

УНИВЕРЗИТЕТ "СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ"
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - СКОПЈЕ



М-р. ас. д-р Павлина Е. Алексова

КОРЕЛАЦИЈА НА ПАТОЛОШКИТЕ КАЛЦИФИКАТИ
ВО ЗАБНАТА ПУЛПА СО ПАТОЛОШКИ
КАЛЦИФИКАТИ ВО ДРУГИ ОРГАНИ ВО
ОРГАНИЗМОТ

- ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА -

СКОПЈЕ,
2010 година

**Универзитет “Св. Кирил и Методиј“
Стоматолошки факултет - Скопје**

М - р. асс. д-р Павлина Е. Алексова

**Корелација на патолошките калцификати
во забната пулпа со патолошки
калцификати во други органи во
организмот**

- докторска дисертација -

Ментор : Проф. D-r sci Љупка Матовска

Скопје, 2010 година

Катедра за болести на забите и ендодонтот

Комисија за одбрана:

1. Проф. D-r sci Марија Накова
 2. Проф. D-r sci Александар Ставридис
 3. Проф. D-r sci Мира Трпковска
 4. Проф. D-r sci Миле Царчев
 5. Проф. D-r sci Љупка Матовска / ментор /
-

На почетокот би сакала со посебен респект да се заблагодарам на Проф. Д-р Љупка Матовска, за менторството, како и за професионалниот и коректен однос.

Се заблагодарам на Проф. Д-р Olavi Kajander, за неговите скапоцени совети и сугестиии за реализирање на истражувањето, за добивање на сопствени реални резултати и, за усмерувањето првенствено во правец на детектирање на калцифицирачките нанопартикли (CNP-и).

Би сакала искрено и со почит да се заблагодарам на Проф. Д-р Марија Накова, за големата подршка и корисните совети за изработка на оваа дисертација.

Се заблагодарувам на Проф. Д-р Никола Јанкуловски, Декан на Медицинскиот факултет на УКИМ во Скопје, за стручната помош од почетокот на ова истражување.

Со посебна почит се заблагодарувам на Проф. Д-р Александар Ставридис, како и на Проф. Љупчо Лековски, за несебичната помош во реализацијето на оваа дисертација.

Благодарност би сакала да искажам на Проф. Д-р Мира Трпковска, од Институтот за Хемија при Природно-математичкиот факултет на УКИМ во Скопје, која цврсто застана зад овие многу прецизни резултати.

И секако искрено се заблагодарувам на Ass. Dr. Милчо Ристовски, од Институтот за Патолошка анатомија при Медицинскиот факултет на УКИМ во Скопје, за изработката на хистопатолошките препарати на калцификатите/калкулусите, кои досега не беа направени.

СОДРЖИНА

1. КРАТКА СОДРЖИНА	1
2. ВОВЕД	5
3. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА	8
4. НАНОБАКТЕРИЈА – КАЛЦИФИЦИРАЧКИ НАНОПАРТИКЛИ (CNP – и)	28
5. ЦЕЛИ И ПРЕГЛЕД НА ТРУДОТ	44
6. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ	46
7. РЕЗУЛТАТИ	61
8. ДИСКУСИЈА	114
9. ЗАКЛУЧОЦИ	140
10.БИБЛИОГРАФИЈА	144

Кратка содржина

КОРЕЛАЦИЈА НА ПАТОЛОШКИТЕ КАЛЦИФИКАТИ ВО ЗАБНАТА ПУЛПА СО ПАТОЛОШКИ КАЛЦИФИКАТИ ВО ДРУГИ ОРГАНИ ВО ОРГАНИЗМОТ

Актуелната генеза на денталната калцификација, беше причина што се определивме за нејзино пошироко истражување, познавајќи ги во голема мера локалните фактори за нејзиното настанување и бајќи поврзаност со ендогените нарушувања во организмот, со сличен карактер.

Целта на истражувањето ја поделивме на општа и специфична цел.

Со општата цел, ја дефиниравме релацијата помеѓу калцификатите во организмот и присуството на дентални калцификати како и нивната можна бактериска асоцираност.

Со специфичната цел, побарајме сличност во хистопатолошката градба на калцификатите од бубрег, жолчно кесе и плунковните жлезди, со хистопатолошката градба на калцификатите од пулпата на забот.

Посебните цели, кои беа предмет на ова истражување, ги реализирајме преку одредување на застапеноста на денталните калцификати кај пациенти со присутни калцификати во бубрег, жолчно кесе и плунковни жлезди.

Добивме релевантни податоци за постоење на поврзаност на денталните калцификати со другите калцификати/калкулуси во организмот.

Хистопатолошката анализа опфати макроскопска и микроскопска анализа.

Со макроскопската анализа ги добивме следните резултати:

Според тежината: цврсти патолошки супстрати (CPS) се наоѓаат во широк дијапазон и истите се во зависност од локализацијата. CPS со најмала тежина присутни се во денталните структури.

Бројот на CPS во денталните структури е ограничен на 1-2, додека во другите ткива и органи, освен солитарното присуство, најдени се и повеќе на број.

Димензиите на испитуваните CPS, варираат во широк дијапазон, но сепак се во функција од величината на компартманот. Имено, CPS во денталниот компартман се мали и истите не се поголеми од 3 mm. CPS во однос на другите ткива и органи имаат мали и големи димензии.

Според обликот и формата CPS исто така се разликуваат во широки граници. CPS од денталниот компартман се округли до овални по облик со лесно нерамна површина (CPS 00). Во однос на другите ткивни компармани CPS имаат различни облици. Издвоена е група идентична како во денталниот компартман, група со агловиден и неправилен облик (CPS AG) со мазна или нерамна површина, група со неправилен кораловиден облик и нерамна

површина (CPS K). CPS во вид на песок (CPS P) присутни се во сите испитувани локализации.

Според бојата, CPS исто така се разликуваат. Примероците од денталните структури, покажуваат во најголем број белузлав колоритет. Примероците од плунковните жлезди, во еден број покажаа истоветен колоритет како и предходните, но исто така не беше мал број и на оние со темно кафејава дисколорација. Сите испитувани CPS од vesica felea, беа жолтеникаво преобени. Колоритетот на бубрежните CPS, беше во рамките на белузлаво и темно кафејаво пребојување.

Според конзистенцијата, денталните компартмани покажаа присуство на цврсти CPS, додека останатите локализации поседуваа и цврсти и трошни CPS.

Според степенот на сублимација CPS од жолчното кесе и коралестите облици на бубрежните конкременти, покажаа назначен степен на сублимација.

Со микроскопската анализа - видлива е, на ниво од микроскопска морфологија направена под исти услови, мошне голема сличност во градбата на калцификатите во забната пулпа, плунковните жлезди и калкулите од бубрежниот паренхим. Органски матрикс, асоциран со процеси на иницијација и, неоргански дел, депонирање на калциумови соли.

Морфолошкиот континум, во испитуваната серија на денталните, плунковните и бубрежните CPS, е присуството на калциум, организирано во два морфолошки облика сверули и неправилни по облик депозити на калциумови соли од типот на дистрофични калцификати.

Билиарните CPS од везиката, според морфологијата, излегуваат од низата CPS асоциирани со присуство на калциум и калциумови соли.

Застапеноста на денталните калцификати, кај овие пациенти, од вкупно 200 пациенти, беше присутна кај 140 пациенти, односно 70%, додека застапеноста на пациентите без дентикили, а со приситна патолошка калцификација на друго место во организмот, беше присутна кај 60 пациенти, односно 30%.

Застапеноста на денталните калцификати кај пациенти со присутни калцификати во бубрег и жолчно кесе, покажа висока сигнификантност, според t – тестот, со вредност од $p = 0,0000$.

Утврдувањето на можноста за бактеријална асоцираност на денталните калцификати, ја добивме со помош на квалитативна и квантитативна хемиска анализа на примероците. Квалитативно, со методата на инфрацрвена спектроскопија, добивме спектрограми од примероци на дентикл, плунковна жлезда, бубрег и жолчно кесе, каде убаво се гледаат јоните на присутните минерали. Спектрите покажуваат дека, во сите испитувани случаи, основни конституенти на калкулусите се фосфати и карбонати на калциум, со различен заемен сооднос.

Со квантитативната анализа, со методата на атомско-апсорпциона спектроскопија, добивме прецизни резултати, на сите присутни супстанци (минерали) во патолошките калцификати/калкулуси. Процентуалниот сооднос на калциумот и фосфорот, без разлика на староста на камчето, во пет примероци (од испитувани 13), покажа специфична вредност што одговара на присуство на нанопартикли/нанобактерија. Соодносот на калциумот и фосфорот во милиграми/килограм, покажа исто така специфична вредност, карактеристична за нанопартиклите/нанобактеријата. Со ова ја потврдуваме инфективната етиологија на патолошките калцификати.

CORRELATION BETWEEN THE PATHOLOGICAL CALCIFICATIONS OF THE DENTAL PULP AND THE PATHOLOGICAL CALCIFICATIONS IN OTHER BODY ORGANS

The actual genesis of the dental calcification was the reason why we decided to make a wider research of it, meanwhile taking into consideration our remarkable knowledge regarding its appearance and also looking for some kind of its being related with the endogenous disorders in the organism of similar nature.

The goal of this research is both general and specific.

The general goal defines the relation between the calcifications in the organism and the presence of dental calcifications as well as the possibility of their being bacterially associated.

The specific goal targets at identifying similarity among the hystopathological dental pulp calcifications structure.

The specific goals that were subjects to this research were realized by determining the prevalence of the dental calcifications with patients, who have calcifications in the kidney, the bile or in the saliva glands.

We got relevant evidence about the existence of a connection between the dental and other calcifications/calculi in the organism. The hystopathological analysis consisted of making macroscopic and microscopic analysis.

With the macroscopic analysis we got the following results:

According to the weight, compact pathological substrates (CPS) are present in a wide diapason and they are dependable on the localization. CPS with the smallest weight are present in the dental structures. The number of CPS in the dental structure is limited to 1-2, whereas the CPS number in the other tissues and organs, except for the solitary occurrence, is bigger.

The measures of the analyzed CPS varied in a wide diapason, but they are still in the function of the compartment's size. Namely, the CPS in the dental compartment are small and not bigger than 3mm. The CPS in the other tissues and organs are of a small and large size.

According to the shape and the form the CPS also present in a wide range. When it comes to their shape the CPS in the dental compartment are round to oval with lightly rough surface (CPS 00). With the other tissue compartments, CPS come in various shapes. The following groups were being identified: a group identical with the CPS group in the dental compartment, a group with angle-like and irregular shape (CPS AG) with smooth or rough surface, a group with irregular coral-like shape and rough surface (CPS K). CPS in a form of sand (CPS P) are present in all of the analyzed localizations.

CPS also differ according to their colour. The most of the samples from the dental structures are with whitish coloration. The samples from the saliva glands were in the same colour as the previously mentioned ones, and also it was not a small number of those that are with dark-brownish discoloration. All the examined CPS of vesica felea were yellowish. The color of the kidney CPS was whitish to dark-brownish.

According to the consistency, the dental compartments showed presence of compact CPS, whereas the rest of the localizations had compact and perishable CPS.

According to the degree of sublimation CPS from the bile and the coral-like shapes of the kidney concrements showed a significant degree of sublimation.

The microscopic analysis – at the level of microscopic morphology made under the same conditions, made it visible that there is a great similarity in the structure of the calcifications in the dental pulp, in the saliva glands and the calculi of the kidney parenchyma. The organic matrix, associated with the initiation processes, and the non-organic part, the depositing of the calcium minerals. The morphological continuum, in the analyzed serial of the dental, the kidney and saliva glands CPS, is the presence of calcium, organized in two morphological shapes-spherules and irregular-shape calcium salts deposits of the type of dystrophic calcifications.

The bilar CPS from the vesica felea, according to the morphology, step out of the line of CPS associated with the presence of calcium and calcium salts.

Out of a total of 200 patients, these dental calcifications were present with 140 patients i.e. 70%, whereas the prevalence of the patients without denticles but with present pathological calcification in other part of the organism, was identified with 60 patients i.e. 30%.

The prevalence of the dental calcifications with patients who have calcifications in the kidney and the bile, was remarkably significant in accordance with the t – test, with value $p = 0,0000$.

The possibility of bacterial association of the dental calcifications was confirmed by making qualitative and quantitative chemical analysis of the samples. Qualitatively, with the infrared spectroscopy, we got spectrograms of a denticle's, saliva glands', kidney's and bile's samples where the ions of the present minerals are pretty visible. The spectra show that in all of the analyzed cases, the basic calculi constituents are calcium phosphates and calcium carbonates, which are in a different mutual proportion.

The quantitative analysis, with the method of atomic-absorption spectroscopy led to obtaining precise results regarding all the substances (minerals) present in the pathological calcifications/calculi. The percentage ratio of the calcium and the phosphorus, regardless the age of the stone, showed in 5 samples (out of 13 analyzed ones) a specific value that corresponds to the presence of nanoparticles/nano-bacteria. The ratio between the calcium and the phosphorus in milligrams/kilograms also showed a specific value typical for the nanoparticles/nano-bacteria. With this we confirm the infective etiology of the pathological calcifications.

ВОВЕД

Калцификацијата е мешавина од минерали во телото, калциум и фосфор. Нормалната (стандардна) калцификација, како фосфатна мешавина е есенцијална за градбата на коските и забите.

Патолошката калцификација е депозит на калциум и фосфор во делови од телото, каде тоа не се претпоставува да биде.

Тој е различен од нормалниот депозит во мускулите, коските и забите, со диференциран матрикс. Всушност се работи само за различен матрикс.

Помалку од 1% наталожен калциум, во однос на телесната тежина, доволно е да предизвика проблеми. Тежината на калцификатот, покрај минералите и липидите, во голем дел ја даваат протеините присутни во него. Покачувањето на нивото на минералите, посебно калциумот и фосфорот, како и на протеините, го активира создавањето на патолошката калцификација. Калцификацијата е реверзилен процес. Отстранетите калцификати/калкулуси, се повторуваат во телото на околу секои три или четири години. Иако таа не е присутна во списокот на водечките причини за поголеми заболувања, придонесува многу болести да се фаворизираат, вклучувајќи срцеви заболувања, дијабетес и канцер.

Бројноста е зголемена, милиони луѓе со срцеви заболувања, имаат висок процент на калцификација. Кај голем број жени кои имаат градни имплантти, патолошката калцификација е присутна. Атлетичарите со повреди на коските и тетивите, може да добијат патолошки калцификати.

Најчесто спомнувани калцификации се : дентални пулпни камчиња, камчиња во плунковни жлезди, дентален плак, калцифицирано наталожување во артериите, бubreжни камчиња, камчиња во жолчно кесе, микро и макрокалцификација во дојка, панкреас, во црниот дроб, простата, тестиси, во мозокот позната како "мозочен песок", во тетивите, мускулите, коските, пршлените и др.

Формациите од дискретни и организирани аноргански кристални структури со макромолекуларни екстрацелуларни матрици се еден биолошки феномен, кој се реферира како биоминерализација. Пример за биоминерализација е формирањето калциум фосфат, кога тој се депонира во ткивата и се манифестира како калцификација. Најдобар пример за биоминерализација се коските и емајлот на забите. За механизмот на калцификацијата се знае малку. Меѓутоа во просек, човек со средна тежина, има 700 гр. калциум фосфат во коските и забите. Исто така сите клетки во организмот содржат интрацелуларен калциум, кој им овозможува на клетките да го регулираат размножувањето, да ги обновуваат системите, да вршат пренос на сигналите и да го регулираат метаболизмот. Интрацелуларниот калциум, е најважниот секундарен преносник на пораки во клетките на цицачите и блокирањето на овој механизам доведува до оштетување на клетките и функциите на ткивата.

Патолошката калцификација е резултат на различни болести. Според објавените студии, најдена е заедничка алка во голем број заболувања. Одредена форма на живот е слична на бактериите. Тоа се минерал – продуцирачки бактерии, кои често може да бидат причина за заболувања кај човекот. Составот на оваа форма се манифестира како нанобактерија, поточно *Nanobacterium sanguineum*. Нанобактериите (NB) се со големина приближно од 20–200 нанометри. Тоа се малку познати бактерии кои содржат самореплицирачки агенси и, кои мора да се разликуваат од сличните на нив бактерии како што се: Eubacteria и Archaebacteria. Нанобактеријата, индуцира калциум – фосфатна минерализација во физиолошки или нешто пониски концентрации. Таа е активен фактор за кристализација на калциумот, фосфорот, минералите и карбонат апатитите. Нанобактериите се наоѓаат во дел од денталните калцификати, денталниот плак, но и во други ткива

и органи, во крвта, во калцификати од други органи, во серумот. Тие предизвикуваат создавање на калцификати/калкулуси.

И покрај тоа што уште од далечната 1980 година, научниците обсервирале и култивирале нанопартикли, при што ги одделиле поради специфичниот карактер на форма со тврди калцифицирачки обвивки слични на калцифицирачките депозити во заболувањата, се до денес не им било доволно посветено внимание.

Видот на калцифицирачките нанопартикли, присутни кај цицачите, вклучувајќи ги и луѓето, бил неформално класифициран како "nanobacterium" од пронаоѓачот Dr. Olavi Kajander. Сега, поради новите откритија, негови и на Dr. Neva Ciftcioglu, овие партикли се неодамна преименувани од Dr. Kajander како калцифицирачки нанопартикли (CNPs).

Преглед на литература

ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА

За пошироко истражување на калцификацијата, која често се среќава во организмот, потребно е на почетокот да се направи разлика помеѓу нормалната (биолошка) и, абнормалната (патолошка) калцификација.

Редовна слика на процесот на биолошката калцификација на клетките, внатре во калцифицираните ткива, се централните фактори на контролата на депозиција на минералните кристали во екстрацелуларниот матрикс. Калциумот ги пренесува клеточните реакции на хормоните и секундарните пораки, како и други промени во околината. Тој врши регулирање на концентрацијата на јоните, внатре во екстрацелуларниот матрикс и секретирачките макромолекули, чии карактеристики ја определуваат способноста на матриксот за калцификација. Митохондриите, внатре во клетките, акумулираат калциум и фосфор и, ги ослободуваат овие јони како калцифицирачки прогрес. Екстрацелуларниот матрикс на везикулите, извлечен од клетките на некои, но не сите, калцифицирани матрикси, обезбедува место за иницијална депозиција во многу ткива. Меѓу макромолекулите, секретирани од клетките, колагенот обезбедува поддршка за хидроксиапатитните кристали, додека протеогликаните прават контрола на степенот и/или прогредирањето на минерализацијата.

Протеогликаните, гликопроеините, ензимите и самиот колаген, заедно со клетките, ја детерминираат природата на матриксот, додека фосфопротеините,

протеолипидите и фосфолипидите, може да помагаат како хидроксиапатитни нуклеатори кај апатитите кои се депозит, но тоа е интеракција од многу фактори кои ги детерминираат процесите на биолошката калцификација и контролните карактеристики на калцифицираните матрици (17). Како што предходно нагласивме, формациите од дискретни и организирани аноргански кристални структури со макромолекуларни екстрацелуларни матрици, се еден биолошки феномен, кој се реферира како биоминерализација. Биоминерализацијата е високо регулиран процес на репродукција, кој игра главна улога во развојот на скелетното и забното ткиво. Обсервациите на калцифицирачкиот процес, без разлика дали станува збор за нормален или патолошки, кажуваат дека многу форми на калцификација се инициирани од мембранизни органели, т.е. екстрацелуларни "матрикс везикули" од интрацелуларните митохондрии. Матриксот на везикулите ја започнува калцификацијата преку калциум – поврзувачките фосфолипиди и активирање на фосфатазата. Митохондријата употребува сила, директно на калциумовиот и фосфорен транспортен механизам. После минералната иницијација, пролиферацијата на минералните кристали е зависна т.е. контролирана од регулаторни фактори, такви како што се екстрацелуларниот Ca^{2+} и $\text{PO}_4^{(3-)}$ и други минерални инхибитори и промотори. Калцифицирачките заболувања опфаќаат заболувања како што се кристалните депозити кај артритисот, атеросклероза, калцифицирачка валвуарна склероза, калцифициран тумор, дентални камчиња, дентален плак и дисфункционални калцифицирачки појави кај имплантирани кардиоваскуларни уреди, градни и други импланти (7). Защитната мембра на екстрацелуларниот матрикс на везикулите, игра важна улога во иницијацијата и пропагацијата на калциум-фосфатната минерална формација, во калцифицираната рскавица, коските, дентинот и општо во патолошката калцификација. Карактеристични за оваа фаза се: композицијата односно составот, големината на кристалите и, беспрекорното обезбедување на важната проникливост во механизмот на минералната депозиција. Ниските концентрации на пирофосфати, покажуваат апатитни минерали, додека високите концентрации покажуваат незрел калциум пирофосфат дихидрат (72). Матрикс везикулите, се екстрацелуларни, со 100 – нанометарски-дијаметарска мембра, честички селектирано локализирани

внатре во матриксот на коската, рскавицата и предентинот. Тие го одредуваат местото на калцификацијата во скелетното ткиво. Матрикс везикулите биогенетски настануваат од поларизирани зачетоци и под притисок, затворени од везикулите со специфични региони од надворешната плазматична мембрана на хондроцитите, остеобластите и одонтобластите. Започнуваат во селектирани зони на матрикс, со матрикс везикули распределени со локализирана дистрибуција на субсеквентни зони на минерализација. Матрикс везикулите биогенетски растат плочесто, поврзани со хондроцитниот клеточен циклус, рефлектирајќи терен за програмирана клеточна апоптоза. Генерацијата на иницијалните хидроксиапатитни минерални кристали, настанува од внатрешната страна на матрикс везикуларната мембрана, за време на Фаза 1 од биолошката минерализација. Фаза 1 е контролирана од фосфатите (вклучувајќи алкална фосфатаза) и калциумови молекули, со кои матрикс везикулите добро се врзуваат. Фаза 2 од биолошката минерализација, почнува со рушење т.е. разградување на матрикс везикуларните мембрани, експонирани првенствено на хидроксиапатитите од екстрацелуларниот флуид, поради кои минералната кристална пролиферација е зголемена од екстрацелуларните кондиции (услови). Фаза 1 и Фаза 2 од минерализацијата, се под клеточна контрола. Фаза 1 е иницирана од клетки активирани (генерирали) од калцифицирани матрикс везикули и, ослободени на места наменети (одредени) за калцификација. Фаза 2 е контролирана од клетки регулирани од екстрацелуларни јонски кондиции и матрикс композиција (8). Матрикс везикулите, ја олеснуваат минерализацијата со обезбедување ензими, кои ги модифицираат инхибиторните фактори во екстрацелуларниот матрикс, кој од своја страна обезбедува заштита на околната во која минералните јони може да се натрупуваат (18). Патолошката калцификација, вообичаено е иницирана од биолошките мембрани на митохондриите или матриксот на везикулите. Митохондриите често иницираат интрацелуларна калцификација. Матриксот на везикулите, извлечен од надворешната мембрана на клетките во фаза на размножување или клеточни пореметувања, иницираат екстрацелуларна калцификација во калцифицираните тетиви, апатитни депозити кај osteoarthritis, atherosclerosis, срцева валвуларна калцификација, тумпаносклероза и други калцифицирачки заболувања.

Матриксот на везикулите и митохондриите, вообичаено иницираат калцификација, преку взајемна интеракција на фосфатаза ензимите со калциум – обвитканите фосфолипиди (9). Минерал–матриксот е интерактивен регулаторен процес на хидроксиапатитната формација во коските и забите. Во минерализираните ткива, многу анјонски макромолекули се врзани со минерали. Тие се способни, да ги впиваат молекулите со можност да ја регулираат формата и големината на минералните кристали, да го детерминираат местото (локализацијата) на иницијалните кристални депозити и, да го детерминираат видот на минералните кристални депозити. Колагенот, со овозможување на брзината на формирање на хидроксиапатитните депозити, екстрацелуларниот матрикс на везикулите, со обезбедување на заштитна околина за кристалните депозити и, неколагенскиот матрикс на протеините, овозможуваат висок афинитет за хидроксиапатитите, кои имаат големо влијание на минерализацијата *in vitro*. Некои од неколагенските протеини покажуваат способност за промовирање и инхибиирање на минералната формација и нејзиниот раст, без разлика дали тие се концентрирани и имобилизирали, или се слободни во растворот. Овој преглед, на минерал – матрикс релацијата, е инволвиран во ендохондралната, интрамембранизната и, апозиционата коскена формација и, го покажува патот на минералната депозиција, контролиран во калцифицираните ткива кај цицачите. Структурната база за интеракција на матрикс молекулите со хидроксиапатитите е презентирана *in vitro* и *in situ*, имплицирана во матрикс молекулите како интеракција со хидроксиапатитите за контрола на минерализацијата (19). Широко е прифатен фактот дека, клеточната репродукција игра пресудна улога во минерализацијата на дентинот, рскавицата и коската. Иницијален локус на калцификацијата е појавувањето на матрикс–везикули, со 200 nm субмикроскопски екстрацелуларни, мембранизно–обложени честички, кои се составени од остеобласти, хондроцити или одонтобласти, внатре во матриксот на калцифицираните липиди и фосфатази. Додека фазата 1 од минерализацијата, е иницијативна фаза, апатитните формации внатре во матриксот на везикулите, веројатно предходат на аморфиот калциум фосфат. Почекто, ацидните фосфолипиди од матрикс – везикулите, може да го привлекуваат калциумот во форма на

комплекси, односно соединенија со фосфати и протеин. *In vitro* студиите, од парчиња на рскавица и изолирани матрикс–везикули, покажуваат суштински везикуларни фосфатази за иницирање на минерализацијата. Патолошката калцификација е само–обојувачка. При дадени физиолошки количини од Ca_2^+ и $\text{PO}_{43}(-)$, калцификацијата сешири со кристална пролиферација во дополнителниот екстрацелуларен матрикс, опколувајќи ги везикулите (Фаза 2). Додека фаза 2, како дел од кристалната пролиферација, е контролирана од матриксните фактори, колагенот може ориентационо и видливо да ја промовира апатитната формација. Протеогликансите, пирофосфатите, гама–карбоксиглутаминско–киселински составените протеини и фосфопротеини во калцифицираниот матрикс, го врзуваат Ca_2^+ со нивните анјонски субгрупи и, сите покажуваат пречка на хидроксиапатитната формација *in vitro*. Тоа е последна инстанца, која го визуелизира регулирањето на Фаза 2, од инхибирањето на минералниот раст. Калцифицирачкиот процес опфаќа интеракција на сите нив (10). Асоцираноста на липидите со биолошката минерална формација, индицира хистохемиска обсервација. Ова е потврдено со биохемиски студии, кои откриваат дека калциумот врши скок на ацидните липиди, на местото каде е започната минералната депозиција. Морфолошкиот локус на иницијалната минерална формација, ја покажува мем branата на везикулите во екстрацелуларниот матрикс. Неодамнешни студии за изолирани везикули, документирано потврдуваат дека тие се богати со липиди, слични на оние асоциирани со ново формираниот минерал. Везикуларните липиди, се богати со cholesterol, слободни масни киселинки, гликолипиди, лизофосфолипиди и phosphatidylserine. Оваа композиција е слична со мем branата на плазма клетките и докажана на електронски микроскоп, со што е потврдено дека везикулите настануваат од хондроцитната површинска мембра на. Студиите за метаболизмот, покажуваат дека формирањето на везикулите, настанува релативно брзо (за помалку од 6 часа), од биохемиските процеси инволвирали во синтезата и деградацијата на липидите. *In vitro* студиите сугерираат дека везикуларните липиди, може да се инволвирали во поврзувањето со фазата на сепарација на калциум фосфатот, кој претрпнува конверзија во кристален апатит; сепак финалното толкување на механизмот сеуште е оставено отворено.

Не е мал бројот на автори, кои сугерираат дека ацидните фосфолипиди, може да играат значајна улога во контролирањето на почетокот на минералниот развој во матрикс везикулите на калцификацијата (10).

Кај забите, почнувајќи од надворешната површина на забите, емајлот е главен минерал. Емајлот е изграден од различни калциум соединенија, такви како калциум фосфат. Емајлот го нема во клетките, бидејќи е изграден од клетки настанати од *ameloblasti*. Овие *ameloblasti* секретираат емајлови протеини, кои помагаат да се претворат атомите од калциум, фосфор и други минерали во кристали, за ново формирање на емајл. Кристалите растат долго, паралелно со линиите наречени призми. Околу 95 % од емајлот е минерал. Само внатрешноста на емајлот, е материја наречена дентин, кој е донекаде помалку минерализиран од емајлот. Така самиот дентин, не е тврд како емајлот и, дури повеќе вулнерабилен т.е. ранлив на кавитетот. Поголем дел од забниот волумен е дентин, емајлот е тенка обвивка (21).

Попрецизно кажано, емајлот или глеѓта, ја создаваат *ameloblastite* кои потекнуваат од ектодермот, а на секоја емајлова призма и припаѓа по еден *ameloblast*, кој постепено се приближува кон надворешниот емајлов епител, напоредно со создавањето на емајлот. Кога надворешниот и внатрешниот емајлов епител сосема ќе се спојат, глеѓната пулпа се повеќе се смалува. Ова спојување доведува до создавање на емајлова обвивка, што е продукт на спојувањето на остатоците на надворешниот и внатрешниот емајлов епител и епителот на усната празнина. Тоа е т.н. период на раст, после кој се создаваат уште извесни посебни творби на глеѓта. Тврдината на глеѓта е најголема меѓу ткивата во човечкиот организам, по Мос-овата скала (Moss) изнесува меѓу 5–8 (нешто помеѓу тврдината на кварцот и апатитот). Се намалува кон емајловодентинската граница. Таа инаку е кршлива структура со висок модул на еластичност и низок степен на растегливост, што зборува за ригидна структура. Хемиски, глеѓта како високо минерализирана кристална структура, содржи 95–98% аноргански материји (калциум карбонат, магнезиум фосфат и разни други соли), а останатиот дел се органски материји (2–4%) еукератин, гликопротеин, кисел мукополисахарид, пептид, липоид и сл. Тоа е хидроксиапатит $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot (\text{OH})_2$. Дентинот е потврд од коската и цементот,

но помек од глеѓта. Се состои од : 75% неоргански материји (калциум фосфат, калциум карбонат, магнезиум фосфат и други соли, така што по својата минеролошка структура, спаѓа во хидроксиапатити). Од органските материји содржи колагени и основна супстанца (мукополисахариди). Хидроксиапатитните кристали, се со помала системска ориентација, тие се помали, но со поголема вкупна површина во ареите на кристалите на волумен маса од глеѓните кристали. Како резултат на тоа, тие повеќе и побрзо се раствораат во киселини, а исто така и кариозниот процес побрзо напредува. Цементот е тврдо дентално ткиво, кое го покрива анатомскиот корен на забот, а го формираат клетки цементобласти, кои се развиваат од недиференцираните мезенхимални клетки. Цементот е помек од дентинот и се состои од околу 45 – 50% анергански материји (хидроксиапатит), 50 -55% органски материји (колаген и протеински полисахариди) и вода (118).

Фрлачи во далечина, млади атлетичари, имаат појава на патолошки калцификати. Кај bursitis, tendonitis (tetivitis), артритични услови, исто така има присуство на патолошка калцификација.

Направена е т.н. калциум листа, од cataracta, diabetes, камчиња во жолчката, камчиња во бубрег, дентални камчиња, калцифицирани цисти во хепарот, паратироидни заболувања, склеродермија, калцификати во тетиви, кои се наоѓаат на ова место. Ова ја покажува само физичката локализација во сите системи. СТ – скенерот го покажува физичкиот прогрес на калцификацијата. (27).

Калцификацијата и некрозата, долго време се веќе познати. Од ткивните компоненти клетките се најосетливи. Сепак, малку внимание е посветено на улогата на клеточното изумирање во калцификацијата. Направен е обид за објаснување на механизмот на калцификацијата, со нагласување на апоптозата во калцификацијата. Краткиот преглед на основните сознанија, релевантни за калцификацијата, е проследен преку дискусија за абнормалниот Ca_2^- и фосфатната хомеостаза, со клеточната осетливост и апоптозата. Мислењето за покачување на калциумот и фосфорот во матриксот на везикулите, формирано од апоптозата и/или некротизирање на клетките, е видлив основен механизам на калцификацијата. Додатно, мембранизните клеточни деградациони продукти, се резултат на клеточната дезинтеграциона

in toto фрекфентност, претставена како нидус на калцификацијата. Објавените податоци за физиолошката калцификација, се компарирани со најдените во различни дистрофични калцинози. Вака е дојдено до заклучок дека, апоптозата многу веројатно учествува во механизмот на физиолошката и патолошката калцификација. Тоа ја комплетира калцификацијата, со значајна функција на апоптозата. Механизмот на калцификацијата кај клеточните деградациони продукти и морфологијата на резултатите на калцифицираните депозити е сложен процес (105).

Денталните калцификати, како посебен ентитет во патолошката калцификација, може да се јават како резултат на дегенеративни промени во пулпата, кога околу некој осификационен центар ќе се напластат минерални материји. Тоа може да бидат некротични клетки, кои може да се ресорбираат или калцифицираат. Осификационен центар може да бидат и колагени влакна, алтерирана основна супстанца, хијалино дегенерирано пулпно ткиво и сл. Се смета дека, настанувањето на денталните калцификати може да биде и од сидот на кавумот на пулпата, каде може да започне таложење, како резултат на зголеменото создавање на дентин (58). Специфични антитела од тип I колагени и неколагени протеини (*osteopontin*, *osteonectin* и *osteocalcin*), се пронајдени во калцифицираниот матрикс, бидејќи клетките од денталната пулпа продуцираат *osteopontin* *in vitro*. По деминерализирање на дентиклите, на кои е направена сериска секција, тие се препарирали и подложени на имунохисто-хемиски процедури.

Тип I колаген – *osteopontin*, се локализира дури и во дентиклот, индицирајќи дека е главна компонента на матриксот на дентиклот. Потврдено е дека, силни имуно-обоени дамки се појавуваат во периферната ареа на дентиклот, за разлика од *osteonectin*-от и *osteocalcin*-от, кои не се присутни. *Osteopontin*-от често се наоѓа и во други патолошки калцификации (114,77), како уринарни камчиња, остеосклеротичен плак.

Сите овие наоди сугерираат дека, *osteopontin*-от, продуциран од клетките на забната пулпа, е можно поврзан со калцификацијата на дентиклот.

Распореденоста на екстрацелуларните молекули на матриксот, посебно на колаген тип I, III, V и VI, во екстрацелуларниот матрикс на сврзнатото ткиво во забната пулпа на различна возраст, се проучува по пат на поларизирање и, на индиректно имунофлуоресцентно микроскопирање, со употреба на конвенционален флуоресцентен микроскоп и, конфокален микроскоп за ласерско скенирање. Поларизирањето и имунофлуоресцентното микроскопирање на парафинските делови, покажуваат густи дебели влакна од колагенот тип I, кои претставуваат главна компонента на матриксот на сврзнатото ткиво на забната пулпа. Со индиректно и имунофлуоресцентно микроскопирање, се утврдува дека тенките влакна и малите снопчиња од колагенот тип III, се едни од главните фибрилни елементи присутни во матриксот на забната пулпа. Колагенот тип IV е откриен со јасно и интензивно премачкување на основната—долната мембра на крвните садови, кај сите возрасти на испитаници. Колагенот тип V и колагенот тип VI, формираат густа мрежа од тенки микрофибрили низ целата строма на сврзнатото ткиво на забната пулпа. Овие влакна, се лоцирани околу крвните садови и, се чини дека се помногубројни во субодонтобластичниот слој. Испитувањата со употреба на конфокален микроскоп за ласерско скенирање, откриено е постоење на влакна од колагенот тип IV, спирално поставени помеѓу целосно диференцираните одонтобласи, се до предентинскиот слој. Се покажало дека различни типови на колаген влегуваат во составот на дентиклите (114). Долготрајните дразби како: кариозен процес, длабоки реставрации, хронични воспаленија на пулпата, трауматски повреди на забот, ортодонтски интервенции, се поврзуваат со оваа појава. Истражувањата на ниво на флуор апликација и абнормална дентална пулпна калцификација, индицира сооднос меѓу флуор-профилаксата и специјалната форма на пулпна калцификација и забна анкилоза (52). Дентиклите почесто се присутни кај моларите (кај горните први молари почесто од горните втори молари), во споредба со премоларите и инцизивите. Поголем процент на дентикли се сретнуваат кај заби во maxilla – во однос на mandibula, со исклучок на инцизивите, кои се почести во долната вилица. Процентот на застапеност на дентиклите по

пол, покажува дека тие се повеќе застапени кај машкиот пол споредено со процентот на застапеност кај женскиот пол, во двете вилици. Најголем процент на застапеност на дентикли најдени се кај пациенти со старосна граница од 30 до 40 години. Споредбата на забите кои се кариозни или реставрирани, во однос на интактните заби, покажува дека дентиклите почесто се среќаваат кај кариозни, односно реставрирани заби, а поретко кај нереставрирани (5). Во поглед на големината, калцификатите покажуваат широк степен на варијации. Добиените наоди покажуваат вредности помали од 1 микрон, до 1 см., мерено во примероци со континуирани ареи на калцификати, кои ја исполнуваат скоро целата пулпа, во лонгитудинален правец. Попречниот пресек се движи во граници од 20 до 200 микрони, а надолжниот пресек е до 500 микрони. Според обликот, издвоени се две групи. Едната група ја сочинуваат калцификати кои имаат овален облик со степен на закривеност близку до кружни или сверични објекти. Тие се јазловидни – нодуларни. Другата група на калцификати, се калцификати неправилни по облик, агловидни, освен поголемите, кои се релативно издолжени. Сверичните калцификати покажуваат тенденција на групирање според бројот со средна вредност од 3 калцификати по волумен од една пулпа. Неправилните по форма калцификати, не покажуваат тенденција на групирање, според бројчаната застапеност по волумен од една пулпа, иако во просек се повеќе на број од сверичните калцификати. Гледано во лонгитудинален правец, при ординарна сегментираност на пулпата во три третини, калцификатите се локализирани во секоја третина како и на преодот од истите. Сверичните калцификати се застапени повеќе во средната третина, а неправилните по форма калцификати не покажуваат предилекција. Во однос на попречниот промер од пулпата, дел од сверичните калцификати се поблиску кон латералните граници на пулпата, односно површината на пулпата. Друг дел од сверичните калцификати и калцификатите неправилни по форма, се сместени повеќе централно, како и по цела широчина на пулпата. Калцификатите во денталната пулпа може да се дентински и недентински. Дентинските калцификати се сверични, нодуларни, солитарни или повеќе на број, содржат поголема количина на

органски матрикс, застапени во помладата возраст, имаат хамартоматозен аспект. Недентинските калцификати можат да бидат нодуларно сверични, неправилни по форма, до дифузни пунктиформни инкрустации. Содржат помала количина органски матрикс, застапени повеќе во средната и постара возраст, имаат инфламаторно дистрофична позадина. Кај пародонтопатични заби, во коронарните и во радикуларните делови на пулпата, можат да се сретнат обилни дистрофични калцификации (5). Докажано е дека денталните калцификати може да имаат и бактериска етиологија. Се спомнува *Nanobacterium sanguineum* како можен предизвикувач за создавање на дентални калцификати. Прв чекор во ова докажување е направен со флуоресцентно моноклонално усмерување на антитела против клеточниот сид на *Nanobacterium sanguineum*, при што камчињата се декалцифицирани со HCL. Опсервацијата со електронска микроскопија индицира дека здравите заби изгледаат добро, додека тие со дентикили имаат нерамнини, калцифицирани наслаги со димензии и облик сличен на *Nanobacterial* колониите, враснати во ткивото. На крај здравиот заб се инкубира со лабораториски резерви на *Nanobacterium sanguineum*. По еден месец предходно здравиот заб не изгледа така добро. Сега овој заб содржи бројни шуплини, колкосферили, идентични на *Nanobacterial* во ткиво или "препокриени" со "бubreжни камчиња". Дентиклите содржат *Nanobacterium sanguineum*, што докажува дека нанобактеријата може да предизвика создавање на апатитни дентикили на забната површина. Се предпоставува дека се развиле кога инокулирале во забите, што докажува дека *Nanobacterium sanguineum* е зависна од калциум. Со набљудување на растот на *Nanobacterial*, се забележува дека тој е со покачена вредност на калциум. Со електронски микроскоп се докажува присуството на "зрна" на *Nanobacteria*, која енергично расте на калциумот. Оваа бактерија може да влезе во организмот по орален пат како дополнување на парентералниот и трансплацентарниот пат. Овие форми на заболувања кај забите, резултираат со загуба на здравје, за сметка на остеолитичниот процес. Тестираните дентикл-формирачки бактерии, всушност почесто се познати по нивната кариогена способност (101).

