0,379)	(0,880)	(0,541)
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,935	0,705	0,379	0,588

*сигнификантно за p<0,05 ¹TD-тест дистален ²KD-контрола дистална
T₀ – нулто време; T₁ – прва недела; T₂ – втора недела; T₃ – трета недела

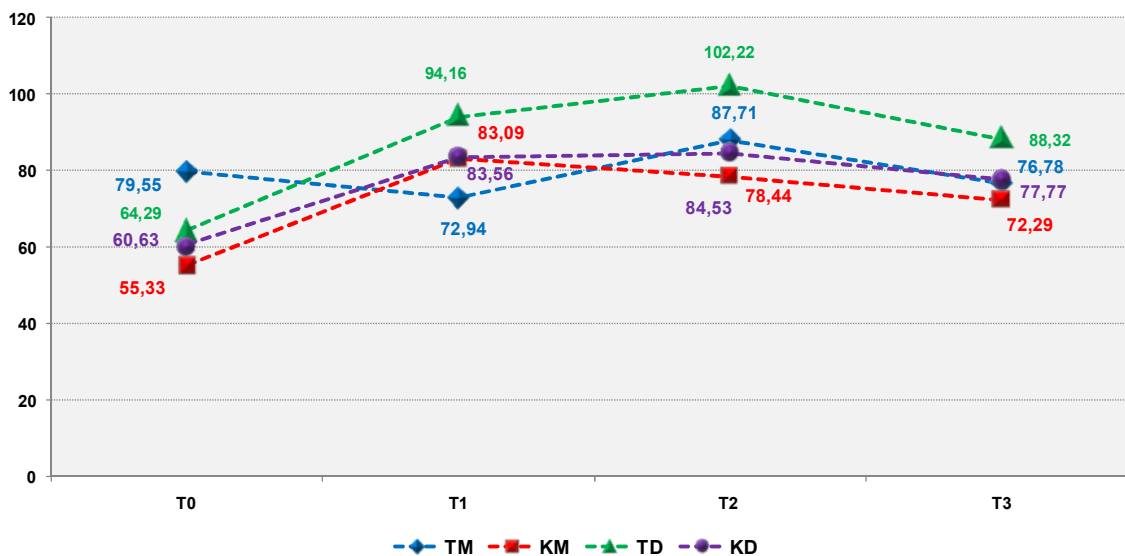
Во сите четири времиња на мерење, TD за LDH имаше поголеми вредности споредено со KD за LDH, иако за p>0,05, не беше утврдена сигнификантна разлика во ни една од испитуваните комбинации (TD₀/KD₀, TD₁/KD₁, TD₂/KD₂ и TD₃/KD₃ за LDH (Табела 39 и График 40).

График 40. Споредба на TM/КМ и TM/KD за LDH во четири времиња



Графичкиот приказ на кривите на активноста за LDH на тест и контролниот заб поединечно (TM, KM, TM и KD) во четирите времиња на мерење (T0-T3) е прикажана на График 40a.

График 40a. Криви на активности на TM, KM, TM и KD за LDH во четирите времиња на мерење



TM-тест мезијална; TD-тест дистална; KM-контрола мезијална; KD-контрола дистална;;
T0 – нулто време; T1 – прва недела; T2 – втора недела; T3 – трета недела

5.2.5. Споредба на TD за AST и TD за LDH во четирите времиња

Во овој дел од истражувањето направена е споредба на вредностите на TD за AST односно TD за LDH во четирите времиња на мерење (Табела 40 и График 41).

Табела 40. Споредба на TD¹ за AST и LDH во четирите времиња на мерење

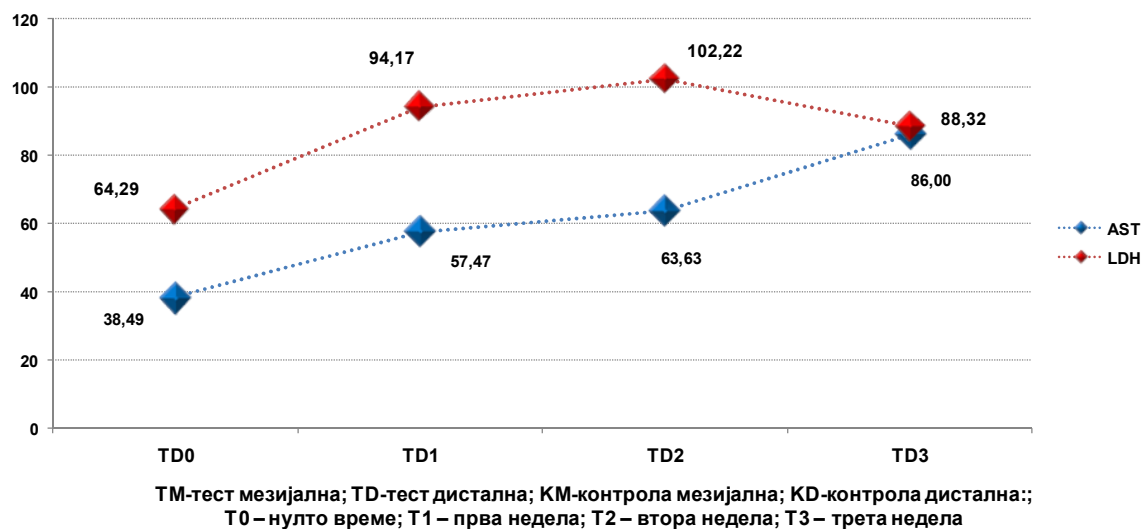
Mann-Whitney U Test	TD0 AST- LDH	TD1 AST- LDH	TD2 AST- LDH	TD3 AST- LDH
Mann-Whitney U	197,00	165,00	187,00	156,00
Z	(0,0811)	(0,9467)	(0,3516)	(1,1902)
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,9353	0,3438	0,7251	0,2339

*сигнификантно за $p < 0,05$ ¹TD-тест дистален
T0 – нулто време; T1 – прва недела; T2 – втора недела; T3 – трета недела

Споредбата укажа дека во сите четирите времиња на мерење (График 41) TD за LDH имаше повисоки вредности споредено со TD за AST. Сепак за $p > 0,05$, не беше утврдена сигнификантност во оваа разлика за консеквентно Mann-Whitney U Test: $Z=0,0811$; $p=0,9353$ vs. Mann-Whitney U Test: $Z=0,9467$; $p=0,3438$) vs. Mann-

Whitney U Test: $Z=0,3516$; $p=0,7251$ vs. Mann-Whitney U Test: $Z=1,1902$; $p=0,2339$)
(Табела 40).

График 41. Споредба на TD за AST и LDH во четири времиња на мерење



6.ДИСКУСИЈА

Коскената ремоделација предизвикана како последица од ортодонтското придвижување на забите е опишана како континуиран феномен кој води до коскена ресорпција на страната на компресија и коскена апозиција на страната на тензија. Како и да е, одредени експериментални студии на глвци покажале дека тој процес не е така едноставен, всушност процесите на ресорпција и апозиција се случуваат паралелно на страните на тензија и компресија на алвеоларната коска ⁸⁹

Поконкретно, докажано е дека во раните фази на коскена ремоделација, коскена ресорпција не се одвива еднакво и балансирано како коскената депозиција, но подоцна овие процеси се синхронизираат.

