

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



**Киро ИВАНОВСКИ, Марија НАКОВА**

**Снежана ПЕШЕВСКА**

# **ОРАЛНА БИОХЕМИЈА**

**Скопје, 2012**

# ОРАЛНА БИОХЕМИЈА

---

Киро ИВАНОВСКИ, Марија НАКОВА, Снежана ПЕШЕВСКА

## Издавач:

Киро Ивановски и сор.

## Рецензенти:

Проф. д-р Златанка Белазелкоска

Проф. д-р Мирјана Поповска

Проф. д-р Ицко Ѓорѓевски

## Печати:

РИ ГРАФИКА - Скопје

## Тираж:

300 примероци

---

CIP - Каталогизација во публикација  
Национална и универзитетска библиотека „Св. Климент Охридски“, Скопје

612.015(075.8)

ИВАНОВСКИ, Киро

Орална биохемија / Киро Ивановски, Марија Накова, Снежана  
Пешевска. - Скопје : Стоматолошки факултет, 2012. - 188 стр. :  
илустр. ; 21 см

Библиографија: стр. 185-187

ISBN 978-608-65478-0-6

1. Накова, Марија [автор] 2. Пешевска, Снежана [автор]

а) Орална биохемија - Високошколски учебници

COBISS.MK-ID 92409866

---

Одобрено од Наставно-научниот совет на Стоматолошкиот факултет, на 21-та редовна седница,  
одржана на ден 14.12.2011

## ПРЕДГОВОР

Учебникот ОРАЛНА БИОХЕМИЈА е прво издание од ваков вид учебници, со комплексна содржина која дава теоретски знаења за оралната биохемија и оралната физиологија. Учебникот е изготвен од автори кои долго време се занимаваат со оваа научна дисциплина. Авторите се и основачи на предметната програма по орална биохемија на Стоматолошкиот факултет во Скопје.

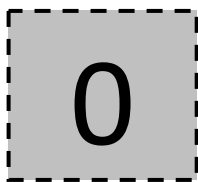
Учебникот Орална биохемија е во согласност со содржината на предметните програми и тоа за: предметот орална биохемија за доктори по дентална медицина, кој се слуша во втора година, 3 семестар; Предметот орална физиологија за стручни забни техничари, кој се слуша во прва година, 1 семестар; како и предметот орална биохемија за стручни стоматолошки сестри кој се слуша во прва година, 1 семестар.

Целата на подготовката на овој учебник е да се сублимира научната мисла во врска со процесите кои се одвиваат во усната празнина, а се од областа на орална биохемија и орална физиологија. Во последните декади во светот, но и кај нас, се направени бројни истражувања со кои науката дојде до огромен број на сознанија кои дадоа широк теоретски, но и практичен опис на процесите во оралната празнина. Следејќи ги тие сознанија, се создаде потреба од создавање на еден современ учебник преку кој студентите на лесен и разбирлив начин ќе можат да ја совладаат предметната содржина. Ваков современ учебник кој целосно ја опфаќа предметната содржина досега не е издаден на Универзитетот "Св. Кирил и Методиј" во Скопје. Досега за оваа предметна програма се користеше учебникот Основи на оралната физиологија и биохемија од истите автори, издаден во далечната 2002 година. Со оглед на тоа дека наставната содржина по предметот се измени, овој учебник стана недоволен за совладување на материјата од оваа област. Исто така, не постои превод на македонски јазик од некој учебник на странски јазик кој би ги задоволил потребите за изучување на предметните содржини предвидени во студиската програма за доктори по дентална медицина и во студиските програми за стручни стоматолошки сестри и стручни забни техничари.

Материјалот е распределен на 13 глави. Во сите глави се користи универзалната класификација што му дава инзвонредна прегледност на изнесениот материјал, овозможувајќи го согледувањето на целината и нејзините вклучени поодделни компоненти. Сите поглавја се илустрирани со бројни прилози: табели, слики и графикони што го олеснуваат разбирањето и прифаќањето на материјалот. Истите се нумерирани во согласност со поглавјето кон кое припаѓаат.

**проф. д-р Марија Накова**





## СОДРЖИНА

1. ОРАЛНА ХОМЕОСТАЗА, ПЛУНКОВНИ ЖЛЕЗДИ И РЕГУЛАЦИЈА НА СЕКРЕЦИЈА НА ПЛУНКАТА .....	7
2. МЕХАНИЗАМ НА СЕКРЕЦИЈА НА ПЛУНКАТА, БИОХЕМИСКИ СОСТАВ НА ПЛУНКАТА .....	19
3. САЛИВАРНИ ПРОТЕИНИ .....	27
4. ОДРЖУВАЊЕ НА ВЛАЖНОСТ И САМОЧИСТЕЊЕ НА ОРАЛНАТА ПРАЗНИНА .....	63
5. РЕГУЛАТОРИ НА ЕЛЕКТРОХЕМИСКАТА РЕАКЦИЈА НА ПЛУНКАТА .....	69
6. ОДРЖУВАЊЕ НА ИНТЕГРИТЕТОТ НА ОРАЛНИТЕ СТРУКТУРИ .....	75
7. МОЖНОСТИ НА ЗАШТИТА НА ОРАЛНАТА МУКОЗА .....	85
8. ЗНАЧЕЊЕ НА ПЛУНКАТА ЗА ОДРЖУВАЊЕ НА ОРАЛНОТО ЗДРАВЈЕ .....	99
9. БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ОРАЛНИТЕ СВРЗНО-ТКИВНИ СТРУКТУРИ И БИОЛОШКА МИНЕРАЛИЗАЦИЈА ..	103
10. БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ЗАБНИТЕ ТКИВА .....	121
11. СТРУКТУРА И ФУНКЦИЈА НА СТЕКНАТАТА ДЕНТАЛНА ПЕЛИКУЛА .....	133
12. БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА БИОФИЛМОТ .....	143
13. БИОФИЛМОТ И ОРАЛНАТА ХОМЕОСТАЗА .....	171
ЛИТЕРАТУРА .....	183



# 1

## **ОРАЛНА ХОМЕОСТАЗА, ПЛУНКОВНИ ЖЛЕЗДИ И РЕГУЛАЦИЈА НА СЕКРЕЦИЈА НА ПЛУНКАТА**

### **АНАТОМО-ХИСТОЛОШКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПЛУНКОВНИТЕ ЖЛЕЗДИ**

**Ацинусни клетки**

**Дуктусни клетки**

**Крвни садови**

**Инервација**

### **ТРИТЕ ЧИФТА НА ГОЛЕМИ ПЛУНКОВНИ ЖЛЕЗДИ**

### **РЕГУЛАЦИЈА НА СЕКРЕЦИЈАТА НА ПЛУНКАТА**

### **ВЛИЈАНИЕ НА РАЗЛИЧНИ ФАКТОРИ ВРЗ КВАНТИТАТИВНИТЕ И КВАЛИТАТИВНИТЕ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПЛУНКАТА**

**Нестимулирана плунка**

**Стимулирана плунка**

Claud Bernard, уште во 19-тиот век го воведува терминот Хомеостаза, што претставува способноста на организмот да одржува постојаност (константност) на внатрешната средина. Тоа подразбира непрекината функција на внатрешните органи, под контрола на Централниот нервен систем и Ендокриниот систем.

Орална хомеостаза претставува збир на механизми кои учествуваат во одржувањето и зачувувањето на здравјето на сите орални структури. Одржувањето на оралната хомеостаза е овозможено со непреченото функционирање на жлездениот апарат во кој се вбројуваат 3 чифта на плунковни жлезди: *glandulae parotis*, *glandulae submandibulares* и *glandulae sublinguales*, како и бројни, мали мукозни жлезди кои влегуваат во состав на оралната мукоза. Исклучок претставува мукозата на тврдото непце и гингивата, каде што мукозни жлезди не се присутни.

Плунковните жлезди продуцираат секрет, плунка, која е најзначајна алатка за оралната хомеостаза. Плунката претставува вода на животот на оралната празнина. Отсуство на плунка во оралната средина, претставува предуслов за бројни орални заболувања.

## АНАТОМО-ХИСТОЛОШКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПЛУНКОВНИТЕ ЖЛЕЗДИ

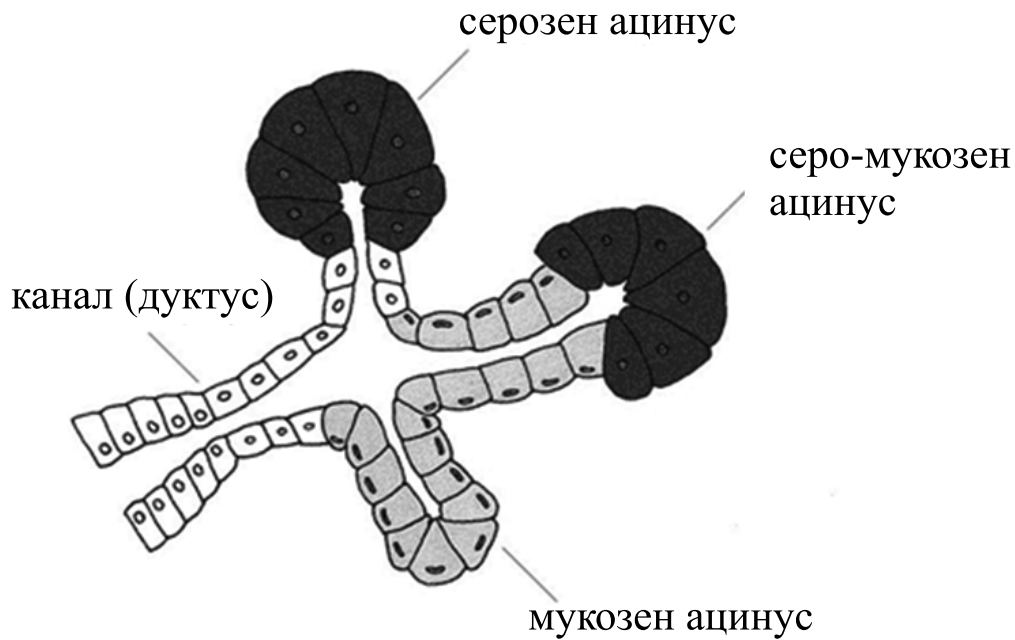
Според хистолошката градба, плунковните жлезди се изградени од жлездини ацинуси (каде што се создава примарниот секрет на идната плунка) собирни каналчиња, одводни каналчиња и главен одводен канал (дуктуси). Во собирните и одводните каналчиња, не само што се собира и одведува плунката туку настануваат и одредени измени во јонскиот состав на плунковниот секрет, благодарение на што се создава дефинитивниот секрет-плунка.

Според класичната класификација, извршена врз основа на морфолошкиот изглед на клетките, сите секреторни клетки на плунковните жлезди се вбројуваат во две екстремни групи: серозни и мукозни. Поновите истражувања, воведувањето нови техники на боење и детални испитувања на биохемискиот состав на одделни секрети од плунковните жлезди, покажаа дека спомнатата класификација не е соодветна. Во една плунковна жлезда се сретнуваат и мукозни и серозни клетки. Меѓутоа, оваа класификација е широко прифатена и може да се сретне и во најсовремените учебници од оваа област.

### Ацинусни клетки

Ацинусните клетки на плунковните жлезди имаат пирамидален облик и тркалезно се распоредени во еден ред. На тој начин ацинусните клетки создаваат една тркалезна празнина која се нарекува ацинусен лумен (слика 1.1). Луменската површина на ацинусните клетки има микровилен изглед, додека пак спротивната (базалната површина) е поголема и на нејзе се регистрираат поголем број на фалти. Помеѓу ацинусните клетки се забележуваат меѓуклеточни (интерцелуларни) каналчиња кои што всушност претставуваат продолжеток на ацинусниот лумен. Помеѓу ацинусните клетки се присутни дезмозомски и друг тип на поврзувања. Се претпоставува дека тие претставуваат бариера помеѓу интерстицијалната течност и плунката во ацинусниот лумен.





Слика 1.1: Шематски приказ на серозни и мукозни ацинуси

Во цитоплазмата на ацинусните клетки се присутни бројни органели. Ендоплазматскиот ретикулум, во вид на мрежа од тенки мембранозни каналчиња, е присутен во базалниот дел на ацинусната клетка каде се синтетизираат протеините. Голџиев апарат најчесто се забележува над јадрото на клетката во вид на сплескани вреќи на чии краеве има везикули. Голџиевиот апарат на серозните ацинусни клетки во еден дел се трансформира во цистерни во кои настанува “пакување” на протеинскиот материјал пред да се префрли во секреторните гранули. Во Голџиевиот апарат се синтетизира јаглекхидратниот синџир на саливарните протеини.

Во апикалниот дел на ацинусната клетка се наоѓаат бројни секреторни гранули. Цитоплазмата на ацинусните клетки содржи и голем број на митохондрии во кои се сместени респираторните ензими на клетката.

### Дуктусни клетки

Почетните делови на собирните и одводните каналчиња припаѓаат на ацинусната структура (слика 1.2). Тие се наречени каналчиња од I ред. Изградени се од кубични или цилиндрични клетки, а содржат мал број на органели. Овие каналчиња служат само за проток на плунката и се смета дека тие не учествуваат во дотерувањето на составот на плунката. Останатите делови од собирните и одводните каналчиња се нарекуваат каналчиња од II ред. Клетките на овие каналчиња содржат голем број на митохондрии, а нивниот број се поврзува со карактеристичната функција-транспорт на електролити. Имено, во овие каналчиња јонот на  $\text{Na}^+$  се реапсорбира од примарната плунка, додека пак јонот на  $\text{K}^+$  се излучува, а за таа активност на овие клетки им е потребна енергија која се добива во митохондриите.

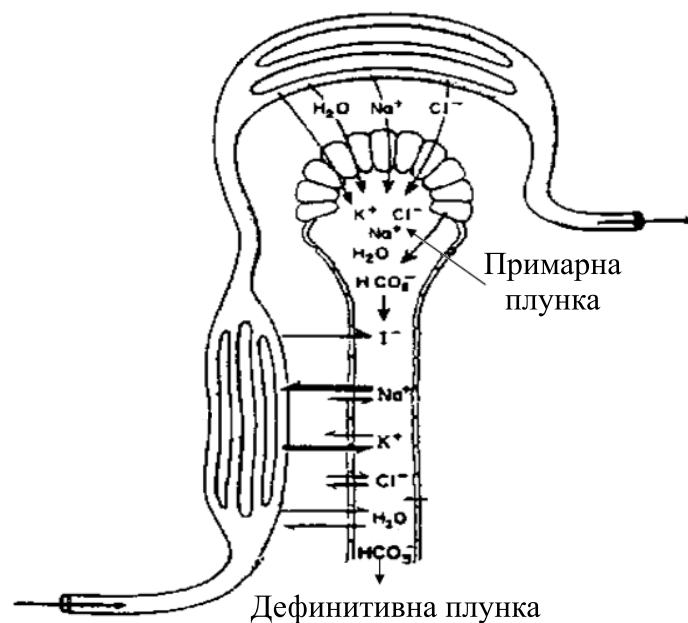


Слика 1.2: Шематски приказ на ацинусен лумен и систем на собирни и одводни каналчиња

Главниот изведен канал на плунковните жлезди ја собира плунката од каналчињата од II ред. Во споредба со останатите каналчиња овој канал е најдолг и со најголем лумен. Покрај цилиндрични клетки во главниот изведен канал се присутни и базални тркалезни клетки. Приближувајќи се кон оралниот отвор, во главниот изведен канал се забележува присуство на повеќеслоен епител. Освен што го овозможува протокот на плунката, во главниот изведен канал настанува извесно дотерување на јонскиот состав на плунката.

### Крвни садови

Плунковните жлезди се богато васкуларизирани. (слика 1.3) Впрочем, добро е познато дека секрецијата на плунка зависи од крвоснабденоста на плунковната жлезда. Една или повеќе артерии влагуваат во жлездата, каде што набргу потоа се разгрануваат на артериоли. Артериолите одат напоредно со системот на жлездените каналчиња и на крај се разгрануваат во поголем број на капилари. Капиларната мрежа е најгуста во пределот на собирните каналчиња од II ред. Одводните венски садови ги следат одводните каналчиња на плунковната жлезда. Се забележува и присуство на артериовенски анастомози.



Слика 1.3: Шематски приказ на крвоснабдувањето на плунковните жлезди

Во интерстициумот на плунковните жлезди се присутни и плазма клетки. Докажано е дека доминантни плазма клетки кои се присутни во интерстициумот на плунковните жлезди се клетките кои го продуцираат IgA. Денес со сигурност се знае дека саливарниот IgA е со локално потекло, односно дека го синтетизираат плазма клетките присутни во интерстициумот на плунковните жлезди.

Понекогаш во интерстициумот на плунковните жлезди може да се регистрира присуство на лимфоцити, макрофаги и полиморфонуклеарни леукоцити, за кои се смета дека се вклучени во заштитните механизми, со кои човековиот организам ја одржува стабилна внатрешната средина.

### **Инервација**

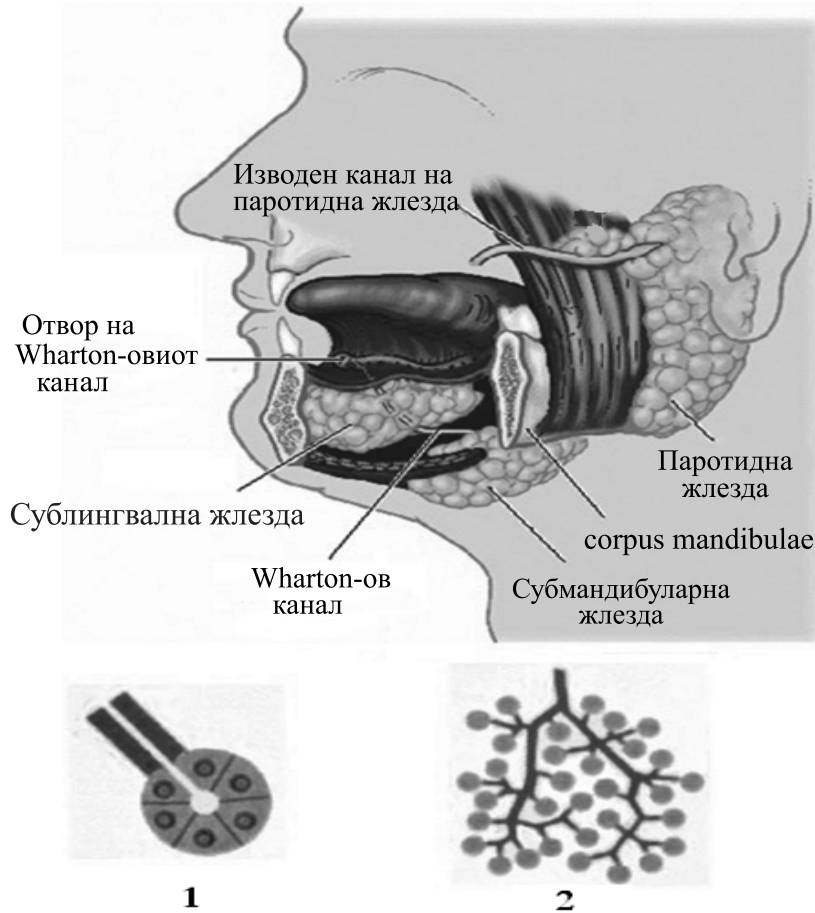
Во инервацијата на плунковните жлезди учествуваат вегетативните влакна на симпатикусот и парасимпатикусот. Стимулацијата на парасимпатикус, предизвикува вазодилатација (ширење на крвните садови) на плунковните жлезди, а како последица на тоа и пообемна секреција на плунка. Спротивен ефект се постигнува при стимулација на симпатикус, односно вазоконстрикција (стегане на крвните садови) и помало количество на излучена плунка. Поради тоа, при различни стресни ситуации, кога е стимулиран симпатикус, драстично се намалува лачењето на плунката, а како резултат на тоа се јавува непријатното чувство на “сува уста”.

### **ТРИТЕ ЧИФТА НА ГОЛЕМИ ПЛУНКОВНИ ЖЛЕЗДИ**

Плунковните и мукозните жлезди го излучуваат својот секрет во оралната празнина, каде што секретот од сите жлезди се меша. Плунката претставува мешавина на секретите кои се излучуваат од страна на трите чифта на големи плунковни жлезди (задушна, подвилична и подјазична), од малите мукозни жлезди и од гингивалната течност. При тоа се формира мешан секрет или мешана плунка (мешана салива). Процесот на лачење на плунка (салива) се нарекува саливација.

Трите чифта на големи плунковни жлезди се (слика 1.4):

1. glandulae parotis (задушни жлезди) со просечен волумен 21,6 ml;
2. glandulae submandibulares (подвилични жлезди) со просечен волумен 6,5 ml;
3. glandulae sublinguales (подјазични жлезди) со просечен волумен 3-4 ml;



Слика 1.4: Големи плунковни жлезди; Саливарните жлезди се егзокрини жлезди кои се изградени од серозни клетки околу единечен ацинус кај мала плунковна жлезда (1), или група на ацинуси со заеднички собиран канал кај голема плунковна жлезда.

Задушните жлезди се сместени ретромоларно во *fosa parotidea*. Изводниот канал на овие плунковни жлезди (*ductus parotid-ei- Sten-noni*) се излева во оралната празнина на букалната мукоза, во предел на првиот, односно вториот максиларен молар. Овие жлезди продуцираат претежно серозна плунка. Овој тип на секрет се карактеризира со процентуално ниско ниво на муцин (високомолекуларен гликопротеин) кој ја обезбедува вискозноста на секретот, поради што паротидната плунка е многу малку вискозна.

Подвиличните жлезди својот секрет го излучуваат преку *Whartonov*-иот канал во усната празнина на нејзиното дно непосредно до *frenulum linguae*. Овие жлезди лачат серомукозна плунка која се карактеризира со поголема вискозност бидејќи содржи поголема количина на муцин.

Подјазичните жлезди имаат еден изведен канал (*ductus Bartholini*), а понекогаш повеќе мали (*dd. Rivini*), коишто се отвораат на подот на усната празнина веднаш до френулот на јазикот. Секретот на овие жлезди е особено мукозен, бидејќи се карактеризира со големо кличество на муцин.

## РЕГУЛАЦИЈА НА СЕКРЕЦИЈАТА НА ПЛУНКАТА

Мешаната плунка е средство на оралната хомеостаза. Нејзиното лачење е регулирано од ендокриниот и централниот нервен систем.

Од ендокриниот систем најзначајна улога за лачење на плунка има кората на надбубрежната жлезда, која во крвта излучува повеќе хормони. Од овие хормони за саливацијата најзначаен е алдостеронот. На ниво на собирните и на изводните каналчиња на плунковните жлезди, алдостеронот учествува во регулирањето на метаболизмот на натриумот и на калиумот, а преку метаболизмот на натриумот индиректно учествува и во регулирањето на метаболизмот на хлорот. Под дејство на алдостеронот  $\text{Na}^+$ -от се ресорбира во крвта, додека  $\text{K}^+$ -от, како замена за  $\text{Na}^+$ -от, се секретира во плунковниот секрет. Благодарение на оваа услуга на алдостеронот, плунката претставува телесна течност која што е најбогата со калиум. Вредноста на калиум во плунката е три пати поголема во споредба со вредноста на калиум во серумот.

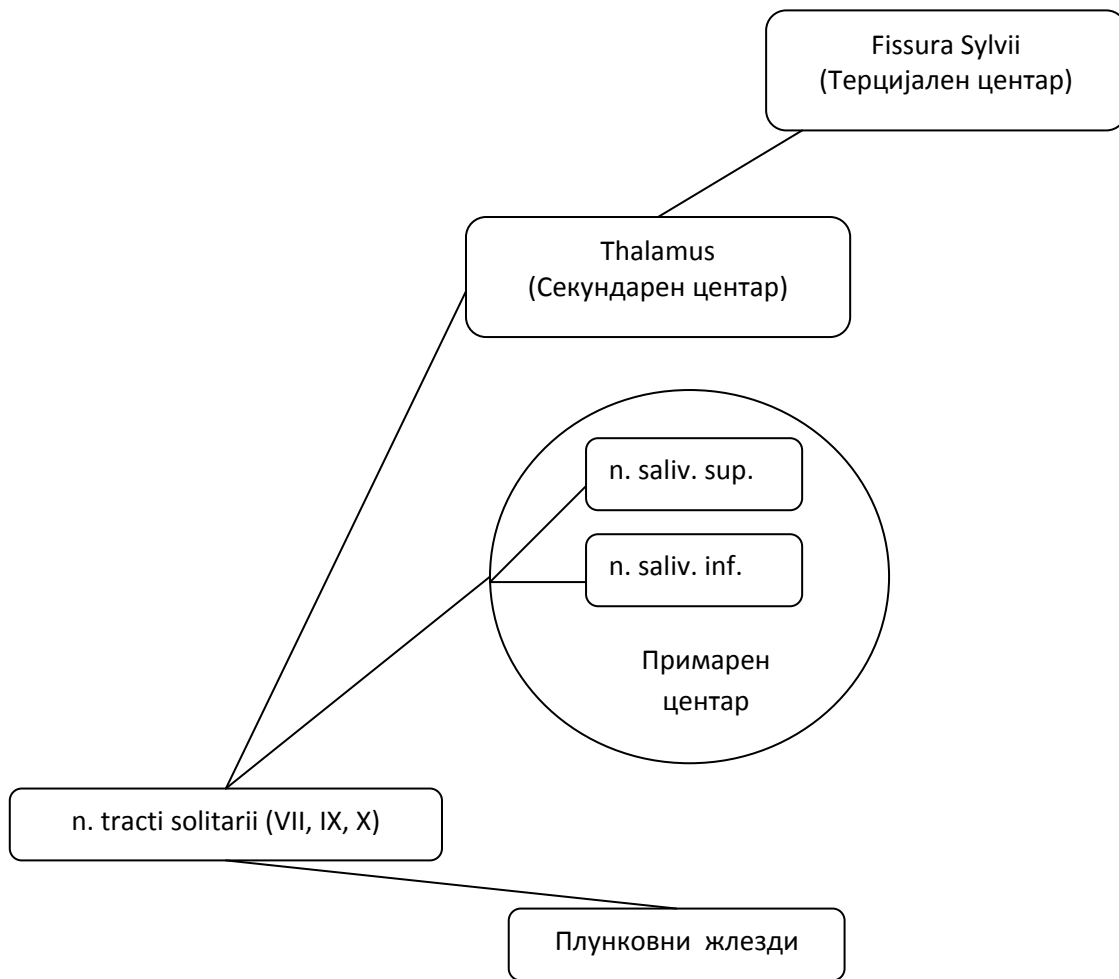
Врз лачењето на плунката значајно влијание имаат и катехоламините, особено адреналинот којшто е хормон на срцевината на надбубрежната жлезда и на симпатикусните нервни завршетоци. Врзувајќи се за  $\alpha$  рецепторите на ендотелните клетки на крвните садови, вклучувајќи ги и крвните садови на плунковните жлезди, истите предизвикуваат нивна вазоконстрикција (стеснување). На тој начин се смалува протокот на крв низ жлездениот паренхим, а со тоа значително се намалува количеството на излучена плунка. Во услови на психички стрес, што е проследено со зголемено лачење на адреналин во крвта, се лачи мало количество на густа плунка (т.н. симпатикусна плунка).

Инсулиноот, хормон на панкреасот, обезбедувајќи го нормалниот метаболизам на јаглените хидрати и мастите, има индиректно дејство врз саливацијата. Во услови на дијабет, кога инсулиноот недоволно се лачи и недоволно се секретира во крвта, се манифестираат класичните клинички знаци за оваа болест: полиурија (зголемено излучување на урина), полидипсија (незаситна жед) и полифагија (незаситна глад). Во такви услови, заради зголемен губиток на вода и дехидратација на организмот, саливацијата е намалена и се појавува сувост во устата.

Централниот нервен систем има најзначајна улога во регулацијата на саливацијата. Постојат 3 центри кои ја регулираат функцијата на плунковните жлезди и на саливацијата:

1. примарен центар на саливација, во продолжениот мозок (*medulla oblongata*)
2. секундарен центар на саливација, во таламус (мозочна крстосница на сензитивните нерви)
3. терцијален центар на саливација, во оперкуларно-инсуларната зона на кората на големиот мозок

Примарниот центар на саливација го сочинуваат горното и долното саливаторно јадро (*nucleus salivatorius superior et inferior*). Овие јадра се невронски поврзани со јадрото на трактус солитариус (*nucleus tracti solitarii*), во кој се наоѓаат јадрата на VII, IX и X кранијален нерв. Преку дендритите на овие нерви плунковните жлезди се поврзани со примарниот центар за саливација, а преку аксоните на овие нерви се поврзуваат примарниот и секундарниот центар за саливација (слика 1.5). Од секундарниот центар на саливација тргнуваат нервни влакна, кои завршуваат во оперкуларно-инсуларната зона на кората на големиот мозок (зона на *fissura Sylvii*) односно во терцијарниот центар на саливација.