Иако не ги обработуваме кардиоваскуларните заболувања, поради нивната важност, вредно е да се спомне дека, СОХ А.В. и сор. ја детерминирале релацијата, а воедно ги презентирале дентиклите и анамнезата на кардиоваскуларните заболувања, како и фамилијарната анамнеза на кардиоваскуларните заболувања. Истражувањето го реализирале со 55 испитаници на возраст од 20-55 години, кои пополнувале прашалници кои содржеле прашања за кардиоваскуларни заболувања и фамилијарна анамнеза. Критериум им биле заби со минимални реставрации, не кариозни молари и поширока анамнеза, бубрежни воспаленија и бубрежни литиази, како и содржината на периапикалните рендгенски резултати кои го докажуваат дентиклот. Во резултатите наведуваат дека постои 95 % поврзаност на дентиклите со личната анамнеза, додека поврзаност на дентиклите со фамилијарната анамнеза не постои. 74 % регистрирани пациенти со кардиоваскуларни заболувања, имале дентикили, 39 % пациенти кои немале пријавено кардиоваскуларни заболувања, исто така имале дентикили (50). Авторот Т. Kodaka и сор. работеле на споредба меѓу дентикили во пулпа кај човечки заби, со животински заби, поточно заби на крава. Според нив, дентиклите во пулпата на човечките заби зодржат биолошки апатит. Тие истражувале на крава со возраст од 12 години, при што набљудувале "сферулитни" камчиња до 200 μm дијаметар, кои содржеле радијално поставени кристали со неколку видови светлосна микроскопија и скенирачка електронска микроскопија, вклучувајќи и спореден електрон, како и повратно-распрскувачки сигнали. Кристалите се шират лепезасто, тврдат овие автори, кон периферниот дел, прикажувајќи правоаголна ограниченост со долги продолжетоци на кристали и фини зарези на NaOCl -растворливи супстанци. Веројатно се вклучуваат и органски зависни и аморфни минерали, нагласуваат авторите. Со примена на дисперзни X – зраци за микроанализа, во камчињата откриле големи количини на Ca и P и, траги на Na, Mg, Cl и Fe. Кристалите на калциум фосфатот, ги идентификувале како биолошки brushite (DCPD) со граници, Ca/P моларен сооднос, како и електронска дифракција т.е. прекршување. Средишниот дел на камчињата, според нив, содржи гранулирани структури, веројатно еритроцити, кои секогаш се присутни во крвните садови и, така наречени ректандуларни кристали, кои често пробиваат

во крвните садови. Авторите тврдат дека така наречените "nidi", биле комплетно или делумно растворени, но периферните делови покажуваат радијален редослед на еритроцитите. Овие "nidi", може да се тромби или некротична крв со еритроцити. Авторите заклучуваат дека вакви "calcospherulites", во забната пулпа кај крава, се слични со "spherulitic" забни камчиња кај човекот, но нивните "nidi" би можеле да се присутни во разни делови (106). Како можна причина за настанување на денталните калцификати, истражувани се и некои ендогени фактори, при што наодите кај некои пациенти со дентикили, сугерираат зголемен процес на калцифицирање не само во пулпата на забот, туку и во други органи на организмот. Големо внимание треба да им се посвети на општите фактори од типот на васкуларните нарушувања, посебно калцифицирање на крвните садови (50). Релацијата помеѓу денталните калцификати и одредени васкуларни пореметувања, што статистички е докажана (50), сугерира дека понекогаш некој крвен сад или тромб, може да стане осификационен центар, кој подоцна калцифицира и се претвора во ваков вид творба. Калцификацијата може да биде локализирана пошироко во организмот.

Докажана е поврзаност на денталните калцификати со калцификати во скелетот (34,6). Стојановски Ј., Димкова Љ., во 1975 година, следејќи одредена група на пациенти, во период од една година, откриле присуство на дентикили, а од резултатите, што ги добиле од снимањето на скелетот, можноло да се види дека, кај дел од пациентите биле присутни калцификати во рамото (154).

Најблиска калкулозна формација на денталните калцификати е сијалолитијазата (камчиња во плунковните жлезди). Тоа е калкулоза во плунковните жлезди, која доведува до оштетување на мастикаторната функција. Имајќи предвид, дека исхраната е основна биолошка функција, нејзиното оштетување доведува до последици кои во голема мера го отежнуваат нормалниот живот во секојдневието. Лошата исхрана, консумирањето на поголеми количества алкохол, психофизички, хемиски и метаболни нарушувања, како и воспалителни промени во изводните канали, се сметаат за етиолошки фактори. Формирањето на камчињата во плунковните

жлезди е комплексен механизам, каде инфективните, механичките, невровегетативните дисрегулации и други агенси синхроно дејствуваат и на тој начин приготвуваат терен за нивно настанување. Во патогенезата на сијалолитијазата некои автори го гледаат и нарушувањето на рамнотежата на колоидите и кристалоидите, т.е. во нарушувањето на концентрацијата на кристалоидите и намаленото заштитно дејство на колоидите. Колоидите можат да се згрутчат околу бактериските остатоци, кои можат да се најдат во центарот на камчето. Плунката станува презаситена со спомнатите соли, со што тие почнуваат да се наталожуваат, формирајќи јадро околу него (163). Етиологијата на оваа болест опфаќа локални фактори, како што се : појава на страни тела, присуство на микроорганизми во изводните канали и во самиот паренхим на плунковните жлезди, наместа стеснувања на изводните плунковни канали и, бавно излачување на плунката. Општите фактори опфаќаат : пореметувања во метаболизмот на неорганските соли во организмот, заболувања на одделни системи како дигестивниот, кардиовскуларниот, респираторниот и други системи, начинот на исхраната влијае на формирањето на плунковните камчиња (доколку храната е тврда) и при нејзиното земање се конзумира чај или слични напитоци тогаш доаѓа до зголемено лачење на плунка и обратно, кога се употребува течна храна, тогаш е намалена плунковната секреција, што овозможува побрзо создавање на калкулуси. Авитаминозата на витаминот А , заедно со другите фактори, има значајна улога во создавањето на камен во плунковните жлезди и во нивните канали. Морфолошките промени во жлездите при авитаминозата А, укажуваат на појавата на дегенерација и десквамација на епителните клетки, што служат како јадра за формирање на калкулуси. Исто така доаѓа и до пореметување на секрецијата на плунката. Покрај тоа, при оваа авитаминоза, доаѓа и до создавање на камчиња во бурезите и во мочниот меур. Констатирано е кај овие случаи, дека доаѓа до пореметување на метаболизмот на калциумот и, до значително зголемување на неговата концентрација (158). Калкулозата (камен во паренхиматозни органи) е честа болест, која се манифестира во пределот на изводните канали на црниот дроб, бурезите и плунковните жлезди. Додека во пределот на црниот дроб и бурезите, калкулозите доведуваат до тешки паренхиматозни промени, кои можат да го загрозат и животот на болниот,

калкулозата во плунковните жлезди доведува до оштетувања на мастиаторната функција. Според тоа, под поимот сијалолитијаза се објаснува состојба создадена од повеќе етиолошки фактори во организмот. Стазата на плунката поради отежнатиот нејзин одвод во оралната шуплина, доведува до појава на једеми кои пациентите често ги поврзуваат со дентогено потекло. Сијалолитијазата која уште се нарекува и калкулозен сијалоаденитис, ја карактеризираат присуството на сијалолити во каналиуларниот и во паренхиматозниот дел. Етиопатогенезата на сијалолитијазата, претежно на субмандибуларната плункова жлезда, се уште е нејасна, со контрадикторни мислења. Повеќе автори сметаат дека покрај воспалителните промени во изводните канали, нарушениот метаболизам на калциумот, хипо и авитаминозите и намалените имунобиолошки способности, можат да бидат причинители. Во почетната фаза на формирањето на калкулусите, присутен е десквамираниот епител во изводните канали. Од него се формира органска строма на која подоцна се таложат калциумови фосфати и карбонати и поретко оксалати, а најретко и апатити. Најчести се калкулусите во субмандибуларната плункова жлезда поради анатомотопографијата и ангулираниот изведен канал, кој ја отежнува и ја забавува евакуацијата на плунката. Изводниот канал во сублингвалниот предел, често е изложен на локални трауми, присуство на туѓи тела, воспалени лимфогландули, лошо изработени протетски направи и др. Развојот на калкулозата е мултикаузален процес. Се уште не е најден оптимален одговор кој ќе ги реши дилемите за создавањето на калкулусите во плунковните жлезди (163).

Уринарната калкулоза е едно од правооткриените калцифицирачки заболувања во медицината. Еден од големите антички лекари во Персија, Rhazes (860-932 г.п.н.е.), во своите записи од сите области на медицината, ја описал калкулозата во уринарните органи, за која сметал дека се создава поради внес на големо количество сол и изложеност на организмот на големи температури. За лекување на оваа болест предлагал внес на поголеми количества на течности и помало изложување на организмот на високи температури. Galenus (131-201г.п.н.е.), најголемото име на античката медицина по Хипократ, се занимавал со калкулозната болест. Тој ги запишал своите сознанија за

влијанието на расата, климата, исхраната, водата за пиење и наследноста во создавањето на калкулозата. Galenus прв се посомневал во метаболното потекло на каменот во бубрег. Докажал дека уратниот депозит при гихт има иста причина како и создавање на каменот во бубрег. Калкулозата може да биде локализирана во сите делови на уринарните патишта: во бурежниот паренхим, чашките, пиелонот, уретерот, мочниот меур и простата. Каменот може да се создаде во мочниот меур или во неговиот дивертикулум како последица на субвезикална опструкција, или да биде задржан на патот од горните уринарни патишта, а може да се заглави и во уретрата. Уролитијазата е често заболување, кое не претставува одделно заболување, туку се состои од група на заболувања со различна етиологија и патогенеза, чија крајна последица е формирањето на камен. Хемискиот состав на каменот е различен. Во секојдневната практика се среќаваат следните хемиски состави на калкулоза: калциум-оксалатен камен, оксалатен камен, калциум - фосфатен камен, фосфатен камен на уринарна инфекција, уратен камен и цистински камен. Секој вид на камен има свои предизвикувачи, но често е присуството на калкулуси со мешан хемиски состав и, тоа од две или повеќе соединенија. За полесно проучување на етиологијата постојат и други две поделби: инфицирани или неинфирцирани и примарни или секундарни камења. Инфицираниот камен се создава во инфицирана средина, како продукт на инфекцијата, а неинфирцираниот се создава во стерилна урина. Примарниот камен е создаден во самиот орган, а секундарниот потекнува од горните уринарни патишта или е создаден како последица на придружно заболување, кое за органот е примарен патолошки процес. Анализирањето на секундарната калкулоза, асоцира на сознанието дека создавањето на каменот е последица на некое локално нарушување, кое честопати може да се поврзе со заболувања на други места во организмот (153).

Калкулозата на уринарниот тракт е често заболување, кое во поново време се поврзува и компарира со калкулозата во жолчното кесе (и покрај многу различната етиологија), кое е исто така често заболување кај нас. Хируршкото отстранување на жолчното кесе, во Република Македонија, во изминатите 20 години, забележува пораст од 8 до 12% за секоја година и, се смета за

најфрекментна абдоминална операција. Причините за овој пораст се добиени со испитувања направени кај нашето население, кои ги покажуваат факторите на ризик кои имаат влијание во порастот на болеста, од кои најзастапени се: состојба на стрес со 83%, здебеленост и надхранетост 60,6%, фамилијарна склоност и генетски влијанија со 32,8%, потоа конзумирање на обилна масна храна и бројот на бремености. Оваа калкулоза најчесто се јавува кај особи помеѓу 30 и 60 годишна возраст, но може и кај помлади, па и кај деца и доенчиња. Постојат сознанија, според кои извесен број на пациенти, носат латентно, без напад, камен во жолчното кесе во тек на целиот живот. Жените заболуваат пет пати почесто од мажите. Се претпоставува дека заболувањето се јавува често кај особи кои веќе боледуваат од артериосклероза или покачен крвен притисок, шеќерна болест, или кај други заболувања поврзани со пореметувања на размената на материите. Уште во 1983 година, констатирано е дека не се ретки случаите, болниот истовремено да боледува и од камен во бубрег (135). Жолчните камчиња примарно се создаваат во црниот дроб. Хепарот претставува лабораторија на организмот, бидејќи во хепатоцитот се одигруваат многубројни метаболички процеси. Важна улога на хепарот е, да ги метаболира главните "градежни материјали" во организмот: мастите, белковините и јаглеродните хидрати. Покрај оваа улога, тој ги метаболира и хормоните и витамините. Една од важните функции е екскреторната функција на црниот дроб, односно формирање и екскреција на жолчка. Како значајна функција на црниот дроб се издвојува регулацијата и метаболизмот на жолчните киселини, кои се одвиваат преку нивната синтеза, конјугација и секреција во вид на жолчка. Преку овие процеси, црниот дроб ја одржува рамнотежата на холестеролот, од една страна, а од друга страна обезбедува површинско активни "детергенски" молекули, што ја олеснуваат хепаталната екскреција на холестеролот и интестиналната ресорпција на липидите. Холестеролот континуирано се синтетизира од страна на сите ткива. Дел од него непроменет се користи за структурни компоненти на мембраниите, дел се екстракира непроменет од страна на црниот дроб во жолчката. Мали количества служат како прекурсори во синтезата на стероидните хормони. Голем дел од холестеролот во црниот дроб, се конвертира во високо поларни жолчни киселини, кои потоа се секретираат во жолчката. Трансформирање на

холестеролот во жолчни киселини и способноста на жолчните киселини дополнително да го држат во растворена состојба холестеролот во жолчката, е главен механизам за елиминација на холестеролот од организмот. Денес се смета дека постојат три механизми за создавање на жолчка од хепатоцитот и тоа: активна секреција на жолчни киселини од хепатоцитот, која бара енергија; секреција од страна на хепатоцитот, независна од жолчните киселини-веројатно со активен транспорт и, секреција на раствори од електролити од жолчните канали. Жолчните камчиња, може да бидат локализирани во целиот црнодробен систем: во жолчните патишта внатре во црниот дроб, во жолчните патишта надвор од црниот дроб, но со најголема застапеност се среќаваат во жолчното ќесе и во холедокусот. Тие истовремено може да се создадат и во целиот црно дробен систем. Реакцијата на жолчката зависи од исхраната (мастите ја намалуваат а зеленчукот ја зголемува pH), лекови и други надворешни фактори. Осмотскиот притисок на жолчката е нешто поголем од осмотскиот притисок на крвта. Со темнозлатнокафејава, темнозелена до смоластоцрна боја, концентрирана и вискозна, жолчката од жолчното ќесе, има специфична тежина од 1036 -1050 и pH под 7. Нејзината концентрација, мерена според жолчните соли, пигментот и холестеролот, поголема е за четири до десет пати од концентрацијата на жолчката од хепар. Дневната продукција на жолчка од хепарот изнесува од околу 700 до 1200 ml, при што голема количина на изотоничен воден раствор на NaCl и бикарбонат се ресорбира во жолчното ќесе. Жолчката од хепарот и од жолчното ќесе се разликуваат по составот. Жолчката од жолчното ќесе може да биде побогата со цврсти состојки и до десет пати во однос на хепарната жолчка, поради што зачестеноста на камчиња во жолчното ќесе во однос на хепарот е многу поголема. Жолчката од жолчното ќесе содржи: 84% вода, 11,5% жолчни соли, 3% лецитин, 0,5% холестерол и 1% други супстанци. Таа содржи, исто така и 80–279 gr, вкупни цврсти супстанци на 1 литар жолчка, при што жолчните киселини сочинуваат 53-71%, жолчни липиди 23-29%, а сите останати состојки помалку од 15% цврст остаток на жолчката. Жолчката претставува секреторен и екскреторен производ на хепарот, кој е од витално значење за цревната дигестија и апсорпција. Супстанците кои се излачуваат во жолчниот систем, потекнуваат од крвта.

Нив од крвта, ги апсорбираат клетките од хепарот, при што некои од тие супстанци претрпваат метаболни промени во хепарот уште пред да бидат излачени во жолчката, преку процесите на интрацелуларен транспорт или активна дифузија. Протекувајќи понатаму од жолчните капилари и каналикули низ каналите со се поголем калибар, зафатнината и составот на жолчката се модифицира и менува пред да се влее во дуоденумот или жолчното кесе. Составен дел на жолчката се: билијарните електролити, соли на жолчна киселина, холестерол, фосфолипиди и останати состојки на жолчката како билирубин и жолчни протеини. Во зависност од концентрацијата на составните делови на жолчката, се формира и составот на создадениот калкулус во жолчното кесе. Може да се создаде само еден калкулус, но може да ги има и до неколку десетици мали калкулуси, познати како "пловечки камчиња", камчиња кои се движат (175). Во клиничката пракса постои поделба на холестерински и билирубински калкулуси во жолчното кесе. Подетално кажано, зависно од природата на дисбалансот на жолчката, се формираат камчиња во жолчното кесе, кои имаат доминантна количина на холестерол или пигменти. Тие може исто така да содржат различна количина на калциум, муцини и протеини. Тука се вклучени повеќе интермедијатни состојби, кои овозможуваат формирање на многу варијации на камчиња, кои се разликуваат од пациент до пациент. Познати се : холестеролски камчиња (составени од 75% холестерол, пигменти, калциум, муцини, протеини), со 70 – 90% застапеност од сите камчиња во жолчното кесе; мешани камчиња (имаат исти состав како предходните, но со посебно мала холестеролска порција и, 10 – 30% застапеност од сите камчиња во жолчното кесе; калциум – билирубински камчиња или "кафено пигментирани камчиња" (содржат помалку од 30% холестерол, траги од Ca – билирубинат), со ретка застапеност во жолчниот канал; "црно" пигментирани камчиња (содржат црн пигмент, муцини, протеини) со минимална застапеност. Според надворешниот изглед, познати се како : радијален камен, камен со форма на буре, камен со форма на капина и крупен жолчен песок (175).

Патолошката калцификација е резултат на различни болести. Според објавените студии, најдена е заедничка алка во сите овие болести, каде присуството на одредена форма на живот е слична на бактериите(102). Тоа се минерал – продуцирачки бактерии како причина за заболувања кај човекот. Составот на оваа форма се манифестира како нанобактерија, поточно *Nanobacterium sanguineum*. Нанобактериите (NB) се со големина приближно од 20–200 нанометри. Тоа се малку познати бактерии кои содржат самореплицирачки агенси и, кои мора да се разликуваат од сличните на нив бактерии како што се: *Eubacteria* и *Archaeabacteria*. Нанобактеријата индицира калциум – фосфатна минерализација во физиолошки или нешто пониски концентрации. Таа е активен фактор за кристализација на калциумот, фосфорот, минералите и карбонат апатитите. Нанобактериите се наоѓаат во дел од денталните калцификати, но и во други ткива и органи, во крвта, во калцификати од други органи, во серумот. Тие предизвикуваат создавање на калцификати и калкулуси. Голем број научни истражувачи веруваат дека нанобактеријата е причина за целата патолошка калцификација кај човекот и цицачите. Таа е цитотоксична, стерилна – филтерабилна, грам – негативна, атипична бактерија, откриена во крвта на цицачите (92). Во 1990 година, комплетно е евидентиран абнормалниот калцифицирачки процес во сите болести, предизвикани од мали бактериски организми, наречени *nanobacterium sanguineum*. Овој бактериски вид, многу бавно, за време на долгогодишен период, произведува калцифицирана промена на кожата, како резултат на падот на имунолошкиот систем, долготрајна употреба на антибиотици, зрачења и дури хемотерапија. Студиите покажуваат дека, можеби нанобактеријата потекнува од инфицирани крави и контаминирани вакцини, изработени од нивната крв. Веројатноста е голема, бидејќи ако сте примале некогаш вакцина, сте примиле нанобактерија во вашата крв, ткива и органи. Исто така има сознанија дека таа се наоѓа во загадените речни води (92).

Во литературните податоци, приказите од поединечни описи на калцификати, се од актуелните аспекти (етиолошки, хистолошки, статистички и, во поново време лабораториски испитувања).

Терминот "Nanobacteria" е кратенка во научниот свет, со полно име "Nanobacterium sanguineum", што е латински термин за крвна бактерија. Нанобактеријата е со "нано"- големина од 20 – 200 нанометри и е описана како малку позната само – реплицирачка бактерија. Нанобактеријата е најмала од сите познати бактерии. Многу критичари веруваат дека таа е помала од минималната возможна големина за животински клетки. Компаративната со познатите бактерии NB е 1/1000 големина, што и дозволува лесно движење внатре во други клетки, инвагинирање во нив. Нанобактеријата предизвикува апоптоза, кога е во контакт со други клетки или бактерии кај цицачите. Таа може да доведе до алтерација, односно промена на генетската форма на други клетки. Кога се компарира со други бактерии, таа расте многу, многу бавно, само репродукцијата и е на секои 3 дена. "Нормално" бактериите се размножуваат во минута или час. Нанобактеријата не може да биде одгледувана во стандардна култура, може единствено да биде одгледувана во крвта или серумот на цицачите. Нанобактериите се "плеоморфни", со што тие добиваат различни физички тела, за време на нивниот животен циклус, може да го променат изгледот и формата, додека растат и се развиваат. Описана е една форма со големина од 20 – 100 нанометри, со "уникатна" и "необична" клеточно - мемранозна структура. Оваа форма на заштитувачка "капа" или биофилм со секретирање на калциум, околу самата себе, обезбедува заштита и дозволува повеќекратна нанобактериска конекција, соработување и некаква функција самостојно или во колонии. Овој калцифицирачки биофилм и дозволува на NB да може да експандира, да се контрахира и движи. Оваа биофилм – фаза од нанобактеријалниот живот, се појавува кога нанобактеријата хемиски е нападната, кога претрпнува физиолошки стрес, нагласен напад од околната, кога нанобактериите меѓусебно соработуваат или се множат. Калцифицирачкиот биофилм, така секретира од нанобактеријата потенцијален endotoxin, кој е медијатор за инфламација и оток. Со други зборови, човечкиот организам реагира агресивно во одговор на присуството на овој нанобактериско-секретирачки биофилм со оток и иритација, се ослободуваат цитокини, интерлеукини, леукоцити, масни клетки, колагеназа, матрикс металопротеиназа и др. Организмот на човекот реагира со напор на посебната зона на нанобактериската инфекција. Кога нанобактеријата

формира зона, таа предизвикува хронична инфламација и оток. Повеќето од познатите медицински ознаки на “маркери за инфламација” (C Reaktiv Protein, MMPs, MPO, Interleukini и др.), се основа за подигање на одговорот на ендотоксинот во нанобактеријалниот биофилм. Хроничните инфламаторни реакции се вообично присутни во зоните каде нанобактеријата е основа. Нанобактеријата може да заразува кое и да било ткиво или клетка со убивање на Т-6 лимфоцитите, кои се значаен дел од нашиот имунолошки систем. Кога човечкиот одбрамбен систем се намалува, нанобактеријата инвагинира во лимфоцитите и NK клетките и предизвикува нивна апоптоза. *Nanobacterium sanguineum* предизвикува “инфекцијено заболување”, со значење дека тоа е нов пронајдок, кој научно-истражувачки е описан. ДНА и РНА веќе се докажани и маркирани од повеќе научни истражувачи. Таа е непозната бактерија кај луѓето (96).

Изолирана нанобактерија

Минерализираните партикли, со сите физички карактеристики на нанобактерија, вклучувајќи ја нивната способност да инициира биоминерализација на трансфер на свеж DMEM, даваат успешна “култура” од FBS и човечки орални примероци. SEM на биофилм материјалот, изгребан од субкултури на филтерска мембра на плунка, припремена после три или четири сериски трансфери во свеж DMEM, со што се откриваат локални групи (клустери), од мали кокоидни партикли, слични на оние, предходно утврдени како нанобактерија. Освен тоа, големи вредности на калциум и фосфор, детектирани се од EDX, од индивидуални партикли на култури, презентирани преку микрокристални апатити, слични на тие во човечката коска, детектирани со рендгенографија. Партиклите, треба претпазливо да се идентификуваат како нанобактерија, бидејќи тие наликуваат на без животни структури, порано детектирани, без разлика дали аморфниот калциум фосфат е формиран од стерилни раствори од аноргански состав или формиран од калциум во присуство на органски материјал.

До можен билошки доказ, за егзистирањето на група мали микроорганизми како “нанобактерија”, дојдено е преку култивирање на оваа “бактерија” од комерцијални FBS, човечки serum и, бubreжни и дентални пулпни камчиња.

Нанобактеријата е почетно описана како споро-растечка, интрацелуларно контаминирана во култура на клетките кај цицачите. Под влијание на присуството на нанобактеријата, јонизирачката радијација и мембранизната филтрација, може на места да се оштетат или отстранат неживите макромолекуларни јадра на биоминерализацијата, пример кај фосфолипидниот комплекс во серум или липидно-протеинскиот комплекс во плунка. Овие резултати, може да бидат објаснети во термини со релативно висока концентрација на калциум и фосфатни јони во DMEM (i.e. 1,8 mM и, 0,9mM, респективно), кои се метастабилни и компарабилни со оние употребувани во студиите со *in vitro* минерализација. Компоненти од серум или плунка, се потенцијални нуклеатори на биоминерлизацијата во примарните нанобактеријални култури со намера конечно да се разблажат надвор на субкултури и, така овие компоненти може да не се сметаат за долготраен пренос на биоминерлизацијата во свеж медиум. Апатитите се исто така нуклеатори. Ефектот од апатитите на метастабилната концентрација од калциум и фосфатни јони во DMEM, е суфициентен за сметка на двата подржувачи на животниот пренос на биоминерлизацијата и широк опсег на морфолошки форми на предходно описаните особини на нанобактеријата. Студиите за нанобактеријата, се инициирани со потврдени и продолжени молекуларни и бактериолошки карактеристики на необично малите микроорганизми. Размиславано е дека, ако нанобактеријата е толку распространета како што се кажува (реф. 6-11 и 20; i.e., презентираните 80% од комерцијалните многубројни FBS, многу бурежни и дентални пулпни камчиња), овие микроорганизми, би требало да егзистираат во човечките орални примероци. Понатамошното детално испитување на нанобактерискиот дериват, е главно од примероци на човечка плунка, откривајќи ги сите очекувани карактеристики, вклучувајќи и пренос на биоминерлизацијата. Дефинитивен доказ во подршката на животната суштина како причински фактор на биоминерлизацијата, обсервирана во таквите култури, е добивање со молекуларна и бактериолошка анализа.

Во 2004 година, објавено е за микробиолошките катарактеристики и патогенезата на оваа нова минерализирана форма, која е стерилна, бавно-растечка, грам-

негативна нанобактерија, откриена во човечката крв, во течноста на циста од бубрег, урина и бурежни камчиња.

Поради 16S rDNA структурата, нанобактеријата припаѓа на alpha -2 Proteobacteia, субгрупа, која се вклучува во Brucella и Bartonella видот. Нивниот клеточен дијаметар е 0.2-0.5 микрони и е малку позната клеточна бактерија. Таа е формација од карбонат апатитни кристали, со неутрален pH и физиолошки фосфат и калциумска концентрација. Екстрацелуларните минерализирани форми се со тврда заштитна обвивка, која им овозможува да преживуваат во услови на физиолошки стрес, кој може да биде смртоносен за многу други бактериски видови (23).

Групата на Olavi Kajander, сугерира дека апатитите продуцирани од нанобактеријата, може да играат важна улога во формирањето на сите бурежни камчиња, со обезбедување на централен калциум фосфатен депозит, околу кој се собираат други кристални компоненти. Нанобактеријата изгледа е причински агенс за заболувања слични на биоминерализациониот процес.

Според Miller и сор., партиклите од нанометар-скалата, слични на оние описани како нанобактерија, изолирана од геолошки примероци и човечки бурежни камчиња, може да бидат визуелизирани и во култура од калифицирано човечко кардиов скуларно ткиво (121).

Развој на идентификацијата

Olavi Kajander во 1985 година објавува револуционерно откритие на нови бактерии со име нанобактерии. Во 1986 година, Robert Folk публицира студија за постоење на нанобактеријата, а во 1986/87 година Olavi Kajander, објавува дека партиклите наречени нанобактерии имаат тврда површина, за да истата 1987 година, открие нивно присуство во крвта на човекот.

Neva Ciftcioglu во 1992 година, открива дека нанобактериите формираат минерализирачки игловидни структури, со што го објаснува постоењето на тврди површини во бактериите. Истата 1992 година, Kajander и сор., го публицираат присуството на нанобактериите во крвта, за да нешто подоцна во истата година, Ciftcioglu и Kajander, откријат услови за процесот на

култивирање, со што овозможиле средина која ги поттикнува нанобактериите да растат побрзо (101).

Авторот Akerman K.K. и сор. во 1993 година, откриле дека нанобактериите произведуваат калцификации, градејќи депозити на минералите калциум и фосфор или "обвивка" околу секоја нанобактериска клетка. Нанобактериите секретираат калцифицирачки биофилм околу себе, кој ги штити и овозможува мултипните нанобактерии да се поврзат меѓу себе, да се акумулираат и вака да формираат единица од колонии. Овој калцифициран биофилм исто така им овозможува на нанобактериите да се контрахираат, експандираат и движат (2).

Ciftcioglu, Kajander и сор., продолжуваат со истражувањата. Веќе во 1997 година, Ciftcioglu N. И сор. откриваат потенцијални контаминирани нанобактерии во продуктите на антителата (31).

Истата година, со истражување на зајаци, објавено е присуство на нанобактерии, кои се реплицираат.

Во следната 1998 година, се објавува присуство на нанобактерии во бубрежните калкулуси, со помош на електронски микроскоп, но веднаш не се публицира (101).

Паралелно со ова, во 1998 година, авторите Neva Ciftcioglu, Vefa Ciftcioglu, Hojatolah Vali, E. Turcett и Kajander, објавуваат присуство на нанобактерија во денталните калцификации (32,35). Сериските испитувања што ги направиле по пат на колонизација на нанобактеријата и минерална формација на хуман заб *in vitro*, на електронски микроскоп, покажале можност оваа бактерија да продуцира минерали за формирање на дентални калцификати во забот.

Исто така најдено е присуство на нанобактерија кај пациенти со Sialolithiasis. Веќе во 1999 година, Laszlo Puskas ја детектирал нанобактеријата во атеросклеротичниот плак (101). Во истата 1999 година, авторот Ciftcioglu N. и сор. објавуваат присуство на нанобактерии во бубрежните калкулуси, откриени со електронски микроскоп (101).

Gary Mezo во 1999-2000 година, развил компонирана формула за третман на срцевите заболувања. Во 2000 година, Garcia-Cuegro и сор., со постулатите на Kochs, потврдуваат дека нанобактериите имаат инфективен агенс.

Во истата година Thomas Hjelle и сор., наоѓаат присуство на нанобактерија во полицистични бубрези. Според тврдењето на Hjelle J.T. и сор. во 2000 година, нанобактериите содржат ендотоксин и многу инфламаторни медијатори. Ендотоксинот се мисли дека е најјак медијатор на воспалението, со што нанобактериите, освен калцификацијата ја иницираат и инфламацијата. Биофилм - фазата е присутна кога нанобактериите се нападнати хемиски или претрпеле физиолошки стрес од околината, кога соработуваат меѓу себе или кога се множат. За време на биофилм - фазата, кога нанобактеријата секреира калциумови и фосфорни минерали, таа е најосетлива зашто формира калцифицирачки плак. Човечкиот организам има слаба против одбрамбена функција кон биофилмот, посебно кон калцифицирачкиот плак, која се евидентира со фактот дека калцификациите остануваат во внатрешноста на фиброзните капсули со години и организмот не може да ги елиминира, констатираат авторите.

Во 2002 година, Kajander и Ciftcioglu, добиваат лиценца за лабораториски испитувања на нанобактериите. Во 2002 година, Rasmussen и сор., ја потврдуваат констатацијата на Laszlo Puskas, дека има присуство на нанобактерии во атеросклеротичниот плак. Ciftcioglu и Kajander продолжуваат со своите истражувања и, во 2002 година наоѓаат контаминирани продукти на гама глобулини со нанобактерии (101). Истата година, Benedict Maniscalco и сор., спровеле независно набљудување на клинички траги од нанобактерии кај пациенти со срцеви заболувања, со што го потврдуваат наодот на Gary Mezo.

И повторно во 2003 година, авторот Kajander E.O., се јавува со информација дека нанобактеријата е присутна и активен учесник во калцификацијата на артерискиот плак (101).

Jelic T. M. и сор., во 2004 година, откриваат присуство на нанобактерија во срцевите валвули, кај пациенти со diabetes melitus (83).

Sommer A.P. и сор., во 2004 година, со свое истражување потврдуваат дека причина за активирање на биоминерализацијата кај нанобактериите може да бидат моменти кога бактеријата претрпира физиолошки стрес (151).

Авторот Puskas L. и сор., во 2005 година докажале присуство на нанобактерија кај пациенти со склеротична аорта и каротидни примероци. На испитувана група од 42 пациента со овие заболувања, кај 26 детектирале присуство на нанобактерија (136,137).

Olavi Kajander, сеуште работи во областа на калцифицирачките нанопартикли CNP-и, за кои смета дека се основа за појавата на патолошката калцификација. Типот (видот) на калцифицирачките нанопартикли, присутни кај цицациите, вклучувајќи ги и луѓето, бил неформално класифициран како "nanobacterium" од пронаоѓачот Dr. Olavi Kajander. Сега, поради новите откритија, негови и на Dr. Neva Ciftcioglu, овие партикли се неодамна преименувани од Dr. Kajander како Калцифицирачки Нанопартикли (CNPs), со што не е исклучен терминот нанобактерија. Овие CNP-и, биле идентификувани првенствено кај цицачите, прво во геолошка форма или во широката околина.

Други научници, независно го потврдуваат овој пронајдок, вклучувајќи го Miller, Kullar и сор. и многу познатиот стоматолог Cisar со сор., кој е често цитиран за прекрасните критики на некои карактеристики на CNP-и. Овие научници независно, обсервирале калцификација на CNP-и со примена на техниките, публицирани од Kajander, Ciftcioglu и сор. Како резултат на тоа, истражувачите евидентираат документиран доказ за калцификацијата како заболување. Нанометарската скала на партиклите е слична на онаа описана како нанобактерија, изолирана од геолошки примероци и камчиња од човечки бubreг и може да биде визуелизирана и во култура од калциум кардиоваскуларно ткиво кај човекот(65). Khullar и сор. обсервирале и презентирале со апатитна форма, ултрафилтерабилни, грам–негативни кокоидни микроорганизми во 62% од бubreжни камчиња од 65 пациенти во северната Индијанска популација (104). Обсервирано е присуство на апатитни форми, ултрафилтерни, грам-негативни кокоидни микроорганизми. Негативното боење на нанобактеријата, открива 80-250 nm-етарски партикли, долги 500 nm. Тие се појавуваат во форма на бацили или кокоиди, без разлика

дали како самостални партикли или групирани како локални групи-клустери, прикачени на други поединечни со тенок светол материјал. Повеќето од овие елементарни партикли, се делумно или целосно обвиткани со дебел, игловидно-светол хидроксиапатит. Некои од публицираните студии, направени се независно од пронајдените CNP-и. Овие независни студии, оправдано тврдат дека CNP-и произведуваат калцифицирани маси (102). Puskas и сор. пропагираат NB- particли кај 26 од 42 склеротични аорти и каротидни примероци (137). Во 2004 година, констатирано е дека цистите во полицистичните бubreжни заболувања, содржат CNP-и, кои придонесуваат за формирање на циста. Во култура на CNP-и од FBS, предходно докажано дека таквите партикли може да бидат контаминирани во FBS, се докажуваат елементи со Koch-овите постулати за CNP-и во бubreжни камчиња (102). Извештај за CNP-релација со калцификација на митрален залисток, како и CNP-и култури од бubreжни камчиња. Во 2004 година, исто така се известува за епидемиолошка студија, која покажува CNP-и како коронарната артериска калцификација е ризик индикатор. Во истата година се потврдува присуство на CNP-и во HIV-инфицирани мајки и бебиња, како и пронаоѓање на CNP-и агенси на култура од човечки атеросклеротичен плак во 2004 (99). Калциум сврзувачки протеини, мапирани на CNP-и, CNP-и врзани растворливо за непцето, плунката и носниот (SPLUNC) одбрамбен протеин во 2005 (98). Во 2006 година, докажано е дека CNP-и предизвикуваат бubreжни калцификации после интравенозно администрацирање на стаорци, како и анти-CNP антитела, чиј титар е високо сигнификантен независен ризик фактор за коронарна артериска калцификација (65).

Морфологија: (Особини-карактеристики на CNP – и)

Се бојат грам-негативно, стерилно-филтрирани (0.22 mg), со мала порозност, калцифицирани партикли со варијабилна количина на карбонат апатитна обвивка. Со големина во опсег од 80–500nm, зависно од големината на калцифицираното место. На светлосен и електронски микроскоп, апатитните игли, имаат централна комора, окупирана од еден или повеќе CNP-и. При ниски нутрициони кондиции (како слободен serum), CNP-и имаат форма на

микроскопски колонии во течна средина, опколена од дебела обвивка од калциум апатит; калцифицирани колонии кои може да достигнат повеќе од 1 mm големина. Имаат доста екстремни уникатни карактеристики, како издржливост на 90°C за 1 час, 15 kGy гамма ирадијација, 5% NaCL. (44). Раст: Серум формите, имаат генерациско време од околу 3 дена. Серум-слободните форми, двојно околу 6 дена. Може да биде преминот неограничен во DMEM со или без serum. Инкорпорираат uridin и metionin во DNA и протеин, респективно. Растат најдобро во аеробни услови: 5% CO₂:95% воздух. Структура: CNP-и содржат или врзуваат протеини и полисахариди. Некои од овие протеини се бактериски порински протеини. Било идентифицирано дека мурамичната киселина е главна компонента на бактериските пептидогликанси. Моноклоналните антитела, порин протеините и пептидогликансите, може да препознаваат интактни CNP-и како што е наведено на имуноголд етикетата. Моноклоналните антитела на chlamidial lipopolisaccharidi (endotoxin) реагираат со CNP-и (44).

Ефекти на клетките: CNP-и се врзуваат за клетките на цицачите *in vitro* со ендоцитоза. Во човечките и животински ткива, трансмисионаата електронска микроскопија, ги открива интрацелуларно претпоставените CNP-и. Интравенско администрираните CNP-и, биле екскретирани преку урината кај глодарите. Кај стаорците, тие предизвикале апоптоза и, *Chlamydia* -та може да ја раскрсти реакцијата со CNP-и водејќи кон конфузија, без разлика дали CNP-и се бактериски. Целокупната егзаминација (испитување) на екстензивните карактеристики на CNP-и, покажува дека некои карактеристики се слични со бактериите, вирусите и прионите, но се посебни од нив (43).

Кои форми на CNP-и се обсервирали?

Слично на многу патолошки агенси, CNP-и имаат повеќе од еден пат зголемување, зависно од околината, содржината на средината во која тие растат. Тие исто така имаат различни стадиуми на развој и покажуваат различни карактеристики, зависно од стадиумот на развој. Стадиумите не се неопходна секвенца. За пример, колониите на CNP-и, може да формираат внатре или надвор протективна обвивка, зависно од средината. Три основни

методи на CNP репликација биле обсервирали преку електронски и светлосен микроскоп: Без разлика дали е или не е овој репликациски настан комплетно автосомен, или со помош на нуклеинска киселина и протеински фрагменти од клетките или околната средина, е непознато. Сеедно за кој тип на репликациски настан се работи, овие развојни фази биле набљудувани како формација од мукозен светлосен материјал на површината на индивидуалниот CNP, површинска калцификација на индивидуалните CNP-и со калциум фосфат и/или калциум карбонат, инвазија на протеини, бактерии и клетки. Формација на колонии, биофилм формација околу колонијата. Формација од калциум "игли", во чии колонии CNP-и растат и се реплицираат. Тие "игли" може да ги има стотина, да се долго време присутни во индивидуалниот CNP и под светлосен микроскоп да наликуваат на бubreжни камчиња. Иглите може исто така да имаат бришан (празен) простор (пат) и CNP-и да бидат исфрлени, што покажува дека се живи. Според објавената литература, CNP-и се наоѓаат во: клетките на цицачите (човекот и животните). Во кrvта на цицачите, во органите на цицачите, во големите бактерии. CNP-и, може да бидат одгледувани (да растат) во серумот или слободниот serum и слободни протеински услови (43).

Кои се разликите помеѓу CNP-и и органските апатити во коската?

CNP-и се цврсти во меките ткива и кrvта, коскените апатити не се. Микроскопски, структурата на матриксот на CNP апатити е различна од таа на коскените апатити.

Кои се разликите помеѓу CNP-и и анорганските апатитни кристали?