АЛП е сигнификантен биомаркер за коскена апозиција. Него го лачат остеобластите. Заклучено е дека ремоделацијата на коската може да продолжи и после престанок на дејството на сила ⁸⁸. Овие случувања играат посебна улога во нашата студија и ги објаснува големите варијации во базалните нивоа на АЛП пред активација на дистализирачката сила на контролната и испитуваната страна (То).

Резултатите од нашето истражување укажаа дека при првото мерење на активноста на овој ензим, во суштина не е вистинката базална активност на АЛП затоа што активноста на коскената АЛП останала и по предходните движења при нивелацијата на забите, иако тие се во мирување. Во литературата има различни објаснувања за варијабилната пре-третманска активност на АЛП. Неоспорен факт е дека наодите во оваа фаза се пропорционални на должината на фазата на нивелација, која кај секој пациент е различна. Имено, колку фазата на нивелација е подолга ензимските вредности се пониски. Во суштина, времето влијае врз стабилизација на овие ензимски вредности ⁶⁰. Со други зборови кажано, кај пациенти кај кои нивелацијата се движела брзо, базалното ниво на ензимот бил покачен. Оттука, кај канините кај кои постои базално покачено ниво на АЛП и движењата на дистализација се пофреквентни затоа што, коската, сеуште е во динамична фаза. Високо ниво на ензимска активност означува поголема целуларна активност.

При анализа на резултатите кои се однесуваат на АЛТ во оваа студија добиени се податоци за негово варирање на различни страни од оптеретениот заб. По апликација на зададената сила евидентни се покачени вредности на испитуваниот ензим на мезијалната и дисталната страна, т.е на обете испитувани

страни (тензија и компресија). Елевацијата се движи скоро идентично на двете страни, од најниската вредност измерена во T_0 , се покачува во T_1 , но без сигнификантност, потоа достигнува највисока вредност, која е статистички сигнификантна во T_2 (14-от ден од апликацијата), потоа благо се намалува во T_3 , но несигнификантно во однос на T_2 , задржувајќи сеуште сигнификантност во однос на почетните вредности од T_0 . Ова покачување уште во 7-от ден укажува на рана активација на остеобластите кои не чекаат на ресорптивните процеси туку паралелно почнуваат. Според поедини автори⁸⁸⁻⁹⁰ АЛП активноста се покачува после 7-от ден, откако ќе започнат процесите на коскена депозиција.

Според литературата која е во позадина, а која се однесува на објаснување за коскениот турновер потешко е да се дискутираат покачените вредности на АЛП во 7-от ден бидејќи оваа временска рамка е прерана за остеобластна активност. Но, постои претпоставка дека тајмингот на коскениот циклус може да е под влијание на големината на силата која е зададена, односно дека кетенот предизвикува голем акутен стрес кој веднаш ги активира⁸⁹. Овие добиени наоди се потврдуваат со податоци од студијата на Wahab⁶⁹ за АЛП, каде е споредувано нивото на ензимот при апликација на различно дозирани сили (100 и 150 gr.). Авторите заклучиле дека групата третирана со повисока сила има пик на активност кој се пројавува порано т.е. 7-иот ден во споредба со помалата сила (14-от и 21-от ден).

Највисока вредност во 14-от ден е потврдена од уште неколку други автори кои спровеле слични истражувања за конкретно испитуваниот ензим, но со слични дизајни на нашата студија. Perinetti⁶⁰ во 2002, и Batra¹⁸ во 2006, испитувајќи ја активноста на АЛП, евидентирале значителна активација на остеобластите на тензионата и компресивната страна на забот кој се дистализирал. Исто така регистрирана е тенденција на благо опаѓање на добиените вредности 21-от ден. Овие наоди се потврдени од истите автори каде активноста на АЛП на дисталните односно компресивните страни на тестираниот канин покажаа неочекувани вредности бидејќи поткрепувајќи ја хипотезата на оваа студија, на компресивната страна се очекува да се случуваат процеси на ресорпција, а коскената депозиција не е евидентирана воопшто или присутна е во сосема мал процент.^{18,60}

Сепак, во ова истражување е забележано покачување на активноста на АЛП со сличен тренд како на мезијалната страна. Во почетната фаза сепак прво започнува ресорпција. АЛП не е ресорптивен ензим. Него го создаваат

остеобластите и остеоцитите (остеопрогениторните клетки). Овој вид клетки т.е. остеоцитите сепак ги има на страната на компресија, па се верува дека таа блага активност на АЛП на компресивната страна произлегува од остеоцитната активност кои исто така пролиферираат во тој момент. Во наодите од студиите кои датираат од 2002 и 2006 забележана е сигнификантна разлика помеѓу мезијалната и дисталната страна.^{18,60}

Во оваа студија, споредбено, анализирајќи ги наодите не е регистрирана сигнификантност на разликите во вредностите помеѓу овие две страни. Овој наод логично може да биде објаснет со фактот дека различната активација на клетките за создавање коска зависи преодминантно од видот на силата која е аплицирана. Стресот кој го поднесува коската од федерите и еластичата сила на кетенот различно делуваат на страните и со различен интензитет ги активираат истите процеси.

Во овој контекст, претпоставуваме дека самиот кетен, во овие први недели на придвижување на забот, повеќе прави иницијална инклинација на коронката дистално со инклинација на коренот мезијално, отколку што го фаворизира бодили придвижувањето на целиот заб дистално. Оттука, дисталната страна на коренот се дели од точката на ротација на делумно ресорпциона и делумно апозициона. Со тоа ги објаснуваме несигнификантните разлики на АЛП помеѓу мезијалната и дисталната страна.

Споредувајќи го тестирањето на заб со контролниот кај кого не е аплицирана додатна сила на влеча, забележано е нерамномерно изменување на вредностите на АЛП, на мезијалната и дисталната страна. Впрочем ова се наоди кои произлегуваат од ова истражување каде не е евидентирана сигнификантност во зголемување или намалување на вредностите. Овие податоци укажуваат тенденција на раст на АЛП кај тестирањето на заб кои сметаме дека се должат исклучиво на силата од кетенот која е отсутна кај контролниот канин, каде сите други услови се идентично задоволени. Од споредбата на мезијалните и дисталните страни, проверува податокот дека се одредени дефинитивно поголеми вредности на ензимот во секое време на мерење на секоја страна, но со потенцирана сигнификантност во T_3 .

