

UNIVERZITA KARLOVA
3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



Jakub Lajbner

Remineralizace zubní skloviny

Dental enamel remineralization

Bakalářská práce

Bachelor's thesis

Praha, duben 2024

Autor práce: Jakub Lajbner

Studijní program: Dentální hygiena (0911RP360002)

Bakalářský studijní obor: Dentální hygiena (BDHA)

Vedoucí práce: MDDr. Diana Kovářová

Pracoviště vedoucího práce: 3. LF UK

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci vypracoval samostatně a použil výhradně uvedené citované prameny, literaturu a další odborné zdroje. Současně dávám svolení k tomu, aby má závěrečná práce byla používána ke studijním účelům.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému Theses.cz a Turnitin za účelem soustavné kontroly podrobnosti závěrečných prací.

V Praze dne 30. dubna 2024

Jakub Lajbner

Poděkování

Mé veliké díky patří MDDr. Dianě Kovářové, RNDr. Janě Fauknerové, Bc. Markétě Riegerové, MUDr. Renatě Peterkové CSc. a RNDr. Miroslavu Hylišovi. Kdykoliv jsem potřeboval odbornou konzultaci ohledně teoretické části či konzultaci a pomoc s přípravou praktické části, tak mi velice rádi pomohli a ve všem mne podpořili.

Obsah	
Úvod	7
1. Teoretická část	8
1.1. Tvrdé zubní tkáně	8
1.1.1. Sklovina	8
1.1.2. Dentin.....	13
1.1.3. Zubní cement	13
1.2. Zubní kaz	13
1.3. Iniciální kariézní léze	16
1.3.1. Charakteristika iniciální kariézní léze	18
1.4. Demineralizace skloviny	19
1.4.1. Způsoby zabránění demineralizace	20
1.5. Remineralizace skloviny	21
1.5.1. Fluoridy ve vztahu k remineralizaci zubní skloviny	22
1.5.2. Nové remineralizační systémy.....	27
2. Praktická část	33
2.1. Cíl praktické části	33
2.2. Hypotézy.....	33
2.3. Metodika	34
2.4. Výsledky	41
2.5. Diskuse	88
Závěr	92
Souhrn	93
Summary	94
Seznam použité literatury	95
Knižní literatura	95
Webové zdroje	96
Seznam obrázků	103

Seznam koláží	108
---------------------	-----

Úvod

V dutině ústní probíhá neustále výměna různých látek, mezi které také patří kladně či negativně nabité ionty. Tyto ionty nás zajímají především z hlediska demineralizace a následné remineralizace zubní skloviny a jiných tvrdých zubních tkání.

Demineralizace zubní skloviny je proces, který probíhá neustále v dutině ústní především díky kyselinám vzniklým ze zubního mikrobiálního povlaku. Pokud pH klesne pod hodnotu 5,5; započne demineralizace skloviny a při tomto procesu se začínají postupně uvolňovat nejdříve OH^- anionty a poté Ca^{2+} kationty. Pokud dojde již k odvápnění skloviny, tak to může mít za následek vznik zubního kazu.

Tomuto jevu se dá do určité míry předcházet tím, že se pravidelně používají přípravky s obsahem F^- aniontů. Fluoridové anionty dokáží zvýšit odolnost skloviny proti působení kyselin a sklovina díky tomu odolává hodnotám pH do 4,5.

Pokud je překročena i tato hranice pH, dochází již k výraznějšímu odvápnění skloviny a v tomto případě je potřeba Ca^{2+} kationty zpětně sklovině dodávat pomocí preparátů obsahujících Ca^{2+} v různých sloučeninách.

Této problematice se bude věnovat má bakalářská práce, ve které bych chtěl srovnat jednotlivé přípravky a zjistit, které by byly schopny sklovinu efektivně remineralizovat.

1. Teoretická část

V teoretické části se zaměříme na tvrdé zubní tkáně, zubní kaz, iniciální kariézní lézi, demineralizaci a remineralizaci skloviny.

1.1. Tvrdé zubní tkáně

Mezi tvrdé zubní tkáně patří zubní sklovina, dentin a cement, které jsou nezbytnou součástí zubu, bez kterých by zub nebyl schopen v dutině ústní dlouhodobě existovat.

Jelikož se bakalářská práce nazývá „Remineralizace zubní skloviny“, tak se budu věnovat především sklovině, a dentin spolu se zubním cementem popíši pouze okrajově.

1.1.1. Sklovina

Sklovina je nejtvrdší tkáň lidského těla. Její tvrdost se pohybuje v rozmezí 250 – 390 KNH (Knoop-hardness numbers). Důvod takto velkého rozmezí je dán vývojem skloviny, kde v místech nejvíce zatěžovaných, kterými je například povrch skloviny, je nutné, aby sklovina odolávala co největšímu náporu žvýkacích sil, zatímco na dentino-sklovinné hranici jsou žvýkací síly menší, a proto nemusí být její tvrdost nikterak vyšší [1].

Sklovina kryje anatomickou korunku zubu. Na řezacích hranách a hrbolcích zubů dosahuje tloušťky až 2 – 2,5 mm. Na bočních stranách korunky se směrem ke krčku ztenčuje [2].

Tyto vlastnosti jsou dány mnoha faktory, mezi které patří například koncentrace jednotlivých prvků. Směrem od povrchu skloviny se koncentrace fluoru, železa, cínu, chlóru a vápníku snižuje až směrem k dentino-sklovinné hranici. Přímou na dentino-sklovinné hranici poté opět koncentrace určitých prvků, například fluoru, stoupá [1].

Barva zubní korunky pokryté sklovinou se nejčastěji pohybuje v rozmezí mezi bílou až žlutobílou. Toto je dáno rozličnou translucencí skloviny. Čím tenčí je sklovina, tím více prosvítá pod ní uložený žlutý dentin. Translucence taktéž závisí na míře kalcifikace skloviny a její homogenitě. Barva zubů může být rozdílná nejen

mezi jednotlivci, ale taktéž v rámci dané dentice jedince. Například korunka špičáku bývá často žlutější než korunky ostatních zubů [3].

Barva se může v průběhu života jedince neustále měnit. Důvodem je zvyšující se mineralizace skloviny, dentinu, nebo například také opotřebením skloviny atricí, abrazí, erozemi a podobně [3].

1.1.1.1. Vývoj skloviny

Sklovina je ektodermového původu a v průběhu vývoje je tvořena ameloblasty sklovinného orgánu. Ameloblasty vylučují sklovinou matrix, která postupně mineralizuje a vyzrává. Procesu mineralizace, během kterého dochází ke krystalizaci vápenato-fosforečných sloučenin a růstu krystalů, říkáme preeruptivní vyzrávání. Během tohoto jevu mezi krystaly zůstávají mikroporozity a iontové defekty [1][2].

Po prožezání zubu do dutiny ústní se tyto porozity a defekty vyrovnávají a zahlazují. Tomuto jevu se říká posteruptivní vyzrávání [1][2].

Poté již sklovina nepodléhá žádnému buněčnému reparačnímu mechanismu [1][2].

1.1.1.2. Chemické složení skloviny

Sklovina je složena převážně z anorganických prvků, molekul, látek či sloučenin. Hlavními složkami je již dříve zmíněný vápník, fosfor, hořčík, sodík a různé uhličitany. Tento anorganický materiál tvoří dohromady až 98 % hmotnosti skloviny [1][4].

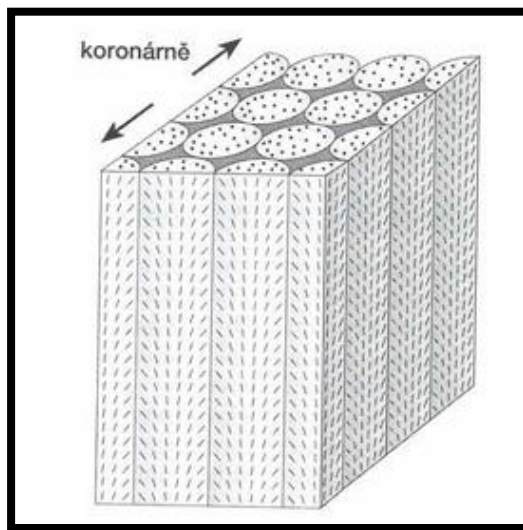
Ve sklovině je také obsažena v přibližně 1 % hmotnosti voda. Ve sklovině se vyskytuje ve dvou formách. Jedna forma je vázána na krystalech hydroxyapatitu a působí jakožto hydratační obal. Druhá forma je volná a váže se převážně na organické látky. Druhá forma se taktéž může při zahřátí vypařit, nebo je naopak sklovina schopná ve vlhkém prostředí ztracenou vodu přijímat [1][4].

Organická složka tvoří taktéž přibližně 1 % hmotnosti skloviny. Skládá se z různých bílkovin, díky kterým jsou sklovinná prizmata obalena tenkou vrstvou afibrilních heterogenních proteinů, zvané amelogeniny a enameliny [1][4].

1.1.1.3. Struktura skloviny

Ve sklovinné matrix má největší zastoupení molekula již dříve zmíněného hydroxyapatitu, dále označován jako HA - chemicky $\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$, který tvoří krystalickou strukturu a pojí se ve větší hranoly o stovkách jednotlivých molekul HA (viz obrázek 1) [4].

Obrázek 1 Schématické znázornění hydroxyapatitových hranolů ve sklovinných prizmatech

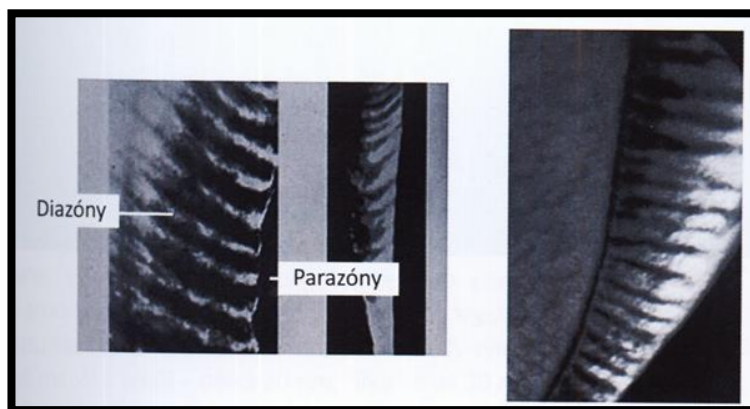


Zdroj: HELLWIG, Elmar; ATTIN, Thomas a KLIMEK, Joachim. *Záchovná stomatologie a parodontologie*. Praha: Grada, 2003. ISBN 80-247-0311-4.

Tyto hranoly jsou schopny tvořit takzvaná sklovinná prizmata. Tato prizmata sahají od dentino-sklovinné hranice až téměř k povrchu skloviny. Průběh prizmat je esovitý, díky čemuž dokáže sklovina být taktéž pružná a předchází lámání krystalů [4].

Díky průběhu prizmat můžeme pozorovat optický jev na výbrusu skloviny pomocí polarizačního světla a mikroskopu. Tento optický jev dělí sklovinná prizmata na podélné parazóny, které jsou světlé a příčné diazóny, které jsou tmavé (viz obrázek 2). Těmto zónám se taktéž říká Hunter-Schregerovy pruhy. Úhel parazón a diazón svírá přibližně 40 stupňů. Toto uspořádání dokáže výrazně zvýšit odolnost skloviny při mechanickém zatížení [4].

Obrázek 2 Fotografie Hunter-Schregerových pruhů z mikroskopu



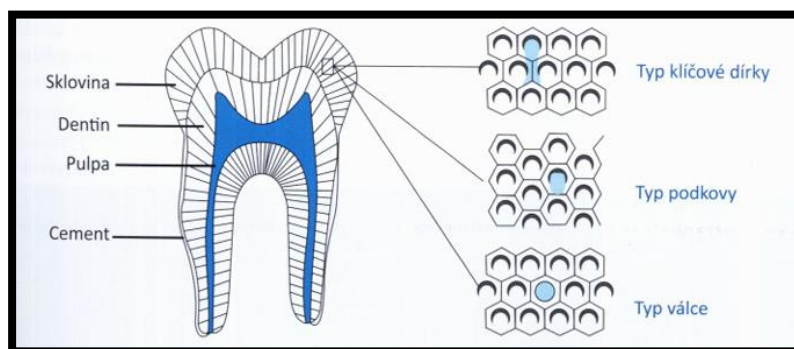
Zdroj: MINČÍK, Jozef. *Kariologie*. Praha: StomaTeam, 2014. ISBN 978-80-904377-2-2.

Čím dále jsou krystaly směrem od dentino-sklovinné hranici k povrchu zubu, tím více se vějířovitě rozevírají a jejich osy svírají s osou prizmatu větší či menší úhel [4].

Při prosvícení světelným mikroskopem lze také vidět Retziusovy pruhy, které jsou optickým vyobrazením klidových fází ameloblastů během tvorby skloviny. Ty jsou většinou v důsledku těchto fází hypomineralizovány [1].

Prizmata mohou mít na průřezu tři základní typy tvaru. Tvar klíčové dírky, tvar podkovy nebo tvar válce (viz obrázek 3) [4].

Obrázek 3 Schématické znázornění tvarů svazků prizmat



Zdroj: HELLWIG, Elmar; ATTIN, Thomas a KLIMEK, Joachim. *Záchovná stomatologie a parodontologie*. Praha: Grada, 2003. ISBN 80-247-0311-4.

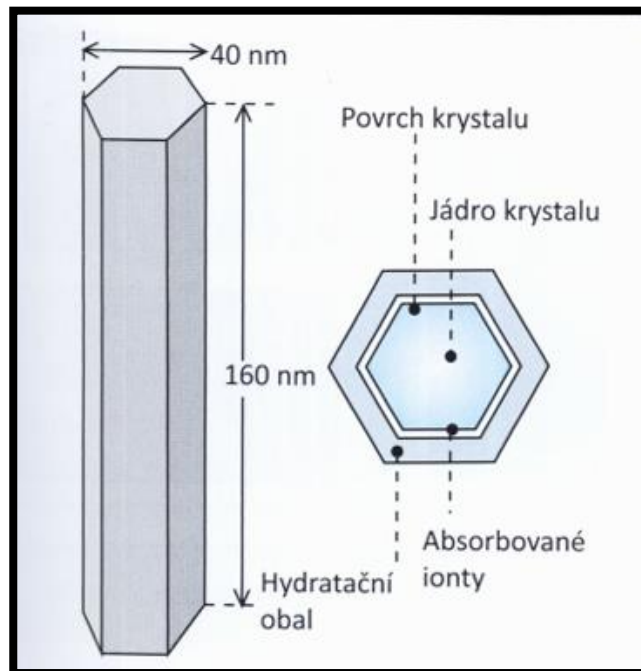
Na povrchu korunky dočasných zubů a v gingivální třetině stálých zubů se nachází přibližně 20 – 30 mm silná vrstva aprizmatické skloviny. Zde jsou krystaly velmi hustě uspořádány směrem kolmo vůči povrchu skloviny [1][3].

1.1.1.4. Histologická struktura skloviny

Apatitové krystaly skloviny jsou na průřezu šestihorné. Jsou přibližně 160 nm dlouhé, 40 – 70 nm široké a 26 nm silné (viz obrázek 4). Tvar a velikost se může lišit v závislosti na stupni zralosti skloviny a umístění krystalů ve sklovinném plášti [1].

Všechny krystaly mají hydratační obal a jsou obaleny vrstvou bílkoviny a lipidů. Prizmata jsou zalita v interprizmatické substanci, která se taktéž skládá z krystalů HA. Tyto krystaly jsou uloženy neuspořádaně a svírají s osou prizmatu úhel přibližně 90° [1].

Obrázek 4 Schématické znázornění krystalu hydroxyapatitu



Zdroj: HELLWIG, Elmar; ATTIN, Thomas a KLIMEK, Joachim. *Záchovná stomatologie a parodontologie*. Praha: Grada, 2003. ISBN 80-247-0311-4.

1.1.2. Dentin

Dentin neboli zubovina, je na rozdíl od skloviny živá, méně mineralizovaná tkáň. Je velmi elastický a oproti sklovině je také měkčí. Má specifickou nažloutlou barvu, která do jisté míry určuje přírodní zbarvení zubů. K tomuto jevu dochází v případě, že je tenčí vrstva skloviny a dentin pod ní prosvítá. Taktéž se toto může projevit u jiných onemocnění zubů, která mohou být vrozená, léky podmíněna a podobně [1].

1.1.3. Zubní cement

Zubní cement se nachází v oblasti kořene zubu a pokrývá jeho vnější část. Svou strukturou je ze zmíněných tvrdých zubních tkání nejvíce podobný lidské kosti. Jeho tvrdost se pohybuje přibližně okolo 30 – 50 KNH [1].

Cement je součástí závěsného aparátu zubu, a tím pádem nepůsobí pouze jakožto ochrana dentinu, ale taktéž se do něj upínají jednotlivé parodontální vazy. Díky tomuto uchycení parodontálními vazy je schopen zub být nejen pevně, ale taktéž pružně fixován v alveolu [1].

Cement taktéž tvoří společně se sklovinou cemento-sklovinnou hranici. Tato hranice může být u různých zubů odlišná. V základu můžeme pozorovat tři možnosti, při kterých na sebe sklovina s cementem navazuje či nikoliv [1].

V 60 % případů cement z části překrývá cervikální část skloviny. V 30 % případů na sebe cement a sklovina přímo navazují a pouze v 10 % se cement se sklovinou vůbec nedotýkají – v tomto případě můžeme pozorovat vrozenou dentinovou hypersenzitivitu, jelikož je dentin odhalený a poté mohou být zuby citlivé například na tepelné, osmotické nebo mechanické vlivy [1].

1.2. Zubní kaz

Pro vznik zubního kazu je popisováno již mnoho teorií. Mezi všemi teoriemi je nejčastěji popisována a celosvětově uznávána Chemoparazitární teorie, která byla původně představena Willoughby Dayton Millerem a s odstupem času byla rozšiřována o nové informace dalšími výzkumníky [1].

Chemoparazitární teorie popisuje vznik zubního kazu ve spojení s metabolickou aktivitou zubního mikrobiálního povlaku, přesněji bakterií v něm obsažených. Tyto bakterie mohou při dostatku kariogenního substrátu, především jednoduchých sacharidů, produkovat organické kyseliny. Tyto kyseliny v kontaktu s povrchem zubu dokáží po určitém čase demineralizovat tvrdé zubní tkáně a tím způsobem umožnit průnik bakteriím do hlubších struktur dané tkáně [1][4].

Zubní mikrobiální povlak, dále označován jako zubní plak, můžeme rozdělit na supragingivální a subgingivální. Supragingivální zubní plak se nejčastěji nachází na místech habituálně nečistých. Mezi tato místa se řadí fisury vícehrbolkových zubů, jamky, proximální plošky zubů, cervikální třetina korunek zubů a v případě ústupu závěsného aparátu i obnažené plochy kořenů zubů. Subgingivální zubní plak se nachází ve fyziologickém sulcus gingivalis, případně v parodontální kapse při onemocnění parodontu [1].

Vznik zubního kazu neovlivňuje pouze zubní plak, strava a čas, jak bylo již dříve zmíněno, ale také řada dalších faktorů, které jsou nazývány sekundární faktory. Tyto faktory se přímo neúčastní na vzniku zubního kazu, ale napomáhají k jeho vzniku a rozvoji nepřímo. Mezi sekundární faktory pro vznik zubního kazu patří například hodnota pH v ústech, pufrční kapacita sliny, množství sliny, kvalita sliny, četnost příjmu potravin, imunitní obrana, postavení zubů, nevhodně upravené výplně nebo dysplazie zubů [1].

1.2.1.1. Vývoj zubního mikrobiálního povlaku

Prvním stádiem vývoje zubního plaku je tvorba získané pelikuly, která má tloušťku od přibližně 0,1 – 1 μm . Pelikula vzniká především z proteinů sliny, mezi které patří nejčastěji sérové proteiny, enzymy nebo například imunoglobuliny. Díky svému náboji se dokáží vázat na HA tvrdých zubních tkání, a tak ulpívá na površích zubů. Pelikula dokáže zajistit výměnu různých látek mezi zuby a dutinou ústní. Taktéž má funkci ochrany a zvlhčovací, čímž zuby chrání například proti abrazím, atriciím, erozím a demineralizacím [1][4].

Druhým stádiem je časná kolonizace. V tomto stádiu se na pelikulu navazují nejdříve G+ koky, mezi které patří především *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* a aktinomyceety. Toto stádium může trvat až 14 dní. Takto vyzrálý plak je velmi hustě osídlen mikroorganismy, které tvoří až 70 % jeho objemu. V případě, že je plak již vyzrálý, odpadají samočišťovací schopnosti dutiny ústní a musíme jej odstranit mechanicky pomocí pomůcek pro ústní hygienu [1][4].

Třetím stádiem je pozdní kolonizace. Během tohoto stádia se na zubní plak adherují další mikroorganismy, které se na sebe dokáží vzájemně přímo navázat, čímž plak nabývá na tloušťce. Díky tomuto začínají v hlubších strukturách plaku převažovat spíše anaerobní mikroorganismy, které jsou pro tvrdé zubní tkáň již vysoce kariogenní, případně pro závěsný aparát zubu parodontopatogenní [1][4].

1.2.1.2. Bakterie přítomné v plaku

Pro vznik zubního kazu jsou nejdůležitější především bakterie rodu *Streptococcus mutans*, jak bylo dříve již zmíněno. Tyto bakterie mají schopnost vytvářet extracelulární polysacharidy, dále ECP, za přítomnosti cukrů v dutině ústní. Díky ECP jsou schopny se pevně adherovat na povrch zubu. Díky glykolýze sacharidů dokáží tvořit organické kyseliny, mezi které patří například laktát nebo pyruvát. Tyto kyseliny jsou zodpovědné za následnou demineralizaci skloviny. Taktéž jsou schopné vytvářet intracelulární polysacharidy, dále ICP, které fungují pro danou bakterii jakožto rezervní zásoba v době, kdy je nedostatečný přísun živin člověkem. Výhodou těchto bakterií je, že dokáží vydržet v prostředí při nízkém pH (pH < 5,5) díky své schopnosti aktivně transportovat kyseliny proti koncentračnímu gradientu [4][5][6][7].

Ačkoliv víme, že *Streptococcus mutans* je hlavním rodem bakterií, které způsobují vznik zubního kazu, tak nejsou jediné, které jsou považovány za kariogenní. Další bakterie, které mohou způsobovat vznik zubního kazu jsou například *Streptococcus sobrinus*, *crictetus*, *rattus* a také laktobacily, aktinomyceety a další [4][5][6][7].

1.3. Iniciální kariézní léze

Kyseliny tvořené zubním mikrobiálním povlakem způsobují vznik povrchových erozí a demineralizací. Tento jev je reverzibilní, a proto tyto demineralizace během několika hodin přirozeně remineralizují [4].

Při dlouhodobém působení demineralizačních dějů můžeme sledovat na povrchu skloviny opákní zbarvení léze, které se postupem času mohou měnit na hnědé lesklé léze. Hnědá lesklá léze naznačuje zastavenou iniciální kariézní lézi. Přeměna opákní, křídovité zbarvené léze na hnědou je způsobena remineralizačními fázemi, během kterých se do struktur skloviny ukládají barviva z potravin, čajů, vína, kávy a podobně. Oba dva typy těchto lézí se nejeví pouhou aspekci, ani světelně-mikroskopicky jako kavitované [1][4].

Povrch skloviny je v této fázi porézni, díky čemuž mohou bakterie lépe pronikat do hlubších vrstev skloviny. Hydratační krystaly HA zde fungují jako difúzní kanálky pro průnik kyselin. Poté, co kyseliny proniknou interprizmatickými prostory, postupně difundují a vodíkové ionty napadají krystaly HA, ze kterých se uvolňují CO_3^{2-} , Ca^{2+} , OH^- , PO_4^{3-} , F^- , Na^+ , CO_3^{2-} a Mg^{2+} ionty. Tyto ionty se nadále váží na molekuly vody v okolí krystalů a směrem po koncentračním gradientu difundují na povrch skloviny a do plaku (viz obrázek 5) [4].

„Pro počínající kaz je typické, že povrchová vrstva skloviny o hloubce přibližně 20-50 μm zůstává dobře mineralizována, ale v podpovrchové vrstvě dochází ke ztrátě minerálů, zejména kalcia a fosfátů“ [6].

V kazivé lézi skloviny můžeme rozeznávat čtyři následující zóny. Povrchovou zónu, tělo léze, tmavou zónu a translucenční zónu (viz obrázek 5) [4][6].

- **Povrchová zóna**

Tato zóna je přibližně 30 μm silná a odděluje tělo léze od pelikuly a plaku. Je zde přítomna přibližně 5 % ztráta minerálů a je tvořena vápenatými a fosfátovými ionty ze slin a tekutin plaku. Navenek se jeví jakožto intaktní vrstva,

ale obsahuje hojné množství kanálků, přes které mohou probíhat remineralizační i demineralizační procesy. Slouží také jako ochranná bariéra proti pronikání bakterií. Pokud pronikne kaz do dentinu, může tato zóna oslábnout a vzniká kavitace [4][6].

- **Tělo léze**

Tělo léze je největší částí kazu a jeho pórovitost je v rozmezí mezi 5 – 50 % směrem od periferie do centra těla léze. Retziusovy pruhy zde zůstávají zachovány, a jsou také viditelné obrysy sklovinných prizmat. V této zóně můžeme nacházet velice výrazné ztráty minerálů a bakterie, které pronikají interprizmatickými prostory do hlubších vrstev skloviny [4][6].

Taktéž lze pozorovat střídání demineralizovaných a remineralizovaných mikrovrstev, které svědčí o neustálém střídání obou procesů [4].

- **Tmavá zóna**

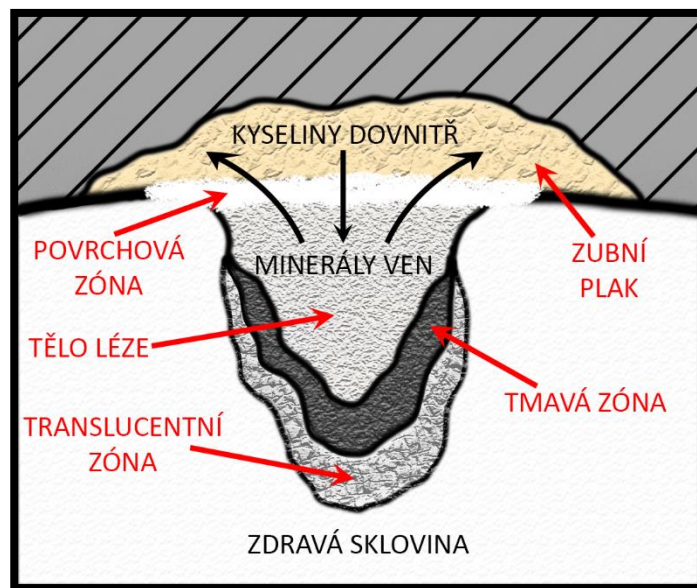
Důvodem, proč se nazývá tato zóna tmavou je díky její nepropustnosti světla. Za tento jev může obsah vzduchu v pórech. Objem pórů ve tmavé zóně je přibližně 2 – 4 %. Dochází zde k částečné remineralizaci kazu a u stagnujících kazů je tato zóna nápadně širší [4].

- **Translucentní zóna**

Translucentní zóna je uložena nejhlouběji, pod tmavou zónou, a je v přímém kontaktu se zdravou sklovinou. Není vždy přítomna u všech sklovinných lézí a ve světelném mikroskopu ji můžeme vidět přibližně u 50 % sklovinných kazů [4].

Objem pórů v této zóně se pohybuje okolo 1 % jejího objemu. Ve srovnání se zdravou sklovinou to představuje přibližně desetinásobek objemu pórů [4].

Obrázek 5 Schématické znázornění iniciální kariézní léze



Zdroj: Archiv autora

1.3.1. Charakteristika iniciální kariézní léze

„První klinicky detekovatelné stádium zubního kazu je takzvaná podpovrchová léze skloviny, krytá ještě dobře mineralizovanou vrstvou, o tloušťce asi 20 – 30 μm , pod kterou je lokalizována vlastní léze s největší ztrátou minerálů“ [6].

Toto poškození sahá přibližně do hloubky 300 μm a ztráta minerálů způsobuje nejen větší porozitu skloviny, ale taktéž bělavé zbarvení léze a ztrátu translucence. V tomto případě stále zůstává povrch léze hladký a lesklý [6].

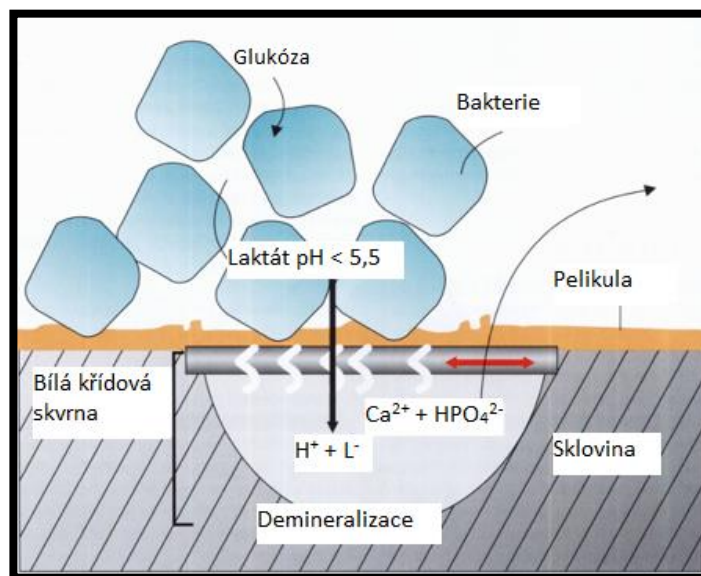
Po prvním klinickém stádiu můžeme sledovat překlenutí do druhého klinického stádia, ve kterém dochází k rozšiřování těla iniciální kariézní léze. Toto má za následek, že tělo léze začne postupně zasahovat do hlubších vrstev skloviny. Během tohoto jevu dochází taktéž k rozsáhlejším ztrátám minerálů, které způsobují následné křídovité zbarvení povrchní vrstvy iniciální kariézní léze. Tato vrstva přestává být lesklá a stává se matnou. Při vyšetření sondou je povrch této léze oproti okolní intaktní sklovině drsnější [6].

1.4. Demineralizace skloviny

Ve sklovině se dlouhodobě převažující demineralizace projevují jako mléčně zbarvené, křídové skvrny. K tomuto jevu dochází díky tomu, že sklovina ztrácí svou přirozenou transparentci díky postupnému uvolňování vápenatých a fosforečných iontů [2].