Слика 1.5: Шематски приказ на нервната регулација на саливацијата

Со стимулација на секој од наведените центри може да се добие ефект на зголемено лачење на плунка. Голем број истражувања покажале дека најголемо значење за саливацијата има примарниот центар на саливација. На пример, со негова електрична стимулација, количеството на излачена плунка се зголемува за 30 пати во споредба со излачената плунка во фаза на мирување.

Постои поврзаност помеѓу центрите за саливација и центарот на сетилото за вкус (густативна зона). Имено, центарот на сетилото за вкус има иста локализација со терцијарниот центар на саливација. Сето тоа недвосмислено укажува на регулаторната улога на највисоките структури на централниот нервен систем во процесот на саливација.

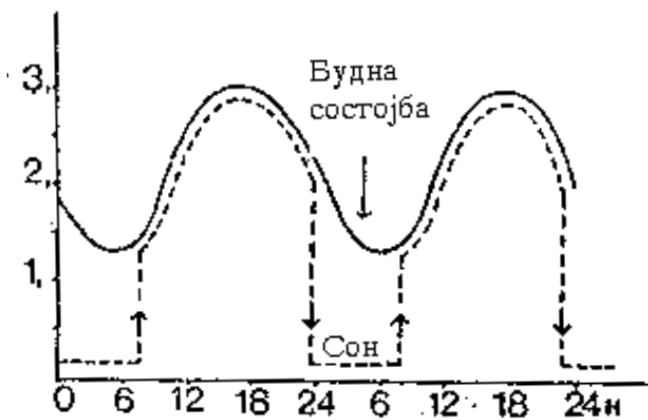
Квантитетот и квалитетот на излачената плунка зависат и од:

- состојбата во оралната празнина;
- состојбата на примарниот центар на саливација;
- состојбата на одредени делови на кората на големиот мозок.

Поради сето тоа плунката или поточно мешаната плунка, грубо може да се подели на: нестимулирана и стимулирана плунка.

Нестимулираната мешана плунка претставува производ на севкупниот жлезден апарат во услови на нестимулација, односно кога не делуваат никакви нутритивни супстанции врз густативните и останатите рецептори во усната празнина. Сепак, оваа дефиниција треба критички да се земе во предвид бидејќи апсолутно нестимулирана плунка речиси и не постои, особено во будна состојба и кога постои потполна активност на кората на големиот мозок. Добро е познато дека состојбата на примарниот центар на саливација во продолжениот мозок, зависи од активноста на повисоките центри во таламус и кората на големиот мозок. Директна последица на влијанието на повисоките центри врз примарниот центар на саливација, претставува т.н. психичко лачење на плунката, кога доаѓа до зголемено лачење на плунка без било какви дразби во оралната празнина.

Состојбата на кората на големиот мозок и на другите центри имаат влијание врз активноста на примарниот центар на саливација, за што говорат податоците кои се добиени со катетеризација на изводните канали на плунковните жлезди со цел да се собере плунката и да се измери нејзиното количество. Докажано е дека постои карактеристичен дневен ритам на саливација. Според овој ритам секретацијата на плунка практично престанува во периодот од полноќ до 6<sup>h</sup> наутро, за потоа да настане спонтано зголемување на лачењето на плунката се до 18<sup>h</sup>, кога нестимулираната саливација го постигнува својот максимум. Потоа започнува период на намалено лачење на плунката, сè до полноќ кога престанува лачењето на плунката (слика 1.6).



Слика 1.6: Дијаграм на саливација на нестимулирана плунка во текот на 24 часа

Податокот дека плунката во периодот од полноќ до 6<sup>h</sup> наутро практично не се лачи има двојно значење:

1. Со тоа се докажува дека состојбата на кората на големиот мозок значително влијае врз активноста на примарниот центар на саливација во продолжениот мозок;
2. Ефектите на самочистење на оралната средина во спомнатиот период се најмали, оралната хигиена е најлоша, а тоа значи дека заштитата на оралните структури тогаш е најмала.

Секрецијата на одделни плунковни жлезди не е соодветна на нивната големина, односно нивниот волумен. Утврдено е дека подвиличните плунковни жлезди, иако не се најголеми, лачат најголемо количество на плунка во текот на денот кога се лачи т.н. нестимулирана плунка. Имено, 65% од нестимулираната плунка потекнува од субмандибуларните жлезди, 23% од паротидните жлезди, 4% од сублингвалните жлезди, додека пак 8% од нестимулираната плунка потекнува од малите мукозни жлезди. Овој секрет (нестимулирана плунка) се лачи во релативно мало количество, просечно 0,3 ml/min.

Плунката која се лачи во услови на стимулација на бројните рецептори во усната празнина, се нарекува стимулирана плунка. Овој секрет се лачи значително повеќе (1,5-2,0 ml/min), во споредба со нестимулираната плунка. Најголем придонес во лачењето на стимулираната плунка има паротидната жлезда, која што е и најголема по волумен. Оваа плунковна жлезда за релативно кратко време може да создаде големо количество на плунковен секрет, бидејќи има и најголем капацитет за создавање на плунка заради својата големина. Придонесот на задушните жлезди во продукцијата на стимулираната плунка, изнесува над 50%.

Постојат повеќе начини на стимулација на секрецијата на плунката. Наједноставен начин на стимулација е механичката стимулација која се постигнува со дразба на механорецепторите кои се сместени во оралната мукоза. Кога овие рецептори трпат одреден притисок, тие реагираат и испраќаат импулси по нервен пат до центарот за саливација. Како резултат на тоа значително се зголемува количеството на излачена плунка. Најинтензивна стимулација на секрецијата на плунката се постигнува со густативна стимулација, кога се дразнат рецепторите за вкус кои се наоѓаат на горната површина на јазикот. Најинтензивни густативни стимулуси се различни кисели супстанции. Потврдено е дека постои и психичко лачење на плунка кое што е поврзано со сетилото за вид и/или сетилото за мирис. Познато е искуството дека самата помисла на храна, гледањето на вкусно јадење или мирисот на омилената храна предизвикува зголемено лачење на плунка во усната празнина. Истражувањата спроведени кај слепи лица, поврзани со количеството на излачена плунка, покажале дека кај овие лица обемот на секрецијата на плунка е дури за 75% помал во споредба со здравите испитаници. Ова е уште еден податок кој укажува дека кората на големиот мозок има големо влијание врз секрецијата на плунката. Имајќи го предвид дневниот ритам на секреција на плунката, вкупното количество на излачена мешана плунка во текот на 24<sup>h</sup> изнесува 700-800 ml.

## **ВЛИЈАНИЕ НА РАЗЛИЧНИ ФАКТОРИ ВРЗ КВАНТИТАТИВНИТЕ И КВАЛИТАТИВНИТЕ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПЛУНКАТА**

### **Нестимулирана плунка**

Голем број на фактори имаат влијание врз обемот на лачење нестимулирана плунка: психичка стимулација, количеството на вода во организмот, лекови, дневно-ноќен ритам, положба на телото, изложување на светлина. Фактори пак, кои не влијаат врз обемот на секрецијата на нестимулираната плунка се пол, возраст, телесна тежина.

*Психичка стимулација.* Самата помисла на храна, гледањето или мирисањето на омиленото јадење предизвикува зголемено лачење на плунка. Од друга страна пак, психичкиот стрес заради лачењето на катехоламини и вазоконстрикцијата на крвните садови предизвикува намалено лачење на плунка.



*Количество на вода во организмот.* Количеството на вода во организмот е најзначајниот фактор кој што влијае врз обемот на лачење на нестимулираната плунка. Кога количеството на вода во организмот ќе се намали за 8%, обемот на лачење на нестимулираната плунка се редуцира речиси до нулта точка. Спротивно на тоа, зголеменото количество на вода во организмот ќе предизвика и зголемено лачење на нестимулирана плунка.

*Лекови.* Многу лекови предизвикуваат намалено лачење на плунка (xerostomia): наркотици, антиконвулзивни лекови, антиеметици, лекови против Паркинсоновата болест, антипсихотици, антидепресиви, антихистаминици, антихипертензивни, антиаритмици, анксиолитици, диуретици, експекторанси, седативи и многу други.

*Дневно-ноќен ритам.* Како што претходно истакнавме, обемот на лачење на нестимулираната плунка варира во зависност од дневно-ноќниот ритам. Плунката се лачи со најмал интензитет од полноќ до шест часот наутро. После тоа, лачењето постепено се зголемува, а максимумот се постигнува околу 18 часот. Во вечерните часови постепено се намалува обемот на лачење на плунка се до најмалото полноќно ниво на лачење на плунката.

*Положба на телото и изложување на светлина.* Обемот на излачената нестимулирана плунка значително варира во зависност од тоа дали индивидуата лежи, седи или стои. Докажано е дека лачењето на плунката варира и во зависност од тоа дали индивидуата е изложена на светлина или е во мрачна просторија.

### Стимулирана плунка

Овој вид на саливарна секреција се случува како одговор на мастикаторна, густативна или некој друг вид на стимулација. Количеството на излачената стимулирана плунка е значително поголемо во споредба со количеството на излачената нестимулирана плунка. Според различни автори обемот на излачената стимулирана плунка изнесува од 1,5-7,0 ml/min.

Фактори кои имаат влијание врз лачењето на стимулираната плунка се: видот на стимулацијата, големината на плунковните жлезди, возраста, пушењето и повраќањето.

*Вид на стимулација.* Цваќање на индиферентно средство (механичка стимулација) кое не влијае врз сетилото за вкус (на пример, парафински топчиња) предизвикува зголемено лачење на плунка. Меѓутоа, многу поголемо количество на плунка ќе биде излачено доколку се стимулираат густативните рецептори (густативна стимулација). Најголем обем на саливарна секреција се постигнува со помош на лимонска киселина (7 ml/min).

*Големина на плунковните жлезди.* Секрецијата на стимулираната плунка зависн и од големината на плунковните жлезди. Како што веќе беше истакнато, најголем капацитет има најголемата плунковна жлезда (паротидната) која за кратко време може да продуцира големо количество на плунка. Меѓутоа, лачењето на нестимулираната плунка не зависи од големината на плунковните жлезди.

*Возраст.* Долго време се верувало дека саливарната секреција се намалува со годините, затоа што испитувањата воглавно биле направени на хоспитализирани испитаници, кои примале одредени лекови. Поновите истражувања покажале дека

старењето многу малку влијае врз лачењето на стимулираната и нестимулираната плунка кај здрави индивидуи, кои не примаат лекови. Се смета дека намалувањето на плунковната секреција кај старите индивидуи е последица на земање на голем број на лекови, а не е последица на старењето.

*Повраќање.* Во текот на повраќањето значително се зголемува количеството на излучена плунка. Зголениот пуферски капацитет на стимулираната плунка сепак не е доволен да го неутрализира штетниот ефект кој што го има хлороводородната киселина врз емајлот на забите.

Стимулираната плунка е помалку хипотонична од нестимулираната плунка поради помалата реасорпција на  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  од примарната плунка. Исто така варира и концентрацијата на  $\text{HCO}_3^-$ . Стимулираната плунка има поголема концентрација на  $\text{HCO}_3^-$  бидејќи се претпоставува дека дуктусните клетки при побавен тек на плунката го апсорбираат  $\text{HCO}_3^-$  а при зголемен и побрз тек дуктусните клетки го секретираат  $\text{HCO}_3^-$ . Мембранските транспортери за  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  на клетките во паротидната плунковна жлезда, при намалено лачење на плунка ја намалуваат концентрацијата на овие јони, а при зголемено лачење ја зголемуваат концентрацијата на овие јони во плунката.

# 2

## **МЕХАНИЗАМ НА СЕКРЕЦИЈА НА ПЛУНКАТА, БИОХЕМИСКИ СОСТАВ НА ПЛУНКАТА**

**МЕХАНИЗАМ НА СЕКРЕЦИЈА НА ВОДА И НА ЕЛЕКТРОЛИТИ**

**БИОХЕМИСКИ СОСТАВ НА ПЛУНКАТА**

## МЕХАНИЗАМ НА СЕКРЕЦИЈА НА ВОДА И НА ЕЛЕКТРОЛИТИ

Главен извор на плунката се плунковните жлезди, и тоа трите големи плунковни жлезди (паротидната, субмандибуларната и сублингвалната) и голем број на мали мукозни жлезди кои се сместени во оралната лигавица на усните, образите, мекото непце и јазикот. Плунковните жлезди присутни на јазикот се нарекуваат вон Ебнерови жлезди. Главните структурни компоненти на плунковните жлезди се жлездените ацинуси. Тие претставуваат група на специјализирани епителни клетки кои со својата поставеност создаваат лумен, каде што се продуцира примарната плунка. Ацинусните клетки се местото каде што започнува првиот чин на лачење на плунка, односно ултрафилтрација на крвната плазма.

На самата ацинусна клетка се разликуваат два дела: базален и луменски (апикален).

- Базалниот дел на ацинусната клетка е ориентиран кон интерстициумот. Во самиот интерстициум се наоѓа мрежа од крвни садови.
- Луменскиот дел на ацинусната клетка е ориентиран кон ацинусниот лумен каде што се собира примарната плунка.

Функцијата на ацинусните клетки зависи од интерстициската течност. Составот, пак, на интерстициската течност е во директна корелација со протокот на крв низ крвните садови како и од капиларната пропустливост. Примарната плунка, која е добиена со ултрафилтрација на крвната плазма на ниво на жлездените ацинуси, понатаму поминува низ систем на собирни и одводни каналчиња. Поминувајќи низ системот на каналчиња примарната плунка трпи одредени измени (реапсорпција на одделни материи и секреција на други), при што се создава дефинитивна плунка. Дефинитивната плунка преку главните изводни канали се излева во оралната празнина.

Секрецијата на плунката се одвива во две фази:

1. Ултрафилтрација на крвната плазма во ацинусите на плунковните жлезди при што во ацинусниот лумен се создава примарна плунка;
2. Реапсорпција и секреција на одделни материи во текот на поминувањето на примарната плунка низ системот на собирни и одводни каналчиња на плунковната жлезда, при што се формира дефинитивна плунка.

Секрецијата на водата и на електролитите со плунката, подразбира нивен транспорт од крвната плазма во ацинусниот лумен на плунковната жлезда. Тоа значи дека водата и електролитите мораат да поминат низ ацинусната клетка, односно, да ги поминат базалната и луменската мембрана на овие клетки. Мембраните на сите клетки, па и на ацинусните имаат и липидна структура, затоа се непропустливи за поларни молекули. Поради тоа потребни се специфични протеински канали за транспорт на електролитите. Такви се каналите за  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  и  $\text{Cl}^-$ . Овие електролити користејќи ги споменатите канали, можат да поминуваат низ мембраната на ацинусната клетка и да се движат во насока на понизок градиент на концентрација, без трошење на енергија.

Но, кога се движат во спротивна насока, кон повисок градиентот на концентрација, електролитите користат специфични транспортни системи:  $\text{Na}^+$ -АТРаза и  $\text{K}^+$ -АТРаза. Значи дека, кога  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  се движат од место со помала концентрација во место со поголема

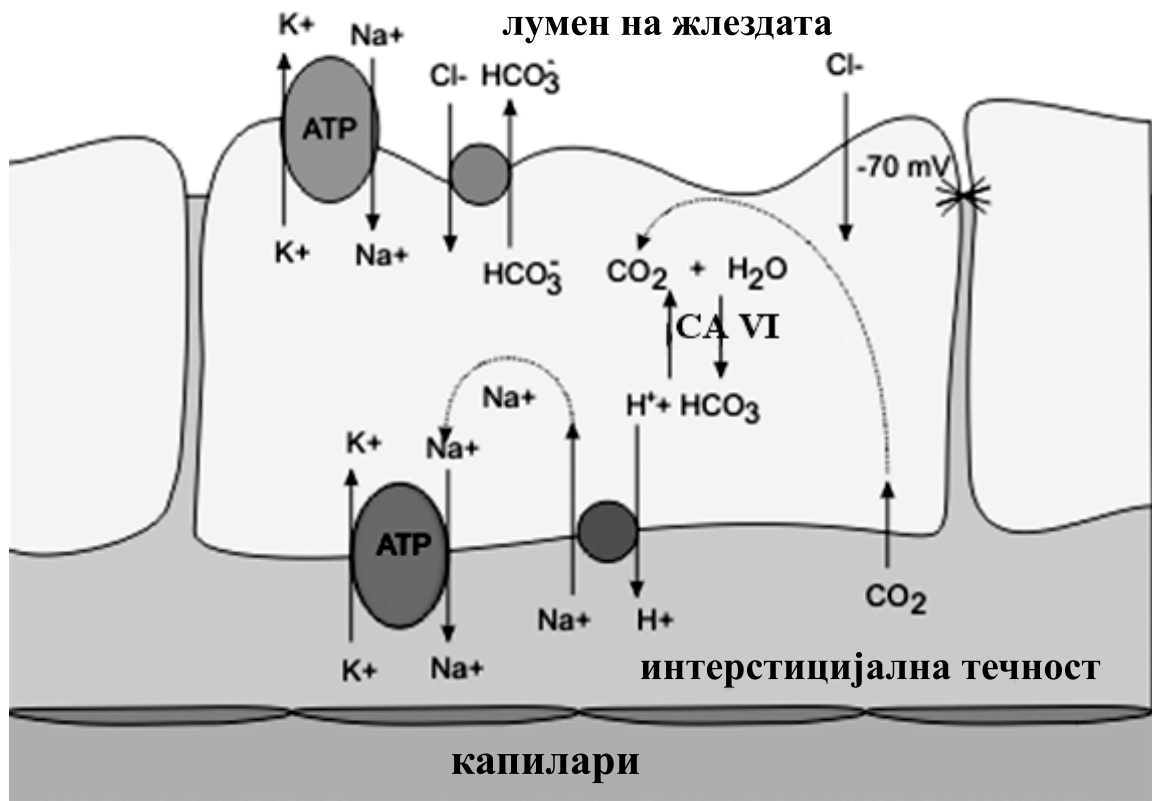
концентрација потребна е енергија која се добива од АТР. Ваквиот транспорт на материите низ клеточната мембрана е познат како активен.

Под дејство на трансмитерите (медијатори) на симпатикус и парасимпатикус на мембраната на ацинусната клетка се создава секреторен потенцијал кој изнесува (-30mV). Негативниот предзнак на секреторниот потенцијал се должи на процесот на деполаризација на мембраната како последица на навлегување на јоните на  $\text{Na}^+$  во ацинусната клетка и напуштањето на јоните на  $\text{K}^+$  на ацинусната клетка. Движењето на јонот на  $\text{Na}^+$  е условено од градиентот на концентрација на овој катјон. Имено,  $\text{Na}^+$  од место со поголема концентрација (крвна плазма) се движи внатре во ацинусната клетка, каде што неговата концентрација е ниска. Слична е состојбата и со  $\text{K}^+$ , само што овој катјон се движи во спротивна насока, од ацинусната клетка (каде што неговата концентрација е поголема) во крвната плазма (каде што неговата концентрација е помала). Поради ова доаѓа до промена на наелектризираноста, така што ацинусната мембрана станува електронегативна од надворешната страна, а воедно и секреторниот потенцијал има негативен предзнак.

Навлегувањето на катјонот на  $\text{Na}^+$ , секогаш е следено и со навлегување на анијонот на  $\text{Cl}^-$ . Понатамошната судбина на  $\text{Na}^+$ , главниот катјон на екстраклеточните течности е следна: елиминација од ацинусната клетка со помош на транспортниот систем  $\text{Na}^+$ -пумпа, која што за својата работа користи енергија од АТР ( $\text{Na}^+$ -АТРаза). Енергијата од АТР е потребна, бидејќи сега  $\text{Na}^+$  се движи спротивно на градиентот на концентрација, од место со помала концентрација во место со поголема концентрација. Како резултат на работата на  $\text{Na}^+$ -пумпа,  $\text{Na}^+$  се исфрла во почетниот дел на интерацинусното каналче. Во овој случај, движењето на  $\text{Na}^+$  е следено со движење на  $\text{Cl}^-$ , поради што во почетниот дел на интерацинусното каналче се создава хипертонична течност. Движејќи се низ интерацинусното каналче кон луменот на ацинусот, ова течност врзува вода. Водата по пат на осмоза ја напушта ацинусната клетка и пристигнува во интерацинусното каналче. На крајот од интерацинусното каналче течноста станува изотонична во однос на крвната плазма. Благодарение на опишаните процеси во ацинусниот лумен се добива примарна плунка.

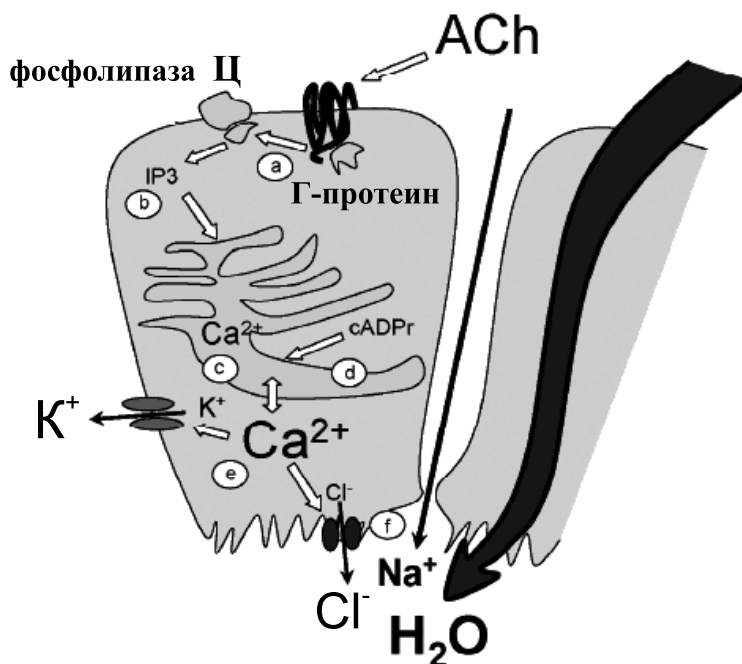
Примарната плунка, во однос на концентрацијата на електролити, е изотонична со крвната плазма и претставува нејзин ултрафилтрат. Концентрацијата на  $\text{Na}^+$  изнесува 146 mmol/l, а концентрацијата на  $\text{K}^+$  изнесува 4 mmol/l. Составот на примарната плунка секогаш е ист, независно дали настанува со стимулација на симпатикус или со стимулација на парасимпатикус. Единствена разлика е во тоа што со стимулација на парасимпатикус се овозможува поизразена секреција поради поинтензивната циркулација во интерстициумот на плунковната жлезда.

Во текот на поминувањето на примарната плунка низ системот на собирни и одводни каналчиња (слика 2.1) на плунковната жлезда, се врши реапсорпција на електролитите (се враќаат назад во крвната плазма). Поради тоа дефинитавната плунка е хипотонична во споредба со крвната плазма. Во овие процеси особено доминира реапсорпцијата на  $\text{Na}^+$  во замена за  $\text{K}^+$  ( $\text{Na}^+$  се реапсорбира, додека пак  $\text{K}^+$  се секретира). Тоа се остварува под дејство на  $\text{Na}^+$ -АТРаза и  $\text{K}^+$ -АТРаза, за што е потребна енергија од АТР. Јонот на  $\text{Cl}^-$  пасивно го следи движењето на  $\text{Na}^+$ , па затоа се јавува потреба од воспоставување на рамнотежа помеѓу катјоните и анијоните на секретот во фаза на создавање. Воспоставувањето на рамнотежата е овозможено со излучување (секреција) на бикарбонатни анијони ( $\text{HCO}_3^-$ ) од клетките на дуктусните каналчиња.



Слика 2.1: Размена на калиум и натриум во текот на поминувањето на примарната плунка низ системот на собирни и одводни каналчиња (на сликата се прикажани случувањата во една дуктусна клетка)

Примарната и дефинитивната (конечната) плунка значително се разликуваат, пред се, според содржината на електролитите и според осмотската концентрација. Дефинитивната плунка е хипотонична течност и нејзината осмоларност изнесува  $1/10$  од осмоларноста на примарната плунка, односно од осмоларноста на крвниот серум. Карактеристика на дефинитивната плунка е и тоа што содржи голема концентрација на  $\text{K}^+$ . Познато е дека калиумот претставува главен катјон на сите интраклеточни течности, додека неговата концентрација во екстраклеточните течности е значително пониска. Но во однос на ова, плунката е исклучок, бидејќи претставува телесна течност која е најбогата со  $\text{K}^+$ . Оваа висока концентрација на калиумот е условена со замената на натриумот за калиум ( $\text{Na}^+$  се реапсорбира, додека пак  $\text{K}^+$  се излачува) на ниво на собирните и одводните каналчиња на плунковните жлезди.



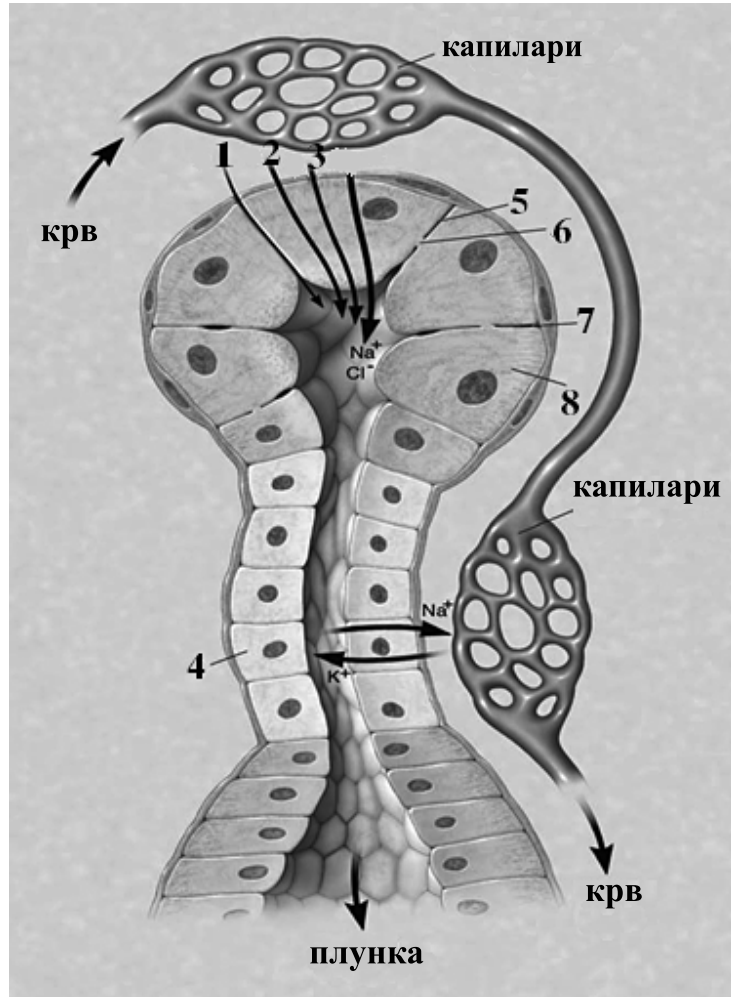
Слика 2.2: Значењето на ацетилхолинот во регулација на лачењето на електролитите во плунката

Концентрацијата и соодносот на електролитите во плунката можат значително да варираат што зависи од интензитетот на стимулацијата и обемот на лачењето на плунката. При слабо назначена секреција, нестимулираната плунка е назначено хипотонична бидејќи секретот многу побавно се движи низ системот на собирни и одводни каналчиња. Поради бавното движење на примарната плунка низ каналчињата, овозможена е речиси потполна реасорпција на електролитите од примарниот секрет. Но, при интензивна секреција (стимулирана плунка), осмоларноста на плунката може да достигне 3/4 од осмоларноста на крвниот серум. Причина за тоа е што системот на собирни и одводни каналчиња на плунковните жлезди при брз проток на примарната плунка не е во состојба во потполност да изврши реасорпција на електролитите. Поради тоа поголем дел од електролитите се задржува во дефинитивниот секрет, така што дефинитивната плунка се карактеризира со висока осмоларност.

Значајна улога во регулацијата на секрецијата на водата и електролитите од страна на плунковните жлезди, имаат инозитол-3-фосфат (IP<sub>3</sub>) и Ca<sup>2+</sup> како секундарни гласници. Концентрацијата на калициумот во цитоплазмата на клетката (интраклеточно) е многу ниска (<100 nM), така што и минимално зголемување на неговата концентрација може да делува како интраклеточен сигнал. Како одговор на различни стимуланти во самата ацинусна клетка се ослободува јонот на Ca<sup>2+</sup> од неговите интраклеточни резерви. Ослободувањето на Ca<sup>2+</sup> е потпомогнато и со навлегувањето на Ca<sup>2+</sup> од екстраклеточната средина во внатрешноста на ацинусната клетка.