По анализирање на примероците за вредностите на АСТ ензимот резултатите кои ги добивме ја потврдуваат нашата првична хипотеза. Во согласност со светската литература⁷²⁻⁷⁸, (која во овој момент е многу оскудна со

податоци кои се однесуваат на динамика и варијација на вредностите на АСТ при ортодонтските движења) можеме да потврдиме дека вредностите на АСТ како ензим кој се јавува при распаѓање на клетките, ја рефлектира нивната биолошката активност во периодонциумот. Кога се регистрирани ресорптивни процеси кои се должат на активноста на остеокластите, АСТ е сигнификантно покачен на страните на кои е очекувано да преовладуваат процеси на ресорпција. Истовремено, во оваа студија очекувано е благо покачување и на другите страни, бидејќи сепак процесите на ресорпција во одредена доза се јавуваат секаде. Согласно резултатите што ги добивме, АСТ се покачува линеарно и статистички значајно на дисталната страна во секоја наредна недела на мерење, со највисока вредност во третата недела, т.е. 21-от ден. На мезијалната страна во посоченото време на мерење евидентно е покачување на вредностите, во споредба со нултото време, но несигнификантно, регистрирана е поблага елевација на вредностите. Овој факт потврдува дека процесите на коскен турновер се одвиваат паралелно, но не идентично на страната на компресија и тензија. Покачени вредности на АСТ уште во првата недела на мерење односно 7-от ден по апликација на кетенската сила укажува дека многу брзо почнуваат процесите на ресорпција. Во студиите ⁸⁹, ⁹⁰ во кои е обработен коскениот турновер со потенцира ставот дека по апликација на сила прво настанува хијалинизација на компримираниот периодонциум кој трае 3-5 дена, и потоа таа се резолуира од 5-иот до 7-иот ден. Веднаш потоа почнува разградба на коската. Како почнува движењето на забот така се зголемуваат процесите на ресорпција на страната на компресија а со тоа и се покачуваат нивоата на биомаркерите на коскена ресорпција АСТ, кој достигнува најголема вредност во третата недела на мерење. Очекувано, на страната на тензија забележано е линеарно покачување на овој ензим, т.е. процесите на ресорпција се паралелни како на компесираната страна, само во поблага форма, т.е. не преовладуваат толку ресорптивните процеси. Perinetti ⁶¹ при испитувањето на АСТ, каде се дискутира за значајноста на овој биомаркер, го зацврстува овој став, но не е откриено сигнификантно зголемување на АСТ на страната на тензија, во 1-та и 2-ата недела. Овие наоди може да се објаснат со тоа што во нашата студија каде тестираниот канин е влечен со кетен, активноста на остеокластите не е многу изразена на страната на тензија. Тие, иако активирани и вклучени во процесите на ресорпција сепак се послаби од активноста која владее на дисталната страна. Во суштина, двете страни не се ресорптивно еднакво активни.

Добиените резултати од студијата на Wahab ⁷⁶ последователно и на Haq ⁷⁸ , се поткрепа на нашите наоди. Секаде онаму каде е аплицирана сила евидентно е значително зголемување на ензимската активност, но пикот на активност е во првата недела, а потоа опаѓа, што е спротивно на нашите резултати. Логиката кое е објаснувањето на добиените наоди е фактот дека е последица на различни видови сила која е аплицирана. Во врска со ова Wahab ⁷⁶ задавал благи сили кои предизвикуваат инклинација и ротација на забите при нивелацијата и тие на почетокот се најјаки, а потоа секоја недела силата се намалува. За разлика од овие наоди во оваа студија зададената сила е појака, насочена во зададен правец и предизвикува ресорпција на истата страна со покачување на ензимите соодветно на ресорбираниот коскен субстрат и предизвикува придвижување на забот. Сегашнава студија е исто компарабилна и со друга студија каде целта била да се испита активноста на АСТ за време на канинска дистализација. Резултатите укажуваат на слични вредности т.е. значително зголемени вредности на комприраната страна Wei , Wang ⁹¹

Во нашето истражување хипотезата дека компресивната страна е доминантно ресорптивна, наспроти страната на тензија која е доминантно апозициона се потврди со соодносот на АСТ вредностите кои се повисоки на дисталната страна константно, но несигнификантно. Perinetti ⁶¹ исто така ги добил истите резултати, само со значително повисоки ензимски вредности во првата недела на мерење.

Кај контролниот канин кај кого нема аплицирано никаква сила за движење на забот освен онаа од лакот, сепак е забележана флукуација во нивото на АСТ во сите недели на мерење. За разлика од базалните вредности измерени во 0 време на мезијалната и дисталната страна, понатаму имаме разиграно покачување и намалување на АСТ на двете страни на контролниот канин. Тоа покачување е мало и благо, и поради тоа што нема никаква одредена патека и сигнификантна вредност, заклучуваме дека не се должи на сила на дистализација, туку на дејство на нормалните мастикаторни сили кои го афектираат забот. Ова нелинеарно покачување на ензимот кој во суштина е маркер за нормалниот коскен турновер е битен фактор за одржување коскена хомеостаза. Исто така, во фазата на нивелација која предходи на фазата на дистализација, остеоκласите работеле и остатокот од нивната активност се забележува и по неколку недели, дури и преку бројни биохемиски анализи. Трет фактор кој може да влијае на оваа

несигнификантна и нелинеарна флукуација на АСТ кај контролниот заб кој не е оптеретен со никаква дистализирачка сила, се претпоставува дека е субгингивалниот плак кој предизвикува блага инфламација на гингивалното ткиво, а со тоа предизвикува соодветно покачување на ензимите. Кога ги споредиме вредностите на тестираниот и контролниот канин, вредностите беа поголеми кај тестираниот канин и тоа особено сигнификантно во 2-та и 3-та недела од испитувањето. За разлика на овие наоди Perinetti ⁶¹ забележал сигнификантност само во првата недела.

ЛДХ како функционален интрацелуларен ензим, се ослободува во ескрацелуларната околина после смртта на клетката. Неговото присуство во ескрацелуларната околина индицира клеточна смрт и деградиција. Активноста на овој ензим е забележана при многу патолошки состојби во усната празнина како гингивит, пародонтопатија и многу други. Врз база на овие факти се јавил и интересот за неговата променлива динамика кога станува збор за ортодонтско движење на забите. На оваа тема има многу малку истражувања, кои почнуваат од експерименти на глупци. Оттука, неможноста добиените наоди богато да бидат конфронтирани, компарирани и дискутирани со наоди од литературата. Една од целите на оваа краткотрајна лонгитудинална студија е да испита дали ЛДХ во гингивалниот флуид е дијагностички маркер кој може да укаже на периодонталната ремоделација што се случува под дејство на ортодонтски сили. Со тоа што во резултатите се добиени сигнификантни разлики во однос на стресот кој е аплициран, односно помеѓу забиите што се оптеретени односно врзани во фиксна протеза и забите кои се изложени на силата од кетен при дистализација, се докажува позитивната активност на ЛДХ како мерлив параметар кои укажуваат дека има актуелни случувања во пародонциумот.