Demineralizaci způsobuje především zubní plak. Pokud se plak rozrůstá a kariogenní mikroorganismy začnou převažovat, začne plak účinně bránit přístupu sliny k povrchu skloviny a čím silnější je vrstva plaku, tím více se v něm tvoří kyseliny. Pod silnou vrstvou plaku tak mají kyseliny více času penetrovat do skloviny (viz obrázek 6) [2].

Obrázek 6 Schématické znázornění mechanismu vzniku demineralizace v důsledku působení kyselin z plaku



Zdroj: MINČÍK, Jozef. *Kariologie*. Praha: StomaTeam, 2014. ISBN 978-80-904377-2-2.

Bakterie, mezi které se řadí především již dříve zmíněný *Streptococcus mutans* nebo *Lactobacillus acidophilus*, tvoří organické kyseliny, nejčastěji kyselinu mléčnou, která se rozpouští za vzniku laktátu a protonů. Nízké pH následně rozpouští krystaly HA na jednotlivé stavební ionty, mezi které se řadí Ca^{2+} , PO_4^{3-} , OH^- , Mg^{2+} a CO_3^{2-} . Poté, co je kyselina neutralizována, dochází k jevu, kdy se ionty Mg^{2+} a CO_3^{2-} ztrácejí, a F^- vstupuje do remineralizujících se krystalů,

ve kterých nahrazuje hydroxylovou (OH^-) skupinu. Díky tomuto vzniká fluoroapatit [5].

Pokud již vznikla demineralizace na povrchu skloviny, tak je velmi pravděpodobné, že se odstraní rozpustné prvky (Mg^{2+} a CO_3^{2-}), díky čemuž kyselina proniká do podpovrchových vrstev bez většího poškození povrchové vrstvy bohaté na fluor, která je oproti kyselinám značně odolnější. Tato bariéra poté může působit proti rozpouštění vápníku a fosfátů. Tímto je ztráta iontů zpomalena a dochází k zabudování kalcium-fosfátových iontů [5].

Po vytvoření takto mineralizované povrchové vrstvy dochází k stále hlouběji se dostávající demineralizaci podpovrchové vrstvy, díky čemuž můžeme jednotlivé zóny s různou porozitou velice snadno oddělit [5].

1.4.1. Způsoby zabránění demineralizace

Máme mnoho způsobů, kterými můžeme zabránit demineralizaci skloviny a řadí se mezi ně například neutralizace kyselin v plaku, zlepšení ústní hygieny, použití lokálních biocidů, stimulace tvorby slin a také lokální aplikace fluoridů.

- **Neutralizace kyselin v plaku**

Neutralizace kyselin lze dosáhnout dodáním pufrů (látek udržující hladinu pH), jako je například zažívací soda – hydrogenuhličitan, která dokáže podpořit neutralizační schopnosti sliny [5].

- **Zlepšení ústní hygieny**

Díky zlepšení úrovně ústní hygieny dokážeme snížit počet mikroorganismů v dutině ústní. Tím, že mechanicky setřeme zubní plak z daných povrchů v dutině ústní zapříčiníme, že vrstva plaku nemá možnost nabývat výrazněji na tloušťce, díky čemuž se slina dostane lépe k povrchu zubu a následně jej remineralizuje pomocí iontů obsažených ve slině [5].

- **Použití lokálních biocidů**

V dutině ústní můžeme snížit počet mikroorganismů nejen cestou mechanické očisty, ale taktéž cestou chemickou. K tomuto nám napomáhají látky typu chlorhexidin, xylitol, ozón a podobně. Tyto látky mají především bakteriostatický a baktericidní účinek [5].

- **Stimulace tvorby slin**

Díky slině jsme schopni přirozenou cestou výrazně snížit množství kariogenních bakterií, nebo případně působit proti vzniku kazu. Slina obsahuje složky, kterými jsou například: pufry (látky napomáhající neutralizaci kyselin), minerály, antimikrobiální enzymy, protilátky a další [5].

- **Lokální aplikace fluoridů**

Aplikace fluoridů na plošky zubů dokáže značně posunout odolnost povrchu zubu proti působení kyselin. K tomuto dochází díky mechanismu, při kterém se fluoridy zabudovávají do struktury skloviny a namísto HA $\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$ vzniká fluoroapatit $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$, který dokáže posunout hranici odolnosti skloviny vůči působení kyselin z přibližně z $\text{pH} = 5,5$ na $\text{pH} = 4,5$ [5].

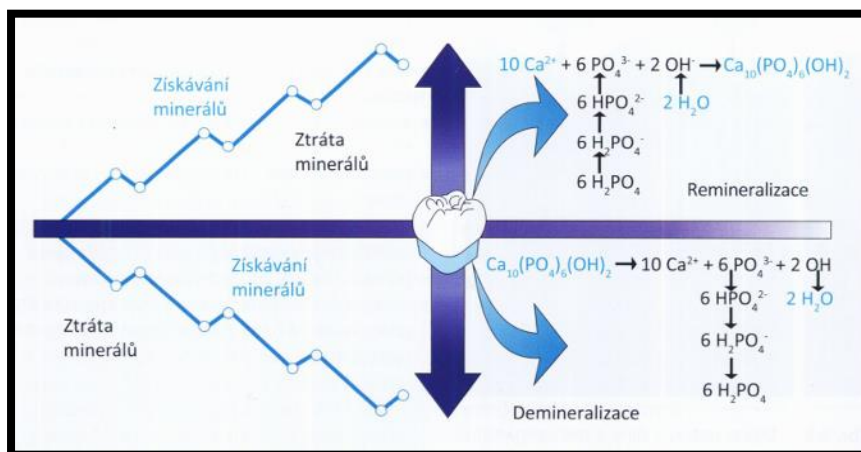
1.5. Remineralizace skloviny

Remineralizace skloviny je dynamický děj probíhající neustále v dutině ústní (viz obrázek 7), při kterém dochází k nahrazování demineralizovaných částí skloviny. Během remineralizace dochází k přijímání především vápenatých a fosforečných iontů do povrchových i hlubších struktur skloviny [8][9].

V dutině ústní napomáhá remineralizaci skloviny především slina. Slina má nejen schopnost napomáhat neutralizaci pH v dutině ústní, ale také obsahuje ionty nutné k remineralizaci skloviny, mezi které se řadí například fluoridové, vápenaté a fosfátové ionty [10].

Také můžeme napomáhat při remineralizaci skloviny dodáváním fluoridových, vápenatých či fosfátových iontů pomocí různých preparátů, zubních past, ústních vod, fluoridových gelů a dalších podobných produktů [8].

Obrázek 7 Schématické znázornění dynamického procesu mezi demineralizací a remineralizací zubní skloviny



Zdroj: MINČÍK, Jozef. *Kariologie*. Praha: StomaTeam, 2014. ISBN 978-80-904377-2-2.

1.5.1. Fluoridy ve vztahu k remineralizaci zubní skloviny

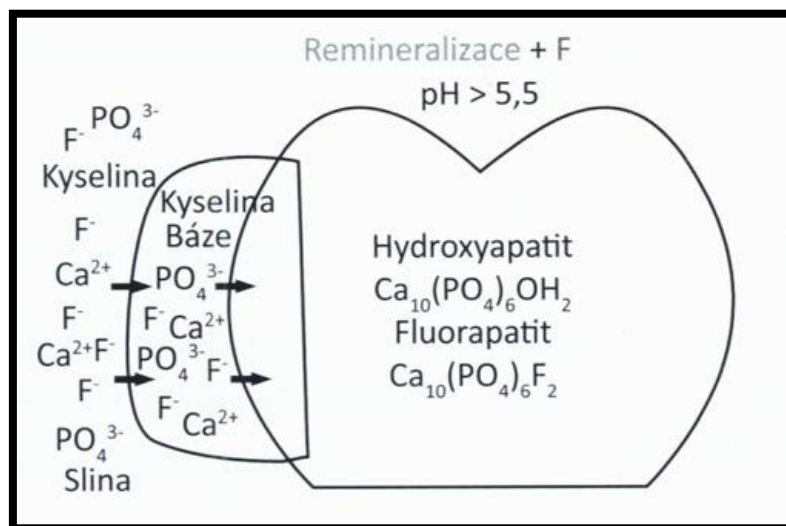
Fluoridy obsažené ve slinách mají především tři hlavní funkce. Mezi ně se řadí prevence demineralizace skloviny, podpoření remineralizace skloviny a snížení schopnosti reprodukce bakterií v dutině ústní [11].

Remineralizační schopnost sliny ale není dostačující při každodenním životě, a proto je nutno dodávat fluoridové, vápenaté a fosfátové ionty i z vnějších zdrojů [12].

Při pravidelném dodávání fluoridů do dutiny ústní bylo zjištěno, že má za následek velice výrazný pokles prevalence vzniku demineralizací a kariézních lézí již od druhé poloviny 20. století. Tento jev lze sledovat díky tomu, že krystaly vzniklého fluoroapatitu jsou odolnější vůči působení kyselin. HA odolává kyselému prostředí do pH = 5,5. Fluoroapatit dokáže odolávat kyselému prostředí až do pH = 4,5, jak bylo již dříve zmíněno [5][8][10].

Pokud jsou fluoridové ionty přítomny ve vodné fázi v okolí skloviny, dochází k jejich navázání na povrch krystalů HA (viz obrázek 8), které jsou následně odolnější vůči demineralizačním dějům. Zároveň dokáží tvořit již dříve zmíněné nové krystaly fluoroapatitu, které jsou větší a stabilnější [4].

Obrázek 8 Schématické znázornění remineralizace zubní skloviny po aplikaci fluoridových iontů a následná tvorba fluoroapatitu



Zdroj: MINČÍK, Jozef. Kariologie. Praha: StomaTeam, 2014. ISBN 978-80-904377-2-2.

Pokud pH kyselin tvořených zubním plakem klesá, rozpustnost krystalů HA výrazně narůstá a vzniká iniciální kariézní léze. Díky odolnosti fluoroapatitu zůstává udržena integrita povrchové vrstvy iniciální kariézní léze, která je neustále obohacována o fluoridové ionty ze stravy, zubních past a podobně, jak bylo již dříve zmíněno. Tato vrstva průběhem času nabývá na síle a je tím pádem i odolnější vůči následujícímu působení kyselin bakterií [7].

Povrchová vrstva je oproti okolní zdravé sklovině daleko bohatší na fluoridové ionty a při pH v rozmezí 4,0 – 5,6 brání dalšímu rozpouštění těla léze. Pokud není povrchová vrstva narušena, zbylé tři zóny iniciální kariézní léze zůstávají bez navýšené koncentrace fluoridových iontů [7].

Pokud bude proces demineralizace dlouhodobě pokračovat, tak začnou kyseliny postupně difundovat cestou podél sklovinných prizmat do hlubších vrstev iniciální kariézní léze a díky tomu ji i nadále rozšiřovat [7].

Důvod zvýšené stability krystalů fluoroapatitu je elektronegativita fluoru. Fluor je neelektronegativnější prvek v periodické soustavě prvků a z tohoto důvodu vytváří velmi silné vodíkové vazby s hydroxylovými a fosfátovými skupinami v HA krystalech. K tomuto jevu dochází především při vývoji a expozici skloviny kyselinám [5].

Fluor dokáže remineralizaci podpořit nejen zvýšenou odolností krystalů vůči kyselinám, ale také se při jeho navázání na krystaly HA uvolňují hydroxylové skupiny, které dokáží neutralizovat kyseliny za vzniku vody. Tím pádem má pozitivní vliv na hodnoty pH, které díky tomuto jevu postupně narůstají [5].

Preventivní efekt fluoridace závisí nejvíce na frekvenci přijímání a aplikace fluoridů. Můžeme tedy pozorovat výrazné snížení výskytu demineralizací, pokud budou fluoridy dodávány pravidelně a dlouhodobě. Také záleží na lokalizaci remineralizované plochy. Nejméně fluoridovaná místa jsou především fisury, jamky a aproximální plochy zubů [4].

Při nadbytečném příjmu fluoridů můžeme pozorovat určité riziko vzniku dentální fluorózy. Dentální fluoróza je narušení krystalické struktury skloviny, při kterém dochází k výraznému zabudování fluoridových iontů a zvýšení porozity povrchu skloviny. Takto narušená sklovina se projevuje opákními skvrnami na povrchu zubů. Vznik fluorózy je nejrizikovější v době zrání skloviny neboli po prořezání zubu do dutiny ústní po následující 3 roky [5][13][14].

Z tohoto důvodu existují omezení pro koncentrace fluoridů v zubních pastách. U dospělých jedinců se uvádí maximální povolená hodnota 1500 ppm F⁻ a u dětí do 6 let je maximální hodnota 1000 ppm F⁻ [13][14][15].

Dříve byla tato hodnota u dětí do 6 let omezena pouze na 500 ppm F⁻, jelikož byla nejen u nás, ale také ve většině vyspělých států zavedena fluoridovaná pitná voda. Z tohoto důvodu byl systémový příjem fluoridů výraznější než v současnosti. Zároveň je také u dětí do 6 let vysoké riziko polknutí zubní pasty a jeho následná systémová distribuce do tvrdých zubních tkání a kostí, což mělo za následek daleko vyšší riziko vzniku dentální fluorózy. Zároveň se ukázalo, že koncentrace 500 ppm F⁻ neměla výrazný efekt na ochranu tvrdých zubních tkání.

Z tohoto důvodu se raději odstoupilo od fluoridované pitné vody a zvýšila se koncentrace fluoridových iontů v zubních pastách na 1000 ppm F⁻, jak bylo již dříve zmíněno [13][14][15][16].

Fluoridy můžeme přijímat nejen v zubních pastách, ale také ve fluoridových gelech, mléce, fluoridované kuchyňské soli, tabletách a podobně. Existují také fluoridové laky, které se řadí mezi profesionální přípravky, které by měl aplikovat na povrch zubu pouze zubní lékař / lékařka nebo dentální hygienista / hygienistka [5].

1.5.1.1. Negativní efekt vysokých koncentrací fluoridů na remineralizaci iniciální kariézní léze

Ačkoliv jsou fluoridové preparáty jednou z nejvyužívanějších metod pro remineralizaci iniciální kariézní léze, tak je nutno podotknout, že při vysokých koncentracích se neustálým vázáním fluoridů na povrchovou vrstvu iniciální kariézní léze tvoří bariéra blokující póry ve sklovině. Toto má za následek náročnější výměnu iontů mezi povrchem skloviny a tělem léze, způsobující celkové zhoršení podmínek pro remineralizaci hlubších zón iniciální kariézní léze. Z tohoto důvodu je snaha vynalézt takový preparát, který by byl schopen nejen tvořit ochrannou bariéru na povrchové vrstvě, ale zároveň remineralizovat i do hlubších zón léze [17][18][19].

1.5.1.2. Formy fluoridů

Mezi nejčastější formy fluoridů se řadí především fluorid sodný – NaF, fluorid cínatý – SnF a aminfluoridy - AmF [20].

Fluorid sodný je nejčastěji využívanou formou fluoridů. Hlavním důvodem je jeho rychlé rozpuštění ve slinách a jeho následné navázání na tvrdé zubní tkáň. Zároveň dokáže ovlivnit metabolismus bakterií, jako jsou například *Streptococcus mutans* a *Lactobacillus acidophilus*, tím že inhibuje jejich enzymatické aktivity [6][21][22].

Fluorid cínatý je opět velice dobře rozpustný a zároveň má výborné bakteriostatické a baktericidní účinky. Oproti fluoridu sodnému je také schopen

reagovat s fosforečnany a zpomalovat díky tomu proces demineralizace. Jeho nevýhodou oproti ostatním formám fluoridů je jeho zabarvování tkání, na které se váže [6][23].

Aminfluoridy jsou oproti fluoridu sodnému a fluoridu cínatému organickou formou fluoridů. Jsou vysoce reaktivní a mají schopnost uvolňovat fluoridové ionty nejen na povrch zubu, ale zároveň i do sliny a plaku. Zároveň dokáží odolávat poklesům pH a díky tomu jsou dlouhodobějším zdrojem fluoridů oproti předchozím dvěma zmíněným formám [6].

1.5.1.3. Toxický účinek fluoridů

Za mnoho let aktivního používání a sledování účinků fluoridů se zjistilo, že při zvýšeném příjmu mají negativní vliv na lidský organismus. Mezi tyto vlivy se řadí především akutní toxicita a chronická toxicita [5][7].

Akutní toxicita nastává při požití více než 1 mg fluoridů na kilogram tělesné váhy jedince. U jedince se může projevit například jako nauzea a zvracení. Letální dávka se pohybuje okolo 15 mg/kg tělesné váhy dospělého jedince a u dětí je tato dávka přibližně 5 mg/kg tělesné váhy. Při přijetí takto vysoké dávky hrozí velmi vysoké riziko úmrtí. Pokud se zjistí, že jedinec pozřel takové množství fluoridů, je nutno okamžitě zahájit léčebná opatření, jako je například laváž žaludku. Pro představu uvedeme dítě ve věku 5 let o hmotnosti 20 kilogramů, které pozřelo 60 – 70 ml zubní pasty s obsahem 1500 ppm F⁻. Takto vysoká dávka by mohla být pro dítě letální [5][7].

Dlouhodobý příjem nadměrného množství fluoridů může vést k chronické toxicitě. Chronická forma se může projevit bolestmi kloubů a kostními poruchami, které jsou mnohdy těžko rozpoznatelné a v případě vyloučení jiných onemocnění by měl být jedinec odeslán na specializované pracoviště zaměřující se na toxicitu fluoridů [5][7].

1.5.2. Nové remineralizační systémy

V dnešní době se začíná přistupovat k remineralizačním systémům, které nehovoří pouze o samotných fluoridech, jakožto účinné složce, ale také o systémech, které dokáží do jisté míry posílit tělo kariézní léze pomocí například vápenatých či fosforečných iontů. Do nových remineralizačních systému se řadí například biomimetické peptidové systémy, které dokáží působit jako lešení a tím posílit již destruovanou část skloviny; nebo také vápenato-fosfátové systémy, které dokáží dodávat ionty do hlubších struktur léze [12].

1.5.2.1. Biomimetické systémy

Biomimetické systémy se snaží napodobit původní strukturu dané tkáně. V našem případě se jedná o zubní sklovinu. Tyto systémy nahrazují poškozenou, demineralizovanou tkáň tím způsobem, že se dané molekuly, jako je například HA, nanohydroxyapatit (dále jen nHA) nebo fluorohydroxyapatit (dále jen fHA) dostávají do místa demineralizace a zaplňují probíhající nebo již vzniklé defekty [12].

- **Hydroxyapatit, nanohydroxyapatit**

Systémy obsahující HA jsou bohaté na vápenaté a fosforečné ionty, které jsou společně s fluoridy nejdůležitější složkou pro účinnou remineralizaci skloviny [9].

Hydroxyapatit se v zubních pastách a jiných přípravcích vyskytuje ve dvou základních formách. Mikrohydroxyapatit – HA a také nanohydroxyapatit – nHA. Jedná se tedy o velikost částic HA, které jsou v daném přípravku obsaženy [9].

Obě tyto formy mají velice dobrou schopnost vázat se na poškozená, demineralizovaná místa skloviny a zaplnit takto vzniklé porozity a nerovnosti na povrchu skloviny [9].

Nanohydroxyapatit je považován za jeden z nejvíce biokompatibilních a zároveň i bioaktivních materiálů. Je schopen se velice silně vázat na struktury skloviny i přes silné vrstvy plaku a bakterií, které jsou přítomny na daných plochách zubů. Díky své nano velikosti částic se dostává i do hlubších demineralizovaných

míst skloviny a dokáže odštěpené ionty nahrazovat a zaplňovat dříve vzniklé nedostatky skloviny po proběhlé demineralizaci [24][25].

Mezi mechanismy účinku HA / nHA patří nejen jeho schopnost remineralizovat vzniklé defekty způsobené demineralizacemi způsobené kyselinami zubního plaku, ale také jeho schopnost zaplňovat mikroskopické rýhy na povrchu skloviny, které mohou usnadňovat jeho akumulaci. Zároveň se dokáže vázat na zubní plak a bakterie přítomny v plaku, především bakterie rodu *Streptococcus mutans*, čímž usnadňuje jejich následné odstranění z povrchu zubu. Tento mechanismus byl velice důkladně sledován ve studiích vzniklých v Japan's National Institute for Infectious Diseases a také v Nihon University. Výsledky vyhodnotily daleko vyšší schopnost navázání nHA na plak a bakterie přítomné v plaku než je u preparátů s jinými formami vápenato-fosfátových preparátů, včetně mikroskopického HA [26].

Některé studie poukazují na schopnost nHA remineralizovat iniciální kariézní léze s velmi podobnou nebo dokonce i vyšší účinností, než fluoridové preparáty [27][28][29].

Preparáty obsahující klasický HA o velikosti částic na úrovni mikročástic jsou například zubní pasty HERBADENT REMIN Posilující zubní pasta nebo Biorepair Total protective Repair.

Preparáty obsahující nHA jsou například zubní pasty Apadent Total Care a APAGARD Premio.

Zubní pasta Biorepair Total Protective Repair ještě navíc obsahuje molekulu zinek-hydroxyapatit. Zinek se v dutině ústní vyskytuje fyziologicky ve slině, zubech a plaku. Také se účastní mnoho mineralizačních dějů kostí a tvrdých zubních tkání již od narození jedince. Má mnoho funkcí, mezi které se řadí například antibakteriální účinky, snížení množství vzniku zubního kamene a dále schopnost remineralizovat kyselinami poškozené tvrdé zubní tkáň. Důvodem je jeho silná vazba na HA a nahrazování odštěpených vápenatých iontů v kyselém prostředí. Toto je způsobeno díky jeho odolnosti vůči nižším hodnotám pH a také velikostí částic zinku, které jsou v průměru menší než vápenaté ionty.

To má za následek snížení porozity povrchu tvrdé zubní tkáně [30][31][32][33][34][35].

- **Hydroxyapatit/nanohydroxyapatit + fluoridy**

Kombinací těchto dvou důležitých složek pro remineralizaci zubní skloviny bylo prokázáno, že míra remineralizace je daleko vyšší než při použití pouze hydroxyapatitových či fluoridových preparátů [36].

Složka HA funguje jakožto zásobárna vápenatých a fosforečných iontů, které napomáhají remineralizaci nejen povrchové vrstvy demineralizovaného místa, ale taktéž hlubších vrstev. Díky fluoridům je sklovina odolnější vůči působení kyselin, jelikož fluoridové ionty mají schopnost se vázat na HA krystaly na povrchové vrstvě skloviny za vzniku fluoroapatitu [5][8][9][10][25].

Taktéž bylo pozorováno výrazné zvýšení mikrotvrdomi demineralizovaného místa a zároveň i snížení povrchové hrubosti, díky kombinaci HA / nHA + fluoridů [37].

Preparáty využívající tuto metodu jsou například ApaCare remineralizující zubní pasta obsahující 1450 ppm F⁻ a HERBADENT Zubní pasta od prvního zoubku obsahující 950 ppm F⁻. Obě dvě tyto pasty využívají fluorid sodný – NaF, jako molekulu dodávající fluoridy. Důvodem rozdílné koncentrace F⁻ je věk, od kterého se pasta může používat. HERBADENT Zubní pasta od prvního zoubku je doporučována pro děti od 0 let.

Rozdíl mezi těmito dvěma preparáty důležitých pro remineralizaci skloviny je především ve formě HA. ApaCare remineralizující zubní pasta obsahuje nHA. Herbadent Zubní pasta od prvního zoubku obsahuje klasický HA o velikosti částic na úrovni mikro.

- **P11-4 peptidy**

Preparáty obsahující P11-4 peptidy obsahují spektrum celkem 11 aminokyselin důležitých pro obnovu poškozené, demineralizované sklovinné matrix [38].

P11-4 peptidy dokáží tvořit novou vláknitou matrix, která má vysokou afinitu k vápenatým iontům a dokáže tak obnovovat HA formaci v těle léze [39][40].

Taktéž bylo dokázáno, že vlákna z P-11 peptidů dokáží obnovit tělo léze rychleji pomocí jehlovitě vypadajících krystalů. Toto má za následek zvýšení mikrotvrlosti remineralizované oblasti v těle léze [41][42].

Některé studie poukazují na zlepšení estetické stránky kariézní léze dokonce i 6 – 12 měsíců po používání daného preparátu [43].

Preparáty využívající P11-4 peptidy jsou například Curodont Repair nebo Curodont Protect.

1.5.2.2. Vápenato-fosfátové systémy

Vápenato-fosfátové systémy se dělí do tří hlavních podskupin. Stabilizované vápenato-fosfátové systémy, nestabilizované vápenato-fosfátové systémy a také krystalické vápenato-fosfátové systémy. Jelikož je těchto preparátů na trhu mnoho, tak se zaměříme vždy na nejčastěji se objevujícího zastupitele preparátů z dané skupiny [12].

Vápenato-fosfátové preparáty obsahují ve zvýšené míře Ca^{2+} a PO_4^{3-} ionty. Mezi tyto preparáty se řadí například CPP-ACP (Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate), ACP (Amorphous Calcium Phosphate) a fTCP (Functionalized β -Tricalcium Phosphate).

- **CPP-ACP – Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate; kasein fosfopeptid – amorfní fosforečnan vápenatý**

Kasein fosfopeptid – amorfní fosforečnan vápenatý se řadí mezi stabilizované vápenato-fosfátové preparáty [12].

Molekula CPP-ACP je získávána z kravského mléka, přesněji z mléčné bílkoviny neboli kaseinu. Již v 50. letech 20. století bylo zjištěno, že má pozitivní efekt na prevenci vzniku zubního kazu. Toto vyplývalo z epidemiologických studií dětí a dospělých jedinců, kteří pili mléko ve zvýšené míře [37].

Kasein obsahuje mnoho důležitých fosfoproteinů, jako je například CPP – kasein fosfopeptid, který má schopnost stabilizovat vápník a fosfát ve formě ACP – amorfního fosforečnanu vápenatého. Tuto stabilizaci způsobuje aktivní řetězec sacharidů a fosfátů -Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu- [44][45].

CPP-ACP má mnoho mechanismů účinku. Obě tyto molekuly fungují jako zásobárny Ca^{2+} a PO_4^{3-} iontů do demineralizované tkáně zubu, díky rozkladu a CaHPO_4 v prostředí s nízkými hodnotami pH. Nízké pH je způsobeno především kyselými produkty bakterií plaku. Taktéž tyto ionty napomáhají neutralizaci kyselin, díky čemuž zabraňují pokračování demineralizačního procesu. Nadále jsou tyto ionty schopny navázání se na kyseliny vznikající při remineralizaci za vzniku CaHPO_4 , čímž udržují koncentrační gradient uvnitř léze [46].

Mechanismus CPP-ACP spočívá nejen v remineralizaci tvrdých zubních tkání, ale také v antikariogenních schopnostech molekuly. V kaseinu jsou obsaženy bioaktivní peptidy, které dokáží inhibovat bakteriální metabolismus, snižovat jejich schopnost vázat se na povrch skloviny a také redukovat následnou demineralizaci skloviny [47][48].

Existují studie, které říkají, že CPP-ACP je účinnější v remineralizaci než fluoridové preparáty, ale také mnoho studií, které říkají, že nebyl efekt v remineralizaci nikterak vyšší než při aplikaci fluoridových preparátů [12].

Taktéž existují studie, které říkají, že CPP-ACP je schopno dodávat vápenaté a fosforečné ionty do hlubších struktur skloviny, což je velmi důležité především u pacientů, kteří trpí například xerostomií, či mají vyšší frekvenci přísunu sacharidů (>6x/den), kdy pouze remineralizační schopnost sliny nebo fluoridových preparátů není dostačující pro reparaci neustále progredujících kariézních lézí [12].

Molekulu CPP-ACP můžeme nalézt například v produktech GC Tooth Mousse nebo GC MI Paste Plus. GC MI Paste Plus obsahuje navíc i 900 ppm fluoridových iontů. Důvodem nižší koncentrace fluoridů je snaha o snížení nežádoucího účinku vyšších koncentrací fluoridů blokujících vstřebávání vápenatých a fosforečných iontů do hlubších vrstev léze [49].

- **ACP – Amorphous Calcium Phosphate - amorfní fosforečnan vápenatý**

Amorfní fosforečnan vápenatý se řadí do skupiny nestabilních vápenato-fosfátových systémů [12].

Získává se taktéž z kaseinu, stejně jako molekula CPP-ACP, a má podobný efekt na remineralizaci skloviny. Hlavním rozdílem tohoto remineralizačního systému je, že dokáže téměř okamžitě uvolňovat vápenaté a fosforečné ionty, které se váží na povrch zubu. Toto je způsobeno díky jeho výrazné nestabilitě, zapříčiněné absencí molekuly CPP [50].

Díky vysoké nestabilitě systému se vápenaté a fosfátové ionty téměř okamžitě přeměňují v daleko více stabilní molekuly HA či fHA v přítomnosti fluoridových iontů [51].

Produkt obsahující ACP je například Oral-B Pro Expert toothpaste.

- **β -TCP - Functionalized β -tricalciumphosphate - funkcionalizovaný β fosforečnan vápenatý**

Remineralizační systém využívající funkcionalizovaný β fosforečnan vápenatý byl vynalezen s účelem tvořit mechanické bariéry, které zabraňují předčasným vápenato-fluoridovým interakcím. Tento systém se řadí mezi krystalické vápenato-fosfátové systémy [12][52].

Hlavním cílem bylo tedy zvýšit aktivitu fluoridových iontů na povrchu zubů společně s podpořením remineralizace především vápenatých a fosforečných iontů obsažených ve slině [52].

Bohužel není v současnosti známo, zdali je tento systém dostatečně účinný, jelikož většina dat získaných ze studií vyplývá pouze z in vitro podmínek. Z tohoto důvodu se nedá jednoznačně odpovědět na efektivitu v dutině ústní jedince [53].

2. Praktická část

2.1. Cíl praktické části

Cílem praktické části je porovnat efektivitu jednotlivých preparátů, ať už na bázi fluoridových, vápenato-fosfátových systémů či jejich kombinaci, a zjistit, který z těchto systémů by mohl být potencionálně nejefektivnější v remineralizaci zubní skloviny a jejímu následnému posílení.

2.2. Hypotézy

1. Preparáty obsahující hydroxyapatit budou mít vysoce pozitivní vliv na remineralizaci skloviny [9].
2. Preparáty obsahující nanohydroxyapatit budou schopny výrazně snižovat hrubost povrchu po předchozí demineralizaci [54].
3. Preparát obsahující zinek-hydroxyapatit bude efektivnější ve snížení hrubosti a porézności povrchu skloviny v porovnání s ostatními sledovanými preparáty [30].