Микроскопски, разликите се уочливи. Анорганските апатитни кристали, се составени од шилести и рамни, со различна големина партикли, додека CNP-и се тркалезни или овални (јајцевидни) и често со унiformна големина, обвиткани со биофилм. Анорганските апатитни кристали немаат фосфолипидна обвивка, CNP-и имаат. Анорганските апатитни кристали, немаат формација од биофилм или мукозна мембрана, CNP-и имаат. Анорганските апатитни кристали растат хемиски, но дали не се изложени и на

биолошки раст како CNP-и. Биогеничните апатитни кристали на CNP-и имаат повеќе аноргански апатитни кристали од структурата на коската. Апатитните кристали единствено преципитираат (пропаѓаат) под супер-сатурациони (извонредни) услови, додека CNP-и мултилицираат под нормални (стандартни) физиолошки услови, како што се во човечкото тело. Апатитите и CNP-и, може поединечно да создаваат калциум фосфат, во форма на нивната сопствена калциум фосфатна обвивка со калциум и фосфор – богат serum (44). Многубројните експерименти, публицирани од Kajander, Ciftcioglu и сор., покажуваат дека CNP-и може да бидат неактивни *in vitro* со разни варијации на хемикалии и радијација, иако истовремено CNP-и, се покажани како екстремно резистентни на дозите кои нормално ги убиваат вирусите, бактериите и други патогени микроорганизми (Ciftcioglu и сор. "Inhibitoin of nanobacteria by antimicrobial drugs as measured by a modified microdilution method" *Antimicrob Agents Chemoter.* 46: 2077-2086). Исто така потврдена е нивната способност за само-реплицирање во непреципитатни услови, како и способноста да бидат инфективни. Тромбозата е причина за смрт кај многу пациенти на хемодијализа. Најдено е потврдено постоење на калцифицирани нанопартикли, пронајдени во човечката крв, кои провоцираат тромбоза и може да бидат превенирани (44,102).

Пронаоѓањето на калцифицирачките нанопартикли (CNP) во крвта и крвните продукти во почетокот на 1990 година, резултира во создавање на осетливо поле во биологијата. CNP-и биле покажани како бактерија–нанобактерија, плеоморфни, инфективни партикли, кои поседуваат уникатни карактеристики вклучувајќи ја и способноста за преминување на стерилизационите филтери поради малата големина, и резистентност на топлина и γ -ирадијација на дози типично фатални за конвенционалната бактерија (Ciftcioglu et al 1997a, 1997b, 2007; Kajander et al 1997; Kajander and Ciftcioglu 1998; Miller-Hjelle et al 2008). Тие се депозити на калциум и фосфор во физиолошки pH и минерални концентрации. (Kajander and Ciftcioglu 1998; Miller-Hjelle et al 2003).

CNP-и асоциирани се со различни калцифицирачки релации со здравствени проблеми како што се arteriosclerosis, бубрежно камче, дентално камче,

prostatitis, Alzheimer-ова болест, полицистични бубрези (Ciftcioglu и сор. 1998а
1998б; Kajander и сор. 1999; Kajander и сор. 2001; Puskas и сор. 2005; Altundag
и сор. 2006; Shiekh и сор. 2006; Wang и сор. 2006; Wood и Shoskes 2006).

Цели и предмет на трудот

ЦЕЛИ И ПРЕДМЕТ НА ТРУДОТ

Општа цел :

Да се направи дефинирање на претпоставената релација помеѓу калцификатите во организмот и присуството на дентални калцификати, како и нивната можна бактериска асоцираност.

Специфична цел:

Да се дефинира дали постои сличност во хистолатолошката градба на калцификатите од плунковните жлезди, бубрег и од жолчното кесе, со хистолатолошката градба на калцификатите од пулпата на забот.

Посебни цели кои се предмет на испитување во оваа дисертација :

- одредување на застапеноста на денталните калцификати кај пациенти со присутни калцификати во бубрег,
- одредување на застапеноста на денталните калцификати кај пациенти со присутни калцификати во жолчно кесе, преку :

анализа на радиографската документација и одредување на можноста за поврзување на денталните калцификати со појавата на калцификати во бубрег и жолчно кесе, за што веќе постојат индииции, добиени во направените пилот испитувања,

-
-
- утврдување на можноста за бактеријална асоцираност на денталните калцификати,
 - анализа на дистрибуциите на собраниите податоци.

Материјал и методи на работа

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ НА РАБОТА

За подобро реализацирање на поставените цели, првиот дел, во кој беа вклучени вкупно 200 пациенти, го поделивме на седум фази.

1. Првата фаза на истражувањето, опфати комплетна лична и фамилијарна анамнеза, од пациенти со присутни или отстранети калцификати во плунковни жлезди, бубрег и жолчно ќесе, со присуство на дентикили, од кои 60 беа без присуство на дентални калцификати. За таа цел применивме соодветен прашалник со наменски прашања.
2. Во втората фаза, беа направени панорамски и ретроалвеоларни рендген снимки на забите, во рендген кабинетот на Универзитетскиот Стоматолошки клинички центар "Св. Пантелејмон" во Скопје, на пациенти со присутни или отстранети калцификати од плунковни жлезди, бубрег и/или жолчно кесе.

Радиографската документација, потребна за дијагностицирање и одредување на застапеноста на калцификацијата во организмот, ни беше достапна од пациентите, ако предходно веќе беа лекувани од калкулоза. Останатиот дел од пациентите, ги испраќавме на Рендген институтот на Медицинскиот факултет при Универзитетот "Св. Кирил и Методиј" во Скопје, кабинетот за ехо дијагностика на клиниката за Нефрологија при Медицинскиот факултет во Скопје на Универзитетот "Св. Кирил и Методиј" - Скопје и, по дијагностицирана потреба во Компјутерскиот центар на

Хируршките клиники на Медицинскиот факултет при Универзитетот "Св. Кирил и Методиј" во Скопје. Дијагностичкиот материјал беше добиен по пат на различни методи. Радиолошка дијагностика на болестите во плунковните жлезди, калкулоза во бубрег и/ или во жолчното кесе, беше направена на неколку начини:

Нативни графии – загризна(оклузална) графија се правеше во форма на интраорално снимање со поставен филм во усната празнина, каде централниот зрак паѓа под прав агол. Таа дава информации за патологијата во субмандибуларниот простор–присуство на аноргански сенки, мекоткивни сенки од едем и др. Нативни графии на мандибулатата во постериорно-антериорен и профилен правец. Со овие снимки се добиваат информации за постоење на аноргански сенки во проекција на Вартоновите канали и субмандибуларните жлезди, калцификации во жлездите, лимфните јазли и лимфните канали и туморни творби во жлездите и околината. Нативните графии на паротидната регија во постерио-антериорен и профилен правец – даваат исти информации како и претходните графии.

Сијалографија – која претставува метод на контрастно прикажување на саливарните жлезди, кој дава и значителна информација за нивната патологија. Неговите предности се што е ефтин, едноставно се изведува и исклучително ретко дава компликации. Обично се изведува со полиетиленски катетер, чиј пречник е 2-3 mm. Снимањето по правило се прави во седечка положба со фиксирана глава напред и напред испакната. Многу подобро е како за пациентот, така и за испитувачот тоа да се направи во лежечка положба, со отворена уста и флексирани руки. Како контрасно средство се користи липидол, а во поретки случаи водно растворлив контраст, во последно време анјонски (Omnipaque). Обично тој се избегнува поради параигленото празнење и брзата ресорпција, а модифицираниот метод на сијалографија во комбинација со КТ како КТ-сијалографија (КТС), за што е потребно подолго присуство на контраст.

Ортопантомосијалографија – овој метод се изведува со истовремено исполнување на две или повеќе плунковни жлезди со контрасно средство, при што одводните канали се затвораат со инструмент или се подврзуваат. Индикација е при системски заболувања, при хронични и рекурентни

рецидивни сијалоаденитиси и истовремена калкулоза на повеќе плунковни жлезди.

Сцинтиграфија - сцинтиграфијата е релативно модерен метод во испитувањето на саливарните жлезди. Со помош на гама камера и на приклучен ЕДВ систем при употреба на радиоизотоп ^{99m}Tc се изведува функционална сцинтиграфија (Spens E., 1990). Во литературата и денес уште постојат различни погледи при вреднување на дијагностичките резултати од сцинтиграфијата.

Ултрасонографија – Претставува брз једноставен скрининг метод, безбеден за пациентот и за испитувачот, кој како извор на енергија користи ултразвук. Сликата се добива компјутерски со сигналите што ги дава повратниот бран од граничната површина на два медиума со различна густина.

Компјутеризирана томографија – компјутеризиријанот томограф претставува комплициран систем составен од три подсистеми: компјутер, рендгенски и мониторски дел. Додека на класичните рендгенографски слики добиваме пет групи густина, компјутерот ни овозможува разликување на 25 такви групи. Нијансите на црно белиот спектар варираат од -1.000 до $+1.000$ Н.Е., така што компјутерот ни дава извонредно богата информација за патолошките процеси. И во областа на саливарниот систем компјутеризираната томографија дава богата информација во патологијата на жлездите.

Магнетна резонанса – како извор на енергија се користи силно магнетно поле на статичен магнет. Начинот на добивање на сликата се разликува од класичните рендгенски методи, од компјутеризираната томографија, од ултразвукот и од кој и да било друг метод на испитување. Сликата се добива од бројот на протоните во елементите од кои е изградено ткивото. Имено, протоните како носители на позитивен електричен полнеж, во јадрото на атомот постојано се вртат околу својата оска, односно поседуваат спин. Од базичните закони на физиката познато е дека секој електричен полнеж што се движи, околу себе индуцира електромагнетно поле. Според тоа, протоните можеме да ги сфатиме како мали магнети кои, поставени во магнетно поле, се ориентираат во неговиот правец. Истото се случува кога пациент или даден орган се стават во статичен магнет. Тогаш протоните од ткивото се ориентираат во правец на магнетното поле. Меѓутоа, за да може да се измени

нивниот магнетизам, треба да се отклони за 90 степени. Тоа се прави со надворешно магнетно поле кое дава електромагнетни бранови во обсегот на радиобрановите, поради што се означуваат како радиофреквентни бранови. Отклонетите протони за 90 степени се во фаза, односно во синхрон и, ротирајќи, нивното магнетно поле создава електрични импулси кои се детектираат од антена и понатаму компјутерски се обработуваат во слика. Кога ќе се исклучи надворешното магнетно поле, тогаш повторно протоните се враќаат во еквилибриум, односно во правец на полето на статичниот магнет, при што се губи трансверзалниот магнетизам. Овие два процеса се одвиваат истовремено и за нив е потребно време. Времето за кое се обновува лонгитудиналниот магнетизам е означено како T₁, а времето за кое се губи трансверзалниот магнетизам е означено како T₂. Различните ткива во организмот поседуваат различно T₁ и T₂ време, долго или кратко, и според тоа се разликуваат во добиената слика. Магнетната резонанса е извонреден метод и во дијагностиката на заболувањата на плунковните жлезди. Дава многу добра диференцијација на патолошките процеси според бројот на импулсите кои доаѓаат од концентрацијата на водородни атоми во патолошки променетото ткиво. За разлика од останатите методи кои даваат структура на ткивото, овој метод овозможува евалуација на хемизмот на процесот и јасно разграничување на учеството на одделни ткива во дадениот процес. Калкулозата во бубрег и/или во жолчното ќесе најчесто беше детектирана со радиографски снимки и ехо дијагностика. За ехо дијагностицирањето, пациентите мораа да бидат гладни и по можност без внесени течности.

3. Во третата фаза, се изврши евалуација на радиографските серии.
4. Во четвртата фаза, во зависност од локализацијата на калцификатите, пациентите беа групирани во три групи :
 - Првата група ја сочинуваа пациенти со присутни калцификати во бубрег, како и присуство на дентикили. Оваа група се формираше во соработка со Клиниката за Урологија "Проф. Др. Иван Влашки", на Хируршките клиники при Медицинскиот факултет во Скопје на Универзитетот "Св. Кирил и Методиј" – Скопје, каде оперативно беа отстранети калкулусите од бубрег.

-
-
- Втората група, ја сочинуваа пациенти со присутни калцификати во жолчно кесе и присуство на дентикили. Втората група се формираше во соработка со Клиниката за Дигестивна хирургија при Медицинскиот факултет во Скопје на Универзитетот "Св. Кирил и Методиј" – Скопје, каде оперативно, со класична или лапароскопска метода, беше одстранувано жолчното кесе.
 - Третата група, беше составена од пациенти без присуство на дентикили, кои имаат калкулуси во бубрег, жолчно кесе, плунковни жлезди или на друго место во организмот. Оваа група беше формирана од 60 испитувани пациенти, која ни послужи како контролна група. Тоа беа пациенти кои доаѓаа со локализирана или неодредена болка во забалото или подолготрајна главоболка. По индицирана екстирпација на пулпата на забот со болка, пуллите ги испраќавме на Институтот за Патолошка анатомија, за понатамошно испитување.

5. Во понатамошната постапка од ова истражување, како пета фаза, беа направени хистопатолошки препарати на отстранетите калцификати, од денталните пулпи, подвиличните сијалолити, калкулуси од бубрег, жолчно кесе, кои беа споредени со хистопатолошките препарати на дентиклите, со цел да се детектира евентуална поврзаност на тоа ниво.

Материјалот го сочинуваа 80 цврсти патолошки супстрати, добиени од компактни ткива и телесни празнини.

Анализираните примероци, според бројот и локализацијата, ја имаа следната дистрибуција:

1. Примероци од 20 забни пулпи со рендген верифицирано присуство на дентикили.
2. Калкулуси, 10 на број, добиени при хируршки интервенции на плунковните жлезди.
3. Калкулуси од жолчно кесе 40 на број, добиени при хируршки интервенции, односно холецистектомија.
4. Калкулуси од пиелон на бубрег 10 на број, добиени при хируршки интервенции на бубрег и индуцирана или спонтана елиминација.

Методи:

Од патоанатомски аспект, искористен е макроскопски и микроскопски морфолошки пристап, како и дедуктивна парцијална хемиска анализа за присуство на калциум и калциумови соли.

Макроскопска морфолошка анализа:

1. Утврдување на тежина. Мерени се сите примероци со точност од 1 грам. Примероците полесни од 1 грам, беа ставени во една група.
2. Утврдување на димензии. При утврдувањето на димензиите, евидентирани се следните димензии:
 - кај поголемите примероци, земени се три димензии,
 - кај помалите примероци, земен е најголемиот промер.
3. Утврдување на облик. При утврдувањето на обликот и формата, користени се термини:
 - овален облик, неправилен по облик, ситни како песок ;
 - под овален облик се цврсти патолошки супстрати, со округли, односно топчести до елипсовидни облици,
 - под неправилен облик, се подразбираат цврсти патолошки супстрати, со агловиден до корално разгранет облик,
 - под облик "ситен како песок" се подразбираат сите ситни и трошни цврсти патолошки супстрати.
4. Утврдување на боја. Користени се вообичаени поими за одредување на колоритет: белузлави, жолтеникави и бледокафејави.
5. Утврдување на конзистенција. Користени се поими:
 - цврсти, поимот се однесува на цврсти патолошки супстрати, што под дејство на тапо тврда сила со силина од притисок на дланка не се дробат,
 - трошни, поимот се однесува на цврсти патолошки супстрати што под горенаведените услови се дробат.
6. Утврдување на степен на сублимација. Мерена е тежината на цврстите патолошки супстрати во различни временски интервали.
7. Утврдување на површинска зарамнетост. Користени се термините:

-
-
- мазни,
 - нерамни.

8. Сите анализирани примероци се фотографирани со дигитален фотоапарат на нумерирана основа или во присуство на нониус.

Декалцинација, беше реализирана со помош на методата на дедуктивна парцијална хемиска анализа, за присуство на калциум и калциумови соли.

Микроскопска морфолошка анализа:

Микроскопската анализа, беше направена на хистолошки пресеци, од примероци на цврсти патолошки супстрати, предходно процедурирани низ фаза на декалцинација.

За микроскопска анализа, исто така, дистрибуирани беа и 60 дентални пулпи, од пациенти кај кои не беше рендген верифицирано присуство на дентикили (со хронични пулпитични болки), а со дијагностицирано присуство на калцификати односно калкулуси во други органи во организмот.

Материјалот е фиксиран по стандардна процедура на формалинска фиксација. Материјалот е ткивно процесиран по стандардна процедура без декалцинација.

Примероците од цврстите патолошки супстрати, беа обработени по методот на стандардно ткивно процесирање и стандардно хистолошко боенje.

1. Ткивно процесирање:

Ткивното процесирање е изведено во ткивен процесор Citadela 2000 марка Shandon по метод на вообичаена и скратена процедура.

Метод на вообичаено ткивно процесирање:

контейнер	флуид	време/саат
1	10% формалин	1
2	70% алкохол	1
3	95% алкохол	1
4	100% алкохол	2
5	100% алкохол	2
6	100% алкохол	1
7	100% алкохол	1
8	100%алкохол/ксилол	1
9	ксилол	2
10	ксилол	2
11	парафин	2
12	парафин	2

Метод на скратено ткивно процесирање:

контейнер	флуид	време/мин.
1	10% формалин	5
2	70% алкохол	10
3	95% алкохол	10
4	100% алкохол	15
5	100% алкохол	15
6	100% алкохол	15
7	ксилол	20
8	клисол	15
9	парафин	15
10	парафин	20

Со вообичаена процедура, беа процесирани дентиклите, калкулусите од плунковните жлезди, од бубрег и од жолчното кесе, а екстирпираните пулпи, поради малиот волумен на материјалот и можноста за ткивно растопување, беа процедурирани по скратената метода, што во практика одговара и е позната под име "рачно водење на материјалот".

2. Хистолошко боење:

Хистолошки боења кои беа користени се следните : Стандардно хематоксилин и еозин боење :

Хемикалии : Хематоксилин : Gill's III (Merck) Еозин : Eosin Y (Merck).

Метода :

процедура		време/мин.	
	депарфинизација		
1	ксилол		2
2	ксилол		2
	рехидратација		
3	алкохол 96%		2
4	алкохол 80%		2
5	алкохол 50%		2
6,7,8	вода		3 пати
9	хематоксилин		2-4
10	испирање/вода		3 пати
11	литим карбонат	1%	3 пати
12	испирање/вода		3 пати
13	еозин		2-4
14	испирање/вода		3 пати
	дехидратација		
15	алкохол 50%		2
16	алкохол 80%		2
17	алкохол 96%		2
18	алкохол 100%		2
19	алкохол 100%		2
	клиринг		
20	ксилол		2
21	ксилол		2

Диференцијални боења : von Kossa и Giemsa.

Боење по von Kossa :

1% воден раствор на сребро нитрат

2,5% натрим тиосулфат

1% пикрофуксин

Метода :

1	доведување на пресеците во дестилирана вода
2	потопување во натриум нитрат и експонирање на јака светлина 10-60 мин.
3	испирање три пати во дестилирана вода
4	третирање со натриум тиосулфат 5 мин.
5	испирање во дестилирана вода
6	диференцирано боене
7	дехидратација, чистење

Боене по Giemsa (Merck):

Готов раствор на Giemsa (Merck)

Метода :

1	доведување на пресеците во дестилирана вода
2	потопување во дестилирана вода на Ph 6.8
3	потопување во раствор од Giemsa 1 час.
4	испирање во дестилирана вода
5	потопување во 0,5% воден раствор на оцетна киселина до поцрвенување
6	испирање во течна вода
7	сушење, дехидратација, чистење

Боене по Masson trichrom :

Готови раствори Masson trichrom (Merck).

Метода :

1	депарафинизација
2	апликација на раствор А
3	испирање во дестилирана вода
4	потопување во раствор В 5 мин.
5	испирање во дестилирана вода
6	потопување во раствор С 2 – 5 мин.
7	испирање во течна вода
8	потопување во 1% воден раствор на оцетна киселина 2мин.
9	сушење, дехидратација, чистење

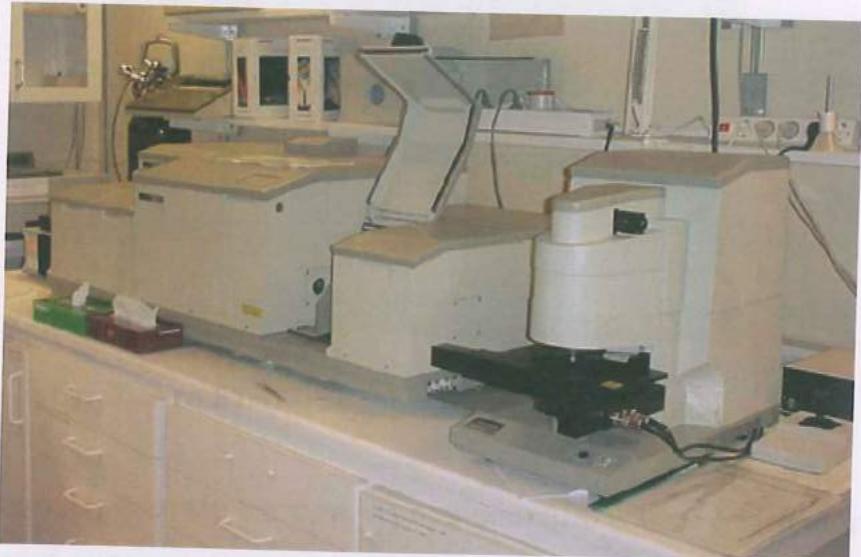
3. Микроскопирање:

Хистолошките препарати беа микроскопирани на микроскоп Nikon Labophot 2 и Laica со зголемување од 10 x 4, 10 x 10, 10 x 20, 10 x 40 и 10 x 60.

За хардвер и софтвер во овој сегмент искористена е наменската модификација на Image analyser Lucia M.

6. Во шестата фаза, извршивме лабораториски анализи, релевантни за оваа состојба. Оперативно отстранетите калкулуси ги подвргнавме на лабораториски анализи за одредување на хемискиот состав. Овие анализи ги реализирајме во клиничката лабораторија на Хируршките клиники при Медицинскиот факултет во Скопје. Во оваа лабораторија го добивме хемискиот состав само на бubreжните калкулуси. Хемиската анализа, како и процентуален состав, направени се на Институтот за хемија при Природно-математичкиот факултет во Скопје, на Универзитетот "Св.Кирил и Методиј" во Скопје.

За квалитативна анализа на материјалот, беше употребена методата на Инфрацрвена спектроскопија, позната како FTIR – спектрометрија.



Сл. 5. FTIR Спектрометар



**Сл. 6. Комплет апаратура за FTIR – спектрометрија, во лабараторија на
Хемискиот факултет во Скопје**



Сл. 7. Атомско – апсорpcionен спектроскоп

Ние се определивме за оваа метода, од причини што е многу точен и прецизен метод за хемиска анализа, а кој денес во модерните лаборатории во светот, се користи и за квантитативна анализа. Тој се темели на фактот дека одделни групи атоми во молекулот може да апсорбираат инфрацрвена светлина, со фреквенција еднаква на фреквенцијата на вибрацијата на некои групи атоми. Инфрацрвената спектроскопија е една од најупотребуваните методи за идентификација на чисти органски и неоргански соединенија. Со исклучок на некои сложени соединенија во кристална состојба, сите други молекулски видови имаат свои инфрацрвени апсорpcionи спектри, така што, непознатиот примерок без поголеми тешкотии, може да се идентификува ако неговиот спектар точно се совпаѓа со спектарот на соединението со позната структура. За да добиеме инфрацрвен спектар од еден образец, тој беше на соодветен начин приготвен. Ние ја употребивме техниката на ситнење со калиум бромид и приготвување на пресувана таблетка. Неколку милиграми од супстанцата беше иситнета во вибрациона мешалка, заедно со 200 mg калиум бромид кој предходно беше исушен. Од хомогенизираната и иситнета смеса, потоа со помош на специјални калапи, од кои со вакуум пумпа беше извлекуван воздухот, се приготвуваа, под притисок, провидни таблетки, од кои се снимаа инфрацрвени спектри.

Употребен беше регистрационен инфрацрвен спектрометар – Perkin Elmer 580.

Времето на снимање на инфрацрвениот спектар, изнесуваше по правило 10

минути. Употребена беше постапката на пресувани таблетки во калиум бромид (1-3mg супстанција од калцификатот, односно калкулусот, се хомогенизира со 300 mg калиум бромид, а потоа се става во специјален калап и се пресува на хидраулична преса при притисок од околу 1 гигапаскал – 10.000 атмосфери). Откако снимањето е завршено се пристапува кон интерпретирање на добиениот спектрограм.

За квантитативна анализа на материјалот, беше употребена методата на Атомско-апсорпциона спектроскопија. Првиот чекор кај сите спектроскопски методи е атомизацијата, процес при кој примерокот испарува и се разложува, со што се добиваат атомски пареи. Овој процес е многу битен во атомската спектроскопија. Атомските спектроскопски методи се базирани на појавите на апсорпција, емисија и флуоресценција и, според начинот на кој се врши атомизацијата, зборуваме за: атомско-емисиона, атомско-апсорпциона и атомско-флуоресцентна спектроскопска метода. Методата на атомско-апсорпционата спектрометрија, е една од најпрецизните, и најосетливите применувани методи за квантитативна хемиска анализа, која го користи феноменот на апсорпција на зрачење на супстанцата, на определена бранова должина. Концентрациите на супстанците кои може да се определуваат со оваа метода, се прилично ниски. Принципот на методата се состои во следното, растворот во кој се наоѓа супстанцата што се определува, со всисување се внесува во пламен. Во пламенот растворувачот испарува, а супстанцата се атомизира, образувајќи атомска плазма (гасна смеша која содржи релативно голема концентрација на катјони и електрони). Бидејќи пламенот истовремено е и континуиран извор на енергија, еден дел од атомската плазма ќе апсорбира дел од таа енергија и ќе помине во повисока, ексцитирана состојба која не е стабилна. При тоа, уделот на атомите кои се побудуваат, е значително помал од уделот на атомите кои остануваат непобудени во атомската плазма. Всушност, овој дел на атоми е од значење за методата на атомско-апсорпционата спектроскопија. Непобудените атоми од атомската плазма, апсорбираат монохроматско зрачење со определена бранова должина, па интензитетот на пропуштеното зрачење е секогаш помал од интензитетот на упадното зрачење. Ова намалување е пропорционално на бројот на непобудени атоми, кои се наоѓаат во плазмата во моментот на

поминување на зракот, а овој број зависи пак од концентрацијата на определуваната компонента во растворот кој се внесува во пламенот. Концентрацијата се определува со мерење на интензитетот на пропуштеното зрачење при константен интензитет на упадното зрачење од изворот. Со атомско-апсорpcionиот спектрометар, ја меревме апсорбацијата а кај некои автоматизирани инструменти, може да се мери и концентрацијата, површината на пикот или интегрираниот сигнал. Вредностите се отчитуваат на скалата на инструментот, а современите инструменти се снабдени со дигитални пресметувачи кои веднаш го обработуваат сигналот. За сериски определувања, работата на инструментот може целосно да се програмира, од земање на проба до пресметување на резултатот. Оваа метода ни помогна да го добиеме комплетниот хемиски состав на собраниот материјал во милиграми на килограм (mg/kg) и во проценти (%).

7. Последната, седма фаза, во реализирањето на ова истражување, се состоеше во статистичка анализа на добиените податоци, која беше направена на Институтот за епидемиологија на Медицинскиот факултет при "Универзитетот Св. Кирил и Методиј" во Скопје. Разликата помеѓу примерокот со присуство на дентикили и калкули во бубрег, жолчно ќесе, плунковни жлезди, со примерокот на калцификација во организмот без дентикили, е барана со помош на студентовиот t – тест.

Резултати

РЕЗУЛТАТИ

На основа на податоците, добиени од личната и фамилијарна анамнеза на пациентите со дентикили, кои имаат калцификации во други органи, пошироко во организмот, ги добивме резултатите во однос на локализација на калцификатите односно калкулусите, што ни овозможи добивање на радиографски снимки, потребни за дијагностицирање на патолошката калцификација, во забите и на други места во организмот.

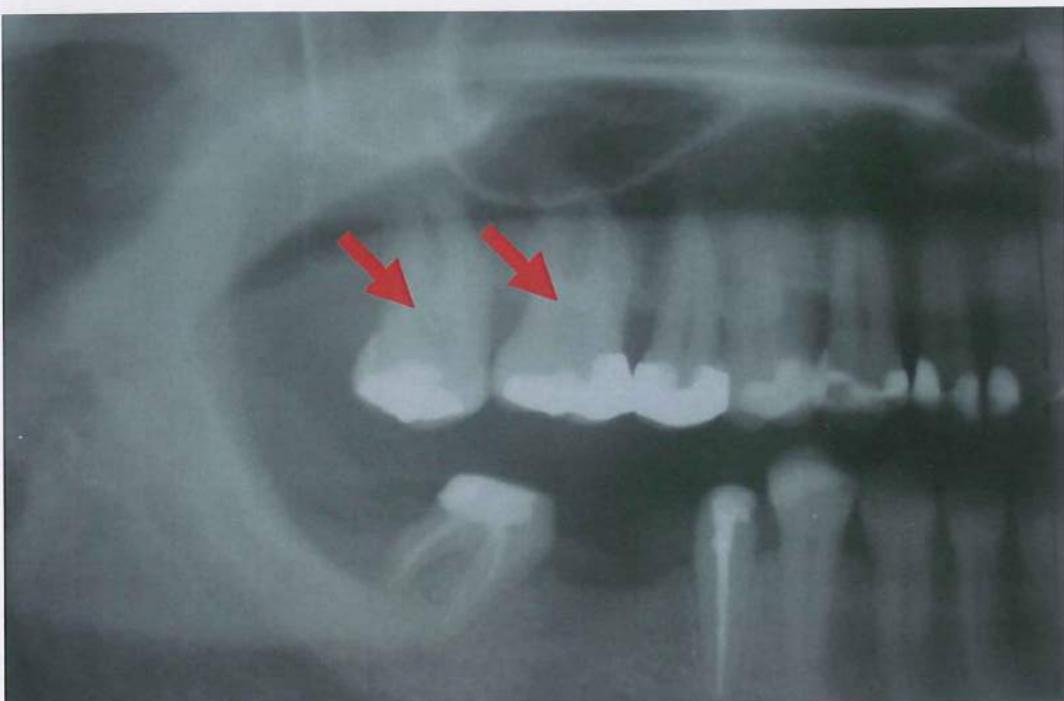
Со слика 8, 9 и 10, ја прикажуваме локализацијата на дентиклите кај пациенти со дијагностицирана калкулоза во бубрезите, жолчното ќесе и бешика. Со слика 11, ја прикажуваме локализацијата на денталните калцификации во долниот лев втор премолар и првиот молар, кај пациент со присуство на калцификати во карлица, што се гледа на слика 12.

Со слика 13, ја прикажуваме локализацијата на дентиклот во долниот лев прв молар, кај пациентка со присутен калкулус во десниот бубрег, што се гледа на слика 14 и со повеќе калцификации во карлицата, прикажани на слика 15. Кај истата пациентка, најдени се калцификации во десното рамо, прикажани на слика 16.

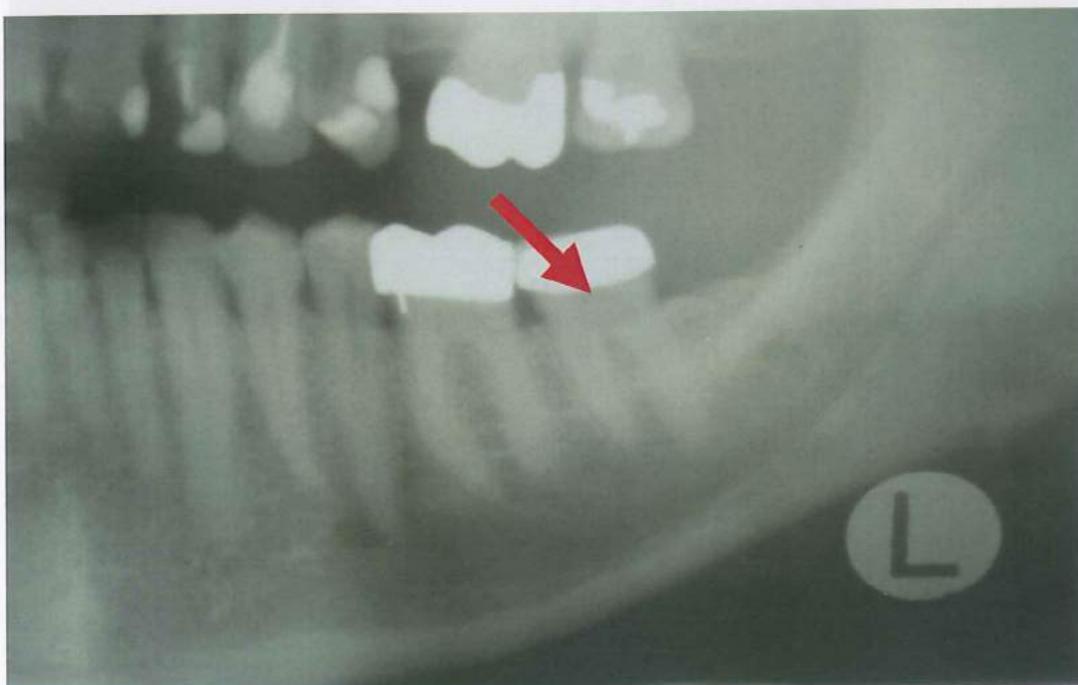
Со слика 17, прикажуваме присуство на сијалолоит во субмандибуларната жлезда, а со слика 18, ја прикажуваме постоперативната состојба кај пациентка со дентикл, прикажан на слика 19. Слика 20, преставува сијалографија на субмандибуларна жлезда, кај пациент со дентикл.

Со слика 21 и 22, го прикажуваме присуството на калкули во бубрег, кај пациенти со дентикили и калкули во жолчното ќесе. Со слика 23 и 24, прикажуваме калкули во бубрег, кај пациенти без дентикили, со дифузна калцификација во пулпата на забите.

Присуството на калкули во жолчното ќесе, кај пациенти со дентикили, го пеикажуваме со слика 25, 26, 27 и 28.



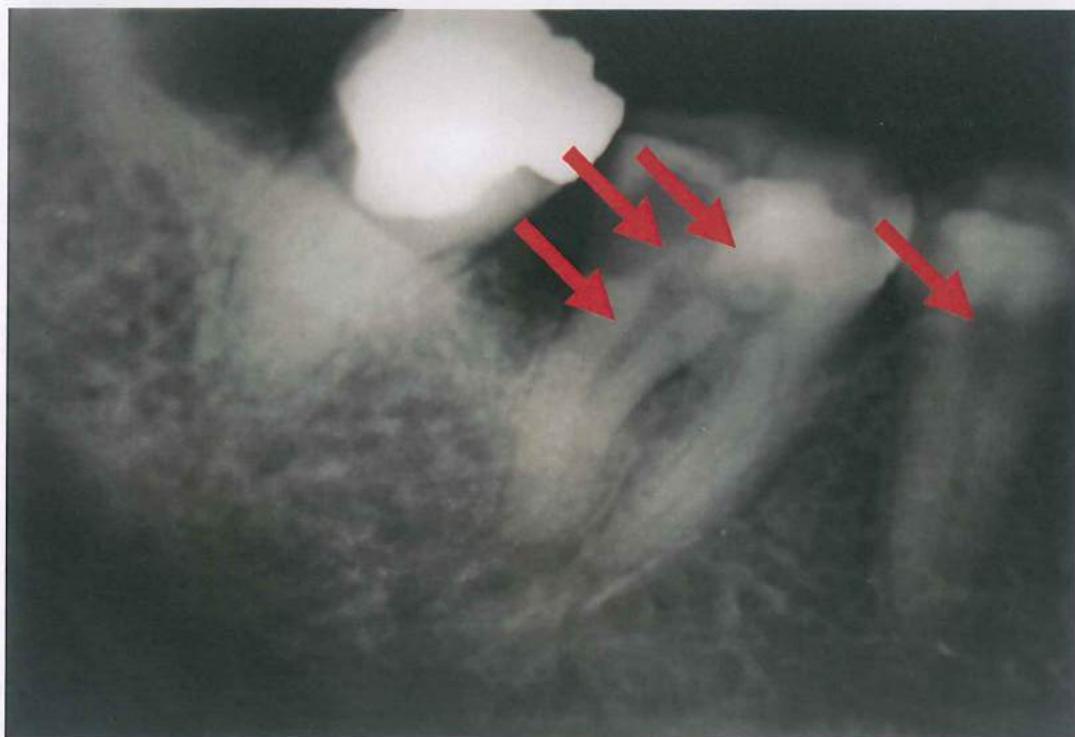
Сл. 8. Дентикили во горниот десен прв и втор молар кај пациент со дијагностицирана калкулоза во бубрег и жолчно ќесе



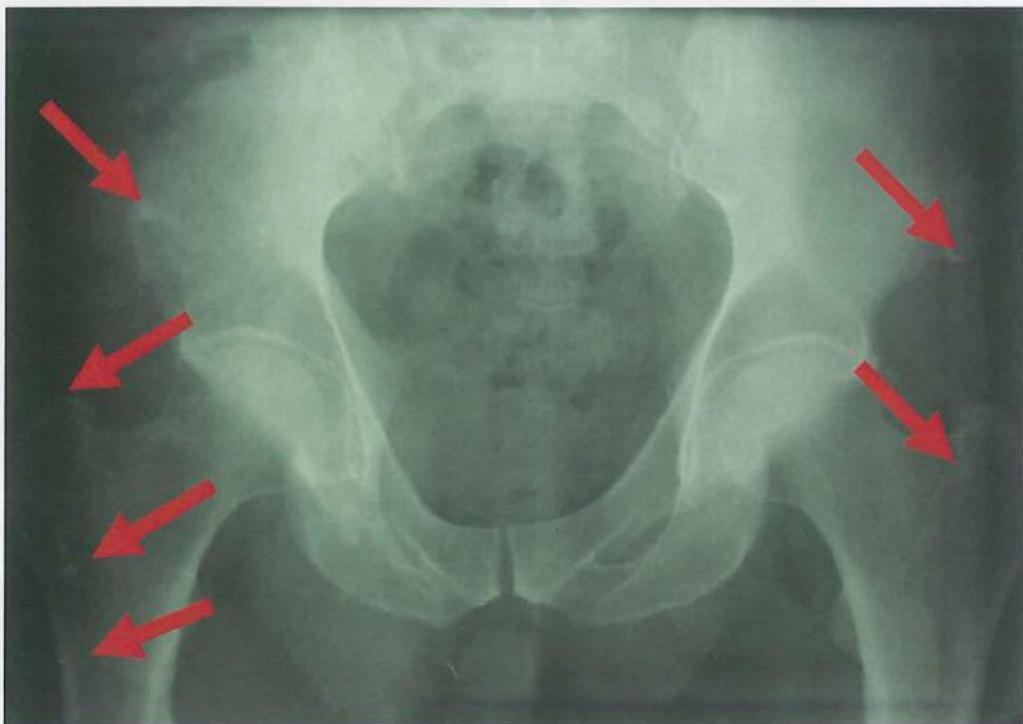
Сл. 9 . Дентикл во долниот десен втор молар кај пациент со калкулоза во бубрезите и песок во бешика



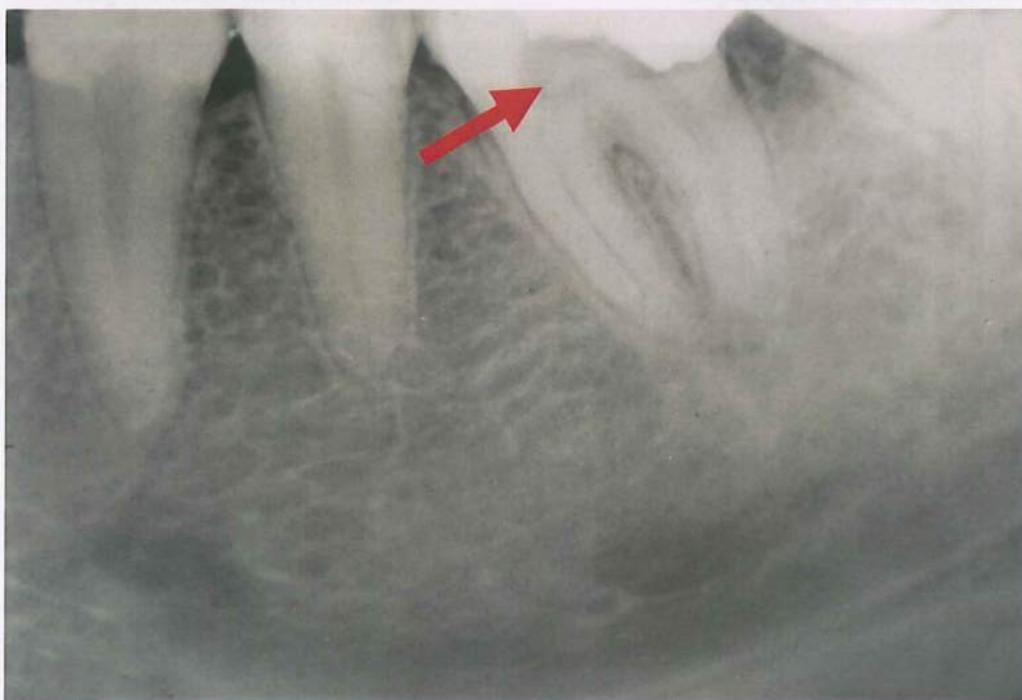
Сл. 10. Дентикили во долниот лев втор молар кај пациентка со калкулоза во двата бубрега и жолното ќесе