Нашата студија при испитување на активност на ЛДХ кај тестираните и контролните канини, прикажа дека дефинитивно има значително покачување на ензимот кај забот кој се дистализира во споредба со контролниот кај кого немаше аплицирана толку голема сила. Ова ги посочува процесите на ресорпција кои подоминантно се случуваат кај забот кој активно патува низ алвеоларната коска за неколку милиметри во тој мерен временски период од 3 недели.

Базалните вредности за ЛДХ не се разликуваат меѓу себе кај тестираниот и контролниот заб, од истонаведените причини како и кај АСТ и АЛП. Предходната активност и движење на забите ни пројавува остаточни вредности на овој ензим

на коскена деградација, но сето тоа е нелинеарно и несигнификантно без никаква логична шема на изменување. Исто така, во трудот се дојде до факти кои говорат дека вредностите на овој ензим, не се зависни ниту од полот на пациентите, ниту од годините.

Овие мерења се правени и докажани од аворот Serra⁸⁴ кој во 2003 година ја истражувал ЛДХ активноста кај канини подложени на ортодонтска терапија.

Потоа, на секое мерење вредноста на ЛДХ се зголемува со највисока активност во T₂, на двете страни (мезијална и дистална). Овие наоди се во корелација со наодите од студиите⁹⁰ дека не постои исклучиво ресорпциона и исклучиво депозициона страна, туку процесите се јавуваат и на двете страни само не балансирано т.е. со преобладајност на едниот или другиот. Истото го потврдуваме и ние, затоа што вредностите на дисталната компресиона страна се линеарно поголеми во секој мерена недела од вредностите на мезијалната страна која е страна на тензија. Објаснувањето што следи е дека на страната на компресија се поголеми процесите на ресорпција со цел придвижување на забот во таа насока, а истото се забележува и кај резултатите од другиот ресорпционен ензим АСТ. Сепак, споредбено мезијалната и дисталната страна немаат статистички значајно отскокнување на вредностите на ензимот на страната на компресија, иако дефинитивно тие се поголеми во секој момент на мерење. Ова значи дека во првите 4 недели од апликација на сила, веднаш се јавуваат процеси на ресорпција и на двете страни кои сеуште не се балансирани меѓу себе.

Perinetti и соработниците⁸⁵ во 2005 работеле на истата проблематика и нивните резултати се добра база со која ги споредуваме и нашите. Во согласност сме за доминантното покачување на ЛДХ на дисталната страна, со тоа што кај нив е регистрирана сигнификантност. Логиката ја бараме во различни дизајни на студиите, бидејќи тие имаат аплицирано жичен федер за дистализација, наспроти нашиот еластичен синцир. Веројатно и самата морфологија на забот и коренската површина игра своја улога. Моларот кој тие го дистализирале има поголема коренска плоштина, а со тоа и пообемни се процесите на ресорпција и апозиција, што води до поголемо присуство на ензимот во гингивалниот флуид. Исто така сметаме дека сигнификантноста на овој резултат би испливала на површина доколку испитаничкиот примерок би броел повеќе индивидуи.

Тие сметаат дека покачувањето на ЛДХ кај тестираниот и контролниот заб не е само заради поместувањето туку заради присутната гингивална инфламација. Во

студијата во повеќе етапи одредуван е плак индексот при секоја посочена посета каде е регистрирани покачени плак вредности при секоја наредна недела. Сепак, повисоките ензимски вредности на тестирањето заб укажува дека ортодонтското движење е причина за сигнификантност на разликите помеѓу овие две групи тестирања заби.

Во односот мезијална-дистална страна, несигнификантната доминантност на ЛДХ на страната на компресија ја делиме како податок, со единствена разлика на сигнификантно покачување во 7-иот ден во нивната студија. Овие резултати сепак може да се должат на дејството на различните сили кои ги имаме користено за дистализација, односно тие го имаат дистализирано моларот со отварачки федер.

Сумирајќи ги сознанијата кои ги добивме од анализите на секој ензим посебно, индиректно се отсликува состојбата за биохемиските случувања во периодонциумот, поконкретно во алвеоларната коска, кога на канинот му задаваме јака дистализирачка сила од кетен. Како алвеоларниот сид реагира на микроскопско ниво, и што тоа може да значи во однос на очекувањата и резултатите од терапијата која ја применуваме е сеуште донекаде отворено прашање. Во моментот пред да ја зададеме силата, забите ја поминале фазата на нивелација и ензимските нивоа на ресорпција и апозиција се веќе разбранувани. Како сведок за активноста на остеокластитите и остеобласите сведочат умерените и неспецифични вредности на ензимите во нулта-мерењата. Потоа, откако е аплициран кетено само на едниот канин, веднаш почнуваат процесите на ресорпција и апозиција, на мезијалната и дисталната страна. Се активираат метаболички двете страни на алвеолата за да ги задоволат условите кои се диригирани од ортодонтската терапија. За тоа ни сведочат значително покачените вредности на ензимите, соодветно ресорптивните на страната на ресорпција и апозиционите на двете страни.

Случувањата продолжуваат со исто темпо и уште поголем интензитет во втората недела. При дозирање сила забот прави движења на двете страни. Клетките на мезијалната и дисталната страна на алвеолата покажуваат мешовита ензимска активност кога АЛП, АСТ и ЛДХ имаат покачување и на двете страни. Доколку забот би се придвижувал чисто бодили движење-паралелно со надолжната оска во дистална насока тогаш теоретски, дисталната страна би била исклучиво ресорптивна а мезијалната исклучиво апозициона. Но, дефинирано е дека не

постои чисто бодили движење, туку забот прави одредена инклинација и под некој агол потоа се движи низ алвеоларната коска, па соодветно и на тоа, имаме многу докази низ литературата и истражувањата дека има паралелни процеси на ресорпција и апозиција на двете страни-тензична и компресивна, со тоа што има значајна разлика меѓу интензитетот на тие процеси на двете страни. Всушност на мезијалната страна имаме значително покачување на АЛП во споредба со дисталната каде е поблаго поради тоа што процесите на ресорпција се помали. Нашите резултати ни укажаа на значителна активност на остеобластите на двете страни, апозициони процеси кои се одвиваат паралелно и без некоја голема разлика помеѓу страната на компресија и тензија. Во прилог на сознанијата што предходно ги имавме за ензимите на ресорпција доаѓаат и нашите сознанија, каде што е регистрирано поголемо покачување на дисталната компресивна страна, а помало на мезијалната. Но, споредбено мезијалната и дисталната страна немаат сигнификантна разлика во активноста на ензимите. Остеокластите се активни и на тензичната страна, што пак ни кажува дека процесите на ресорпција се приближно еднакво поделени и на двете страни. Остеокласите и остеобластите активно работат на мезијалната и дисталната страна во првите 4 недели од апликација на силата.