2.3. Metodika

Metodika se skládá z několika postupně následujících bodů. Nejdříve bylo nutno nasbírat 40 extrahovaných zubů potřebných pro praktickou část bakalářské práce. Obstarání čtyřiceti extrahovaných zubů bylo uskutečněno díky pomoci Mgr. Petry Křížové, která veškeré zuby obstarala od stomatologického týmu na Stomatologii Budějovická. Extrahovaly se pouze zuby moudrosti neboli třetí moláry z horní i dolní čelisti, které nebyly nijak poškozeny procesem demineralizace.

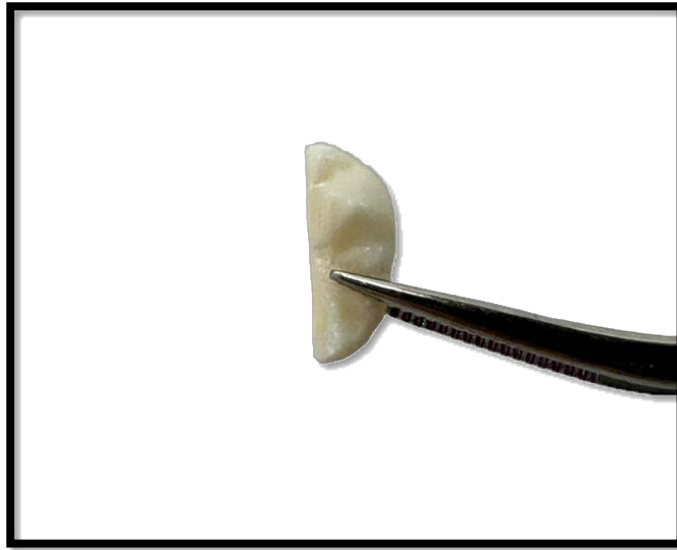
Následně byly zuby uloženy do nádob s 80 % roztokem ethanolu po dobu 24 hodin, který sloužil jakožto desinfekce pro zajištění co nejoptimálnějších podmínek manipulace s extrahovanými zuby.

Poté byly všechny zuby označeny nesmývatelným lihovým fixem na mesiální stranu korunky.

Následně se musel zalít kořen zubu do pryskyřice. S tímto mi velice pomohla Bc. Markéta Riegerová z Ústavu histologie a embryologie 3. LF UK, která připravila dostatečné množství malých silikonových nádob, do kterých se zub fixoval a následně pryskyřicí zalil. Proces tvrdnutí pryskyřice trval přibližně 24 hodin. Poté se mohly zuby bezpečně vyjmout ze silikonových nádob.

Díky zalití kořene pryskyřicí byla umožněna lepší fixace zubů do svěráku. Následně byly korunky zubů pomocí diamantového disku separovány ve směru mesio-distálně (viz obrázek 9), což bylo velice usnadněno předchozím označením fixem.

Obrázek 9 Polovina korunky zubu po mesio-distální separaci



Zdroj: Archiv autora

Poté se separovaly obě dvě poloviny korunky od kořene zubu. Tento řez byl veden opět diamantovým diskem v úrovni cemento-sklovinné hranice. V tomto procesu mi znovu pomáhala Bc. Markéta Riegerová společně s odborným dohledem MUDr. Renaty Peterkové, CSc. z Ústavu histologie a embryologie 3. LF UK.

Po tomto procesu bylo nutno správně rozdělit 80 polovin korunek zubů, dále označovány jako subjekty, které se jevíly pouhou aspekci jakožto intaktní. Při tomto mi velice napomohla RNDr. Jana Faulknerová Matějčková, Ph.D. z Ústavu biochemie, buněčné a molekulární biologie 3. LF UK, se kterou jsme nejdříve vybrali vhodné subjekty na sledování a poté je společně rozdělili na skupiny A, B, C, D, E. Skupiny C, D a E obsahovaly vždy 2 podskupiny 1, 2 dle použitého preparátu.

- **Skupina A**

Skupina A obsahovala 3 subjekty, které sloužily po celou dobu studie jakožto kontrolní. Byly uloženy do mikrozkušavek typu Eppendorf a na konci studie byly využity pouze pro fotografie intaktního povrchu skloviny pod skenovacím elektronovým mikroskopem.

- **Skupina B**

Skupina B obsahovala 3 subjekty, které byly nejdříve naleptány 0,1 M kyseliny mléčné, která byla upravena na hodnotu pH = 4,8; při teplotě 36 °C po dobu 72 hodin. Subjekty byly leptány nakapáním 0,2 ml kyseliny pomocí pipety na povrch zubu vždy v 10:00. Poté byly uloženy na Petriho misku a vložily se do inkubátoru na následujících 24 hodin. Po 24 hodinách se subjekty opláchly přesně 5 ml vody a celý proces se opakoval ještě dvakrát. Po tomto procesu následovalo finální opláchnutí 5 ml vody. Na konci studie se opět sledovaly skenovací elektronovým mikroskopem a sloužily jako skupina zobrazující povrch skloviny po proběhlé demineralizaci.

- **Skupina C**

Skupina C byla rozdělena na skupiny C1, C2 vždy po třech subjektech. Nejdříve byly naleptány 0,1 M kyseliny mléčné, která byla upravena na hodnotu pH = 4,8; při teplotě 36 °C po dobu 72 hodin. Subjekty byly leptány nakapáním 0,2 ml kyseliny pomocí pipety na povrch zubu vždy v 10:00. Poté byly uloženy na Petriho misky a vložily se do inkubátoru na následujících 24 hodin. Tento proces se následně opakoval ještě dvakrát. Po procesu demineralizace kyselinou navazovala fáze remineralizace pomocí předem připravených roztoků vždy v hmotnostním poměru 1:1 preparátu s HA a vody.

C1 – Biorepair – zinek-HA

C2 – HERBADENT REMIN - HA

Jednotlivé subjekty byly vždy opláchnuty přesně 5 ml vody a poté na ně bylo nakapáno pomocí pipety 0,2 ml předem připraveného roztoku s daným preparátem.

Následně se subjekty uložily na Petriho misky a byly vloženy do inkubátoru s teplotou 36 °C po dobu 24 hodin. Za 24 hodin se stejný proces opakoval. Tato fáze probíhala neustále po dobu 14 dní.

- **Skupina D**

Skupina D byla rozdělena na skupiny D1, D2 znovu po třech subjektech. Nejdříve byly naleptány 0,1 M kyseliny mléčné, která byla upravena na hodnotu pH = 4,8; při teplotě 36 °C po dobu 72 hodin. Subjekty byly leptány nakapáním 0,2 ml kyseliny pomocí pipety na povrch zubu vždy v 10:00. Poté byly uloženy na Petriho misky a vložily se do inkubátoru na následujících 24 hodin. Tento proces se následně opakoval ještě dvakrát. Po procesu demineralizace kyselinou navazovala fáze remineralizace pomocí předem připravených roztoků vždy v hmotnostním poměru 1:1 preparátu s nHA a vody.

D1 – APAGARD Premio - nHA

D2 – Apadent Total Care - nHA

Jednotlivé subjekty byly vždy opláchnuty přesně 5 ml vody a poté na ně bylo nakapáno pomocí pipety 0,2 ml předem připraveného roztoku s daným preparátem.

Následně se subjekty uložily na Petriho misky a byly vloženy do inkubátoru s teplotou 36 °C po dobu 24 hodin. Za 24 hodin se stejný proces opakoval. Tato fáze probíhala neustále po dobu 14 dní.

- **Skupina E**

Skupina E byla rozdělena na skupiny E1, E2 opět po třech subjektech. Nejdříve byly naleptány 0,1 M kyseliny mléčné, která byla upravena na hodnotu pH = 4,8; při teplotě 36 °C po dobu 72 hodin. Subjekty byly leptány nakapáním 0,2 ml kyseliny pomocí pipety na povrch zubu vždy v 10:00. Poté byly uloženy na Petriho misky a vložily se do inkubátoru na následujících 24 hodin. Tento proces se následně opakoval ještě dvakrát. Po procesu demineralizace kyselinou navazovala fáze remineralizace pomocí předem připravených roztoků vždy v hmotnostním poměru 1:1 preparátu s HA + NaF a vody.

E1 – ApaCare remineralizující zubní pasta – HA + NaF

E2 – HERBADENT Zubní pasta od prvního zoubku – HA + NaF

Jednotlivé subjekty byly vždy opláchnuty přesně 5 ml vody a poté na ně bylo nakapáno pomocí pipety 0,2 ml předem připraveného roztoku s daným preparátem.

Následně se subjekty uložily na Petriho misky a byly vloženy do inkubátoru s teplotou 36 °C po dobu 24 hodin. Za 24 hodin se stejný proces opakoval. Tato fáze probíhala neustále po dobu 14 dní.

Tento celý proces demineralizace a remineralizace všech sledovaných subjektů trval dohromady přesně 17 dní. Po dokončení této fáze byly všechny subjekty naposledy opláchnuty 5 ml vody a vloženy jednotlivě do mikrozkušavek typu Eppendorf (viz obrázek 10).

Obrázek 10 Subjekt číslo 20 v mikrozkušavce typu Eppendorf



Zdroj: Archiv autora

Následně byly subjekty v mikrozkušavkách přeneseny do laboratoře elektronové mikroskopie Přírodovědecké fakulty UK. Zde jsme společně s RNDr. Miroslavem Hylišem, Ph.D. připravili zuby na finální krok praktické části bakalářské práce.

Subjekty se nejdříve musely přilepit na malé kovové podložky kruhovitěho tvaru pomocí speciální oboustranné lepicí pásky. Jedna strana pásky se nalepila na horní plochu podložky a na druhou stranu lepicí pásky byl následně přilepen

sledovaný subjekt plochou, která byla vytvořena již dříve pomocí mesio-distálního řezu diamantovým diskem (viz obrázek 11). Poté byly všechny subjekty položeny již na podložkách na Petriho misku.

Obrázek 11 Pozlacený subjekt přilepený na kovové podložce



Zdroj: Archiv autora

Po tomto procesu bylo nutno pokovit povrch subjektů velice tenkou vrstvou zlata, což způsobilo daleko vyšší detail skenování elektronovým mikroskopem SEM JEOL 6380 LV, který je běžně využíván pro sledování povrchů a struktur materiálů, u kterých běžný světelný mikroskop nedostačuje.

Do skenovacího elektronového mikroskopu se vždy vložil pouze jeden subjekt a následně se pozoroval povrch skloviny pod 100x, 500x, 1000x, 3000x, 12000x zvětšením. Snímek byl vždy veden přesně na střed sledované plochy zubu, abychom zajistili co nejpřesnější výsledky pro porovnání jednotlivých subjektů. Pokud byl snímek vhodný a v dostatečné kvalitě, tak byl pomocí systému skenovacího elektronového mikroskopu vyfocen a uložen (viz obrázek 12).

Obrázek 12 Fotografie procesu snímkování pomocí skenovacího elektronového mikroskopu



Zdroj: Archiv autora

2.4. Výsledky

Pro porovnání struktury skloviny jsme vyfotili vždy dané místo zubu při zvětšení 100x, 500x, 1000x, 3000x a 12000x, jak bylo již v metodice zmíněno. Daná fotografie byla pořízena vždy 2x – pomocí metody BED-C a SED.

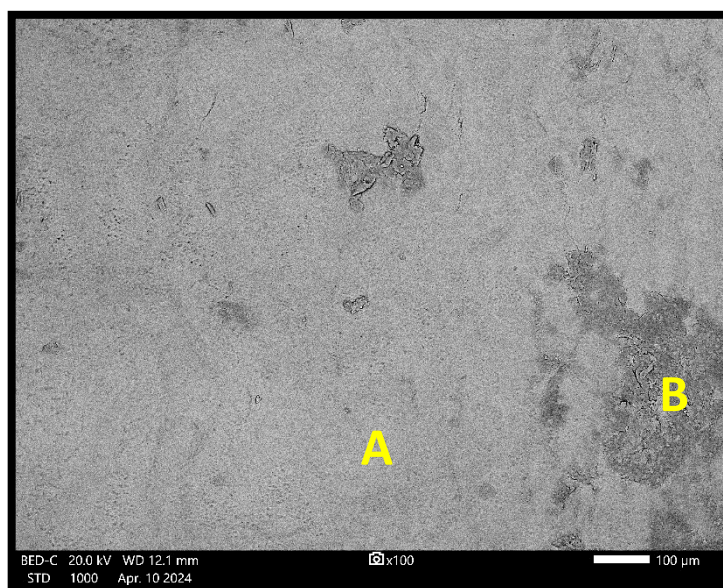
Metoda BED-C zachycuje zpětně odražené elektrony od povrchu zubu. Tyto elektrony pochází na rozdíl od metody SED z větší hloubky interakčního objemu materiálu. Toto je způsobeno výrazným rozdílem mezi kontrastem jednotlivých prvků, kdy prvky s vyšším atomovým číslem se jeví na výsledném snímku jako světlejší. Metoda zpětně odražených elektronů dokáže zachytit informaci z hloubky desítek až stovek nanometrů [55].

Metoda SED zachycuje sekundární elektrony, které jsou generovány přímo z povrchu zubu. Tato metoda dokáže zachytit informaci z hloubky jednotek, maximálně několika desítek nanometrů. Metoda SED se využívá především k analýze povrchů a struktur sledovaných subjektů [55].

Jelikož každá z těchto metod dokáže zachytit jiné detaily na povrchu skloviny, tak bylo velmi žádoucí obě dvě tyto metody vložit do fotodokumentace společně na jednu stranu.

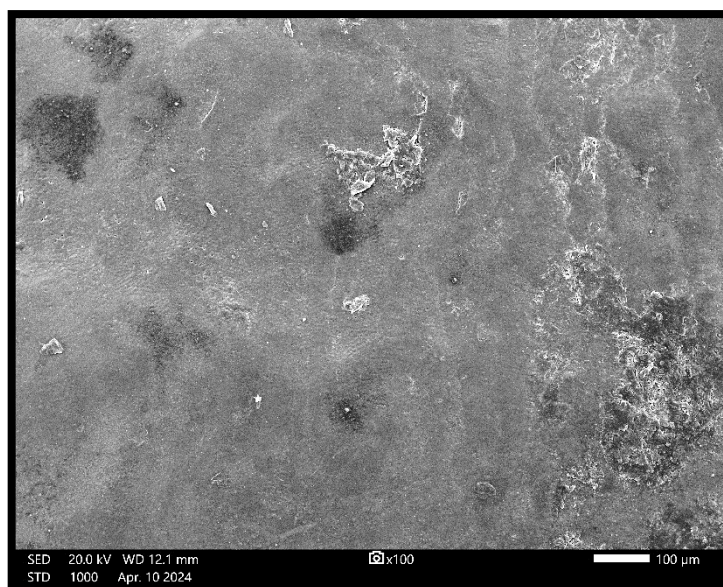
- Skupina A – intaktní sklovina

Obrázek 13 BED-C fotografie povrchu intaktní skloviny při 100x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

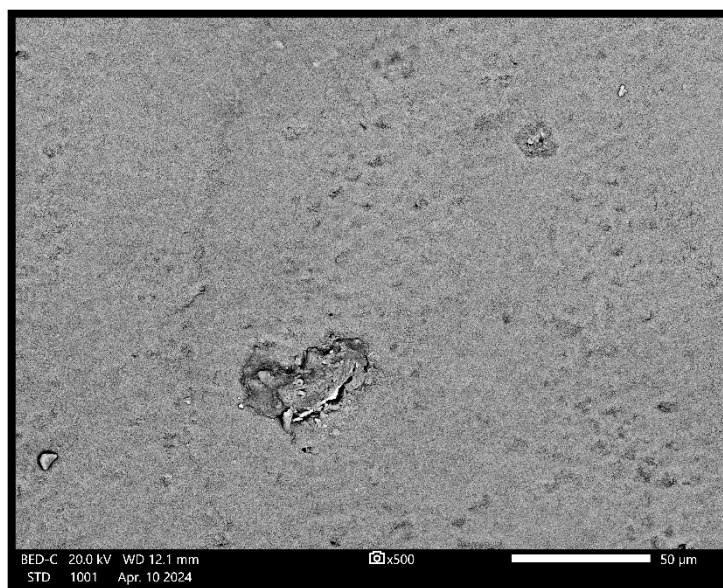
Obrázek 14 SED fotografie povrchu intaktní skloviny při 100x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

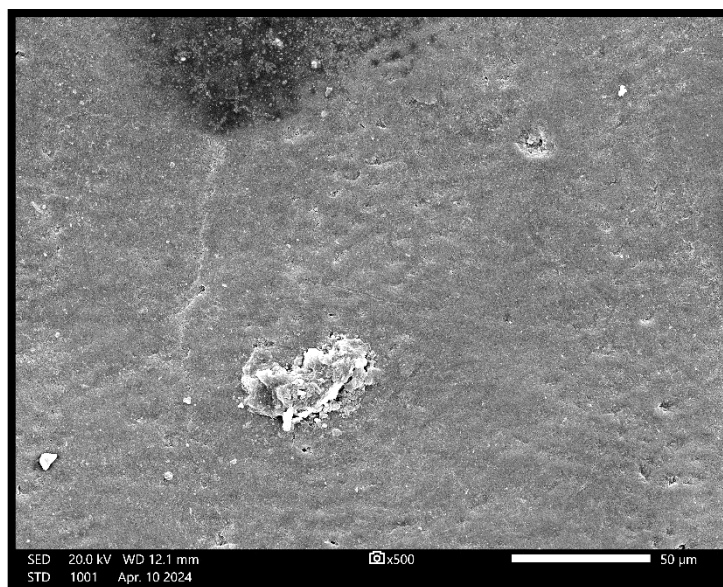
A – hladký povrch intaktní skloviny; B – zdrsňělý povrch intaktní skloviny

Obrázek 15 BED-C fotografie povrchu intaktní skloviny při 500x zvětšení



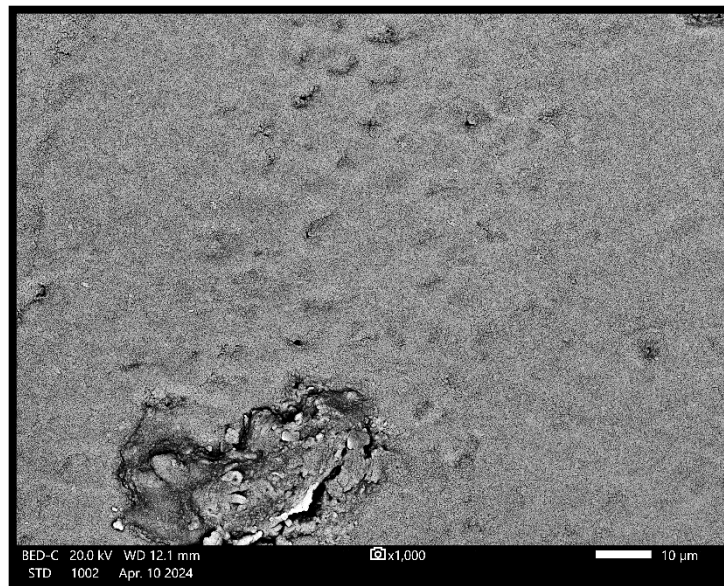
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 16 SED fotografie povrchu intaktní skloviny při 500x zvětšení



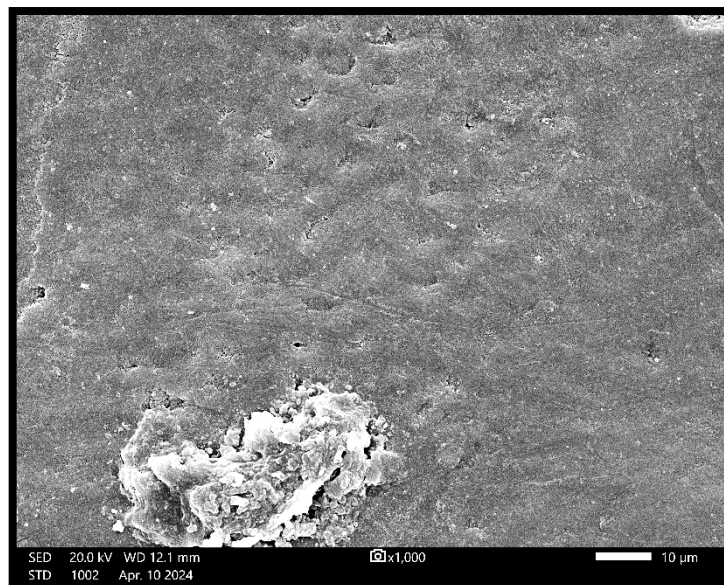
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 17 BED-C fotografie povrchu intaktní skloviny při 1000x zvětšení



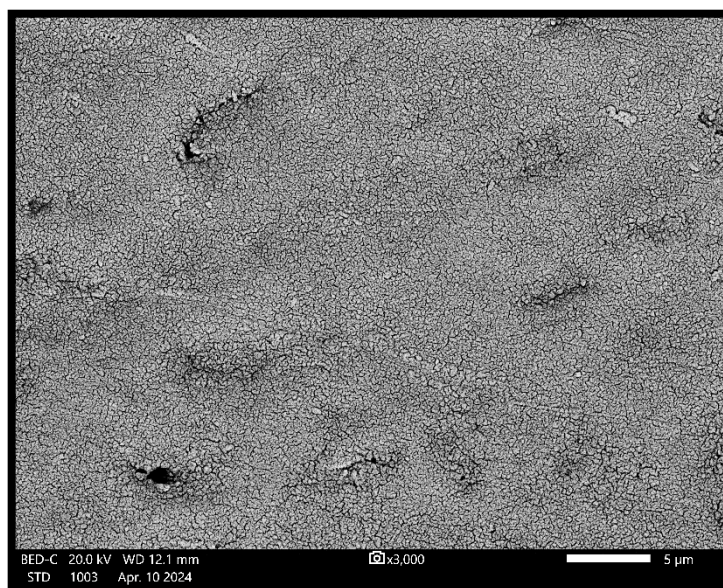
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 18 SED fotografie povrchu intaktní skloviny při 1000x zvětšení



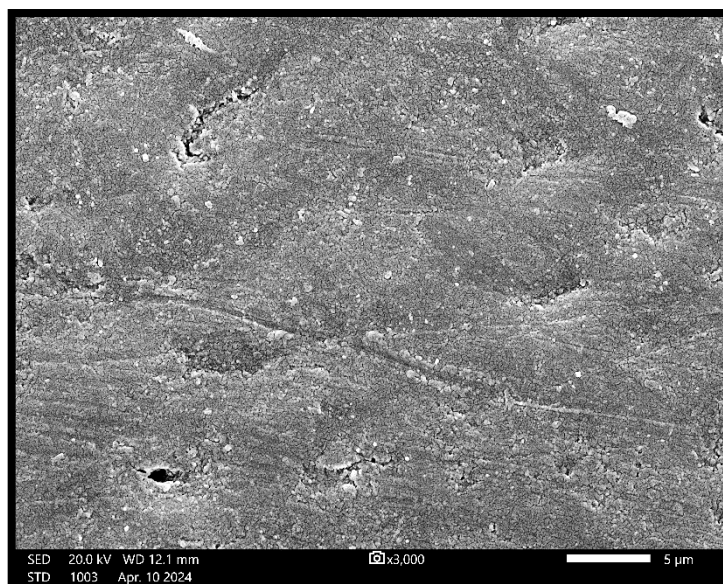
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 19 BED-C fotografie povrchu intaktní skloviny při 3000x zvětšení



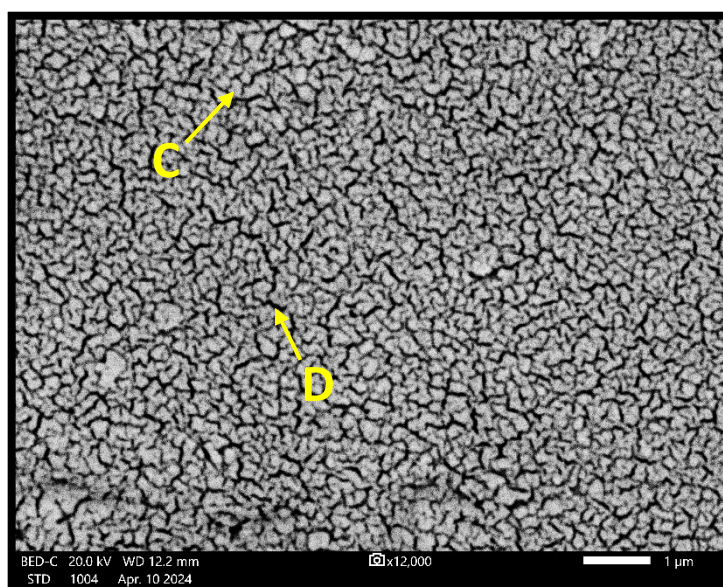
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 20 SED fotografie povrchu intaktní skloviny při 3000x zvětšení



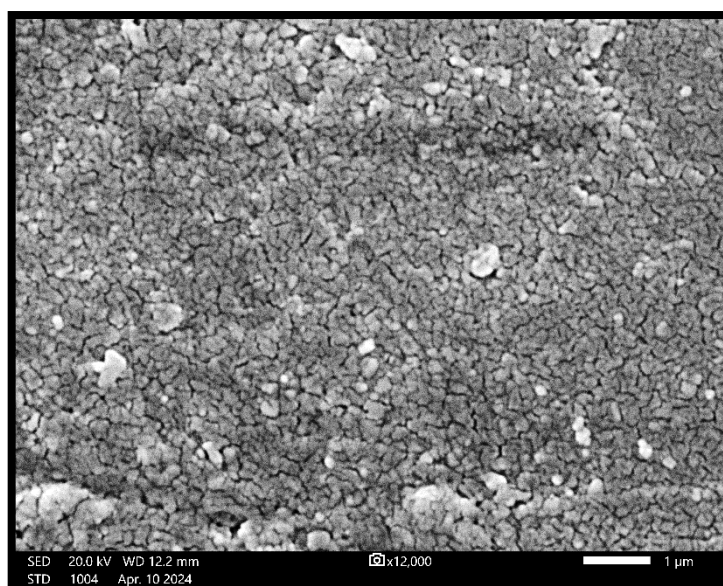
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 21 BED-C fotografie povrchu intaktní skloviny při 12000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

Obrázek 22 SED fotografie povrchu intaktní skloviny při 12000x zvětšení

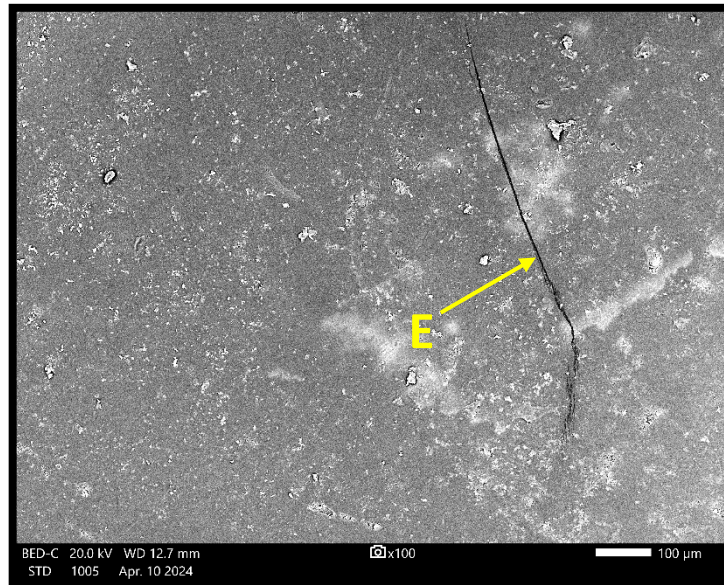


Zdroj: Archiv autora

C – sklovinná prizmata; **D** – interprizmatická substance

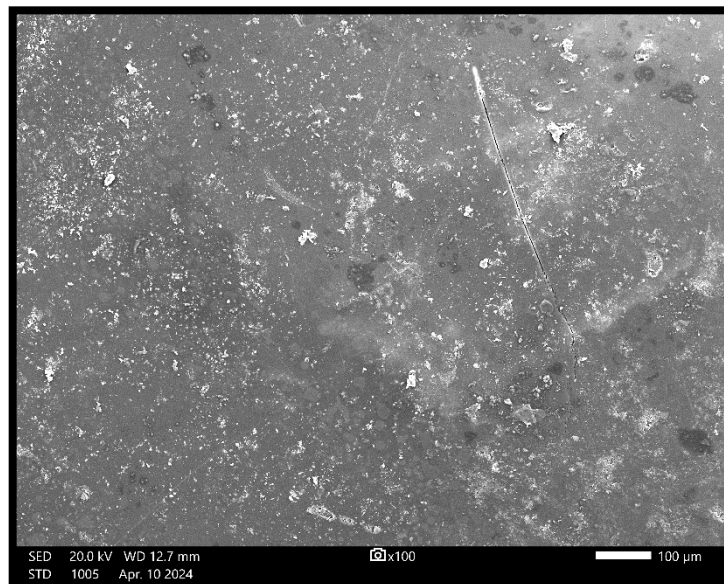
- Skupina B – demineralizovaná sklovina

Obrázek 23 BED-C fotografie povrchu demineralizované skloviny při 100x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

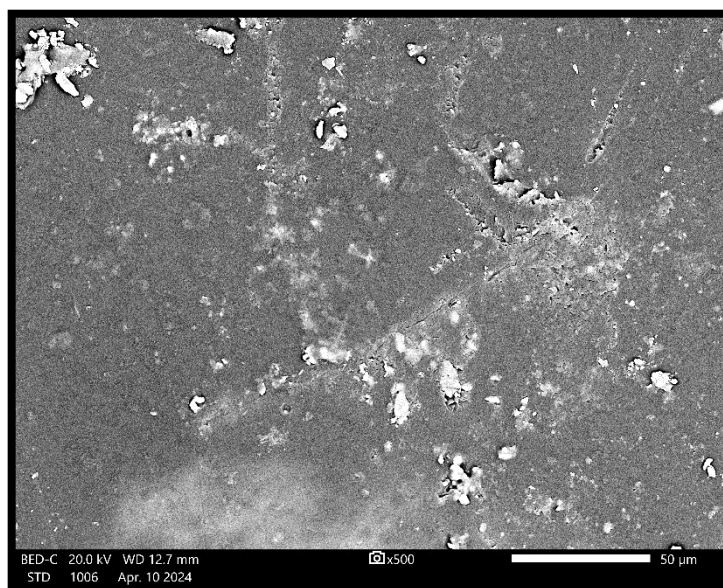
Obrázek 24 SED fotografie povrchu demineralizované skloviny při 100x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