Сл. 11. Дентикл во долниот лев втор премолар и првиот молар, кај пациент со повеќе калцификати во карлицата



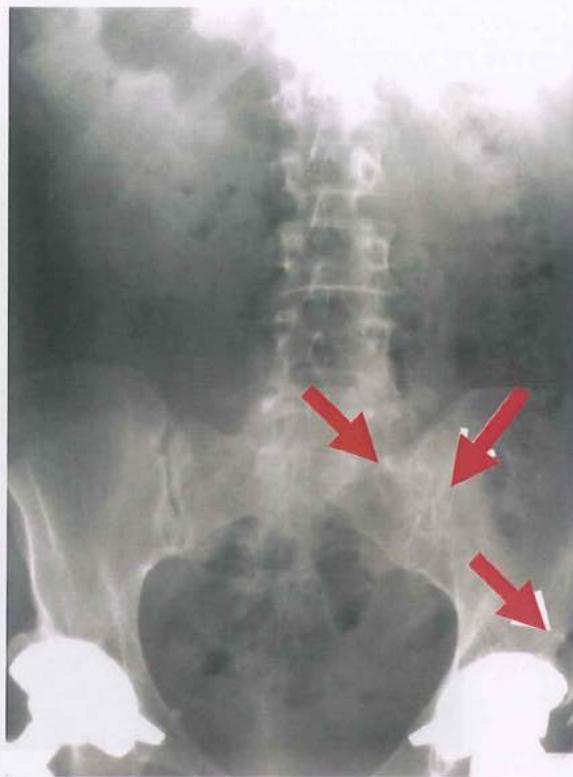
Сл. 12. Калцификати во карлицата кај истиот пациент



Сл. 13. Дентикл во долниот лев прв молар, кај пациентка со калкулус во десниот бубрег, калцификати во карлицата и со калцификати во левото рамо



Сл. 14. Калкулус во десниот бубрег, кај истата пациентка



Сл. 15. Калцификати во карлицата кај истата пациентка



Сл.16. Калцификати во десното рамо, кај истата пациентка. Peryarthritis humeroscapularis calcarea lateralis dexter



Сл. 17. Сијалографија на субмандибуларна жлезда



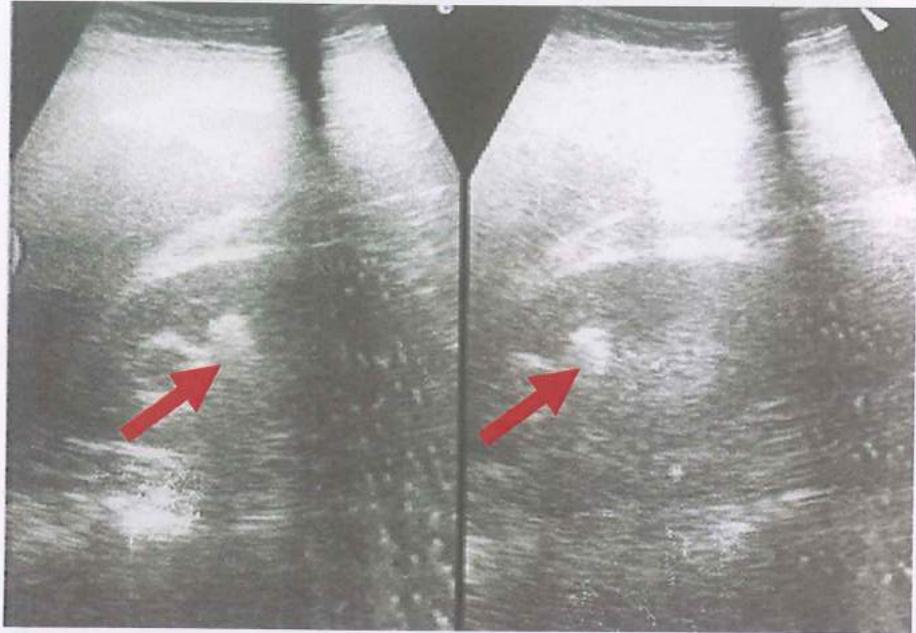
Сл. 18. Сијалографија на субмандибуларна жлезда



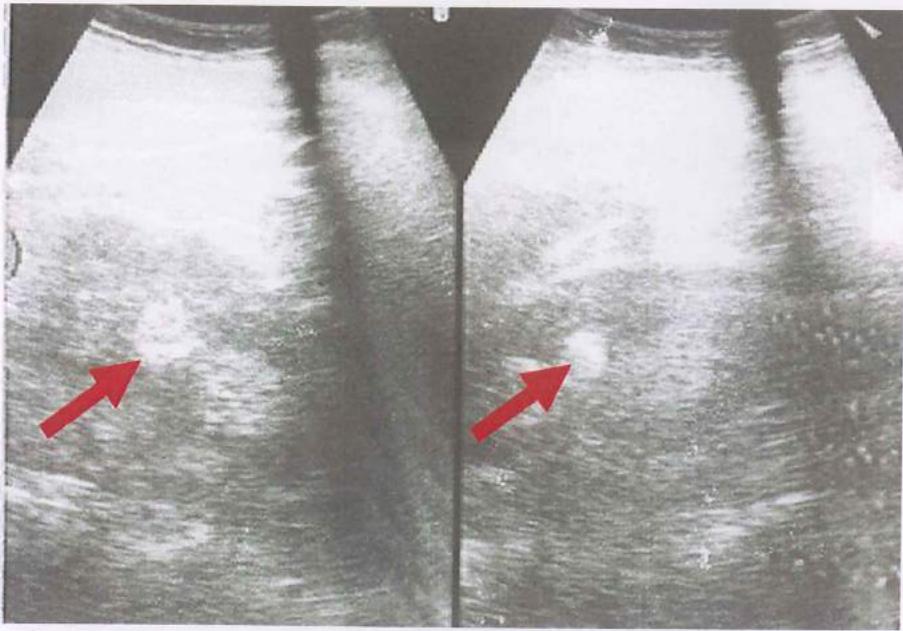
Сл.19. Сијалографија на субмандибуларна жлезда



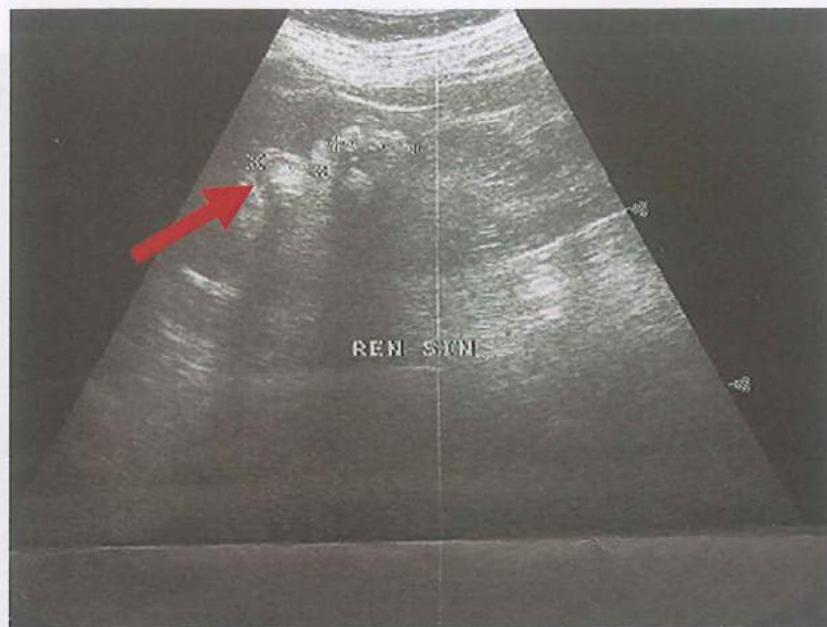
Сл.20. Сијалографија на истиот пациент



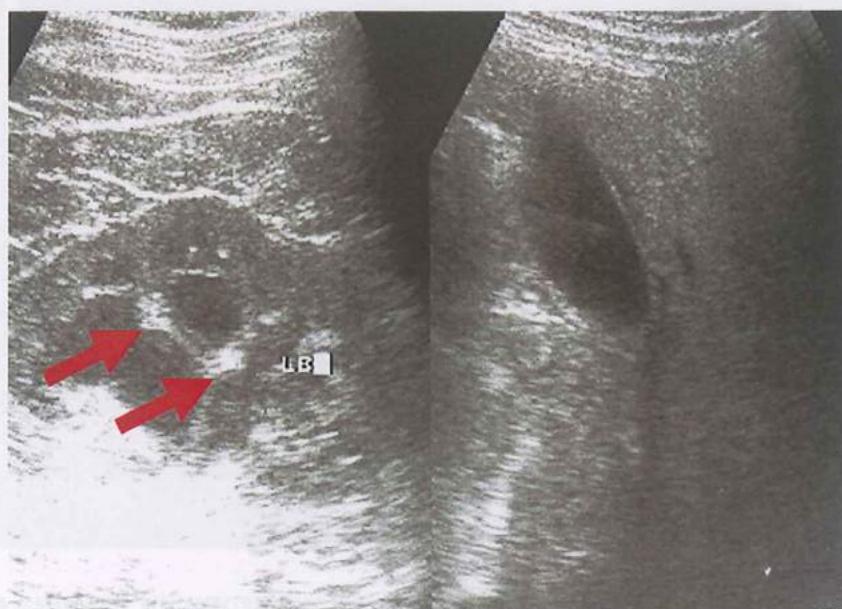
Сл. 21. Ултрасонографска (ехо) снимка на калкулус во бубрег, кај пациент со дентикили и калкули во жолчното ќесе



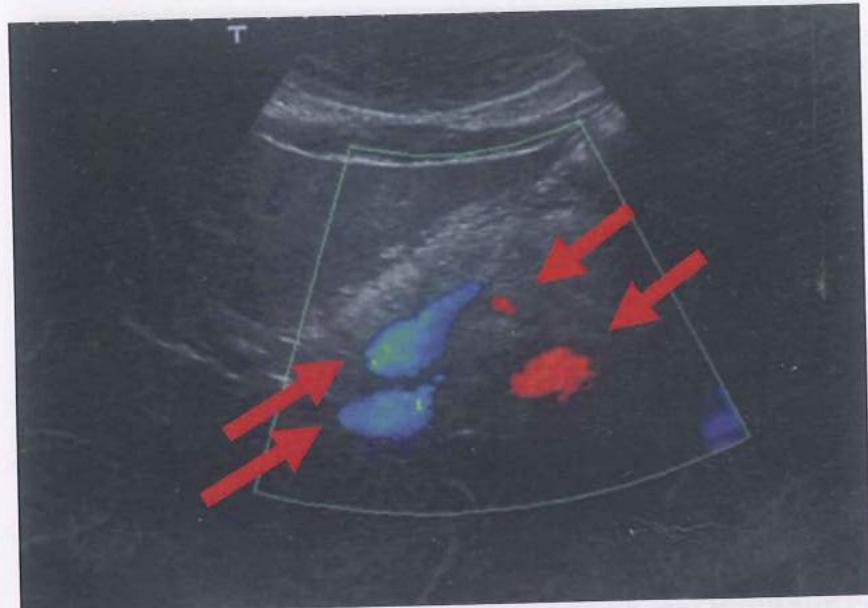
Сл. 22. Ехо снимка на калкулус во бубрег, кај пациент со дентикл и калкули во жолчното ќесе



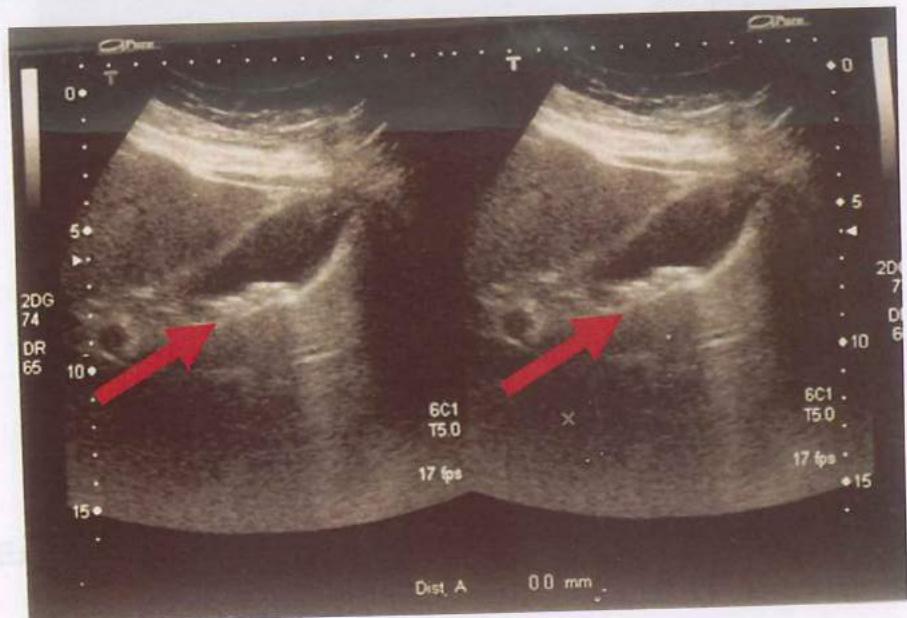
Сл.23. Ехо снимка на калкулус во бубрег, кај пациент без дентикл, со дифузна калцификација во пулпата на заб



Сл.24. Ехо снимка на калкули во бубрег, кај пациент без дентикл, со дифузна калцификација во пулпата на повеќе заби



Сл.25. Ехо снимка на калкули во жолчното ќесе, кај пациент со присуство на дентикл

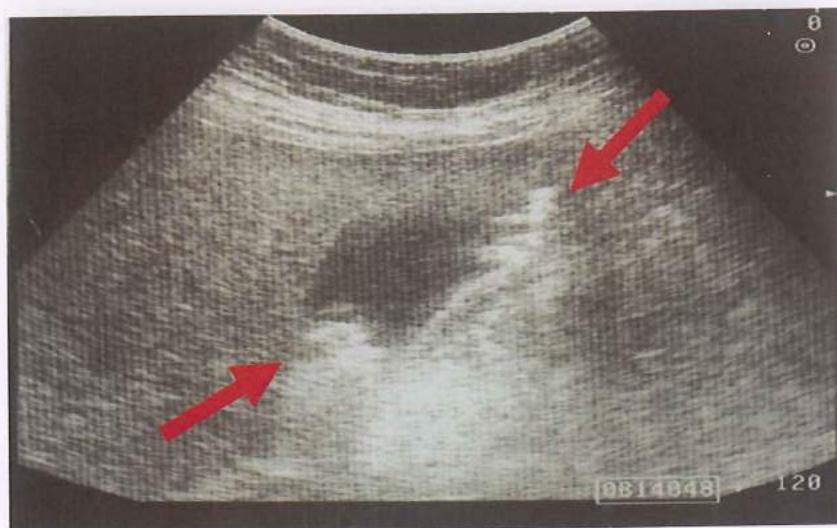


Сл.26. Ехо снимка на калкулуси во жолчното ќесе, кај пациент со дентикл

Следи 100 пациенти со дентикл и калкулуси во жолчното ќесе. Во случаите со калкулуси во жолчното ќесе и 60 пациенти без калкулуси, објективно и хематологичките показатели биле повеќе, односно калкулусите имале вредноста на калкулусите во други органи во организмот, што ни подскази дека калкулусите не се само калкулуси.



Сл.27. Ехо снимка на калкулус во жолчното ќесе, кај пациент со дентикл, со песок во двата бубрега



Сл.28. Ехо снимка на калкули во жолчното ќесе, кај пациент со дентикл

Со евалуација на радиографските серии, од вкупно 200 пациенти, добивме 140 пациенти со дентики и калцификати/калкулуси во плунковни жлезди, бубрег и/или жолчно ќесе и, 60 пациенти без дентики, со присуство на калцификати/калкулуси во други органи во организмот, што ни послужи како контролна.

Макроскопски слики од камчиња во пулпа, плунковни жлезди, бубрег и жолчно ќесе



Сл.29. Екстирпиран дентикл заедно со пулпа, од пациент со калкулус во бубрег



Сл.30. Екстирпиран дентикл, од пациент со калкулус во бубрег

На слика 29, прикажуваме екстирпиран дентикл заедно со пулпа, од пациент со калкулус во бубрег. Слика 30, 31 и 32, преставуваат екстирпирани дентикили од пациенти со присутни калкули во бубрег и/или во жолчното ќесе.

Најблиската калкулоза на денталните калцификати, сијалолитијазата ја претставуваме со сликите 33 и 34, каде е претставен хируршки отстранет сијалолит од пациент со дентикили и песок во бубрезите. Сликите 35 и 36 преставуваат хируршки отстранет калкулус од бубрег, од пациентка со дентикили.



**Сл.31. Екстирпирани дентигрални калкули, од пациент со повеќе калкули во жолчно
ќесе**



**Сл.32. Екстирпирани коронарен дентигрален калкулус со коренски дел, од пациент со
повеќе калкули во жолчно ќесе**



Сл.33. Сијалолит од субмандибуларна жлезда, кај пациент со дентикл и песок во бубрези



Сл.34. Сијалолит, пресечен попречно за да се види белузлавата внатрешност

Сијалолит е кристализирана сировина која се формира во субмандибуларните жлезди. Оваа сировина е компонирана од калциум карбонат, калциум фосфат и калцифицирани слузови на чврстота.



Сл.35. Оперативно отстранет калкулус од бубрег, од пациентка со дентикили

Сл.37. Трошки камчиња споредено отстранети од жолчно ѕасо, од пациент со дентикили



Сл.36. Истиот калкулус спореден со мерна единица

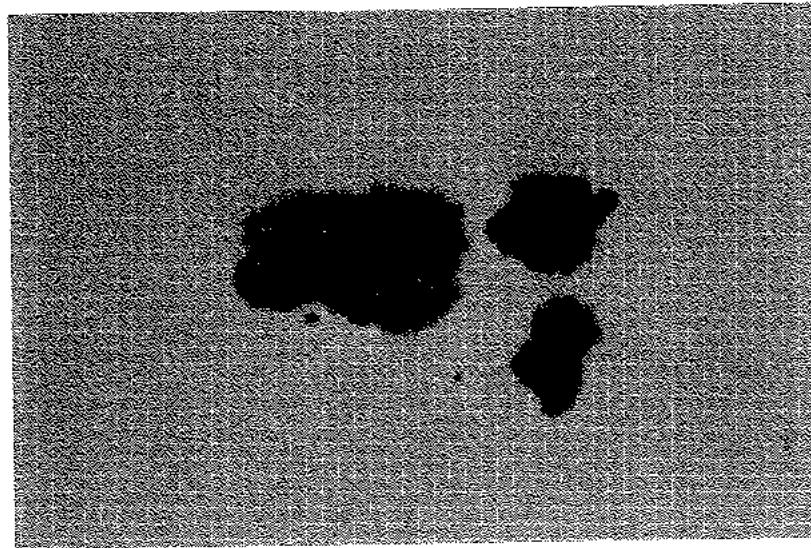
Со слика 37, 38, 39, 40, 41 и 42, ги прикажуваме хируршки отстранетите калкули од жолчно ќесе, од пациенти со дентикили, дистрофична калцификација во пулпата, песок во бубрезите и калцифицирани слоеви на аортата.



Сл.37. Трошни камчиња оперативно отстранети од жолчно ќесе, од пациент со дентикл.



Сл.38. Оперативно отстранети камчиња од жолчно ќесе, кај пациент со дентикл



Сл.39. Оперативно отстранети камчиња од жолчно ќесе кај пациент со дентикл и песок во бубрезите



Сл.40. Многубројни мали камчиња од жолчно ќесе, кај пациент без дентикл со дистрофична калцификација на пулпа на заб

Дополнително најчеста едадаре не помилувањето на хипертензивниот пациент. Спореднато со клиничките знаци групите се поделени во три групи по написаното:

Група I: Повеќе од 10 камчиња, брз и сопствен, со промените коишто се вршат во вратот и грбот, како и промените во



Сл.41. Повеќе на број, мазни, цврсти камчиња кај пациент со дентикл



Сл. 42. Четири камчиња од жолчно ќесе оперативно отстранети од пациент со дебел калфициран слој на аорта, оперативно дијагностицирана и, присуство на дентикл

Добиените наоди, во однос на локализацијата на калцификатите/калкулусите, сугерираа формирање на три групи на пациенти :

- Првата група (сл.бр.13,14), беше составена од 80 пациенти со присутни калкулуси (песок) во бубрег, како и присуство на дентикли.
- Втората група (сл.бр.22, 25,26,28), беше составена од 60 пациенти со присутни или одстранети камчиња во жолчното ќесе и присуство на дентикли.

Заедно овие две групи, од вкупно 200 пациенти, покажаа застапеност на дентиклите, кај 140 пациенти, односно 70%.

- Третата група, беше составена од 60 пациенти без присуство на дентикли, кои имаат калкулуси во бубрег, жолчно ќесе, плунковни жлезди и/или дијагностицирана калцификација на друго место во организмот, која ни послужи како контролна група. Оваа група ја формираавме од пациенти кои доаѓаа со локализирана или неодредена болка во забалото, поврзана со главоболка (сл.бр.23,24).

Пациентите од оваа група, покажаа застапеност кај 60 пациенти, односно 30%.

Добиените резултати, од анамнезата и анализата на радиографските документации, упатуваат на застапеноста на дентиклите кај пациенти со присуство на патолошка калцификација на други места во организмот. Со графикон 1, статистички ја представуваме застапеноста на дентиклите, кај пациенти со присуство на патолошка калцификација на други места во организмот.

Графикон 1.



Процентуалната разлика, ја регистрираме помеѓу двете групи: 70% и 30%. Оваа разлика е статистички сигнификантна за $P = 0,0000$, добиена со помош на t – тестот.

Посебна група произлезе од анамнезата добиена од пациентите, кои беа и со дијагностицирана сијалолитијаза и присуство на дентикли. Поради малиот број (10) не ја подложивме на статистичка анализа.

Преку морфолошката анализа на различни цврсти патолошки супстрати: пулпарни дентикили, пулпарни калцификати, сијалолити, билијарни и ренални калкули, ги прикажуваме сличностите и разликите во составот и настанувањето на дентиклите и пулпарните калцификати, од една страна, со формирањето на калкулуси во други ткива и органи, од друга страна.

Макроскопска анализа:

1. Според тежината - цврсти патолошки супстрати (CPS) се наоѓаат во широк дијапазон и истите се во зависност од локализацијата. CPS со најмала тежина присутни се во денталните структури. На оваа локализација отсуствуваат CPS со тежина поголема од 1gr. Во останатите ткива и органи, присутни се CPS со мала тежина (под 1gr.) и CPS со тежина над 1 gr. како и CPS со значително поголеми маси, тежинаа поголема од 50 gr.

Табела 1: во однос на маса:

	<1 gr.	1-2 gr.	5 -10 gr.	10 - 50 gr.	> 50 gr.
дентикили	20				
пл. жлезда		9	1		
жолч.кесе			20	19	1
бубрег	2	3	5		
вкупно	22	12	26	19	1

2. Според бројот - бројот на CPS во денталните структури е ограничен на 1-2, додека во другите ткива и органи, освен солитарното присуство, најдени се и повеќе на број.

Табела 2: број на случаи по бројчана застапеност на CPS, во однос на испитувана локализација:

	1-2 cps	>2 cps
дентикили	20	
пл. жлезди	10	
жолч. кесе		40
бубрег	10	
вкупно	40	40

3. Димензиите на испитуваните CPS, варираат во широк дијапазон, но сепак се во функција од величината на компартманот. Имено CPS во денталниот компартман се мали и истите не се поголеми од 3 mm. CPS во однос на другите ткива и органи имаат мали и големи димензии.

Табела 3: димензии на CPS во однос на локализации:

	до 5 mm	1-2 cm	2-5 cm	>5 cm
дентикили	20			
пл. жлезди		8	2	
жолч. кесе		15	20	5
бубрег			4	6
вкупно	20	23	26	11

4. Според обликот и формата CPS исто така се разликуваат во широки граници. CPS од денталниот компартман се округли до овални по облик со лесно нерамна површина (CPS 00). Во однос на другите ткивни компармани CPS имаат различни облици. Издвоена е група идентична како во денталниот компартман, група со агловиден и неправилен облик (CPS AG) со мазна или нерамна површина, група со неправилен кораловиден облик и нерамна површина (CPS K). CPS во вид на песок (CPS P) присутни во сите испитувани локализации.

Табела 4: дистрибуција на облици од CPS во однос на органи:

	CPS OO	CPS AG	CPS K	CPS P
дентикили	4			16
плунч.жлез.	6	4		
жолч. кесе	5	15	15	5
бубрег	2	4	2	2
вкупно	17	23	17	23

5. Според бојата, CPS исто така се разликуваат. Примероците од денталните структури, после фазата на испирање и отстранување на ткивните флуиди, покажуваат во најголем број белузлав колоритет. Примероците од плунковните жлезди, во еден број покажаа истоветен колоритет како и предходните, но исто така не беше мал бројот и на оние со темно кафејава дисколорација. Сите испитувани CPS од vesica felea, беа жолтеникаво преобоени. Колоритетот на бурежните CPS, беше во рамките на белузлаво и темно кафејаво пребојување.

Табела 5: анализирани CPS колоритет во однос на локализација:

	белузлави	жолтеникави	темно кафејави
дентикили	20		
плунч. жлезди	4		6
жолч. кесе		40	
бубрег	2		8
вкупно	26	40	14

6. Според конзистенцијата, денталните компартмани покажаа присуство на цврсти CPS, додека останатите локализации поседуваа и цврсти и трошни CPS.

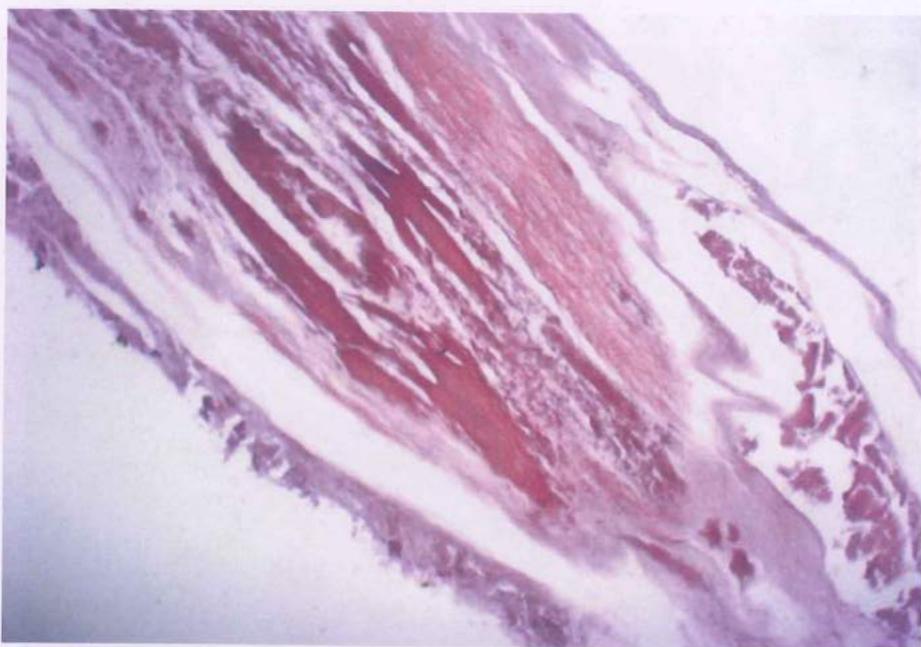
Табела 6: анализирани CPS според конзистенцијата

	цврсти	трошни
дентикли	20	
плунч. жлез	7	3
жолч. кесе	17	23
бубрег	6	4
вкупно	50	30

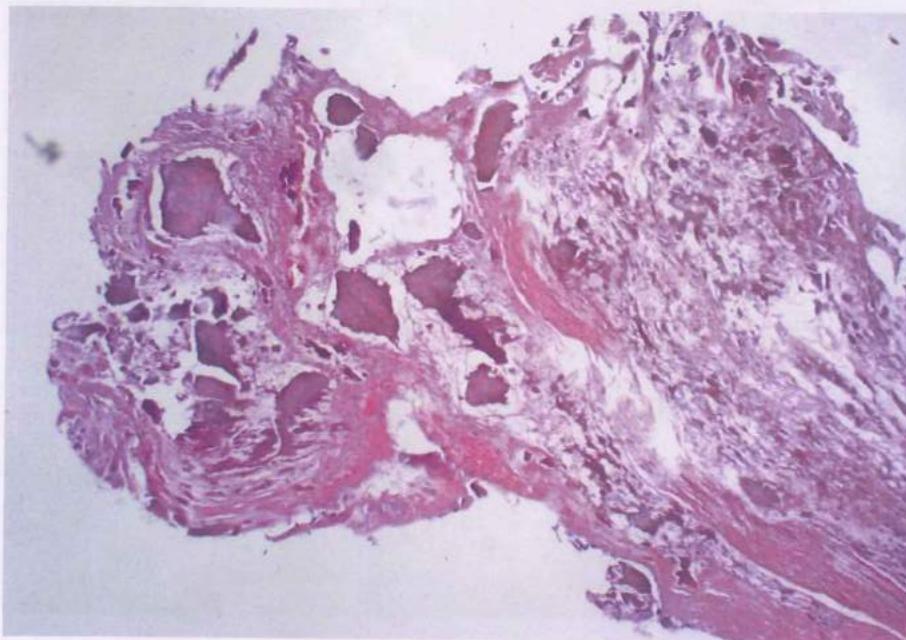
7. Според степенот на сублимација CPS од жолчното кесе и коралестите облици на бубрежните конкременти, покажаа назначен степен на сублимација.

Микроскопска анализа

За посебно значајни ги сметаме резултатите добиени од контролната група на пулпите, екстирпирани од 60 пациенти без рендген верифицирано присуство на дентикли, со калкулоза во плунковна жлезда и/или во бубрег, жолчно кесе (или со дијагностицирана калцификација на друго место). Добиените резултати ни зборуваат за редовно присуство на "песок", односно фокално парцијална и дифузна калцификација во сите примероци.

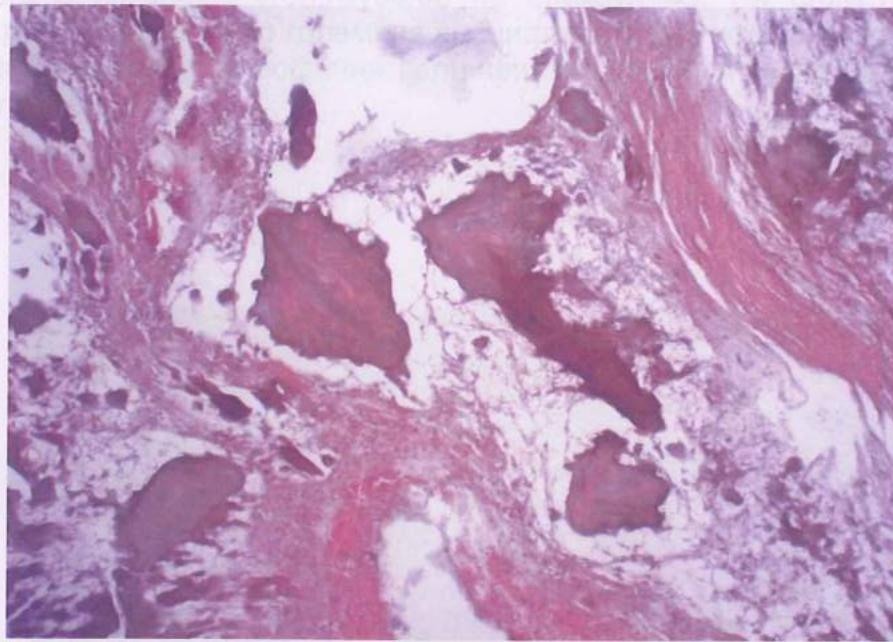


Слика 43. Сликата е со зголемување 10×4 , боенето е НЕ, сликата претставува поголем дел од забна пулпа, среден дел. Калцификатите се гледаат во вид на лонгитудинални, неправилни по форма потемно виолетови пребојувања.

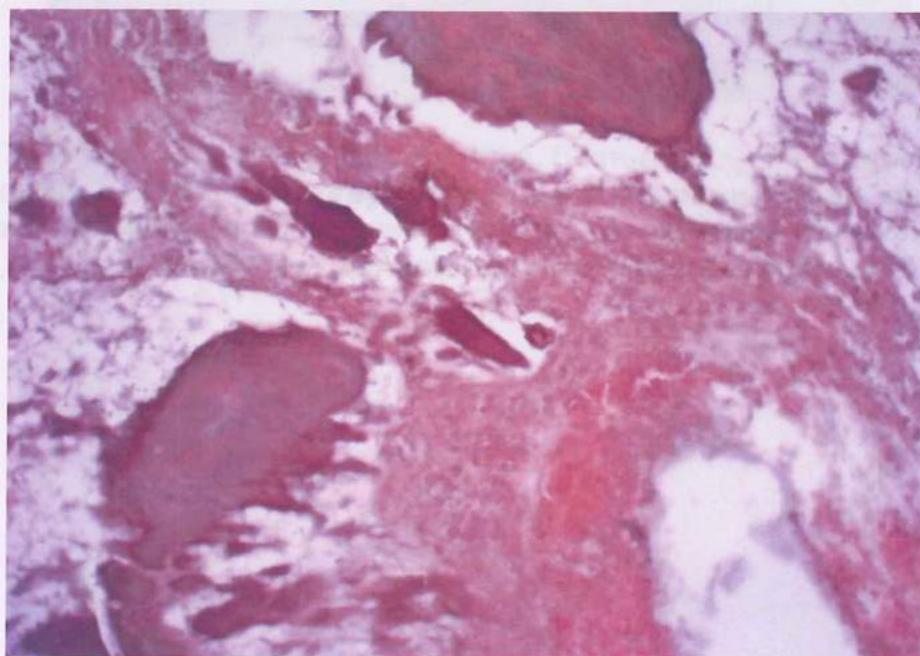


Слика 44. Сликата е со зголемување 10×4 , боенето е НЕ, сликата е друг дел од забна пулпа, проксимален дел. Калцификатите се гледаат во вид на неправилни по форма и различни по големина темновиолетови депозити

Слика 44. Сликата е со зголемување 10 X 10, боенето е НЕ, сликата е поголемо зголемување од предходната слика

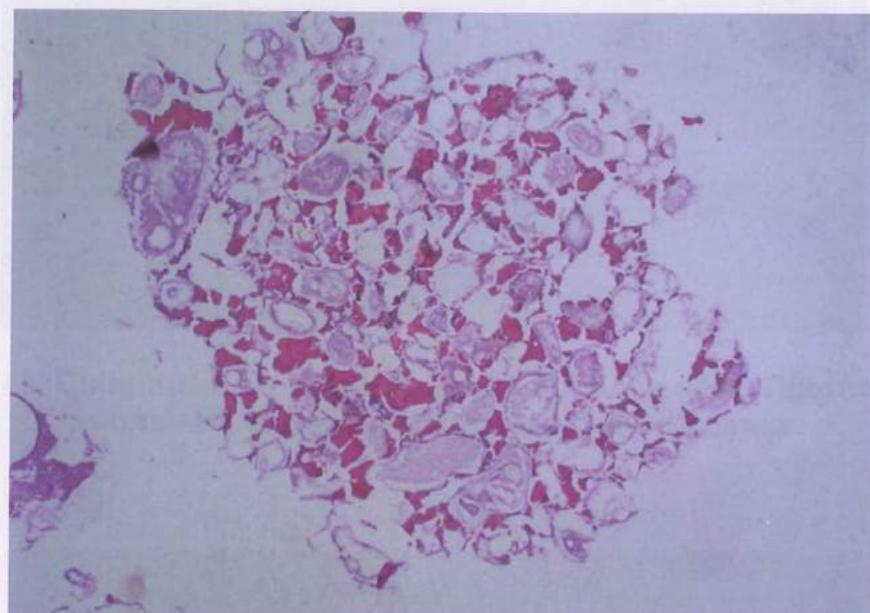


Слика 45. Сликата е со зголемување 10 X 10, боенето е НЕ, сликата е поголемо зголемување од предходната слика



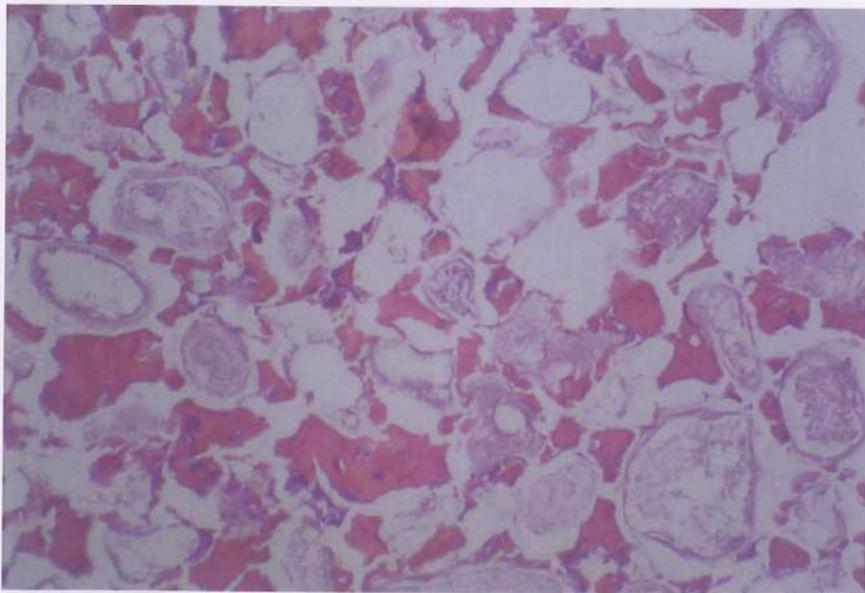
Слика 46. Зголемување 10 X 20, боенето НЕ.

Сликата 46 е поголемо зголемување на сликата 45. На сликите јасно се видливи груби, различни по големина калцификати. Но, исто така видливи се и ситни пунктиформни дистрофични калцификати во околина на безструктурен ткивен матрикс.

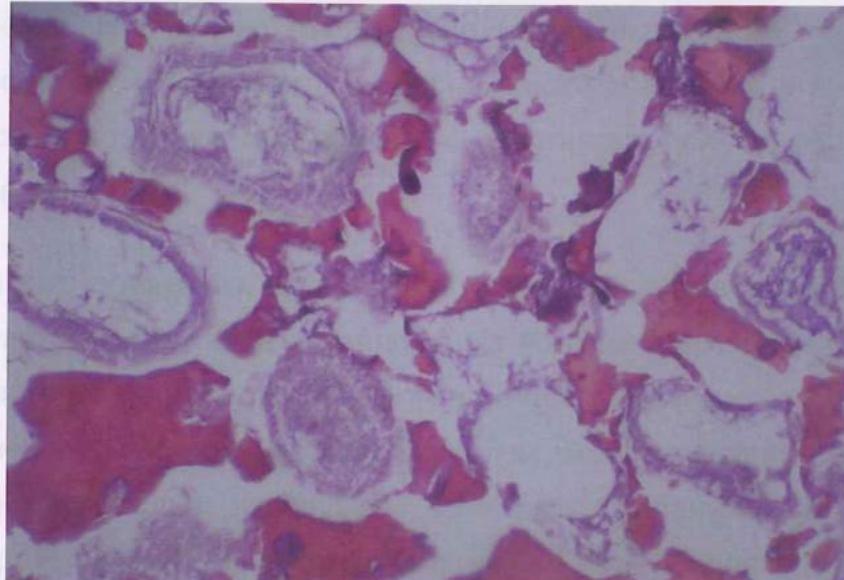


Слика 47. Сијалолит, зголемување 10 X 4, боене НЕ, темноцрвенкастите и компактни делови претставуваат недокалцинирани делови од цврсто ткивната промена. Бледо црвенкастите делови помеѓу калцификатите претставуваат делови од органскиот матрикс.

Слика 48. Сијалолит, зголемување 10 X 4, боене НЕ. Грануларна калцификација предвидувајќи се на приходните сликe.