Анализирајќи го доминантниот фактор- силата, видот на силата која е употребена за дистализација, заклучуваме дека со кетенската сила, забот прави многу поголема инклинација во првите 4 недели, за разлика од силата на жичените федери. Затоа процесите на ресорпција и апозиција се поприлично изедначени, вредностите на ензимите се многу покачени уште на самиот почеток бидејќи силата е јака. Кај канините кои се дистализирани со федери, нивоата на ензимите се поизедначени, а страните на тензија се доминантно апозициони, страните на компресија доминантно ресорпциони, заради приближното бодили движење и малата инклинација по почетокот на дистализацијата. Успеваме да ја диференцираме различната активност на мезијалната и дисталната страна според вредностите кои ги гледаме, но сметаме дека тие вредности се диференцираат и разликата станува сигнификантна меѓу нив во последователните 4 до 8 недели, кога забот поактивно ќе се движи низ алвеоларната коска а неговото главно инклинирање завршило во почетокот.

Она што ние го забележавме како недостаток во нашето истражување, а што би ни донело уште пообемни информации, е фактот доколку силата од кетенот би

ја мереле со динамометар. Овој метод е веќе применуван во други студии, и се добиваат поспецифични информации кога би ја корелирале големината на силата, со веќе испитаниот одговор на пародонтот. Нашата клиника за ортодонција не располага со динамометар за ортодонтски цели и затоа не сме во можност да споделиме искуства на овој план.

Истражувањето би можело да се прошири ако се направи корелација на одговорот на пародонтот и мерењето на милиметарското придвижување на канините секоја недела. Поврзувајќи го движењето во милиметри, силата од динамометарот и одговорот на пародонтот преку ензимите би ја имале целосната слика за тоа како делуваат конкретните ортодонски сили врз алвеоларната коска. За жал можностите во овој дел се ограничени.

Во студијата на Wahab^{65,66} но и на други автори, примероци од гингивален флуид се земале и од антагонистите на тестираните заби, на кои не делувала никаква додатна сила освен силата од мастикацијата. Резултатите што се добиени ја претставуваат активноста на ензимите при нормална коскена ремоделација што се случува под дејство на оклузалните и силите на мастикација. Во нашата студија ова не беше запазено затоа што во најголем дел од пациентите кај кои беа екстрахирани премоларите, веќе беа под терапија до стадиум каде е поставен фиксен апарат на мандибуларните заби.

Нашата студија се концентрира на 4 неделно следење на пациентите, со интервали на 7 дена, што е сосема доволно за да се мониторира активноста на АЛП. Во други студии каде примероците се земани на месечно ниво како во студијата на Asma⁶⁷ тешко е да се визуелизираат одредени состојби бидејќи според Wahab^{65,66} активноста на АЛП стивнува после 4-та недела. Но, доколку би имале можност да ја увидиме активноста на коскените клетки и во вториот месец од апликацијата, би можеле да дефинираме став за каков вид движење се работи, бодили, инкинација или комбинација од овие две. Ова остава простор за проширување на испитувањето со цел да се соберат информации како реагира алвеоларната коска во првите моменти на апликација на ортодонтската сила - фаза на нивелација. При овие истражувања прилично потребно е да се направи компарација на видот и интензитетот на процесите.

Нашето истражување брои испитанички примерок од 20 пациенти. Претпоставуваме дека податоците кои се добиени од ова истражување би ја потенцирале сигнификантноста доколку примерокот беше поголем. Оваа студија

припаѓа во категорија лонгитудинални студии. За целовитост во истражувањето потребна е посветеност и ангажман најнапред од пациентите, по однос редовност на контролни прегледи точно на 7 дена, како и дисциплина во одржувањето на орална хигиена. Од тие причини, испитаничкиот примерок од практични причини беше дефиниран на 20 успешно прецизно и темелно опфатени пациенти, иако прегледани беа далеку повеќе, но не беа земени предвид во испитувањето заради неисполнетост на погоре посочените услови.

Во суштина, биомаркерите привлекоа огромно внимание како дијагностички алатки во стоматологијата, поконкретно во пародонтологијата. Многу помал процент на истражувачи се свртеа кон нивна примена при ортодонтски третман, каде неопходно ни е знаење и следење на процесите во алвеоларната коска. Но, на оваа тема постојат исклучително мал број истражувања, во кои можеме да го вброиме и ова истражување, кои конкретно се насочени кон следење на ефектите од насочените сили во ортодонцијата кои толку често и секојдневно се користат. Како клиничари и истражувачи сведоци сме за потребата за користење на силите, нивната ефикасност, но и за несканите можни ефекти од нивната примена, загрозување на пародонталното здравје и состојбата на алвеоларната коска. Во оваа желба за естетска и функционална корекција, можни се и несакани епизоди како: прекумерна луксација, ресорпција на корените, тешка и немногу успешна стабилизација на забите и нестабилна ретенција.

На таа мала полица на знаење, во светски рамки, нашата студија е слична со истражувања од други автори, но сепак е уникатна по нејзиниот дизајн. Со добиените искуства и сознанија од ова истражување додаваме тежина повеќе на терезијата на знаење, и даваме свој скроман придонес, збогатувајќи ја светската литература.

Затоа, со ова биохемиско мониторирање на одредени ензими при ортодонтски третман на забите, ги охрабруваме сите понатамошни истражувачи, да ја разјаснат улогата на најглавните биомаркери во гингивалниот флуид. Преку нивната квантификација може да се прошират знаењата за функционалниот ортодонтски третман, како, колку и при кои состојби да се оптимизира интензитетот на аплицираната ортодонтска сила, со цел да се превенира оштетувањето на пародонтот кое може да настане при неконтролирана ортодонтска терапија.

7. ЗАКЛУЧОЦИ

Од спроведеното истражување добиените резултати и направената статистичка анализа ги извлековме следните заклучоци:

1. Алкалната фосфатаза (АЛП), аспартат аминотрансфераза (АСТ) и лактат дехидрогеназа (ЛДХ) се специфични и валидни маркери за мониторирање и идентификација на процесите што се случуваат во потпорниот апарат на забот кој е подложен на дејство на ортодонтски сили.
2. Коскената ремоделација последица на ортодонтските сили може да се следи преку активноста на секој од ензимите поединечно.
3. Процесите на коскена апозиција се случуваат на страната на тензија и компресија. Започнуваат првата недела од третманот, а значајно се засилуваат втората недела, докажано преку евалуација на активноста на АЛП.
4. Ресорптивните процеси евалуирани преку АСТ и ЛДХ се благи на страната на тензија и значителни на страната на компресија. Линеарно, ресорпцијата се зголемува почнувајќи од првата со пораст во втората и третата недела.
5. Активноста на АЛП покажува значително зголемување на страната на тензија исто и на компресија, со покачување и достигнување најголеми вредности 14-от ден кај забите на кои делува еластична ортодонтска сила.
6. АСТ ензимот покажа благо несигнификантно покачување на страната на тензија а значителен скок на активноста на дисталната страна-страната на компресија, со достигнување најголеми вредности 21-от ден.
7. Активноста на ЛДХ се покачува благо на страната на тензија, а понагласено на страната на компресија, и тоа со највисока вредност 14-от ден.
8. Преку споредување на активноста на ензимите помеѓу тестираните заби – дистализирани со еластична сила и контролните заби на кои делува пасивна сила од челичен лак, утврден е различен одговор на потпорното ткиво.
9. Кај тестираните канини каде е применета еластична сила евидентен е значителен скок на активноста на сите испитувани ензими, како одговор на зададената сила, со соодветен тренд на изменување кој е во согласност со временските интервали и насоката на движење на забот.
10. Кај контролните заби каде е дозирана пасивна сила од челичен лак, регистрирана е несигнификантна промена на активноста на сите испитувани ензими, резултат на предходното движење на забот низ алвеолата, присуството на субгингивален плак и нормалниот коскен turnover.