Парасимпатикусниот невротрансмитер, ацетилхолин, предизвикува зголемување на концентрацијата на Ca<sup>2+</sup> во внатрешноста на ацинусната клетка (слика 2.2). Специфични рецептори на самата мембрана на ацинусната клетка го врзуваат ацетилхолинот, а потоа го активираат G-протеинот во самата мембрана. Понатаму G-протеинот го стимулира мембранскиот ензим фосфолипаза-C. Овој ензим го разградува мембранскиот липид фосфатидил-инозитол на диглицерид и инозитол-3-фосфат (IP<sub>3</sub>). Инозитол-3-фосфатот како

секундарен гласник предизвикува зголемување на концентрацијата на интраклеточниот  $\text{Ca}^{2+}$ , ослободувајќи го од интраклеточните депоа. Калциумот пак, како секундарен гласник ги активира каналите на хлор, а како последица на тоа се зголемува секрецијата на вода и електролити од страна на плунковните жлезди.



Слика 2.3: Механизам на транспорт на протеините и на јоните од крвната плазма во саливарните канали. 1. активен транспорт, 2. пасивна дифузија, 3. обична филтрација 4.  $\text{Na}^+$  на дуктусните клетки 5. клеточна мембрана 6. пора, 7. интерклеточен простор 8. ацинусна клетка

Транспортот на органските и неорганските материи од крвната плазма во плунката се одвива на неколку начини (слика 2.3).

1. Ултрафилтрација низ микропросторите помеѓу ацинусните клетки.

На овој начин се транспортираат молекули кои имаат молекулска маса помала од 1900 Da (вода, јони, хормони, катехоламини и некои хормони)

2. Филтрација низ порите на клеточната мембрана на ацинусните клетки.

Овој начин на транспорт е ограничен за молекули кои имаат многу мала молекулска маса, помала од 400 Da (вода).



3. Транспорт низ клеточната мембрана на ацинусната клетка.
  - пасивна дифузија, се однесува само на липофилни молекули (стероидни хормони, лекови, дрога)
  - активен транспорт низ протеинските канали
  - пиноцитоза (се однесува на поголеми протеински молекули во воден раствор)
4. Транспорт низ специфични јонски канали.

Овој начин на транспорт е ограничен само за одредени електролити ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ )
5. Трансудација на некои составни компоненти на крвната плазма преку гингивалниот сулкус или пак директно низ оралната мукоза(албумин)

### БИОХЕМИСКИ СОСТАВ НА ПЛУНКАТА

Квантитативно најзастапена компонента на плунката е водата (99%). Останатите компоненти, на којшто отпаѓа 1 % се:

- органски молекули: протеини, гликопротеини, липиди и јаглени хидрати (глукоза);
- крајни метаболити: уреа, мочна киселина, креатинин, билирубин;
- стероидни хормони;
- лекови и нивни метаболити;
- неоргански состојки-електролити ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , фосфати, бикарбонати);

Најголем дел од органските компоненти на плунката се создаваат од страна на ацинусните клетки на плунковните жлезди. Некои од нив се синтетизираат во дуктусните клетки, а други компоненти потекнуваат од крвната плазма.

Компоненти на плунката што потекнуваат од крвната плазма се:

- вода,
- електролити,
- одделни протеини (албумин)
- глукоза
- витамини
- стероидни хормони
- лекови и нивни метаболити
- крајни метаболити (уреа, мочна киселина, креатинин).

Компоненти на плунката кои што потекнуваат, односно се создаваат во самите плунковни жлезди се: пептиди, протеини, гликопротеини. Во групата на протеини и гликопротеини на плунката спаѓаат:

- а) ензими: саливарна амилаза, саливарна липаза, орална пероксидаза, лизозим, каталаза, супероксид димутаза, глутатион пероксидаза и глутатион редуктаза;

- б) останати протеини и гликопротеини на плунката: цистатини, фактор на раст, фибронектин, хистатини, дефензини, сијаломуцин, кателицидини, протеини богати со пролин, статерин и имуноглобулини.

Концентрацијата на протеини во плунката е значително пониска во споредба со нивната концентрација во крвниот серум. Некои од саливарните протеини се присутни во многу ниска концентрација во плунката. Некои пак, се присутни во значително поголема концентрација во плунката, како што се саливарната амилаза, протеини богати со пролин, сијаломуцинонот и секреторните имуноглобулини.

Компоненти	Плунка	Крвна плазма
<i>Неоргански компоненти (mmol/L)</i>		
Ca <sup>2+</sup>	1-2	2,5
Mg <sup>2+</sup>	0,2 - 0,5	1,0
Na <sup>+</sup>	6-26	140
K <sup>+</sup>	1-7	4
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	14-32	0,03
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> i HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	2-23	2
Cl <sup>-</sup>	17-29	103
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	2-30	27
F <sup>-</sup>	0,0005-0,005	0,001
SN <sup>-</sup>	0,1-2,0	-
<i>Органски компоненти (mmol/L)</i>		
уреа	2-6	5
мочна киселина	0,2	0,3
слободни аминокиселини	1-2	3-5
глукоза	0,05	5
лактат	0,1	1
масни киселини (mg/L)	10	3000
<i>Макромолекули (mg/L)</i>		
протеини	1400-2000	70000
гликопротеини	110-300	1400
амилаза	380	-
лизозим	109	-
пероксидаза	3	-
IgA	194	1300
IgG	14	13000
IgM	2	1000
липиди	20-30	2000

Табела 2.1: Разлики во концентрацијата на одделни органски и неоргански компоненти помеѓу плунката и крвната плазма

Од табелата 2.1 може да се забележи дека поголем број од компонентите, по потекло од крвта, присутни во плунката се со значително пониска концентрација во споредба со нивната концентрација во крвната плазма. Исклучок претставува јонот на K<sup>+</sup>, чија концентрација во плунката е значително поголема во споредба со неговата концентрација во крвта. Одделни состојки, кои потекнуваат од ацинусните и дуктусните клетки (саливарна амилаза, гликопротеини богати со пролин, сијаломуцин), се присутни само во плунката. Во физиолошки услови тие не се присутни во крвната плазма.

# 3

## САЛИВАРНИ ПРОТЕИНИ

### МЕХАНИЗАМ НА СЕКРЕЦИЈА НА САЛИВАРНИТЕ ПРОТЕИНИ

### ПРОТЕИНИ БОГАТИ СО ПРОЛИН - PROLIN RICH PROTEINS (PRP)

Заштита на емајлот на забот

Врзување на диететските танини

Антимикробно дејство

Создавање на стекнатата дентална пеликула

### ЛИНГВАЛНА ЛИПАЗА

### САЛИВАРНА КАРБОАНХИДРАЗА (СА)

### ЛИЗОЗИМ

Бактериолитично дејство на лизозимот

### ОРАЛНА ПЕРОКСИДАЗА

### ЛАКТОФЕРИН

Антибактериско дејство на лактоферинот

Антивирусно дејство на лактоферинот

Антифунгицидно дејство на лактоферинот

### ХИСТАТИНИ

Создавање на дентална пеликула

Антибактериско и антифунгицидно својство на хистатинот

Врзување на јони на метали

Инхибиција на бактериските и ткивните протеолитички ензими и медијатори значајни за патогенезата на пародонталната болест

Врзување на полифеноли во оралната средина

### ЦИСТАТИНИ

### СТАТЕРИНИ

**ФИБРОНЕКТИН**

**ДЕФЕНЗИНИ**

**КАЛПРОТЕКТИНИ**

**КАТЕЛИЦИДИНИ**

**АНТИОКСИДАТИВНА ЗАШТИТА НА ПЛУНКАТА**

**Орална пероксидаза, каталаза, супероксид-дизмутаза, глутатион пероксидаза, глутатион редуктаза**

**Неензимските антиоксиданти**

**ЛИПИДИ**

**В**о плунката се присутни голем број на различни протеини. Воглавно се продукт на плунковните жлезди, а дел од нив, како што се: албуминот, имуноглобулините и хормоните, потекнуваат од крвната плазма. Во групата на протеини и гликопротеини кои потекнуваат од плунковните жлезди, се вбројуваат:

- Ензими: амилаза, липаза, орална пероксидаза, лизозим, каталаза, супероксид димутаза, глутатион пероксидаза и глутатион редуктаза.
- Останати протеини и гликопротеини на плунката: цистатини, фактори на раст, фибронектин, хистатини, дефензини, муцини, кателицидини, со пролин богати протеини, статерин и имуноглобулини.

Вкупната содржина на протеините во плунка се движи од 1400-2000 mg/l. Според распространетоста во телесните течности, саливарните протеини можат да се класифицираат во 3 групи:

- I. група: протеини што се сретнуваат исклучиво во плунката (хистатини и некои од фамилиите на пролин богатите протеини);
- II. група: протеини кои се сретнуваат во повеќе различни мукозни секрети, кои според своите структурни и биохемиски карактеристики се многу слични иако се произведуваат од различни жлезди (муцин, лизозим);
- III. група: протеини кои не се продукт на плунковните жлезди (некои имуноглобулини и албумин);

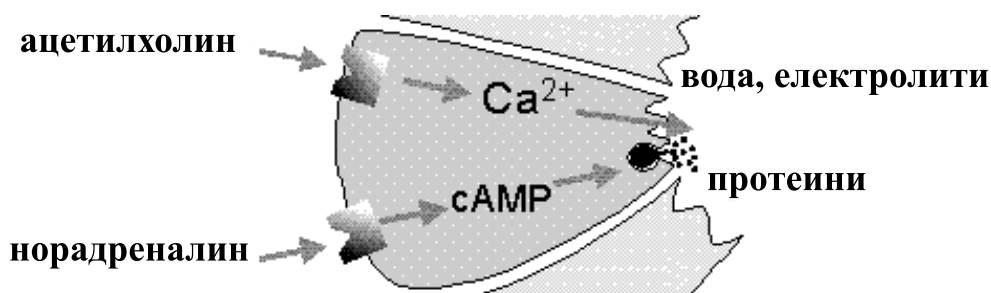
## МЕХАНИЗАМ НА СЕКРЕЦИЈА НА САЛИВАРНИТЕ ПРОТЕИНИ

Пептидите, протеините и гликопротеините кои потекнуваат од плунковните жлезди се синтетизираат во ацинусните и дуктусните клетки. Трите чифта на големи плунковни жлезди се разликуваат според природата на нивната протеинска секреција. Сублингвалната плунка, која се продуцира од мукозните ацинусни клетки, богата е со муцини (високо молекуларни гликопротеини) и поради тоа е многу вискозна и густа. Серозните ацинусни клетки на паротидната плунковна жлезда создаваат и излучуваат воглавно саливарна амилаза и со пролин богати гликопротеини. Поради тоа, паротидната плунка е помалку вискозна и помалку густа.

Местото на синтеза на локалните протеини на плунката се ацинусните и дуктусните клетки на плунковните жлезди. Синтезата на саливарните протеини започнува во рибозомите на ендоплазматскиот ретикулум. Новонастанатите протеини се исфрлаат во цистерните на ендоплазматскиот ретикулум, а потоа се транспортираат во Голџиевиот апарат. Во Голџиевиот апарат се врши синтеза на јаглехидратниот дел на саливарните гликопротеини, кој што во вид на странични синџири се поврзува за основниот полипептиден синџир. На тој начин синтетизираните гликопротеини, заради големата молекулска маса, неможат да поминат низ клеточната мембрана на ацинусната клетка, туку се ослободуваат во луменот на ацинусот по пат на егзоцитоза.

Секрецијата на протеините и гликопротеините во плунковните жлезди се одвива во повеќе фази: синтеза, пакување, депонирање и ослободување. Секоја од овие фази е

регулирана со фосфорилација на протеинот, а таа пак е поврзана со цикличниот аденозин монофосфат (сАМР). Ова соединение е познато како секундарен гласник во механизмот на делување на многу хормони, односно, во регулацијата на биохемиските процеси во клетките. Зголемувањето на нивото на сАМР во ацинусните и дуктусните клетки ги стимулира сите фази кои се вклучени во процесот на синтеза и секреција на саливарните протеини. Поради тоа контролата на секрецијата и ослободувањето на локалните саливарни протеини зависи од нивото на сАМР во клетките на плунковните жлезди.



Слика 3.1: Секреција на вода, електролити и протеини во ацинусните клетки на плунковните жлезди. Протеините се секретираат со помош на егзоцитоза, која е под контрола на симпатикус при што се вклучуваат норадреналин и сАМР.

$\beta$ -адренергични рецептори сместени на мембраните на ацинусните и дуктусните клетки ја стимулираат синтезата и секрецијата на протеините во плунковните жлезди. Со врзувањето на хормонот-норадреналин за спомнатите рецептори се активира G-протеинот на мембраната на ацинусните клетки. Тоа предизвикува активација на мембранскиот ензим аденил-циклаза, кој од АТР формира сАМР. сАМР како секундарен гласник ги активира ензимите од групата на протеин киназа А, а тие пак вршат фосфорилација на протеините кои се синтетизираат (слика 3.1).

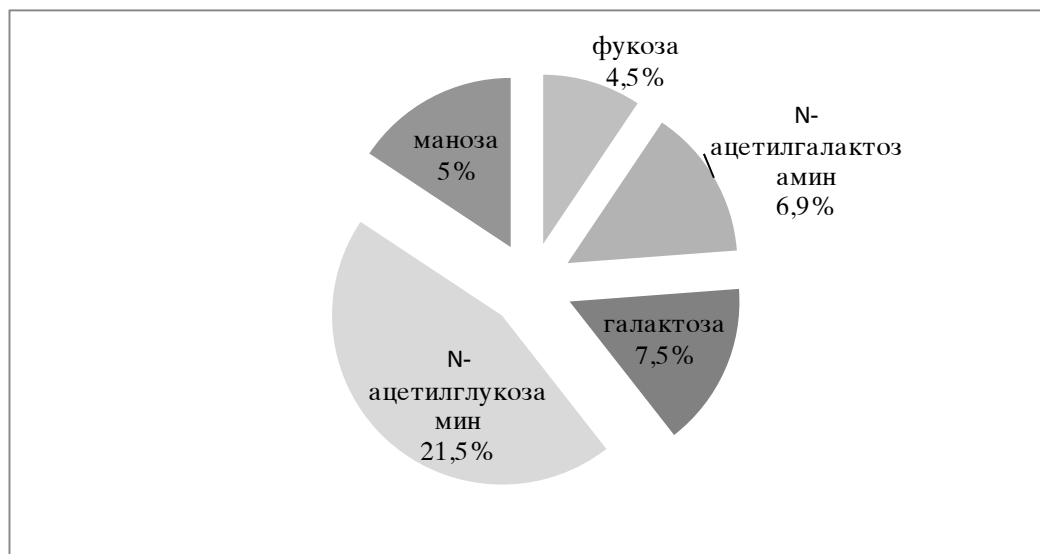
Активацијата со адренергичните нерви не е единствениот начин на којшто се стимулира синтезата на протеините во ацинусните и дуктусните клетки. Плунковните жлезди освен адренергични и холинергични неурони содржат и пептидергични неурони. Во овие пептидергични неурони е присутен вазоактивен интестинален пептид (VIP). Овој пептид исто така предизвикува стимулација на секрецијата на саливарните протеини на тој начин што го зголемува нивото на сАМР во клетките на плунковните жлезди.

Најголем број од саливарните протеини се присутни во оралниот медиум во многу мали концентрации. Иако присутни во мали концентрации секој од саливарните протеини има извонредно значење во одржувањето на здравјето на оралните структури. Поради тоа во текстот кој следи ќе бидат опишани саливарните протеини кои се откриени и за кои се знае функцијата во одржувањето на оралното здравје. Двата саливарни протеини: сијаломуцинот и саливарната амилаза намерно се изоставени во овој дел од учебникот бидејќи се опишуваат подолу во текстот во склоп на самоочиштењето на оралната празнина и одржувањето на интегритетот на оралните структури.

## ПРОТЕИНИ БОГАТИ СО ПРОЛИН - PROLIN RICH PROTEINS (PRP)

Саливарните протеини присутни во плунката, кои се одликуваат со висока содржина на аминокиселината пролин, се наречени протеини богати со пролин (англиски *prolin rich protein PRP*). Според застапеноста на јаглехидратниот дел и нивната наелектризираност, протеините богати со пролин се класифицирани во три групи:

- кисели PRP со молекулска маса  $\leq 16$  kDa;
  - базни PRP со молекулска маса од 6 до 9 kDa;
  - гликолизирани PRP со молекулска маса од 39 kDa;
- Најзначајни кисели PRP, кои се откриени во паротидната и субмандибуларната плунка се: PRP-1 (протеин C) и PRP-3 (протеин A).
    - PRP-1 (протеин C) е изграден од еден полипептиден синџир кој содржи 150 аминокиселини. Во овој полипептиден синџир најзастапени аминокиселини се пролинот, глутаминот и глицинот.
    - PRP-3 (протеин A) се состои од 106 аминокиселини. Настанува со протеолитичка разградба на PRP-1 помеѓу аминокиселината аргинин (на положба број 106 во полипептидниот синџир) и аминокиселината глицин (на положба број 107 во полипептидниот синџир).
  - Базните PRP се најзастапени во паротидната плунка
  - Гликолизираните PRP, претставуваат гликопротеини кои се изградени од протеински и јаглехидратен дел. Протеинскиот дел, којшто претставува 60 % од вкупната маса на овие PRP, е претставен со полипептиден синџир во којшто се најзастапени аминокиселините пролин, глицин и глутаминска киселина. Присуството на базните аминокиселини (лизин и аргинин) во протеинскиот дел а отсутството на сијалинска киселина во јаглехидратниот дел, на овие гликопротеини им обезбедува базен карактер (изоелектрична точка поголема од 8,2). Поради базниот карактер овие гликопротеини се позитивно наелектризирани и во електрично поле се движат кон катодата. Компонентите на јаглехидратниот дел (40%) се: фукоза (4,5 %), N-ацетилгалактозамин (6,9 %), галактоза (7,5%), N-ацетилглукозамин (21,5 %), маноза (5%). Сијалинската киселина, пак, не е откриена во јаглехидратниот дел на гликолизираните PRP (слика 3.2).



Слика 3.2: Компоненти на јаглехидратниот дел на гликолизираните PRP (40%)

Значајна е улогата на PRP во одржувањето на оралната хомеостаза. Таа нивна улога се состои од :

- 1) заштита на емајлот на забот,
- 2) врзување на диететски танини,
- 3) антимикробно дејство,
- 4) антивирусно дејство и
- 5) создавање на стекнатата дентална пеликула.

### 1. Заштита на емајлот на забот

Стабилноста на кристалите на хидроксиапатитот на емајлот на забот зависи од степенот на заситеност на плунката со солите на калциум и на фосфатните соли. Заситеноста на плунката со исти минерали, како и минералите кои учествуваат во градбата на емајлот на забот, ја намалува можноста од растворање на емајлот на забот во плунката (која претставува универзален растворувач бидејќи 99% од овој секрет е претставен со  $H_2O$ ). Но, презаситеноста на плунката со калциум и фосфати ја крие опасноста од можност за несакана преципитација (исталожување) на соли на калциум-фосфат. За да не дојде до спонтано исталожување на овие соли, во плунката се присутни протеини (статерини, кисели PRP) кои што го инхибираат нефизиолошкото преципитирање на овие соли на површината на емајлот на забот.

Без овие инхибитори би се создале депозити на емајлот на забот и во изводните канали на плунковните жлезди. Создадените депозити пак би предизвикале нестабилност и поголема растворливост на кристалите на хидроксиапатитот. Инхибиторната активност на



киселите PRP (во однос на перципитацијата на калциумовите и фосфатните солите) е овозможена благодарение на нивниот афинитет кон калциумот и кон хидроксиапатитот.

Киселите PRP го врзуваат калциумот преку фосфатните групи, кои се наоѓаат на N-терминалниот дел на полипептидниот синџир, и така овие протеини претставуваат “резервоари” на овој електролит во плунката. Саливарните протеини, особено PRP, имаат значајна улога и во процесите на реминерализација на емајлот на забот. Овие “резервоари” на калциум, во одредени соодветни услови во оралната празнина можат да бидат искористени за обновување на оштетените површински слоеви на спомнатото ткиво на забот. Исто така утврдено е дека фосфатните групи на аминокиселината серин присутна во PRP, се одговорни и за врзувањето на киселите PRP за негативно наелектризираниот хидроксиапатит. Секако дека ова врзување се одвива индиректно со посредство на јоните на  $\text{Ca}^{2+}$ . Со оглед на тоа што овој јон е двовалентен со едната валенца се врзува на негативно наелектризираната површина на емајлот, а со другата валенца за киселите PRP. Врзувајќи се за површината на емајлот на забот, киселите PRP учествуваат во создавањето на стекнатата дентална пеликула, која има значајна улога во механичката заштита на оваа забно ткиво.

## 2. Врзување на диететските танини

Танините, според биохемскиот состав се полифеноли, кои се приушни во растителните хранливи продукти. Саливарните протеини, какви што се PRP и хистатините, создаваат комплекси со танините. На тој начин ја искажуваат превентивната и заштитната улога против потенцијално токсичните и канцерогените ефекти на овие соединенија. Танините имаат неколку негативни дејства врз хуманите ткива и тоа: пореметување на ресорпцијата на електролитите во дигестивниот тракт, инхибиција на дигестивните ензими, како и патолошки ефекти врз белите дробови и црниот дроб. Во создавањето на нерастворливи комплекси од PRP и танини се вклучуваат водородни врски и хидрофобни интеракции. Базните PRP се особено значајни за врзувањето на танините, додека пак гликолизираните PRP учествуваат во врзувањето на танините дури по нивната дегликолизација (отстранување на јаглехидратниот дел). Создавањето на комплексите (PRP + танини) е поврзано со стимулацијата на лачењето на плунката. Со стимулација на лачењето на плунката се зголемува концентрацијата на базните PRP (бидејќи потекнуваат воглавно од паротидната плунка), а со тоа се зголемува создавањето на нерастворливи комплекси со танините и се намалува нивното потенцијално токсично дејство.

## 3. Антимикробно дејство

Голем број на саливарни протеини и гликопротеини имаат значајна улога во агрегацијата на бактериите на оралната флора и нивното полесно отстранување од оралната празнина. Ваква улога имаат и PRP. Меѓутоа, докажано е дека PRP во раствор каков што е и самата плунка, имаат мала можност да врзуваат бактерии бидејќи им се маскирани рецепторите за врзување на бактериите. Способноста на PRP да врзуваат бактерии се зголемува дури по нивното поврзување за хидроксиапатитот на емајлот на забот. Формирајќи ја денталната пеликула PRP претрпуваат одредени конформациони промени. Тоа подразбира појава и откривање на одредени специфични рецептори (криптопи) за кои се врзуваат бактериите. Овие специфични рецептори можат да бидат молекули со мала молекулска маса, како на пример кратки пептиди на PRP (пролин-глутамин-глицин-пролин-глутамин). За овие кратки пептиди се врзуваат фимбриите на *Porphyromonas gingivalis*. Поврзувањето на бактериите со

PRP може да настане и индиректно, со помош на двовалентниот јон на  $\text{Ca}^{2+}$ . Овој јон се вметнува помеѓу фосфатните групи на PRP и површината на бактеријата.

Докажано е дека базните PRP, во *in vitro* услови можат да ја намалат вирулентноста на Herpes simplex вирусот тип I. Се претпоставува дека базните PRP можат да ја инхибираат инвазијата на HIV вирусот.

#### 4. Создавање на стекнатата дентална пеликула

Базните PRP се позитивно наелектризирани и можат директно да се поврзат за површината на емајлот на забот, која што е негативно наелектризирана (види во делот за емајлот на забот). Врзувањето на базните гликопротеини за површината на емајлот на забот најинтензивно се случува во текот на мастикацијата (цвакањето) кога и се лачи стимулирана плунка. Докажано е дека количеството на PRP во плунката се зголемува со стимулација на секрецијата на саливата. Кога овие гликопротеини ќе се поврзат со површината на емајлот на забот, на гризните површини на забите се создава стекната органска наслага наречена дентална пеликула. Таа има лубрикантно дејство, имено, формираната дентална пеликула го намалува ефектот од прекумерното триење на забите кое што настанува во текот на цвакањето на храната. На овој начин делумно се штити емајлот на забот од прекумерна загуба (атриција) во текот на мастикацијата. Но, освен спомнатото позитивно својство на денталната пеликула, таа служи како органска основа за прицврстување на бактериите од оралната флора и создавањето на бактерискиот биофилм.

#### ЛИНГВАЛНА ЛИПАЗА

Лингвалната липаза ја создаваат малите мукозни плунковни жлезди на јазикот, наречени von-Ebner-ови. Овој ензим ја започнува разградбата на триглицеридите во устата, со раскинување на естерските врски помеѓу масните киселини и глицеролот. Меѓутоа, ефикасноста на овој ензим е мала заради краткото време на задржување на храната во устата и заради отсуството на емулгатори, како што се солите на жолчната киселина.

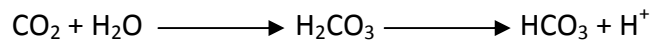
#### САЛИВАРНА КАРБОАНХИДРАЗА (СА)

Саливарната карбоанхидраза според својата структура е протеин, а според функцијата е ензим, значаен за одржување на физиолошките вредности на рН на плунката. Во плунката е присутен изоензим на карбоанхидразата VI (CA VI). Молекулската маса на овој ензим е 42 kDa. Освен аминокиселини овој протеин содржи и два олигосахаридни синџири што се поврзани за основниот полипептиден синџир со O-глукозидна врска.

Испитувањата покажале дека CA VI е локализирана исклучиво во секреторните гранули на ацинусните клетки од паротидната и субмандибуларната жлезда, од каде и се секретира во плунката. На саливарната карбоанхидраза отпаѓаат 3% од вкупните протеини на паротидната плунка.

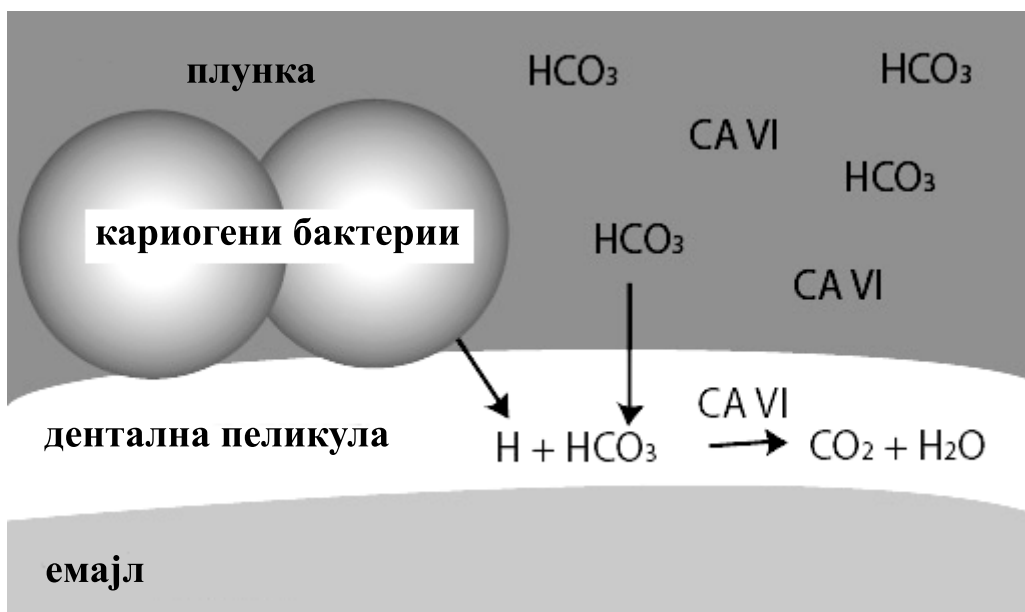
Секрецијата на СА VI варира во текот на деноноќието. Концентрацијата на СА VI е ниска во текот на ноќта, а најголемо ниво на овој ензим се забележува веднаш после будењето. Утврдена е позитивна корелација помеѓу активноста на саливарната амилаза и концентрацијата на СА VI во плунката. Ова укажува на податокот дека и двата ензими се секретираат со слични механизми и дека се присутни во исти секреторни гранули на ацинусните клетки во плунковните жлезди.

Основната улога на саливарната карбоанхидраза е одржување на физиолошките вредности на рН во оралната средина. Имено, саливарната карбоанхидраза учествува во создавањето на бикарбонатни јони, значајни за пуферизација на плунката. Бикарбонатните јони ( $\text{HCO}_3^-$ ) имаат ендогено потекло. Јаглерод диоксидот, крајниот продукт на разградба на органските молекули во организмот, реагира со вода и под дејство на саливарна карбоанхидраза се добива јаглеродна киселина. Оваа киселина дисоцира на бикарбонатен анјон и водороден катјон.



Заради наведените функции на овој ензим, тој има значајна улога во спречувањето на деминерализацијата на емајлот на забот. Тоа е прв протеин за кој со истражувања е докажано дека се поврзува со кариесот на забот. Утврдена е негативна корелација помеѓу КЕП индексот (кариес, екстракција, пломба) и концентрацијата на СА VI во плунката.

Во составот на денталната пеликула влегува и саливарната карбоанхидраза. Во забната пеликула СА VI ја катализира конверзијата на саливарните бикарбонати и водородните јони (продукти на бактерискиот метаболизам) во јаглерод диоксид и вода. На тој начин саливарната СА VI го штити емајлот од киселите продукти, кои се ослободуваат во текот на бактерискиот метаболизам (слика 3.3).