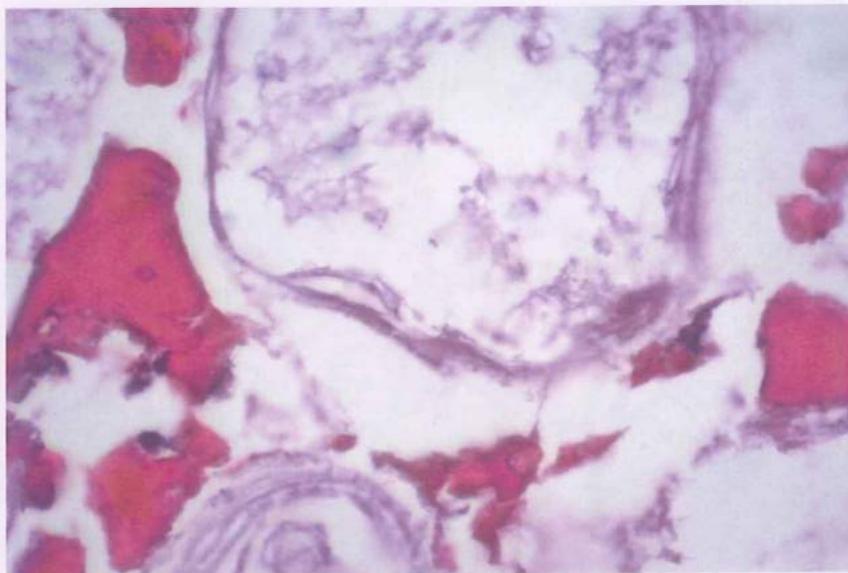


Слика 48. Сијалолит, зголемување 10 X 10, боене НЕ. Претставува поголемо зголемување од предходната слика.



Слика 49. Сијалолит, зголемување 10 X 20, боене НЕ. Претставува поголемо зголемување од предходната слика.

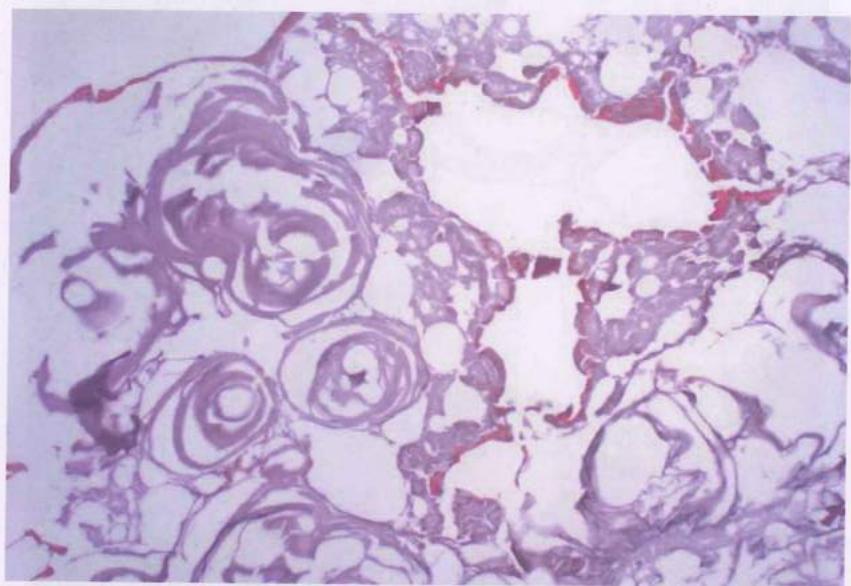
Покажуваат морфологија на сијалолит кој се прикажува со транспарентни кристалоидни структури.



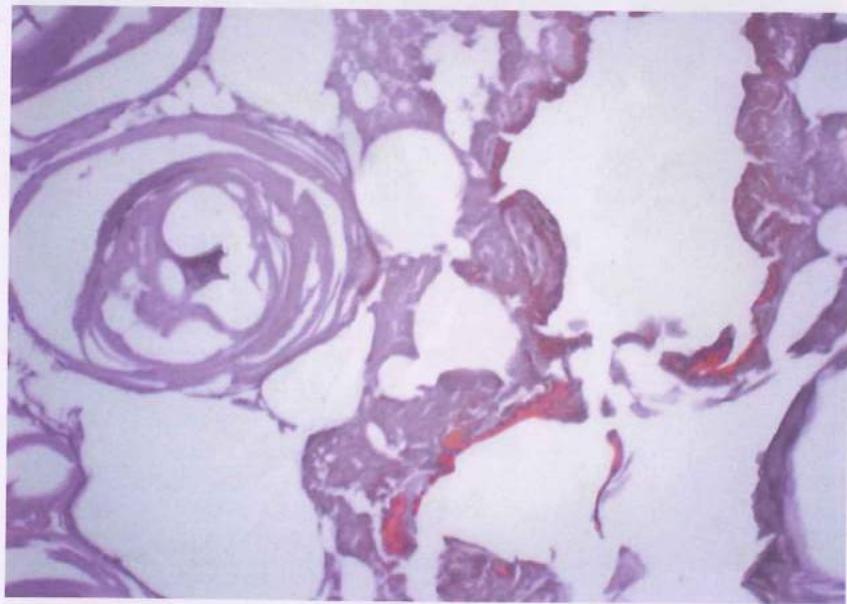
Слика 50. Сијалолит, зголемување 10 X 40, боење НЕ. Претставува поголемо зголемување од предходната слика.

Видлива е на ниво од микроскопска морфологија, направена под исти услови, мошне голема сличност во градбата на калцификатите во забната пулпа, плунковните жлезди и калкулите од бубрежниот паренхим. Органски матрикс, асоциран со процеси на иницијација и неоргански дел со депонирање на калциумови соли.

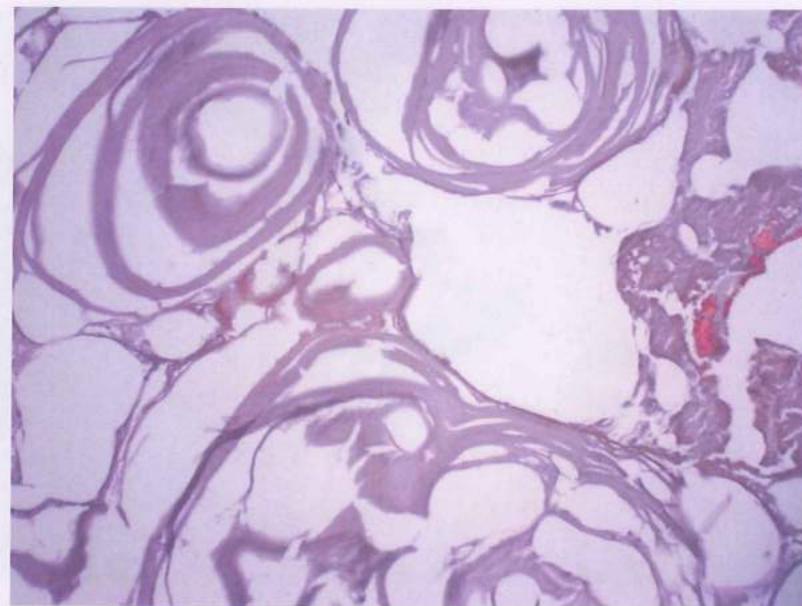
На сликите што следуваат, претставени се делови од нефролити, бубрежни калкули. Општо, процесот на декалцинација во овие примероци е по изразен, па присуството на калциумови депозити е помал. Калкулусите се составени од три компоненти : органски матрикс, калциум оксалатни кристали и помала количина на слободни калциумови депозити. Калциумот и оксалатите, всушност претставуваат една компонента на калциум оксалатни партикли, како хемиско соединение, кое при процесот на декалцинација и ткивна обработка, поминува како непроменето и, на хистолошките препарати овие партикли покажуваат морфологија мошне слична како при анализирањето на седиментот на урината. Истите се во вид на помали и поголеми агловидни , транслуцентни кристаловидни структури.



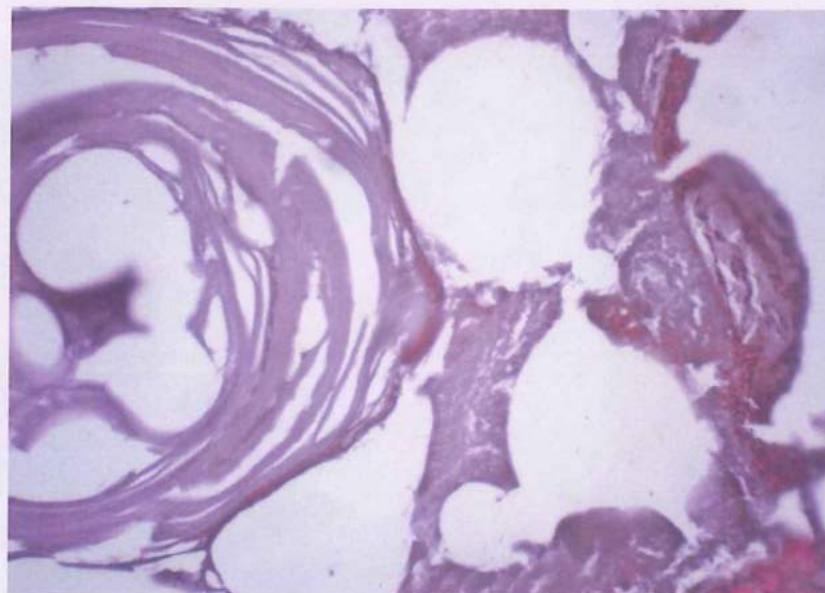
Слика 51. На сликата се гледа дел од бубрежен калкулус, 10 X 4, боенje HE. Скоро целосно видливи сверолики структури од органски матрикс со мала количина на калциумови депозити.



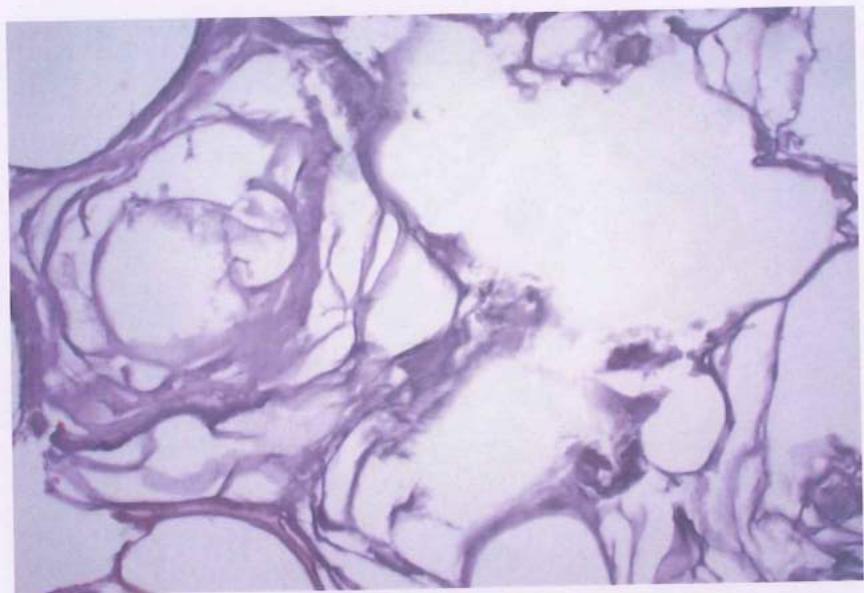
Слика 52. Поголемо зголемување од истата слика, 10 X 10



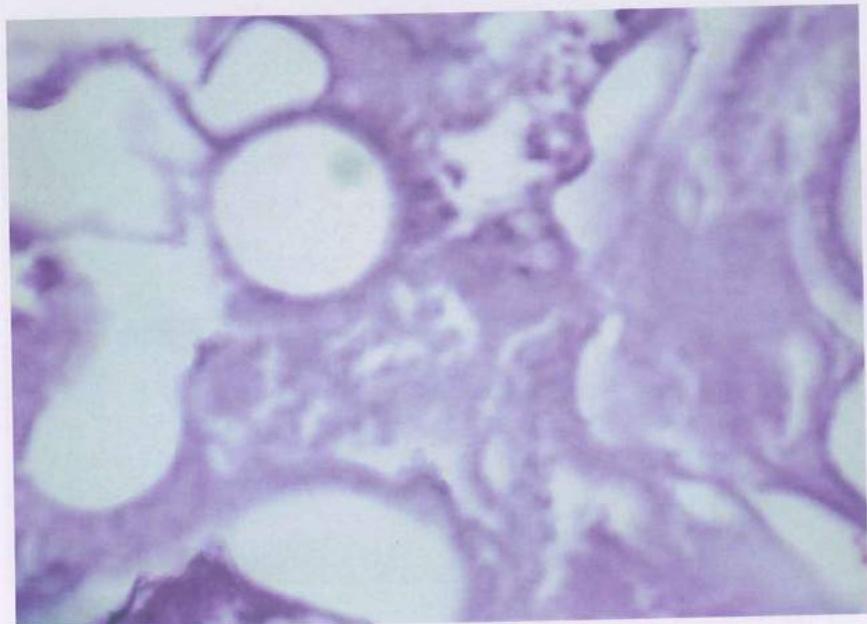
Слика 53. Поголемо зголемување 10 X 10 од истиот калкулус во друго видно поле



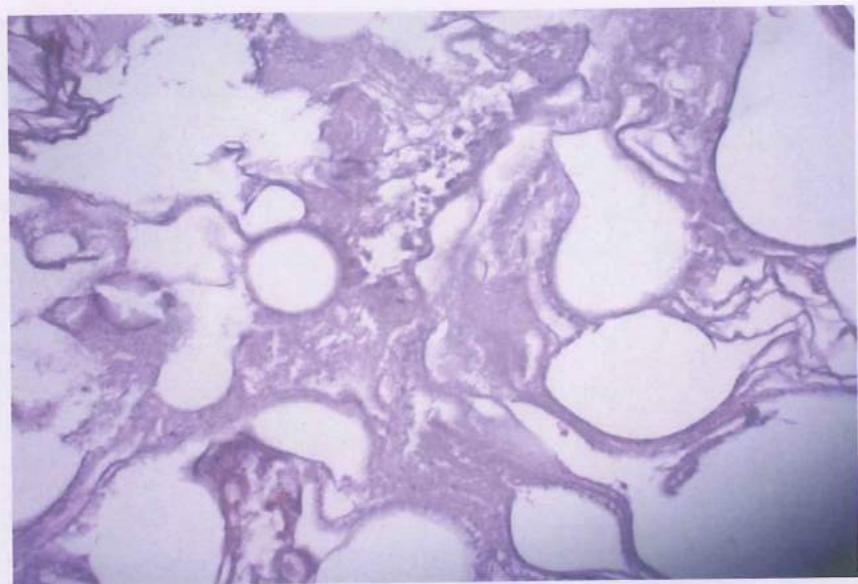
Слика 54. Поголемо зголемување 10 X 120 од истиот калкулус во друго видно поле



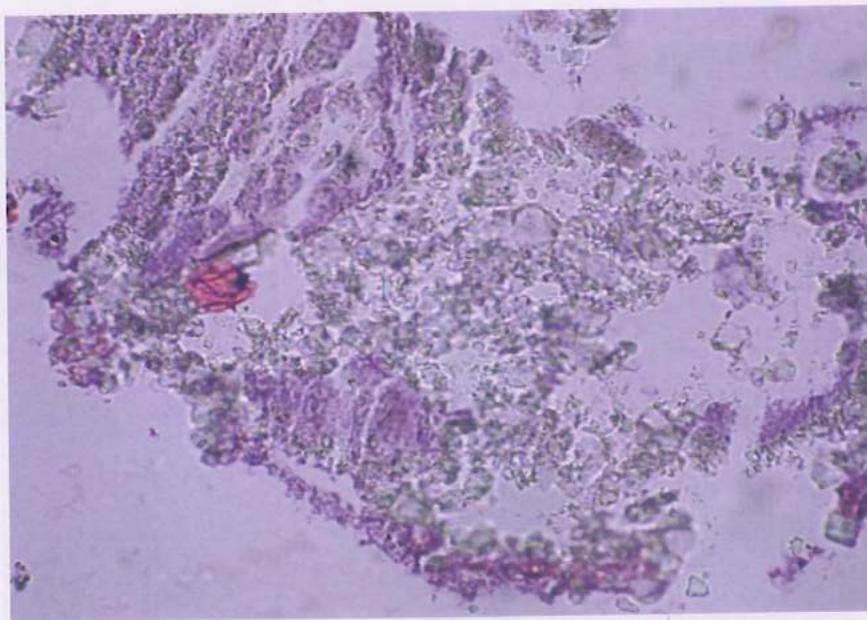
Слика 55. Поголемо зголемување 10 X 120 од истиот калкулус во друго видно поле



Слика 56.

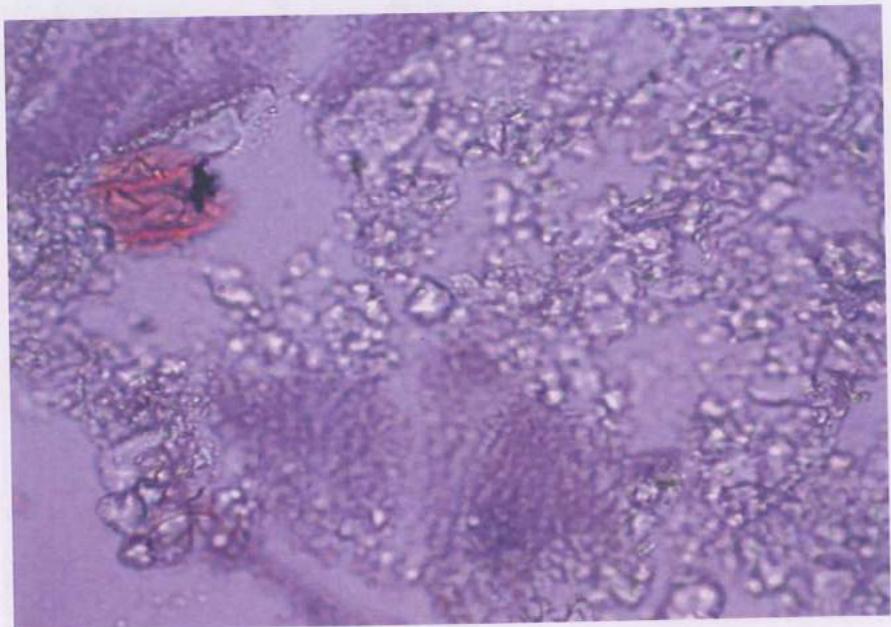


Слика 57.

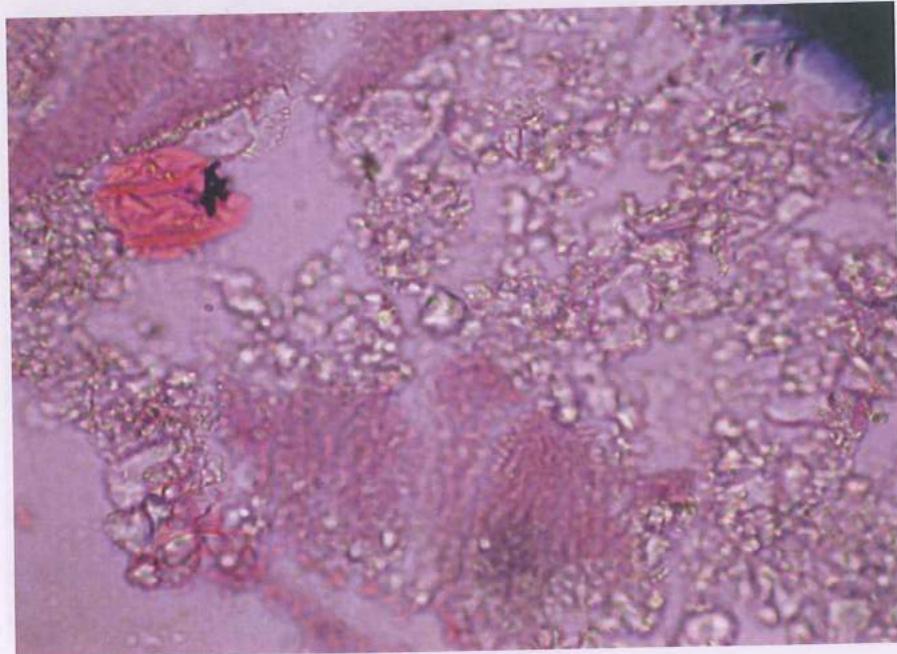


Слика 58.

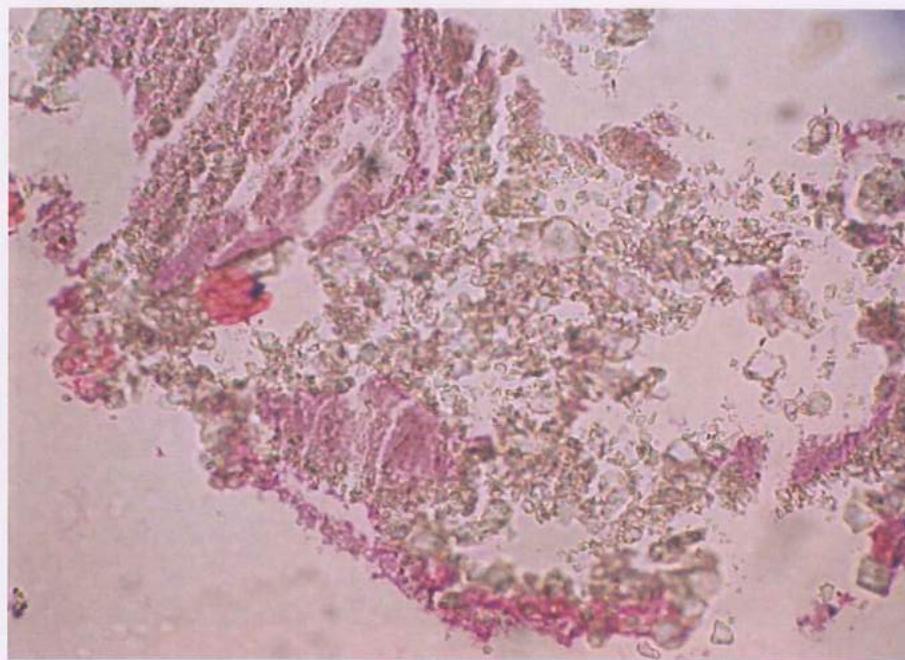
Слика 59.



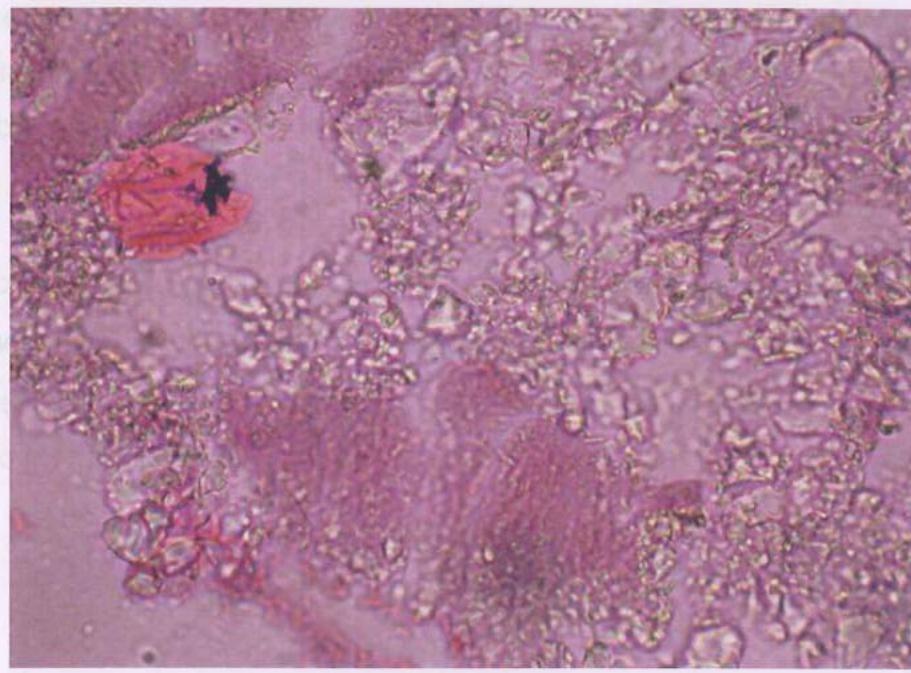
Слика 59.



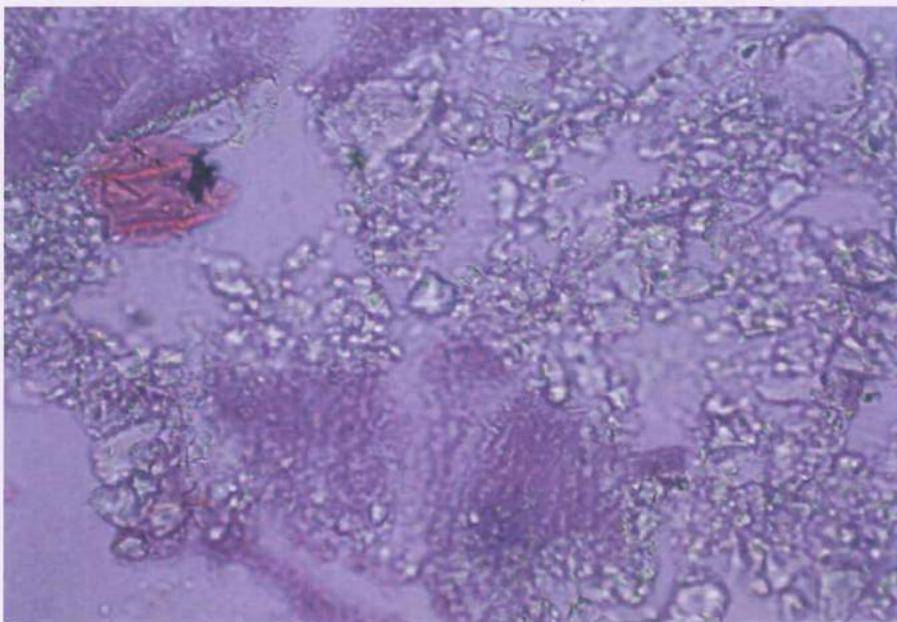
Слика 60.



Слика 61. Зголемување 10 X 20.



Слика 62.



Слика 63.

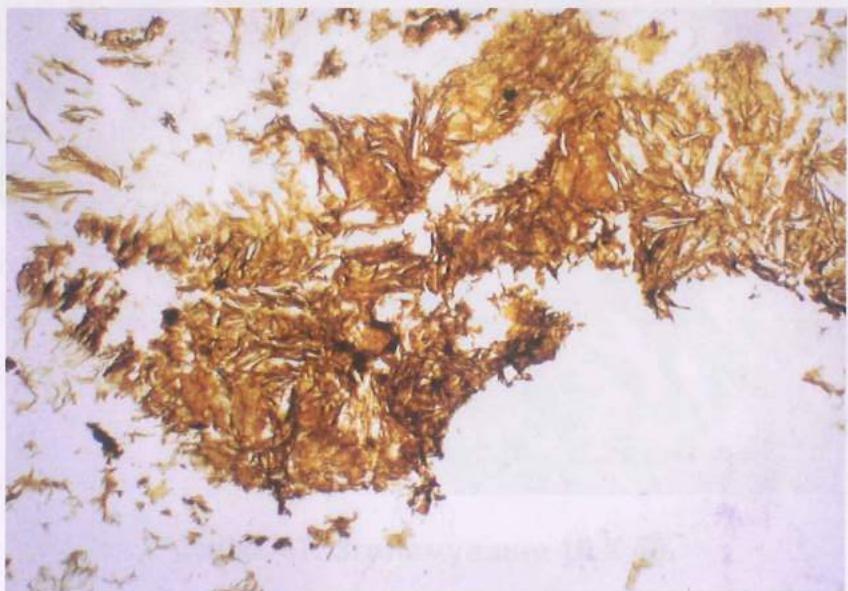
Заедничко за сите слики од 51 – 63. Делови од ренални калкули во кои се прикажани калциум оксалатни кристали. Кристалите се различни по големина, агловидни, транслуцентни, нерамномерно распоредени во вид на фокуси во реналниот калкулус.

Морфолошкиот континуум, во испитаната серија на денталните, плунковните и бubreжните CPS, е присуството на калциум, организирно во два морфолошки облика сверули и неправилни по облик депозити на калциумови соли од типот на дистрофични калцификати.

Слика 63. Зголемување 10 X 10



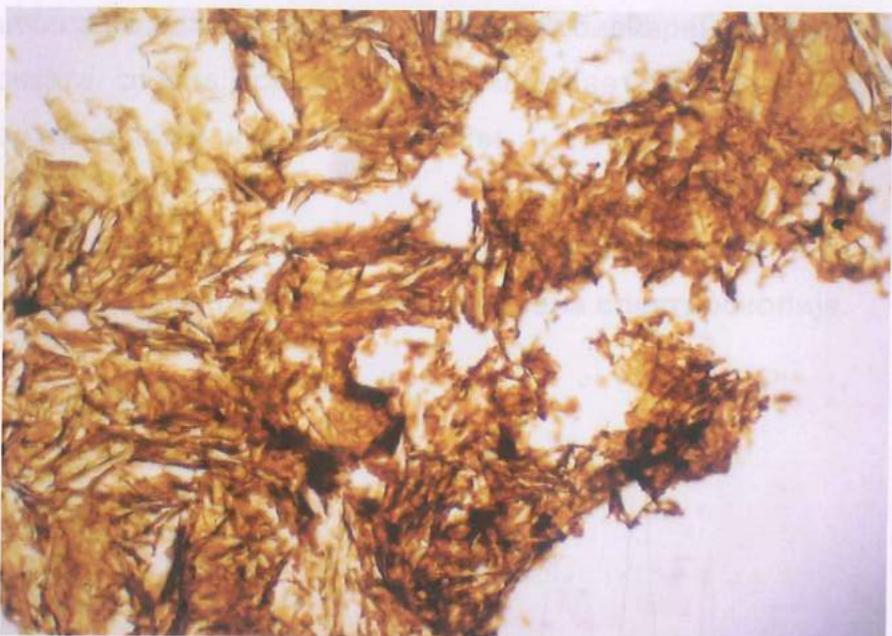
Слика 64. Зголемување 10 X 4.



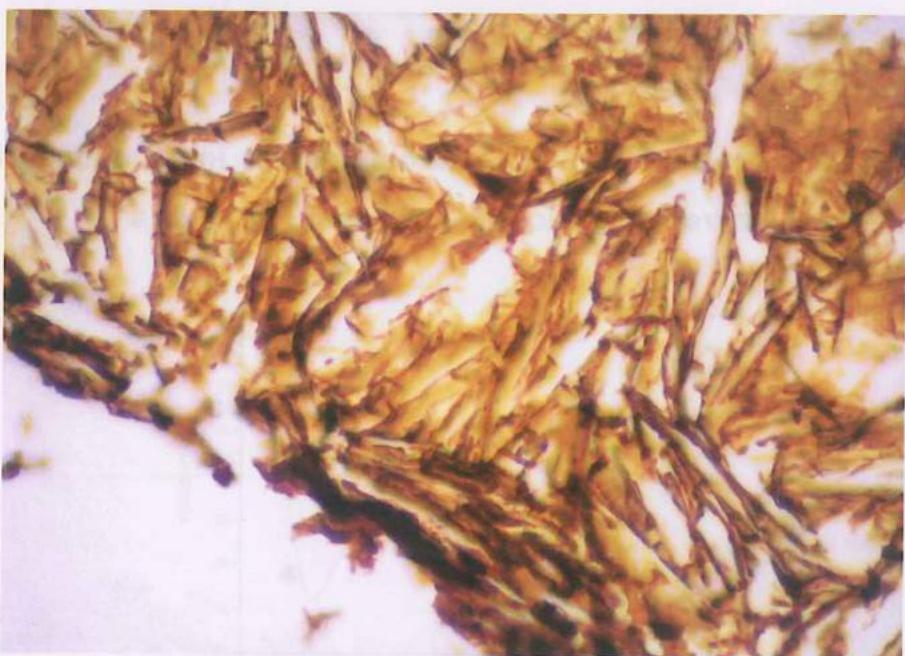
Слика 65. Зголемување 10 X 10.

Слика 64 и 65 покажуваат обично симптоматични за хипертонија и хипертензија структури со холестерински кристали и калциумски и минерални пигменти.

Секакуно, прикажано е здравје на скелот од кости и косички. Марфологично не е доказувано присуство на калциум ниту во тквите. Железните капсули покажуваат се од хипертензивни процеси и калциум и фосфорни отлагали.



Слика 66. Зголемување 10 X 20.



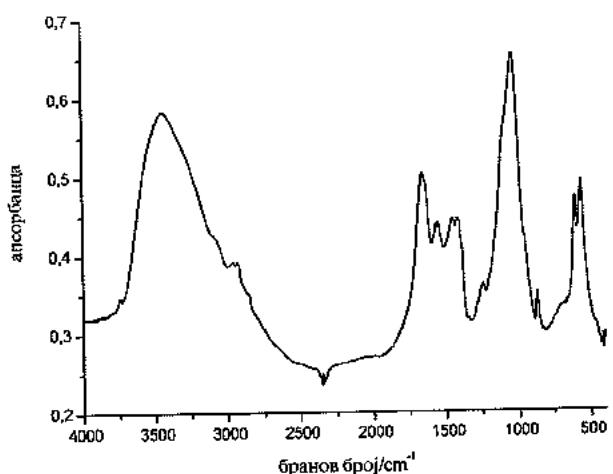
Слика 67. Зголемување 10 X 40.

Сликите покажуваат дисперзни поединечни и адхериирани спикули од холестерински кристали со обилна количина на жолчни пигменти.

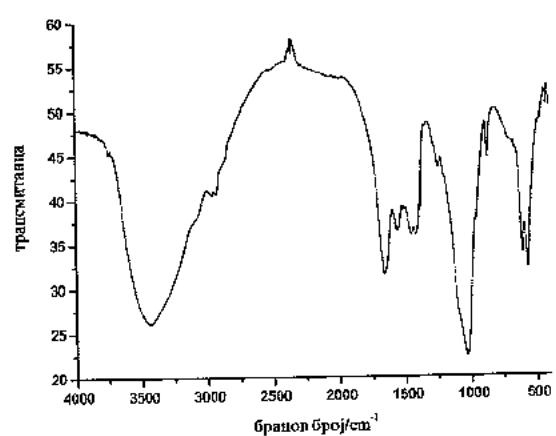
Секвупно, прикажана е серија на слики од жолчни камчиња. Морфолошки не е детектирано присуство на калциум ниту во трагови. Жолчните калкули градени се од холестеролски кристали во вид на адхериирани и слободни спикули со

обилна количина на жолтеникав до кафејавкаст билиарен пигмент. Билиарните CPS од везиката, според морфологијата излегуваат од низата CPS асоциирани со присуство на калциум и калциумови соли.

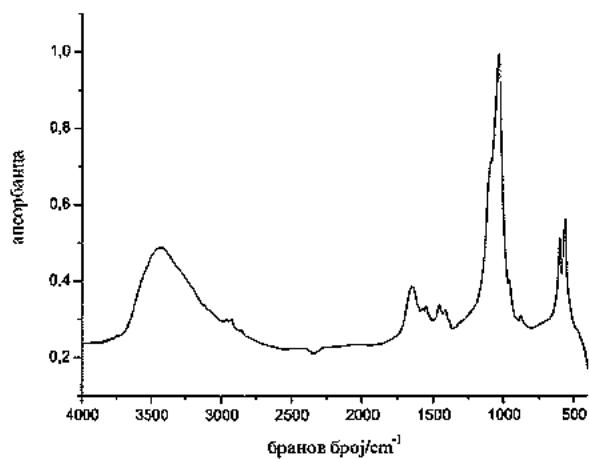
На оперативно отстранетите калкулуси, беше направена квалитативна анализа, со помош на методата на инфрацрвена спектроскопија.



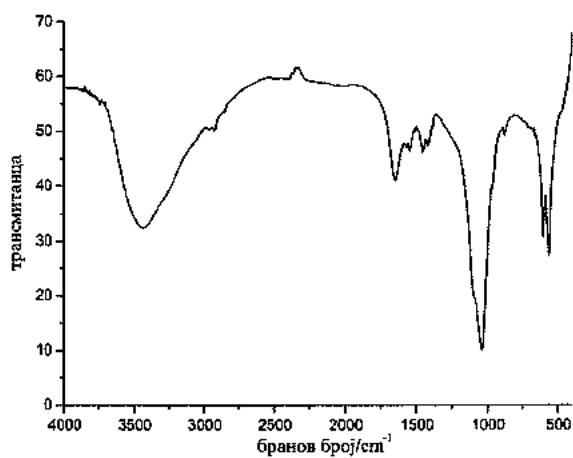
Сл. 68. Инфрацрвен спектар, во абсорбанца, на ДЕНТИКЛ, состав :
албумин + фосфат (карбонатен апатит)



Сл. 69. Инфрацрвен спектар, во трансмитанца, на ДЕНТИКЛ



Сл. 70. Инфрацрвен спектар, во абсорбантца, на калкулус од плунковна жлезда, состав : албумин + фосфат (карбонатен апатит)

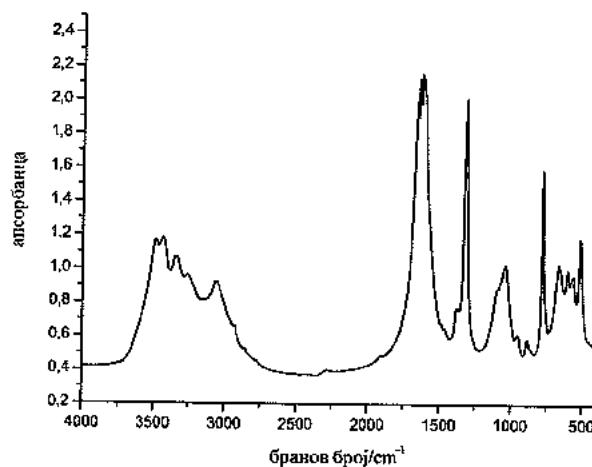


Сл. 71. Инфрацрвен спектар, во трансмитанца, на калкулус од плунковна жлезда

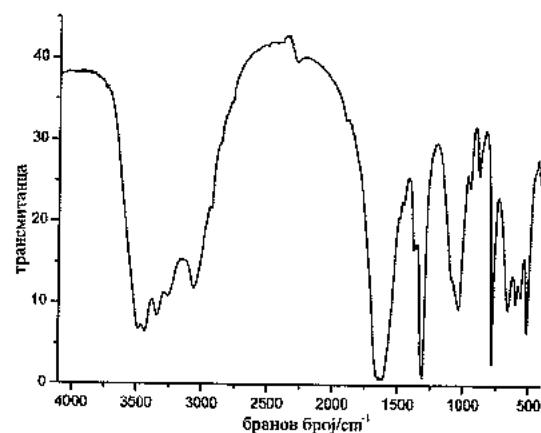
Спектрограмите, во абсорбантца, на дентикл и калкулус од плунковна жлезда, се приближно исти. Составени се главно од албумин, кој е најчест конституент на дентиклите и, како што се гледа од спектрите, на камчињата од плунковни жлезди.

Интензивната лента во спектрите, во трансмитанца, во високофреквентниот дел од двата спектра, како и лентите во областа од околу 1600 до 1300 cm⁻¹ го покажуваат присуството на албуминот, а интензивната лента во областа околу 1000 cm⁻¹ и, дублетот на ленти околу 600 cm⁻¹ се резултат на вибрациите

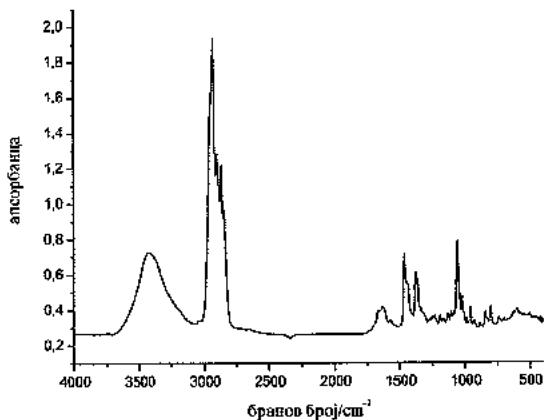
на фосфатните јони, присутни во камчињата како карбонатен апатит (калциум фосфат карбонат).