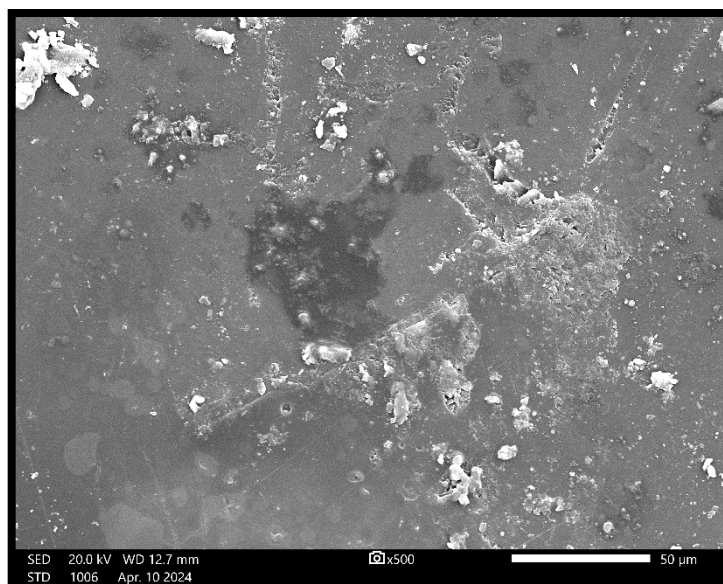
E – prasklina na povrchu skloviny

Obrázek 25 BED-C fotografie povrchu demineralizované skloviny při 500x zvětšení



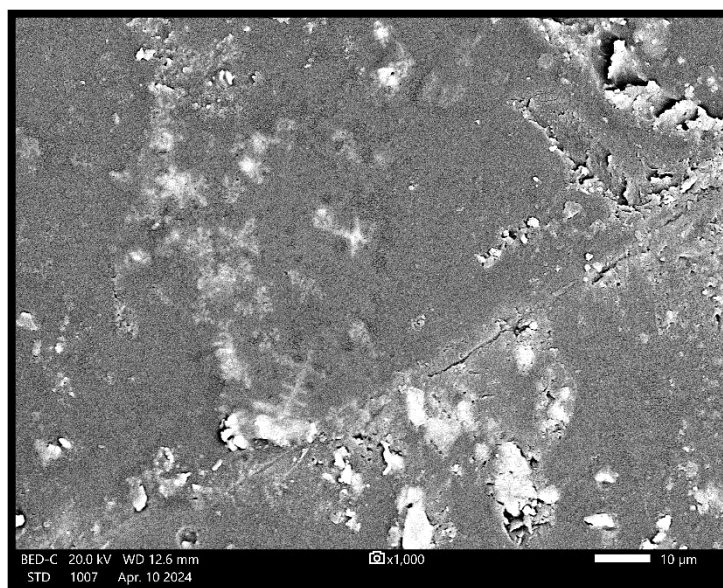
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 26 SED fotografie povrchu demineralizované skloviny při 500x zvětšení



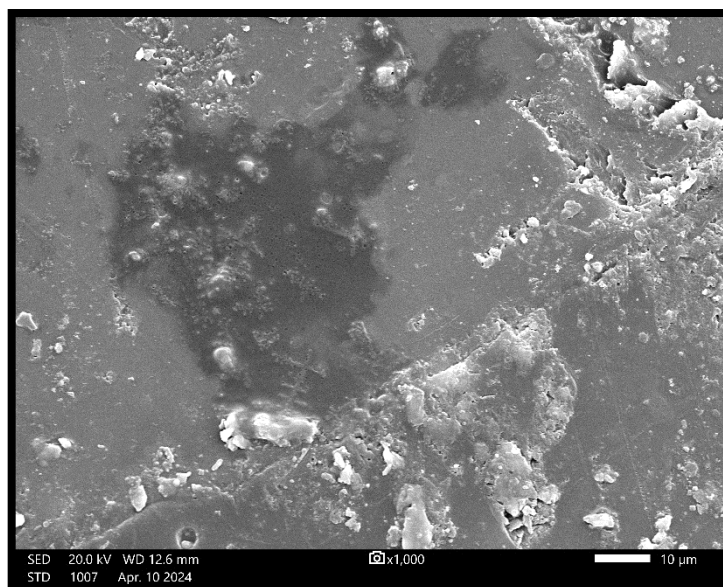
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 27 BED-C fotografie povrchu demineralizované skloviny při 1000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

Obrázek 28 SED fotografie povrchu demineralizované skloviny při 1000x zvětšení



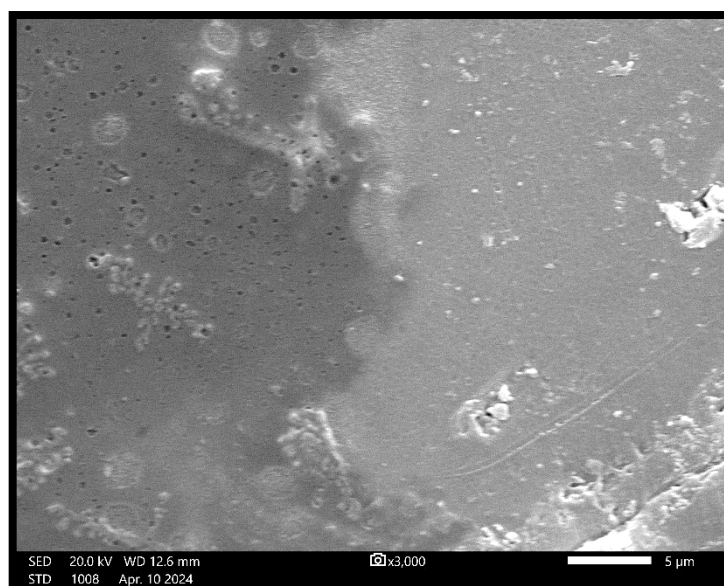
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 29 BED-C fotografie povrchu demineralizované skloviny při 3000x zvětšení



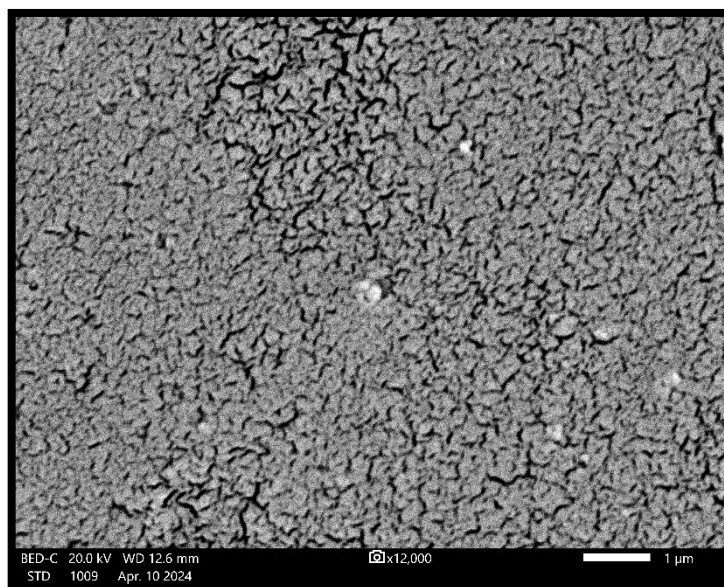
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 30 SED fotografie povrchu demineralizované skloviny při 3000x zvětšení



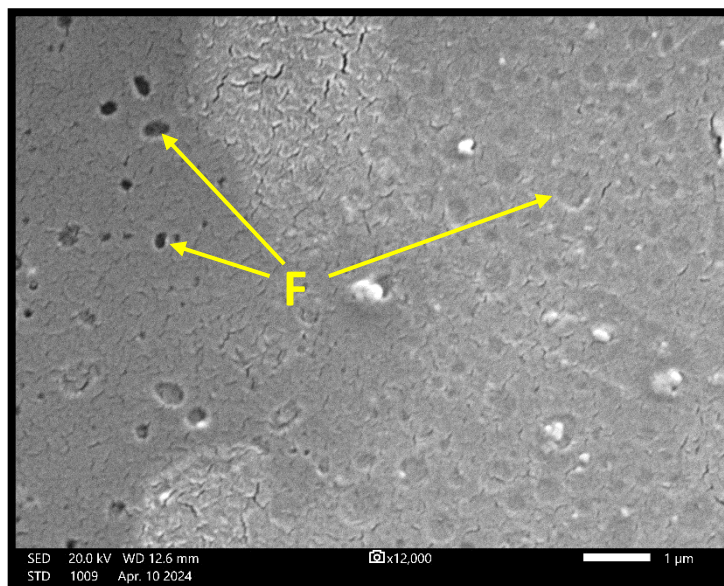
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 31 BED-C fotografie povrchu demineralizované skloviny při 12000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

Obrázek 32 SED fotografie povrchu demineralizované skloviny při 12000x zvětšení

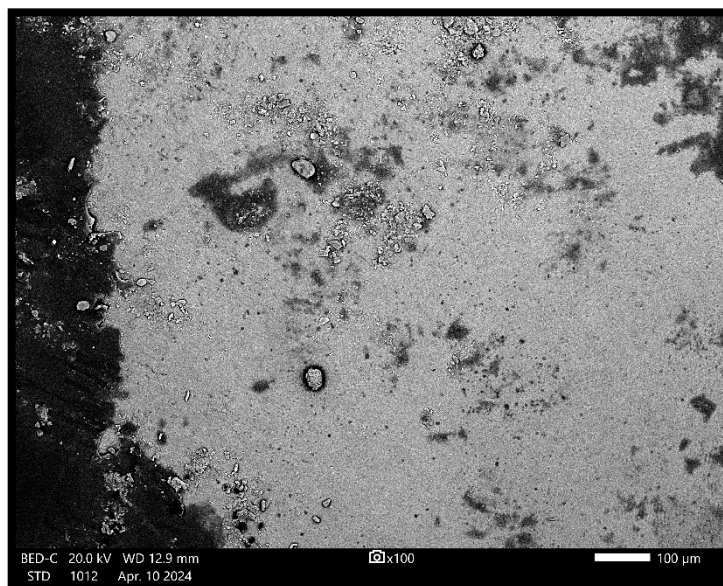


Zdroj: Archiv autora

F – defekty vzniklé působením kyseliny mléčné

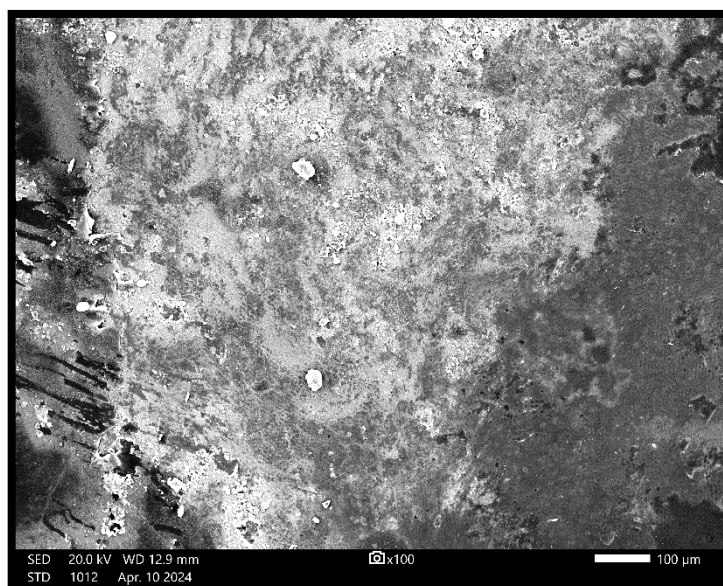
- **Skupina C1 – Biorepair – zinek-HA**

Obrázek 33 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Biorepair při 100x zvětšení



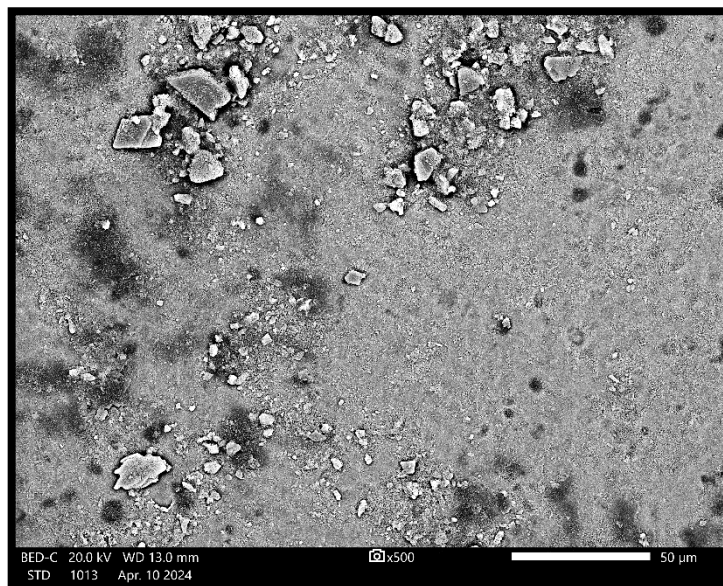
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 34 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Biorepair při 100x zvětšení



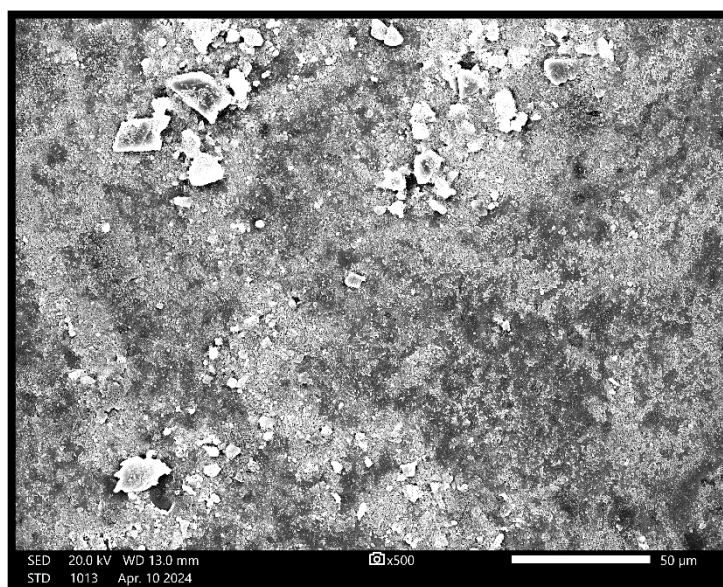
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 35 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Biorepair při 500x zvětšení



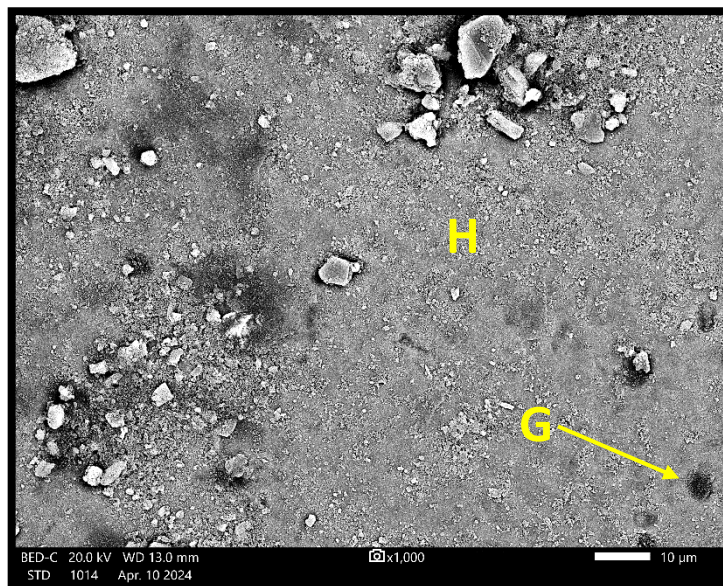
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 36 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Biorepair při 500x zvětšení



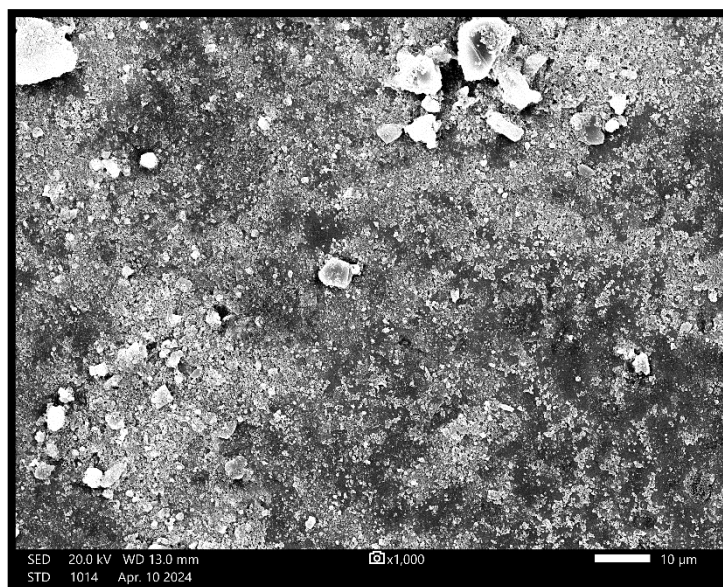
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 37 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Biorepair při 1000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

Obrázek 38 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Biorepair při 1000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

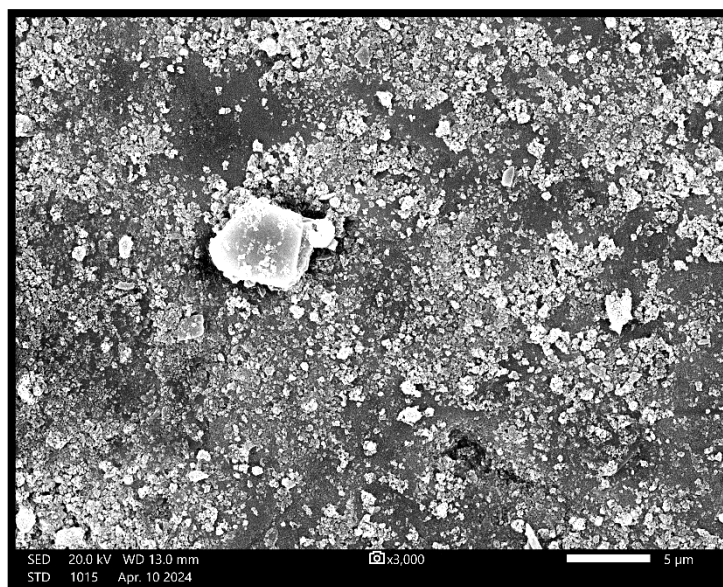
G – defekty vzniklé působením kyseliny mléčné; **H** – remineralizovaný povrch skloviny

Obrázek 39 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Biorepair při 3000x zvětšení



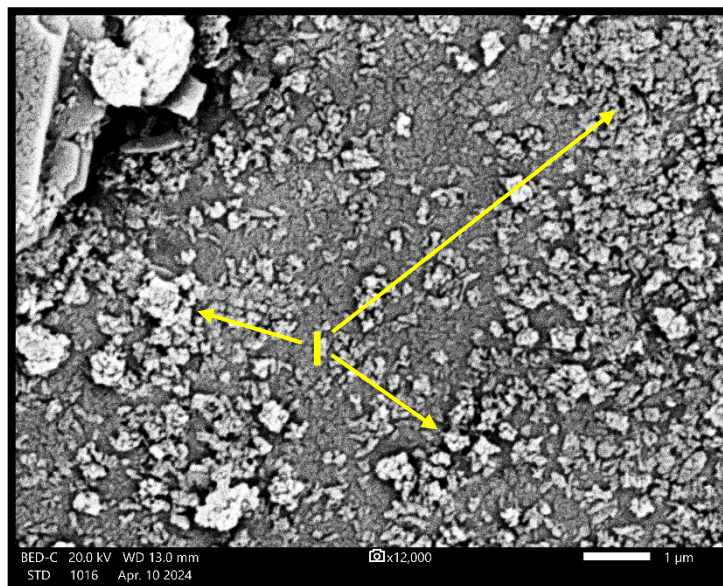
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 40 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Biorepair při 3000x zvětšení



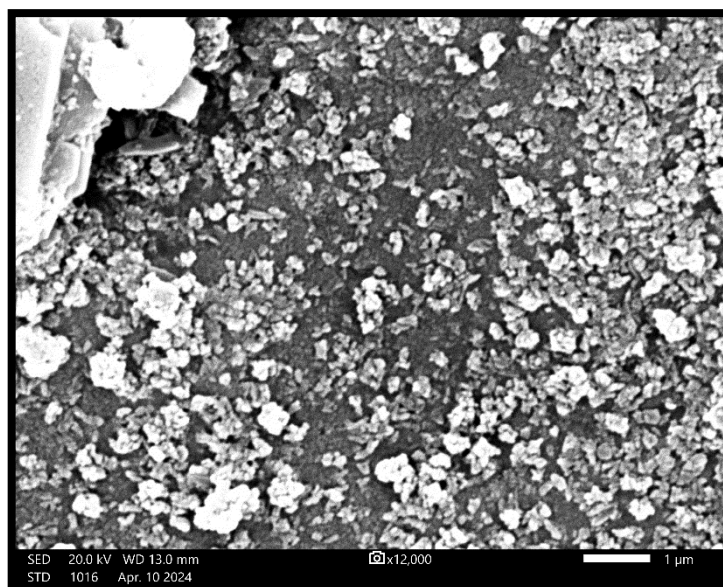
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 41 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Biorepair při 12000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

Obrázek 42 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Biorepair při 12000x zvětšení

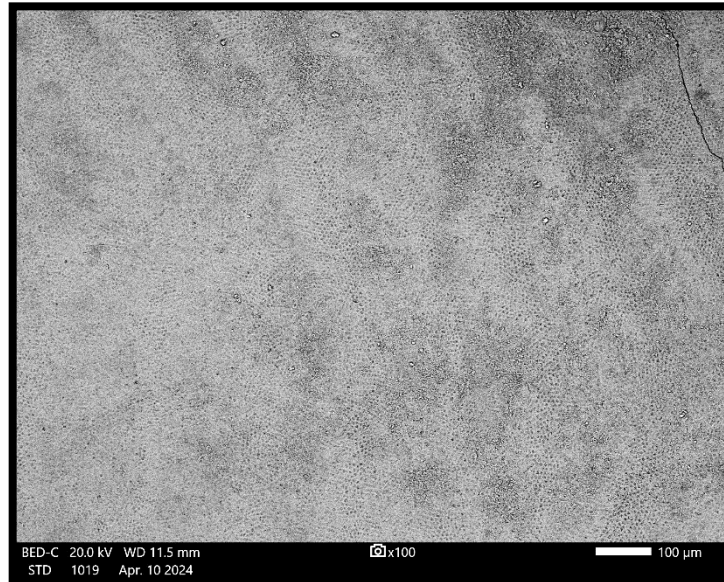


Zdroj: Archiv autora

I – nadbytečný materiál použitého preparátu

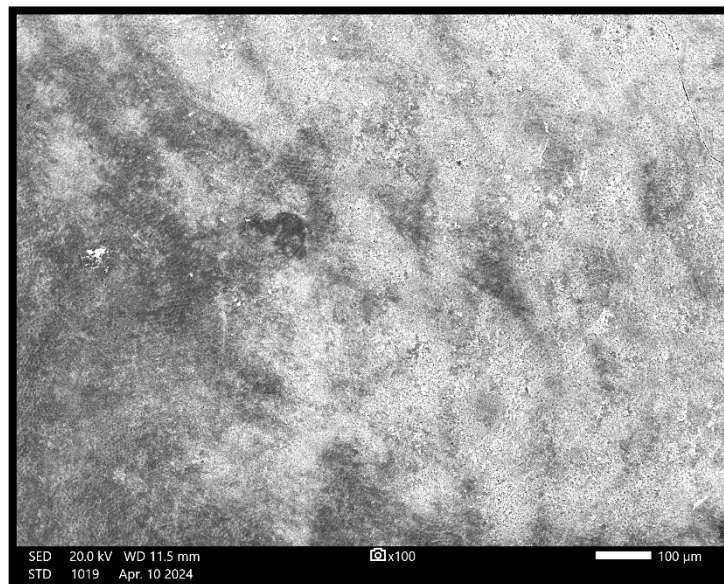
- **Skupina C2 – HERBADENT REMIN - HA**

Obrázek 43 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT REMIN při 100x zvětšení



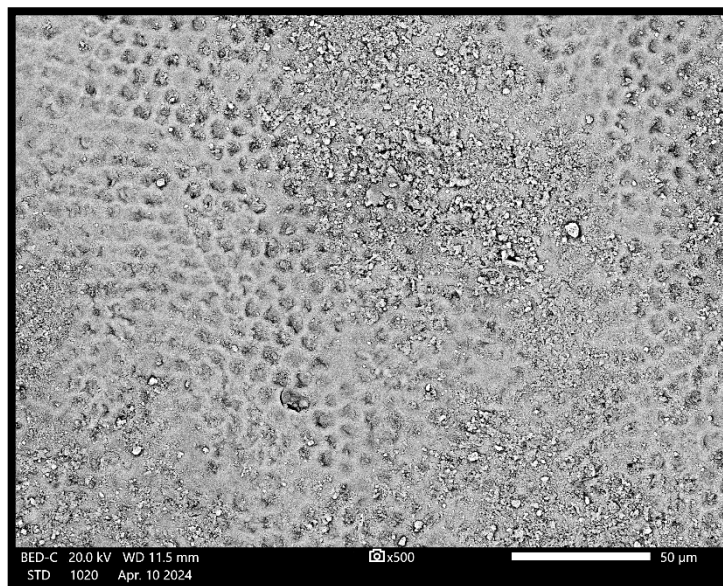
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 44 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT REMIN při 100x zvětšení



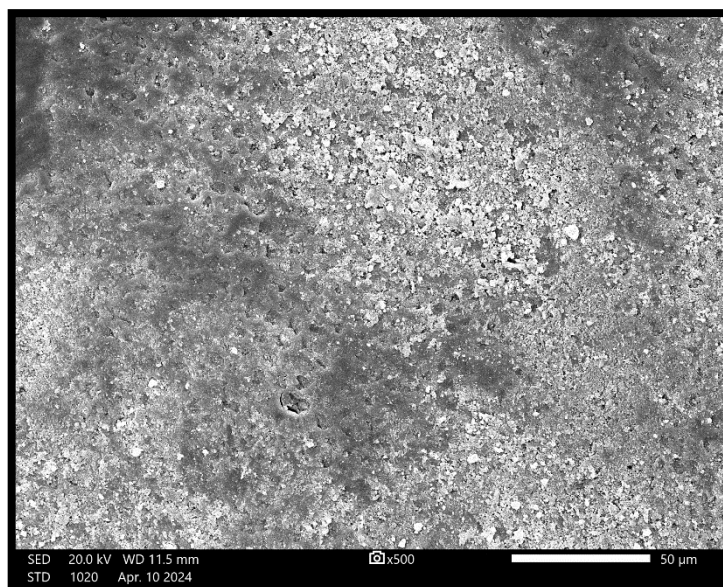
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 45 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT REMIN při 500x zvětšení



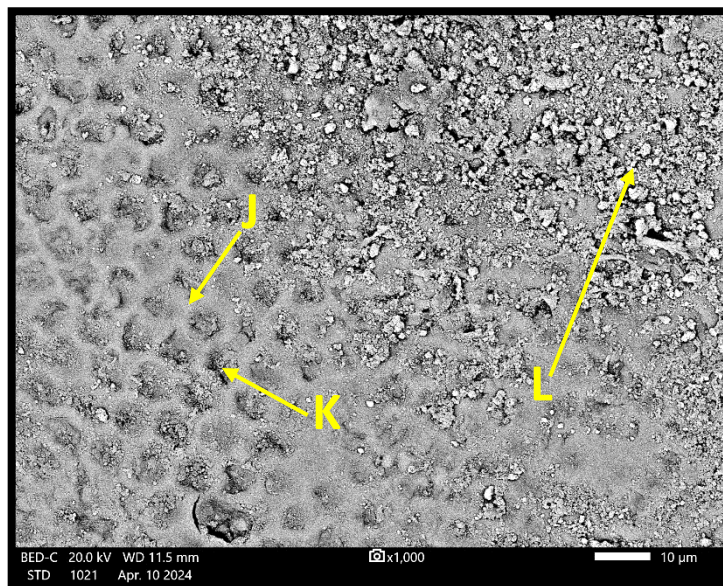
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 46 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT REMIN při 500x zvětšení



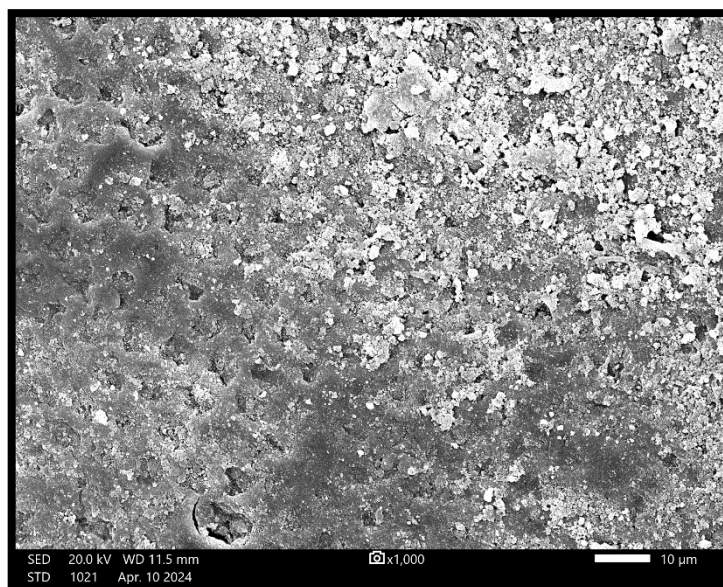
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 47 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT REMIN při 1000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

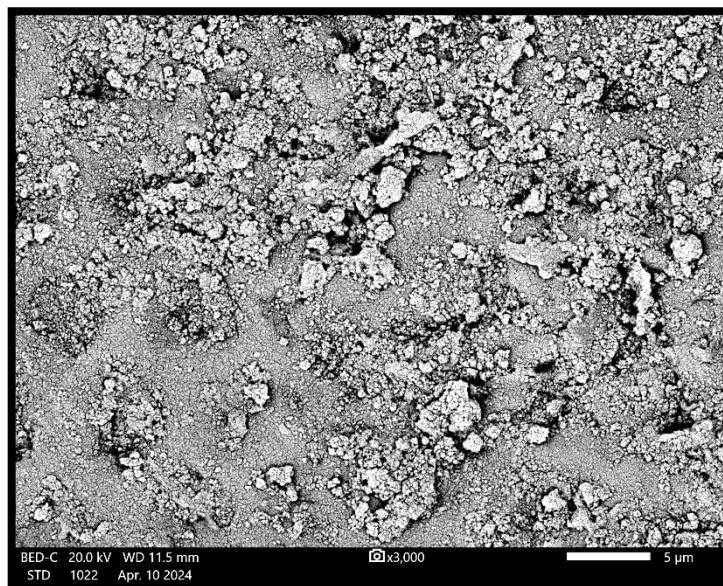
Obrázek 48 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT REMIN při 1000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