Слика 3.3: Дејството на СА VI во денталната пеликула

Епителните клетки на оралната мукоза и на езофагусот, константно се изложени на различни хемиски и физички дразби со внесувањето на храната. Една од заштитните улоги на плунката е и заштита на лигавицата на почетните делови на дигестивниот тракт. Голем број на саливарни протеини (муцини, амилаза, цистатини, PRP и саливарна карбоанхидраза) се поврзуваат за површината на епителните клетки на оралната мукоза. Оваа “епителна пеликула“ претставува заштитен филм кој ја штити оралната мукоза од механички и хемиски оштетувања, како и од несаканото делување на протеолитичките ензими кои се ослободуваат од бактериите и од неутрофилните леукоцити. Саливарните бикарбонати се значајни за одржување на физиолошките вредности на рН на површината на епителните клетки од оралната мукоза и мукозата на езофагусот, штитејќи ги на тој начин од дејството на киселите продукти по потекло од бактериите или од HCl на желудечниот сок. Бидејќи во создавањето на саливарните бикарбонати неопходна е улогата на саливарната карбоанхидраза, се наметнува заклучокот дека овој ензим има значајна улога и во заштитата на мукозата на почетните делови на дигестивниот тракт.

## ЛИЗОЗИМ

Овој ензим-протеин на плунката е значаен за неспецифичната хуморална антибактериска заштита. Изграден е од еден полипептиден синцир кој содржи 129 аминокиселини. Во полипептидниот синцир се присутни четири дисулфидни врски што се наоѓаат интрамолекулски помеѓу резидуите на цистеинот 6-127, 30-115, 64-80 и 76-94. Активното место на лизозимот е изградено од 6 домени А, В, С, D, Е и F. Овие 6 домени заедно врзуваат шест шеќерни резидуи на пептидогликаните на клеточниот ѕид на бактеријата. Главните каталитички групи на активното место на лизозимот поттекнуваат од аминокиселината глутамин и аспаргинската киселина.

Според своите биохемиски карактеристики лизозимот спаѓа во групата на базни гликопротеини (позитивно е наелектризиран и има катодна електрофоретска подвижност) со изоелектрична точка од 10,5. Молекулската маса на лизозимот изнесува околу 14.300 Da.

Потекнува од малите и големите плунковни жлезди, од леукоцитите и од гингивалната течност.

	Мешана плунка		Паротидна плунка		Субмандибуларна-сублингвална плунка
	Стимулирана	Нестимулирана	Стимулирана	Нестимулирана	Стимулирана
<b>Лизозим</b>	5-50	100-200	1-20	10-80	10-70

Табела 3.1: Концентрација на лизозимот во плунката ( $\mu\text{g/ml}$ ) ([www://A:lizozim.htm](http://www://A:lizozim.htm))

Концентрацијата на лизозимот се разликува во зависност од типот на саливарниот секрет. Со најниска концентрација е застапен во паротидната плунка. Многу е позастапен во

нестимулираната саливарна секреција, во споредба со стимулираната саливарна секреција (табела 3.1). Интересно е да се истакне дека жените имаат поголема саливарна концентрација на лизозим во споредба со мажите.

Лизозимот има неколку значајни ефекти во неспецифичната антибактериска заштита на оралната средина:

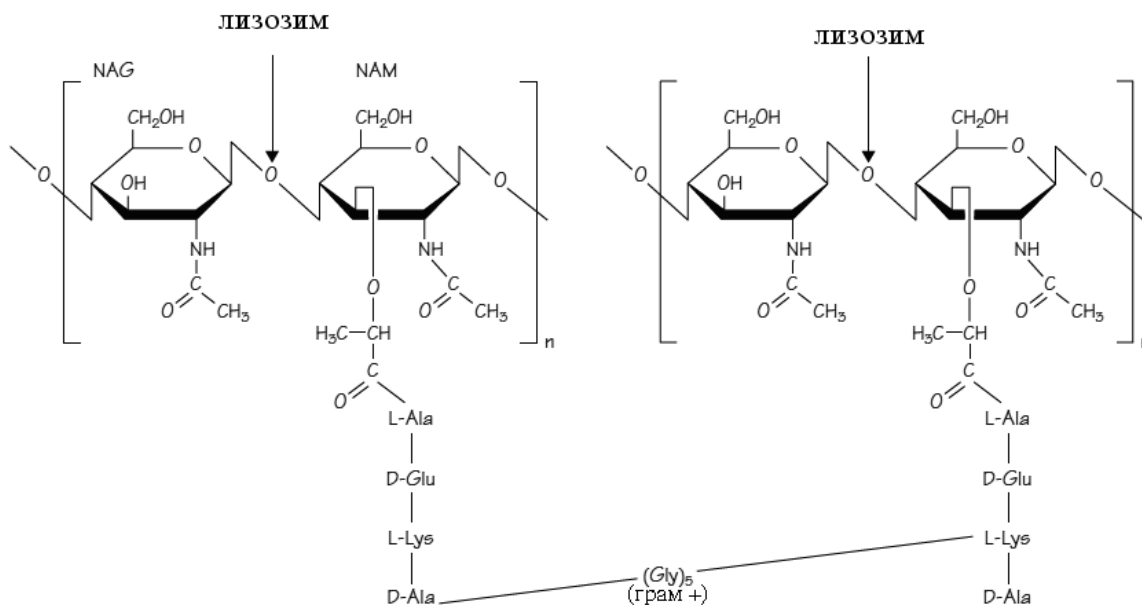
- бактериолитичко дејство,
- инактивација на многу вируси
- активација на фагоцитозата, која ја спроведуваат неутрофилните гранулоцити и макрофагите
- стимулација на антитуморските ефекти на моноцитите
- антиинфламаторно дејство
- одржувањето на интегритетот на клеточната мембрана

### **Бактериолитично дејство на лизозимот**

Лизозимот го катализира хидролитичкото разградување на  $\beta$  (1,4) глюкозидните врски на N-ацетил-неураминската киселина, која влегува во состав на протеогликаните и глюкозаминогликаните од бактерискиот клеточен сид. На тој начин се врши лиза на бактериската клетка.

Природниот супстрат врз којшто делува лизозимот е муреинот, поради што овој саливарен протеин уште се нарекува и мурамидаза. Муреинот е пептидогликан и претставува главна структурна компонента на бактерискиот клеточен сид.

Грам позитивните бактерии имаат тенок клеточен сид којшто е изграден од околу 40 слоја на пептидогликани во кои се вметнати синцири на таихоинска и липотаихоинска киселина (слика 3.4). Грам-негативните бактерии имаат само еден слој на пептидогликани без таихоинска киселина. Овој слој на пептидогликани е окружен со асиметрична двослојна надворешна мембрана. Со постоењето на разликата во структурата помеѓу грам-позитивните и грам-негативните бактерии се објаснува и нивната различна чувствителност кон дејството на лизозимот. Грам-негативните бактерии се поотпорни на дејството на лизозимот, бидејќи се дополнително заштитени со надворешна мембрана.



Слика 3.4: Дејството на лизозимот врз пептидогликаните на грам-позитивните бактерии (ја раскинува 1,4 гликозидната врска)

Освен споменатиот механизам на бактериолитично делување на лизозимот во литературата се опишува и неговото неензимско антибактериско дејство. Овој механизам сеуште не е во потполност разјаснет. Се претпоставува, со оглед на неговата катјонска природа, дека лизозимот се врзува за таихоинската и липотаихоинската киселина присутни во клеточниот ѕид на бактериите. Овие полианјонски молекули, откако за нив ќе се поврзе лизозимот, можат директно да ги активираат бактериските автолизини, коишто предизвикуваат лиза на бактериската клетка.

Друг предложен механизам во литературата, за дејството на лизозимот, е неговата способност да предизвикува ослободување на двовалентни катјони ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) од клеточната мембрана на бактериската клетка. Познато е дека овие катјони играат значајна улога во стабилизацијата на клеточната мембрана на бактериите. Со ослободувањето на двовалентните катјони се дестабилизира клеточната мембрана на бактериите. Освен тоа некои автори сметаат дека ослободувањето на двовалентните катјони од мембраната на бактериската клетка ги стимулира и автолизините во самата бактерија.

Освен антибактериското дејство на лизозимот, докажано е и неговото антифунгицидно дејство, особено против габичката *Candida albicans*. Механизмот на антифунгицидното дејство на лизозимот е сеуште дискутабилен. Предложени се два можни механизми:

- првиот е ензимска хидролиза на N-гликозидните врски кои ги поврзуваат полисахаридите и структурните протеини на клетките на габичката. Тоа резултира во оштетување на цитоплазматската мембрана на габичката.
- вториот механизам се базира на оштетување на плазмолемата на *Candida albicans*. Тоа е проследено со активирање на манансинтетаза, хитинсинтетаза, а веројатно и на некои други ензими кои се значајни за стабилноста на мембраната.

Лизозимот присутен во плунката е значаен фактор на неспецифичната антимикробна заштита на оралната средина. Во неколку студии е докажано дека концентрацијата на саливарниот лизозим е во негативна корелација со акумулацијата на денталниот биофилм и појавата на гингивитот кај децата и помладите индивидуи. Во други студии е докажано зголемување на нивото на лизозимот во плунката кај пациентите кои што имаат орална кандидијаза.

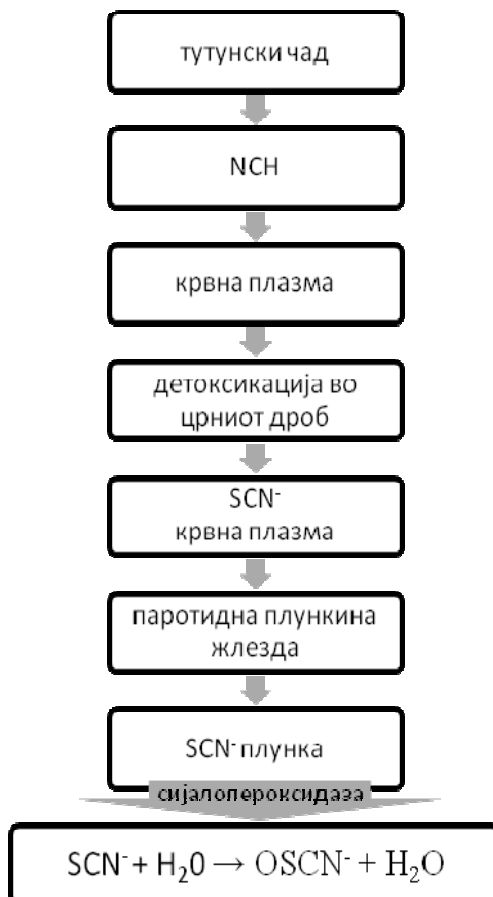
Освен антибактериското и антифунгицидното дејство на лизозимот во оралната празнина, овој протеин во плунката ја инхибира атхеренцијата на бактериите *Streptococcus mutans* и *Streptococcus sanguis* во стекнатата дентална пеликула. Со тоа се намалува акумулацијата на бактериите и се намалува создавањето на денталниот биофилм.

Саливарниот лизозим има тенденција да создава комплекси (саливарни мицели) со некои други саливарни протеини (со муцинон, со лактоферинот, со амилазата, со sIgA како и со протеините богати со пролин. Овие интеракции помеѓу саливарните протеини се должат на создавање на различни хемиски врски, какви што се јонски, водородни и хидрофобни. Овие саливарни мицели го зголемуваат степенот на агрегација на бактерии во оралната празнина и на тој начин учествуваат во регулацијата на оралната флора.

## ОРАЛНА ПЕРОКСИДАЗА

Оралната пероксидаза е најзначајниот ензимски антиоксидант на плунката. Овој ензим е изграден од два пероксидазни ензими: саливарна пероксидаза (80%) и миело-пероксидаза (20%).

Саливарната пероксидаза ја секретираат големите плунковни жлезди, а најзначен извор од каде што потекнува овој ензим е паротидната жлезда. Овој ензим во својот активен центар содржи селен. Улогата на саливарната пероксидаза се согледува во тоа што врши редукција на водородниот пероксид ( $H_2O_2$ ), продуктот на метаболизмот на оралните бактерии, во присуство на јони на тиоцијанат ( $SCN^-$ ). Тиоцијанатите се составен дел на плунката и претставуваат донори на електрони, нешто слично на редуцираниот глутатион кој претставува донор на електрони во останатите биолошки системи. Тиоцијанатите потекнуваат од хидроген-цијанидот ( $HCN$ ) на тутунскиот чад кој се создава со детоксикација во црниот дроб, а потоа по крвен пат се транспортира до плунковните жлезди, каде што по пат на ултрафилтрација пристигнува во плунковниот секрет (слика 3.5).



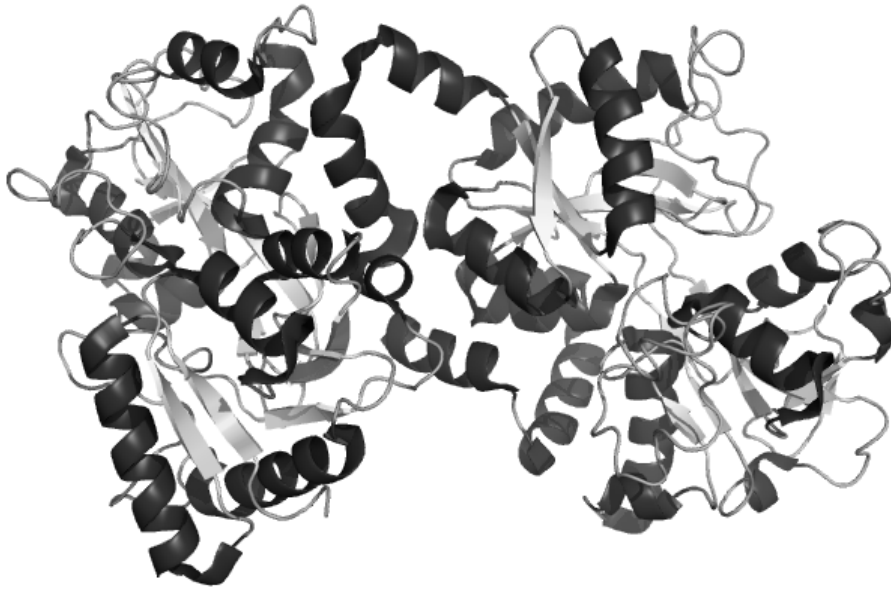
Слика 3.5: Дејството на саливарната пероксидаза (сијалопероксидаза)

Саливарната пероксидаза ја катализира реакцијата помеѓу  $H_2O_2$  и јоните на тиоцијанатот. Производи на оваа реакција се хипотиоцијанатна киселина (HOSCN) и хипотиоцијанати (OSCN-). Овие производи имаат антибактериско дејство. Нивната антибактериска активност е заснована на реакцијата со сулфурводородните групи (SH) на бактериските ензими кои учествуваат во гликолизата, какви што се хексокиназа, алдолаза и пируват киназа. Освен споменатата улога на саливарната пероксидаза во неспецифичната антибактериска заштита на оралната средина, овој ензим има свој придонес и во ефикасното отстранување на  $H_2O_2$  од оралната средина.

## ЛАКТОФЕРИН

Лактоферинот по својата структура е гликопротеин. Припаѓа на фамилијата на трансферини, односно, „не-хемиски“ - железо врзувачки протеини. Во семејството на трансферини, покрај лактоферонот, се вбројуваат и: трансферинот (главен транспортен протеин на железото во крвната плазма), овотрансверинот (протеин во јајцето на кокошката), меланотрансфериниот (протеин на меланоцитите) и неодамна идентификуваниот инхибитор на карбоанхидраза.





Слика 3.6: Тродимензијална структура на лактоферин

Лактоферинот е мономерен протеин кој содржи 692 аминокиселини (слика 3.6). Протеинскиот дел е претставен во вид на еден полипептиден синџир поделен на два домени: аминокиселинскиот домен (N-термален дел, кој ги содржи до 333-та резидуа на аминокиселините) и карбокси-термалниот домен (C-термален дел, кој ги содржи од 345-та до 692-та резидуа на аминокиселините). Аминокиселинскиот домен и карбокси-термалниот домен на лактоферинот се поврзани со троен алфа-хеликс, изграден од десетина аминокиселини (од 334 до 344). Молекулската маса на лактоферинот изнесува околу 80 kDa и претставува висок катјонски молекул со pI од 8,4-9. Поради позитивната наелектризираност, лактоферинот има можност да се врзува со анијонските молекули. Исто така е докажано дека може да се врзува и со различни видови на клетки и тоа преку негативно наелектризираните фосфолипидни групи во мембраната на тие клетки. Меѓутоа, лактоферинот првенствено е железно-врзувачки протеин и има значајна улога во хомеостазата на овој биоелемент.

Секој јон на  $Fe^{+3}$  координирано се врзува со протеинските лиганди (Tyr92, Tyr192, Asp60 и His253) во молекулата на лактоферинот во присуство на бикарбонатни јони заради балансот на негативната и позитивната наелектризираност. Врзувајќи го железото, лактоферинот ја спречува оксидационата промена на валенцата на овој биоелемент, поради што овој протеин на плунката има антиоксидативно дејство. Инаку, слободното железо во текот на оксидационите реакции во клетките учествува во продукција на слободни радикали кои можат да предизвикаат оксидативна модификација на различни биомолекули (протеини, липиди, DNK).

Главен извор на лактоферинот е млекото, поради што овој протеин и го добил своето име. Најголема концентрација на овој протеин се регистрира во хуманиот колострум-околу 7 g/l. Лактоферинот е значајна компонента на неспецифичната антимицробна заштита на организмот. Овој протеин претставува прва линија на одбраната на мукозите од инфективните агенци.

Лактоферинот е присуен во плунката, а потекнува од епителните клетки на оралната мукоза и од леукоцитите. Постојат значајни разлики во концентрацијата на лактоферинот во различните видови на саливарна секреција (табела 3.2).

Видови на саливарна секреција	Концентрација на лактоферин (g/ml)
<b>Паротидна плунка</b>	
стимулирана	4,7 – 12
нестимулирана	6,8 – 20
<b>Субмандибуларна и сублингвална плунка</b>	
стимулирана	11
нестимулирана	13
<b>Мешана плунка</b>	
стимулирана	8,5 – 24

Табела 3.2: Концентрација на лактоферинот во различни видови на саливарна секреција

Лактоферинот има антибактериско, антивирусно и антифунгицидно дејство.

#### Антибактериско дејство на лактоферинот

Лактоферинот има бактериостатичко и бактерицидно дејство кон многу Грам-позитивни и Грам-негативни бактерии. Овој протеин има изразен афинитет за врзување на железото, што претставува негова основна биолошка функција и на тој начин учествува во регулирањето на нивото на железото во телесните течности. Врзувајќи го железото, истото станува недостапно за бактериите, а овој биоелемент е неопходен за метаболизмот на бактериската клетка. Овој феномен се нарекува "нутритивен имунитет" и на овој начин лактоферинот го попречува растот и делењето на бактериите.

Бактерицидното дејство на лактоферинот подразбира негова директна интеракција со бактериската мембрана. Лактоферинот, како катјонски молекул стапува во интеракција со липополисахаридите од мембраната на бактериите. Тоа овозможува ослободување на липополисахаридите од бактериската мембрана. Ваквото дејство на лактоферинот предизвикува нарушување на интегритетот на бактериската мембрана.

#### Антивирусно дејство на лактоферинот

Лактоферинот има и антивирусна активност која се базира на неговата способност да ја инхибира репликацијата на голем број на вируси во "in vitro" услови. Сепак, во голем број на истражувања е докажано дека лактоферинот пред се ја спречува инвазијата на вирусите во клетките на домаќинот, а во помала мерка ја инхибира и репликацијата на вирусот.

Попречувањето на инвазијата на вирусите во клетките на домаќинот, лактоферинот го остварува на следните два начини:

- со директно врзување на лактоферинот за вирусот (вирусот на хепатит С, полиовирусот, ротавирусот, херпес симплекс вирусот и вирусот на HIV);
- врзување на лактоферинот за клетките на домаќинот, и тоа за оние биомолекули во составот на клеточната мембрана кои им служат на вирусите како рецептори или како ко-рецептори. Така, лактоферинот може да се поврзе со хепарин-сулфат-протеогликаните на клетките. Голем број на вируси поседуваат способност да се поврзат токму за овие биомолекули на клеточната мембрана на клетките на домаќинот. По првиот контакт со клетката, вирусот навлегува во неа. Бидејќи лактоферинот може да се поврзе за споменатиот клеточен рецептор, за кој се врзува и вирусот, на тој начин се спречува врзувањето на вирусот и негово навлегување во клетката.

### Антифугицидно дејство на лактоферинот

Лактоферинот има слично дејство врз габичката *Candida albicans* како и врз бактериите. Тоа, пред се, се однесува на врзувањето на железото како и директна интеракција помеѓу лактоферинот со *Candida albicans*, што предизвикува пореметување на пропустливоста на нејзината мембрана.

### ХИСТАТИНИ

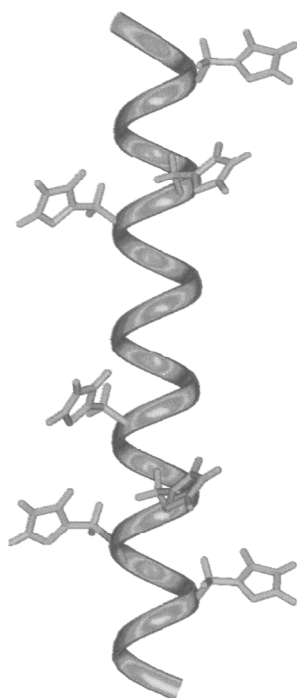
Хистатините се фамилија на саливарни протеини кои што имаат мала молекулска маса. Овие саливарни протеини содржат голем процент на аминокиселина хистидин, поради што во литературата се познати и како хистидин-богати протеини. Главниот извор од каде што потекнуваат хистатините се плунковните жлезди (паротидна, субмандибуларна и сублингвална) поради што се вбројуваат во групата на саливарни протеини со локално потекло. Најзначајни претставници на протеини од фамилијата на хистатините се: хистатин 1, хистатин 3 и хистатин 5. Хистатините 3 и 5 претставуваат високобазни пептиди со вредност на изоелектричната точка ( $pI > 9,5$ ). Хистатините 1 пак, се неутрални ( $pI = 7$ ).

Хистатините, според својата хемиска структура, се вбројуваат во пептиди богати со базни аминокиселини какви што се хистидинот (7 резидуи), аргининот и лизинот. Поради ова хистатините имаат базен карактер и покажуваат катодна електрофоретска подвижност. Хистатин 1 се состои од 38 аминокиселини и има молекулска маса од 4929 Da. Хистатинот 3 има 32 аминокиселини и молекулска маса од 4063 Da, додека пак хистатинот 5 има 24 аминокиселини со молекулска маса од 3037 Da (табела 3.3).

	Број на аминокиселини	Молекулска маса (Da)	pI
Хистатин 1	38	4929	>9,5
Хистатин 3	32	4063	>9,5
Хистатин 5	24	3037	7

Табела 3.3: Биохемиски карактеристики на хистатините

Помеѓу овие главни претставници на саливарни хистатини (1, 3 и 5) постојат одредени структурни разлики но и сличности. Хистатинот 1 содржи фосфорилиран остаток на серин, додека пак хистатините 3 и 5 содржат остатоци на серин без присуство на фосфати. Сличноста помеѓу овие три претставници на саливарните хистатини се состои во тоа што сите содржат по 7 резидуи на аминокиселината хистидин. Исто така, аминокиселинскиот дел од 22 аминокиселински резидуи е идентичен за сите три видови на хистатини. Кај хистатините 1 и 3 се забележуваат 7 идентични аминокиселини во карбокситерминалниот дел. Комплетната секвенца на хистатинот 5 е идентична со N-терминалниот дел на хистатинот 3. Овие податоци укажуваат дека хистатините 1 и 3 всушност се производи на два различни структурни гени, додека пак хистатинот 5 е протеолитички производ на хистатинот 3 (слика 3.7).



Слика 3.7: Структура на хистатинот

Присуството на хистатините во плунката е со релативно ниска концентрација во однос на содржината на вкупните протеини во плунката. Содржината на хистатините во паротидната и субмандибуларната/сублингвалната плунка изнесува околу 2,6 % од вкупната содржина на протеините. Во паротидната плунка концентрацијата на хистатините изнесува 30-425  $\mu\text{g/ml}$ , додека пак во субмандибуларниот/сублингвалниот секрет нивното количество изнесува 55-347  $\mu\text{g/ml}$ . Во нестимулираната плунка концентрацијата на хистатините е многу поголема во паротидната плунка во споредба со субмандибуларната/сублингвалната плунка. Со стимулирање на секрецијата на плунката, концентрацијата на хистатините се намалува во паротидната плунка, а се зголемува во субмандибуларната/сублингвалната плунка. Оваа разлика во концентрацијата на хистатините се должи на промената којашто настанува во концентрацијата на вкупните протеини како резултат на промената на количеството на излачена плунка. Во секретот на субмандибуларната/сублингвалната жлезда концентрацијата на вкупните протеини се зголемува со стимулирање на секрецијата за разлика од паротидната плунка во која при стимулација се намалува концентрацијата на вкупните

протеини. Интересно е да се напомене дека со напредување на возраста не се забележуваат промени во концентрацијата на вкупните саливарни протеини, но тоа не е случај со концентрацијата на хистатините. Имено, концентрацијата на хистатините со напредување на возраста се намалува. Во паротидната плунка, концентрацијата на хистатините е максимална околу пладне, додека пак во утринските часови максимална концентрација на хистатините се регистрира во субмандибуларната/сублингвалната плунка.

Хистатините се значајни за неколку биолошки процеси во оралната празнина со што овие саливарни протеини учествуваат во одржувањето на оралната хомеостаза, односно во одржувањето на здравјето на оралните ткива. Во оралната средина хистатините ги имаат следните улоги:

- создавање на стекнатата дентална пеликула на површината на забите;
- неспецифична хуморална антибактериска и антифунгицидна заштита на оралната средина;
- можност за врзување со одделни јони на метали во плунката;
- инхибиција на одделни протеолитички ензими и медијатори на воспалението и
- можност за врзување на токсични полифеноли во оралната средина.

### Создавање на дентална пеликула

Денталната пеликула е стекната органска наслага која се создава на површината на емајлот на забот. Особено интензивно е нејзиното создавање во текот на актот на цвакањето. Според биохемискиот состав денталната пеликула е изградена од различни протеини и гликопротеини кои потекнуваат од плунката. Се создава со адсорпција (врзување) на саливарните протеини и гликопротеини за површината на емајлот на забот.

Во создавањето на оваа, условно полезна наслага на површината на забите, големо значење има хистатинот 1. Тој селективно адсорбира на површината на хидроксиапатитот од емајлот на забот.

### Антибактериско и антифунгицидно својство на хистатинот

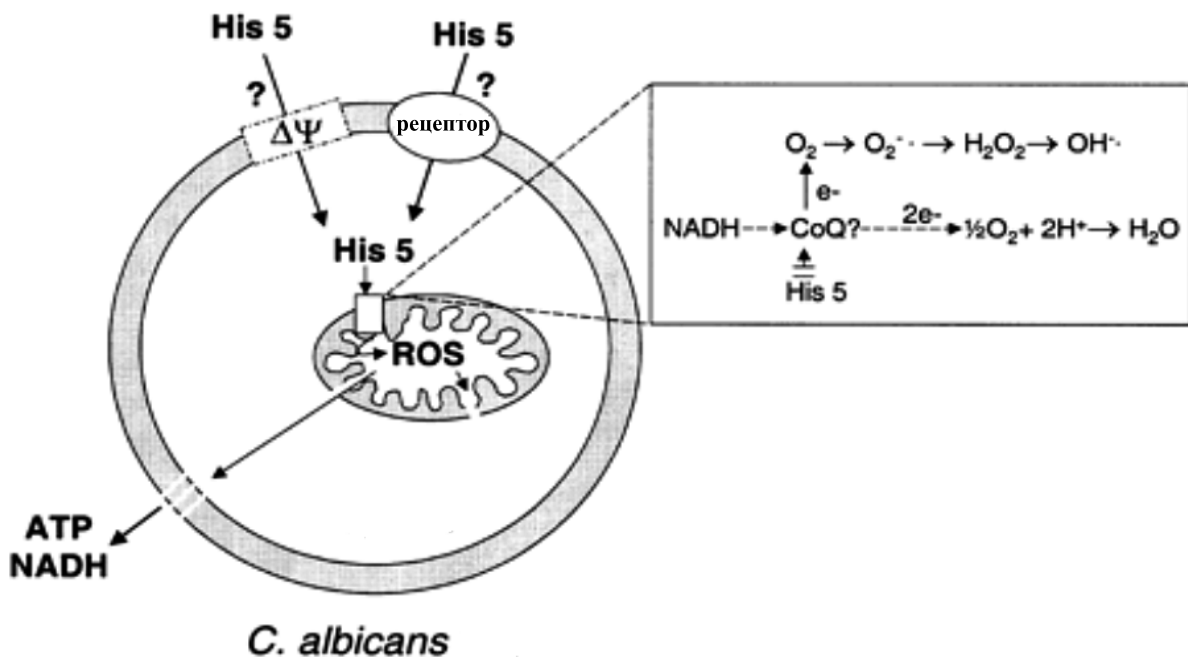
Хистатините се вбројуваат во групата на катјонски пептиди со антимикуробни својства. Бидејќи оралната празнина претставува "влезна врата" на организмот за многу микроорганизми од надворешната средина, од особено значење е присуството на голем број на биомолекули во плунката кои имаат одбранбена, антимикуробна улога. Токму таква улога имаат хистатините. Хистатинот 5 има фунгистатичко и фунгицидно дејство во "in vitro" услови насочено против голем број на различни габички (*Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans*). Освен тоа, хистатините се активни и против одделни бактерии, кои се поврзуваат со кариесот (*Streptococcus mutans*) и со пародонтопатијата (*Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*).