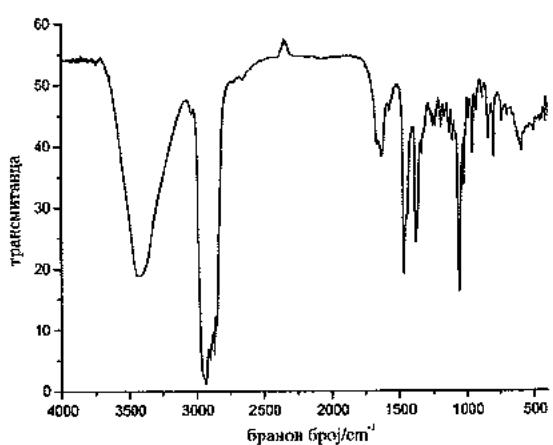
**Сл.72. Инфрацрвен спектар, во апсорбаница, на калкулус од бубрег,
состав : оксалат + фосфат**



Сл.73. Инфрацрвен спектар, во трансмитанца, на калкулус од бубрег
Интензивниот комплекс на ленти околу $3500\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ покажува присуство на водородно сврзани молекули вода, а интензивната лента на 1640 cm^{-1} како и лентите на 1320 , 780 и 500 cm^{-1} се резултат на вибрации на оксалатните јони. Во овој примерок, присутен е и карбонатен апатит, што се гледа од лентата на околу 1040 cm^{-1} која е резултат на вибрации на фосфатните јони.



**Сл. 74. Инфрацрвен спектар, во апсорбанца, на калкулус од ЖОЛЧНО
ќесе, состав : холестерол + калциум оксалат**



**Сл. 75. Инфрацрвен спектар, во трансмитанца, на калкулус од ЖОЛЧНО
ќесе**

Во камчињата од жолчно ќесе, присутен е холестерот, значи главна компонента е холестерол. Може да биде присутен калциум билирубинат, калциум карбонат, карбонатен алатит, протеини. Инфрацрвениот спектар на испитуваниот камен од жолчно ќесе, покажува дека каменот по својот состав е холестерол со присутен калциум оксалат.

Атомско – апсорpcionата спектроскопија, беше употребена како метода За квантитативна анализа на материјалот.

Со примената на оваа метода, ја детектираме инфективната етиологија на патолошката калцификација, односно присуството на нанобактеријата/калцифицирачките нанопартикли, детектирајќи го специфичниот сооднос на калциумот и фосфорот во калцификатите/калкулусите, кој е карактеристичен за нив.

Со оваа метода добивме присуство на следните минерали : Al (mg/kg), Ba (mg/kg), Ca (mg/kg), Ca (%), Cu (mg/kg), Fe (mg/kg), K (mg/kg), Mg (mg/kg), Mg (%), Na (mg/kg), Na (%), P (mg/kg), P (%), Zn (mg/kg), што е прикажано на табела 7 :

Табела 7. Приказ на минералите, според количината, присутни во калкулите

	Al mg/kg	Ba mg/kg	Ca mg/kg	Ca %	Cu mg/kg	Fe mg/kg	K mg/kg	Mg mg/kg	Mg %	Na mg/kg	Na %	P mg/kg	P %	Zn mg/kg
Бр. на калкули														
Жолч.кесе - 2	1,92	0,08	659	0,066	21,54	<1	36,504	19,931	0,002	492	0,049	219	0,022	1,8
Жолч.кесе - 3	4,78	0,211	3449	0,345	5,79	<1	0	32,164	0,003	265	0,026	1369	0,137	2,55
Жолч.кесе - 15	<0,5	0,04	288	0,029	5,41	<1	0	7,025	0,001	292	0,029	64	0,006	2,22
Жолч.кесе - 6	5,07	0,387	988	0,099	14,99	20,98	53,701	8,396	0,001	405	0,041	640	0,091	5,64
Жолч.кесе - 10	3,18	0,903	54133	5,413	127,36	48,26	198,839	438,397	0,044	1755	0,176	6183	0,618	10,17
Жолч.кесе - 14	3	3,002	421	0,042	16,4	29,11	0	24,138	0,002	144	0,014	260	0,036	2,15
Жолч.кесе - 9	3,39	0,099	752	0,075	12,62	24,78	0	17,401	0,002	628	0,063	480	0,069	4,08
Жолч.кесе - 18	4,86	1,301	43532	4,353	145,14	45,82	200,501	374,968	0,037	1643	0,164	6199	0,62	12,04
Бубрег - 8	4,83	0,035	292	0,029	15,33	<1	78,689	36,634	0,004	483	0,048	240	0,024	14,81
Жолч.кесе - 12	<0,5	2,485	5508	0,551	16,89	<1	127,324	57,219	0,006	363	0,036	198	0,02	24,74
Жолч.кесе - 17	17,51	1,72	8649	0,865	13,56	<1	105,757	76,067	0,008	374	0,037	206	0,021	13,55
Жолч.кесе - 13	6,1	1,998	1339	0,134	18,18	<1	43,247	64,901	0,006	482	0,048	806	0,129	36,46
Жолч.кесе - 16	0,8	0,044	214	0,021	3,32	<1	6,954	7,664	0,001	208	0,021	134	0,016	2,15
Жолч.кесе - 11	8,24	0,573	136051	13,605	35,47	15,56	197,99	595,535	0,06	1447	0,145	979	0,098	18,68
Дентикл - 7	26,65	9,464	185019	18,502	29,92	<1	173,027	2687,84	0,269	1381	0,138	138892	17602	1404,02
Плунж.жл. - 4	50,2	0,541	584310	58,431	27,76	<1	635,244	4785,26	0,479	7727	0,773	232517	23,252	86,14

Табела 8. Приказ на присутните минерали (освен Са и Р), во mg/kg и %, во дентални калцификации, во плунковна жлезда и бубрег

	Al mg/kg	Ba mg/kg	Cu mg/kg	Fe mg/kg	K mg/kg	Mg mg/kg	Mg %	Na mg/kg	Na %	Zn mg/kg
дентикли	26.65	9.464	29.92	<1	173.027	1687.643	0.269	1.381	0.138	1404.02
плунк.жлез	50.20	0.541	27.76	<1	635.244	4785.261	0.479	7727	0.773	86.14
бубрег	4.83	0.035	15.33	<1	78.689	36.634	0.004	483	0.048	14.81

Табела 9. Приказ на минералите (освен Са и Р), во mg/kg и %, присутни во калкулусите во жолчно кесе

Број на калкул	Al mg/kg	Ba mg/kg	Cu mg/kg	Fe mg/kg	K mg/kg	Mg mg/kg	Mg %	Na mg/kg	Na %	Zn mg/kg
2	1.92	0.080	21.54	<1	36504	19931	0.002	492	0.049	1.80
3	4.78	0.211	5.79	<1	0.000	32164	0.003	265	0.026	2.55
15	<0.5	0.040	5.41	<1	0.000	7.025	0.001	292	0.029	2.22
6	5.07	0.387	14.99	20.98	53701	8.396	0.001	405	0.041	5.64
10	3.18	0.903	12736	48.26	198839	438397	0.044	1755	0.176	10.17
14	3.00	3.002	16.40	29.11	0.000	24.138	0.002	144	0.014	2.15
9	3.39	0.099	12.62	24.78	0.000	17.401	0.002	628	0.063	4.09
18	4.86	1.301	14514	45.82	200501	374969	0.037	1643	0.164	12.04
12	<0.5	2.485	16.89	<1	127324	57.219	0.006	363	0.036	24.74
17	17.51	1.720	13.56	<1	105757	76.067	0.008	374	0.037	13.55
13	6.10	1.998	18.18	<1	43.247	64.901	0.006	482	0.048	36.46
16	0.80	0.044	3.32	<1	6.954	7.664	0.001	208	0.021	2.15
11	8.24	0.573	35.47	15.56	197990	595535	0.060	1447	0.145	18.68

Табела 10. Количина на Са и Р во mg/kg и %, кај дентикл, калкулус во плунковна жлезда и бубрег

	Ca mg/kg	P mg/kg	Ca %	P %
дентикли	185019	110011	18.502	17.602
плунк.жлез.	584310	232517	58.431	23.252
бубрег	292	160	0.029	0.024

Соодносот во mg/kg и %, помеѓу калциумот и фосфорот, кај дентиклот, има приближна вредност на соодносот што одговара на присуство на нанобактерија /нанопартикли, што ја потврдува инфективната етиологија на настанувањето на дентиклот.

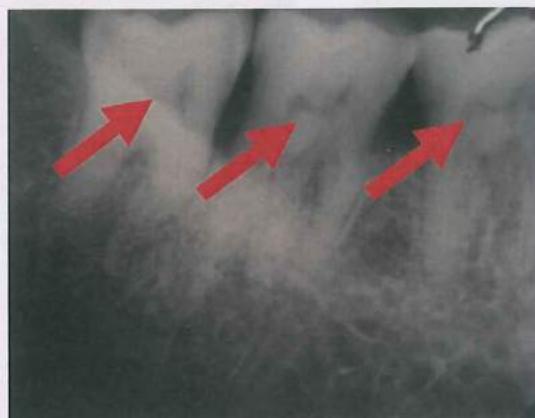
Соодносот во mg/kg помеѓу калциумот и фосфорот, кај калкулус од плунковна жлезда, е приближно 2 : 1 и, процентуалниот сооднос е исто така приближно 2 : 1, што не одговара на присуство на нанопартикли/нанобактерија, што покажува дека причината за неговото настанување треба да се бара во друг етиолошки правец.

Соодносот во mg/kg помеѓу калциумот и фосфорот, кај калкулус од бубрез, покажува вредност што е близок до вредноста на нанопартиклите/нанобактеријата. Процентуалниот сооднос, покажува вредност, исто така блиска со вредноста на соодносот Ca и P, како кај нанопартиклите/нанобактериите. Овие вредности го потврдуваат инфективниот етиолошки фактор, односно констатацијата дека причината за создавање на калкулусот во бубрез, кај испитуваниот пациент е нанобактеријата, односно присуство на калцифицирачки нанопартикли.

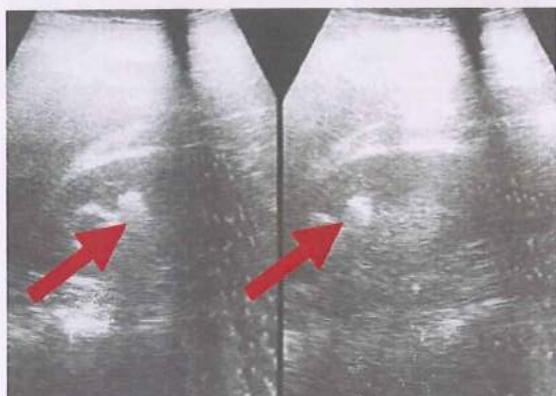
Табела 11. Количина на Ca и P во mg/kg и %, кај калкули од жолчно кесе

Жолчно кесе со број на калкули	Ca mg/kg	P mg/kg	Ca %	P %
2	659	219	0.066	0.022
3	3449	1369	0.345	0.137
15	288	64	0.029	0.006
6	988	640	0.099	0.091
10	54133	6.183	5.413	0.618
14	421	260	0.042	0.036
9	752	480	0.075	0.069
18	43632	6199	4.363	0.620
12	5508	198	0.551	0.020
17	8649	206	0.865	0.021
13	1339	806	0.134	0.129
16	214	134	0.021	0.016
11	136051	979	13.805	0.098

На табела 11 се гледа вредноста на калциумот и фосфорот во mg/kg и %, кај примероци на калкулуси од жолчно кесе. Од оваа табела може да се види дека, во 5 примероци, од презентираните 13, соодносот на Ca и P во mg/kg, како и во %, е близок до соодносот во нанопартиклите/нанобактериите, што ја потврдува инфективната етиологија на настанувањето на овие калкулуси. Примероците со кои тоа се потврдува се : примерокот на жолчно кесе со 6 калкули во него, примерокот на жолчно кесе со 14 калкули во него, примерокот со 9 калкули, примерокот со 13 калкули и примерокот на жолчно кесе со 16 калкули во него. Во примерокот со 3 калкулуси во жолчното кесе, соодносот на Ca и P во mg/kg и во %, е на граница на вредноста за присуство на нанопартикли/нанобактерија, што укажува на потреба за додатни анализи за нивното присуство.



Сл. 1. А.



Сл. 2. А.



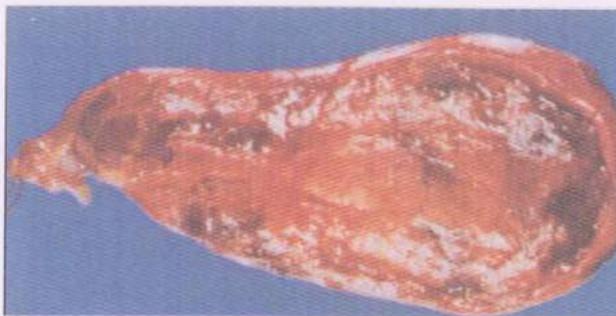
Сл. 3. А.



Сл.1. Б.



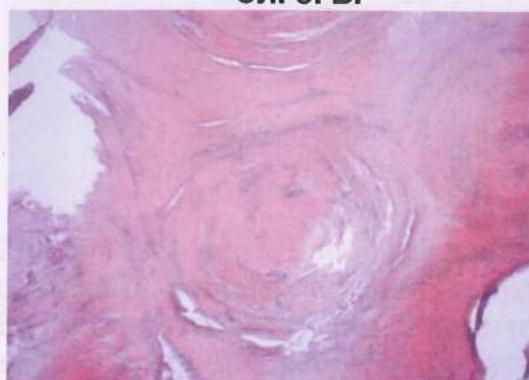
Сл. 2. Б.



Сл. 3. Б.



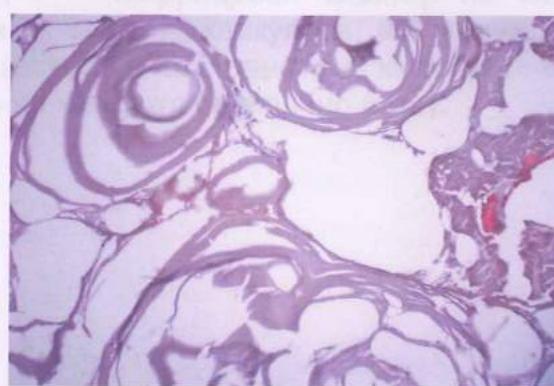
Сл. 3. В.



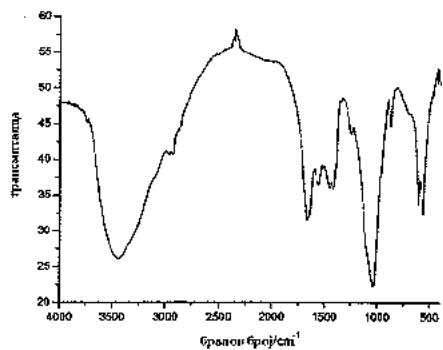
Сл. 1. В.



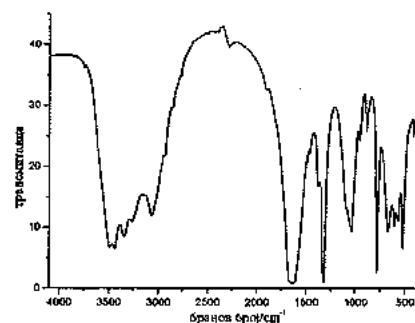
Сл. 3. Г.



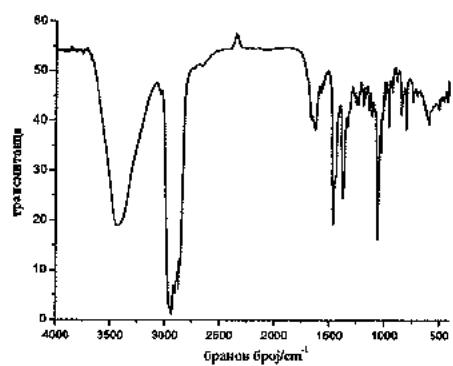
Сл. 2. В.



Сл. 1. Г.



Сл. 2. Г.



Сл. 3. Г.

Слика 1 (А – дентикили во долниот десен прв, втор и трет молар; Б – отстранет дентикл од коронарниот дел на пулпата на вторниот молар, кој беше со болка; В – хистопатолошки приказ на дентиклот, Г – инфрацрвен спектар на дентикл во трансмитанца). **Слика 2** (А – ултрасонографска – ехо снимка на бубрег; Б – хируршки отстранет калкулус од бубрег; В – хистопатолошки приказ на истиот калкулус од бубрег, Г – инфрацрвен спектар на калкулус од бубрег, во трансмитанца). **Слика 3** (А – калкулуси во жолчно ќесе; Б – хируршки отстрането жолчно ќесе; В – отстранетите калкулуси од жолчното ќесе, Г – инфрацрвен спектар на калкулус од жолчно ќесе).

Преку морфолошката анализа на различни цврсти патолошки супстрати – дентикли, пулпни калцификати, сијалолити, билијарни и ренални калкули, ги прикажуваме сличностите и разликите во составот и настанувањето на дентиклите и пулпните калцификати, од една страна, со формирањето на калкулуси во други ткива и органи, од друга страна.

Макроскопски

- според тежината –

Со најмала тежина (под 1 gr.) CPS-и, присутни се во денталните структури. Во другите ткива и органи CPS-и, имаат тежина со широки варијации, почнувајќи од најмали со тежина под 1 gr., со тежина над 1gr., се до тежина поголема од 50 gr.

- според бројот –

Најмала бројчана застапеност (1 -2), во ретки случаи и повеќе, на CPS-и, најдена е во денталните структури. Во другите ткива и органи, освен солитарното присуство, присутни се повеќе на број.

- според димензиите –

Во однос на димензиите, се појавија големи варијации. CPS-и во денталниот компартман се мали и истите не се поголеми од 3 mm., во однос на другите ткива и органи, кои имаат мали и големи димензии, одредени од величината на компартманот.

- според обликов и формата –

CPS-и од забите и плунковните жлезди, се округли до овални, а камчињата во жолчката и бубрегот можат да бидат округли и овални, но можат да бидат и агловидни и неправилни, посебно оние од бубрегот дури и коралести. Сите CPS-и, можат да бидат со мазна и нерамна површина.

- според бојата -

Примероците од денталните структури и примероците од плунковните жлезди, во еден број покажаа истоветен белузлав колоритет, со во дел, темно кафејаво отстапување. Додека примероците од жолчното ќесе имаа жолтеникава пребоеност, колоритетот на бubreжните CPS-и, беше во рамките на белузлаво и темно кафејаво пребојување.

- според конзистенцијата -

Денталните компартмани содржеа само цвсти патолошки супстрати, а во другите локализации беа најдени и цврсти и трошни патолошки супстрати.

- според степенот на сублимација -

Единствено CPS-и од жолчното кесе и коралестите облици на бубрежните конкременти, покажаа назначен степен на сублимација.

Микроскопски

Екстирпирана дентална пулпа кај пациенти без дентикили, со патолошка калцификација на други места во организмот

Кај сите примероци на дентални пулпи, најдено е присуство на груби калцификати, различни по големина, како и ситни пунктиформни дистрофични калцификати, во околината на безструктурен ткивен матрикс.

Камчиња во плунковни жлезди

Кај овие примероци се гледаат зони на калцификација и делови на органски матрикс, асоциран со процесот на иницијација при создавањето на камчињата, неорганскиот дел се калцификати многу слични на оние од забните калцификати. Разликата е во тоа што тука многу подобро е видлив органскиот дел и истиот е организиран во вид на кондензирани, гранулирани сверули бледо розово преboени.

Камчиња во бубрег

Во примероците од калкулусите од бубрег, впечатливи се калциум оксалатни кристали, составени од три компоненти : органски матрикс, калциум оксалатни кристали и помала количина на слободни калциумови депозити.

Микроскопската анализа, направена под исти услови, покажа мошне голема сличност во градбата на калцификатите во забната пулпа, плунковните жлезди и калкулите од бубрежниот паренхим. Органски матрикс, асоциран со процеси на иницијација и неоргански дел со депонирање на калциумови соли.

Камчиња во жолчно кесе

CPS-и од жолчното кесе, немаат присуство на калциум, според овие испитувања.

Детектирање на нанобактерија/калцифицирачки нанопартикли

Инфрацрвена спектрокопија

Со квалитативна анализа на материјалот, т.е. со методата на инфрацрвена спектроскопија, добивме резултати за присуството на минералните јони во испитуваните примероци на : дентикл, калкулус од плунковна жлезда, бубрег и жолчно кесе. Спектрите покажуваат дека во сите испитувани случаи основни конституенти на калкулусите се фосфати и карбонати на калциум, со различен заемен сооднос.

Со квантитативна анализа на материјалот, т.е. со Атомско – апсорpcionата метода, ги детектираме минералите изразени во mg/kg и %, присутни во испитуваните калцификати/калкулуси.

Акцентот го ставивме на калциумот и фосфорот, бидејќи нанобактеријалните анализи, покажуваат висока содржина на Na,Ca,P,Mg и др. Со нанобактеријалните анализи, докажано е дека доминантни компоненти се калциум (32%) и фосфор (28%) при што не би требало да има значителни варијации, независно од староста на камчето. Со EDX (енергични дисперзивни X зраци) од нанобактерија/нанопартикли (култура од камчиња во жолчка), исто така покажала високо ниво на калциум и фосфор. Калциум– фосфатниот сразмер на нанобактеријата/нанопартиклите е 1.58, кој е сличен на хидроксиапатитот. Ние овој сооднос го побарајме кај хумани калцификати/калкулуси.

Во 5 примероци, од презентираните 13, соодносот на Ca и P во mg/kg, како и во %, е близку до соодносот во нанобактериите/нанопартиклите, што ја потврдува инфективната етиологија на настанувањето на овие калкулуси.

Во примерокот со 3 калкулуси во жолчното кесе, соодносот на Ca и P во mg/kg и во%, е на граница на вредноста за присуство на нанобактерија/нанопартикли, што укажува на потреба за додатни анализи за нивното присуство, најверојатно крвните анализи ќе ја разрешат дилемата.

Колку се вредностите на калциумот и фосфорот поблиску едни до други, причина за нивното создавање може да биде нанобактеријата/нанопартиклите. И обратно, колку се вредностите на калциумот и фосфорот подалеку едни од други, етиологијата за нивното создавање, не е инфективна.

Дискусија

ДИСКУСИЈА

Честата појава на патолошката калцификација кај човекот, беше причина да го одбереме ова подрачје како наш сопствен предмет и проект на фокусирање. До пред извесно време, бројни печатени трудови упатуваа на калцификација, но дефинитивен доказ што го покажува механизмот на настанување на формата на партиклите, не беше публициран. Рендгенските и компјутерско томографските технологии, долго време беа доволни за детектирање на калцифицирачките депозити, но не и на молекуларни или целуларни нивоа, каде тие почнуваат. Боенјата на ткивни примероци, јасно ги покажуваат калцифицирачките партикли.

По се изгледа дека причината е во непознавањето на фактот дека патолошката калцификација не е посебно заболување, туку се наоѓа имплементирана во многу заболувања, со можност и за нивно забрзување. Направена е т.н. калциум листа, каде патолошката калцификација е присутна. Од катаракта, дијабетес, камчиња во жолчката, камчиња во бубрег. Ретко во панкреас, во хепарни цисти, паратироидни заболувања, простатитис, склеродермија, заболувања на мускулните тетиви (тendonитис), васкуларни заболувања и други, кои се наоѓаат на ова место. Оваа листа ја покажува само физичката локализација во сите системи кај човекот. СТ – скенерот, со скенирани пресеци на 16, 32 mm. дебелина, го покажува физичкиот прогрес на

калцификацијата. Порано тоа не можеше да се направи. На овој начин се добива актуелен вкрстувачки резултат на појачан ангиограм и скен на каротидната артерија, со што може да се види целата калцификација. Од тука може да се добие идеја за секој проблем. Многу лекари не го препознаваат тоа. Почнувајќи од калциумските депозити на мускулатурата, кристализацијата, дистрофичната калцификација, микро и макро – калцификација, осификација, плак и камчиња.

Кога се работи за патолошка калцификација, не може да се избегне фактот дека посебен предмет на интерес, е екстензивната калцификација во плакот на артериите, бидејќи се смета за едно од најзагрозувачките заболувања (11). Инфективната етиологија на патолошката калцификација, посебно нанобактеријата/калцифицирачките нанопартикли, што е исто така предмет на нашето истражување, докажано присутна е во кrvта на човекот, што е уште еден факт кој не дозволува да се истражува патолошката калцификација, без да се спомне и разјасни васкуларната калцификација.

Сеуште многу лекари, ја гледаат калцификацијата во артериите, како нешто што доаѓа како резултат на заболувањето, наспроти доказите дека калциум фосфатните кристали, го генерираат самиот тип на инфламација, што е потврдено во согласност со кардиолозите и, дека игра голема улога во срцевите напади. Неверојатно, со сите напредни детекциони техники, не бил откриен патот за пронаоѓање на калциум депозитите, што почнуваат во милијарди капилари во човечкото тело. Но не се прави грешка: калцификацијата е присутна и, тоа е медицинско недоразбирање.

Со детектирањето, не се докажува од каде таа доаѓа и, не е познат патот за спречување или отстранување, освен хируршки. Сега, со помош на сите skening технологии, добиени се калцифицирачки точки, кои почнуваат во капиларите во организмот. Во почетокот постоела голема недоверба кон тоа. Дури последните три години од научните истражувања, покажуваат сосема јасно дека ова не е случајно, така што факт е дека во основата се калциум фосфатни кристали, кои се основен состав на калцификацијата, прва од сите причини за акутна инфламација. Ова предизвикува и акутен имунолошки одговор на човечкиот организам.

Неколку месеци претходно, публицирано е во списанието Circulation Research 2005;96:1248, од водечка група на истражувачи во Лондон, со доказ, дека калциум фосфатните кристали, се причина за инфламација кај срцевите заболувања: проинфламаторна активација на макрофагите од базичните калциум фосфатни кристали, преку Protein Kinasa C и Map Kinasa, кој е штетен циклус на инфламаторно воспаление и артериска калцификација. Ова само потврдува дека сега се открива пр. кај arthritis и други заболувања, за кои лекарите дознаваат дека калциумот го генерира овој вид на инфламација. Тоа е многу значајно, бидејќи инфламацијата е поврзана со многу заболувања.

Како пример : кога стоматологот, навлегува во денталниот кавитет со машината или во денталната пулпа во коренскиот канал, кај пациенти со основани срцеви заболувања, тие може да добијат срцеви напади. Едно од резонирањата е дека тие имаат "песок" во денталните пулпи, составен од калциум фосфатни кристали. И овие калциум фосфатни кристали, се ослободуваат во крвта при препарирање на кавитетот на забот и, провоцираат срцеви проблеми кај пациенти кои веќе имаат срцеви заболувања (31).

Исто така, не ефективна терапија за или превенција од калцификацијата, беше публицирана во повремените печатени студии, за кратки хируршки интервенции како физичко отстранување или bypass депозити. Не треба да се занемари фактот дека калциумот, заедно со фосфорот, е еден од главните компоненти во формирање на патолошите калцификати, на кој треба да му се обрне поголемо внимание. Еден од одговорите на прашањето дали се работи за физиолошка или патолошка калцификација, може да биде количината на внесениот калциум во организмот. Со податокот за 500–1,000 mg. вкупен калциум внес на ден, се доаѓа до расчекор со терапискиот RDA, од 1,200 mg. на ден. Сепак тоа е нејасно, без разлика дали активноста на коската, со овластена стапка трае подолго, како што е кажано, од 18 месеци на три години, период од третманот и, без разлика дали ова зголемување на стапката на коскената форма преминува во висок врв на зрела коскена маса. Собирот на податоците кажува дека калциум внесот во обсег од 1,200–1,500 mg. на ден, кај адолосцентите, може да резултира со висок врв на зрела коскена маса.

Дополнителни научни истражувања се неопходни, особено лонгитудинални, со долгорочна доза со ефекти на менување на калциум внесот на коскената маса, за попрецизно дефинирање на оптималниот калциум внес, за оваа старосна група. Последиците од нискиот калциум внес (помал од 900 mg. на ден, кој е доста понизок калциум внес од прагот), во пресудниот период од 12-19 години возраст кај девојките и младите жени, на брза скелетна акумулација загрижуваат, така да постигнувањето на оптимален врв на зрела коскена маса, може да биде сериозен проблем. Специјалната едукација и, публицирани мерки за подобрена диета со калциум внес, во оваа старостна група се есенцијални. Калциум внесот, од 1,000 mg. на ден, во зрелоста (25–65 години) од животот и врвот на зрелата коскена маса и кај мажите и кај жените се стабилни, како и коскеното формирање и коскената ресорпција, кои се балансирали. Меѓутоа количината од 1,500 mg. на ден, кај оваа старостна група се уште научно се истражува. Нискиот калциум внес, покрај веќе спомнатите, е имплициран како детерминант и од неколку други хронични кондиции, вклучувајќи заболувања на дебелото црево и hipertenzija. Податоците што се однесуваат на улогата на суплементарниот т.н. додаван калциум, за редуцирање на прееклампсията, се конфликтни. Во некои неодамнешни епидемиолошки студии, високиот калциум внес е асоциран со намалениот ризик за развој на заболувања на дебелото црево. Сепак, пронајдокот е инконзистентен, бидејќи бројот на објавените трудови на таа релација е ограничен.

Доста важни се сметаат епидемиолошките и клиничките податоци за врската меѓу нивото на крвниот притисок и калциум внесот. Иако бројот на епидемиолошките студии, сугерира инверзивна т.е. обратна асоцијација помеѓу крвниот притисок и калциум внесот, многу од овие студии се на крстопат и, само неколку потенцијални студии се расположени да го потврдат ова поврзување. Резултатите од случајно контролно одредување на калциум суплементацијата т.е. додавањето, со крвниот притисок, сеуште се двосмислени (11).

Дефицитот на 1,25 – Dihydroxyvitamin D, предизвикан од инадекватна диета на витаминот D, инадекватна експозитура на сончева светлина, го

намалува активирањето на витаминот D или организмот станува резистентен на витаминот D, што резултира со намалување на калциум апсорпцијата. Во отсуство на 1,25 dihydroxyvitamin D, помалку од 10 % од калциум диетата може да се апсорбира. Недостатокот на витамин D, е поврзан со зголемен ризик од фрактури. Повозрасните пациенти се со посебен ризик за витамин D дефицитот, бидејќи инсуфициентниот внес на витаминот D од нивната диета, ја намалува бубрежната синтеза на 1,25 dihydroxyvitamin D и, инадекватното експонирање на сончева светлина, кое е нормално главен стимуланс за ендогенската синтеза на витаминот D. Антиконвулзивните лекови, може да го менуваат витаминот D и коскениот минерален метаболизам, посебно кај имобилизираните пациенти и кај повозрасните. Иако симптоматските скелетни заболувања се ретки во неинституционалните услови, оптималниот калциум внес е препорачлив за лица, кои употребуваат антиконвулзиви. Калциум суплементацијата, може да ја заменува минималната естрогенска доза, потребна за одржување на коскената маса кај постменопаузалните жени. Сепак оралниот калциум сам не ја спречува постменопаузалната коскена загуба, која е резултат на естрогенски дефицит. Со додавање на естроген, други ендогени кофактори би можеле да ја покажат мрежата на калциумската апсорпција, вклучувајќи го хормонот на раст, insulin како растечкиот фактор-1 и, паратироидниот хормон. Се нагласува дека, зголемувањето на физичките активности, го засилува корисниот ефект од оралниот калциумски додаток, на коскената маса, кај млади зрели особи.

Се повеќе се укажува на тоа дека повозрасни индивидуи и постменопаузалните жени, покажуваат дефект во воспоставувањето на позитивен однос меѓу калциумски внес и вежбите за зголемување на коскената маса.

Кај имобилизираните пациенти, како тие со парализа и квадриплегија, загрижува тоа што зголемувањето на калциум внесот може да го зголеми ризикот од хиперкалцемија, ектопична калцификација, ектопична осификација и нефролитијаза кај тие индивидуи. Вака, која и да било препорака за зголемување на калциум внесот, според расположението кај овие индивидуи, е потенцијал за несакани последици.

Алуминиумот, во форма на антациден лек, кога е земен во поголеми дози, може значајно да ја зголеми уринарната загуба на калциумот.

Глукокортикоидите, ја намалуваат апсорцијата на калциумот. Според тоа, оралните калциум додатоци треба секогаш да се присутни кај пациенти кои примаат егзогени глукокортикоиди. Генетските и етничките фактори, значајно влијаат, од многу аспекти на калциум и скелетниот метаболизам. Сепак, околните фактори се повеќе значајни во детерминирање на стапката на коскената загуба (69).

Витаминскиот и минералниот внес од храната, е веројатно многу помал, спореден со внесот во предходното столетие. Обработените житарици, имаат многу помалку витамиини и минерали од необработените цели зрна. Многу земјоделски техники, ја исцрпуваат почвата од многу важни минерали (70).

Инфламацијата на коскената срж со калциум депозити, описана како "calcium myelitis", може да биде детектирана со сцинтиграфија и повремено со радиографија. Кај некои пациенти се јавува и периодична реакција (129).

Во черепот, дурална и диплоидна калцификација, како и калцификација на фацијалните коски, описана е исто така како *myelitis*. Постои предложена сугестија дека дифузниот систем, васкуларна и церебрална калцификација, со *arthropathia* на раката и рачниот зглоб, се дел од овој синдром. Луѓе со повреда на рачниот зглоб, подоцна добиваат калцификација на артериите.

Денталните абнормалности вклучуваат проширување на корените, со калциум депозити во забната пулпа (пулпни камчиња) и, облитерација на денталните кавитети и канали.

Иако сите лабораториски тестови не може да бидат достапни, треба да се овозможи добивање на дентална или профилна мандибуларна радиографија, без разлика дали денталните абнормалности се секогаш присутни или случувањата се посебно ретки. Одделенијата за нуклеарна медицина треба да бидат способни за проверка на активностите на коскената срж или ткиво, бидејќи се јавуваат и други анатомски промени како тумори од туморална калциноза. Коскената срж, забите и, можеби кожата и интервертебралната рскавица (*discus*), може да бидат инволвирали (126).

Постменопаузалната остеопороза е значаен проблем. Кај секоја втора жена над 51 година постои ризик од појава на скршеници предизвикани од остеопорозата. Освен женскиот пол, главен фактор на ризик за настанување на остеопоротични скршеници се старост, дефицит на естроген, мал индекс на

телесна маса, остеопороза во семејството, пушење, отсуство на физички активности и предходни фрактури. За да се намали ризикот од настанок на скршеници, се препорачува да се престане со пушењето, избегнување на алкохол и редовно вежбање. Внесувањето на препарати со калциум и витамин ДЗ е неопходно за превенција, но и како додаток на терапијата кај остеопорозата (69).

Најновите истражувања покажуваат дека, препаратите со калциум кои пациентите ги употребуваат како додаток на терапијата на остеопороза, можат да го зголемат ризикот од настанок на инфаркт на миокардот. Студијата на 1500 пациенти на возраст над 55 години, покажува дека во групата која земала додаток на калциум, ризикот за настанок на инфаркт на миокардот бил 50% поголем во споредба со групата која земала плацебо. Имено, ризикот за настанок на кардиоваскуларни заболувања се зголемува заради таложењето на калциумот во артериите, кој се јавува кај лица кои долготрајно користат препарати на калциум. Крвните садови стануваат крти и ја губат еластичноста, што води кон нивно пропаѓање и зголемување на ризикот од настанок на инфаркт на миокардот. Овој заклучок не е изненадувачки, затоа што клиничките студии со години наназад укажуваат дека оптимален ефект на внесениот калциум на коските не се постигнува дури и ако се внесат доволни количини на калциум и Д витамин – се зголемува апсорпцијата на внесениот калциум, но не и неговото искористување, при што калциумот кој не се вградил во коските се наталожува во крвните садови, каде создава артериско калцифицирани наталожувања, кои се докажан предуслов за настанок на кардиоваскуларни заболувања. За најrizичен инфилтриран плак, се смета плакот кај срцевите заболувања, вклучувајќи случаи со бајпас и стент, употребени за подобрување на внатрешниот довод. Во американската национална библиотека за медицина, се наоѓаат илијадници научно-истражувачки документи што упатуваат на калцификација и, различни медицински списанија, што длабоко го покриваат тоа. Калциум фосфатите спфаќаат околу 20% од целиот плак во артериите т.н. “тврд плак”. Но во внатрешноста опфаќаат многу, многу повеќе, така што многу луѓе не знаат дека тоа е “мек плак” и вулнерабилен (ранлив) кој е идентифициран како

водечки кај срцевите напади. Тоа може да се види со земање примерок од ткиво и специјално боене, за да се покажат овие мали калциум фосфатни кристали. Тие се тврди во кожата и артериите. Докажано е дека секој срцев пациент има патолошка калцификација. Патогенезата има вина за калцификацијата во срцевите заболувања и за срцевите заболувања генерално, но предмет на интерес во секое време е срцевиот напад и целта на истражувањата е да се намалат срцевите напади (126). Јасно е дека сите инфективни заболувања, посебно Chlamydia, Herpes, Hepatitis, веднаш треба да се отстранат за да немаат влијание на срцевите заболувања. Публицирано е во 2004 година, дека калцификацијата кај срцевите заболувања е реверзibilна. Добри вести се студиите кои покажуваат спремност на истражувачите за подобрување на коронарната артериска калцификација, со медикаментозен третман. Нивните резултати веќе зборуваат за 50% намалување на срцевите заболувања (113).

Кај забите, отстранување на дентиклите и девитализирање на денталната пулпа, со дефинитивна коренска оптурација, е правилен избор на терапија.

Реналната калкулоза, опфаќа исфрлање, на калкулите кога се во форма на песок, од организмот, со различни раствори. Лазерско кршење на калкулите, на помали парчиња и нивно исфрлање, во услови кога дебелината на масниот слој не е многу голема, како би можел зракот да пробие. Доколку тоа не е можно, последна варијанта останува да биде хируршко отстранување на калкулусот од бубрегот и од целиот уринарен тракт.

Од особено значење е да се нагласи терапиското научно истражување за третманот на камчињата во жолчното кесе.

Тоа мора да биде нагласено, бидејќи денешницата молчи за камчињата во жолчното кесе. За причината за каква и да било незгода, воздржани се во многу случаи за обсервација и третирање.

Жолчката е анализирана на повеќе начини: со аспирација од жолчното кесе при операција, после насилен смрт со билијарна дренажа преку Т сонда, постоперативни фистули или фракционирани дуоденални тубажи после стимулација со холецистокинин или магнезиум сулфат. Но и покрај тоа,

сознанијата за составот и настанувањето на жолчката во нормални услови, останува сеуште непотполна, поради неможноста директно да се обсервира здравиот билијарен систем во разни физиолошки состојби. Поради тоа, многубројните податоци за составот на жолчката во литературата, треба критички да се прифатат. Податоците добиени со анализа на жолчката од хронични билијарни фистули или Т сонди, бараат опрезна интерпретација поради неизбежниот губиток на жолчни соли и пореметената ентерохепарна циркулација. Студиите за жолчното кесе, добиени при лапаротомија, не ги исключуваат можните ефекти на анестезијата и промените во хепарната васкуларна перфузија. Резултатите добиени од испитувањата на жолчното кесе кај експериментални животни, не треба секогаш да се применуваат кај човекот, поради постоечките маркантни анатомски и физиолошки разлики.

Разликите во составот на камчињата во жолчното кесе, имаат влијание на формата на избраната терапија. Можностите за третман зависат и од сериозноста на заболувањето, како и од сериозниот пристап кон болеста. Во дадени случаи, физичката конституција на пациентот и неговата природа, исто така се индикација за одредување на формата на терапијата. Денешната медицина, генерално обично користи неколку видови на терапија:

1. Дисолуција (поништување на камен во жолчното кесе од друга терапија)

Тука вниманието се свртува кон т.н. воздржан камен во жолчното кесе, кој никогаш не направил никаква незгода, кој случајно е откриен и никогаш не бил третиран.

2. Тераписки бран

Две значајни жолчни киселини се продуцираат за да не се создаде камен во жолчното кесе и во црниот дроб, со цел масната емулзија/холестерол, да ја направат лесно растворлива. Особено во случај каде каменот во жолчното кесе има состав од холестеролски кристали, може да биде растворен со регуларно примање на таблети кои содржат голем процент на ursodeoxycholic acid и chenodeoxycholic acid. Ова е, во принцип, реверзibilноста на процесот на каменот како формација. Пациентите со поголема количина на холестеролски камчиња, реагираат посебно добро на третман со ursodeoxycholic acid или chenodeoxycholic acid. Овие камчиња не се видливи на рендген, но тие може да се распознаат и лоцираат

со ултразвук. Холестеролските камчиња се со светла боја и незначајна транслуцентност. Таканаречените "пливачки камчиња" се идеални за третирање со медикаменти. Тие имаат отвори преку кои кореспондираат со жолчната течност и, затоа не се прицврстени за дното на жолчното кесе. Многубројни пливачки камчиња се со 5mm пречник во течноста на жолчното кесе. Неколку услови треба да бидат исполнети за хемикалијата да може да го поништи каменот со urso или cheno :

- пречникот на каменот треба да не пречекорува 5 – 10 mm, а најмногу 15 mm,
 - жолчното кесе треба да биде најмногу до половина полно со камчиња,
 - жолчниот канал мора да е отворен и слободен од камчиња,
 - медицинската терапија не треба да биде земена во комбинација со други средства за поништување (clofibrat, antacid, cholestiramine).
3. Комбинација од поништување со друга терапија и шок тераписки бран,
 4. Операција,
 5. Посебни диететски мерки.