11. Препорачуваме оптимизирање на интензитетот на сила кој се задава, да се користат благи сили за дистализација, кои ќе предизвикаат паралелни и балансираны процеси на ресорпција и апозиција на страните на тензија и компресија.

12. Испитувањето на биомаркерите во гингивалниот цервикален флуид е од исклучителна важност, заради превенирање, навремено откривање или спречување на штетните ефекти од применетата ортодонтска терапија.

8. РЕФЕРЕНЦИ

1. Stefan A. Hienz, Sweta Paliwal, and Saso Ivanovski. "Mechanisms of bone resorption in periodontitis". *Journal of Immunology Research* . 2014; Vol 2015, Article ID 615486, 10 pages
2. Nanci A, Bosshardt DD, "Structure of periodontal tissues in health and disease" *Periodontology 2000*, 2006;40(1): 11–28.
3. Reitan K. Clinical and histological observations on tooth movement during and after orthodontic treatment. *Am J Orthod*, 1967 ;1(53):721-45.
4. Storey E. The nature of tooth movement. *Am J Orthod*, 1973;63:292-314.
5. Rygh P. Ultrastructural changes in pressure zones of rat molarperiodontium incident to orthodontic movement. *Acta Odontol Scand*, 1972;30:575-93.
6. Krishnan V, Davidovitch Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2006; 129(4):469.e1-32.
7. Davidovitch Z, Nicolay OF, Ngan PW, Shanfeld, JL Neurotransmitters, cytokines, and the control of alveolar bone remodeling in orthodontics. *Dent Clin North Am*, 1988;32:411-35.
8. Reitan K. Tissue behavior during orthodontic tooth movement. *Am J Orthod* 1960;46:881-90.
9. Rygh P, Brudvik P. The histological responses of the periodontal ligament to horizontal orthodontic loads. In: Berkovitz BB, Moxham BJ, Newman HN, editors. *The periodontal ligament in health and disease*. St Louis: *Mosby*; 1995.
10. Davidovitch Z. (1991). Tooth movement. *Crit Rev Oral Biol Med*;2:411-50.
11. Dudic A, Kiliaridis S, Mombelli A, Giannopoulou C. Composition changes in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement: comparisons between tension and compression sides. *European Journal of Oral Sciences*, 2006; 114(5):416-22.
12. Zainal Ariffin SH, Yamamoto Z, Zainol Abidin IZ, Abdul Wahab RM, Ariffin ZZ. Cellular and Molecular Changes in Orthodontic Tooth Movement. *The Scientific World Journal* 2011;11:1788–1803.
13. Rodan GA. Introduction to bone biology. *Bone*, 1991;13:S3-S6.
14. Christenson RH. Biochemical markers of bone metabolism: an overview. *Clin Biochem*, 1997;30:573-93.

15. Alhadlaq AM, Patil S. Biomarkers of orthodontic toothmovement in gingival crevicular fluid: a systematic review. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 2015; 16(7):578–587.
16. Alfuriji S, Alhazmi N, Alhamlan N, Al-Ehaideb A, Alruwaithi M, Alkatheeri N, Geevarghese A. The Effect of Orthodontic Therapy on Periodontal Health: A Review of the Literature'. *International Journal of Dentistry*, 2014, Article ID 585048, 8 pages.
17. Sobral de Aguiar MCr, Giuseppe Perinetti G, Capelli JJr. The Gingival Crevicular Fluid as a Source of Biomarkers to Enhance Efficiency of Orthodontic and Functional Treatment of Growing Patients, *BioMed Research International*, 2017; 3257235.
18. Batra P, Kharbanda OP, Duggal R, Singh N, Parkash H. Alkaline phosphatase activity in gingival crevicular fluid during canine retraction. *Orthod Craniofacial Res*, 2006; 9: 44–51.
19. Delima J, Van Dyke TE. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontology 2000*, 2003; 31:55–76.
20. Iwasaki LR., Haack JE, Reinhardt, RA, Petro TM. Humaninterleukin-1 β and interleukin-1 receptor antagonist secretion and velocity of tooth movement. *Archives of Oral Biology*, 2001; 46(2): 185-189.
21. Alfano MC. The origin of gingival fluid. *Journal of Theoretical Biology*, 1974; 47(1): 127–136.
22. Cimasoni G. Gingival fluid updated. *Mogogrl. Oral sci.* 1983; 12: III-VII , 1-152.
23. Kowashi Y, Jaccard F, Cimasoni G. Sulcular polymorphonuclear leucocytes and gingival exudate during experimental gingivitis in man. *J Periodontal Res*, 1980; 15(2):151-8
24. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontology 2000*, 2003; 31: 32–42.
25. Perinetti G, Di Leonardo BDi Lenarda L, Contardo L. Repeatability of gingival crevicular fluid collection and quantification, as determined through its alkaline phosphatase activity: implications for diagnostic use. *Journal of Periodontal Research*, 2013; 48(1):98–104.
26. Attström R. Presence of leukocytes in crevices of healthy and chronically inflamed gingivae. *J Periodontal Res* 1970; 5: 42–47.