Габичните инфекции на оралната празнина се поврзани со механички оштетувања на оралната мукоза, пореметување на нормалната орална флора како и со имунодефицит (HIV инфекции). Во голем број на истражувања е испитувана антифунгицидната активност на хистатините, особено на хистатинот 5, чиј што механизам на делување сеуште не е во потполност разјаснет. Утврдено е дека хистатинот 5 не делува како класичен антибиотик, на

тој начин што ќе формира пори или јонски канали во мембраната на *Candida albicans* што би предизвикало нејзина дестабилизација и дезинтеграција. Спроведените истражувања покажале дека во текот на делувањето на хистатинот 5 врз *Candida albicans* се забележуваат неколку фази:

- врзување за специфични рецептори на мембраната на габичката;
- транспорт низ мембраната во внатрешноста на клетката;
- транслокација внатре во клетката и
- напуштање на јоните на  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$  и АТФ надвор од клетката.

Рецепторот на мембраната на *Candida albicans* за кој се врзува хистатинот 5, всушност е протеин со молекулска маса од околу 70 kDa. Овој протеин се вбројува во групата на протеини кои се наречени “heat-shock” протени. Целното место на делување на хистатинот во внатрешноста на *Candida albicans* се митохондриите, каде што овие саливарни протеини го инхибираат респираторниот синџир. Со флуориметриски мерења утврдено е дека хистатинот 5 во митохондриите овозможува создавање на кислородни слободни радикали. Спомнатите слободни радикали предизвикуваат оксидативна дезинтеграција на мембраната на митохондриите, оксидативно оштетување на биомолекулите, метаболички пореметувања во внатрешноста на клетката и следствено на тоа предизвикува нејзина смрт (слика 3.8).



Слика 3.8: Предложен механизам на антифунгицидно делување на хистатинот

Поради овој антифунгициден ефект и поради тоа што хистатините не се токсични за хуманите ткива се испитува можноста за нивната употреба како потенцијално антифунгицидно лековито средство во третманот на оралната кандидијаза.

### Врзување на јони на метали

Хистатините ја имаат таа можност да врзуваат одделни јони на метали во плунката. Страничните синдери на хистатинот, кои се претставени со серинот, тирозинот, аспартатот и глутаматот се одговорни за оваа способност на хистатините. Дури 13 од 24-те аминокиселински резидуи на хистатинот се потенцијални врзувачи на јоните на металите во плунката. Овие саливарни протеини покажуваат способност да ги врзуваат јоните на цинкот и на бакарот. Врзувањето на металните јони од страна на саливарните хистатини има големо значење за заштитата на емајлот на забот како и за растот и размножувањето на оралните микроорганизми.

### Инхибиција на бактериските и ткивните протеолитички ензими и медијатори значајни за патогенезата на пародонталната болест

Пародонталните заболувања се хронични, инфективни, инфламаторни заболувања кои се карактеризираат со оштетување на влакната на периодонциумот, ресорпција на алвеоларната коска и создавање на пародонтални џебови. Во голем број на истражувања е докажано дека во текот на воспалението на гингивата и пародонтопатијата е засилено ослободувањето на протеолитички ензими и медијатори на воспалението, од страна на бактериите или пак од одбранбените клетки на пародонталните ткива. Освен бактериските протеинази во патогенетските случувања на пародонталната болест се вклучува и друга група на ензими наречени матриксни металопротеинази (ММР). ММР се ослободуваат од одбранбените клетки на домаќинот и за нив се смета дека се главни иницијатори на деградацијата на протеините на екстрацелуларниот матрикс. Овие ензими се вбројуваат во фамилијата на металоензими поточно цинк-зависни ензими. Тие се во состојба да ги деградираат протеините на екстрацелуларниот матрикс: колагенот, еластинот, фибронектинот и ламининот. Матриксните металопротеинази се ензими коишто се вклучени и во физиолошките процеси на обновување на екстрацелуларниот матрикс. Тоа всушност претставува интегрален дел на процесите на развој, морфогенеза и ткивно ремоделирање. Но, покрај тоа што учествуваат во голем број на физиолошки процеси, нерегулираната активност на матриксните металопротеинази е значајна за многу патолошки состојби, какви што се: артритис, метастази на тумори, пародонтални заболувања. Во плунката на пациентите со пародонтална болест се регистрира значително поголема активност на ММР-2 и ММР-9 во споредба со индивидуите кои немаат пародонтопатија. Инхибицијата на матриксните металопротеинази би можела да биде од огромно значење за лекување на пародонталните заболувања. Бидејќи овие ензими се цинк-зависни, при што цинкот влегува во состав на активното место на ензимот, врзувањето на цинкот би предизвикало инактивирање на матриксните металопротеинази. Претходно беше истакнато дека хистатинот 5 создава комплекси со метални катјони, особено со цинкот. На тој начин овој саливарен протеин инхибиторно делува врз ензимите кои пак неможат да го искажат своето каталитичко дејство без присуство на овој метал. Таков е и случајот со матриксните металопротеинази (ММР-2, ММР-9).

Во текот на патогенетските случувања на пародонталната болест ткивната деструкција настанува како резултат на засилено ослободување и поинтензивна активност на ензими од одбранбените клетки на ткивата, но и како резултат на ослободување на ензими од самите бактерии. *Porphyromonas gingivalis* и *Clostridium histolyticum* се анаеробни, Грам негативни бактерии кои се присутни во субгингивалниот биофилм и значајни се во етиологијата на пародонталните заболувања. Под дејство на протеиназите кои се ослободуваат од овие микроорганизми се разградуваат неколку физиолошки значајни протеини, какви што

се колагенот, фибринот, фибриногенот, фибронектинот, имуноглобулините и протеините на комплементот. Хистатинот 5 е во состојба да ги инхибира некои од овие протеинази кои потекнуваат од бактериите (на трипсинот сличен ензим, цистеин протеиназа, колагеназа).

За ткивната деструкција во текот на пародонтопатија одговорни се и различни медијатори кои се ослободуваат од одбранбените клетки на ткивата, како резултат на одговорот на овие клетки кон бактериската инфекција. Тие медијатори се наречени цитокини. Во надворешната мембрана на *Porphyromonas gingivalis* е присутен протеин кој предизвикува ослободување на воспалителни медијатори какви што се интерлеукин 6 (И-6) и интерлеукин 8 (И-8), од страна на полиморфонуклеарните леукоцити и од фибробластите на пародонталните ткива. Експериментално е докажано дека хистатин 5 го инхибира ослободувањето на воспалителните медијатори од страна на фибробластите.

Бактеријата *Agregatibacter actinomycetemcomitans* е факултативно анаеробна, Грам негативна бактерија значајна во етиологијата на пародонтопатијата, особено во етиологијата на агресивните форми на ова заболување. Патогениот потенцијал на овој микроорганизам се базира на неговата способност да ги уништува полиморфонуклеарите, моноцитите и Т-лимфоцитите. За споменатите процеси одговорен е бактерискиот протеин (115 kDa) којшто е наречен леукотоксин. Докажано е дека хистатинот 5 има способност да го инхибира леукотоксинот, иако механизмот на неговото протективно делување сеуште е неразјаснет.

### **Врзување на полифеноли во оралната средина**

Хистатините имаат можност да ги врзуваат токсичните полифеноли, поради што имаат значајна улога во детоксикацијата на диететските танини. Диететските танини претставуваат полифеноли кои имаат штетни ефекти во организмот, првенствено за белите дробови и за црниот дроб. Со оглед на тоа што овие танини се внесуваат со растителните хранливи продукти, усната празнина (саливарните протеини) претставува прва линија на одбрана од овие штетни материи. Примарна улога во создавањето на комплекси со танините имаат протеините богати со пролин (PRP). Врзувајќи ги танините ја спречуваат реакција на штетните материи со други биомолекули. Заради хидрофобните карактеристики и високата содржина на пролин, овој протеин има голем афинитет кон танините. Во поново време е докажано дека и хистатините можат да ги врзуваат полифенолските деривати. За разлика од PRP, хистатините имаат мала молекулска маса и не содржат аминокиселина пролин. Поради тоа примарна улога во врзувањето на танините имаат базните и ароматичните аминокиселини во составот на хистатините. Формирајќи нерастворливи комплекси танин-хистатин, кои не се ресорбираат во дигестивниот систем, хистатините го неутрализираат штетниот ефект на танините.

### **ЦИСТАТИНИ**

Цистатините според своите хемиски карактеристики се протеини, а нивната функција е инхибиција на ензимите цистеин протеази. Во групата на цистатини се вбројуваат протеини со различна примарна структура, големина на молекулата и локализација. Врз основа на големината на полипептидниот синџир и присуството или отсуството на дисулфидни (S-S) врска, цистатините се поделени во три фамилии: I, II и III.



*Фамилија I (стефени).* Во оваа фамилија се вбројуваат цистатините А и В. Тоа се најмали протеини од групата на цистатини, со молекулска маса од само 11 kDa. Имаат еден полипептиден синџир кој е изграден од околу 100 аминокиселини. Немаат дисулфидни мостови, ниту пак јагледрихидратен дел. Локализирани се во главно интраклеточно, во цитоплазмата на клетката, но во мали концентрации можат да се откријат и во различни екстраклеточни течности. Цистатинот А првенствено е локализиран во различни епителни клетки и полиморфонуклеарни леукоцити, додека пак цистатинот В е присутен речиси во сите ткива.

*Фамилија II.* Во оваа фамилија се вбројуваат цистатините S, C, D, G, SN и SA (слика 3.9). Во оваа група се вбројуваат и новоидентификуваните цистатини E/M и F (наречени леукоцистатини) кои имаат слична структура со останатите цистатини од оваа група. Како и претходната група цистатини, и цистатините од оваа група имаат еден полипептиден синџир со приближно 120 аминокиселини и дисулфидни мостови во С-терминалниот дел. Само кај цистатинот F дисулфидниот мост е присутен во N-терминалниот дел. Цистатините од оваа фамилија во главно се негликолизирани, освен цистатинот F кој содржи две гликолизирачки места и цистатинот E/M, кој има едно гликолизирачко место во N-терминалниот дел (108). Хуманите цистатини S и SA делумно се фосфорилирани, за разлика од цистатинот SN. Во плунката се изолирани форми на цистатинот S кои содржат фосфорилирани места во N-терминалниот дел (2, 98, 111, 114). Цистатините од фамилијата II се присутни екстраклеточно и се сретнуваат во висока концентрација во биолошките течности и секретите (секреторни протеини), какви што се: плунка, солзи, урина, семинална плазма, цереброспинална течност.

*Фамилија III (кининогени).* Цистатините од оваа фамилија се со најголема молекулска маса од 50-80 kDa. Според својата структура се гликопротеини. Се разликуваат три видови на кининогени: кининоген L (со мала молекулска маса), кининоген H (со голема молекулска маса) и кининоген T (познат како тиостатин). Кининогените се мултифункционални протеини и се идентификувани како прекурсори на вазоактивните пептиди-кинини. Кининската секвенца се наоѓа на С-терминалниот дел од кининогенот и се ослободува со разградба на овој цистатин.



Слика 3.9: Структура на цистатинот С

Главната биолошка улога на цистатините е инхибиција на протеините цистеин-протеази, коишто се присутни во клетките (ендогени-цистеин протеази). Групата на ензими наречени протеази се од витално значење за функционирање на клетките и организмот во целина. Протеазите го катализираат раскинувањето на пептидните врски присутни во протеините или пак пептидите. Во зависност од хемиската група што е одговорна за каталитичкиот процес, протеазите се класифицирани во четири главни групи: серин, цистеин, треонин и метало-протеази. Овие ензими имаат клучна улога во метаболизмот на ткивните протеини, нивната физиолошка разградба и обновување на ткивата. Активноста на протеазите строго е контролирана на неколку нивоа, со цел да не дојде до несакана протеолиза и оштетување на клетките и ткивата. Еден од поважните механизми на регулирање на активноста на протеазите е со помош на протеин инхибитори. Бидејќи цистатините ги инхибираат цистеин протеазите, тие ги заштитуваат ткивните протеини од нефизиолошка разградба. Освен тоа цистатините ги штитат ткивата од протеолитичкото делување на цистеин протеазите кои потекнуваат од вирусите, бактериите и паразитите (егзогени-цистеин протеази).

Цистатините ги инхибираат цистеин протеиназите реверзибилно, односно по принципот на компетитивна инхибиција. Имено, цистатините индиректно го инхибираат активното место на овие ензими. На тој начин го попречуваат врзувањето на ензимот за супстратот (протеинот) и неговата разградба. Цистатините се врзуваат за активното место на цистеин протеазите и формираат стабилен бимолекуларен комплекс, кој ги држи ензимите во инактивен облик со сати и недели.

Во хуманата плунка присутни се цистатините SN, SA, S, C, а во поново време е докажано и присуството на цистатинот D. Доминантен цистатин во плунката е цистатинот S. Постојат експериментални докази кои укажуваат дека цистатинот C, кој иако е помалку застапен во плунката од цистатинот S, најмногу придонесува во улогата на плунката за инхибиција на цистеин протеазите (табела 3.4).

Цистатин	Мешана плунка	Субмандибуларна плунка	Паротидна плунка
C	0,09-0,1	0,11	0,03
D	0,27	-	-
S	7,3-8,2	12,5	0,007
SA	5-4	-	-
SN	2,8	6,3	0,08
E/M	-	-	-
F	-	-	-

Табела 3.4: Концентрација на цистатините (µmol/l) во различни видови на саливарна секреција

Освен основната улога на цистатините, а тоа е инхибиција на цистеин протеазите, овие саливарни протеини имаат и други значајни улоги, како на пример:

- Фосфорилираните облици на цистатинот S влегуваат во состав на стекнатата дентална пеликула.

- Антимикробно својство на цистатините. Во голем број на студии е докажано дека цистатините се способни да го инхибираат растот и размножувањето на бактериите. Инхибирањето на растот и размножувањето на *Porphyromonas gingivalis* не се поврзува со својството на цистатините да ги инхибираат ензимите, туку за тоа се одговорни одделни пептиди од фамилијата на цистатините. Исто така, потврдено е дека цистатините имаат и антивирусна активност бидејќи во „in vitro“ услови ја инхибираат репликацијата на некои вируси (коронавирус, полиовирус, аденовирус).
- Антиинфламаторно дејство во „in vitro“ услови докажа дека цистатините можат да ја регулираат продукцијата на воспалителни медијатори-цитокини од страна на гингивалните фибробласти.

## СТАТЕРИНИ

Статеринот, според молекулската маса, е мал протеин. Припаѓа во групата на кисели протеини, а неговиот пептиден синџир е изграден од 43 аминокиселини. Се нарекува уште и со пролин, односно со тирозин богат фосфопротеин, бидејќи статеринот содржи висок процент на аминокиселините пролин и тирозин. Една третина од сите аминокиселини во полипептидниот синџир се негативно наелектризираны аминокиселински резидуи, какви што се: аспаргинската киселина, глутаминската киселина и фосфосеринот. Останатите две третини од аминокиселинските резидуи на полипептидниот синџир на статеринот припаѓаат на хидрофобните и поларните аминокиселини, какви што се: глутамин, пролин и тирозин (исклучок претставува глутаминската киселина). Овој саливарен протеин е присутен и во паротидната и во субмандибуларната плунка. Името на протеинот статерин потекнува од грчкиот збор „statheropio“ што значи „да се стабилизира“. Концентрацијата на статеринот покажува индивидуални варијации во различни видови на саливарна секреција (табела 3.5).

	Стимулирана мешана плунка	Стимулирана паротидна плунка	Стимулирана субмандибуларна и сублингвална плунка
Концентрација на статерин ( $\mu\text{g/ml}$ )	$4,30 \pm 3,11$	$95,99 \pm 64,90$	$73,60 \pm 45,80$

Табела 3.5: Концентрација на статеринот во различни видови на саливарна секреција

Статеринот како мултифункционален протеин присутен во плунката има повеќекратно значење за оралната хомеостаза. Главната улога на овој составен дел на плунката е да го попречува исталожувањето на калциум-фосфатите во изводните канали на плунковните жлезди. На тој начин се намалува можноста за создавање на калкулуси (камен) во овие структури. Имено, плунката е заситена со минерали (особено со калциум и со

фосфати, како главни неоргански елементи на цврстите забни ткива) што е од големо значење за одржувањето на интегритетот на емајлот на забот. Меѓутоа, оваа заситеност на плунката со калциум и фосфати ја крие опасноста од нивното исталожување и формирање на камен. Тоа особено може да се случи во изводните канали на плунковните жлезди. За намалување на оваа можност, задолжен е саливарниот статерин, кој е во состојба да го врзе  $\text{Ca}^{2+}$  и на тој начин да ја спречи неговата преципитација.

Статеринот, исто така, има голем афинитет за минералите на калциум-фосфат, каков што е хидроксиапатитот. Тоа покажува дека статеринот учествува во регулирањето на растворливоста на емајлот на забот. Овој саливарен протеин ја спречува спонтаната преципитација и растот на кристалите во презаситените течности со калциум-фосфат, каква што е плунката. N-терминалниот дел на полипептидниот синцир на статеринот (амино киселински резидуи 1-15), е одговорен за инхибицијата на преципитацијата на калциум-фосфатот. Тоа може да биде како последица на високиот афинитет на споменатиот регион во молекулата на статеринот за врзување на јони на калциумот.

## ФИБРОНЕКТИН

Фибронектинот претставува екстрацелуларен гликопротеин што може да се сретне во две форми:

- нерастворлив полимерен гликопротеин на екстраклеточниот матрикс синтетизиран од фибробластите, хондроцитите, ендотелните клетки, макрофагите и од поголемиот број на епителните клетки.
- растворлив димерен гликопротеин на крвната плазма и на другите телесни течности.

Фибронектинот е вклучен во многу физиолошки процеси, какви што се: репарација на ткивата, ембриогенеза, коагулација на крвта, миграција и атхезија на клетките, диференцијација и апоптоза на клетките.

Растворливата форма на фибронектинот е присутна во повеќе телесни течности и секретите (крв, плунка), во физиолошки и во патолошки состојби. Според својата структура е димер и се состои од две субединици поврзани со дисулфидни врски. Со различни експериментални процедури, како што се ELISA и RIA тестовите, фибронектинот е докажан и во вкупната, паротидната и во субмандибуларната/сублингвалната плунка. Концентрацијата на фибронектинот во нестимулирана плунка изнесува од 0,2-2,0 mg/l. Со имунохистолошки испитувања се потврдило дека фибронектинот во плунката потекнува од дуктусните клетки на плунковните жлезди.

Саливарниот фибронектин е дел од неспецифичната антимицробна одбрана на оралната празнина. Овој саливарен протеин учествува во агрегација на оралните бактерии, после што тие полесно се отстрануваат од оралната празнина со испирачкото дејство на плунката. Исто така, фибронектинот учествува во создавањето на денталната пеликула, во поврзувањето на оралните бактерии за пеликулата, како и во создавањето на биофилмот (денталниот плак).

## ДЕФЕНЗИНИ

Дефензините се вбројуваат во групата на саливарни протеини што имаат антимикумно својство (пероксидаза, лактоферин, лизозим, хистатини, калпротектин...). Тоа се мали, ниско молекуларни протеини (3-5 kDa), богати со цистеин и со катјонска електрофоретска подвижност (табела 3.6). Дефензините се во состојба да „ги убиваат“ различните Грам-позитивни и Грам-негативни бактерии, габички (*Candida albicans*), а исто така и некои вируси (*Herpes simplex*). Главниот механизам со кој „ги убиваат“ бактериите е создавање на микропори или канали во мембраната на бактериската клетка. Подделени се во две главни групи:  $\alpha$ -дефензини и  $\beta$ -дефензини.

Вид на дефензини	Молекулска маса (Da)	Дисулфидни врски
HND-1	3442	2-30, 4-19, 9-29
HND-2	3371	9-29
HND-3	3486	1-29, 3-18, 8-28
HND-4	3709	2-30, 4-19, 9-29
HND-5	3938	2-30, 4-19, 9-29
HND-6	4053	6-34, 8-23
HBD-1	3929	13-33, 5-34, 12-27, 17-35
HBD-2	4328	8-37, 15-30, 20-38

Табела 3.6: Биохемиски карактеристики на дефензините

$\alpha$ -дефензините (класични дефензини) се кратки пептиди кои се изградени од 29-35 аминокиселини. Во хуманите ткива се идентификувани шест  $\alpha$ -дефензини (слика 3.10). Во неутрофилните гранулоцити детектирани се четири  $\alpha$ -дефензини, кои се нарекуваат хумани неутрофилни дефензини (HND-1-4). Останатите два  $\alpha$ -дефензини (HND-5 и HND-5) се изолирани од Панетовите клетки на тенкото црево и епителните клетки на урогениталниот тракт кај жените.

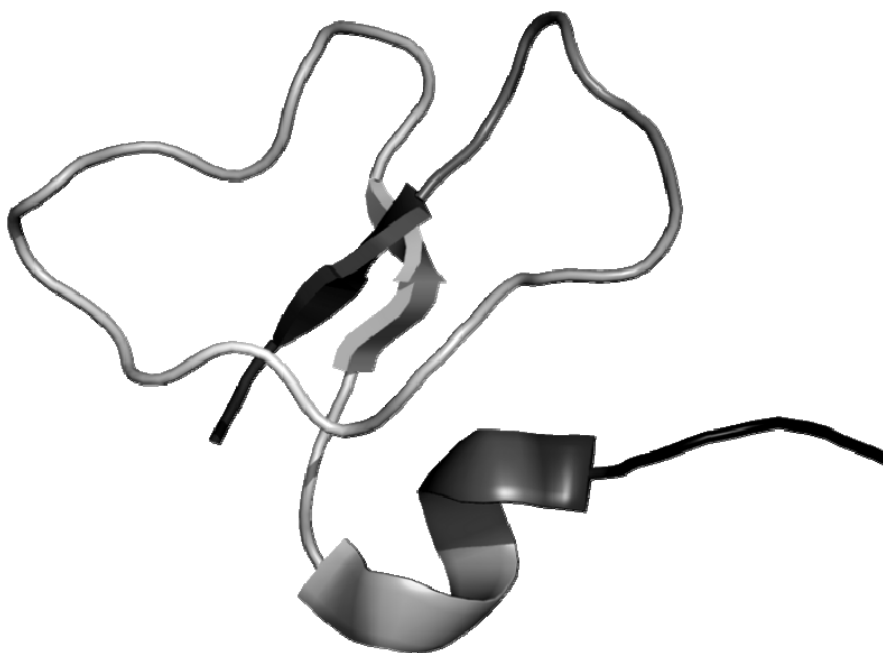


Слика 3.10: Структура на  $\alpha$ -дефензините

После синтезата на овие протеини се врши нивна посттранслациона модификација. Од препродефензините (кои содржат од 93-94 аминокиселини) со протеолиза се издвојува N-терминалниот пептид, додека пак C-терминалниот пептид претставува дефинитивен дефензин. Тој содржи три интрамолекуларски дисулфидни врски и покажува катјонска електрофоретска подвижност.

Во мешаната плунка кај здравите индивидуи откриени се HND-1, HND-2 и HND-3. Концентрацијата на HND-1 во плунката изнесува  $8,6 \pm 8 \mu\text{g}/\text{m l}$ , а концентрацијата на HND-2 изнесува  $5,6 \pm 5,2 \mu\text{g}/\text{m l}$ . При воспалителни состојби во оралната празнина значително се зголемува концентрацијата на  $\alpha$ -дефензините во плунката.

$\beta$ -дефензините се кратики пептиди кои што содржат 41 аминокиселина. Нивната структура е стабилизирана со помош на три интрамолекуларски дисулфидни врски. Докажани се шест видови на хумани  $\beta$ -дефензини (HBD-1-6). Се создаваат од страна на епителните клетки на голем број на органи, вклучувајќи ги кожата, белите дробови, бубрезите, панкреасот, утерусот и окото. Во епителните клетки на оралната мукоза (кератиноцитите), како и во дуктусните клетки на плунковните жлезди опишана е експресија на три  $\beta$ -дефензини (HBD-1, HBD-2 и HBD-3).



Слика 3.11: Структура на  $\beta$ -дефензините

$\beta$ -дефензините, освен во плунката, идентификувани се и во некои други секретни течности (урината, бронхијална течност, секретот на носот). Концентрацијата на HBD-1 и HBD-2 во плунката изнесува  $150 \mu\text{g}/\text{ml}$ . Нивното присуство во плунката воглавно потекнува од кератиноцитите на оралната мукоза, а помалку од дуктусните епителни клетки на плунковните жлезди.

Спектарот на антимикробната активност на дефензините е мошне широк и насочен е кон голем број на Грам-позитивни, Грам-негативни бактерии, габички и некои вируси,

вклучувајќи го и HIV вирусот. Дефензините имаат извонредно големо значење во одржувањето на оралното здравје заради нивната улога во локалната одбрана, односно спречувањето на колонизацијата на микроорганизмите на оралната мукоза. Заедно со останатите антимицробни пептиди, дефензините учествуваат во првата линија на одбрана на оралната мукоза од различни инфективни агенси.

Во плунката дефензините можат да бидат маскирани бидејќи градат комплекси со други саливарни протеини. Познато е дека саливарните муцини создаваат комплекси со IgA, лизозимот, хистатинот и PRP. Муцилот е голем ањонски молекул кој може да создава и комплекси со мали катјонски молекули, какви што се дефензините (HBD-1). Вака создадените комплекси ги штитат малите пептиди, какви што се дефензините, од дејството на бактериските протеази. Освен тоа, овие комплекси можат да ја зголемат функцијата на дефензините бидејќи го олеснуваат нивното врзување на оралната мукоза.

Механизмот на антимицробното дејство на дефензините може да се подели во неколку фази:

1. електростатско поврзување на дефензините, како катјони, за површината на клеточната мембрана на бактеријата, која има ањонски карактеристики.
2. зголемување на пропустливоста на мембраната на бактеријата. Тоа се остварува на два начини: првиот начин е создавање на јонски канали, додека пак вториот начин е т.н. "carpet модел" а подразбира агрегација на овие пептиди и создавање на транзитен пат за нивно поминување.
3. пореметување на синтезата на протеините во бактериската клетка.

Заради големиот потенцијал за „убивање“, дефензините популарно се наречени „природни антибиотици“. Во одделни истражувања се сугерира нивната употреба во терапијата на оралните заболувања особено на пародонтопатијата. Меѓутоа, нивната евентуална употреба би била многу ограничена бидејќи кога се во висока концентрација  $\beta$ -дефензини имаат цитотоксичен ефект.

## КАЛПРОТЕКТИНИ

Калпротектинот е антимицробен протеин. Според својата структура е хетеродимер, составен од лесни (MRP 8) и тешки (MRP 14) пептидни синцири. Неговата молекулска маса изнесува 24 kDa. Со врзување на калциумот за молекулата на калпротектинот се предизвикуваат конформациони промени во калциум-врзувачките места. На тој начин се овозможува врзување и на други пептидни синцири за молекулата на калпротектинот. Калпротектинот поседува и места за врзување на цинк.

Калпротектинот првобитно е изолиран од неутрофилните леукоцити и мононуклеарните фагоцити. Концентрацијата на калпротектинот во неутрофилните леукоцити изнесува околу 30-60% од вкупните цитоплазматски протеини на овие одбранбени клетки. Овој протеин се секретира и во екстраклеточните простори од страна на стимулираните неутрофили и од моноцитите, или пак се ослободува како резултат на нарушување на интегритетот на овие клетки. Со имунохистохемски анализи се потврдило присуството на калпротектинот и во мембраните на клетките на некератинизираниот епител. Исто така, докажана е и експресија на калпротектинот во цитоплазмата на некои мукозни епителни клетки.

Солубилната форма на калпротектинот откриена е и во крвната плазма, во урината и во други телесни секрети. Присуство на калпротектинот е докажано и во плунката. Главните извори на овој саливарен протеин се гингивалната течност, мукозниот трансудат и гингивалните кератиноцити.