Во реализацијето на клиничкиот дел од ова истражување, примената на современите имицинг методи во испитување на патолошката калцификација, ни помогна во радиолошкиот дел од истражувањето, за дијагностицирање на патолошката калцификација (од слика 8 до слика 28).

Застапеноста на дентиклите, кај пациенти со калкулуси односно "песок" во бубрег и/или во жолчното кесе, со вредност од 70%, покажа многу значајна сигнификантност. Статистичката анализа според t – тестот, покажа резултат $p = 0,0000$. Оваа голема сигнификантност, сметаме дека е доста значајна, бидејќи лекарот - стоматолог кога ќе дојде до дентикл во коронарниот дел на пулпата, односно на влезот во каналите, треба веднаш да го упати пациентот на ултрасонографска - ехо дијагностика на абдоменот, посебно на бубрезите и жолчното кесе. Нашите пациенти, во голем дел се враќаа со позитивни наоди, прв пат откриени, во бубрезите и/или во жолчното кесе, анеретко и на други места во организмот. Терапијата треба да почне со навремено откривање на калкулусите во жолчното кесе, со што би се избегнале компликации, кои често можат да бидат доста драматични и ризични за пациентот. И обратно,

податоците добиени со анамнеза од пациентите, кои се со неодредена болка во забалото, во кои стои присуство пр. на камен во бубрег и/или во жолчното кесе, треба да биде патоказ за детектирање на дентикли во пулпата на забите, со што би се избегнала неоправдана екстракција на заб или група на заби. Ова се однесува и на пациентите кај кои предходно, без разлика на времето, хируршки им е отстранет калкулус од овие органи, бидејќи калцификацијата е реверзилен процес и, повторно се "враќа" најчесто за три до четири години, на истите или на други места во организмот, што е потврдено со многу печатени студии, а кореспондира и со нашите наоди добиени од анамнезата на пациентите. Оваа констатација се однесува, исто така и на пациентите кои во својата анамнеза имаат присуство на патолошка калцификација и на други места во организмот.

Контролната група на пациентите, без рендген верифицирано присуство на дентикли, а со присутна патолошка калцификација на друго место во организмот, како што е веќе спомнато во резултатите, ни послужи за статистичката анализа. Меѓутоа ние, водени од анамнестичките податоци на пациентите, кои беа со болка, по индицирана витална екстирпација на пулпите на соодветните заби и, со хистопатолошка анализа, дојдовме до неверојатен податок, дека пулпите на сите овие пациенти се "полни" со "песок", односно кај сите, присутна е фокално парцијална или дифузна калцификација. Овој нов податок може да ни помогне во дијагностиката на пациенти со необјаснива болка на одреден заб или регија и да не усмири во земање на поширока анамнеза од пациентот за дијагностицирана калкулоза/калцификација пошироко во организмот. Со тоа би се избегнала неоправдана екстракција на заб или група на заби. Во такви случаи екстирпација на пулпата ќе биде вистински избор на терапија, зашто "песокот" не може да се верифицира со рендгенографија. Во клиничката пракса, при ендодонтска терапија, лекарот – стоматолог често наидува на екстирпирана пулпа во цврста форма, што покажува дека калцифицирањето на пулпата започнало и, алармира за присуство на патолошка калцификација со друга локализација во организмот. Пациентите, со локализирана, константна или повремена, но упорна неодредена болка во забалото, поврзана со главоболка на одредена страна, која траела и по пет до шест години, најчесто доаѓаат со комплетна радиолошка

документација, почнувајќи од ЕКГ, ЕМГ, КТ-томографија на главата, рендгенски снимки на вратот, магнетна резонанса, со дијаностицирана спондилоза, артропатија, невралгија, мијалгија и др. Ние ја надополнивме нивната документација со панорамски и ретроалвеоларни снимки на соодветните заби и, кај оние пациенти каде детектираме присуство на дентикли, ги отстранивме дентиклите, со што главоболката престана. А кај оние пациенти каде немаше присуство на дентикли, по направена витална екстирпација на пулпата на соодветниот заб и со хистопатолошка анализа, детектираме присуство на фокално парцијална или дифузна калцификација во пулпата.

Преку морфолошката анализа на различни цврсти патолошки супстрати : дентикли, пулпарни калцификати, сијалолити, билијарни и ренални калкули, ги прикажавме сличностите и разликите во составот и настанувањето на дентиклите и пулпарните калцификати, од една страна, со формирањето на калкулуси во други ткива и органи, од друга страна.

Во резултатот, добивме релевантни податоци за постоење на поврзаност на денталните калцификати со другите калцификати/калкулуси во организмот. Во обемната литература и во клиничката пракса, се среќаваме со повеќе различни термини како калцификати, калкулуси, дистрофична калцификација, калцифицирачки партикли, калцифицирачки депозити, што создава конфузија.

Сметаме дека терминолошки бенефит од овој труд, е нашиот предлог сите заедно да се нарекуваат цврсти патолошки супстрати CPS-и и наша сугестија е да се користи таа терминологија. Хистопатолошката анализа опфати макроскопска и микроскопска анализа.

Макроскопската анализа ни помогна да добиеме резултати според тежината на CPS-и.

Веројатно тие се условени од нивната локализација и просторниот компартман.

CPS-и (од испитуваните групи), со најмала тежина најдовме во денталните структури, што може да се види од Табела 1 - во однос на маса.

Бројот на CPS-и во денталните структури е ограничен на 1–2 (во поретки случаи и повеќе), според просторот во коронарниот дел и на влезот од каналите. Во другите ткива и органи, освен солитарното присуство, најдени се и повеќе на број.

Сметаме дека ова се должи на поголемиот простор на тие органи, што исто така може да се види на Табела 2 - број на случаи по бројчана застапеност на CPS-и, во однос на испитувана локализација.

Величината на компартманот, се покажа дека влијае и на димензиите на испитуваните CPS-и, кои варираат во широк дијапазон, но сепак се во функција. Имено, CPS-и во денталниот компартман се мали и истите не се поголеми од 3 mm. CPS-и во однос на другите ткива и органи, кои имаат мали и големи димензии, што исто така, како што нагласивме се одредени од величината на компартманот, што е покажано на Табела 3: димензии на CPS-и во однос на локализацијата.

На Табела 4: дистрибуција на облици од CPS-и во однос на органи, се гледа дека CPS-и се разликуваат според обликот и формата во широки граници.

Од оваа табела може да се види дека камчињата во забите и плунковните жлезди, се округли до овални, а камчињата во жолчното ќесе и бубрегот можат да бидат округли и овални, но можат да бидат и неправилни, посебно оние од бубрегот дури и коралести.

Веројатно ова е условено од локализацијата и средината во која се наоѓаат, односно функцијата која органот ја врши.

Според бојата, CPS-и, исто така се разликуваат. На Табела 5: анализирани CPS-и колоритет во однос на локализација, се гледа дека примероците од денталните структури и примероците од плунковните жлезди, во еден број покажаа истоветен белузлав колоритет, со мало отстапување. Додека примероците од жолчното ќесе имаат жолтеникава преобоеност, колоритетот на бubreжните CPS-и, беше во рамките на белузлаво и темно кафејаво пребојување.

Причината за оваа разноликост повторно ја наоѓаме во локализацијата и функцијата што ја врши органот, каде тие се наоѓаат.

На Табела 6: анализирани CPS-и според конзистенцијата, се гледа дека денталните компартмани покажаа присуство на цврсти CPS-и, додека останатите локализации поседуваат и цврсти и трошни патолошки супстрати, што се поклопува со истоветното објаснување за другите особини на CPS-и.

Според степенот на сублимација, CPS-и од жолчното кесе и коралестите облици на бурежните конкременти, покажаа назначен степен на сублимација. Ние сметаме дека овие резултати се должат повторно на локализацијата и функцијата на органот во кој се наоѓаат, затоа од оваа група отстапуваат патолошките калцификати во забите и плунковните жлезди.

Резултатите од микроскопската анализа ги вклучуваат:

Екстирпирана дентална пулпа кај пациенти без дентикили, со патолошка калцификација на други места во организмот

Сликите 43, 44, 45 и 46, би ги коментирале со заклучокот дека пациентите со присуство на патолошка калцификација во организмот, имаат скоро секогаш патолошки калцификати во денталните пулпи, што сугерира на често присуство на главоболки и болки од дентално потекло. Ова се потврдува со присуство, во сите примероци, на калцификати различни по големина, како и ситни пунктиформни дистрофични калцификати во околината на безструктурен ткивен матрикс.

Сијалолити

Резултатите што ги добивме со хистопатолошките препарати, претставени на сликите 47, 48, 49 и 50, за составот на сијалолитите, се поклопуваат со тврдењата на повеќе автори (158,163), за врската помеѓу сијалолитите и реналните калкули. Со овие резултати ние пронајдоме поголема сличност со денталните калцификати, а потоа со реналните и други патолошки калцификати во организмот.

Ренални калкули

Хистопатолошките наоди, претставени на сликите од 51 до 63, го покажуваат присуството на калциум во реналните калкули, кое слободно можеме да го поврземе со присуството на калциумот во денталните и плунковните CPS-и, што ја потврдува тезата на голем број автори (16,20,26,28,38,40,46,48,60,76 и др.) дека калциумот е еден од основните компоненти во составот на патолошките калцификати во организмот.

Калкули во жолчното кесе

Според нашите хистопатолошки анализи, прикажани на сликите 64,65,66 и 67, CPS-и од жолчното кесе, не покажаа присуство на калциум.

Присуството на калциум во хируршки отстранетите калкули од жолчното ќесе, го детектираме со хемиска анализа на овие калкули (табела 7 и 11), со што ја потврдуваме веќе докажаната теза од повеќе автори за присуството на калциумот во патолошките калцификати.

Утврдувањето на можноста за бактеријална асоцираност на денталните калцификати, ја реализирајме со одредување на хемискиот состав на добиените CPS-и. Резултатите, добиени со квалитативна анализа на материјалот, т.е. со методата на Инфрацрвена спектроскопија, не информираат за присуството на минералните јони во испитуваните примероци на : дентикл, калкулус од плунковна жлезда, бубрег и жолчно ќесе. Спектрите покажуваат дека во сите испитувани случаи основни конституенти на калкулусите се фосфати и карбонати на калциум, со различен заемен сооднос. При квалитативна анализа, т.е. при идентификација на непознато соединение, неговиот спектар се споредува со снимен спектар на позната супстанца која, претпоставуваме е идентична со испитуваната. Голем број вакви спектри се достапни било во печатена форма (атласи на инфрацрвени спектри на органски и неоргански соединенија) или во електронска форма, каде што базите на податоци ги користат и форензичарите, биохемичарите или оние кои се занимаваат со изучување на полимери. Инфрацрвената спектроскопија најчесто се применувала за квалитативна анализа, особено тогаш кога се работело со конвенционални инструменти со дисперзни елементи. Но развојот на FTIR инструментите и силната компјутеризација на податоците, дава голема можност за примена на инфрацрвената спектроскопија и во квантитативната анализа, што денес се користи во современите лаборатории во светот, што можеби не е баш соодветно. Бидејќи, како што е познато, основа за примена на апсорpcionите методи, во квантитативни цели е Беровиот закон, кој вели дека апсорбацијата е пропорционална со концентрацијата на секоја компонента, во една хомогена смеша или раствор. Во идеални случаи и во инфрацрвената област, би требало да важи Беровиот закон. Но во пракса, многу почести отстапувања од овој закон, се забележуваат во инфрацрвената спектрална област. Затоа ние квалитативната анализа ја направивме со методата на инфрацрвена спектроскопија, а квантитативната анализа, ја направивме со

методата на атомско-апсорpcionата спектроскопија. Со оваа метода можат да се определат траги од метали во металургијата, анализа на води, во биохемијата пр. присуство на фосфати и протеини во примероци од крвен serum, течности од рбетниот мозок и урината, прехранбена индустрија, анализа на неводени раствори. Секако дека може да се јават и пречки при мерењето. Типичен пример за пречки од хемиска природа претставуваат пречките кои произлегуваат од присуството на фосфатните јони при определување на калциум и магнезиум. Имено, калциум и магнезиум фосфатите се многу стабилни соединенија, кои не се распаѓаат лесно во пламенот воздух-ацетилен и, во тој случај не може да дојде до создавање на слободни атоми од калциум и магнезиум кои треба да апсорбираат во пламенот. Кога добро се познаваат хемиските реакции, може да се интервенира на следниот начин: ако концентрацијата на фосфатите е мала, пречките може да се компензираат со додавање на мали количини од фосфати и во стандардните раствори. Ако пак, концентрацијата на фосфатите е голема, тогаш во растворот се додава друг метал, кој со фосфатите гради постабилни соединенија од соединенијата со калциум и магнезиум.

Нашите резултати, добиени со хемиските анализи, се поклопуваат со анализите на авторите T.Kodaka, A. Hirayama, R. Mori и T. Sano (106), кои работеле со примена на дисперзни X – зраци за микроанализа во дентикили, кои откриле големи количини на Ca и P и, траги на Na, Mg, Cl и Fe. Но се спротивни во однос на присуството на Cl. Ние верифицираме присуство на повеќе минерали освен, од нивна страна докажаните Ca, P, Na, Mg, Fe, а тоа се : Al, Ba, Cu, K и Zn. Ова може да се види на табела 7, каде вредностите се претставени во mg/kg и во % (проценти). На табела 8, претставен е приказ на присутни минерали (освен Ca и P), во mg/kg и % , во дентални калцификати, во плунковни жлезди и бубрег. Овие прецизни резултати, треба да бидат основа за нови истражувања. Со резултатите прикажани на табела 9 – приказ на минерали (освен Ca и P), во mg/kg и %, присутни во калкулусите во жолчно кесе, ги комплетираме новите информации за хемискиот состав на капцификатите/калкулусите.

Акцентот го ставивме на калциумот и фосфорот, бидејќи нанобактеријалните анализи, покажуваат висока содржина на Na,Ca,P,Mg и др. Со нанобактеријалните анализи, докажано е дека доминантни компоненти се калциум (32%) и фосфор (28%) при што не би требало да има значителни варијации, независно од староста на камчето. Со EDX (енергични дисперзивни X зраци) од нанобактерија/нанопартикли (култура од камчиња во жолчно ќесе кај зајаци), исто така покажала високо ниво на калциум и фосфор. Калциум – фосфатниот сразмер на нанобактеријата/нанопартиклите е 1.58 (39,102). Ние овој сооднос го побарајме кај хумани калцификати/калкулуси. Со табела 10, ја претставуваме количината на Ca и P во mg/kg и %, кај дентикл, калкулус во плунковна жлезда и бубрег. Соодносот, помеѓу Ca во mg/kg од 185019 и P во mg/kg од 110011, покажува вредност близка на 1.58. Соодносот помеѓу Ca во % од 18.502 и P во % од 17.602, исто така има близка вредност на соодносот Ca (32%) и P (28%), што одговара на присуство на нанобактерија/ нанопартикли. Соодносот во mg/kg помеѓу калциумот и фосфорот, кај калкулус од плунковна жлезда, е приближно 2:1. Односно Ca во mg/kg 584310 и P во mg/kg 232517 и, процентуалниот сооднос е исто така приближно 2:1, Ca во % 58.431 и, P во % 23.252, што не одговара на присуство на нанобактерија/нанопартикли, што покажува дека причината за неговото настанување треба да се бара во друг етиолошки правец.

Соодносот во mg/kg помеѓу калциумот и фосфорот, кај калкулус од бубрег, покажа вредност на Ca во mg/kg 292 и, на P во mg/kg 160, што е близку до соодносот од 1.58. Процентуалниот сооднос, покажан со вредност на Ca во % 0.029 и, на P во % 0.024, исто така е близку до соодносот на 32% Ca и 28% P. Овие вредности го потврдуваат инфективниот етиолошки фактор, односно констатацијата дека причината за создавање на калкулусот во бубрег, кај овој пациент може да биде нанобактеријата, односно нанопартиклите.

Резултатите на дентиклот и калкулусот од бубрег, се идентични, веројатно затоа што потекнуваат од еден пациент.

На табела 11, претставуваме во 5 примероци, од презентираните 13, соодносот на Ca и P во mg/kg, како и во %, е близку до соодносот во нанобактериите/нанопартиклите, што ја потврдува инфективната етиологија на

настанувањето на овие калкулуси. Од оваа табела може да се види дека, примерокот на жолчно кесе со 6 калкули во него, има вредност на Ca во mg/kg од 988, а P е со вредност од 640. Ca во % изнесува 0.099, а P е со вредност од 0.091. Примерокот на жолчно кесе со 14 калкули во него, има вредност на Ca во mg/kg од 421, а P е со вредност од 260. Ca во % изнесува 0.042, а P е со вредност од 0.036. Примерокот со 9 калкули, има вредност на Ca во mg/kg од 752, а P е со вредност од 480. Ca во % изнесува 0.075, а P е со вредност од 0.069. Примерокот со 13 калкули, има вредност на Ca во mg/kg од 1339, а P е со вредност од 806. Ca во % изнесува 0.134, а P е со вредност од 0.129. И примерокот на жолчно кесе со 16 калкули во него, има вредност на Ca во mg/kg од 214, а P е со вредност од 134. Ca во % изнесува 0.021, а P е со вредност од 0.016. Во примерокот со 3 калкулуси во жолчното кесе, соодносот на Ca и P во mg/kg и во %, е на граница на вредноста за присуство на нанобактерија/нанопартикли, што укажува на потреба за дополнителни анализи за нивното присуство, најверојатно крвните анализи ќе ја разрешат дилемата.

Од добиените резултати се гледаат вредностите на калциумот и фосфорот. Колку е разликата помеѓу нив помала, причина за нивното создавање може да биде нанобактеријата/нанопартиклите. И обратно, колку е разликата помеѓу нив поголема, етиологијата за нивното создавање, не е инфективна.

Сметаме дека не е мал бројот на 5 (евентуално 6) примероци, од испитувани 13, каде е најдена инфективна причина за нивно создавање.

Изолирана нанобактерија од човечки камен од бубрез, покажува интригирачка можност за детектирање на етиолошките агенси кај патолошката екстракелетна калцификација (Kajander, E.O. & Ciftcioglu, N. – 1998 Proc.Natl.Acad.Sci.USA 95, 8274-8279). Детектирана е нанобактерија исто така и, од човечка плунка и забен плак, после инкубација од 0.45 nm филтерска мембрана, од примероци во DMEM. Извештајот за идентификација на нанобактерија од серум, бubreжни, дентални пулпни камчиња и, од нанобактерија на забна површина, предизвикува загрижувачки значајни прашања за природната дистрибуција на овие необични микроорганизми, настанати преку агенси во биолошки продукти и нивна асоцираност со

патолошката екстракелетна калцификација. На адреса на овие прашања, иницирани се студии за изолација и карактерот на нанобактеријата од FBS, човечка плунка и дентален плак (32).

Нашиот наоди, добиени со хемиска анализа, се совпаѓаат со наодите на овие автори, за присуството на нанобактерија, во бubreжни и дентални камчиња, што може да се види на табела 7 - Приказ на минералите, според количината, присутни во калкулите.

Бројни форми на дентални калцификати се асоцирани со нанобактерии. Овој вид на заболување на здравјето, ја создава можноста за губиток на истиот. Оттука авторите ја изнесуваат својата хипотеза дека денталните пулпни калцификати и калцифицираниот дентален плак, предизвикани се од *Nanobacterium sanguineum* (32).

Со оваа хипотеза ние се согласуваме, бидејќи наодите што ги презентираме на табела 7, покажуваат совпаѓање во однос на денталните калцификати.

Drancourt M. и сор. исто во 2003 година, успешно изолирале нанобактерија од камчиња отстранети од уринарниот тракт (172).

Нашиот резултати, прикажани на табела 7, исто така се совпаѓаат со резултатите на авторите Ciftcioglu N., D.S. McMAY, E.O.Kajander, кои во 2003 година, изнесуваат податоци за асоцираност на денталните калцификати, периодонталните заболувања и нанобактеријата (41).

Совпаѓање во резултатите наоѓаме и со авторите Madhu Khullar и сор., кои во 2004 година изолирале нанобактерија од бubreжни камчиња (115).

Со хемиска анализа, преку соодносот на Ca и P, на калкулуси од жолчно кесе, детектираме нанобактеријална причина за создавање на калкули во жолчното кесе, што може да се види на табела 7 и 11. Овие наши резултати се совпаѓаат со резултатите на авторите Wen, Y. и сор., кои во 2005 година, детектирале присуство на нанобактерија во serumот и во крвта од мукозата на жолчното кесе кај пациенти со *cholecystolithiasis* (168).

На табела 7, исто така, ги прикажуваме резултатите кои се совпаѓаат со резултатите на авторите Zonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi, во однос на присуството на нанобактерија во забно камче – дентикл. Овие автори во 2006 година, изолирале нанобактерија од забен пулпен камен и направиле

култивирање и нејзина идентификација. Свежо собрани 27 забни пулпни камчиња биле разделени во девет примероци. Секој примерок содржел 3 забни пулпни камчиња. Сите примероци биле употребени за изолирање и култивирање на нанобактеријата. Формата и растечките карактеристики на култивираните бактерии, биле обсервирали. Нанобактеријата била идентифицирана со von Kossa боене, имунохистохемиско боене и индиректно имунофлуоресцентно боене, двојно боене вклучувајќи Hoechst боене и von Kossa боене. Карактеристичниот раст и морфологија на бактеријата детектирана во седум примероци, биле слични со нанобактеријата. Von Kossa боенето, имунохистохемиското боене и индиректното имунофлуоресцентно боене, биле позитивни за нанобактеријата. Во двојно боечкиот метод, Hoechst боенето од примероците било негативно за нанобактерија, но von Kossa боенето, било позитивно. Hoechst боенето на денталните пулпни клетки, било позитивно. Во два примерока, нанобактеријата не била присутна. Од оваа студија може да се заклучи дека бактеријата изолирана од забен пулпен камен, била слична на нанобактерија во термини од растечката фаза, морфологија и карактеристични боене. Овие необични карактеристики на бактеријата може да играат значајна улога во формирањето на пулпниот камен (176).

Нашиот резултати, добиени со хемиска анализа, претставени на табела 7, се совпаѓаат исто така и со резултатите на Neva Ciftcioglu и сор, кои правеле независна студија за EDAX (Енергични Дисперзивни зраци), анализи на забен плак и нанобактерија, која расте во ткивината култура. Авторите потврдуваат дека дентиклите се редовно составени од карбонатен апатит. Нивната првенствена работа со 18 дентикли, селектирани единствено по големина, докажале присуство на нанобактеријални агенси во деминерализирани дентикли. Оваа бактерија може да биде причина за создавање на калцификати и на други места во организмот. Како заклучок, авторите во своја студија, наведуваат дека голема е инциденцата на камчиња во бубрег и камчиња во жолчно ќесе, во групата на пациенти со дентикли и нивните родители (35).

Добиените резултати секогаш сигнализираат на потребата од соодветна терапија. Диеталниот манипулационен стил сеуште останува еден од многу значајните стратегии на терапија кај патолошката калцификација. Сепак постои

сугестија дека строгата калциум рестрикција е несоодветна кај пациенти со повратна нефролитијаза. Диеталните препораки се базираат на неодамнешниот доказ за улогата на бактерија во патогенезата на калциум нефролитијазата, за што сеуште се дискутира. Неодамнешниот пронајдок како нов доказ, силно ја подржува улогата на оксалатот, солта и животинските протеини, во диетални рестрикции, за превенција (спречување) на повторното враќање на камената формација од калциум во бубрезите. Умерената калциум рестрикција дава единствен ефект во апсорптивната хиперкалциурија. Имплементацијата на калциум рестрикцијата, може да води до коскена деминерализација. Новиот доказ го имплицира недостатокот на интестинална бактерија, која е одговорна за деградација на диеталните оксалати, со висок апсорптивен резултат и зголемен ризик на формирање на калциум оксалатни камчиња. Улогата на *Oxalobacter formigenes* е сеуште дискутирана, што остава простор за CNP-и. Метаболните абнормални одговори за "враќање" на камчињата се идентифицирани во 97% од евалуираните пациенти, а ремисионите стапки од медицинските профилакси во "бившите" калциумови камчиња, се околу 80%. Новите докази асоцираат на деколонизација на оксалатно деградираната интестинална флора, со висок ризик на формирање на калциум оксалатен камен, кој може да отвори врата за биолошка манипулација како приод за превенција од уринарна камена формација (31).

Организмот на човекот не ја препознава калцифицирачката нанобактерија како патогенетска супстанца. Нанобактериските калцифицирани "игло-структурни" форми, организмот на човекот ги "гледа" како заеднички "калциум", а супстанцата се задржува во него во текот на целиот живот. Заради уникатните генетски карактеристики, плеоморфизмот, неверојатно малата големина и, екстремно бавната растечка стапка, во детекцијата на *Nanobacterium sanguineum* често пати има пропусти. Способноста на нанобактеријата да предизвикува делба на клетките, ги води голем број лекари во погрешна дијагноза, најчесто во малигни заболувања. Факт е дека таа е најдена во некои малигни ткива, но не значи дека е причина за појавата на малигнитетот и, покрај способноста за фаворизирање на заболувањето. Стотина кардиолошки истражувачи, тврдат дека не е основано присуството на *Chlamydia pneumoniae*

во плакот (и го запираат гледањето на тоа), што е многу резонабилно за потврдување на присуството на *Nanobacterium sanguineum* во атеросклеротичниот плак, што е најдено за сите овие години. Кардиоваскуларните истражувачи нашле дека *Nanobacterium sanguineum* цело ова време, се води како лажно-позитивна *Chlamydia pneumoniae* во Elisa testot . Во извештајот од 23-ти Мај, 2001 година од 101-та Генерална Средба на Американската Асоцијација за Микробиологија, нанобактеријата била посочена како основен контаминант во претходните стерилни медицински производи, како што е специфичната IPV Polio вакцина. Многу вакцини се направени во билошки човечки serum, во средина која е позната дека е контаминирана со нанобактерија. Во препораката за превенција на овој проблем, човечките биолошки продукти, мора да бидат направени во нано-слободно-културно средство (фильтрирано прво низ 20 нанометарски филтри) и, потоа гама-ирадирани со 150 МегАРади за убивање на присутната нанобактерија. Се уште се бараат можности за уништување на оваа нанобактерија. Официјално, *Nanobacterium sanguineum* не може да биде уништена од Penicillin, Cephalosporini, Macrolidi, многу други антибиотици, топлина под 196F 90 степени, дехидрација, гама ирацијација, под 150 МегАРади, други бактерии или вируси, алкохол, пероксиди, лактоферини, фрекфентни генератори, имуностимулатори, Colostrum, трансфер фактори, имуноглибулини или билки. Овие нанобактерии се екстремни и се веројатно многу високо резистентни на сите бактериски деструктори. Во третирање на нанобактеријалната инфекција, прво се отстранува нивната заштитна калциумска обвивка, и потоа се уништуваат со агенси со специфичен ефект како анти-нанбактеријалните, посебно Nanobac TX.

Моментално, научното истражување на CNP-и, е фокусирано на терапијата. Потврдени комбинации на сретства, се употребени против заболувањата кои формираат камчиња, со прелиминарно фокусирање на prostatitis, кои милионски влијаат на мажите и се многу употребувани денес. Сега се работат тестови против камчиња во жолчка, бubreжни камчиња и калцификација во atherosclerosis. Како терапија против инфекцијата во овие заболувања, се користат Koch – овите постулати. Златен стандард погоден за такво нешто е

инфекцијата на Koch – овите постулати. Поранешните наоди на Koch – овите постулати се валидни со потврденото постоење на CNP- и во камчиња во жолчката и atherosclerosis, вклучувајќи тестирање без разлика дали инфекцијата може да се превенира или третира со примена на соодветна комбинација на лекови.

Поделеноста во мислењата дали калцифицирачките нанопартикли се живи или не, сеуште постојат. Извештите за постоењето на живи организми се контролервни. Ако тие се живи, тута се шпекулира дека тие може да бидат ново пронајдена форма на живот, уште пред бактеријата. Терминот калцифицирачки нанопартикли (CNP), кој исто така е употребуван, го поставува прашањето за нивниот формален статус како животна форма. Иако првобитните nanobi понекогаш се нарекуваат нанобактерија, не се познати, без разлика дали се слични. За нанобактеријата се кажува дека е клеточен микроорганизам со дијаметар помал од генерално прифатената најниска граница (околу 200 нанометри) за бактерија. 200 нанометри е големина на најмалиот објект кој би можел да се види на стандарден светлосен микроскоп. Во 1981 година Torella и Morita, описале многу мали клетки наречени ултрамикробактерија. Дефинирани со големина од 300 нанометри, а MacDonell и Hood констатирале дека некои би можеле да имаат 200 nm мембрана. Во почетокот на 1989, геологот Robert L. Folk тврдел дека подоцнажната идентификација на нанобактеријата доаѓа од топлите предели на Viterbo, Италија. Со почетните истражувања на бактериската причина за патувачката депозиција, со скенинг електронски микроскопско испитување на минералот кој не е бактериски, биле детектирани екстремно мали формации, кои се појавувале како биолошки. На неговата прва усмена презентација за "каменото премолчување" во 1992 од Геолошкото друштво на Американската годишна конвенција, тој констатира дека нанобактеријата е агенс од преципитација на сите минерали и кристали на копно, формирани во течната вода, поточно загадените речни води и, дека таа исто така е причина за целата оксидација на металите и, ја има во многу геолошки примероци (1,21,126).

Структурата на метеоритите од Марс, биле интерпретирани како фосили на нанобактерија (142,156), но потеклото на структурата е оспорувано.

Во февруари 2005 година, во НАСА е изработена биореакторна комора, што стимулира транспортни услови, која била употребена за култура на нанобактерија суспектна за брзо формирање на камчиња во бубрег кај астронаути. Во оваа микрогравитациона средина, тие биле за време на нешто повеќе од пет минути побрзи од нормалната (стандардна) на копно гравитација. НАСА исто така детерминира дека нанобактеријата покажува можност за инфективен ризик за животот на членовите на екипажот во затворен простор (42).

И покрај тоа што, исто така научно е докажано присуството на DNA и RNA во нив, сепак постои одредена група на научници, критичари, кои даваат отпор кон тоа. За да може да застанеме на правилната страна, ние направивме консултации со пронаоѓачот на нанобактеријата/нанопартиклите Dr. Olavi Kajander, кој ни даде одредени сугестиии. Со желба за добивање на сопствени реални резултати, ние се определивме за методот на Инфрацрвена спектроскопија и атомско апсорpcionата метода (како прецизни методи за одредување на хемискиот состав, како и соодносот на калциумот и фосфорот). Иако во литературата се сретнува дека овој сооднос може да се менува, зависно од староста на камчето, авторите на објавените резултати од областа на NB и CNP-и, тврдат дека таа во нив е константна. Тие бараат нови истражувања од оваа област за побрзо комплетирање на терапијата за конзервативно лекување и превенција на патолошката калцификација.

Создавањето на патолошки цврсти структури, во ткивата и органите, подразбира иницијација, развивање и алтерирање на различни физиолошки и патофизиолошки механизми. Дел од овие механизми се делумно или целосно познати, но поедини механизми се суште се во рамките на феномените. Научната и стручната јавност, никогаш како досега не била толку поделена во однос на разјаснувањата за настанокот на патолошките ткивни цврсти супстрати. Антагонизмот оди дотаму, што големи и финансиски гротескни проекти се обвинети за шпекулативни. Основата на поделеноста е во

неслагањето за постоење или непостоење на еден, повеќе или помалку, универзален механизам во етиопатогенезата на патолошките цврсти ткивни супстрати. Од едната страна се наоѓаат теориите, чија основа е базирана на : 1. Безусловното присуство и влијание на калциумот и неговите соли (карбонат и фосфат), дури и кога се наоѓаат како мала пропорција во составот на цврстиот патолошки супстрат. 2. Присуство и влијание на хипотичните многупати докажувани и одрекувани нанобактерии, сега веќе преименувани во нанопартикли. Од другата страна се наоѓаат приврзаниците на класичниот мултифакторијален пристап, чија основа е базирана на : 1. локално и системско пореметување на хомеостазата; 2. дегенеративни, метаболни и хуморални пореметувања.

Значењето на нанобактеријата односно калцифицирачките нанопартикли, се споредува со, сега веќе познатата, *Helicobacter pylori*. Пред повеќе од една декада, истражувачите од Австралија, пронаоѓаат желудечни и дуоденални улцери, предизвикани од оваа бактерија. Антибиотската терапија, успешно ја елиминира инфекцијата и улцерите ги излекува, драматичноста ја елиминира конвенционалната медицина, повеќе од десет години, што е прифатен факт. Порано, распространетото присуство на *Helicobacter pylori*, лекарите го објаснувале со нагласување на стресот и хиперацидитетот, игнорирајќи многу ефективни третмани против улцерите (53, 78, 123).

Нанотехнологијата е рапидно развиена дисциплина со што побудила интерес и во научната комуникација и во јавноста. Ординарите материјали како јаглен или силикон, кога го редуцираат (намалуваат) нивото на наноскалата, често покажуваат и непредвидени карактеристики како екстраординарна сила, резистенција и хемиска реактивност на самиот материјал кој не поседува микро или макро скала (Nel et al 2004).

Иако нанотехнолошката индустрија е многу успешна во производството на разновидни нанопартикли, сеуште има потреба од усовршување на методите за елиминација на негативните особини.

Тековно, стерилната филтрација е многу често употребувана техника за биофармацевтските производи, иако таа е незадоволувачко способна за отстранување на партикли помали од 100 nm во големина (Ciftcioglu et al 1997). Индустрисата на нанотехнологијата е активна во процесот на продуцирањето на нови нанопартикли. Биолошката активност на нанопартиклите, вклучувајќи и противнички добри и корисни, опфаќа како зголемување така и намалување на нивната големина. Намалувањето на партиклите ја зголемува нивната биоактивност и токсичност. Тоа е една можност за лесна претпоставка за брза импакција на нанопартиклите. Иако специфичните детекциони техники, морфолошките карактеристики и биоминерализирачките особини на CNP-и се веќе добро познати, нивната геномичка информација и само-пропагирачката способност се секогаш предизвик. Затоа овие стерилено-филтерабилни, нанопартикли треба да бидат грижа на наномедицинската индустриса.

Нанотехнологијата, со сите нанопартиклиично продукциски процеси и апликации, е потенцијал за иднината. Тековните методи за квалитетно потврдување на високиот квалитет на дел од воздухот (HEPA) филтери, респираторни филтери и, филтери за биолошките процеси, не се рутински испитани за партикли со големина помала од 100 nm.

Критичарите сметаат дека CNP-и, се протеински или кристални преципитати со првенствено само-пропагирачки агенси (Cisar и сор. 2000; Vali и сор. 2001). Елиминирањето на оваа можност, спроведено е со серум-слободната култура во физиолошки услови. Исто така, отсуството на серум во медиумот, дозволува CNP-и, да се прикачат на површината на културната таџна, со што се олеснува нивната обсервација, преку продолжување на временскиот период.

Серумот, што Kajander го употребува за растење на NB/CNP, доаѓа од крв на фетус од крава. Тој е полн со нанобактерии, што многу подоцнежни студии, исто така комплетираат презентирање на нивно присуство во многу стада на крави во источниот дел на Америка. Со други зборови, нанобактеријата е во кравите и крвта на кравите, која е употребувана за развој на многу вакцини. Kajander нагласува дека, ова не треба да ги стопира луѓето да употребуваат вакцини, бидејќи постои имедијатен (непосреден) ризик од заболувања, зашто

вакцините се наменети да превенираат заболувања што се јавуваат брзо, нагло, за разлика од калциум ризикот кој оди бавно.

Нанобактериите, исто така се познати како калцифицирачки нанопартикли (CNP). Тие пропагираат апоптоза *in vitro* и, се асоциирани или се во основа на многу човечки заболувања. Затоа повеќе напори треба да бидат фокусирани на научно истражување на патогенезата на CNP-и. Често се нарекувани продукти на нанобактеријата (42).

Ние мислим дека овие два термина ќе одат заедно уште долго, како што се случува и со други термини во медицината, а се мисли на исто.

Историјата на медицината кажува дека пронаоѓачката улога на патогеноста во заболувањата е многу значајна како аргумент без разлика дали патогените се "живи". За пример, сеуште се актуелни дискусиите дали се вируси или приони и дали се живи според вообичаената дефиниција. Вирусот на пример, вообично бара домаќин да се реплицира, затоа се смета од многу научници дека не се "живи" од страна на само-репликација. Сеуште вирусите се причина за многу болести. Исто така, прионите се сеуште слабо разбрани, уште нивната улога во заболувањата се анализира преку многу студии. Затоа, важноста на дебатата (расправата) преку тоа дали се живи или не, компарирана е во публицираните докази за улогата која ја играат CNP-и во заболувачките услови, асоцирана со хроничната инфламација и калцификација. Во тој контекс, некој генетски материјал, е детектиран на површината на CNP-и и внатре во нивниот прашкаст остаток. Сепак, тоа сеуште не е задоволувачки детерминирано, за научната заедница, без разлика дали овој генетски материјал е уникатен за CNP-и. Бидејќи на оваа тема, се случуваат преку временски разлики, дали или не CNP-и се живи, студиите од овој аспект сеуште се работат (49).

Многубројните експерименти, публицирани од Kajander, Cifcioglu и сор., покажуваат дека CNP-и може да бидат неактивни *in vitro* со разни варијации на хемикалии и радијација, иако истовремено CNP-и, се покажуваат како екстремно резистентни на дозите кои нормално ги убиваат вирусите, бактериите и други патогени микроорганизми (Cifcioglu и сор. "Inhibition of

nanobacteria by antimicrobial drugs as measured by a modified microdilution method" Antimicrob Agents Chemoter. 46: 2077-2086). Прелиминарни публицирани обсервирали студии, анти-CNP терапии, се покажуваат доста ефективни против atherosclerosis и prostatitis. Сепак, овие студии се прелиминарни и авторите препорачуваат понатамошни студии да бидат направени.

Dr. Kajander верува дека, CNP-и се примордијални (здравени) форми на живот, што употребуваат репликационен механизам, различен од геномичната DNA, веројатно како предходните и, можеби под геномичната DNA репликација. CNP-и ја катализираат уникатната, сеуште непопречена врска меѓу протеините, нуклеинско-киселинските фрагменти и фосфолипидите, кои ја поддржуваат оваа репликација. Никој од ова не е изненаден бидејќи калциумот и фосфорот, како што е предходно кажано, во голем дел од CNP-и, ги градат блоковите комплексите, од кои милијарди години предходно животот бил формиран. Калциумот и фосфорот, може да се комбинираат како калциум фосфат, кој е екстремно адхезивна супстанца, што ги врзува органските молекули и нуклеинската киселина, како и протеинските фрагменти. CNP-и, можат да ги составуваат овие фрагменти во специјални комбинации, пример во згрутчена каскада. CNP-и, се основни партиципиенси (учесници) во калцификацијата, кои се покажани во публицираниите студии, со централна улога во хроничната инфламација и ткивината деструкција, кое од авторот е наречено "Калцифицирачко-заболувачки синдром". Овој синдром, тој верува дека ќе биде показател, како се губи врската помеѓу болестите што моментално медицинската наука смета дека може да бидат сепарирани (одделени) наспроти нивните многу слични atherosclerosis, бubreжни камчиња, камен во жолчка, автоимуни заболувања и, сигурни канцерогени карактеристики од микро – калцификации(51,116). Потврдата за оваа изгубена врска, ќе донесе ослободување во третманот на хроничното заболување. Пронајдокот на методите за инактивирање на овие CNP-и, кои веќе се случиле, би можело да води до развој на вакцини за превенција на таквите болести и терапија поспособна од нивното враќање.