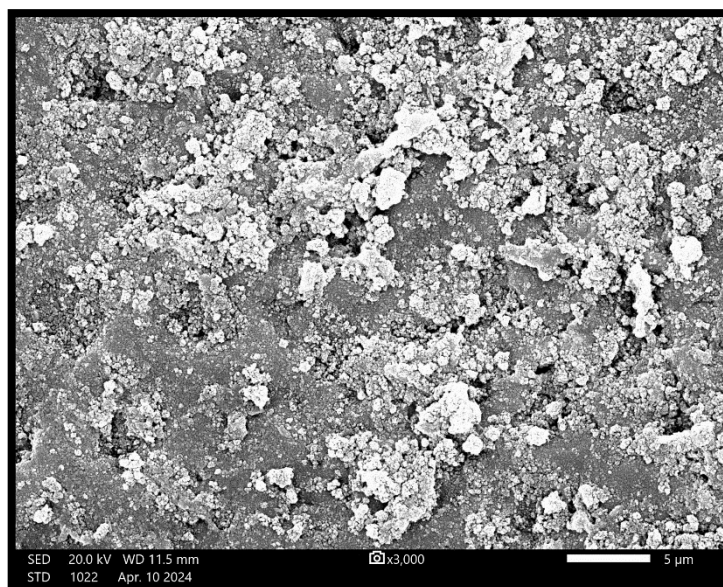
J – interprizmatická substance; K – pozůstatky sklovinných prizmat po demineralizaci; L – nadbytečný materiál použitého preparátu

Obrázek 49 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT REMIN při 3000x zvětšení



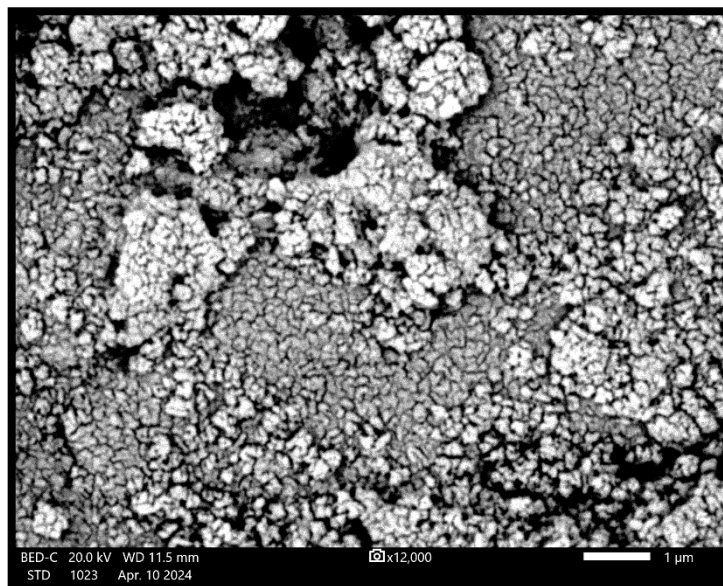
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 50 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT REMIN při 3000x zvětšení



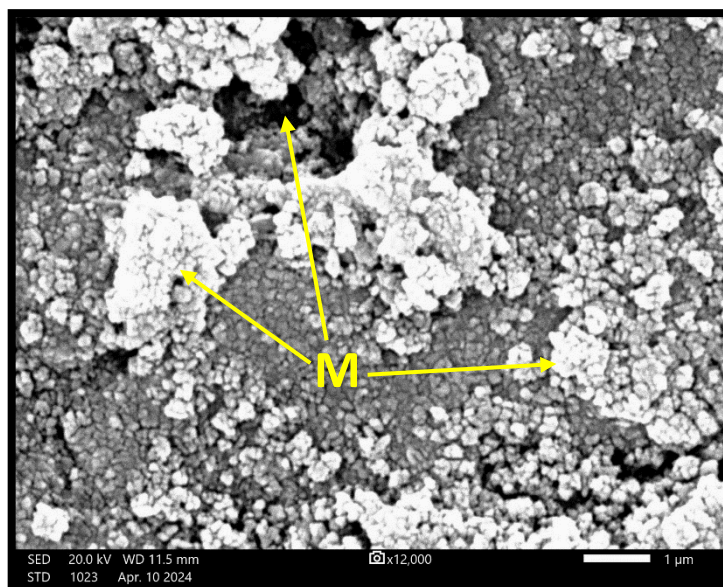
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 51 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT REMIN při 12000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

Obrázek 52 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT REMIN při 12000x zvětšení

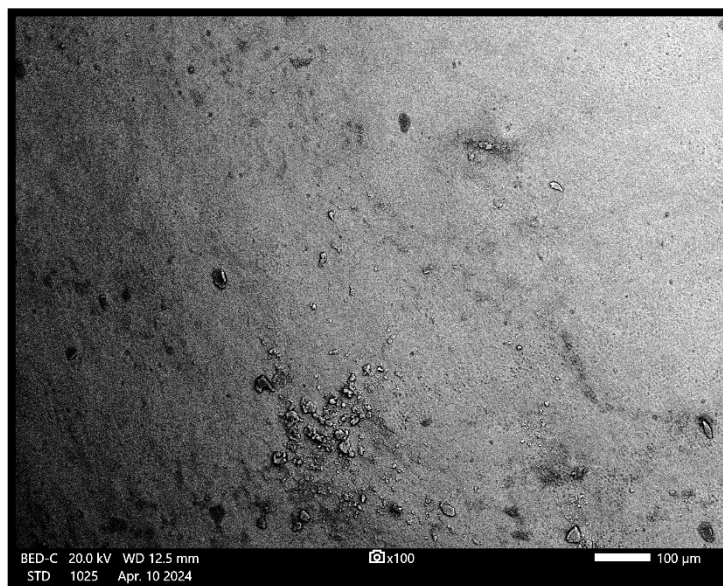


Zdroj: Archiv autora

M – nerovnoměrné zaplnění demineralizovaných míst povrchu skloviny

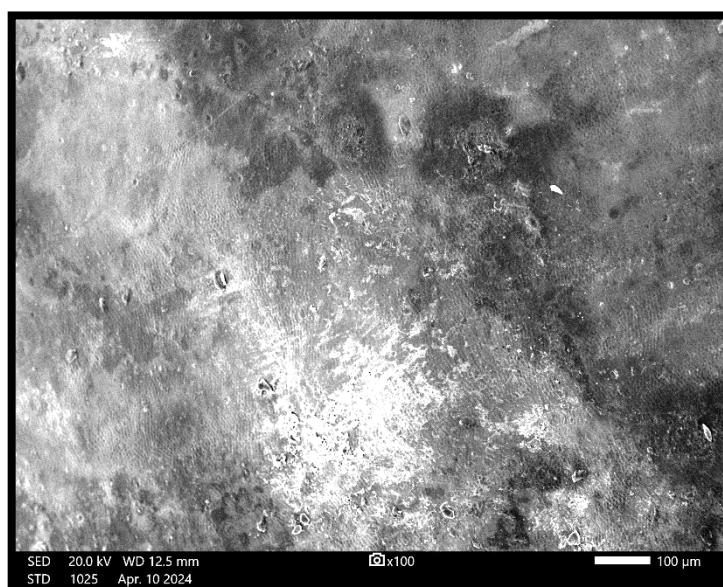
- Skupina D1 – APAGARD Premio - nHA

Obrázek 53 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí APAGARD Premio při 100x zvětšení



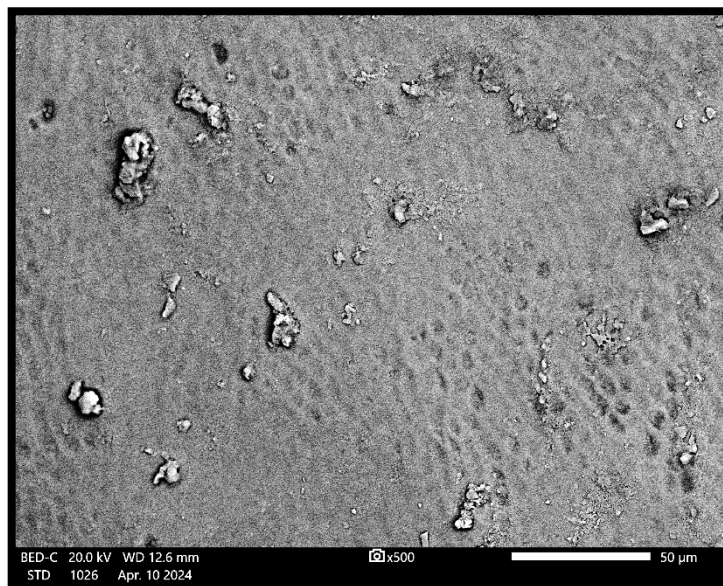
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 54 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí APAGARD Premio při 100x zvětšení



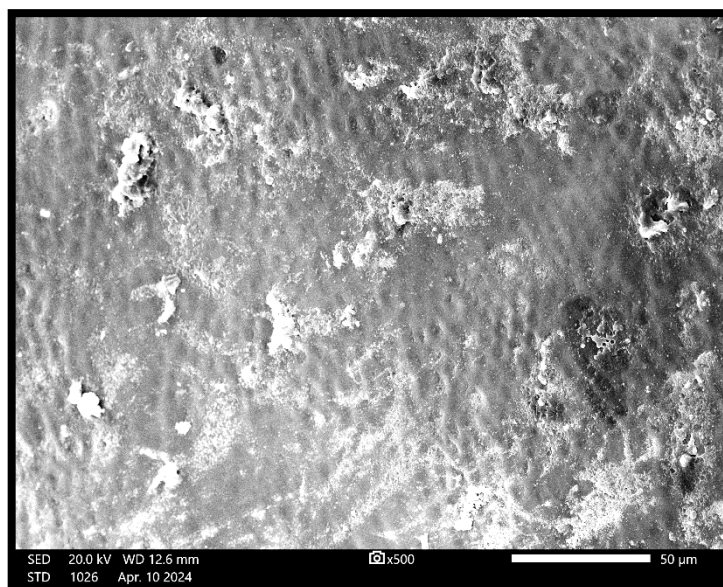
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 55 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí APAGARD Premio při 500x zvětšení



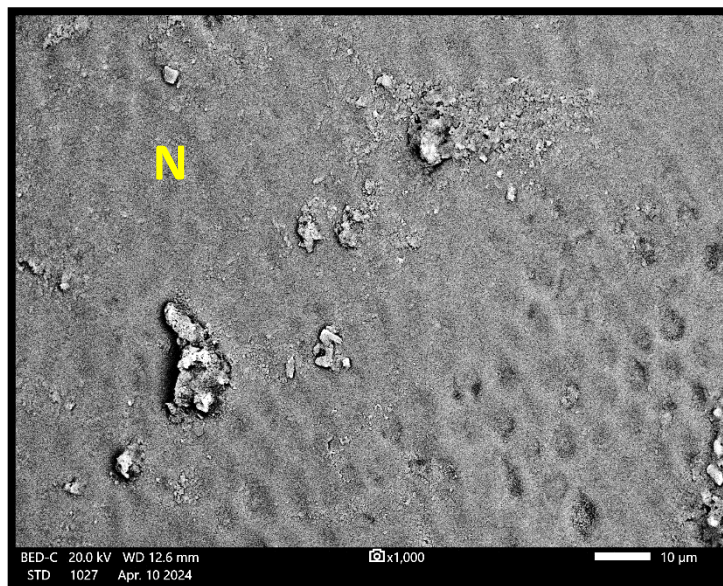
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 56 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí APAGARD Premio při 500x zvětšení



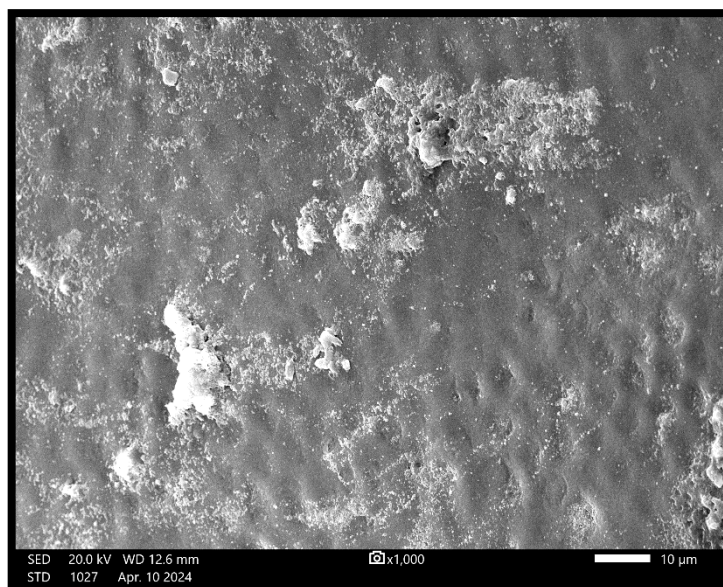
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 57 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí APAGARD Premio při 1000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

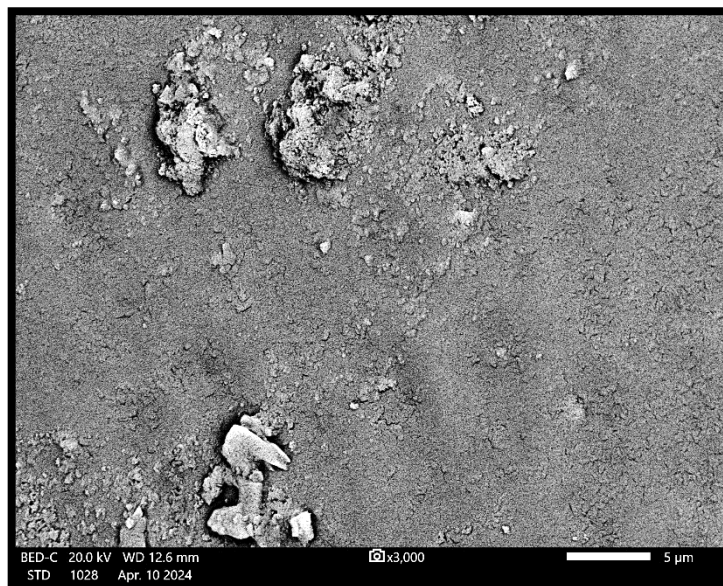
Obrázek 58 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí APAGARD Premio při 1000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

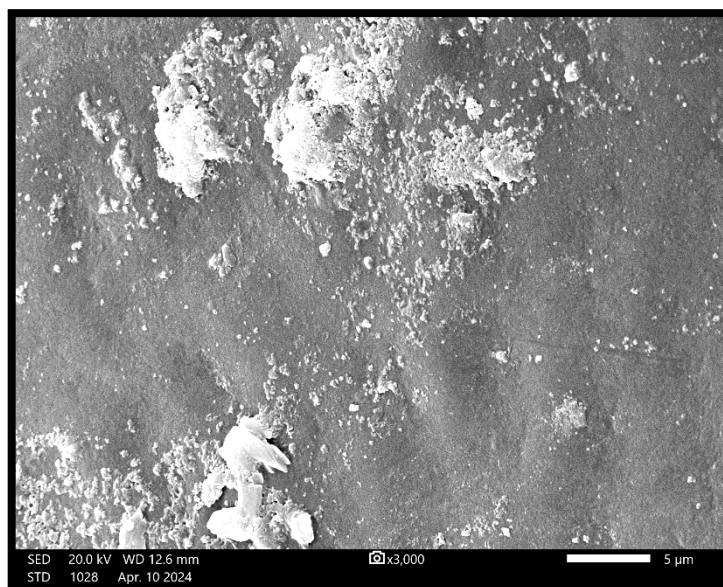
N – hladký povrch remineralizované skloviny preparátem

Obrázek 59 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí APAGARD Premio při 3000x zvětšení



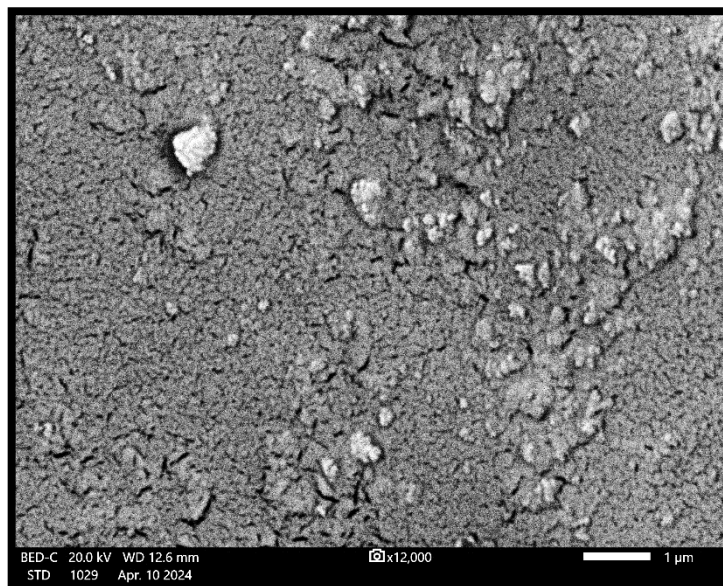
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 60 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí APAGARD Premio při 3000x zvětšení



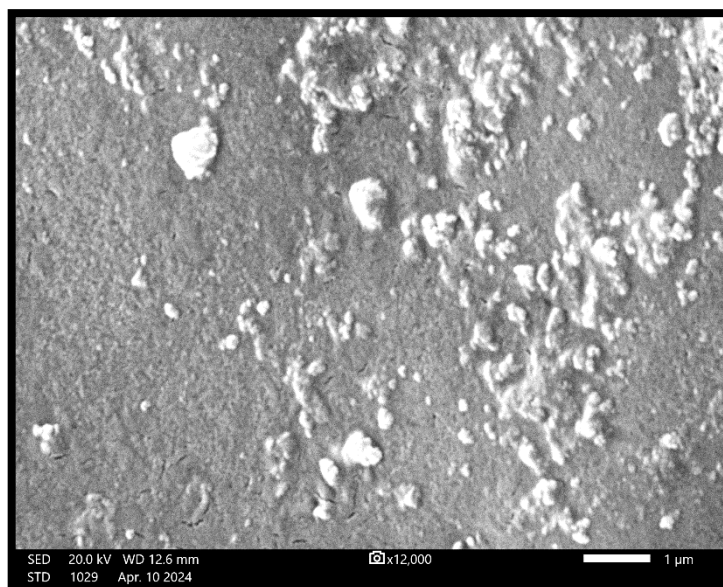
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 61 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí APAGARD Premio při 12000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

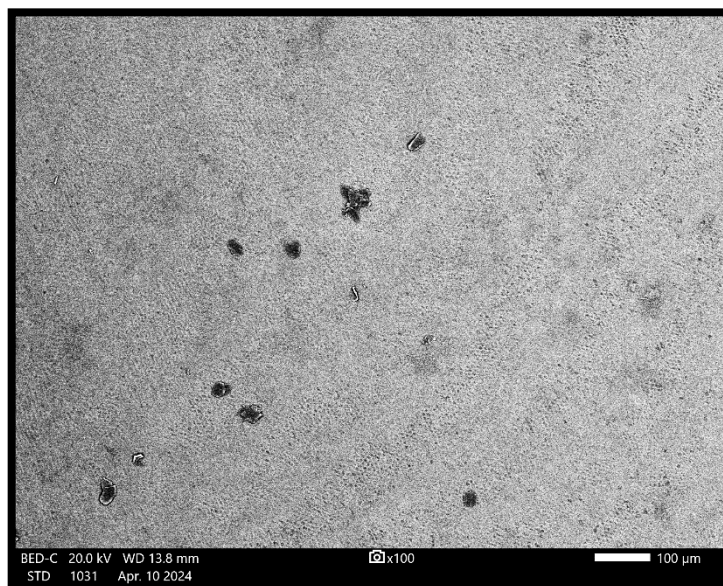
Obrázek 62 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí APAGARD Premio při 12000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

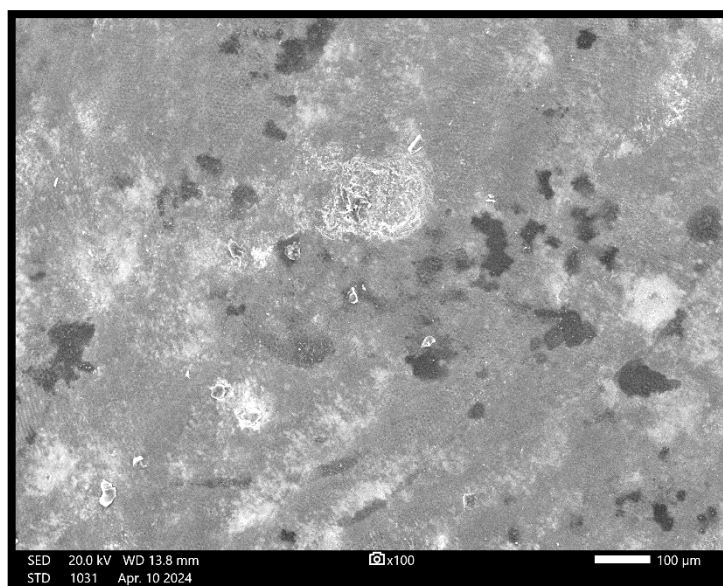
- Skupina D2 – Apadent Total Care - nHA

Obrázek 63 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Apadent Total Care při 100x zvětšení



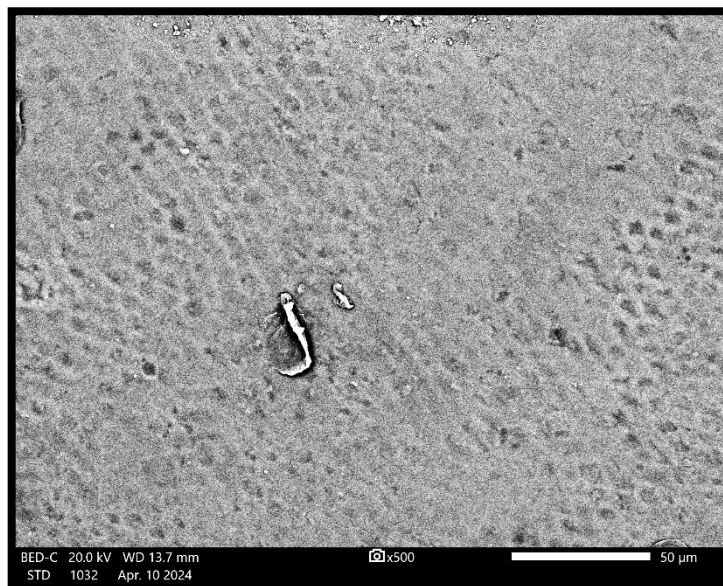
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 64 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Apadent Total Care při 100x zvětšení



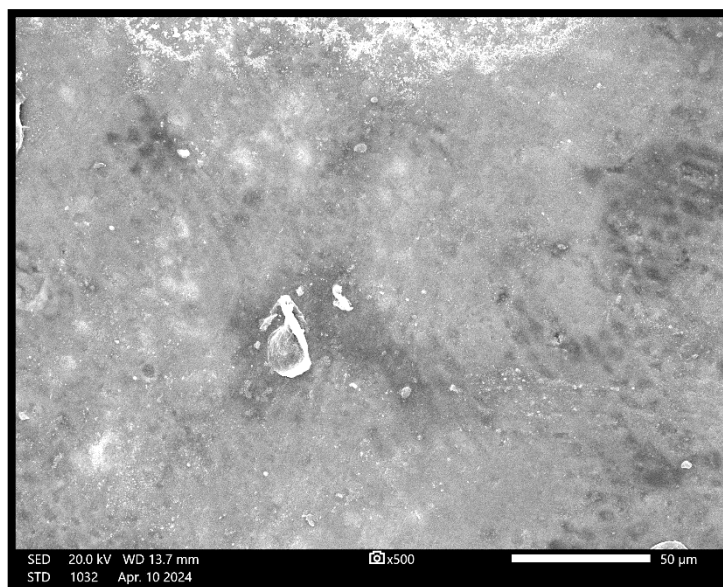
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 65 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Apadent Total Care při 500x zvětšení



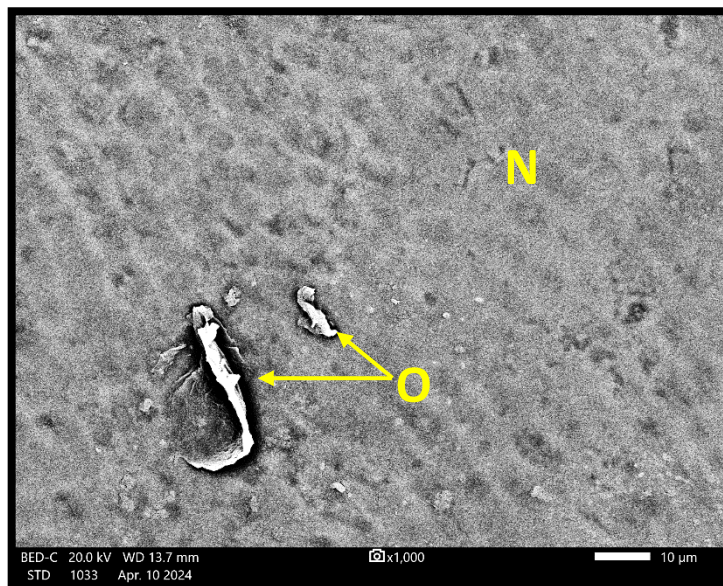
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 66 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Apadent Total Care při 500x zvětšení



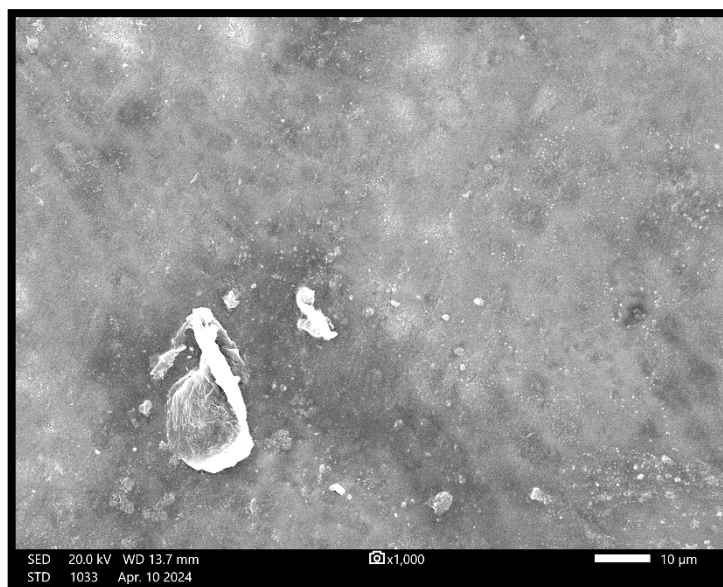
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 67 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Apadent Total Care při 1000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

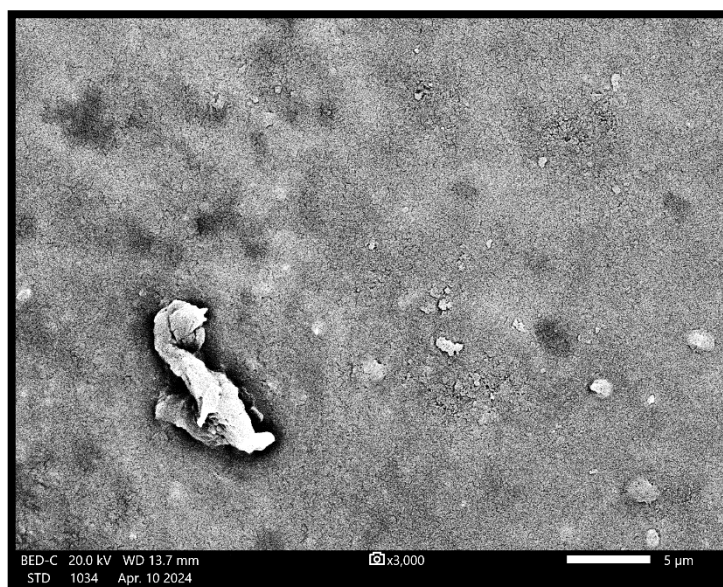
Obrázek 68 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Apadent Total Care při 1000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

N – hladký povrch remineralizované skloviny preparátem, **O** – nspecifikované útvary na povrchu skloviny

Obrázek 69 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Apadent Total Care při 3000x zvětšení



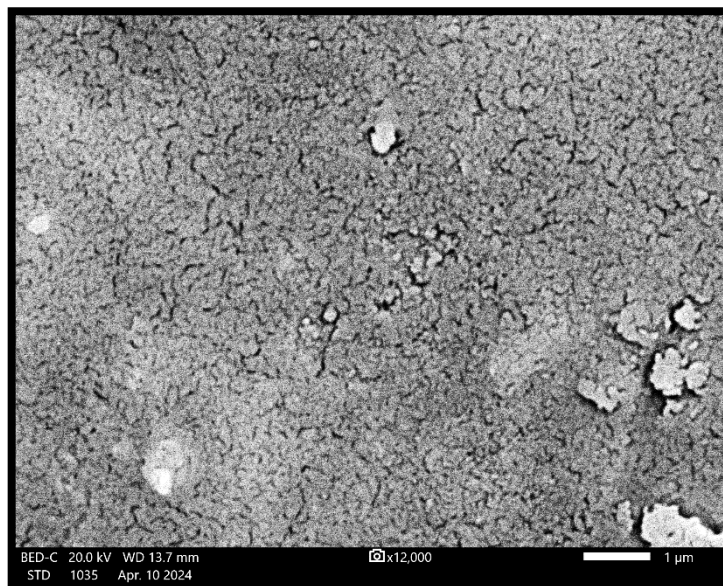
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 70 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Apadent Total Care při 3000x zvětšení



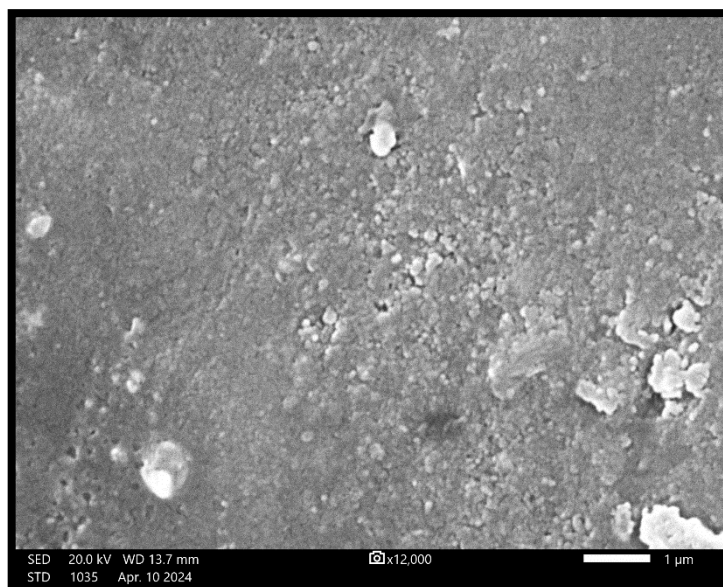
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 71 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Apadent Total Care při 12000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