Калпротектинот делува антимикубно и во состојба е да ја индуцира апоптозата (контролираното умирање на клетката). Врзувајќи го цинкот, калпротектинот ги инхибира ензимите наречени матриксни металопроотеинази. Овие ензими се цинк-зависни ензими и имаат значајна улога во ембрионалниот развој, ангиогенезата, зараснувањето на раните, инфламацијата, канцерогенезата и во ткивната деструкција. На овој начин, калпротектинот е во состојба да регулира многу витални физиолошки процеси во организмот. Калпротектинот, исто така, го инхибира растот на микроорганизмите по пат на механизмот на конкуренција за цинкот. Врзувањето на цинкот, за регионите на калпротектинот кои се богати со хистидин, е важен механизам на антимикубната неспецифична одбрана на домаќинот. Имено, за метаболизмот на микроорганизмите и нивното размножување потребно е присуство на биоелементи, каков што е цинкот. Но, бидејќи калпротектинот има голем капацитет за врзување на цинкот, микроорганизмите остануваат без овој биоелемент со што се спречува нивниот опстанок и размножување. Калпротектинот во концентрација од 50-250 µg/ml е во состојба да го инхибира растот на бактериите *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*. Пониски концентрации на овој протеин (4-32 µg/ml) го инхибираат растот на габичката *Candida albicans*.

Освен улогата на калпротектинот во неспецифичната антимикубна заштита, овој протеин поседува уште две значајни биолошки функции. Тоа се:

- регулирање на инфламаторни процеси на клеточно ниво;
- цитотоксично дејство, го инхибира растот и размножувањето на голем број на туморски клетки;

## КАТЕЛИЦИДИНИ

Кателицидините се мали пептиди со катјонска електрофоретска подвижност. Содржат од 12-100 аминокиселини и имаат антимикубно дејство. Овие пептиди се создаваат од препроотеини кои содржат N-терминален сигнален пептид (до 30 аминокиселини), просеквенца-кателин (94-144 аминокиселини) и C-терминален пептид (12-100 аминокиселини). Во хуманите ткива е присутна проформата на кателицидините со молекулска маса од 18 kDa, наречена катјонски антимикубен пептид (hCAP-18). Катјонскиот антимикубен пептид е главниот протеин локализиран во специфичните гранули на неутрофилните леукоцити. Откако ќе настане дегранулација на неутрофилите се одделува C-терминалниот пептид од проформата на hCAP-18 под дејство на протеиназа-3 и настанува активна форма на кателицидините во хуманите ткива, наречена LL-37.

Кателицидините се присутни во кожата и во мукозите, а исто така откриени се и во плунката и во потта. Од оралните ткива во кои се присутни кателицидините се издвојуваат јазикот, букалната мукоза, гингивата и плунковните жлезди. Присуството на кателициди-



ните во плунката заедно со останатите антимикуробни пептиди на плунката претставува значаен фактор на неспецифичната одбрана на оралната празнина. Каталицидините ги извршуваат следните биолошки функции во оралната празнина:

- антимикуробната активност (насочена кон голем број на Грам-позитивни и Грам-негативни бактерии, габички, вируси и паразити) е примарната улога на хуманиот пептид LL-37. Неутрализацијата на бактериите настанува многу брзо а се остварува со создавање на јонски канали или пори во нивната мембрана. Докажано е дека кателицидините ги врзуваат липополисахаридите од бактериската мембрана со што се предизвикува пореметување на интегритетот на бактериската клетка. Имено, кателицидините, како и некои други катјонски пептиди со антимикуробна активност, реагираат со врзувачките места присутни на липополисахаридната бактериска мембрана, за кои се врзуваат двовалентните катјони. Овие пептиди покажуваат поголем афинитет за липополисахаридите во споредба со некои двовалентни катјони ( $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ ). На овој начин споменатите двовалентни јони се заменуваат од страна на кателицидините со што се пореметува пропустливоста на бактериската мембрана.
- учествуваат во процесите на зараснување на ткивата.
- инхибирање на оштетувањата на ткивата предизвикани од штетното дејство на слободните радикали. Слободните радикали се создаваат од страна на фагоцитите како резултат на одговор на ткивата на бактериската инфекција. Овие токсични оксиданти освен што ја убиваат бактеријата можат да предизвикаат и оштетување на ткивото на домаќинот со оксидативни механизми. Поради тоа многу е значајно ослободувањето на слободните радикали од фагоцитите да биде прецизно регулирано. Еден од начините на регулирање е модификација на активноста на ензимот NADP-зависна оксидаза, која учествува во продукцијата на слободни радикали од страна на фагоцитите. Каталицидинот е во состојба да го инхибира споменатиот ензим и на тој начин ја намалува продукцијата на слободните радикали од страна на фагоцитите.

## АНТИОКСИДАТИВНА ЗАШТИТА НА ПЛУНКАТА

### Орална пероксидаза, каталаза, супероксид-дизмутаза, глутатион пероксидаза, глутатион редуктаза

Оралната пероксидаза, каталазата, супероксид-дизмутазата, глутатион пероксидазата и глутатион редуктазата се ензими на плунката одговорни за антиоксидативната заштита. Во денешно време патогенезата на одредени заболувања, па и на оралните заболувања, се повеќе се поврзува за штетните ефекти на слободните радикали. Слободните радикали се атом, јон или молекул со еден или повеќе неспарени електрони во својата структура. Заради присуството на неспарени електрони, слободните радикали се силно реактивни и имаат можност да реагираат со различни биомолекули (протеини, липиди, липопротеини), предизвикувајќи нивна оксидација и на тој начин ја пореметуваат нивната структура и функција. На опишаниот начин можат да бидат оштетени различни биолошки структури: видови на крвните садови, клеточната мембрана, DNK и тн. Во човековиот организам и во физиолошки услови во процесите кои се одвиваат во клетките има продукција на слободни радикали. Такви процеси се: оксидативната фосфорилација во

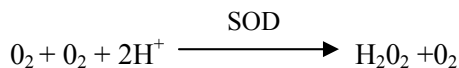
митохондриите, фагоцитозата, биотрансформацијата на материите во ендоплазматскиот ретикулум, метаболизмот на етанолот, како и оксидативните процеси во присуство на метали.

Најпознати слободни радикали се производ на метаболизмот на кислородот:  $O_2$ -супероксид анјон,  $HO\cdot$ -перхидроксилен радикал,  $H_2O_2$ -водороден пероксид,  $OH\cdot$ -хидроксилен радикал и други. Организмот се бори против слободните радикали со посебни механизми кои се вклучени во антиоксидативната заштита. Антиоксидативната заштита на организмот се состои од органиски и неорганиски молекули кои можат да ги неутрализираат слободните радикали. Тие молекули се поделени на ензимски и неензимски. Од ензимите кои се значајни како антиоксиданти се издвојуваат: орална пероксидаза, каталаза, супероксид-дизмутаза, глутатион пероксидаза, глутатион редуктаза. Овие ензими ја претставуваат првата линија на антиоксидативна заштита.

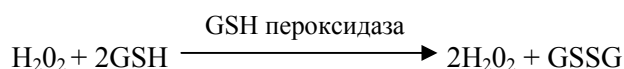
Оралната пероксидаза се излучува во секретот на големите плунковни жлезди, пред се во секретот на паротидната плунковна жлезда. Овој ензим во својот активен центар содржи селен. Улогата на саливарната пероксидаза е да го редуцира водородниот пероксид  $H_2O_2$ , којшто е продукт на метаболизмот на оралните бактерии, во присуство на јони на тиоцијанат ( $SCN^-$ ). Тиоцијанатите (составен дел на плунката) претставуваат донори на електрони, исто како што и редуцираниот глутатион претставува донор на електрони во останатите биолошки системи. Овие составни компоненти на плунката потекнуваат од хидроген-цијанидот ( $HCN$ ) на тутунскиот чад. Настануваат со детоксикација на тутунскиот чад во црниот дроб, а потоа по крвен пат се транспортираат до плунковните жлезди од каде што со ултрафилтрација пристигнуваат во плунката.

Под дејство на саливарната пероксидаза се катализира реакцијата помеѓу  $H_2O_2$  и јоните на тиоцијанатот. Притоа се добиваат хипотиоцијанатна киселина ( $HO\cdot SCN$ ) и хипотиоцијанати ( $OSCN^-$ ). Овие производи имаат антибактериско дејство. Нивната антибактериска активност е заснована на реакцијата со сулфурводородните групи ( $SH$ ) на бактериските ензими кои учествуваат во гликолизата, какви што се хексокиназа, алдолаза и пируват киназа. Освен споменатата улога на саливарната пероксидаза во неспецифичната антибактериска заштита на оралната средина овој ензим има свој придонес и во ефикасното отстранување на  $H_2O_2$  (потенцијалниот слободен радикал) од оралната средина.

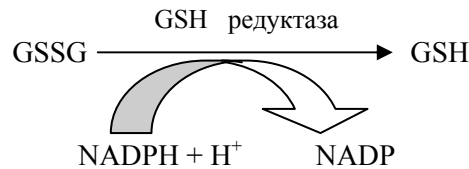
Супероксид дизмутаза-та ( $SOD$ ) ја катализира реакцијата на дизмутација на кислородот ( $O_2$ ) во водород пероксид. Кај прокариотските организми присутни се супероксид дизмутази, што содржат  $Fe^{2+}$  и  $Mn^{2+}$ . Еукариотските организми содржат две форми на  $SOD$ : цитозолен димер ( $Cu, Zn-SOD$ ) и тетрамер ( $Mn-SOD$ ), локализирана во митохондриите.



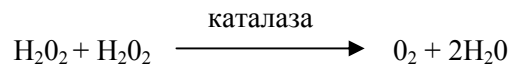
Глутатион пероксидазата ( $GSH$  пероксидаза) според својата структура е тетрамер и секоја нејзина субединица содржи по еден атом на селен. Овој ензим има примарна улога во неутрализирањето на водородниот пероксид и попречувањето на  $H_2O_2$ -зависниот механизам на создавање на слободни радикали. Глутатион пероксидазата го ползува редуцираниот глутатион ( $GSH$ ) како донор на редуцирачки еквиваленти при што се создава оксидиран глутатион ( $GSSH$  и вода).



За да се одвива континуирана редукција на водородниот пероксид, потребно е постојано обновување на GSSH во GSH. Оваа реакција ја катализира NADPH-зависна глутатион редуктаза (GSSG редуктаза).



Каталазата според својата структура е тетрамер и секоја нејзина субединица содржи НЕМ којшто влегува во составот на активното место на ензимот. Во плунката пристигнува од клетките на оралната средина. Во клетките најмногу е присутна во пероксизомите, каде што во физиолошки услови го спречува создавањето на поголемо количество на  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Овој ензим ја катализира разградбата на водородниот пероксид до молекуларен кислород и вода.



Активноста на овој ензим се зголемува при зголемена продукција на  $\text{H}_2\text{O}_2$ , бидејќи активно учествува во отстранување на водородниот пероксид. Утврдено е дека активноста на каталазата како и на супероксид дизмутазата е зголемена кај пациенти со рекурентен афтозен стоматит.

### Неензимските антиоксиданти

Од неензимските антиоксиданти на плунката најзначајни се: мочната киселина, албуминот, витаминот С и глутатионот.

*Мочната киселина* (acidum uricum) е краен производ на метаболизмот на пуринските нуклеотиди. Како резултат на неможност за разградба на мочната киселина во организмот на човекот (бидејќи недостастува ензимот *уриназа*), како и на нејзината реапсорпција на ниво на бубрежните тубули, се обезбедува доволно висока концентрација на оваа киселина во крвната плазма. Нејзиното присуство во плунката не е во потполност разјаснето. Се претпоставува дека солите на мочната киселина (урати) по пат на пасивна дифузија се транспортираат од крвната плазма во плунката. Во плунката концентрацијата на мочната киселина е помала отколку во крвната плазма. Можно е мочната киселина во плунката да пристигнува и со помош на гингивалната течност. Независно од каде пристигнува мочната киселина е главниот антиоксиданс на плунката (70% од антиоксидативниот капацитет на плунката се должи на мочната киселина).

Мочната киселина ги редуцира и ги неутрализира слободните радикали и притоа самата, се оксидира до алантоин. Исто така значајна е и улогата на мочната киселина во создавањето на комплекси со јоните на металите, на пример со  $\text{Fe}^{+3}$ . На тој начин мочната киселина го намалува оксидативниот потенцијал на  $\text{Fe}^{+3}$  без самата да се оксидира.

Кај пациентите со пародонтопатија и пациентите со орален карцином утврдено е намалување на концентрацијата на мочната киселина во плунката. Тоа е резултат на

зголемената „потрошувачка“ на овој антиоксидант заради неутрализацијата на слободните радикали чија концентрација енорно се зголемува кај овие патолошки состојби.

*Албумините* се плазма протеини кои се синтетизираат во црниот дроб. Нивната улога е да го одржуваат колоидоосмотскиот притисок, да ја регулираат рН во крвната плазма, да го регулираат транспортот на различни супстанции, но имаат и антиоксидативна улога. Од крвта преку гингивалната течност пристигнуваат во плунката, по пат на трансудација.

*Глутатионот* е трипептид кој што е изграден од следните аминокиселини: глутаминска киселина, цистеин и глицин. Во клетките е присутен во два облика: како редуциран (GSH) и оксидиран (GSSG). За нормално функционирање на клетките од особено значење е присуството на редуцираната форма на овој биомолекул, бидејќи е значаен за функционирањето на антиоксидативниот ензим-глутатион пероксидаза.

Во бројни истражувања е докажано дека пушењето предизвикува намалување на концентрацијата на глутатионот во плунката. Поради тоа, пушењето на цигари значително го намалува антиоксидативниот капацитет на плунката (концентрацијата на глутатионот и активноста на ензимот орална пероксидаза). Тоа претставува уште еден предиспонирачки фактор за појава на орален карцином.

## ЛИПИДИ

Освен главните органски компоненти, протеините и гликопротеините, во плунката се докажува и присуство на различни липиди. Концентрацијата на вкупните липиди во стимулирана паротидна плунка изнесува 0,21 mg/100 ml, во субмандибуларната плунка 0,91 mg/100 ml, додека пак во мешаната плунка оваа концентрација изнесува 1,36 mg/100 ml. Од неполарните липиди во плунката докажано е присуството на холестеридите, холестеролот, триглицеридите, диглицеридите, моноглицеридите и слободните масни киселини. Нивните концентрации во различните видови на саливарен секрет се прикажани во табелата 3.7.

	Паротидна плунка	Субмандибуларна плунка	Мешана плунка
Холестериди	0,03	0,26	0,43
Триглицериди	0	0,19	0,29
Диглицериди	0	0,05	0,26
Слободни масни киселини	0,02	0,07	0,10
Холестерол	0,09	0,17	0,13
Моноглицериди	0,07	0,15	0,10
<b>Вкупно липиди</b>	<b>0,21</b>	<b>0,89</b>	<b>1,31</b>

Табела 3.7: Неполарни липиди во плунката кои потекнуваат од различни плунковни жлезди и нивни концентрации (mg/100ml)

Поларни липиди кои што се присутни во саливарниот секрет се: фосфатидил-холин, фосфатидил-етаноламин и сулфатиди (табела 3.8).

	Паротидна плунка	Субмандибуларна плунка	Мешана плунка
Фосфатил-холин	14	9	1
Фосфатил-инозитол	15	23	9
Сулфатиди	8	28	7
Неидентификувани липиди	63	40	78

Табела 3.8: Процент на поединечни видови на поларни липиди во плунката во однос на вкупните поларни липиди

Доминантни липиди во плунката се неполярни липиди. Од изолираните липиди во паротидната плунка 99% се претставници на неполярните липиди. Субмандибуларната плунка исто така содржи неполярни липиди во голема концентрација (околу 98%), во мешаната плунка, пак, неполярните липиди се застапени со 96,4%. Со ултрацентрифугирање на плунката не е можно издвојување на одделни видови на липиди, како што тоа е можно кога станува збор на липидите на крвната плазма. Потеклото на липидите во плунката сеуште не е утврдено, како ни нивната физиолошка улога во овој секрет. Бидејќи се работи за неполярни молекули кои се нерастворливи во вода се поставува прашањето на нивното опстојување во плунката. Утврдено е дека саливарните липиди не создаваат комплексни липопротеински честички. Се претпоставува дека липидите во плунката создаваат специфични "агрегати" со саливарните протеини и гликопротеини, чија што природа и функција сеуште не е утврдена.

Во плунката е докажано и присуство на лизофосфатидна киселина. Ова органско соединение претставува мултифункционален медијатор во голем број на биолошки процеси. Концентрацијата на лизофосфатидната киселина во плунката изнесува околу 0,785  $\mu\text{mol/ml}$ . Основната улога на лизофосфатидната киселина во плунката е во процесите на заздравување на раните на мукозните делови на горните делови од гастроинтестиналниот тракт.





## **ОДРЖУВАЊЕ НА ВЛАЖНОСТ И САМОЧИСТЕЊЕ НА ОРАЛНАТА ПРАЗНИНА**

**ОДРЖУВАЊЕ НА ВЛАЖНОСТ НА ОРАЛНАТА ПРАЗНИНА**

**САМОЧИСТЕЊЕ НА ОРАЛНАТА ПРАЗНИНА**

**САЛИВАРНА АМИЛАЗА**

## ОДРЖУВАЊЕ НА ВЛАЖНОСТ НА ОРАЛНАТА ПРАЗНИНА

**С**о непрекинатото лачење на плунката (стимулирана или нестимулирана) се одржува влажноста на оралната празнина, што е од особено значење за:

- функцијата на говорот, и
- за густативната функција.

За извршување на функцијата на говорот од особено значење е движењето на јазикот и усните. Тоа движење непречено се одвива само во услови на влажна средина во усната празнина.

Густативната функција, која се извршува благодарение на сетилото за вкус, може да се одвива единствено во услови на влажна средина. Во такви услови густативните супстанции се раствораат и делуваат на бројните рецептори, присутни на лигавицата на јазикот. Кога густативните рецептори ќе се надразнат, саливацијата станува стимулирана, поголема по обем и на тој начин уште полесно и повеќе се раствораат бројните хранливи материи. Благодарение на така зголемената влажност се олеснува цвакањето, оформувањето на залакот и неговото голтање.

## САМОЧИСТЕЊЕ НА ОРАЛНАТА ПРАЗНИНА

Функцијата на самочистење на оралната празнина има огромно значење во одржувањето на оралното здравје, ако се земе во предвид дека оралната празнина е почетен дел на дигестивниот тракт, каде што разни хранливи продукти се натопуваат со плунка, се цвакаат и се голтаат.

Доколку не постои самочистење на оралната празнина, бројни честички од храната ќе се задржат во интерденталните простори и во фисурите на премоларите и моларите, а тоа има штетни последици за оралните ткива (забите и оралната мукоза). Тие штетни последици се должат на:

- прекумерното размножување на бактериите во оралната флора, бидејќи им се достапни хранливи материи (енергетски материјал) во поголемо количество, и
- повеќекратното зголемување на токсичните производи на бактериите што се ослободуваат при нивната метаболичка активност.

Наведените штетни последици, во физиолошки услови, никогаш не се случуваат (или не се случуваат во голем обем) бидејќи човековиот организам на секоја стимулација на оралните рецептори (хемиска, физичка или со други агенси) реагира со лачење на стимулирана мешана плунка. Впрочем, тоа се случува во текот на исхраната, односно цвакањето. Во излачената мешана плунка се раствора присутниот нутритивен материјал, а тоа се должи на процентуално најзначајната компонента - водата. Бидејќи водата во саливарниот секрет е застапена со 99% (од вкупната содржина на плунката), во услови на стимулирана саливација внесената храна ќе се раствора засилено. Имајќи го предвид физиолошкиот тек на движење на саливарниот секрет



(негово голтање и преку хранопроводникот се пренесува до желудникот), како и растворувачките ефекти со кои располага мешаната плунка, доаѓаат до сознанието за функцијата на самоочиштењето на оралната празнина. Ефектите на самоочиштење се одвиваат токму заради растворувачкото и испирачкото дејство на мешаната плунка, благодарение на што честичките од храната успешно се отстрануваат.

Оралната празнина располага со бројни ретенциони места (места за задршка на храна), какви што се интерденталните простори и фисурите на премоларите и моларите. Ефектите на самоочиштење на тие места се послаби, особено во горната вилица, бидејќи растворувачкото и испирачкото дејство на мешаната плунка на овие места е послабо изразено отколку на забите од долната вилица, коишто буквално „се бањаат“ во саливарниот секрет.

Вредностите на излачената мешана плунка во текот на стимулираната секреција се движат од 0,2 до 5,7 ml/min. Се смета дека во текот на стимулираното лачење се излучува дури 30 пати поголемо количество на плунка во споредба со нестимулираната саливација. Поради тоа ефектите на растворувачкото и испирачкото дејство на стимулираната плунка се многу поголеми во споредба со истите на нестимулираната плунка.

Врз ефектите на самоочиштењето на оралната празнина влијаат и саливарните пуфери, особено бикарбонатниот и фосфатниот пуфер.

Бикарбонатниот пуфер се излучува во поголема концентрација во текот на стимулираната саливација. Заради зголемената концентрација на овој пуфер мешаната плунка станува алкална и ги достигнува вредностите на рН од 7.8. Во такви услови на алкализација растворувачките ефекти на плунката до некаде се намалуваат. Тоа може да се смета како заштитна мерка која има цел да го оневозможи растворањето на оралните структури, особено на емајлот на забот и на оралната мукоза.

Растворањето на кристалите на емајлот започнува кога рН на средината ќе ја достигне вредноста од 5,5. Доколку рН на мешаната плунка се намали под оваа вредност, во услови на стимулирана саливација кога растворувачкото дејство на плунката повеќекратно се зголемува, ќе настане деминерализација на забите. Тоа значи дека организмот со својот секрет ќе делува штетно и деструктивно врз сопствените структури. Но, тоа сепак не се случува затоа што зголемената концентрација на бикарбонатниот пуфер која настанува во текот на стимулираната секреција предизвикува зголемување на вредноста на рН на средината. Со тоа се стабилизираат оралните структури, емајлот на забот и оралната мукоза.

Во периодот помеѓу два оброци, кога престанува мастикацијата и кога нема позначителна стимулација на оралните рецептори, се излучува нестимулирана плунка во количество 30 пати помало во споредба со лачењето на стимулираната плунка, или од 0,08-1,83 ml/min. Логично е да се заклучи дека во тој период растворувачкото и испирачкото дејство на нестимуларната плунка е 30 пати помало. Меѓутоа, во текот на нестимулираната секреција се зголемува концентрацијата на фосфатниот пуфер просечно за 2 до 3 пати. Како последица на тоа се намалува рН вредноста на мешаната плунка на 6,1. Со закиселување на плунката се зголемуваат нејзините растворувачки и испирачки својства, што значи дека иако лачењето на плунката е 30 пати помало сепак ефектите на самоочиштење на оралната средина не се намалуваат 30 пати туку и се зголемуваат. Заради улогата на фосфатниот пуфер во зголемувањето на ефектите на самоочиштење на оралната празнина, за него се смета дека е пуфер чистач на оралната средина.

Уделот на водата (најзначајната компонента на плунката) и на саливарните пуфери во самоочиштењето на оралната празнина е очигледен секогаш кога се работи за хранливи продукти кои се растворливи во вода. Скробот претставува многу значајна компонента во

секојдневната исхрана на современиот човек. Тој е составен дел на лебот, тестенините и слични производи. Бидејќи скробот (*amylum*) е нерастворлив во вода, честичките од ваков тип се лепат и се задржуваат во интерденталните простори и во фисурите на премоларите и моларите. Отстранувањето на овие скробни честички е незамисливо доколку плунката не располага со амилаза, ензим со голема амилитичка вредност.

Саливарната амилаза (птијалин) е ензим кој ја раскинува  $\alpha$  1-4 глицозидната врска во макромолекулата на скробот. Скробното зрно е изградено од амилоза и амилопектин. Макромолекулот амилоза е изграден од голем број на молекули на глукоза кои се помеѓу себе поврзани со  $\alpha$  1-4 глицозидна врска. Под дејство на саливарната амилаза се раскинуваат ваквите врски со хидролитична реакција а како резултат на оваа реакција се добиваат голем број на добро растворливи молекули на малтоза и малку глукоза.

Структурата на амилопектинот е посложена во споредба со градбата на амилозата. Во неговата структура освен што глицозите се поврзани со  $\alpha$  1-4, поврзани се и со  $\alpha$  1-6 глицозидни врски. Со хидролиза на амилопектинот освен голем број на молекули на малтоза и малку глукоза се добиваат и олигосахариди што се добро растворливи во вода, познати како декстриани.

Скробните честички од ретенционите места во устата, со ензимското дејство на саливарната амилаза, многу брзо хидролитички се разградуваат, потоа се раствораат и се испираат. Ефектот на самочистење на оралната празнина е многу поголем кога во него учествува саливарната амилаза, отколку кога самочистењето е резултат само на растворувањето и испирањето на основната компонента на плунката - водата. Благодарение на функцијата на самочистење, саливарната амилаза има значителен придонес во превенцијата на оралните заболувања.

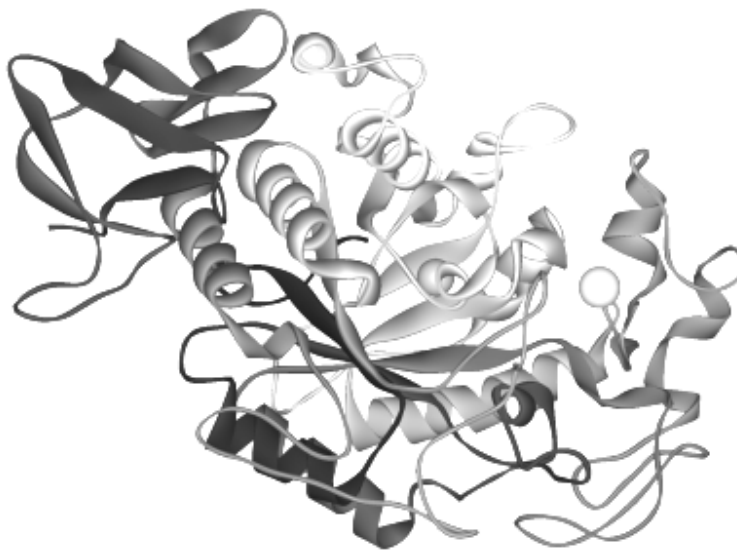
Превентивното дејство на саливарната амилаза се објаснува на следниов начин:

- Скробното зрно се состои од голем број молекули на глукоза ( $n$  молекули), а бактериите секој молекул на глукоза го катаболираат во 2 молекули на лактат (млечна киселина). Со насобирање на ретинираните скробни честички, бактериите од  $n$  молекули на глукоза би ослободиле енормна количина на лактат. Бидејќи млечната киселина претставува средно јака органска киселина ( $pH$  2,9), со нејзино неконтролирано продуцирање во текот на метаболичката активност на денталниот плак локалниот  $pH$  ќе се намали на вредност под 5,5. Тогаш започнува растворање на кристалите на хидроксиапатитот на емајлот на забот што ќе предизвика потполна деминерализација на забите. Но, тоа не се случува благодарение на дејството на саливарната амилаза која што бргу и ефикасно ги отстранува заостанатите честички од храната. На тој начин, бактериите од оралната флора остануваат без нутритивен и енергетски материјал.

## САЛИВАРНА АМИЛАЗА

Саливарната амилаза според својата структура е мономерен протеин, а според функцијата е ензим. Со оглед на тоа што во нејзиниот состав влегуваат јони на  $Ca^{2+}$ , овој протеин (ензим) припаѓа на групата на металоензими. Јонот на  $Ca^{2+}$  има клучна улога во одржувањето на конформацијата на молекулата на овој ензим. Без присуство на јонот на  $Ca^{2+}$  доаѓа до реверзибилен губиток на активноста на овој ензим. Саливарната амилаза е еден од ретките ензими за чија активност е потребно присуство на анјони на  $Cl^-$ , кој делува како нејзин активатор.

Саливарната амилаза е присутна во две форми: гликолизирана со молекулска маса 62 000-63 000 Da и негликолизирана форма со молекулска маса од 56 000-59 000 Da (слика 4.1).



Слика 4.1: Структура на саливарната  $\alpha$ -амилаза

Гликолизираната форма на саливарната амилаза содржи странични јаглехидратни синцири кои се поврзани за аспаргинската киселина од основниот полипептиден синцир. Оваа форма исто така содржи две SH и четири дисулфидни врски. Полипептидниот синцир е изграден од 496 аминокиселини, а најзастапени се: 1. хидрокси-аминокиселините (треонин и серин), 2. дикарбонските аминокиселини (аспаргинска и глутаминска) и 3. ароматични аминокиселини (триптофан и тирозин). Како и останатите глобуларни протеини и саливарната амилаза има секундарна структура во вид на алфа хеликс, која е стабилизирана главно со водородни врски. Водородните врски особено се стабилни во хидрофобната внатрешност на протеинот.

Местото на синтеза на овој ензим се жлездените ацинуси на паротидната и останатите плунковни жлезди. Претставува квантитативно најзастапен протеин во паротидната плунка. Саливарната амилаза учествува со 30 % во вкупниот протеински состав на паротидната жлезда. Во субмандибуларната стимулирана плунка концентрацијата на овој ензим изнесува 0,3 g/l, додека пак во стимулираната сублингвална плунка концентрацијата на саливарната амилаза изнесува 0,25 g/l. Во вкупната стимулирана плунка, саливарната амилаза е застапена во концентрација од 0,42 g/l.