Заклучок

ЗАКЛУЧОК

Од ова наше истражување, можеме да ги извлечеме следните заклучоци :

1. Значајно сигнификантната застапеност на денталните калцификати кај пациенти со присутни калкулуси во бубрег и жолчно ќесе од 70%, во однос на пациентите со патолошка калцификација во организмот без присуство на дентални калцификати од 30%, зборува доволно за важноста на корелацијата на денталните калцификати со патолошката калцификација во организмот.
2. Недоволното познавање на патолошката калцификација, а секако и недоволната искористеност на современите имиџинг методи во нејзиното испитување, се причина за превидување на патолошката калцификација во дијагностицирањето.
3. Стоматологот, не треба да почнува со работа, без земање на комплетна лична и фамилијарна анамнеза (не само при аплицирање на анестезија). Тој не би требало да се фокусира само на одреден заб, регија или само на усната празнина. Во анамнезата посебно треба да стојат прашања за срцеви заболувања, кои често се резултат на патолошка калцификација, како не би предизвикале срцев напад, при работа со машината. Со ова мислиме на

фактот дека, стоматологот, како лекар, треба да има т.н. "клиничко око" за секој пациент посебно.

4. По дијагностицирано присуство на патолошка калцификација во пулпата на забот, лекарот – стоматолог, треба да го упати пациентот на дополнителни испитувања, за детектирање на патолошка калцификација во организмот, што првенствено опфаќаат ултразвучни (ехо) прегледи на абдоменот.

5. И обратно, податоците добиени со анамнеза од пациентите, кои се со неодредена болка во забалото, во кои стои присуство пр. на камен во бубрег и/или во жолчното ќесе, треба да биде патоказ за детектирање на дентикили во пулпата на забите, со што би се избегнала неоправдана екстракција на заб или група на заби. Ова се однесува и на пациентите кај кои предходно, без разлика на времето, хируршки им е отстранет калкулус од овие органи или имаат присуство на патолошка калцификација на друго место во организмот, бидејќи калцификацијата е реверзилен процес и, повторно се "враќа" најчесто за три до четири години, на истите или на други места.

6. Фактот што во сите примероци на пулпите на 60 пациенти без дентикили, кои се со необјаснива болка на одреден заб или регија, а кои имаат дијагностицирана калкулоза/калцификација пошироко во организмот и, кај кои хистопатолошки беше детектирана фокално парцијална или дифузна калцификација, дозволува да заклучиме дека, присуството на патолошка калцификација во организмот, редовно е поврзано со присуство на т.н. "песок" во денталната пулпа, што е причина за необјаснивата болка.

7. Локализацијата, односно компартманот во кој се наоѓаат цврстите патолошки супстрати, е причина за варијациите во широки граници, во однос на : тежината, димензиите, обликот и формата, бојата, конзистенцијата и степенот на сублимација, добиени со макроскопска анализа.

8. Мошне голема сличност во градбата на калцификатите во забната пулпа, плунковните жлезди и калкулите од бубрежниот паренхим, видлива е на ниво од микроскопска морфологија, направена под исти услови.

9. Резултатите од микроскопската анализа ни дозволуваат да заклучиме дека, морфолошкиот континуум, во испитаната серија на денталните, плунковните и бубрежните CPS, е присуството на калциум, организирано во два морфолошки облика сверули и неправилни по облик депозити на калциумови соли од типот на дистрофични калцификати. CPS од жолчното кесе, според морфологијата, излегуваат од низата CPS асоциирани со присуство на калциум и калциумови соли.

10. Добиените резултати, со квалитативна хемиска анализа, сугерираат дека, основни конституенти на калкулусите се фосфати и карбонати на калциум, со различен заемен сооднос. Овие конституенти претставуваат заедничка алка во сите цврсти патолошки калцификати во организмот.

11. Квантитативната хемиска анализа, со добиените наоди за комплетниот состав на минералите, дозволува да заклучиме дека константен квантитативен состав, со мали отстапувања, ги поврзува повеќето цврсти патолошки супстрати во организмот.

12. Овие резултати, упатуваат на заклучокот дека, колку се вредностите на калциумот и фосфорот слични едни на други, причина за нивното создавање може да биде нанобактеријата/калцифицирачките нанопартикли. И обратно, колку се вредностите на калциумот и фосфорот поразлични едни од други, етиологијата за нивното создавање, не е инфективна.

13. Процентуалниот сооднос на калциумот и фосфорот, како и вредностите во mg/kg, кај приближно 50% од примероците, одговараат на вредностите на нанобактерија/нанопартикли. Со ова се потврдува

инфективната етиологија на настанувањето на калцификатите/калкулусите во нашата испитувана група.

Библиографија

Библиографија

- 1.** Aho Katja, E. Olavi Kajander, "Pitfalls in Detection of Novel Nanoorganisms", Journal of Clinical Microbiology, July 2003, p. 3460-3461 Vol. 41, No. 70095-1137).
- 2.** Akerman K.K., I. Kuronen, and E. O. Kajander. Scanning electron microscopy of nanobacteria – novel biofilm producing organisms in blood. 1993.15 (Suppl.) 3:90-91.
- 3.** Akerman, K. K., J. T. Kuikka, N. Ciftcioglu, J. Parkkinen, K. A. Bergstril. Kuronen, and E. O. Kajander. 1997. Radiolabeling and in vivo distribution of nanobacteria in rabbit. 1997. Proc. SPIE. 3111: 436-442.
- 4.** Aleksova P., Matovska Lj., Stevanovic M., Nedelkovska M., Georgiev S. Representation of pulp stones in the tooth pulp in cases of periodontopathy tooth. 9 Congress of the Balkan Stomatological Society, Ohrid, 13 – 16 May 2004; (Book of abstract, 108).
- 5.** Алексова П. Дентални калцификати – причина за посебна анализа. Магистерски труд, Скопје – 2006.
- 6.** Алексова П., Антевски С. Корелација на денталните калцификати со други калцификати во организмот. 2007. МСП 1-2 : 74 – 79.
- 7.** Anderson HC. Calcific diseases. A concept. 1: Arch Pathol Lab Med. 1983 Jul;107(7):341-8.
- 8.** Anderson HC. Molecular biology of matrix vesicles. 1: Clin Orthop Relat Res. 1995 May;(314):266-80
- 9.** Anderson HC. Mechanisms of pathologic calcification. 1: Rheum Dis Clin North Am. 1988 Aug;14(2):303-19.

-
-
- 10. Anderson HC.** Normal and abnormal mineralization in mammals. 1: Trans Am Soc Artif Intern Organs. 1981;27:702-8.
 - 11. Ann Senisi Scott, Elizabeth Fong.** Body structures and Functions. Thomson Delmar Learning, 2004.
 - 12. Barry, E. D., and G. R. Siragusa.** Hydroxyapatite adherence as a means to concentrate bacteria. 1997 Appl. Environ. Microbiol. 63:4069-4074.
 - 13. Benzerara K., Miller VM., Barell G., Kumar V., Miot J., Brown GE., Lieske JC.** Search for microbial signatures within human and microbial calcifications using soft x-ray spectromicroscopy. J Investing Med. 2006 Nov;54(7):367-79.
 - 14. Bjound, M., N. Ciftcioglu, E. O. Kajander.** Extraordinary survival of nanobacteria under extreme conditions. 1998 Proc. SPIE. 3441: 123-129.
 - 15. Björklund, M., N. Çiftcioglu, and E. O. Kajander.** Extraordinary survival of nanobacteria under extreme conditions. 1998. Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng. 3441:123-129.
 - 16. Bone, H. G., J. E. Zerwekh, F. Britton, and C. Y. Pak.** Treatment of calcium urolithiasis with diphosphonate: efficacy and hazards. 1979. J. Urol. 121:568-571.
 - 17. Boskey AL.** Current concepts of the physiology and biochemistry of calcification. 1: Clin Orthop relat Res. 1981 Jun;(157):225-57.
 - 18. Boskey AL., Boyan BD., Schwartz Z.** Matrix vesicles promote mineralization in a gelatin gel. 1: Calcif Tissue Int. 1997 Mar;60(3):309-15.
 - 19. Boskey AL.** Mineral-matrix interactions in bone and cartilage. 1: Clin Orthop Relat Res. 1992 Aug;(281):244-74.
 - 20. Boskey AL., Ullrich W., Spevak L., Gilder H.** Persistence of complexed acidic phospholipids in rapidly mineralizing tissues is due to affinity for mineral and resistance to hydrolytic attack: in vitro data. 1: Calcif Tissue Int. 1996 Jan;58(1):45-51.
 - 21. Bradley J. Fikes – Staff Writer.** Pulp Facts: The rocks in your head. Last modified Saturday, June 24, 2006 8:39 PM PDT
 - 22. Breitschwerdt, E, Jr.** Infection with Bartonella weissii and Detection of Nanobacterium Antigens in a North Carolina Beef. Publisch of Clin. Micro., Mar. 2001, pp. 879-82.
 - 23. Breitschwerdt, E. B., Sushama, S., Cannedy, A., Hancock, S. I., Bradley, J. M.** Infection with Bartonella weissii and detection of nanobacterium antigens in a North Carolina beef herd. 2001. Journal of Clinical Microbiology. 879-882.
-
-

-
-
- 24. Breitschwerdt, E. B., S. Sontakke, A. Cannedy, S. I. Hancock, and J. M. Bradley.** Detection of nanobacles antigens in a North. Publisch of Clin. Micro., Mar. 2006, pp. 869-873.
- 25. Brown E. F., D. Burton, P. Doherty, J. Makalanos, E. Norrby.** Cold spring harbor laboratory press, cold spring harbor. 1997. *Vaccines* 97. 99-103.
- 26. Bushinsky, D. A., K. J. Neumann, J. Asplin, and N. S. Krieger.** Alendronate decreases urine calcium and supersaturation in genetic hypercalciuric rats. 1999. *Kidney Int.* 55:234-243.
- 27. By Zoltan P., Rona, M. D., M.Sc.** Defusing the Calcium Bomb November 2004.
- 28. Carson, D. A.** An infectious origin of extraskeletal calcification. 1998. *PNAS*. 95: 7846-7847.
- 29. Chandy, T., S. C. Vasudev, and C. P. Sharma.** 1996. Changes in polyurethane calcification due to antibiotics. *Artif. Organs* 20:752-760.
- 30. Ciftcioglu, N., A. Pelttari, E. O. Kajander.** 1997. Extraordinary growth phases of nanobacteria isolated from mammalian blood. *Proc. SPIE*. 3111: 429-435.
- 31. Ciftcioglu, N., I. Kuronen, K. Akerman, E. Hiltunen, J. Laukkonen, E.O. Kajander.** A new potential threat in antigen and antibody products: nanobacteria. 1997. *Vaccines* 97. 99-103.
- 32. Ciftcioglu et al.** Dental plaq, dental pulp stones made by nanobacteria. 1998. *Proc. SPIE*. 3441: 130-135.
- 33. Ciftcioglu, N., E. O. Kajander.** Interaction of nanobacteria with cultured mammalian cells. 1998. *Pathophysiology*. 4: 259-270.
- 34. Ciftcioglu, N., M. Bjound, E. O. Kajander.** Stone formation and calcification by nanobacteria in human body. 1998. *Proc. SPIE*. 3441: 105-111.
- 35. Ciftcioglu, N., V. Ciftcioglu, H. Vali, E. Turcott, E. O. Kajander.** Sedimentary rocks in our mouth: dental pulp stones made by nanobacteria. 1998. *Proc. SPIE*. 3441: 130-135.
- 36. Çiftcioglu, N., M. Björklund, K. Kuorikoski, K. Bergström, and E. O. Kajander.** 1999. Nanobacteria: an infectious cause for kidney stone formation. *Kidney Int.* 56:1893-1898.
- 37. Ciftcioglu, N. and E. O. Kajander.** 1999. Nanobacterial growth factors for nanobacteria. *Proc. SPIE*. 3755: 113-119.
-
-

-
-
38. Çiftcioglu, Neva; Björklund, Mikael; Kuorikoski, Kai; Bergström, Kim; Kajander, E. Olavi Nanobacteria: An infectious cause for kidney stone formation. *Kidney International*, Volume 56, Number 5, November 1999, pp. 1893-1898.
39. Ciftcioglu, N., M. A. Miller-Hjelle, J. T. Hjelle and E. O. Kajander. 2002. Inhibition of nanobacteria by antimicrobial drugs as measured by a modified microdilution method. *Antimicrob Agents Chemother*. 46: 2077-2086.
40. Ciftcioglu, N. 2002. Kidney stone formation : an infectious disease? *Japanese Journal of Urological Surgery*. 15 (3): 228-232.
41. Ciftcioglu N., D.S. McMAY, E.O.Kajander, 2003. Association between nanobacteria and periodontal disease. *Circulation*. 108:9 - 58.
42. Ciftcioglu et al. A potential cause for kidney stone formation during space flights : Enhanced growth of nanobacteria in microgravity. *Kidney International* 67 : 1-9, 2005.
43. Ciftcioglu N. Nanobacteria –Discovery of a new form of life. *Horizons* 2006 March 31:7-8. (10) I (13).
44. Çiftcioglu N, McKay DS, Mathew G, et al. Nanobacteria: Fact or fiction? Characteristics, detection and medical importance of novel self-replicating, calcifying nanoparticles. *J Investig Med*. 2006;54:385–94.
45. Çiftcioglu N, Aho KM, McKay DS, et al. Are apatite nanoparticles safe? *Lancet*. 2007;369:2078.
46. Cicerello, E., F. Merlo, G. Gambaro, I. Maccatrazzo, A. Fandella, B. Baggio, and G. Anselmo. 1994. Effect of alkaline citrate therapy on clearance of residual renal stone fragments after extracorporeal shock wave lithotripsy in sterile calcium and infection nephrolithiasis. *J. Urol.* 151:5-9.
47. Cisar JO, Xu DQ, Thompson J, Swaim W, Hu L, Kopecko DJ. An alternative interpretation of nanobacteria-induced biomineralization. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000 Oct 10;97(21):11511-5.
48. Cohen, H., V. Solomon, I. S. Alferiev, E. Breuer, A. Ornoy, N. Patlas, N. Eidelman, G. H'agele, and G. Golomb. 1998. Bisphosphonates and tetracycline: experimental models for their evaluation in calcium-related disorders. *Pharm. Res.* 15:606-613.
49. Conte Visus A., F. Grases Freixedas, A. Costa-Bauza, P. Piz Reus. Microinfections and kidney lithiasis. 2001. *Arch Esp Uro. (Spanish)*. 54(9) :855-860.
-
-

-
- 50. COX A.B., Walden JE., Scheetz J.P., Goldsmith L.J., Drisco C.L., and Eleazer P.D.** Pilot study of correlation of pulp stones with cardiovascular disease. JM Dent Assoc. March 2002, Volume 31, Number 7.
- 51. Cunha, B. A., C. M. Sibley, and A. M. Ristuccia.** 1982. Doxycycline. Ther. Drug Monit. 4:115-135.
- 52. Dard M., Kerebel B., Orly , Kerebel L.M.** Transmission electron microscopy of the morphological relationship between fibroblast and pulp calcification in temporary teeth. J Oral Pathol 1998 ; 17 : 124 – 28.
- 53. DeCross, A., B. Marshall, R. McCallum, S. Hoffman, L. Barrett, and R. Guerrant.** 1993. Metronidazole susceptibility testing for Helicobacter pylori: comparison of disk, broth, and agar dilution methods and their clinical relevance. J. Clin. Microbiol. 31:1971-1974.
- 54. Dennis A. Carson.** An Infections Origin of extraskeletal calcification. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Vol.95,No 14 (Jul 7,1988), pp. 7846-7847.
- 55. Donaldson K.** Resolving the nanoparticle paradox. Nanomedicine. 2006;1:229–34.
- 56. Drancourt M., V. Jacomo, H.Lepidi,E. Lechevallier,V. Grisoni, C.Coulange, E. Ragni,C.Alasia,B.Dussoi,Y.Berland,D.Raoult.** 2003. Attempted isolation of Nanobacterium sp. Microorganisms from upper urinary tract stones, J Clin Microbiol. 41(1):368-372.
- 57. Dubey, N. K., H. B. Tavadia, and M. Hehir.** 1988. Malacoplakia: a case involving epididymis and a case involving bladder complicated by calculi. J. Urol. 139:359-361.
- 58. Eanes ED.** Biophysical aspects of lipid interaction with mineral: liposome model studies. 1: Anat Rec. 1989 Jun;224(2):220-5
- 59. Ebbesen M, Jensen TG.** Nanomedicine: techniques, potentials and ethical implications. J Biomed Biotechnol. 2006;5:1–11.
- 60. Ebisuno, S., Y. Kohjimoto, T. Nishikawa, M. Nishihata, T. Inagaki, T. Komura, and T. Ohkawa.** 1998. Effects of etidronate disodium on crystallizations in synthetic urine and calcium oxalate crystal adhesion to Madin-Darby canine kidney (MDCK) cells. Int. J. Urol. 5:582-587.
-

-
-
- 61. Ennever, J., and H. Creamer.** 1967. Microbiological calcification: bone mineral and bacteria. *Calcium Tissue Res.* 1:87-93.
- 62. Ennever, J., J. J. Vogel, and J. L. Streckfuss.** 1974. Calcification by *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 119:1061-1062.
- 63. Ennever, J., and F. E. Summers.** 1975. Calcification by *Candida albicans*. *J. Bacteriol.* 122:1391-1393.
- 64. Erasest., Costa Bausa A.** Phytate (IPG) is a powerful agent for preventing calcifications in biological fluids, usefulness in renal lithiasis treatment. *Anticar Res* 1999; 19 (5A): 3717-22.
- 65. Ertas et al.** Anti – CNP antibody titre is a highly significant independent risk factor for coronary artery calcification. 2006,
- 66. Farooq A. Shiekh, Madhu Khullar, S. K. Singh,** "Lithogenesis: induction of renal calcifications by nanobacteria" *Urol Res* (2006) DOI 10.1007/s00240-005-0034-0)
- 67. Fessia, S. L., and M. J. Griffin.** 1991. A method for assaying biofilm capacity on polyurethane-coated slides. *Peritoneal Dialysis Int.* 11:144-146.
- 68. Fisher, J. E., M. J. Rogers, J. M. Halasy, S. P. Luckman, D. E. Hughes, P. J. Masarachia, G. Wesolowski, R. G. G. Russell, G. A. Rodan, and A. A. Reszka.** 1999. Alendronate mechanism of action: geranylgeraniol, an intermediate in the mevalonate pathway, prevents inhibition of osteoclast formation, bone resorption, and kinase activation in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:133-138.
- 69. Gaby, Alan.** Preventing and Reversing Osteoporosis. Prima Publishing. 1994.
- 70. Gaby AR and Wright JV.** Nutrients and Osteoporosis. *J Nutr Med.* 1990. 1. 63-70.
- 71. García Cuerpo, E., E. O. Kajander, N. Çiftcioglu, F. L. Castellano, C. Correa, J. Gonzales, F. Mampaso, F. Liano, E. G. De Gabiola, and Y. A. E. Berrilero.** 2000. Nanobacteria: un modelo de neo-litogenesis experimental. *Arch. Esp. Urol.* 53:291-303.
- 72. Garimella R., Bi X, Anderson HC., Camacho NP.** Nature of phosphate substrate as a major determinant of mineral type formed in matrix vesicle-mediated in vitro mineralization: An FTIR imaging study. *1 : Bone.* 2006 Jun;38(6):811-7. Epub 2006 Feb 3.
- 73. Garrison, J.** 2000. Optimal properties of agents used to treat acute, uncomplicated urinary tract infections. *Drug Ther. Topics* 29:23-26.

-
-
- 74. Goldstein, M. R.** 2000. Bisphosphonate therapy and vascular calcification. *JAMA* 283(14):1424-1425.
- 75. Goodman, W. G., and I. B. Salusky.** 2001. Non-invasive assessments of cardiovascular disease in patients with renal failure. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 10:365-369.
- 76. Gupta, M., O.-L. Tuncay, E. Valderrama, and A. D. Smith.** 1997. Inhibition of calcium oxalate urolithiasis in a rat model of lithogenesis using bisphosphonates. *J. Endourol.* 11:1-4.
- 77. Harmey D., Hessle L., Narisawa S. Johnson KA., Terkeltaub R., Millan JL.** Concerted regulation of inorganic pyrophosphate and osteopontin by akp2, enpp1, and ank: an integrated model of the pathogenesis of mineralization disorders. 1: *Am J Pathol.* 2004 Apr;164(4):1199-209.
- 78. Hartvig Hartzen, S., L. Percival Andersen, A. Bremmelgaard, H. Colding, M. Arpi, J. Kristiansen, T. Justesen, F. Espersen, N. Frimodt-Møller, and O. Bonnevie.** 1997. Antimicrobial susceptibility of 230 *Helicobacter pylori* strains: importance of medium, inoculum, and incubation time. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41:2634-2639.
- 79. Hjelle, J. T., M. A. Miller-Hjelle, I. R. Poxton, O. Kajander, N. Çiftçioglu, M. L. Jones, R. C. Caughey, R. Brown, P. D. Millikin, and F. S. Darras.** 2000. Endotoxin and nanobacteria in polycystic kidney disease. *Kidney Int.* 57:2360-2374.
- 80. Hjelle JT., Miller – Hjelle MA., Poxton IR., et al.** Endotoxin and nanobacteria in polycystic kidney disease. *Kidney Int* 2000 ; 57 : 2360 – 2374.
- 81. Holtgrave EA, Hopfenmüler W., Ammar S.** Abnormal pulp calcification in primary molars after fluoride supplementation 1 : ASCD J Dent Child. 2002 May – Aug ; 69 (2) : 201 – 6, 126.
- 82. Jallouli Y, Paillard A, Chang J, et al.** Influence of surface charge and inner composition of porous nanoparticles to cross blood-brain barrier in vitro. *Int J Pharm.* 2007;344(1-2):103–9.
- 83. Jelic T.M., A.M. Malas, S.S. Groves, B. Jin, P.H. Mellen, G.Osborne, R.Roque, J.G. Rosencrance, and H.H. Chang.** 2004. Nanobacteria-caused mitral valve calciphycatic in a man diabetic renal failure. *South Med J* Feb; 97(2):194-198.
- 84. John O. Cisar, De-Qi Xu, John Thompson, William Swaim, Lan Hu, Dennis J. Kopecko.** CNPs-induced biomineralization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 October 20; 95(16): 11311–11315.
- 85. Kajander, E. O.** 4 August 1992. Culture and detection method for sterile-filterable autonomously replicating biological particles. U.S. patent 5,135,851.
-
-

-
-
- 86. Kajander, E. O., E. Tahvanainen, I. Kuronen, and N. Çiftcioglu.** 1994. Comparison of staphylococci and novel bacteria-like particles from blood. *Zentbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektkrankh. Hyg. Abt. 1 Orig. (Suppl.)* 26:147-149.
- 87. Kajander, E. O., E. Tahvanainen, I. Kuronen, N. Ciftcioglu.** 1994. Comparison of staphylococci and novel bacteria-like particles from blood. *Zbl. Bakt. (Suppl.)* 26: 147-149.
- 88. Kajander, E. O., I. Kuronen, K. Åkerman, A. Pelttari, and N. Çiftcioglu.** 1997. Nanobacteria from blood, the smallest culturable autonomously replicating agent on earth. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.* 3111:420-428.
- 89. Kajander, E. O., I. Kuronen; K. Akerman, A. Pelttari, N. Ciftcioglu.** 1997. Nanobacteria from blood, the smallest culturable autonomously replicating agent on earth. *Proc. SPIE.* 3111: 420-428.
- 90. Kajander, E. O., and N. Çiftcioglu.** 1998. Nanobacteria: an alternative mechanism for pathogenic intra- and extracellular calcification and stone formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:8274-8279.
- 91. Kajander, E. O., M. Bjound and N. Ciftcioglu.** 1998. Suggestions from observations on nanobacteria isolated from blood. National Research Council; Washington, D.C. October 22-23.
- 92. Kajander, E. O., N. Ciftcioglu, M. Bjound.** 1998. Mineralization by nanobacteria. *Proc. SPIE.* 3441: 86-94.
- 93. Kajander, E. O., M. Björklund, and N. Çiftcioglu.** 1999. Nanobacteria and man, p. 195-204. In J. Seckbach (ed.), *Enigmatic microorganisms and life in extreme environments*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- 94. Kajander, E. O., and N. Çiftcioglu.** 1999. Nanobacteria as extremophiles. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.* 3755:106-112.
- 95. Kajander, E. O., T. Heinonen, I. Kuronen, K. Luoto, and N. Çiftcioglu.** 1999. Nanobacteria, mycoplasma and bacterial L-forms; problems for sterile filtration, p. 279-292. In G. Wirtanen, S. Salo, and A. Mikkola (ed.), *30th R3 Nordic Contamination Control Symposium*.
- 96. Kajander, E. O. and N. Ciftcioglu.** 2000. Nanobacteria as extremophiles. *Proc. SPIE.* 3755: 106-112.
- 97. Kajander, E. O., N. Çiftcioglu, M. A. Miller-Hjelle, and J. T. Hjelle.** 2001. Nanobacteria: controversial pathogens in nephrolithiasis and polycystic kidney disease. *Curr. Opin. Nephrology and Hypertension.* 10:445-452.
- 98. Kajander, E. O., K. Aho and V. Segal.** October, 2002. Apatite biofilm forming agent: nanobacteria as a model system for biomineratization and biological standard for noa, a preliminary study. *Proceedings of the 2nd International Conference on*
-
-

Near-Field Optical analysis: Photodynamic Therapy & Photobiology Effects.
Houston, Texas.

99. **Kajander E.O.** 2003. Nanobacteria do exist and actively participate in the calcification of arterial plaque. Townsend Letter for Doctors and Patients. 234:80-82.
100. **Kajander E. Olavi, Neva Ciftcioglu, Katja Aho and Enrique Garcia-Cuelpo.** "Characteristics of nanobacteria and their possible role in stone formation". 2005. Urological Research 10.1007/s00240-003-0304-7.
101. **Kajander E.O., Aho K.M., Ciftcioglu N., Millican B.** Methods and compositions for the treatment of diseases characterized by pathological calcification. <http://www.Freshpatents.com/Methods-and-compositions-for-the-tre...>
102. **Kajander EO.** Nanobacteria – propagating calcifying nanoparticles. Lett Appl Microbiol. 2006 Jun; 42(6):549 – 52.
103. **Kessler T., Jansen B., Hesse A.** Effect of blackcurrant-cranberry – and plum juice consumption on risk factors associated with kidney stone formation. Division of Experimental Urology, Department of Urology, University of Bonn, Bonn, Germany. Eur J Clin Nutr. 2002 Oct ; 56 (10) : 1020-3.
104. **Khullar M, Sharma SK, Singh SK, Bajwa P, Sheikh FA, Sharma M** (2004) "Morphological and immunological characteristics of nanobacteria from human renal stones of north Indian population." Urol Res 32:190-195.)
105. **Kim KM.** Apoptosis and calcification. 1: Scanning Microsc. 1995;9(4):1137-75; discussion 1175-8.
106. **Kodaka T., Hiroyama A., Mori R. and Sano T.** Spherulitic brushite stones in the dental pulp of a cow. Journal of Electron Microscopy 47 : 57 - 65 ,1998
107. **Kramer, G., H. C. Klingler, G. E. Steiner.** 2000. Role of bacteria in the development of kidney stones. Curr Opin Urol. 10(1):35-38.
108. **Kumar V, Farell G, Yu S, et al.** Cell biology of pathologic renal calcification: contribution of crystal transcytosis, cell-mediated calcification, and nanoparticles. J Investig Med. 2006;54:412–24.
109. **Li Min Wang, Wenlv Shen, Jun Wen, Md, Xin An, Liying Cao, Baoqiang Wang.** An Animal Model of Black Pigment Gallstones Caused by Nanobacteria. Digestive Diseases and Sciences, Vol. 51, No. 6 (June 2006), pp. 1126-1132 (2006).
-
-

-
- 110.** Li, Y., Wen, Y. Yang, Z., Wei, H., Liu, W., Tan, A., Wu, X., Wang, Q., Huang, S., Kajander, E. O., Ciftcioglu, N. November 25, 2002. Culture and identification of nanobacteria in bile. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 82 (22):1557-60.
- 111.** Lon Morgan, DC. OPTIMAL CALCIUM INTAKE "Calcium Recommendations", Oct 1996 At : 11 : 20.
- 112.** Ludlow K. One-size fits all? Australian regulation of nanoparticle exposure in the workplace. *J Law Med*. 2007;15:136–52.
- 113.** Maniscalco et al. Calcification in Coronary Artery Disease can be Reversed by EDTA – Tetracycline Long – term Chemotherapy, *Pathophysiology*, July 28, 2004.
- 114.** Masami Nimomya, DDS, PhD; Mika Ohishi, DDS, PhD; Jun Ichi Kido, DDS, PhD; and Toshihiko Nagata, DDS, PhD. Immunohistochemical Localization of Osteopontin in Human Pulp Stones. *AAE HOME – JOE Abstracts – April 2001 Volume 27, Number 4*.
- 115.** Massey L. Magnesium therapy for nephrolithiasis. *Magnes Res*. 2005; 18(2):123-6.
- 116.** Mathew Grace, McKay David, Ciftcioglu Neva. Do blood-borne calcifying nanoparticles self-propagate? *Int J Nanomedicine*. 2008 June; 3(2): 265–275.
- 117.** Матовска Љ., Стојановски Ј. Калцифицирана метаморфоза на пулпата. МСП, 1985, 1 -2, 23 – 27.
- 118.** Матовска Љ. Кариологија. – Сигмапрес - Скопје 2001.
- 119.** Матовска Љ. Ендодонција. Сигмапрес, Скопје – 2002.
- 120.** Mc Carthy, G M., J. A. Augustine, A. S. Baldwin, P. A. Christopherson, H. S. Cheung, P. R. Westfall, and R. I. Scheinman. 1998. Molecular mechanism of basic calcium phosphate crystal-induced activation of human fibroblasts. *The Journal of Biological Chemistry*. 273 (52) 25: 35161-15169.
- 121.** Miller, V. M., G. Rodgers, J. A. Charlesworth, B. Kirkland, S. R. Severson, T. E. Rasmussen, M. Yagubyan, J. C. Rodgrs, F. R. Cockerill, III, R., L. Folk, V. Kumar, G. Farell – Baril, J. C. Lieske. Evidence of nanobacterial-like structures in calcified human arteries and cardiac valves. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004 Sep;287(3):H1115-24.
- 122.** Miller-Hjelle, M. A., J. T. Hjelle, N. Ciftcioglu and E. O. Kajander. 2003. "Nanobacteria: methods for growth and identification of this recently discovered calciferous agent", *Rapid Analytical Microbiology. The chemistry and physics of microbial identification*. Ed. Olson. PDA, Bethesda, MD, USA. 297-312.
-

-
-
- 123. Moller, and O. Bonnevie.** 2002. Helicobacter pylori strains: importance of incubation time. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31:1623-1628.
- 124. Morgan, M. B.** 2002. **Nanobacteria and calcinosis cutis.** *J. Cutan Pathol.* 29(3):173-175.
- 125. Moss – Salejtin L., Hendricks – Klyvert M.** **Epithelialy induced denticles** in the pulps of, recently noncarious human premolare. *J Endodon* 1988; 14 (4) : 184 – 89. (40).
- 126. Mulhall Douglas and Katja Hansen.** The Calcium Bomb: The Nanobacteria Link to Heart Disease & Cancer (Hardcover - Nov 1, 2004; ISBN : 1-59411-101-4).
- 127. Naddra et al.** Proinflammatory Activation of Macrophages by Basic Calcium Phosphate Crystals via Protein Kinase C and MAP Kinase Pathways : A Vicious Cycle of Inflammation and Arterial Calcification. *Circulation Research* 96 (12): 1248-1256, June 24, 2005.
- 128. Nair, D., R. P. Misra, J. D. Sallis, and H. S. Cheung.** 1997. Phosphocitrate inhibits a basic calcium phosphate and calcium pyrophosphate dihydrate crystal-induced mitogen-activated protein kinase cascade signal transduction pathway. *The Journal of Biological Chemistry.* 272 (30) 25: 18920-18925.
- 129. Nieman K, van Geuns J, Wielopolski P, et al.** Noninvasive coronary imaging in the new millennium: A comparison of computed tomography and magnetic resonance techniques. *Rev Cardiovasc Med* 2002 3(2):77-84.
- 130. Olivares HML., Ovalle CJM.** Prevalense of pulp stones. *Rev ADM* 2001; 58 (4) : 130 – 137.
- 131. Olivares HML., Ovalle CJM.** Radiologic relationship of pulp stones and periodontitis. *Rev ADM* 2002; 59 (1) : 10 – 15.
- 132. Olson, W. P.** 2000. Dealing with the nanobacteria. *PDA J Pharm. Sci. Technol.* 54(5):364.
- 133. Olson, W. P.** 2000. Dealing with the nanobacteria, if we must. *PDA J Pharm. Sci. Technol.* 54(5):359-360.
- 134. Olson, W. P.** 2000. Opinion: Kajander?s nanobacteria. *PDA J Pharm. Sci. Technol.* 54(2):150-151.
- 135. Petrovic B., Dujanovic P. i sar.** Medicinska knjiga. Beograd, 1983. 107-109.
- 136. Puskas, L. G., Tiszlavicz, L., Razga, Z., Torday, L. L., Krenacs, T., Papp, J. G.** Detection of nanobacteria – like particles in human atherosclerotic plaques. *Acta Biologica Hungarica* 2005.56 (3-4): 233-245..
-
-

-
-
- 137. Puskas, L. G.; Tiszlavicz, L.; Razga, Z.; Torday, L. L.; Krenacs, T.; Papp, J. G.** NB-like particles from sclerotic aorta and carotid samples. *Acta Biol. Hung.* 2005, 56, 233-245).
- 138. Rasmussen, T. E., B. L. Kirkland, J. Charlesworth, et al.** 2002. Electron microscope and immunological evidence of nanobacteria I- like structures in calcified carotid arteries, aortic aneurysms and cardiac valves. *J Am Coll Cardiol Abstracts Book*. 1009-79: 206A.
- 139. Reidar F. Sognnaes.** Award for Research in Biological Mineralization. *J Dent Res* 46(6):1231-1232, 1967.
- 140. Ryan, M. E., S. Ramamurthy, and L. M. Golub.** 1996. Matrix metalloproteinases and their inhibition in periodontal treatment. *Curr. Opin. Periodontol.* 3:85-96.
- 141. Schulz H. N., B. B. Jorgensen.** 2001. Big bacteria. *Annu Rev. Microbiol.* 55:105-137.
- 142. Sears D. W., T. A. Kral.** 1998. Martian ?microfossils? in lunar meteorites? *Meteorit Planet Sci* 33(4):791-794.
- 143. Sedivy R., and W.B. Battistutti.** 2003. Nanobacteria promote cristallisation of psammome bodies in ovarian cancer. *APMIS III*. 951-4.
- 144. Selikowitz, S. M., and C. A. Olsson.** 1976. Effect of tetracycline on calcium oxalate calculi: in vivo and in vitro studies. *Investig. Urol.* 14:124-127.
- 145. Серадимов В.** Интерна медицина том II 1464 – 1472. Македонска ризница, Куманово 2003.
- 146. Shiekh FA., Khullar M., Singh SK.** 2006. Lithogenesis: induction of renal calcifications by nanobacteria. *Urological Research*. 34(1):53-7.
- 147. Simkiss K.** Bone and Biominerlization. 1975, Edward Arnold Publichers.
- 148. Soo Choi H, Liu W, Misra P, et al.** Renal clearance of quantum dots. *Nat Biotechnol.* 2007;10:1165–70.
- 149. Sommer, A. P., and E. O. Kajander.** 2002. Nanobacteria-induced kidney stone formation: novel paradigm based on the fermic model. *Crystal Growth & Design*. 2:563-565
- 150. Sommer A. P., H. I. Hassinen, E. O. Kajander.** 2002. Light-induced replication of nanobacteria: a preliminary report. *J Clin Laser Med Surg.* 20(5):241-244.

-
-
- 151.** Sommer, A. P., U. Oron, E. O. Kajander and A. R. Mester. 2002. Stressed cells survive better with light. *J. Proteome Res.* 1:475.
- 152.** Sommer A.P., A.M. Pretorius, E.O.Kajander, and U. Oron. 2004. Biomineralization induced by stressed nanobacteria. *Crystal Growth and Design.* 4(1):45-46.(52)
- 153.** Ставридис А. Калкулоза на уринарниот тракт. Матична библиотека "Искра" Кочани, 2003.
- 154.** Стојановски Ј., Димкова Љ. Генеза на дентиклите и претрага на калцификати во скелетот. 5 Конгрес стоматолога Југославије (зборник радова) Охрид, 1974 : 437 – 41.
- 155.** Streckfuss, J. L., W. N. Smith, L. R. Brown, and M. M. Campbell. 1974. Calcification of selected strains of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*. *J. Bacteriol.* 120:502-506.
- 156.** Tsuchuyama A. 1996, Meteoritics and mineralogy on possible ancient Martian life. *Biol. Sci. Space. (Japanese).* 10(4)262-270.
- 157.** Tsurumoto T., T. Matsumoto, A. Yonekura, and H. Shindo. 2006. Nanobacteria – Like Particles in Human Arthritic Synovial Fluids. *Journal of Proteome Research.* ASAP Article 10.1021.
- 158.** Туџаров Т. Плунковни жлезди и нивните заболувања, НИО Студентски збор, 1983. 64 – 72).
- 159.** Vaessen, C., T. Roumeguere, J. Simon, and C. Schulman. 1997. Medical treatment of ureteral calculi. *Acta Urol. Belg.* 65:19-22.
- 160.** Vali, H., M. D. McKee, N. Çiftcioglu, S. K. Sears, F. L. Plows, E. Chevet, P. Ghiasi, M. Plavsic, E. O. Kajander, and R. N. Zare. 2001. Nanoforms: a new type of protein-associated mineralization. *Geochim. Cosmochim. Acta* 65:63-74.
- 161.** Van Dijk, S., D. D. Dean, Y. Zhao, J. M. Cirgwin, Z. Schwartz, and B. D. Boyan. 1998. Purification, amino acid sequence, and cDNA sequence of novel calcium-precipitating proteolipids involved in calcification of *Corynebacterium matruchotii*. *Calcif. Tissue Int.* 62:350-358.
- 162.** Vainshtein M. B., E. B. Kudriashova. 2000. About nanobacteria. *Mikrobiologija (Russian).* 69(2):163-174.
- 163.** Васков И. Воспалителни процеси во максилофацијалната регија, Македонска академија на науките и уметностите, 2008. 171 – 200.
-
-

-
-
- 164. Wainwright, M.** 1999. Nanobacteria and associated 'elementary bodies' in human disease and cancer. *Microbiology* 145:2623-2624.
- 165. Wang W., Kirsch T.** Retinoic acid stimulates annexin-mediated growth plate chondrocyte mineralization. 1: *Cell Biol.* 2002 Jun 10 ; 157(6) : 1061-9. Epub 2002 Jun 3.
- 166. Wang L., Shen W., Wen J., An X., Cao L., Wang B.** An Animal Model of Black Pigment Gallstones Caused by Nanobacteria. *Digestive Diseases and Sciences*, Vol. 51:1126-32. No. 6 (June 2006).]
- 167. Waters, Elizabeth et al.** The Genome of Nanoarchaeum equitans : Insights into early archaeal evolution and derived parasitism. *PNAS* 100 (22) : 12984 – 12988, October 28, 2003.
- 168. Wen, Y., Y. G. Li, Z. L. Yang, X. J. Wang, H. Wei, W. Liu, X. Y. Miao, Q. W. Wang, S. F. Huang, J. Yang, Kajander, Ciftcioglu.** 2005. Detection of nanobacteria/nanoparticles in serum, bile, and gallblader mucosa of patients with cholezystolithiasis. *Chin Med J (Engl)*. 118(5):421-424.
- 169. Weil, Andrew.** The Best Nutrients for Stronger Bones. *Self Healing*. March, 2005. 4-5.
- 170. Wiessner, J. H., A. T. Hasegawa, L. Y. Hung, G. S. Mandel, and N. S. Mandel.** 2001. Mechanisms of calcium oxalate crystal attachment to injured renal collecting duct cells. *Kidney Int.* 59:637-644.
- 171. Wilk I., Martirosian G.** Nanobacteria—microbiological characteristics. *Hig Med Dosw (Online)*. 2004 Mar 3;58:60-4.
- 172. Wood H.M., Shoshes D.A.** 2006. The role of nanobacteria in urologic disease. *Journal of Urology* 24(1):51-4.
- 173. Wuthier RE.** Lipids of matrix vesicles. 1: *Fed Proc.* 1976 Feb;35(2):117-21.
- 174. Yamazoe T., Aoki K., Simokawa H., Ohya K., Takagi Y.** Gene expression of bone matrix proteins in a calcified tissue appeared in subcutaneously transplanted rat dental pulp. 1 : *J Med. Dent Sci.* 2002 Mar; 49 (1) : 57 – 66.
- 175. Zivanovic B.** Bolesti biljarnog stabla. Matica Srpska, 1983.
- 176. Zonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.** Isolation, cultivation and initial identification of Nanobacteria from dental pulp stone. 2006 Aug;41(8):498-501.