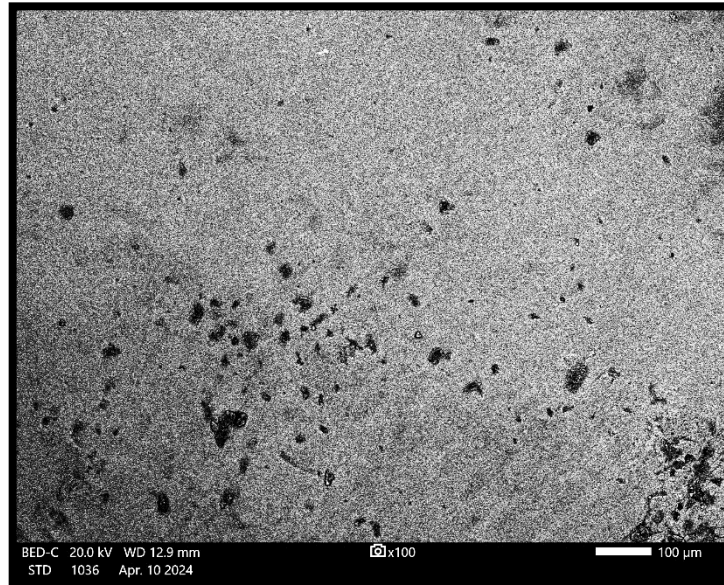
Obrázek 72 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí Apadent Total Care při 12000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

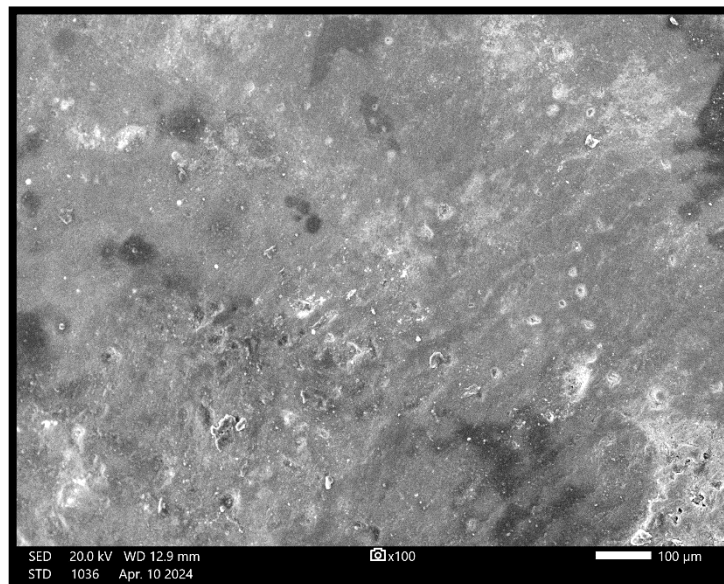
- Skupina E1 – ApaCare remineralizující zubní pasta – HA + NaF

Obrázek 73 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí ApaCare remineralizující zubní pasta při 100x zvětšení



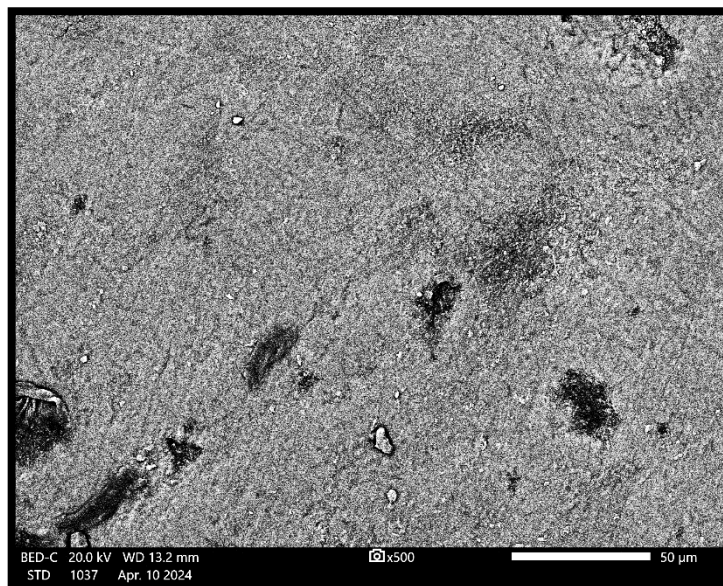
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 74 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí ApaCare remineralizující zubní pasta při 100x zvětšení



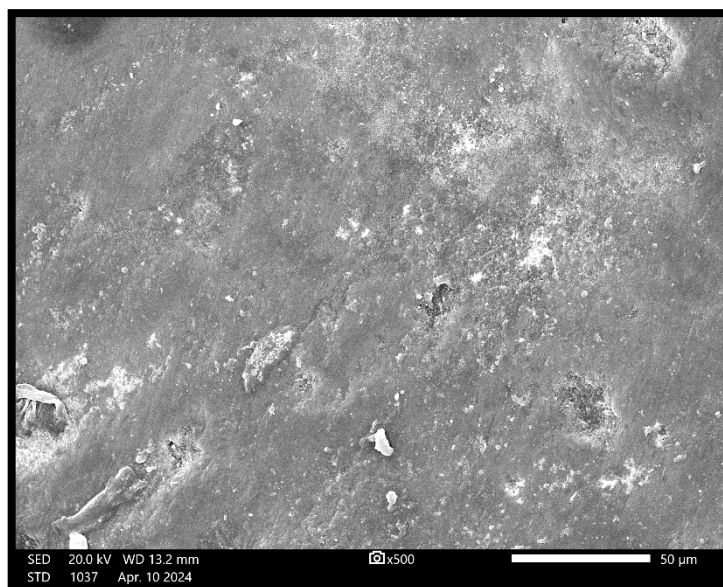
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 75 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí ApaCare remineralizující zubní pasta při 500x zvětšení



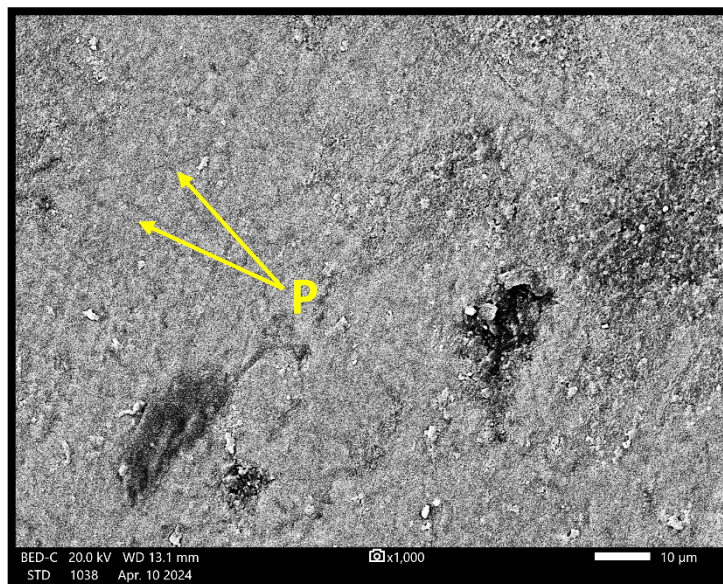
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 76 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí ApaCare remineralizující zubní pasta při 500x zvětšení



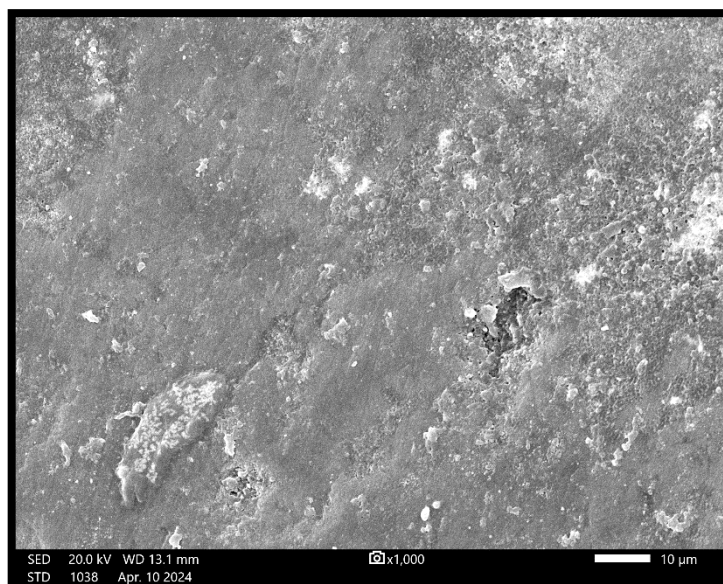
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 77 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí ApaCare remineralizující zubní pasta při 1000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

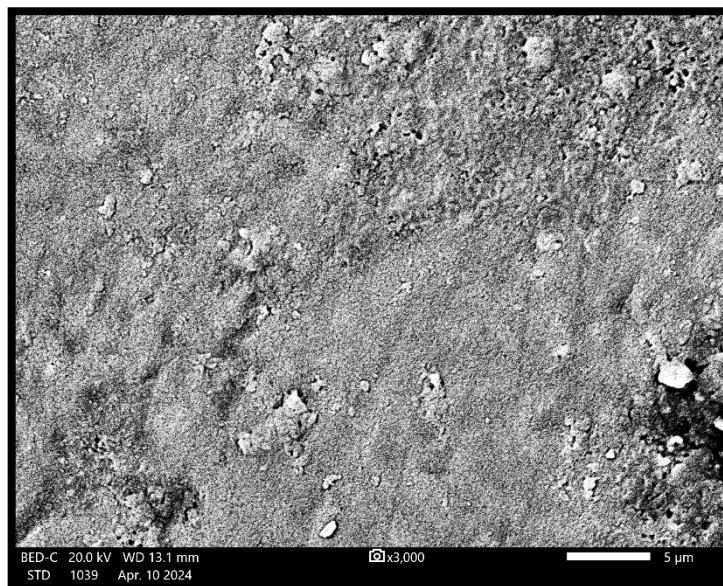
Obrázek 78 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí ApaCare remineralizující zubní pasta při 1000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

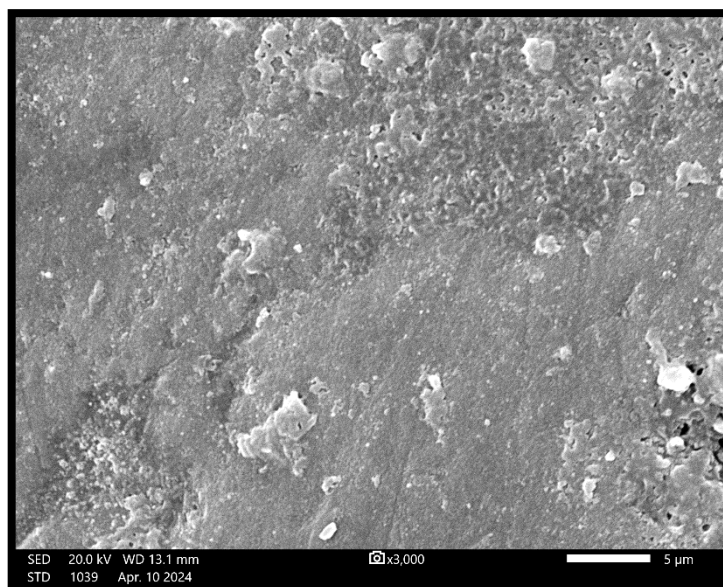
P – rýhy na povrchu skloviny

Obrázek 79 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí ApaCare remineralizující zubní pasta při 3000x zvětšení



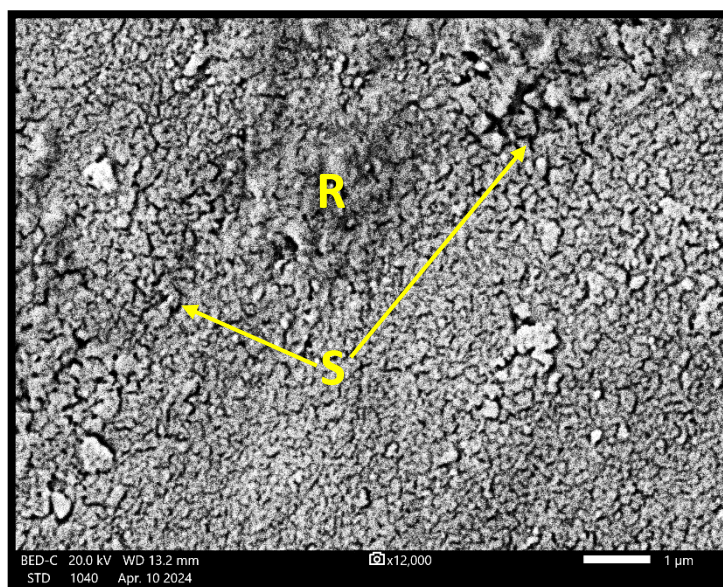
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 80 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí ApaCare remineralizující zubní pasta při 3000x zvětšení



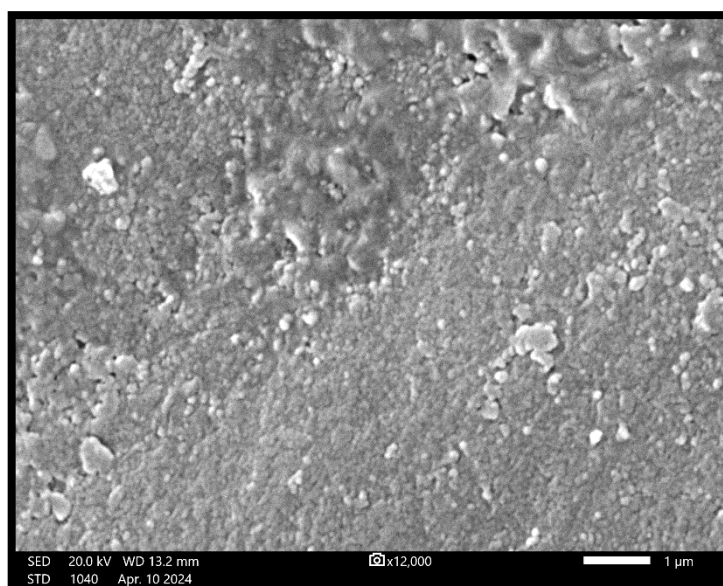
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 81 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí ApaCare remineralizující zubní pasta při 12000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

Obrázek 82 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí ApaCare remineralizující zubní pasta při 12000x zvětšení

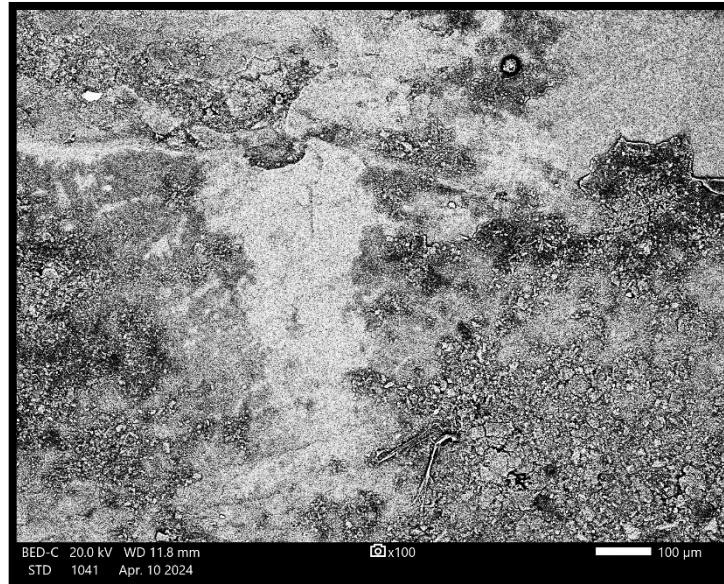


Zdroj: Archiv autora

R – hrubý povrch remineralizované skloviny preparátem, **S** – rozpad interproximální substance předchozí demineralizací

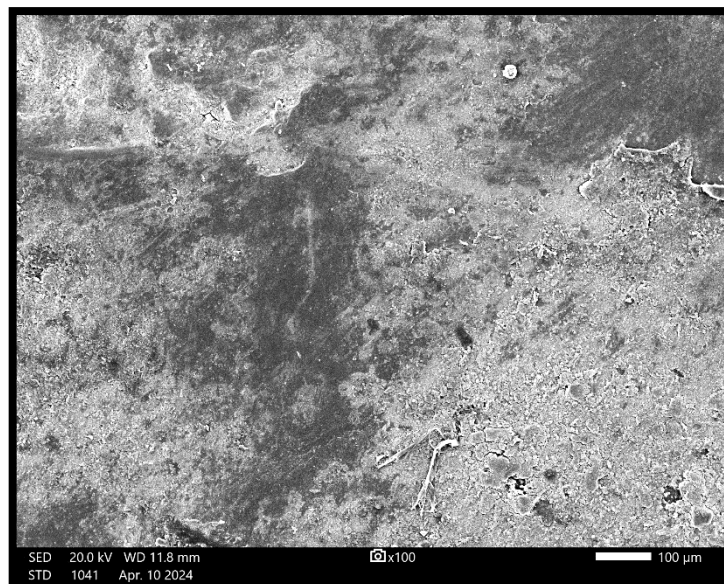
- Skupina E2 – HERBADENT Zubní pasta od prvního zoubku – HA + NaF

Obrázek 83 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT Zubní pasta od prvního zoubku při 100x zvětšení



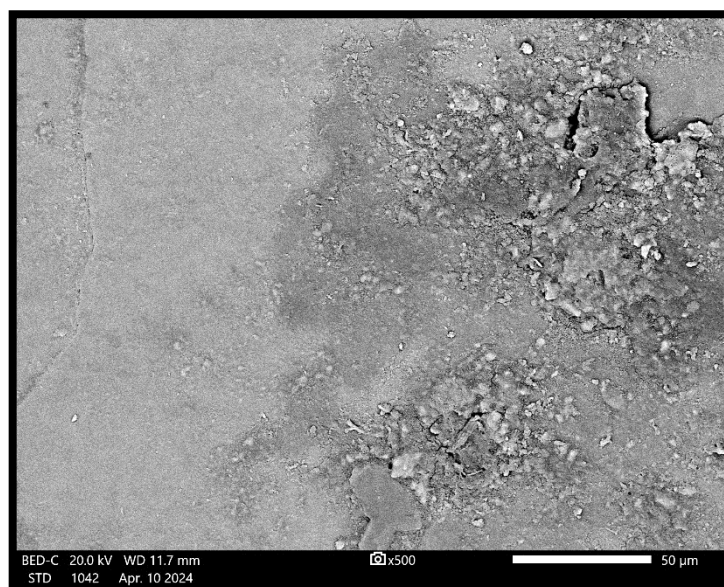
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 84 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT Zubní pasta od prvního zoubku při 100x zvětšení



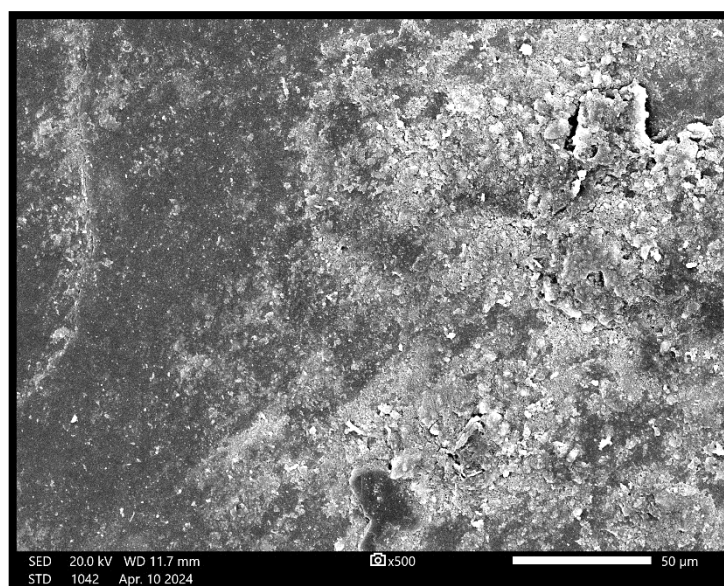
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 85 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT Zubní pasta od prvního zoubku při 500x zvětšení



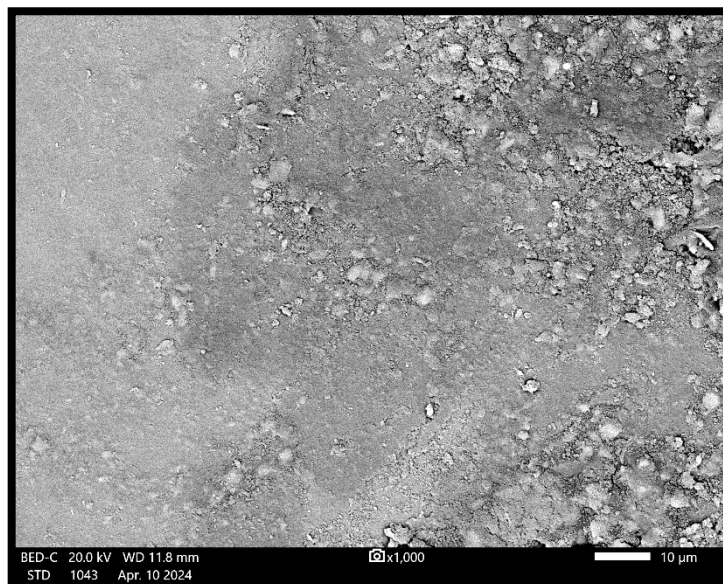
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 86 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT Zubní pasta od prvního zoubku při 500x zvětšení



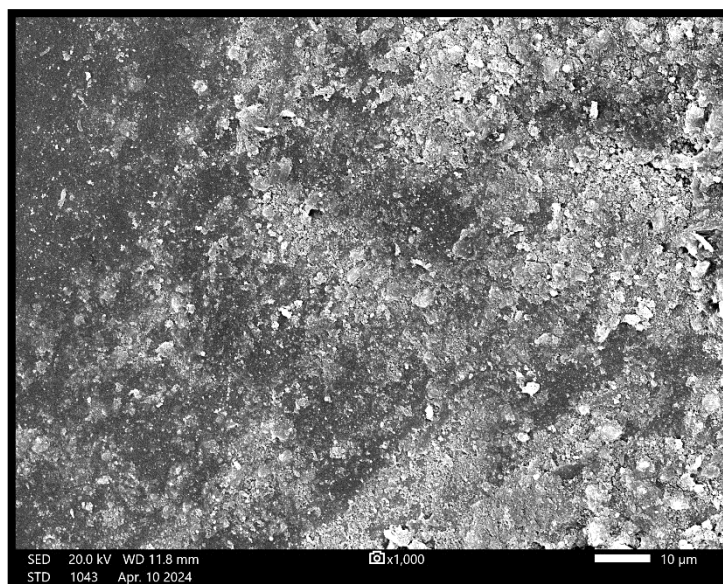
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 87 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT Zubní pasta od prvního zoubku při 1000x zvětšení



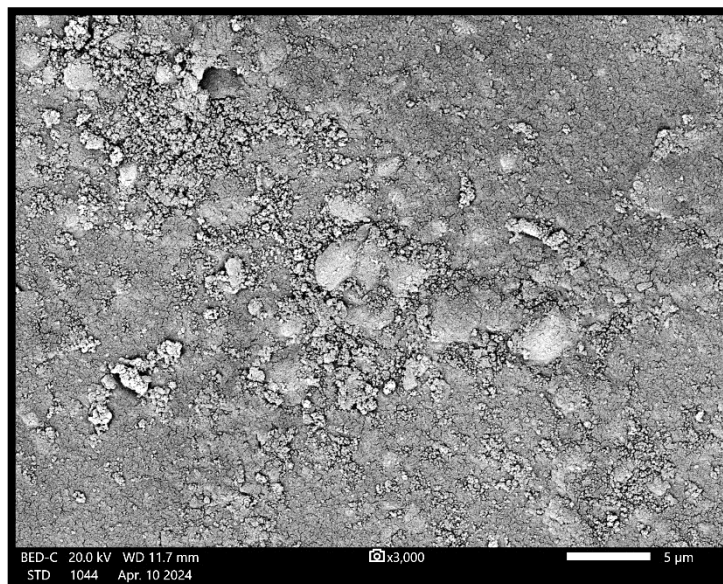
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 88 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT Zubní pasta od prvního zoubku při 1000x zvětšení



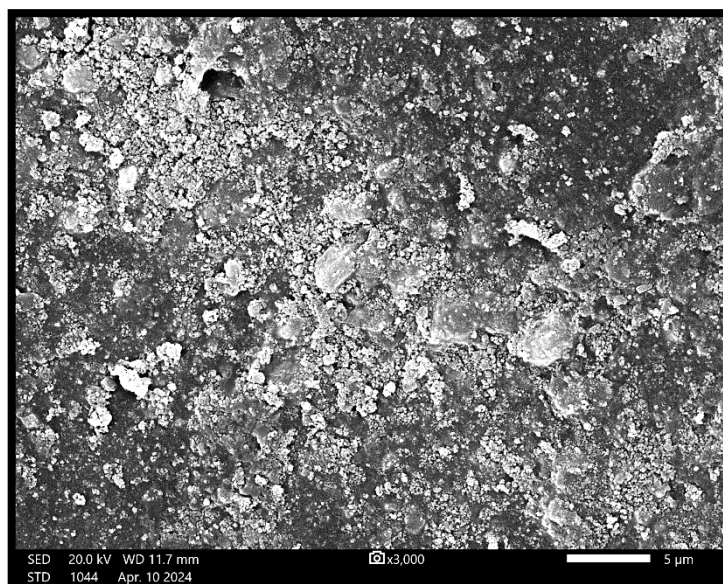
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 89 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT Zubní pasta od prvního zoubku při 3000x zvětšení



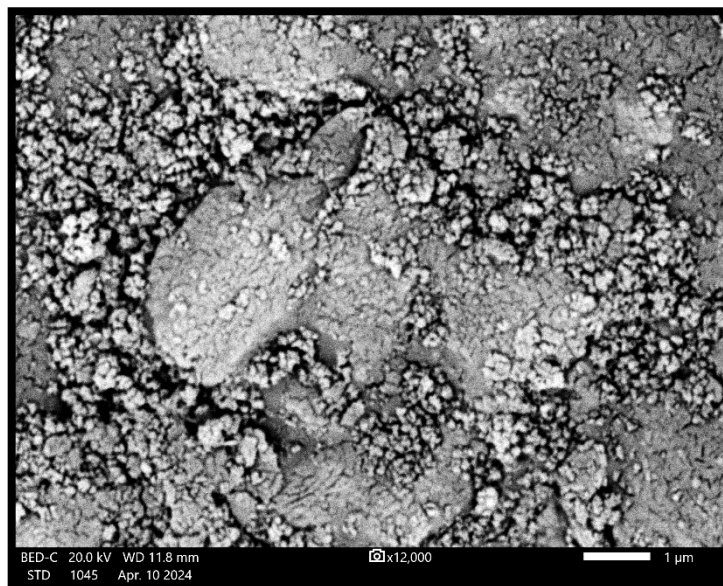
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 90 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT Zubní pasta od prvního zoubku při 3000x zvětšení



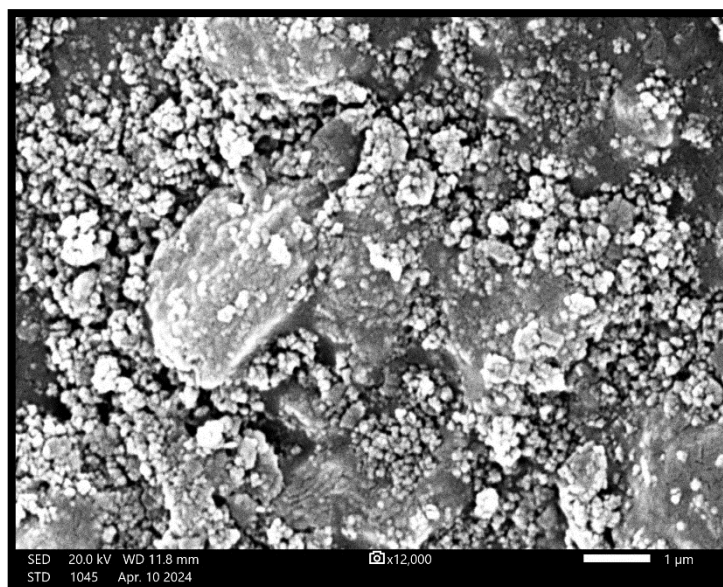
Zdroj: Archiv autora

Obrázek 91 BED-C fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT Zubní pasta od prvního zoubku při 12000x zvětšení