Со примена на методата на електрофореза се потврдило постоењето на повеќе електрофоретски фракции на овој ензим. Оваа појава се објаснува со постоење на повеќе изоензимски облици на овој ензим. Со терминот изоензим во биохемијата се означуваат различни електрофоретски облици на еден ист ензим, кои што катализираат еден вид на ензимска реакција, а во реакцијата секогаш се вклучува ист супстрат.

Природата на изоензимите најдобро е проучена на примерот на лактат дехидрогеназата, ензим за кој што е докажано дека претставува тетрамерна комбинација A и B на основната компонента. Аналогно на лактат дехидрогеназата, изоензимите на саливарната амилаза би биле: 4A, 3A1B, 2A2B, 1A3B и 4B. Со оваа комбинација можат да се објаснат петте изоензими на саливарната амилаза и би било оправдано да се очекува дека изоензимите 4A и 4B биохемиски значително се разликуваат.

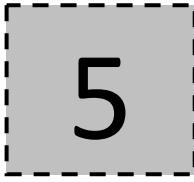
Врз основа на анализата на аминокиселинскиот состав (види табела) на 5-те изолирани изоензими на саливарната амилаза, не е можно да се објасни нивното потекло со аналогната тетрамерна комбинација како кај лактат дехидрогеназата, бидејќи аминокиселинскиот состав на одделните изоензими е речиси ист или постојат минимални отстапувања. Поради тоа природата на изоензимите на саливарната амилаза се објаснува со гликолизацијата (врзување на различни јаглехидратни делови за основниот протеински дел на молекулата на саливарната амилаза, кај гликолизираната форма).

Секој изоензим на саливарната амилаза има различни вредности на изоелектричната точка и различна активност во зависност од вредностите на рН на оралната средина. Во текот на денот постојат нормални варијации на рН на оралната средина од 6,1 до 7,8. Распонот на рН при којшто саливарната амилаза е активна изнесува од 5,8 до 6,9 (табела 4.1). Така што при било која вредност на рН на оралната средина, којашто одговара на распонот на делување на саливарната амилаза, некои од изоензимските облици на овој ензим ќе бидат активни и ќе ја вршат функцијата на разградба на заостанатите скробни честички, односно функцијата на самочистење на оралната празнина.

Амино киселина	рН 6,90	рН 6,65	рН 6,35	рН 6,20	рН 5,80
Аспарат	16,77	14,90	16,90	15,71	16,09
Треонин	4,81	4,47	4,73	4,79	5,03
Серин	7,28	7,64	7,47	7,85	7,00
Глутамат	8,31	7,44	7,65	7,99	8,27
Пролин	5,21	4,66	5,46	5,05	5,70
Глицин	11,87	11,38	10,88	12,04	11,80
Аланин	6,22	5,80	5,56	6,24	6,06
Цистеин	1,08	1,94	1,66	-	-
Валин	6,30	6,53	6,59	6,72	7,19
Метионин	0,96	1,07	2,04	1,14	0,54
Изолеуцин	4,55	4,67	4,49	4,81	4,78
Леуцин	5,04	5,16	4,84	5,28	5,08
Тирозин	3,69	4,39	4,17	4,19	4,31
Фенилаланин	4,98	5,30	4,96	5,18	5,13
Лизин	4,86	5,12	4,82	4,86	4,94
Хистидин	2,13	2,76	2,36	2,40	2,38
Аргинин	5,90	6,77	5,42	5,67	6,61

Табела 4.1. Аминокиселински состав на петте изоензими на саливарната амилаза, определен како број на аминокиселини/100

Саливарната амилаза е значајна и за метаболизмот и колонизацијата на оралните бактерии кои учествуваат во создавањето на денталниот биофилм. Во денталната пеликула покрај останатите саливарни протеини докажано е и присуството на саливарната амилаза. Саливарната амилаза присутна во денталната пеликула има улога на рецептор за врзување на оралните бактерии во текот на создавањето на бактерискиот биофилм. Докажано е дека овој ензим во составот на денталната пеликула има можност да ја врзува бактеријата *Streptococcus gordonii*.



## **РЕГУЛАТОРИ НА ЕЛЕКТРОХЕМИСКАТА РЕАКЦИЈА НА ПЛУНКАТА**

**БИКАРБОНАТЕН ПУФЕР**

**ФОСФАТЕН ПУФЕР**

**ПРОТЕИНСКИ ПУФЕР**

**А**ктуелната киселост (рН) на оралната средина директно зависи од присуството и количеството на мешаната плунка. Со помали или поголеми осцилации плунковниот секрет речиси постојано се лачи во оралната празнина, така што во сите делови на оралната средина (заби, орална мукоза) мешаната плунка се докажува во облик на тенок филм. Ваков течен, тенок слој на плунковен секрет се забележува и на мукозата на тврдото непце и на забите од горната вилица, а состојбата со забите од долната вилица и мукозата на подот на усната празнина е малку поинаква. Имено, заради анатомската локализација на изводните канали на двете подвлични и двете подјазични жлезди, во овие делови на оралната празнина плунката е присутна во избилство, па затоа не станува збор за присуство на тенок филм од плунковен секрет.

Познавајќи го физиолошкиот тек на плунката (со голтањето се пренесува до желудникот) како и нејзиниот пуферски капацитет, може да се каже дека мешаната плунка ја одредува рН на оралната средина и дека со одредување на киселоста на плунката се добива рамковна вредност за киселоста на оралната средина. Со мерење на рН на мешаната плунка докажано е дека постои широк дијапазон на овие вредности, од најкиселиот рН =5,3, па до алкалниот рН =7,8. Добиените вредности за рН секако зависат од времето на мерење и од обемот на саливарната секреција, односно, дали се работи за нестимулирана или стимулирана саливарна секреција.

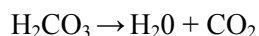
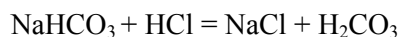
Пуферите се регулатори на електрохемиската реакција на плунката. Тие претставуваат комбинација од слаба киселина (односно слаба база) и од нивните соли или претставуваат аморфни соединенија кои реагираат со јаки киселини или бази при што се добиваат слаби киселини или бази и соли.

Мешаната плунка содржи повеќе пуфери. Посоодветно е да се зборува за пуферски механизам на овој секрет. Тој механизам го сочинуваат следните пуфери:

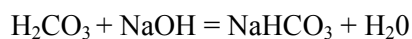
- бикарбонатниот пуфер
- фосфатниот пуфер
- протеинскиот пуфер
- уреата
- превентивниот пуфер од типот на саливарната амилаза
- превентивно-профилактичниот пуфер на флуоридите

## **БИКАРБОНАТЕН ПУФЕР**

Бикарбонатниот пуфер претставува доминантен пуфер во мешаната плунка во текот на стимулираната саливарна секреција. Според својот биохемиски состав бикарбонатниот пуфер е комбинација на натриум бикарбонат  $\text{NaHCO}_3$  и јаглородна киселина  $\text{H}_2\text{CO}_3$  во сооднос (1:20). Во нестимулираната саливарна секреција, неговата концентрација изнесува 1 mmol/l, а во текот на стимулираната саливарна секреција неговата концентрација ја достигнува вредноста од 60 mmol/l. Во присуство на јака киселина со неа ќе реагира натриум бикарбонатот при што ќе се добие слаба јаглородна киселина, која што пак понатаму ќе дисоцира на јаглен диоксид и вода:



Во присуство на јака база со неа ќе реагира јаглеродната киселина и ќе се добие соодветна сол:



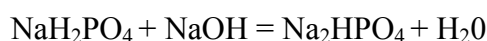
На тој начин, во растворот наместо силна база ќе се најде натриум бикарбонат, којшто помалку влијае врз електрохемиската реакција за разлика од натриум хидроксидот.

Значењето на овој пуфер и неговата зголемена концентрација е повеќекратно:

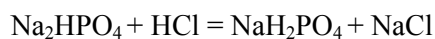
1. Вредностите на рН достигнуваат до 7,8 при што мешаната плунка станува благо алкална.
2. Со алкализацијата на плунката се зголемува стабилноста на поголемиот број на протеини и гликопротеини во овој секрет, така што овие молекули можат максимално да ја остварат својата функција во одржувањето на оралната хомеостаза.
3. Се намалува растворувањето својство на основната компонента на плунката-водата, што претставува заштита на цврстите забни супстанции од губиток на минерали.
4. Во алкални услови се поттикнува реминерализацијата на површинските слоеви на забот како резултат на исталожување на минералите од плунката врз површината на забот. Тоа е всушност првата, а воедно и најзначајната фаза од рекристализацијата на цврстите забни површини.
5. Алкалната плунка создава предуслови за адсорбција на саливарните гликопротеини врз површината на забите во текот на мастикацијата. На тој начин оклузалните површини на моларите и премоларите како и секалните рабови на канините и инцизивите се заштитуваат од прекумерно трошење на забната супстанца.

## ФОСФАТЕН ПУФЕР

Фосфатниот пуфер претставува доминантен пуфер на нестимулираната саливарна секреција. Неговата концентрација во текот на нестимулираната саливарна секреција изнесува 7-8 mmol/l, а во текот на стимулираната саливарна секреција концентрацијата на фосфатниот пуфер изнесува 2-3 mmol/l. Овој пуфер во плунката е изграден од примарен ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) и секундарен ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) натриум фосфат. Во овој систем примарниот фосфат има улога на киселина и реагира со бази при што се добива секундарен фосфат и фосфат на внесената база.



Секундарниот фосфат има улога на база и реагира со киселини, при што се добива примарен фосфат и натриумова сол на соодветната киселина.



Значењето на фосфатниот пуфер во текот на нестимулираната саливарна секреција е повеќекратно:

1. Со својата концентрација од 7-8 mmol/l ја смалува рН вредноста на плунката на 6,1 поради што секретот на плунката слабо се закиселува.
2. Слабата закиселеност на плунката ги зголемува нејзините растворувачки способности и на тој начин се задоволени ефектите на самочистење на оралната празнина.
3. Зголемената концентрација на фосфатниот пуфер предизвикува десорпција на апсорбираните гликопротеини и на тој начин ги чисти забите од создадената дентална пеликула. Заради оваа своја функција фосфатниот пуфер и се нарекува чистач на оралната празнина.

Фосфатниот пуфер има значајна улога во функцијата на самочистење на забите и оралната средина во фаза на мирување (помеѓу два оброка). Под дејство на фосфатниот пуфер доаѓа до отстранување на саливарните гликопротеини од површината на забите каде што тие се исталожуваат при зголемена саливација. Нивното исталожување е со цел да ги заштитат забите од прекумерно трошење при актот на мастикација. Кога престанува актот на мастикација, нема ни потреба од заштита на саливарните гликопротеини, па тие со помош на фосфатниот пуфер се отстрануваат од површината на забите.

## ПРОТЕИНСКИ ПУФЕР

Способноста на протеините за пуферска функција произлегува од нивната амфотерна природа (во зависност од електрохемиската реакција на средината дисоцираат или како киселини или како бази). Оваа способност е овозможена од присуството на слободни карбоксилни (кисели) и базни групи (најважни се аминокиселините). Во алкална средина протеините дисоцираат како слаби киселини и ги врзуваат алкалиите: натриум и калиум. При ацидоза ги отпуштаат алкалиите и со нив ги неутрализираат присутните киселини. Бидејќи протеините се присутни во релативно ниска концентрација во плунката, нивното значење во одржувањето на електрохемиската реакција на плунката е минимално.

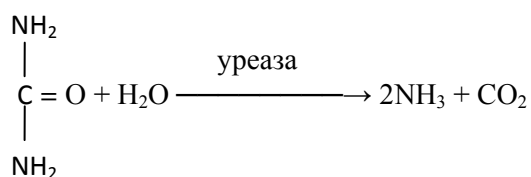
Освен споменатите пуфери во одржувањето на електрохемиската реакција на оралната средина, учествуваат и други соединенија или ензими коишто имаат одредена пуферска улога, а тоа се:

- пуферот на уреа,
- превентивен пуфер од типот на саливарна амилаза и
- превентивно-профилактичен пуфер од типот на флуориди.

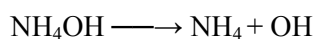
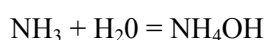
**Уреата** е диамид на јаглородната киселина. Плунковните жлезди не ја синтетизираат уреата, но таа во нив пристигнува по пат на ултрафилтрација на крвниот серум, на ниво на ацинусните клетки на плунковните жлезди. Уреата, како краен производ од катаболизмот на протеините, во растворите се однесува како умерено алкално соединение. Ова соединение е со мала молекулска маса и лесно се пробива низ слоевите на сите наслаги, особено низ



слоевите на денталниот плак. Во плакот под дејство на ензимот уреаза, уреата се разградуваат според следната реакција:



Ослободениот амонијак реагира со вода и во плакот се создава јака база  $\text{NH}_4\text{OH}$  (амониум хидроксид), којшто дисоцира на амониум и хидроксилна група:

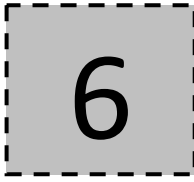


Како резултат на сите овие процеси микросредината на плакот се алкализира сразмерно на концентрацијата на амониум хидроксидот. На овој начин организмот се спротивставува на неконтролираното намалување на рН под 5,5, кога и започнува деминерализацијата на хидроксиапатитот на забните ткива. Произлегува дека уреата пристигната од плунката, доминантна активност во регулирање на ацидобазната рамнотежа, покажува во наслугите на забите (дентален плак). Она што е карактеристично е дека таа може да дифундира само во слоевите на младиот, незрел дентален плак. За промените во рН средината на плакот ќе биде дискутирано во делот од оваа книга кој се однесува на денталниот плак.

**Превентивниот пуфер од типот на саливарна амилаза** е најзначаен ензим на плунката што ги хидролизира ретинираните скробни честички и на тој начин ефикасно ги отстранува, недозволувајќи им на бактериите да го разградат скробот до лактат. Овој ензим со своето амилолитичко дејство, освен тоа што учествува во функцијата на самочистење на оралната средина има и значително превентивно пуферско дејство. Со ова свое дејство амилазата на индиректен начин го оневозможува неконтролираното намалување на вредноста на рН на средината.

**Превентивното дејство на флуоридите** се должи на нивниот афинитет кон ензимот енолаза. Овој ензим учествува во гликолизата, а со негова инхибиција се прекинува катаболизмот на глюкозата, што ќе доведе и до намалување на нивото на крајни метаболити од овој процес, од типот на лактат. На тој начин се елиминира можноста од намалување на рН на средината, а воедно и од деминерализација на забите.





## **ОДРЖУВАЊЕ НА ИНТЕГРИТЕТОТ НА ОРАЛНИТЕ СТРУКТУРИ**

### **МУЦИНИ (СИЈАЛОМУЦИНИ)**

**Обложувачка улога на муциноот**

**Антимикробно дејство на муциноот**

**М**ешаната плунка, стимулирана или нестимулирана, има многу значајна улога во одржувањето на интегритетот на оралните структури. Од хистологијата е познато дека оралната празнина е прекриена со орална мукоза која во однос на внатрешната средина претставува бариера и спречува продирање на антигени (макромолекули од нутритивно потекло, бактерии, како и нивни токсични и распадни продукти).

Континуитетот на мукозата, како бариера, се прекинува со никнење на забите. Благодарение на припојниот епител на гингивата и поврзувањето кое настанува помеѓу него и забите се создава мукозно-дентална бариера, или мукозно-емајлова бариера. Во овој дел ќе се задржиме на објаснувањето на бариерните својства на оралната мукоза и на сијаломуцинолот, а за биохемиските карактеристики на емајлот ќе стане збор подоцна.

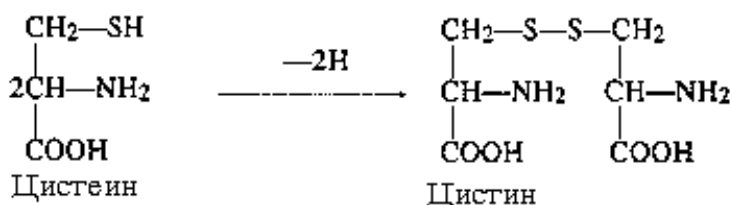
Бариерните својства на оралната мукоза се должат пред сè на повеќеслојниот плочест епител, кој учествува во градбата на оралната мукоза. Овој епител, во вид на густо поредени клетки во повеќе редови, го спречува продирањето на разновиден антиген материјал во внатрешната средина.

Притисокот кој се создава во текот на мастикацијата не делува подеднакво на сите делови од оралната мукоза. Поради таа причина хистолошки се разликуваат три типа на орална мукоза: мастикаторен тип, покровен тип и специјализиран тип на орална мукоза.

Мастикаторната мукоза е изложена на најголем притисок во текот на цвакањето и таа се наоѓа на гингивата и тврдото непце. Основна хистолошка карактеристика на овој тип на мукоза е кератинизацијата.

Кератинизацијата на епителот на мастикаторната мукоза потекнува од потпорниот протеин кератин, кој што се создава во специјализирани епителни клетки-кератиноцити. Потврдено е дека кератиноцитите се присутни и во кератинизираната и во некератинизираната мукоза, но тие покажуваат активност (во смисла на продукција на кератин), во зависност од активноста на мукозата. Оние делови од мукозата кои се изложени на делувањето на мастикаторните сили, содржат активни кератиноцити и покажуваат знаци на кератинизација при што површните епителни слоеви се претопуваат во хомогена целина.

Од биохемијата е познато дека сложениот протеин кератин се карактеризира со голема застапеност на аминокиселините цистеин и цистин. Две цистеински резидуи, од два соседни полипептидни синцири, кои влегуваат во состав на кератинот, создаваат стабилни дисулфидни врски (S-S) после оксидацијата, односно после губењето на 2 водородни атома. На тој начин настанува аминокиселината цистин.



Со создавањето на бројни дисулфидни врски долж полипептидните синцири на кератинот, се зголемува поврзаноста на епителните клетки и нивно претопување во една хомогена маса. Токму заради опишаните биохемиски промени, кои настануваат на

површината на епителот, мастикаторната мукоза располага со солидни бариерни својства и ја спречува нефизиолошката ресорпција.

Покровната мукоза е присутна на усните, вестибулумот, подот на усната празнина, вентралната површина на јазикот и на мекото непце. Нејзината улога е да ги покрива мускулите и плунковните жлезди и да ги заштитува од различни влијанија во оралната средина.

Специјализираната мукоза е присутна на дорзалната површина на јазикот. Тука се наоѓаат голем број на густативни телца кои се значајни за функцијата на сетилото за вкус.

Одржувањето на интегритетот и функционалните карактеристики на оралната мукоза е од извонредно значење. За тоа, како и за интегритетот на сите орални структури од особено значење е и составниот дел на плунката-муцинот.

## МУЦИНИ (СИЈАЛОМУЦИНИ)

Муцините (MG) се високо молекуларни гликопротеини кои што се изградени од два дела: протеински и јаглехидратен дел. Јаглехидратниот дел доминира во молекулата на муцините, процентуално е позастапен (повеќе од 50%). Големата застапеност на муцините во плунката му дава на овој секрет вискозен карактер. Муцините се карактеризираат со голема молекулска маса од 100.000 до неколку милиони Da. Овие саливарни гликопротеини примарно се создаваат од страна на субмандибуларните и сублингвалните плунковни жлезди. Се разликуваат два типа на муцини: MG<sub>1</sub> и MG<sub>2</sub>. Муцинот, тип MG<sub>1</sub>, се карактеризира со голема молекулска маса ( $>10^6$ ), додека пак, муцинот тип MG<sub>2</sub> има значително помала молекулска маса ( $2 \times 10^5$ ).

Протеинскиот дел на муцините се состои од еден полипептиден синџир во кој што аминокиселините се поврзани помеѓу себе со помош на пептидни врски.

MG<sub>1</sub> е изграден од околу 5.000 аминокиселини кои се распоредени во три домени: N-терминален домен, централен домен и C-терминален домен. N-терминалниот домен е изграден од околу 450 аминокиселини. Во него цистеинот е една од позастапените аминокиселини, а присутни се и потенцијални места за N-глукозилација. Централниот домен содржи 3570 аминокиселини, а најзастапени се аминокиселините треонин, серин и пролин. Овој домен се состои од 19 суб-домени. C-терминалниот домен содржи 804 или 808 аминокиселини, а најзастапени се цистеинот и пролинот. Овој домен има слична структура со von Willebrand-овиот фактор. Врз основа на оваа сличност, забележано е дека во C-терминалниот домен се присутни шест суб-домени.

Се издвојуваат три групи на аминокиселини кои што се најзастапени во протеинскиот дел на муцинот:

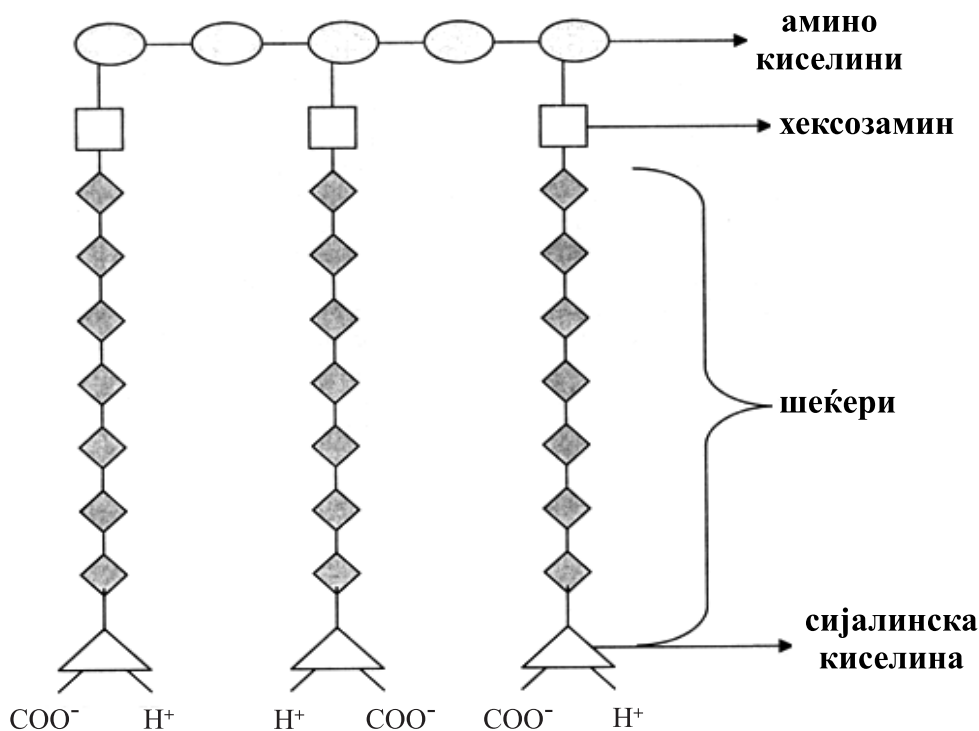
1. Хидроксиамино киселини: серин и треонин;
2. Дикарбонски аминокиселини: аспаргинска и глутаминска;
3. Пролин, глицин и аланин.

Значењето на пролиноот за структурата на муцините произлегува од неговата имино (NH) група, благодарение на која се раскинува секундарната, спирална конформација на пептидниот синцир. Заради тоа е оневозможено "склопчувањето" на молекулуците на муцините во глобуларен изглед. На тој начин се овозможува врзување на голем број јаглехидратни синцири, со кои муцините располагаат во изобилство.

Значењето на глициноот и на аланиноот е во тоа што овие аминокиселини со мали димензии само го пополнуваат најголемиот дел на пептидниот синцир, без некое поголемо значење врз природата и карактерот на муцините.

Слободните алкохолни групи на хидроксиамино киселините (серин и треонин) претставуваат место за бочните јаглехидратни синцири на комплетираната молекула на муцините. Слична функција имаат и дикарбонските аминокиселини (аспаргинска и глутаминска), чии што преостанати (COOH) групи обезбедуваат соодветен тип на врска за врзување на големиот број на шеќерни компоненти.

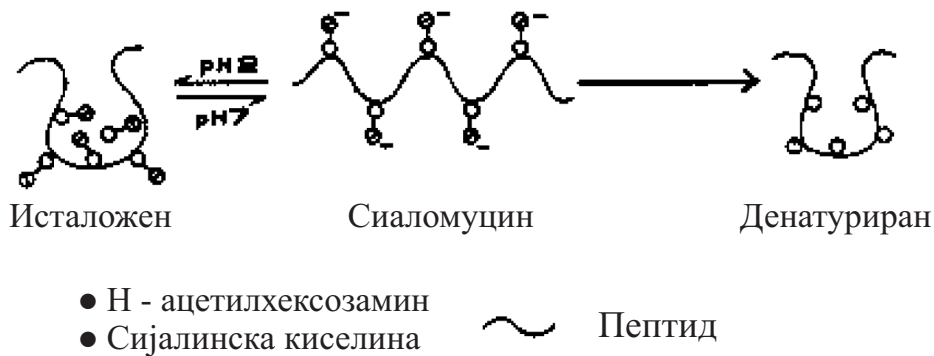
Во бочните синцири на муцините првото место во најголем број на случаите го заземаат N-ацетилирани хексозамини (N-ацетил-глукозамин, N-ацетил-галактозамин) (слика 6.1). Нивната улога е да ги поврзат јаглехидратните синцири со полипептидниот синцир. Се разликуваат три типа на врски помеѓу јаглехидратните синцири и полипептидниот синцир: глукозидни, естерски и амидни врски. Најбројни се глукозидните врски, а тие се реализираат помеѓу хидрокси-амино киселините и хексозамините. Естерските врски се реализираат помеѓу дикарбонските аминокиселини и соодветните хексозамини. Амидните врски, пак, се реализираат помеѓу глутаминот или аспаргинот и хексозамините.



Слика 6.1: Структура на муциноот и дисоцијација на COOH групата на сијалинската киселина

Последно место (терминална позиција) во бочните синцири на муцините и припаѓа на сијалинската киселина.

Местото кое го заема сијалинската киселина во јаглекхидратниот синцир на сиаломуцините е од големо значење за нивните функции и нивната стабилност. Тие функции се должат токму на функциите на сијалинската киселина. Имено, ниската вредност на  $pK=2,6$  (изоелектрична точка) на сијалинската киселина овозможува дисоцијација на нејзината карбоксилна група и вон физиолошките вредности на  $pH$  на плунката. Тоа пак, обезбедува меѓусебно одбивање на истородно наелектризираните резидуи на сијалинската киселина со што се обезбедува максимална екстендираност (раширеност) на молекулите на сиаломуцините, нивна максимална стабилност во растворот и остварување на нивните биолошки функции. Спротивен ефект ќе настане ако се оневозможи дисоцијацијата на сијалинската киселина со делување на некоја појака минерална киселина ( $pH 2$ ) (слика 6.2). Во таков случај ќе се изгуби наелектризираноста на молекулите на муцините, ќе дојде до ”склопчување“ и до исталожување на нивните молекули.



Слика 6.2: Механизам на таложeње на саливарниот муцин под дејство на ниски вредности на  $pH$  и на ензимот сиалидаза.

Муцини	MG <sub>1</sub>	MG <sub>2</sub>
Молекулска тежина-Da	>10 <sup>6</sup>	2-2,5 x 10 <sup>5</sup>
Протеини- mg/100mg	21,8	14,1
N-ацетилгалактозамин- mg/100mg	11,8	13,7
N-ацетилглюкозамин- mg/100mg	17,6	23,4
Галактоза- mg/100mg	24,9	26,8
Фукоза- mg/100mg	11,3	13,6
Сијалинска киселина- mg/100mg	3,9	3,8
Сулфати- mg/100mg	3,5	3,6
Масни киселини- mg/100mg	0,2	0,2

Табела 6.1: Биохемиски состав на MG<sub>1</sub> и MG<sub>2</sub> во плунката

Муцини	MG <sub>1</sub>	MG <sub>2</sub>
Протеини	14,9%	30,4%
<b>Јагленихидрати</b>	78,1%	68%
Олигосахаридни синџири (број)	14	170
Сијалинска киселина (број)	46	67
Шеќери и нивни деривати во бочните синџири (број)	4-16	2-7
Сулфати	7%	1,6%
Масни киселини	непознато	непознато

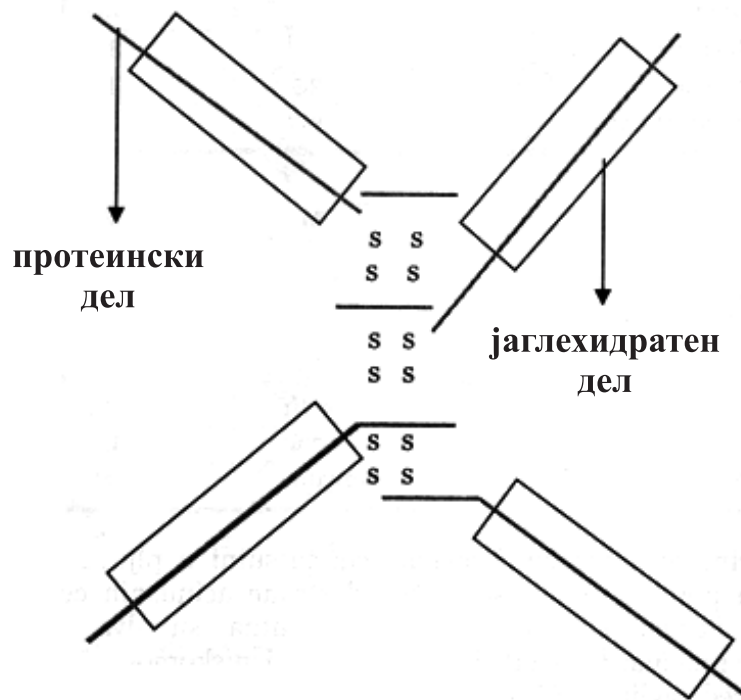
Табела 6.2: Процентуална застапеност на составните компоненти на MG<sub>1</sub> и MG<sub>2</sub> во плунката

Муцините се присутни со висока концентрација во плунката, имаат локално потекло бидејќи се синтетизираат од страна на ацинусните клетки на плунковните жлезди. Во плунковниот секрет се присутни два типа на секреторни муцини: високомолекуларен MG<sub>1</sub> и нискомолекуларен MG<sub>2</sub> (табела 6.1). 26% од вкупните протеини на мешаната плунка припаѓаат на муцините. Субмандибуларната плунковна жлезда, која содржи мукозни ацинусни клетки (го произведуваат MG<sub>1</sub>) и серозни ацинусни клетки (го произведуваат MG<sub>2</sub>), продуцира 30% од саливарниот муцин. Сублингвалната, лабијалните и палатиналните плунковни жлезди, кои содржат воглавно мукозни ацинусни клетки, ги продуцираат останатите 70% од саливарниот муцин. Саливарниот секрет на паротидната жлезда не содржи муцини.