27. Nakashima K, Giannopoulou C, Andersen E, Roehrich N, Brochut P, Dubrez B, et al. A longitudinal study of various crevicular fluid components as markers of periodontal disease activity. *J Clin Periodontol*, 1996; 23:832-8.
28. Lamster IB. The host response in gingival crevicular fluid: potential applications in periodontitis clinical trials. *J Periodontol*, 1992; 63(12 S):1117-23.
29. Mc Culloch CA. Host enzymes in gingival crevicular fluid as diagnostic indicators of periodontitis. *J Clin Periodontol*, 1994; 21:497-506
30. Lamster IB, Joseph K, Ahlo. Analysis of Gingival Crevicular Fluid as Applied to the Diagnosis of Oral and Systemic Diseases. *Annals Of The New York Academy of Sciences*, 2007; 1098:1216-229.
31. Lamster IB. et al. A comparison of 4 methods of data presentation for lysosomal enzyme activity in gingival crevicular fluid. *J. Clin. Periodontol*, 1988; 15: 347-352.
32. Lamster IB. Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. *Ann. Periodontol*, 1997; 2: 123-137.
33. Loos BG, Tjoa S. Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid? *Periodontol 2000*, 2005; 39:53-72
34. Golub LM, Kleinberg. Gingival crevicular fluid: a new diagnostic aid in managing the periodontal patient. *Oral Sci Rev*, 1976; (8):49-61.
35. Mogi M, Otogoto J, Ota N, Inagaki H, Minami M, Kojima K. Interleukin 1 beta, interleukin 6, beta 2-microglobulin, and transforming growth factor-alpha in gingival crevicular fluid from human periodontal disease. *Arch Oral Biol*, 1999; Jun; 44(6):535-9.
36. Lin SJ, Chen YL, Kuo MY, Li CL, Lu HK. Measurement of gp130 cytokines oncostatin M and IL-6 in gingival crevicular fluid of patients with chronic periodontitis. *Cytokine*, 2005; 30(4):160-7.
37. Engebretson SP, Grbic JT, Singer R, Lamster IB. GCF IL-1beta profiles in periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 2002; 29(1):48-53.
38. Estreicher A, Broggiato A, Duroux P, Andersen E, Cimasoni G. Low molecular-weight proteins in human gingival crevicular fluid. *Arch Oral Biol*, 1996; Aug-Sep; 41(8-9):733-8.
39. Grbic JT, Lamster IB, Fine JB, Lam KS, Celenti RS, Herrera-Abreu M, Singer RE. Changes in gingival crevicular fluid levels of immunoglobulin A following therapy: association with attachment loss. *J Periodontol*, 1999; 70(10):1221-7

40. Golub LM, Lee HM, Greenwald RA, Ryan ME, Sorsa T, Salo T, Giannobile WV. A matrix metalloproteinase inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival crevicular fluid during adult periodontitis. *Inflamm Res*. Aug. 1997; 46(8):310-9.
41. Kinney JS, Morelli T, Oh M, Braun TM, Ramseier CA, Sugai JV, Giannobile WV. Crevicular fluid biomarkers and periodontal disease progression. *J Clin Periodontol*. 2014; 41(2):113-120.
42. Bostanci N, Ilgenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Töz H, Atilla G, Hughes FJ, Belibasakis GN. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *J Clin Periodontol*. 2007; 34(5):370-6.
43. Salonen JI, Paunio KU. An intracrevicular washing method for collection of crevicular contents. *Scandinavian Journal of Dental Research*, 1991; 99(5): 406–412.
44. Storey E. Tissue Response to the Movement of Bones. *American Journal of Orthodontics*, 1973; 64(3): 229-247.
45. Uematsu S, Mogi M, Deguchi T. Increase of TGF- α 1 in GFC during OTM. *Arch, Oral. Biology*, 1996; 41:1091-1095.
46. Uematsu S, Mogi M, Deguchi T. Interleukin (IL)-1 beta, IL-6, tumor necrosis factor- α , epidermal growth factor, and beta2-microglobulin levels are elevated in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. *J Dent Res*, 1996 ; 75:562-7.
47. Grieve WG III, Johnson GK., Moore RN., Reinhardt RA., DuBois LM. Prostaglandin E (PGE) and interleukin-1 beta (IL-1 beta) levels in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 1994; 105:369-74.
48. Lowney JJ, Norton LA., Shafer DM, Rossomando EF. Orthodontic forces increase tumor necrosis factor alpha in the human gingival sulcus'. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 1995; 108:519-24.
49. Navarro- Palacios A, Lopez EG, Meza Rios A., Borunda, JA., Sandoval-Rodriguez A. Myeloperoxidase enzymatic activity is increased in patients with different levels of dental crowding after initial orthodontic activation. *American Journal Of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 2014; 146(1):92-7
50. Asma F, Kumar Talapaneni A., Abdul S, Sana S, Hussain A. An evaluation and comparison of myeloperoxidase enzymatic activity during initial

orthodonticalignment: an in vivo study. *Journal of Orthodontics*, 2017; 44:3, 169-173

51. Griffiths GS, Moulson AM, Petrie A., James IT. Evaluation of osteocalcin and Peridinium crosslinks of bone collagen as markers of bone turnover in gingival crevicular fluid during different stages of orthodontic treatment. *J Clin Periodontol*, 1988;25: 492-8.
52. Kapoor P, Monga N, Kharbanda OP, Kapila S, Miglani R, Moganty. Effect of orthodontic forces on levels of enzymes in gingival crevicular fluid (GCF): A systematic review. *Dental Press J Orthod*, 2019; 24(2):40
53. Bowers GN, McComb RB. A continuous spectrophotometric method for measuring the activity of serum alkaline phosphatase. *Clin Chem*, 1966;12:70.
54. Delmas PD. Clinical use of biochemical markers of bone remodeling in osteoporosis. *Bone*, 1992; 13:17-21.
55. Farley JR, Hall SL, Ritchie C, Herring S, Orcutt C, Miller BE. Quantification of skeletal alkaline phosphatase isoenzyme in canine serum. *J Bone Miner Res* 1992;7:779-91
56. Chapple IL, Garner I, Saxby MS, Moscrop H, Matthews JB. Prediction and diagnosis of attachment loss by enhanced chemiluminescent assay of crevicular fluid alkaline phosphatase levels. *J Clin Periodontol*, 1999; 26:190-8.
57. Ishikawa I, Cimasoni G, Held AJ. Alkaline phosphatase in human gingival fluid and its relation to periodontitis. *Arch Oral Biol*, 1970; 15:1401-4.
58. Insoft M, King GJ, Keeling SD. The measurement of acid and alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 1996; 109:287-96
59. Perinetti G, Paolantonio M, Femminella B, Serra E, Spoto G. Gingival crevicular fluid alkaline phosphatase activity reflects periodontal healing/recurrent inflammation phases in chronic periodontitis patients. *J Periodontol*, 2008; 79(7): 1200–1207
60. Perinetti G, Paolantonio M, D’Attilio M, D’Archivio D, Tripodi D, Femminella B, Festa F, Spoto G. Alkaline phosphatase activity in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement’. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 2002;122(5): 548-56.
61. Perinetti G, Paolantonio M, D’Attilio M, D’Archivio D, Dolci M, Femminella B, Festa F, Spoto G. Aspartate aminotransferase activity in gingival crevicular fluid