Zdroj: Archiv autora

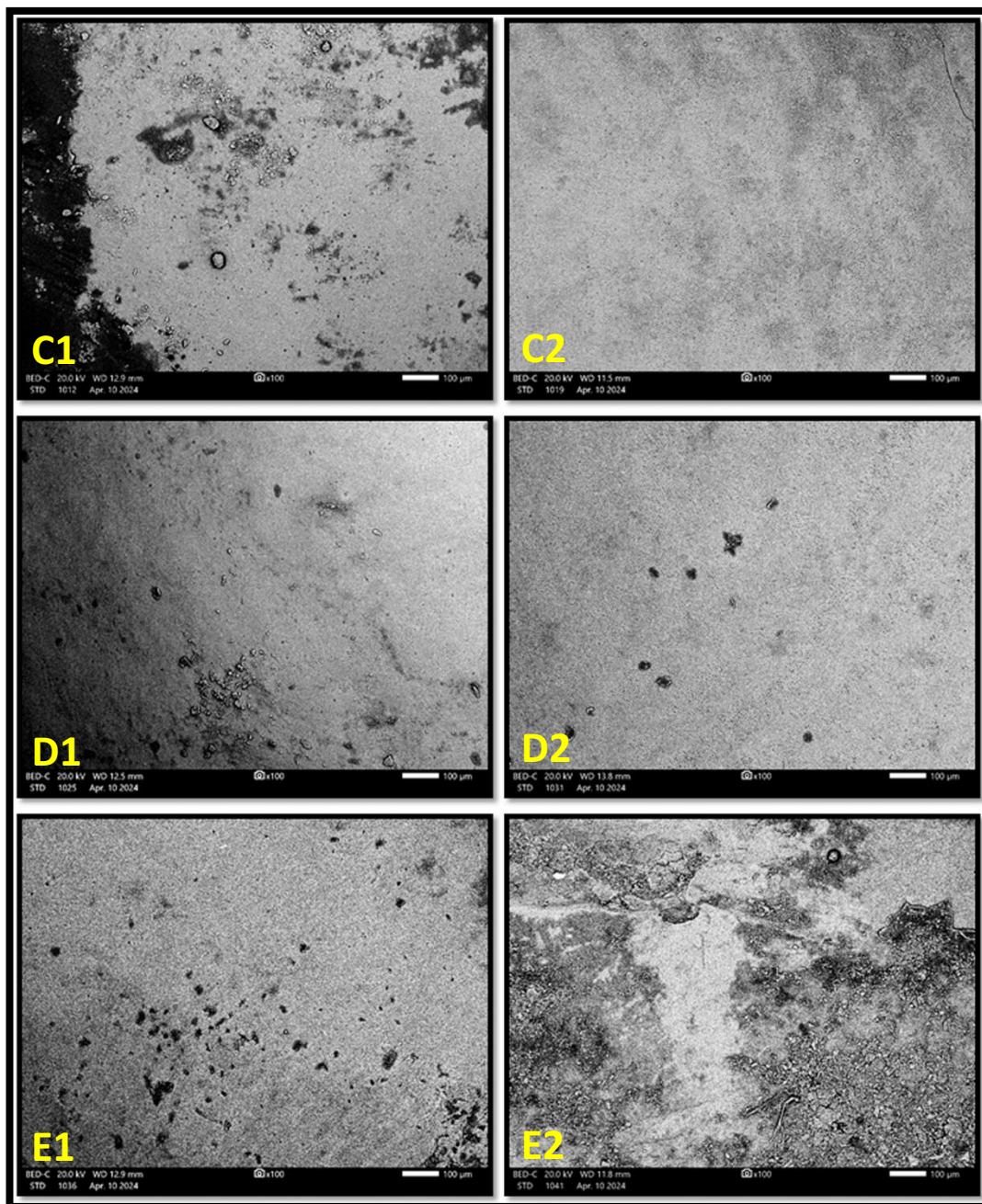
Obrázek 92 SED fotografie povrchu remineralizované skloviny pomocí HERBADENT Zubní pasta od prvního zoubku při 12000x zvětšení



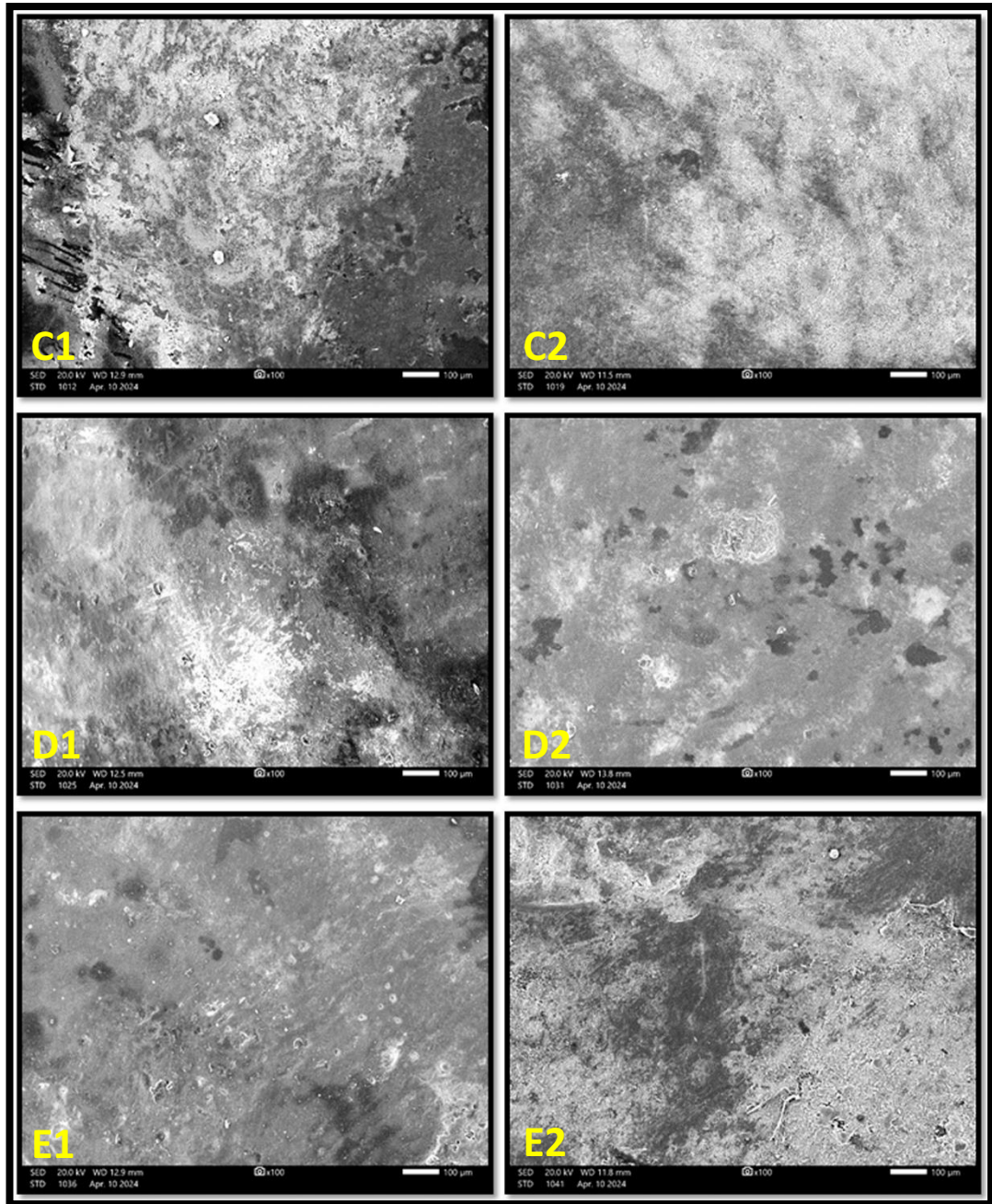
Zdroj: Archiv autora

- Koláže sloužící k porovnání jednotlivých remineralizačních preparátů při 100x, 500x a 3000x zvětšení

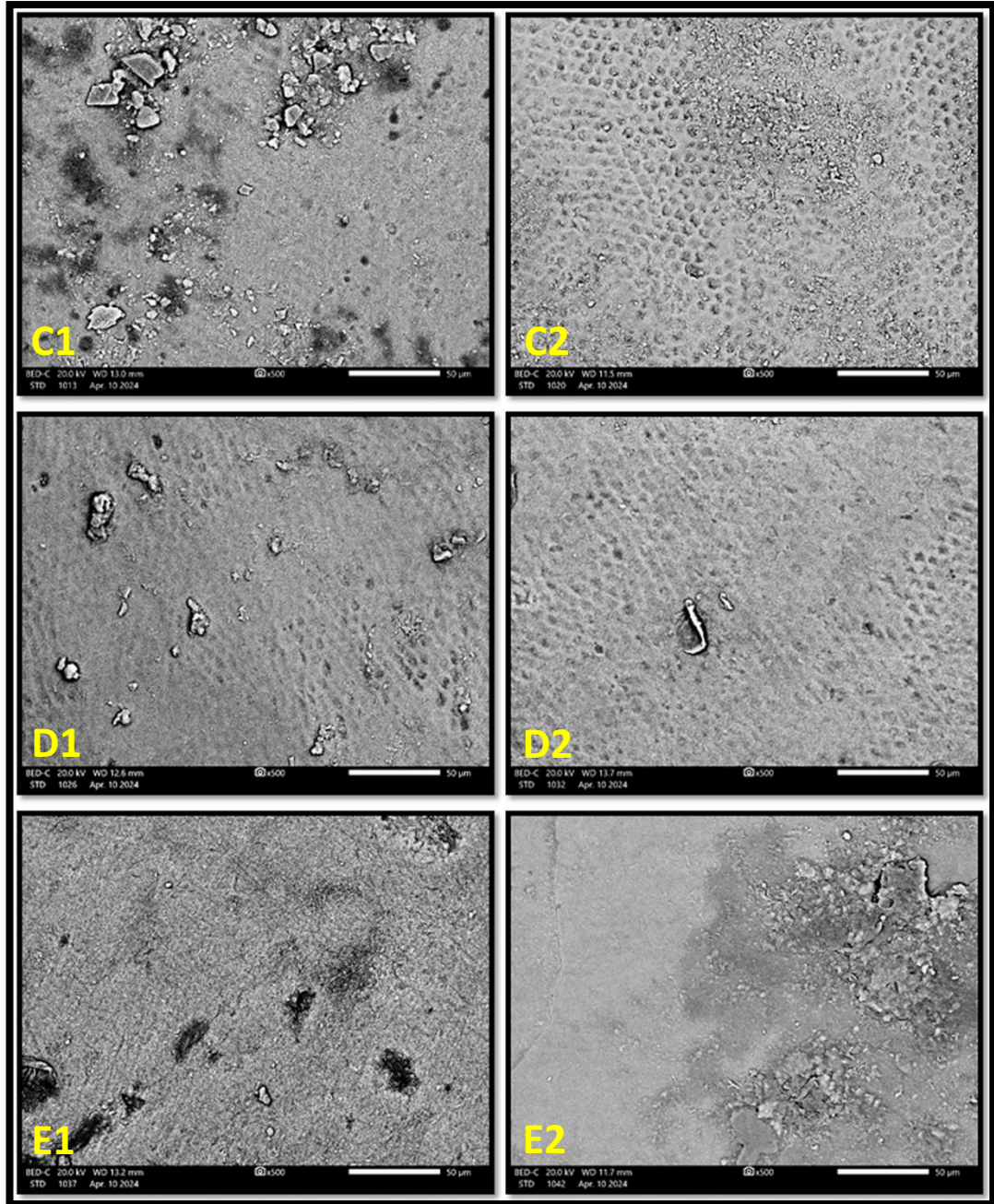
Koláž 1 Porovnání remineralizačních preparátů při 100x zvětšení metodou BED-C



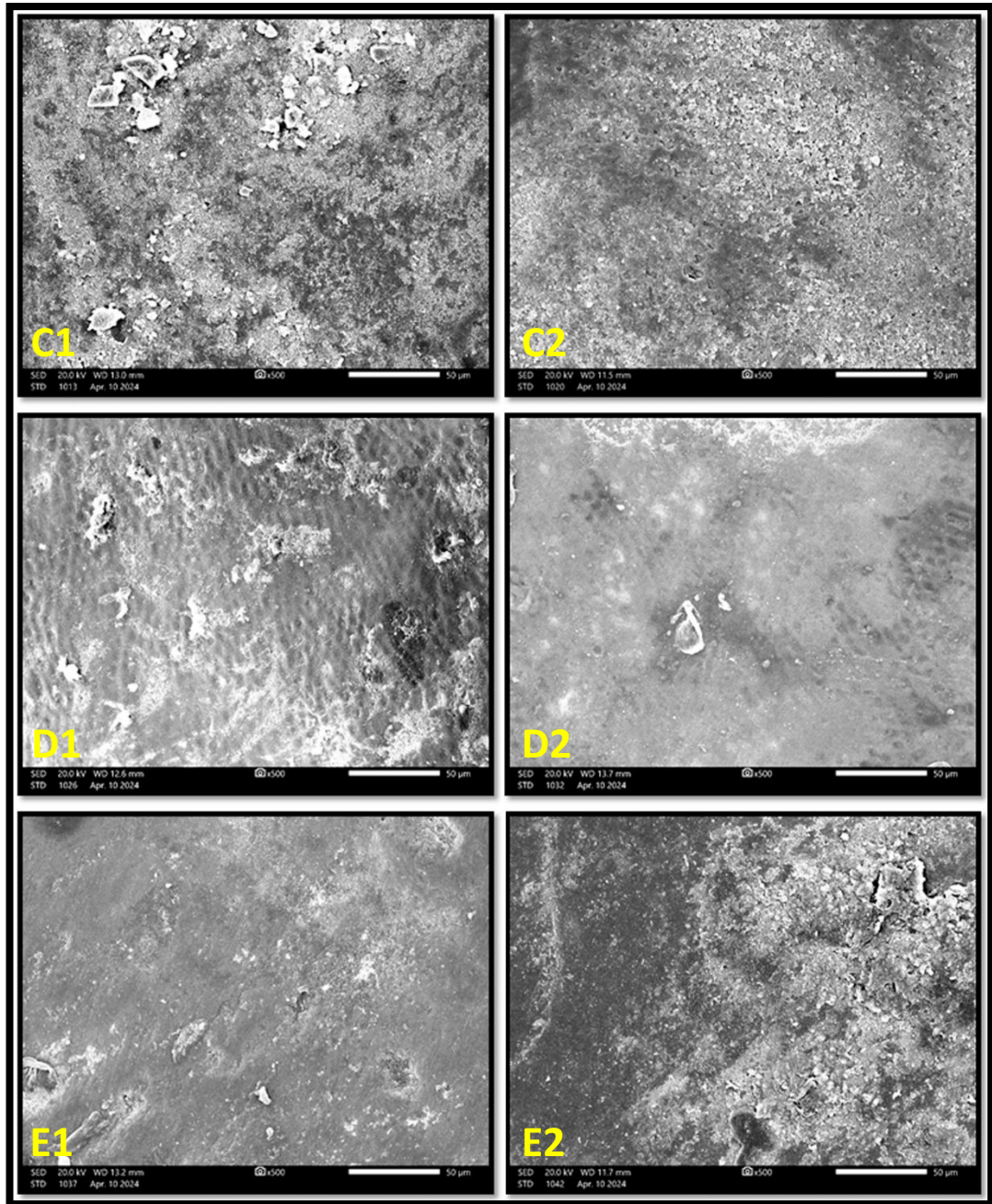
Koláž 2 Porovnání remineralizačních preparátů při 100x zvětšení metodou SED



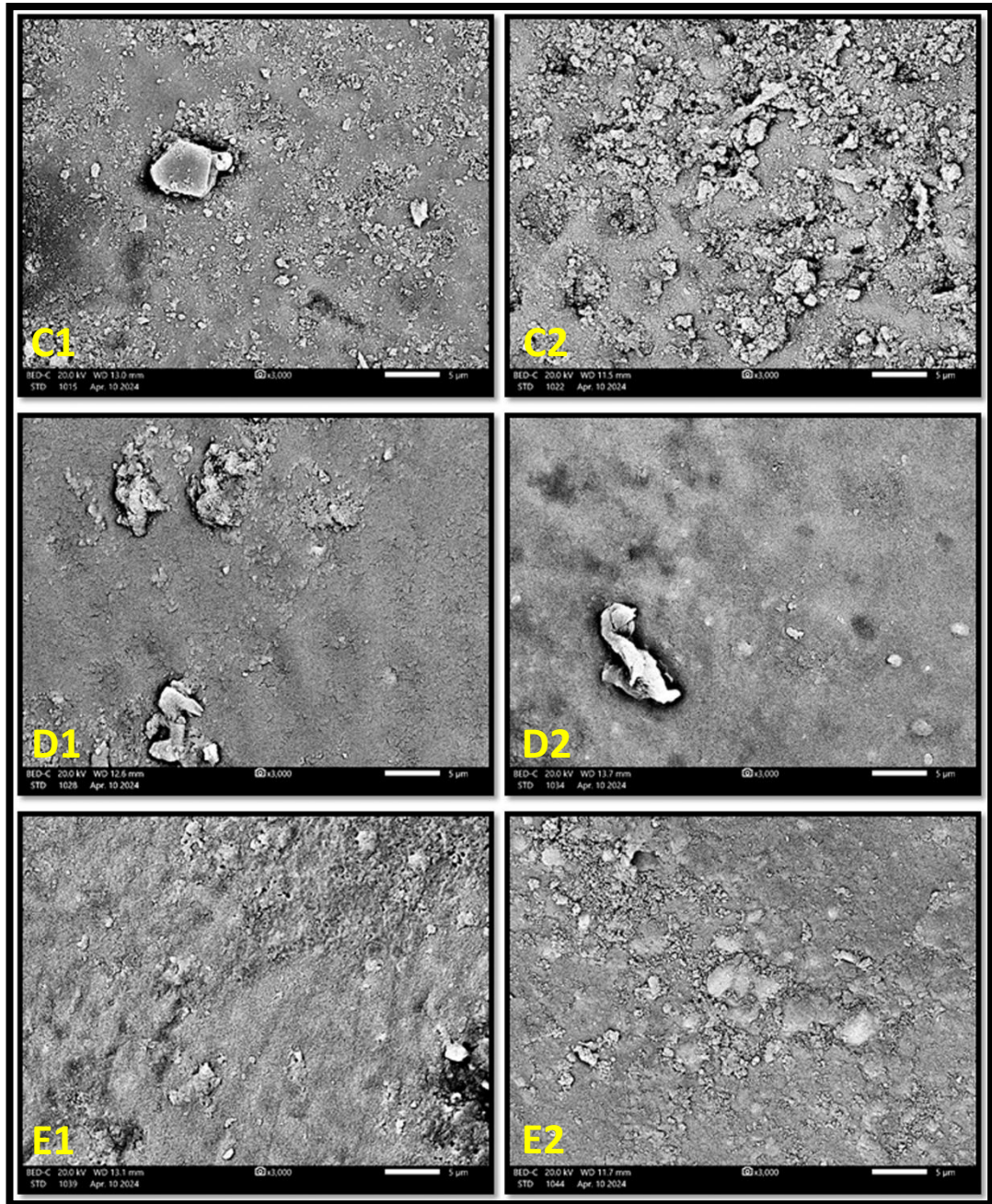
Koláž 3 Porovnání remineralizačních preparátů při 500x zvětšení metodou BED-C



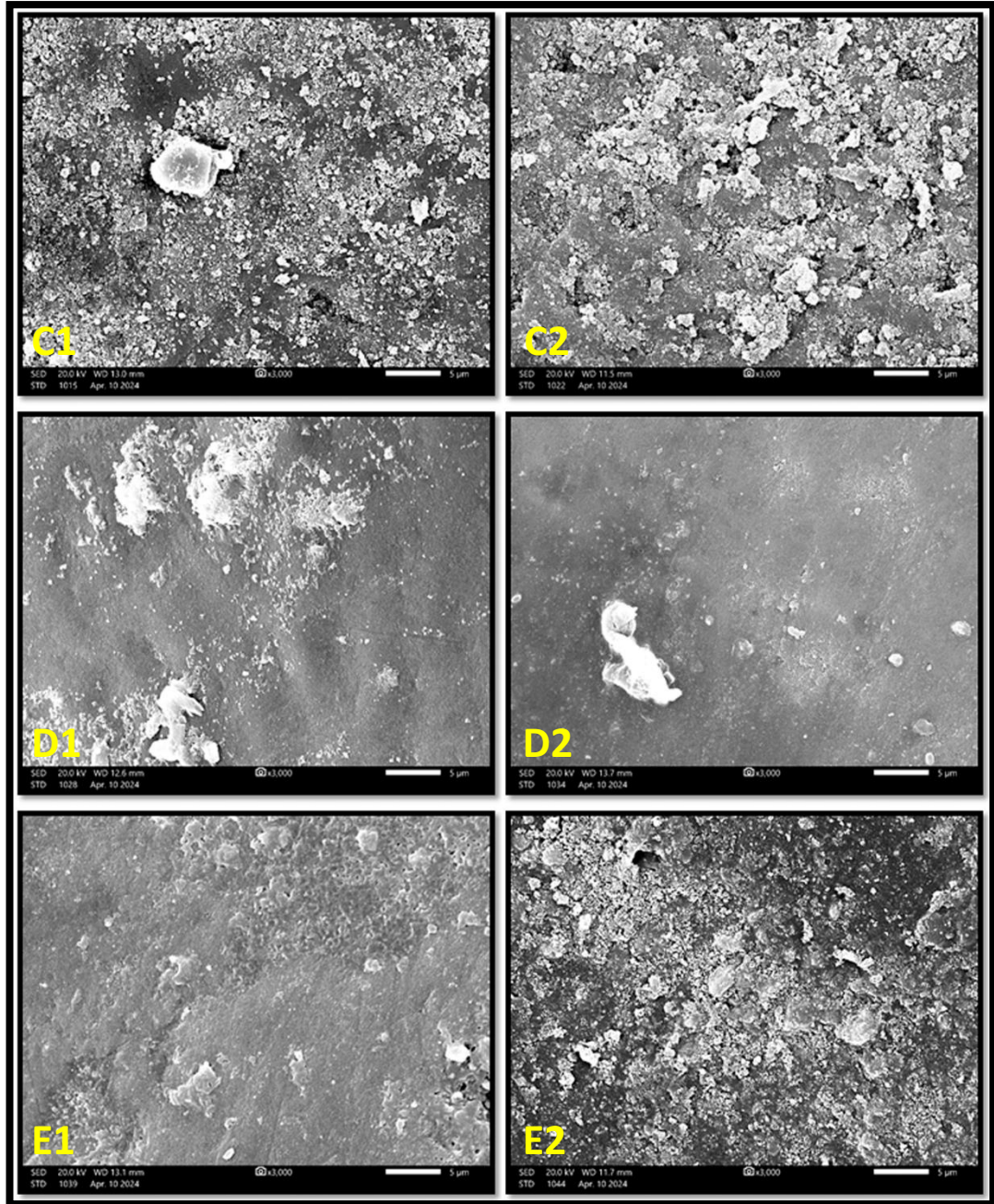
Koláž 4 Porovnání remineralizačních preparátů při 500x zvětšení metodou SED



Koláž 5 Porovnání remineralizačních preparátů při 3000x zvětšení metodou BED-C



Koláž 6 Porovnání remineralizačních preparátů při 3000x zvětšení metodou SED



2.5. Diskuse

Sklovina neustále podléhá dynamickému procesu demineralizace a remineralizace. Tyto dva protichůdné procesy se organismus snaží co nejvíce udržovat v rovnováze. Povrch intaktní skloviny je v porovnání s ostatními tvrdými zubními tkáněmi velice hladký, ale můžeme předpokládat, že během erupce zubu do dutiny ústní, a jeho následné přítomnosti v dutině ústní, bude sklovina kontinuálně opotřebovávána různými jevy. Mezi ně se řadí například atrice, abraze či eroze. Naopak můžeme také předpokládat, že za svou dobu existence v dutině ústní se na povrch a do hlubších vrstev skloviny budou usazovat a zabudovávat ionty obsažené ve slině, přípravcích navržených pro remineralizaci skloviny, jídle či tekutinách. Díky tomuto můžeme očekávat na povrchu skloviny nerovnosti nejen v defektním, ale i v přebytečném směru.

Při sledování snímků ze skenovacího elektronového mikroskopu si můžeme povšimnout, že je výrazný rozdíl nejen mezi sklovinou intaktní, demineralizovanou a remineralizovanou, ale také mezi jednotlivými preparáty určenými pro remineralizaci skloviny.

Jev, který mne velice překvapil, byl při porovnání povrchu skloviny intaktní a demineralizované. Mohli bychom očekávat, že povrch intaktní skloviny bude daleko plynulejší a vyrovnanější, ale ze snímků vyplývá, že tomu tak není. Povrch intaktní skloviny obsahuje přebytečné vysrážené krystalické struktury a zároveň je relativně nerovný, místy mikroskopicky popraskaný a obsahující rýhy způsobené pravděpodobně vnějšími vlivy při rozměňování potravy či čištění zubů a podobně. Oproti tomu povrch demineralizované skloviny se zdá být vyrovnanější. Myslím si, že tento jev vznikl díky dlouhodobě působící kyselině mléčné, která dokázala veškeré nerovnosti do jisté míry zahladit a z tohoto důvodu tedy nevidíme tolik ostrých struktur.

Zároveň i přesto, že je demineralizovaná sklovina na první pohled vyrovnanější a svou strukturou připomíná povrch ledu, můžeme pozorovat místa, na kterých je velmi dobře vidět, ve kterých oblastech dokázala kyselina penetrovat

do hlubších struktur skloviny a způsobit tím rozšíření pórů. Toto můžeme pozorovat nejlépe při 3000x zvětšení.

Dle hypotézy číslo 1 bylo předpokládáno zlepšení remineralizace skloviny díky preparátům obsahujících HA. V této studii byla potvrzena efektivita HA vzhledem k remineralizaci demineralizovaných míst skloviny. Tato hypotéza byla do jisté míry potvrzena u všech použitých preparátů, jelikož můžeme sledovat signifikantní odchylky ve schopnosti preparátů remineralizovat sklovinná prizmata. Pro srovnání můžeme uvést skupinu C2 – Herbadent REMIN obsahující HA a skupinu E1 – ApaCare remineralizující zubní pasta obsahující HA + NaF. Myslím si, že důvodem rozdílné schopnosti remineralizovat subjekty je především obohacení skupiny E1 o fluorid sodný, který se, jak bylo již v teoretické části popsáno, dokáže velice rychle navázat na krystaly HA a tvořit fluoroapatitové krystaly, které jsou větší a stabilnější. Jelikož jsem již zmínil rychlost navázání, tak si také myslím, že tento rozdíl může být způsobem relativně krátkou dobou expozice skloviny vůči remineralizačním preparátům a kdybychom subjekty remineralizovali po delší dobu, například v řádu měsíců, tak bychom mohli pozorovat menší odchylky v remineralizaci.

Hypotéza číslo 2 poukazovala na schopnost nanohydroxyapatitu výrazně snižovat hrubost povrchu skloviny, která byla popsána v rešerši obsahující celkem 17 studií sledující schopnosti nHA při in vitro podmínkách. Skupiny obsahující nHA byly skupiny D1 – APAGARD Premio a D2 – Apadent Total Care. Tato hypotéza byla potvrzena. Pokud se podíváme na povrch subjektů, které byly remineralizovány nHA, tak můžeme sledovat výrazné zlepšení jemnosti povrchu oproti preparátům které obsahovaly klasický HA / HA + NaF. Myslím si, že důvodem snížené hrubosti povrchu skloviny je schopnost nHA pronikat do výrazně menších defektů a postupně všechny zaplňovat. Taktéž si můžeme všimnout, že tyto preparáty nezanechávají prakticky žádný zbytkový materiál na povrchu skloviny, což můžeme brát jakožto další pozitivní vlastnost, jelikož by při existenci zubu v dutině ústní byla výrazně snížena akumulace zubního plaku a zbytků potravy. Nadále si můžeme povšimnout daleko jemnějšího přechodu mezi sklovinnými prizmaty

a interprizmatickou substancí, než je tomu u skupiny C2 – Herbadent REMIN. Opět si myslím, že je tento jev způsoben velikostí částic a jejich rozdílnou biokompatibilitou ve prospěch nHA.

Hypotéza číslo 3 hovoří o schopnosti preparátu obsahující zinek-hydroxyapatit v efektivnějším snížení povrchové hrubosti a porézności v porovnání s ostatními preparáty. Ve studii, ze které hypotéza vychází, byla popsána vyšší efektivita molekuly zinek-HA vzhledem k remineralizaci skloviny v porovnání s jinými preparáty. Tato hypotéza byla vyvrácena. Z hlediska snížení povrchové hrubosti zanechal preparát ze skupiny C1 – Biorepair obsahující zinek-HA výrazné množství nadbytečného materiálu na povrchu skloviny v porovnání s preparáty ze skupin D1 a D2. Snížení porézności skloviny bylo dosaženo, ale v porovnání s preparáty ze skupin E1 – ApaCare remineralizující zubní pasta a E2 – HERBADENT Zubní pasta od prvního zoubku, bylo méně efektivní. Myslím si, že důvodem vyšší schopnosti obou dvou preparátů ze skupin E1 a E2 vzhledem ke snížení porézności je opět fluorid sodný, jak bylo popsáno v hypotéze číslo 1 a teoretické části. Ačkoliv byla také v teoretické části uváděna výborná biokompatibilita zinku vzhledem k tvrdým zubním tkáním, tak si myslím, že je tento rozdíl způsoben délkou expozice skloviny vůči daným preparátům a při dlouhodobějším sledování by mohly výsledky dokonce převyšovat schopnost kombinace HA + NaF.

Celkově můžeme také pozorovat velice výrazné rozdíly mezi povrchem intaktní, demineralizované a remineralizované skloviny. U některých preparátů je na remineralizovaném povrchu skloviny daleko více materiálu uloženého na původní vrstvě povrchu skloviny. Může to být zapříčiněno absencí mechanického čištění povrchu zubu, jak by tomu bylo u jedince v dutině ústní, při pravidelném provádění řádné ústní hygieny. Mezi tyto preparáty řadíme skupiny C1 – BioRepair obsahující zinek-HA, C2 – HERBADENT REMIN obsahující HA a E2 – HERBADENT Zubní pasta od prvního zoubku obsahující HA + NaF. Můžeme předpokládat, že toto je způsobeno typem použité molekuly v preparátech.

Oproti tomu můžeme pozorovat daleko menší nánosy nadbytečného materiálu u preparátů ze skupin D1 – APAGARD Premio obsahující nHA, D2 – Apadent Total Care obsahující nHA a E1 – ApaCare remineralizující zubní pasta obsahující HA + NaF. Zde se preparát APAGARD Premio zdá být nejefektivnější v cílené remineralizaci demineralizovaných míst.

Závěr

Všechny sledované remineralizační preparáty byly schopny za dobu 14 dní úspěšně remineralizovat vzniklé defekty na povrchu skloviny po předchozí demineralizaci 0,1 M kyselinou mléčnou po dobu 3 dní. V porovnání s intaktní a demineralizovanou sklovinou byly preparáty ze skupin C1, D1, D2, E1 a E2 velice efektivní. Mezi preparáty byly rozdíly v nadbytečném krystalickém materiálu na povrchu skloviny či ve schopnosti zaplňovat vzniklé defekty po předchozí demineralizaci. Přesto můžeme považovat tyto preparáty za úspěšné při obnovení demineralizovaných míst skloviny.

Preparát ze skupiny C2 byl oproti dříve zmíněným preparátům méně efektivní, jelikož nebyl schopen za stejný čas při identických podmínkách dostatečně zaplnit defekty vzniklé po předchozí demineralizaci a zároveň zanechával velmi hrubé nánosy nadbytečného krystalického materiálu na povrchu skloviny. Můžeme tedy říci, že výsledek působení tohoto preparátu je v porovnání s výsledky jiných preparátů relativně nekonzistentní a možná bychom byli schopni sledovat menší rozdíly při dlouhodobějším působení preparátů na povrchu skloviny.

Ze všech sledovaných preparátů měly nejlepší výsledky vzhledem k remineralizaci a nezanechávání nadbytečného krystalického materiálu na povrchu skloviny preparáty ze skupiny D1 a D2. Společnou vlastností těchto preparátů je molekula nHA. Myslím si, že tento výsledek vyplývá ze schopnosti nHA cíleně remineralizovat vzniklé defekty, díky velikosti nanomolekuly.

Celkovou nevýhodou této studie je aplikace preparátů na subjekty in vitro. Všechny sledované subjekty byly remineralizovány za ideálních podmínek, které se pouze zaměřovaly na schopnost preparátů remineralizovat. Můžeme tedy předpokládat, že se bude efekt jednotlivých remineralizačních preparátů in vivo více či méně lišit v porovnání s touto studií.

Souhrn

Úvod: V dutině ústní dochází neustále k demineralizaci a remineralizaci tvrdých zubních tkání v důsledku dynamického procesu výměny kladně i záporně nabitých iontů, mezi které patří zejména F^- , Ca^{2+} a PO_4^{3-} . K remineralizaci nám neustále napomáhá slina a také látky, které aplikujeme vnější cestou formou zubních past, gelů, laků, ústních vod a podobně.

Cíle: Představit problematiku demineralizace zubní skloviny a následně nastínit způsoby, kterými můžeme dosáhnout remineralizace zubní skloviny pomocí preparátů obsahujících hydroxyapatit, nanohydroxyapatit či hydroxyapatit + fluoridy.

Metodika: Rozdělení subjektů do jednotlivých skupin, u kterých se následně sledoval intaktní, demineralizovaný či remineralizovaný povrch skloviny pomocí skenovacího elektronového mikroskopu.

Výsledky: Všechny preparáty byly schopny remineralizace povrchu skloviny. Nejefektivnější preparáty byly ze skupin D1 a D2, díky molekule nanohydroxyapatitu – nHA. Nejméně efektivní byl preparát ze skupiny C2 obsahující mikrohydroxyapatit – HA.

Závěr: Nové remineralizační systémy jsou schopny remineralizace povrchu skloviny po předchozí demineralizaci. Mezi efektivitou preparátů se vyskytují určité odchylky, které mohou být způsobeny typem obsažené molekuly v preparátu či délkou času nutnou k působení, aby byl efekt viditelný jako u jiných preparátů.

Summary

Introduction: Inside the oral cavity, demineralization and remineralization of hard dental tissues is constantly occurring due to a dynamic process of exchange between positively and negatively charged ions, which include mainly F^- , Ca^{2+} and PO_4^{3-} . Remineralisation is constantly aided by saliva and also by substances applied externally in the form of toothpastes, gels, varnishes, mouthwashes etc.

Aims: My aims are to point out the problematics of enamel demineralization and show ways to achieve remineralization using hydroxyapatite, nanohydroxyapatite or hydroxyapatite + fluoride solutions.

Methodology: Subjects were divided into groups and then the intact, demineralized, or remineralized enamel surface was observed using a scanning electron microscope.

Results: All specimens were capable of remineralising the enamel surface. The most effective specimens were from groups D1 and D2, due to the nanohydroxyapatite – nHA molecule. The least effective was the specimen from group C2 containing microhydroxyapatite – HA.

Conclusion: The new remineralisation systems are capable of remineralising the enamel surface after previous demineralisation. There is some variation in the effectiveness of the specimens, which may be due to the type of molecule contained in the preparation or the length of time required for the effect to be visible as with other specimens.

Seznam použité literatury

Knižní literatura

- [1] HELLWIG, Elmar; ATTIN, Thomas a KLIMEK, Joachim. Záchovná stomatologie a parodontologie. Praha: Grada, 2003. ISBN 80-247-0311-4.
- [2] MAZÁNEK, Jiří. Zubní lékařství: propedeutika. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-3534-4.
- [3] STEJSKALOVÁ, Jitka. Konzervační zubní lékařství. 2. vyd. Zubní lékařství. Praha: Galén, c2008. ISBN 978-80-7262-540-6.
- [4] MINČÍK, Jozef. Kariologie. Praha: StomaTeam, 2014. ISBN 978-80-904377-2-2.
- [5] LIMEBACK, Hardy. Preventivní stomatologie. Přeložil Jana KAIFEROVÁ, přeložil Zdeněk BROUKAL. Praha: Grada Publishing, 2017. ISBN 978-80-271-0094-1.
- [6] KILIAN, Jan. Prevence ve stomatologii. 2. rozš. vyd. Praha: Galén, c1999. ISBN 80-7262-022-3.
- [7] Kidd, Edwina A M, and Ole Fejerskov. Essentials of Dental Caries. Oxford Oxford University Press, 2016. ISBN 9780198738268

Webové zdroje

- [8] Featherstone JD. Dental caries: a dynamic disease process. Aust Dent J. 2008 Sep;53(3):286-91. doi: 10.1111/j.1834-7819.2008.00064.x. PMID: 18782377.
Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18782377/>
- [9] O'Hagan-Wong K, Enax J, Meyer F, Ganss B. The use of hydroxyapatite toothpaste to prevent dental caries. Odontology. 2022 Apr;110(2):223-230. doi: 10.1007/s10266-021-00675-4. Epub 2021 Nov 22. PMID: 34807345; PMCID: PMC8930857.
Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8930857/>
- [10] Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. Caries Res. 2004 May-Jun;38(3):182-91. doi: 10.1159/000077753. PMID: 15153687. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15153687/>
- [11] Farooq I, Bugshan A. The role of salivary contents and modern technologies in the remineralization of dental enamel: a narrative review. F1000Res. 2020 Mar 9;9:171. doi: 10.12688/f1000research.22499.3. PMID: 32201577; PMCID: PMC7076334.
Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32201577/>
- [12] Philip N. State of the Art Enamel Remineralization Systems: The Next Frontier in Caries Management. Caries Res. 2019;53(3):284-295. doi: 10.1159/000493031. Epub 2018 Oct 8. PMID: 30296788; PMCID: PMC6518861.
Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30296788/>
- [13] Pendrys DG, Stamm JW. Relationship of total fluoride intake to beneficial effects and enamel fluorosis. J Dent Res. 1990 Feb;69 Spec No:529-38; discussion 556-7. doi: 10.1177/00220345900690S107. PMID: 2179311.
Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2179311/>
- [14] Levy SM. Review of fluoride exposures and ingestion. Community Dent Oral Epidemiol. 1994 Jun;22(3):173-80. doi: 10.1111/j.1600-0528.1994.tb01836.x. PMID: 8070245. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8070245/>

- [15] Bentley EM, Ellwood RP, Davies RM. Fluoride ingestion from toothpaste by young children. *Br Dent J.* 1999 May 8;186(9):460-2. doi: 10.1038/sj.bdj.4800140. PMID: 10365494. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10365494/>
- [16] Tanaka M, Margolis HC. Release of mineral ions in dental plaque following acid production. *Arch Oral Biol.* 1999 Mar;44(3):253-8. doi: 10.1016/s0003-9969(98)00125-3. PMID: 10217516. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10217516/>
- [17] Biesbrock AR, Faller RV, Bartizek RD, Court LK, McClanahan SF. Reversal of incipient and radiographic caries through the use of sodium and stannous fluoride dentifrices in a clinical trial. *J Clin Dent.* 1998;9(1):5-10. PMID: 9835826. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9835826/>
- [18] ten Cate JM, Arends J. Remineralization of artificial enamel lesions in vitro: III. A study of the deposition mechanism. *Caries Res.* 1980;14(6):351-8. doi: 10.1159/000260477. PMID: 6933007. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6933007/>
- [19] Amaechi, B.T. Remineralization Therapies for Initial Caries Lesions. *Curr Oral Health Rep* 2, 95–101 (2015). Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s40496-015-0048-9>
- [20] Vranić E, Lacević A, Mehmedagić A, Uzunović A. Formulation ingredients for toothpastes and mouthwashes. *Bosn J Basic Med Sci.* 2004 Oct;4(4):51-8. doi: 10.17305/bjbm.2004.3362. PMID: 15628997; PMCID: PMC7245492. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7245492/>
- [21] Pandit S, Kim JE, Jung KH, Chang KW, Jeon JG: Effect of sodium fluoride on the virulence factors and composition of *Streptococcus mutans* biofilms. *Arch Oral Biol.* 2011 Jul;56(7):643-9. doi: 10.1016/j.archoralbio.2010.12.012. Epub 2011 Jan 15. (PubMed ID 21241981) Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21241981/>
- [22] Kanduti D, Sterbenk P, Artnik B: FLUORIDE: A REVIEW OF USE AND EFFECTS ON HEALTH. *Mater Sociomed.* 2016 Apr;28(2):133-7. doi: 10.5455/msm.2016.28.133-137. Epub 2016 Mar 25. (PubMed ID 27147921) Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27147921/>

- [23] Algarni AA, Mussi MC, Moffa EB, Lippert F, Zero DT, Siqueira WL, Hara AT: The impact of stannous, fluoride ions and its combination on enamel pellicle proteome and dental erosion prevention. PLoS One. 2015 Jun 1;10(6):e0128196. doi: 10.1371/journal.pone.0128196. eCollection 2015. (PubMed ID 26030135) Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26030135/>
- [24] Hannig M, Hannig C. Nanomaterials in preventive dentistry. Nat Nanotechnol. 2010 Aug;5(8):565-9. doi: 10.1038/nnano.2010.83. Epub 2010 Jun 27. PMID: 20581832. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20581832/>
- [25] Pepla E, Besharat LK, Palaia G, Tenore G, Migliau G. Nano-hydroxyapatite and its applications in preventive, restorative and regenerative dentistry: a review of literature. Ann Stomatol (Roma). 2014 Nov 20;5(3):108-14. PMID: 25506416; PMCID: PMC4252862. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25506416/>
- [26] Kondo et al, Study of Streptococcus Mutans Adherence to Hydroxyapatite, J Dent Hlth 49(4): 614-615, 1999. Dostupné z: <https://www.sangi-eu.com/en/sangis-nano-mhap/bacterial-adsorption/>
- [27] Huang SB, Gao SS, Yu HY. Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. Biomed Mater. 2009 Jun;4(3):034104. doi: 10.1088/1748-6041/4/3/034104. Epub 2009 Jun 5. PMID: 19498220. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19498220/>
- [28] Najibfard K, Ramalingam K, Chedjieu I, Amaechi BT. Remineralization of early caries by a nano-hydroxyapatite dentifrice. J Clin Dent. 2011;22(5):139-43. PMID: 22403978. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22403978/>
- [29] Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. J Dent. 2011 Jun;39(6):430-7. doi: 10.1016/j.jdent.2011.03.008. Epub 2011 Apr 8. PMID: 21504777. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21504777/>

- [30] Soneta SP, Hugar SM, Hallikerimath S, Gokhale N, Joshi RS, Uppin C. A Comparative Evaluation of Remineralizing Potential of Commonly Used Fluoridated Toothpaste, Herbal Toothpaste, Toothpaste with Zinc Hydroxyapatite, and Toothpaste with Calcium Sucrose Phosphate in Children: A Scanning Electronic Microscopic Study. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2022;15(Suppl 2):S158-S163. doi: 10.5005/jp-journals-10005-2143. PMID: 35645532; PMCID: PMC9108835. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35645532/>
- [31] MASALA, Ombretta; O'BRIEN, Paul; RAFELETOS, Georgios. Formation of spherical granules of calcium pyrophosphate. *Crystal growth & design*, 2003, 3.3: 431-434. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cg020064g>
- [32] AKBARI, B.; TAVANDASHTI, M. Pirhadi; ZANDRAHIMI, M. Particle size characterization of nanoparticles—a practical approach. *Iranian Journal of Materials Science and Engineering*, 2011, 8.2: 48-56. Dostupné z: https://ijmse.iust.ac.ir/browse.php?a_id=341&sid=1&slc_lang=en&ftxt=1
- [33] Cummins D, Creeth JE. Delivery of antiplaque agents from dentifrices, gels, and mouthwashes. *J Dent Res*. 1992 Jul;71(7):1439-49. doi: 10.1177/00220345920710071601. PMID: 1629461. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1629461/>
- [34] Young A, Jonski G, Rölla G. Inhibition of orally produced volatile sulfur compounds by zinc, chlorhexidine or cetylpyridinium chloride—effect of concentration. *Eur J Oral Sci*. 2003 Oct;111(5):400-4. doi: 10.1034/j.1600-0722.2003.00063.x. PMID: 12974683. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12974683/>
- [35] Segreto VA, Collins EM, D'Agostino R, Cancro LP, Pfeifer HJ, Gilbert RJ. Anticalculus effect of a dentifrice containing 0.5% zinc citrate trihydrate. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1991 Feb;19(1):29-31. doi: 10.1111/j.1600-0528.1991.tb00100.x. PMID: 2019086. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2019086/>
- [36] Kim, M.Y., Kwon, H.K., Choi, C.H., Kim, B.I., 2007. Combined Effects of Nano-Hydroxyapatite and NaF on Remineralization of Early Caries Lesion. *KEM* 330–332, 1347–1350. Dostupné z: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/kem.330-332.1347>

- [37] Aimutis WR. Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. *J Nutr.* 2004 Apr;134(4):989S-95S. doi: 10.1093/jn/134.4.989S. PMID: 15051859. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15051859/>
- [38] Alkilzy M, Santamaria RM, Schmoeckel J, Splieth CH. Treatment of Carious Lesions Using Self-Assembling Peptides. *Adv Dent Res.* 2018 Feb;29(1):42-47. doi: 10.1177/0022034517737025. PMID: 29355413. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29355413/>
- [39] Kind L, Stevanovic S, Wuttig S, Wimberger S, Hofer J, Müller B, Pielers U. Biomimetic Remineralization of Carious Lesions by Self-Assembling Peptide. *J Dent Res.* 2017 Jul;96(7):790-797. doi: 10.1177/0022034517698419. Epub 2017 Mar 27. PMID: 28346861. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28346861/>
- [40] Kirkham J, Firth A, Vernals D, Boden N, Robinson C, Shore RC, Brookes SJ, Aggeli A. Self-assembling peptide scaffolds promote enamel remineralization. *J Dent Res.* 2007 May;86(5):426-30. doi: 10.1177/154405910708600507. PMID: 17452562. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17452562/>
- [41] Schmidlin P, Zobrist K, Attin T, Wegehaupt F. In vitro re-hardening of artificial enamel caries lesions using enamel matrix proteins or self-assembling peptides. *J Appl Oral Sci.* 2016 Jan-Feb;24(1):31-6. doi: 10.1590/1678-775720150352. PMID: 27008255; PMCID: PMC4775007. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27008255/>
- [42] Takahashi F, Kurokawa H, Shibasaki S, Kawamoto R, Murayama R, Miyazaki M. Ultrasonic assessment of the effects of self-assembling peptide scaffolds on preventing enamel demineralization. *Acta Odontol Scand.* 2016;74(2):142-7. doi: 10.3109/00016357.2015.1066850. Epub 2015 Jul 9. PMID: 26156830. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26156830/>
- [43] Schlee, M., Rathe, F., Huck, T. et al. Klinischer Effekt biomimetischer Mineralisation bei Approximalkaries. *Stomatologie* 111, 175–181 (2014). Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00715-014-0335-4>

- [44] Azarpazhooh A, Limeback H. Clinical efficacy of casein derivatives: a systematic review of the literature. *J Am Dent Assoc.* 2008 Jul;139(7):915-24; quiz 994-5. doi: 10.14219/jada.archive.2008.0278. PMID: 18594077. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18594077/>
- [45] Cochrane NJ, Saranathan S, Cai F, Cross KJ, Reynolds EC. Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride. *Caries Res.* 2008;42(2):88-97. doi: 10.1159/000113161. Epub 2008 Jan 15. PMID: 18204252. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18204252/>
- [46] Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res.* 1997 Sep;76(9):1587-95. doi: 10.1177/00220345970760091101. PMID: 9294493. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9294493/>
- [47] Reynolds, E.C. (1998), Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: A review. *Special Care in Dentistry*, 18: 8-16. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1754-4505.1998.tb01353.x>
- [48] Reynolds EC. The prevention of sub-surface demineralization of bovine enamel and change in plaque composition by casein in an intra-oral model. *J Dent Res.* 1987 Jun;66(6):1120-7. doi: 10.1177/00220345870660060601. PMID: 3476583. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3476583/>
- [49] Artun J, Thylstrup A. Prevalence of carious white spots after orthodontic treatment with multibonded appliances. *Scand J Dent Res* 1986;94:193-201.
- [50] Tung MS, Eichmiller FC. Amorphous calcium phosphates for tooth mineralization. *Compend Contin Educ Dent.* 2004 Sep;25(9 Suppl 1):9-13. PMID: 15645902. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15645902/>
- [51] Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res.* 2010 Nov;89(11):1187-97. doi: 10.1177/0022034510376046. Epub 2010 Aug 25. PMID: 20739698. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20739698/>

- [52] Karlinsey RL, Pfarrer AM. Fluoride plus functionalized β -TCP: a promising combination for robust remineralization. *Adv Dent Res*. 2012 Sep;24(2):48-52. doi: 10.1177/0022034512449463. PMID: 22899679; PMCID: PMC3706171.
Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3706171/>
- [53] Walsh, L. J. "The current status of tooth crèmes for enamel remineralization." *Dental Inc* 2.6 (2009): 38-42.
- [54] Anil A, Ibraheem WI, Meshni AA, Preethanath RS, Anil S. Nano-Hydroxyapatite (nHAp) in the Remineralization of Early Dental Caries: A Scoping Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 May 5;19(9):5629. doi: 10.3390/ijerph19095629. PMID: 35565022; PMCID: PMC9102186.
Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9102186/>
- [55] Skenovací elektronový mikroskop (SEM). Online. In: MATCA. 2024.
Dostupné z: [https://matca.cz/technologie/analyticke-metody/sem/. \[cit. 2024-04-10\].](https://matca.cz/technologie/analyticke-metody/sem/. [cit. 2024-04-10].)

Seznam obrázků

OBRÁZEK 1 SCHÉMATICKÉ ZNÁZORNĚNÍ HYDROXYAPATITOVÝCH HRANOLŮ VE SKLOVINNÝCH PRIZMATECH	10
OBRÁZEK 2 FOTOGRAFIE HUNTER-SCHREGEROVÝCH PRUHŮ Z MIKROSKOPU ...	11
OBRÁZEK 3 SCHÉMATICKÉ ZNÁZORNĚNÍ TVARŮ SVAZKŮ PRIZMAT	11
OBRÁZEK 4 SCHÉMATICKÉ ZNÁZORNĚNÍ KRYSTALU HYDROXYAPATITU.....	12
OBRÁZEK 5 SCHÉMATICKÉ ZNÁZORNĚNÍ INICIÁLNÍ KARIÉZNÍ LÉZE	18
OBRÁZEK 6 SCHÉMATICKÉ ZNÁZORNĚNÍ MECHANISMU VZNIKU DEMINERALIZACE V DŮSLEDKU PŮSOBENÍ KYSELIN Z PLAKU	19
OBRÁZEK 7 SCHÉMATICKÉ ZNÁZORNĚNÍ DYNAMICKÉHO PROCESU MEZI DEMINERALIZACÍ A REMINERALIZACÍ ZUBNÍ SKLOVINY	22
OBRÁZEK 8 SCHÉMATICKÉ ZNÁZORNĚNÍ REMINERALIZACE ZUBNÍ SKLOVINY PO APLIKACI FLUORIDOVÝCH IONTŮ A NÁSLEDNÁ TVORBA FLUROAPATITU	23
OBRÁZEK 9 POLOVINA KORUNKY ZUBU PO MESIO-DISTÁLNÍ SEPARACI	35
OBRÁZEK 10 SUBJEKT ČÍSLO 20 V MIKROZKUMAVCE TYPU EPPENDORF.....	38
OBRÁZEK 11 POZLACENÝ SUBJEKT PŘILEPENÝ NA KOVOVÉ PODLOŽCE	39
OBRÁZEK 12 FOTOGRAFIE PROCESU SNÍMKOVÁNÍ POMOCÍ SKENOVACÍHO ELEKTRONOVÉHO MIKROSKOPU	40
OBRÁZEK 13 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU INTAKTNÍ SKLOVINY PŘI 100X ZVĚTŠENÍ.....	42
OBRÁZEK 14 SED FOTOGRAFIE POVRCHU INTAKTNÍ SKLOVINY PŘI 100X ZVĚTŠENÍ	42
OBRÁZEK 15 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU INTAKTNÍ SKLOVINY PŘI 500X ZVĚTŠENÍ.....	43
OBRÁZEK 16 SED FOTOGRAFIE POVRCHU INTAKTNÍ SKLOVINY PŘI 500X ZVĚTŠENÍ	43
OBRÁZEK 17 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU INTAKTNÍ SKLOVINY PŘI 1000X ZVĚTŠENÍ.....	44
OBRÁZEK 18 SED FOTOGRAFIE POVRCHU INTAKTNÍ SKLOVINY PŘI 1000X ZVĚTŠENÍ.....	44
OBRÁZEK 19 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU INTAKTNÍ SKLOVINY PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ.....	45
OBRÁZEK 20 SED FOTOGRAFIE POVRCHU INTAKTNÍ SKLOVINY PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ.....	45
OBRÁZEK 21 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU INTAKTNÍ SKLOVINY PŘI 12000X ZVĚTŠENÍ.....	46
OBRÁZEK 22 SED FOTOGRAFIE POVRCHU INTAKTNÍ SKLOVINY PŘI 12000X ZVĚTŠENÍ.....	46

OBRÁZEK 23 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU DEMINERALIZOVANÉ SKLOVINY PŘI 100X ZVĚTŠENÍ.....	47
OBRÁZEK 24 SED FOTOGRAFIE POVRCHU DEMINERALIZOVANÉ SKLOVINY PŘI 100X ZVĚTŠENÍ.....	47
OBRÁZEK 25 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU DEMINERALIZOVANÉ SKLOVINY PŘI 500X ZVĚTŠENÍ.....	48
OBRÁZEK 26 SED FOTOGRAFIE POVRCHU DEMINERALIZOVANÉ SKLOVINY PŘI 500X ZVĚTŠENÍ.....	48
OBRÁZEK 27 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU DEMINERALIZOVANÉ SKLOVINY PŘI 1000X ZVĚTŠENÍ.....	49
OBRÁZEK 28 SED FOTOGRAFIE POVRCHU DEMINERALIZOVANÉ SKLOVINY PŘI 1000X ZVĚTŠENÍ.....	49
OBRÁZEK 29 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU DEMINERALIZOVANÉ SKLOVINY PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ.....	50
OBRÁZEK 30 SED FOTOGRAFIE POVRCHU DEMINERALIZOVANÉ SKLOVINY PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ.....	50
OBRÁZEK 31 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU DEMINERALIZOVANÉ SKLOVINY PŘI 12000X ZVĚTŠENÍ.....	51
OBRÁZEK 32 SED FOTOGRAFIE POVRCHU DEMINERALIZOVANÉ SKLOVINY PŘI 12000X ZVĚTŠENÍ.....	51
OBRÁZEK 33 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ BIOREPAIR PŘI 100X ZVĚTŠENÍ.....	52
OBRÁZEK 34 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ BIOREPAIR PŘI 100X ZVĚTŠENÍ.....	52
OBRÁZEK 35 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ BIOREPAIR PŘI 500X ZVĚTŠENÍ.....	53
OBRÁZEK 36 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ BIOREPAIR PŘI 500X ZVĚTŠENÍ.....	53
OBRÁZEK 37 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ BIOREPAIR PŘI 1000X ZVĚTŠENÍ.....	54
OBRÁZEK 38 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ BIOREPAIR PŘI 1000X ZVĚTŠENÍ.....	54
OBRÁZEK 39 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ BIOREPAIR PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ.....	55
OBRÁZEK 40 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ BIOREPAIR PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ.....	55
OBRÁZEK 41 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ BIOREPAIR PŘI 12000X ZVĚTŠENÍ.....	56
OBRÁZEK 42 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ BIOREPAIR PŘI 12000X ZVĚTŠENÍ.....	56

OBRÁZEK 43 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT REMIN PŘI 100X ZVĚTŠENÍ.....	57
OBRÁZEK 44 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT REMIN PŘI 100X ZVĚTŠENÍ.....	57
OBRÁZEK 45 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT REMIN PŘI 500X ZVĚTŠENÍ.....	58
OBRÁZEK 46 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT REMIN PŘI 500X ZVĚTŠENÍ.....	58
OBRÁZEK 47 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT REMIN PŘI 1000X ZVĚTŠENÍ.....	59
OBRÁZEK 48 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT REMIN PŘI 1000X ZVĚTŠENÍ.....	59
OBRÁZEK 49 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT REMIN PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ.....	60
OBRÁZEK 50 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT REMIN PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ.....	60
OBRÁZEK 51 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT REMIN PŘI 12000X ZVĚTŠENÍ.....	61
OBRÁZEK 52 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT REMIN PŘI 12000X ZVĚTŠENÍ.....	61
OBRÁZEK 53 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APAGARD PREMIO PŘI 100X ZVĚTŠENÍ.....	62
OBRÁZEK 54 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APAGARD PREMIO PŘI 100X ZVĚTŠENÍ.....	62
OBRÁZEK 55 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APAGARD PREMIO PŘI 500X ZVĚTŠENÍ.....	63
OBRÁZEK 56 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APAGARD PREMIO PŘI 500X ZVĚTŠENÍ.....	63
OBRÁZEK 57 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APAGARD PREMIO PŘI 1000X ZVĚTŠENÍ.....	64
OBRÁZEK 58 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APAGARD PREMIO PŘI 1000X ZVĚTŠENÍ.....	64
OBRÁZEK 59 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APAGARD PREMIO PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ.....	65
OBRÁZEK 60 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APAGARD PREMIO PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ.....	65
OBRÁZEK 61 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APAGARD PREMIO PŘI 12000X ZVĚTŠENÍ.....	66
OBRÁZEK 62 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APAGARD PREMIO PŘI 12000X ZVĚTŠENÍ.....	66

OBRÁZEK 63 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APADENT TOTAL CARE PŘI 100X ZVĚTŠENÍ	67
OBRÁZEK 64 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APADENT TOTAL CARE PŘI 100X ZVĚTŠENÍ	67
OBRÁZEK 65 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APADENT TOTAL CARE PŘI 500X ZVĚTŠENÍ	68
OBRÁZEK 66 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APADENT TOTAL CARE PŘI 500X ZVĚTŠENÍ	68
67 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APADENT TOTAL CARE PŘI 1000X ZVĚTŠENÍ	69
OBRÁZEK 68 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APADENT TOTAL CARE PŘI 1000X ZVĚTŠENÍ	69
OBRÁZEK 69 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APADENT TOTAL CARE PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ	70
OBRÁZEK 70 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APADENT TOTAL CARE PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ	70
OBRÁZEK 71 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APADENT TOTAL CARE PŘI 12000X ZVĚTŠENÍ	71
OBRÁZEK 72 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APADENT TOTAL CARE PŘI 12000X ZVĚTŠENÍ	71
OBRÁZEK 73 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APACARE REMINERALIZUJÍCÍ ZUBNÍ PASTA PŘI 100X ZVĚTŠENÍ ..	72
OBRÁZEK 74 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APACARE REMINERALIZUJÍCÍ ZUBNÍ PASTA PŘI 100X ZVĚTŠENÍ ..	72
OBRÁZEK 75 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APACARE REMINERALIZUJÍCÍ ZUBNÍ PASTA PŘI 500X ZVĚTŠENÍ ..	73
OBRÁZEK 76 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APACARE REMINERALIZUJÍCÍ ZUBNÍ PASTA PŘI 500X ZVĚTŠENÍ ..	73
OBRÁZEK 77 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APACARE REMINERALIZUJÍCÍ ZUBNÍ PASTA PŘI 1000X ZVĚTŠENÍ	74
OBRÁZEK 78 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APACARE REMINERALIZUJÍCÍ ZUBNÍ PASTA PŘI 1000X ZVĚTŠENÍ	74
OBRÁZEK 79 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APACARE REMINERALIZUJÍCÍ ZUBNÍ PASTA PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ	75
OBRÁZEK 80 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APACARE REMINERALIZUJÍCÍ ZUBNÍ PASTA PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ	75
OBRÁZEK 81 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APACARE REMINERALIZUJÍCÍ ZUBNÍ PASTA PŘI 12000X ZVĚTŠENÍ	76

OBRÁZEK 82 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ APACARE REMINERALIZUJÍCÍ ZUBNÍ PASTA PŘI 12000X ZVĚTŠENÍ	76
OBRÁZEK 83 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT ZUBNÍ PASTA OD PRVNÍHO ZOUBKU PŘI 100X ZVĚTŠENÍ.....	77
OBRÁZEK 84 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT ZUBNÍ PASTA OD PRVNÍHO ZOUBKU PŘI 100X ZVĚTŠENÍ.....	77
OBRÁZEK 85 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT ZUBNÍ PASTA OD PRVNÍHO ZOUBKU PŘI 500X ZVĚTŠENÍ.....	78
OBRÁZEK 86 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT ZUBNÍ PASTA OD PRVNÍHO ZOUBKU PŘI 500X ZVĚTŠENÍ.....	78
OBRÁZEK 87 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT ZUBNÍ PASTA OD PRVNÍHO ZOUBKU PŘI 1000X ZVĚTŠENÍ.....	79
OBRÁZEK 88 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT ZUBNÍ PASTA OD PRVNÍHO ZOUBKU PŘI 1000X ZVĚTŠENÍ.....	79
OBRÁZEK 89 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT ZUBNÍ PASTA OD PRVNÍHO ZOUBKU PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ.....	80
OBRÁZEK 90 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT ZUBNÍ PASTA OD PRVNÍHO ZOUBKU PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ.....	80
OBRÁZEK 91 BED-C FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT ZUBNÍ PASTA OD PRVNÍHO ZOUBKU PŘI 12000X ZVĚTŠENÍ.....	81
OBRÁZEK 92 SED FOTOGRAFIE POVRCHU REMINERALIZOVANÉ SKLOVINY POMOCÍ HERBADENT ZUBNÍ PASTA OD PRVNÍHO ZOUBKU PŘI 12000X ZVĚTŠENÍ.....	81

Seznam koláží

KOLÁŽ 1 POROVNÁNÍ REMINERALIZAČNÍCH PREPARÁTŮ PŘI 100X ZVĚTŠENÍ METODOU BED-C.....	82
KOLÁŽ 2 POROVNÁNÍ REMINERALIZAČNÍCH PREPARÁTŮ PŘI 100X ZVĚTŠENÍ METODOU SED.....	83
KOLÁŽ 3 POROVNÁNÍ REMINERALIZAČNÍCH PREPARÁTŮ PŘI 500X ZVĚTŠENÍ METODOU BED-C.....	84
KOLÁŽ 4 POROVNÁNÍ REMINERALIZAČNÍCH PREPARÁTŮ PŘI 500X ZVĚTŠENÍ METODOU SED.....	85
KOLÁŽ 5 POROVNÁNÍ REMINERALIZAČNÍCH PREPARÁTŮ PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ METODOU BED-C.....	86
KOLÁŽ 6 POROVNÁNÍ REMINERALIZAČNÍCH PREPARÁTŮ PŘI 3000X ZVĚTŠENÍ METODOU SED.....	87