- during orthodontic treatment. A controlled, short-term longitudinal study. *J Periodontol*, (2003).;74:145–52.
62. Perinetti G, Paolantonio M, Serra E, D'Archivio D, D' Ercole S, Festa F, Spoto G. Longitudinal monitoring of subgingival colonization by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, and crevicular alkaline phosphatase and aspartate aminotransferase activities around orthodontically treated teeth. *J Clin Periodontol*, 2004;31(1):60-7
63. Kasim NA, Ariffin SHZ, Shahidan A, Abidin IZZ, Senafi S, Jemain AA, Wahab RMA. Stability of lactate dehydrogenase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase and tartrate resistant acid phosphatase in human saliva and gingival crevicular fluid in the presence of protease inhibitor. *Archives of Biological Sciences*, 2013 ; 65(3):1131-1140.
64. Zainal Ariffin SH et al. Profiles of lactate dehydrogenase, tartrate resistant acid phosphatase and alkaline phosphatase in saliva during orthodontic treatment. *Sains Malaysiana*, 2010; 39 (3): 405-412.
65. Wahab RMA, Yamamoto Z, Sintian A, Kasim NA, Abidin IZZ, Senafi S, Ariffin ZZ, Ariffin SHZ. The effects of orthodontic forces during canine retraction using self-ligating brackets on gingival crevicular fluid enzyme activity, canine movement and root resorption. *Sains Malaysiana*. 2015 ; 44(2):249-256.
66. Wahab RMA, Idris H, Yacob H, Ariffin SHZ. Canine retraction: A randomised clinical trial comparing Damon™ 3 self-ligating with conventional ligating brackets. *Sains Malaysiana*, 2013; 42(2):251-255.
67. Asma AAA, Rohaya MAW, Shahrul Hisham ZA. Crevicular alkaline phosphatase activity during orthodontic tooth movement: Canine retraction stage. *Journal of Medical Sciences*, 2008; 8(3):228-233.
68. Abdullah AAA, Wahab RMA, Ariffin SHBZ. Pattern of crevicular alkaline phosphatase during orthodontic tooth movement: Leveling and alignment stage. *Sains Malaysiana*, 2011; 40(10):1147-115.
69. Wahab MA, Md Dasor R, M, Senafi, S, Abdullah A, Yamamoto Z, Jemain AAM, Ariffin ZS H. Crevicular alkaline phosphatase activity and rate of tooth movement of female orthodontic subjects under different continuous force applications. *International Journal of Dentistry*, 2013; 245818.

70. Farahani M, Safavi SM, Dianat O, Khoramian Tusi S, Younessian F. Acid and Alkaline Phosphatase Levels in GCF during Orthodontic Tooth Movement. *J Dent Shiraz Univ Med Sci*, 2015; 16(3 Suppl): 237-245.
71. Wahab RMA, Yamamoto Z, Sintian A, Kasim NA, Abidin IZZ, Senafi S, Ariffin ZZ, Ariffin SHZ. The effects of orthodontic forces during canine retraction using self-ligating brackets on gingival crevicular fluid enzyme activity, canine movement and root resorption. *Sains Malaysiana*, 2015 ; 44(2):249-256.
72. Shimada K, Mizuno T, Ohshio K, Kamaga M, Murai S, Ito K. Analysis of aspartate aminotransferase in gingival crevicular fluid assessed by using PocketWatch: A longitudinal study with initial therapy. *J Clin Periodontol*, 2000;27(11):819-23.
73. Rutger Persson G, Timothy A, De Rouen Roy C. Page. Relationship between gingival crevicular fluid levels of aspartate aminotransferase and active tissue destruction in treated chronic periodontitis patients'. *Journal of periodontal research*. 1990;.25(2):.81-87.
74. Paolantonio M, Di Placido G, Tumini V, Di Stilio, M, Contento A, Spoto G. Aspartate aminotransferase activity in crevicular fluid from dental implants. *J Periodontol*, 2000;71:1151-7
75. Singh DP, Singla L, Sobti A.. The Effect of Orthodontic Tooth Movement on Aspartate Aminotransferase Activity in Gingival Crevicular Fluid- An In-Vivo Study'. *Indian Journal of Dental Sciences* 2013;5(2):19-23.
76. Rohaya MAW, Hisham SZA, Khazlina K. Preliminary study of aspartate aminotransferase activity in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement. *J Appl Sci* 2009;9:1393-96.
77. Tejal S, Sheth and Sharmila J. Verma Analysis of aspartate aminotransferase in gingival crevicular fluid: A study with initial therapy. *J Indian Soc Periodontol* 2011; 15(3): 235–239.
78. Haq A, Iqbal J, Hussain K., Munir A, Irfan S. Aspartate Aminotransferase Activity in Gingival Crevicular Fluid during Orthodontic Tooth Movement. *APMC* 2017;11(2):149-153.
79. Silju M. Orthodontic Tooth Movement and Changes in Gingival Crevicular Fluid. *J Ind Orthod Soc*, 2004; 37:101-114.
80. Buduneli N, Kinane DF. Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. *J Clin Periodontol* 2011; 38 Suppl.11:85-105.

81. Wolff LF, Smith QT, Snyder WK., Bedrick JA., Liljemark WF, Aepli DA. Relationship between lactate dehydrogenase and myeloperoxidase levels in human gingival crevicular fluid and clinical and microbial measurements. *J Clin Periodontol*, 1988; 15:110–115.
82. Lamster IB, Mandella RD, Gordon JM. Lactate dehydrogenase activity in gingival crevicular fluid collected with filter paper strips (analysis in subjects with non-inflamed and mildly inflamed gingiva). *J Clin Periodontol* 1985;12:153–161.
83. Lamster IB, Hartley LJ, Oshrain R, Gordon JM. Evaluation and modification of spectrophotometric procedures for analysis of lactate dehydrogenase, beta-glucuronidase and arylsulphatase in human gingival crevicular fluid collected with filter-paper strips. *Arch Oral Biol.* 1985;30:235–242.
84. Serra E, Perinetti G, D’Attilio M, Cordella C, Paolantonio M, Festa F, Spoto G. Lactate dehydrogenase activity in gingival crevicular fluid during orthodontic treatment. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 2003; 124(2):206-211.
85. Perinetti G, Serra E, Paolantonio M, Bruè C, D Mec S, Filippi MR, Festa F, Spoto G. Lactate dehydrogenase activity in human gingival crevicular fluid during orthodontic treatment: A controlled, shortterm longitudinal study. *J Periodontal.* 2005;76:411– 7.
86. Alfaqeeha SA , Sukumaran Anil S. Lactate Dehydrogenase Activity in Gingival Crevicular Fluid as a Marker in Orthodontic Tooth Movement. *The Open Dentistry Journal*, 2011; 5: 105-109.
87. Vijay N Y, Dharma R M, Dinesh M R, Sharma K, Gupta S, Chitakara G, Nayyar AS. Alkaline phosphatase and lactate dehydrogenase enzyme activity in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movements. *Int J Clinicopathol. Correl* 2017;1:41-6
88. King GJ, Keeling SD. Orthodontic bone remodeling in relation to appliance decay. *Angle Orthod*, 1995;65:129–40.
89. Keeling S, King G, Valdez M. Serum and alveolar bone phosphatase changes reflect remodeling during orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 1992;103:320-6.
90. King GJ, Keeling SD, Wronski TJ. Histomorphometric study of alveolar bone turnover in orthodontic tooth movement. *Bone*, 1991;12:401-9.

91. Wei FL, Wang CL, Liu DX, Guo J, Ke HF, Guo XX. Changes of aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase activities in gingival crevicular fluid during rapid palatal expansion. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue* 2007;16:168-71.