MG<sub>2</sub> е саливарен гликопротеин со мала молекулска маса од 20-250 kDa. Го продуцираат воглавно серозните клетки на серомукозните плунковните жлезди (субмандибуларните, сублингвалните, лабијалните и палатиналните). Утврдено е дека постојат два вида на овој муцин: MG<sub>2a</sub> и MG<sub>2b</sub>. Овие два вида на нискомолекуларен муцин не се разликуваат според аминокиселинскиот состав, туку според содржината на сијалинска киселина и на фукоза во јаглехидратниот дел. MG<sub>2a</sub> содржи 14% сијалинска киселина и 16% фукоза, додека пак MG<sub>2b</sub> содржи 27% сијалинска киселина и 7% фукоза (табела 6.2).

MG<sub>1</sub> е саливарен гликопротеин со голема молекулска маса (>1.000 kDa). Неговата структура е посложена од структурата на MG<sub>2</sub>. MG<sub>1</sub> е тетрамер каде што мономерните единици на муциот се поврзани со дисулфидни врски (слика 6.3).





Слика 6.3: Предложен модел на тетрамерниот муцин MG1

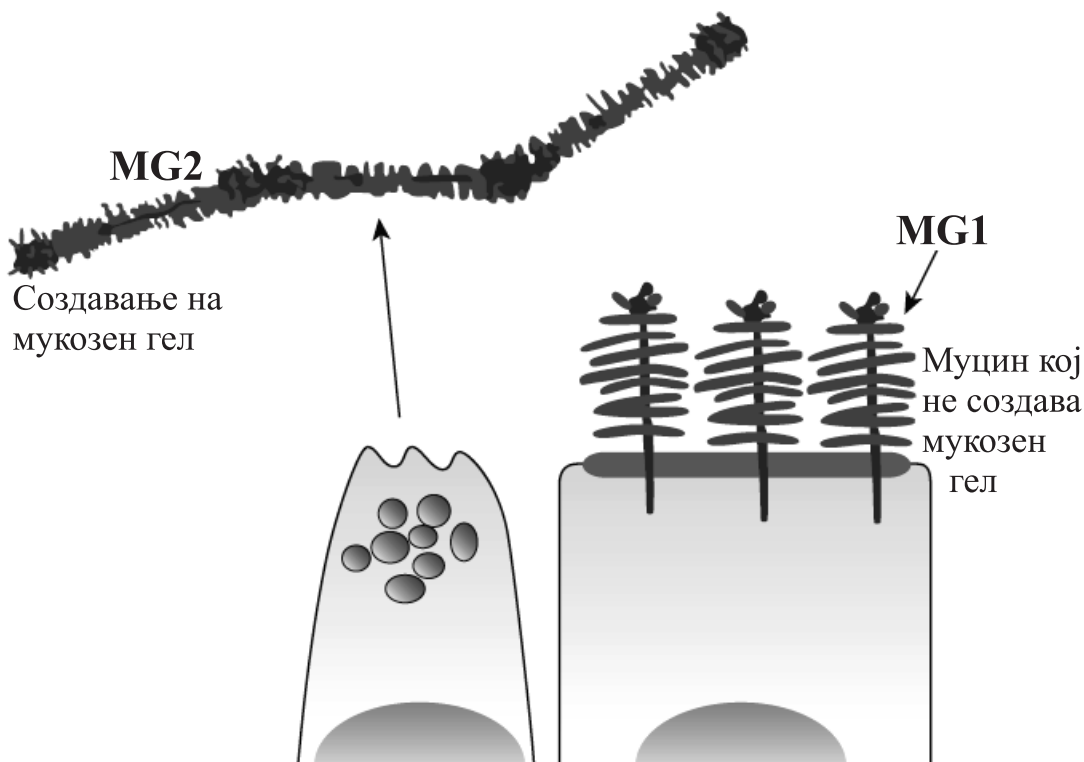
Саливарните муцини имаат поголем број на значајни функции во одржувањето на оралната хомеостаза:

- обезбедуваат лигав изглед и вискозност на саливарниот секрет;
- ја обложуваат оралната лигавица со заштитен филм и на тој начин ја заштитуваат од мацерација (оштетување) која би настанала во константно влажна средина;
- го обложуваат болусот (залакот) и го овозможуваат неговото полесно голтање;
- ги олеснуваат движењата на јазикот и говорот;
- во дигестивниот тракт (каде што муциноот е присутен) ја спречуваат автодигестијата на цревната лигавица, која би настанала под влијание на бројни протеолитички ензими од дигестивните сокови;
- учествуваат во агрегацијата на бактериите, со што се овозможува нивната неутрализација и попречување на патогената активност;
- спречуваат атхеренцијата на бактериите за оралната лигавица.

### Обложувачка улога на муциноот

Плунката е во постојан контакт со површината на забите. Притоа нејзините составни компоненти влегуваат во состав на протеинскиот филм кој се создава врз површината на забите, а се нарекува стекната дентална пеликула. Во создавањето на тенкиот протеински филм на површината на забот учествуваат и саливарните муцини.

Муцините, при нивна концентрација од 30-40 mg/l, создаваат мукозен гел кој ја прекрива лигавицата на оралната празнина (слика 6.4). Благодареејќи на тоа што поседува голем број на јаглехидратни синцири, чии шеќерни компоненти се добро хидратирани, водата како растворувач во мукозниот гел е потполно интрамолекуларно врзана. На тој начин е оневозможена дифузијата на макромолекули, додека дифузијата на молекули со мала молекулска маса значително е намалена. Со импрегнирање на оралната лигавица од страна на муцините, се зголемуваат нејзините одбранбени карактеристики, бидејќи се спречува продирањето на антигени од страна на надворешната средина. Помеѓу епителните клетки на оралната лигавица и муциноот постои интеракција која настанува како резултат на бројни хидрофобни, водородни и јонски врски кои се создаваат помеѓу полиањонските молекули на муциноот и епителните клетки. Во мембраните на епителните клетки на оралната мукоза е откриен рецептор со молекулска маса од 97 kDa, кој има голем афинитет кон муциноот на плунката. Интеракцијата помеѓу овој рецептор и муциноот се остварува преку јаглехидратните синцири. Утврдено е дека со дегликолизација на муциноот се намалува неговото врзување за епителните клетки дури за 89%. Присуството на споменатиот рецептор во мембраната на епителните клетки има големо значење за одржувањето на континуитетот на лигавиот мукозен слој на оралната лигавица. Пореметување на интеракцијата рецептор-муцин може да настане под дејство на бактериски ензими-глукозидази. Тие го разградуваат јаглехидратниот дел на муциноот и на тој начин го пореметуваат создавањето на мукозниот слој. Тоа пак ќе предизвика создавање на лезии (рани) на епителот на оралната празнина.

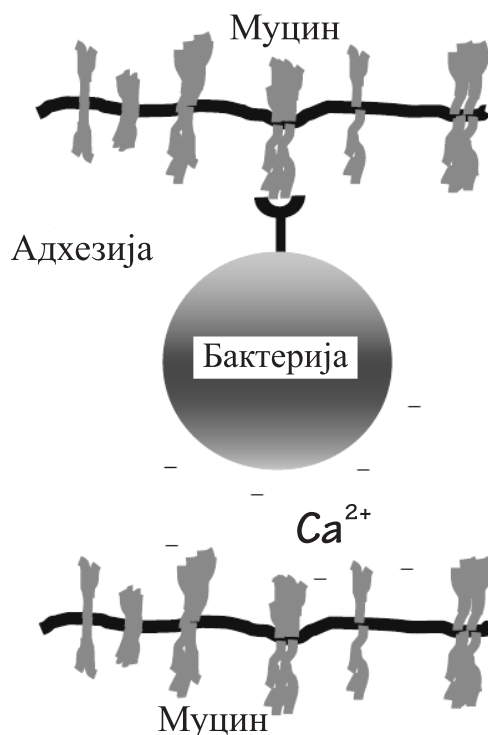


Слика 6.4: Создавање на мукозен гел од сливарниот муцин (MG2); (MG1) кој непосредно се прикрепува за мембраните на епителните клетки во оралната празнина.

### Антимикробно дејство на муцилот

Поновите истражувања укажуваат и на антимикробната активност на саливарните муцини. Поради тоа, овие гликопротеини се вклучени во неспецифичната антимикробна одбрана на оралната празнина (слика 6.5). Нискомолекуларните муцини на плунката во "in vitro" услови делуваат штетно врз различни габички (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformis*), Грам- позитивни бактерии (*Streptococcus mutans*), како и врз Грам-негативни бактерии (предизвикувачи на пародонтопатија *Porphyromonas gingivalis*). Муцините се значаен фактор за превенција на забниот кариес, бидејќи се во состојба да предизвикаат агрегација на бактериите од оралната флора. Бројни податоци во литературата покажуваат дека нискомолекуларните муцини се многу поефикасни во агрегацијата на бактериите за разлика од високомолекуларните муцини. Високомолекуларните муцини се многу позастапени во плунката кај кариес-чувствителни индивидуи, додека пак кај кариес-резистентните индивидуи е утврдена зголемена концентрација на нискомолекуларни муцини. Двата главни муцини во плунката ( $MG_1$  и  $MG_2$ ) се продукти на два различни гена. Постојат индикации дека нискомолекуларните муцини можат да настанат и од високомолекуларните муцини под дејство на специфични ензими присутни во плунката, наречени протеази. Протеазите ги разградуваат високомолекуларните муцини на нискомолекуларни муцини. Утврдено е, исто така дека активноста на саливарните муцин протеази кај кариес резистентните индивидуи е значително поголема во споредба со активноста на овој ензим кај кариес-чувствителните индивидуи.

Со тоа што саливарниот муцин предизвикува агрегација на оралните бактерии го спречува нивното врзување на оралната мукоза. Некои од олигосахаридите на муцилот имаат слична структура со олигосахаридите на епителните клетки на оралната лигавица. Оралните бактерии имаат можност да се поврзат за епителните клетки на оралната лигавица со помош на специфични реактивни молекули наречени адхезини. Заради сличноста во структурата на олигосахаридите на муцилот и на епителните клетки, муцилот реагира со адхезините на бактериите при што ја блокира нивната колонизација во оралната празнина. Освен тоа, кога бактериите се агрегирани, полесно се отстрануваат од оралната празнина со испирачкото дејство на плунката и со актот на голтање. Комбинацијата на агрегација на бактериите со помош на муцините и нивното механичко отстранување со испирачкото дејство на плунката, е значаен фактор во спречувањето на создавање на бактериски колонии и превенција на примарната инфекција на оралната лигавица. Големиот капацитет на нискомолекуларните муцини да вршат агрегација на оралните бактерии потекнува од специфичните јаглехидратни синџири. Освен јаглехидратните резидуи и протеинскиот дел на саливарниот муцин е вклучен во интеракција со бактериите. За тоа е особено значаен N-терминалниот домен, кој е богат со хистидин и цистеин и има значајна улога за врзувањето на оралните бактерии.



Слика 6.5: Механизам на агрегација на бактериите со помош на саливарниот муцин, вклучува директно поврзување на муцилот за бактериите или пак индиректно поврзување со помош на  $\text{Ca}^{2+}$  јон

Во N-терминалниот домен на  $\text{MG}_2$  е докажано присуство на пептид од околу 20 kDa. Овој пептид е присутен во вкупната плунка, но не е присутен во субмандибуларната и сублингвалната плунка. Ова се објаснува со фактот дека муцините што се излучуваат во оралната празнина подлегнуваат на модификација. Таа модификација настанува под дејство на бактериски ензими при што муцините се деградираат на помали пептидни фрагменти кои имаат антимикуробна активност. Особено значајна антимикуробна активност имаат пептидите кои ја содржат аминокиселината цистеин.

N-терминалниот домен на  $\text{MG}_2$  има клучна улога за антифугицидната активност. Особено изразена антифугицидна активност имаат пептидите од 3-17-та аминокиселина и од 32-51-та аминокиселина. Првиот пептид има слична структура со хистатинот 5. Меѓутоа, постои разлика во механизмот на антифугицидното делување на споменатите пептиди и на хистатинот 5. Помеѓу овие две саливарни биомолекули се забележува значителна разлика и во степенот на наелектризираност, а тоа пак е од големо значење за интеракцијата со мембраната на микроорганизмите. Пептидот (32-51-та аминокиселина) на  $\text{MG}_2$  содржи 7 позитивни и ниту една негативно наелектризирана резидуа. Така, неговата наелектризираност изнесува +7. Хистатинот 5 има 7 позитивни и 2 негативни резидуа а неговата наелектризираност изнесува +5.

Хистатинот 5 се врзува за рецепторите на мембраната на габичката *Candida albicans*, а потоа на ниво на митохондриите ја инхибира оксидативната фосфорилација. Притоа се добиваат слободни радикали кои предизвикуваат оксидативно оштетување на нејзината клеточна мембрана. Пептидот од 32-51-та аминокиселина на  $\text{MG}_2$  како позитивно наелектризиран, електростатски се врзува за негативно наелектризираните групи (фосфатидилхолин, фосфатидилетаноламин, фосфатидилсерин и ергостерол) во мембраната на габичката. Докажано е дека  $\text{MG}_2$  (пептидот 32-51-та аминокиселина) поминува низ мембраната и се акумулира во внатрешноста на клетката.

# 7

## МОЖНОСТИ НА ЗАШТИТА НА ОРАЛНАТА МУКОЗА

Неспецифична пасивна и активна заштита

Неспецифична клеточна заштита

Специфична клеточна заштита

Специфична хуморална заштита (секреторен имуноглобулински систем)

### ИМУНОЛОШКА ЗАШТИТА НА ОРГАНИЗМОТ

#### ИМУНОГЛОБУЛИНИ

Основна структура на антителата

Секреторни имуноглобулини

**О**ралната мукоза, заедно со забот, учествуваат во градењето на мукозно-денталната бариера. Основната задача на оваа бариера е да го спречи или да го намали пробивањето на антигениот материјал од оралната средина во внатрешната средина на организмот.

Анатомо-хистолошката градба на оралната лигавица (повеќеслоен плочест епител) како и нејзините биохемиски карактеристики, ги овозможуваат бариерните својства на оралната лигавица.

Заштитата на ниво на оралната мукоза освен што зависи од мукозно-денталната бариера и анатомо-хистолошките и биохемиските карактеристики, во голема мерка е сложена и специфична. Од практични причини заштитата на оралната мукоза може да се подели на: неспецифична пасивна заштита, неспецифична активна заштита, неспецифична клеточна заштита, специфична клеточна заштита и специфична хуморална заштита.

### **Неспецифична пасивна и активна заштита**

Неспецифичната пасивна и активна заштита ја сочинуваат: повеќеслојниот плочест епител на мукозата, муцинот и локалниот секрет- плунката односно неговите составни компоненти: лизозим, амилаза, трансферин (лактоферин), саливарниот пероксидазен систем (ензимите на пероксидаза, водородниот пероксид, тиоцијанатите и хипотиоцијанатите), со пролин богатите протеини, хистатините, цистатините, фибронектинот, дефензините, калпротектините и кателицидините.

### **Неспецифична клеточна заштита**

Неспецифичната клеточна заштита ја сочинуваат ткивните фагоцити и мобилните фагоцити, од типот на мононуклеари (моноцити) или полиморфонуклеари (гранулоцити).

Овој тип на заштита е докажан во самата мукоза и тоа во нејзиното сврзно ткиво. При воспалителен процес на мукозата, заради вазодилатацијата која при тоа настанува, се зголемува и бројот на мобилни фагоцити во мукозата кои пристигнуваат од крвта.

Присуството на мобилни фагоцити на површината на мукозата и во плунката е речиси безначајно. Тоа е разбирливо заради тоа што плунката е хипотоничен секрет во однос на крвта. Во таков секрет леукоцитите и другите фагоцити не можат да опстанат подолго време, ниту пак да вршат фагоцитоза.

### **Специфична клеточна заштита**

Специфична клеточна заштита ја сочинуваат Т и В лимфоцити. Т лимфоцитите претставуваат важна компонента на специфичната клеточна (целуларна) заштита на оралната мукоза. Имунолошкиот одговор на организмот е многу поефикасен доколку во него учествуваат и Т лимфоцитите. Еден посебен тип на овие клетки, наречени „клетки убијци“, учествуваат во уништувањето на нападнатата клетка. Т лимфоцитите се присутни

во сврзното ткиво на мукозата, во припојниот епител и во гингивалниот флуид. На површината на мукозата и во плунката овие клетки не се присутни.

В лимфоцитите се носители на хуморалната заштита. Тие после антигена стимулација се трансформираат во плазма клетки. Во плазма клетките се синтезираат имуноглобулини кои се специфични за антигенот кој предизвикал нивна синтеза. Присутни се на истите места во оралната мукоза како и Т лимфоцитите, а во плунката која е изотонична во однос на крвниот серум ниту Т ниту В лимфоцитите не можат да опстанат.

### Специфична хуморална заштита (секреторен имуноглобулински систем)

Специфичната хуморална заштита ја сочинуваат имуноглобулините А, М и G во секреторен облик или sIgA, sIgM и sIgG. Овие имуноглобулини со одредени имунохемиски методи можат да се докажат во плунката. Во подлабоките слоеви на мукозата се присутни и имуноглобулин Е и мастоцити. Овој имуноглобулин и мастоцитите се значајни за одбрана на оралната мукоза во случај кога антигенот навлегол во подлабоките слоеви на мукозата, особено кога станува збор за алергени.

Секреторниот имуноглобулински систем е прилагоден за делување во хетерогена средина каква што е оралната празнина како и за делување на други мукози, кои директно или индиректно доаѓаат во контакт со надворешната средина. Синтезата на овие имуноглобулини се одвива во плазма клетките на интерстициумот од каде што преку големите плунковни жлезди пристигнуваат во плунката. Освен во интерстициумот, синтезата на секреторните имуноглобулини се одвива и во lamina propria mucosae oris, благодарение на присутните плазма клетки. Од таму преку малите мукозни жлезди се пренесуваат во плунковиот секрет.

Концентрацијата на секреторните имуноглобулини во плунката не е голема. Во стимулираната паротидна плунка концентрацијата на sIgA, најзначајната компонента на секреторниот имуноглобулински систем, изнесува 10,70 mg%. Концентрацијата на останатите имуноглобулини во плунката е на граница на детекција. Но, иако е мала концентрацијата на секреторните имуноглобулини, тие заедно со останатите чинители на неспецифичната и специфичната заштита спречуваат поголем обем на ресорпција на антигениот материјал.

Во текот на воспалителните процеси на оралната лигавица, концентрацијата на саливарните имуноглобулини се зголемува. Тоа зголемување се должи на:

- зголемената локална синтеза на имуноглобулини
- зголемениот прилив на имуноглобулини од крвниот серум.

Многу значаен е уште еден податок кој ја објаснува функцијата на секреторните имуноглобулини и нивната улога во заштитата на оралната мукоза, иако нивната концентрација во плунката е ниска. Се работи за постоење на стабилна дисулфидна врска (S-S) помеѓу спојниот пептид (J) од sIgA и муцилот кој што ја обложува оралната мукоза. Ваков тип на врска се воспоставува и помеѓу секреторната компонента од sIgA и муцилот. Со воспоставување на вакви дисулфидни врски се спречува брзото отстранување на имуно-

глобулинот под влијание на испирачките својства на плунката. На тој начин преку импрегнирачкиот слој на муцинот се добива нов заштитен имуноглобулински слој.

Сите наведени податоци покажуваат дека на ниво на оралната мукоза е присутна многу сложена и разновидна заштита која има за цел:

- да ја заштити оралната мукоза
- да го заштити организмот како целина од нефизиолошка ресорпција на антиген материјал од оралната празнина.

## ИМУНОЛОШКА ЗАШТИТА НА ОРГАНИЗМОТ

Витални функции кои се заедничка карактеристика на сите живи организми се: потреба од внесување на храна, елиминирање на метаболитите, дишење, размножување и одговор на антигена стимулација.

Способноста на организмот да реагира на антиген материјал се должи на имунолошкиот систем. Тој систем се состои од клетки, ткива и органи, а неговата улога е да го заштитат организмот како од надворешни штетни материи така и од внатрешна малигна трансформација на клетките.

Антигени материи кои се внесуваат од надворешната средина во организмот и предизвикуваат реакција на имунолошкиот систем се наречени имуногени. Се разликуваат централни или примарни и периферни или секундарни органи на имунолошкиот систем. Во примарни имунолошки органи спаѓаат: тимусот и еквивалентите на Bursa Fabricii кај птиците. Во секундарни имунолошки органи спаѓаат: слезенка, лимфни јазли, тонзили, слепо црево и коскена срцевина.

Од клетките на имунолошкиот систем најзначајни се Т и В лимфоцитите, мононуклеарните макрофаги, фагоцитите и мастоцитите.

Двете популации на лимфоцити потекнуваат од една матична (заедничка) клетка. Настанувањето, созревањето и диференцирањето на лимфоцитите се одвива во три нивоа.

Во коскената срцевина се создаваат сите матични хемоцитобластни клетки. Со развивањето на имунолошкиот систем се создаваат услови за пренесување на матичните клетки на второ ниво, до примарните имунолошки органи (тимусот и еквивалентите на Bursa Fabricii кај птиците). Тука настанува диференцијација на матичните клетки на Т и В лимфоцити. Диференцираните лимфоцити со крвта се пренесуваат до периферните имунолошки органи (трето ниво), каде што се делат и се одржуваат во облик на диференцирани клетки.

Од периферните органи преку крвта повторно се враќаат во тимусот и во органите кои се еквиваленти на Bursa Fabricii кај птиците. На тој пат на кружење лимфоцитите наидуваат на материи кои се туѓи за организмот (антигени). Лимфоцитите стапуваат во контакт со нив и настанува бластна трансформација на лимфоцитите. Од лимфоцитите настанува клон (лоза) на нови лимфоцити кои имаат заедничка карактеристика да го препознаат и да реагираат со антигенот кој предизвикал нивно создавање.



Од В лимфоцитите по бластната трансформација се формираат плазма клетки кои пак синтетизираат имуноглобулини. Имуноглобулините имаат функција на антитела, реагираат со соодветниот антиген и тие се носители на хуморалниот имунолошки одговор.

По бластната трансформација Т лимфоцитите продуцираат нови лимфоцити кои пак кооперираат (соработуваат) со В лимфоцитите. Освен тоа некои од новосоздадените лимфоцити се ефикасни во спречувањето на настанување на тумори. Станува збор за т.н. “лимфоцити убијци”. Т лимфоцитите се носители на клеточниот имунитет.

## ИМУНОГЛОБУЛИНИ

Имуноглобулините (Ig) уште се наречени и антитела. Тие претставуваат ефективни молекули, кои се создават од страна на В-лимфоцитите, односно плазма клетките. Имуноглобулините според биохемискиот состав се гликопротеини и во електрично поле се движат во  $\gamma$ -глобулинската фракција. На протеинскиот дел отпаѓаат 82-96%, а на јаглехидратниот дел 4-18%. Сите биолошки карактеристики на имуноглобулините се поврзани со протеинскиот дел.

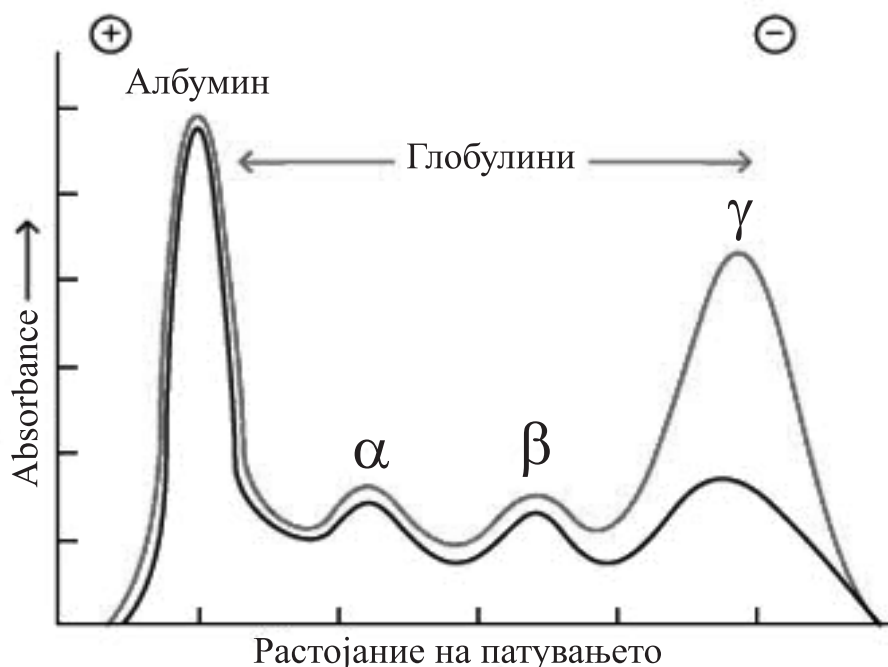
Антителата со своите антиген-врзувачки места (паратопи) се врзуваат со антигени (епитопи). Антигените всушност и го предизвикале создавањето на антителата, кои потоа се поврзуваат, строго специфично само за нив.

За сите антитела заеднички се: структурните карактеристики, врзувањето за антиген и учеството во ограничен број на ефекторски функции. Антителата што се продуцирани како одговор на одреден антиген се разновидни. Повеќето антигени се комплексни и содржат многу различни антигенски детерминанти, а имуниот систем обично одговара со продукција на антитела на неколку епитопи на антигенот. Овој одговор бара регрутирање на неколку клонови од В-клетките. Нивните продукти се моноклонални антитела, кои специфично се врзуваат за поедини антигенски детерминант. Поликлоналниот и хетерогениот серумски антитело одговор го прават сите моноклонални антитела.

## Основна структура на антителата

Крвта со центрифугирање може да се подели на течна и клеточна фракција. Течната фракција ја претставува плазмата, а клеточната фракција содржи: еритроцити, леукоцити и тромбоцити. Плазмата ги содржи сите растворливи мали молекули и макромолекулите на крвта, вклучувајќи фибрин и други протеини, потребни за коагулација. Кога настанува коагулација на крвта, течниот дел што останува се нарекува серум. Во серумот се наоѓаат антителата. Ова за прв пат било докажано со експериментот на Tiselius и Kabat во 1939. Тие извршиле имунизација на зајаци со протеинот овалбумин (албумин во белката од јајцето), и ги поделиле имунизираниите серуми од зајците во 2 аликвоти (вдлабнатинки во кои се става материјалот во гелот пред електрофореза).

Електрофорезата на дел од крвниот серум, покажала 4 врвови кои одговарале на албумини, алфа, бета и гама глобулини (слика 7.1). При тоа делот од серумот кој реагирала со овалбуминот и преципитатот што се формирал, бил отстранет. Останатите серумски протеини, кои што не реагирале со антигенот, потоа биле подложени на електрофореза. Кога биле споредени електрофоретските профили на овие 2 серумски аликвоти се покажало дека има сигнификантен пад на гама глобулинската фракција во аликвотата што реагирала со антигенот. Така, било идентификувано дека гама глобулинската фракција содржи антитела, кои биле наречени имуноглобулини, за да се разликуваат од било кои други протеини што може да се содржат во гама глобулинска фракција. Според раните експерименти на Tiselius и Kabat серумските протеини се поделени на 3 големи неалбумински пикови-алфа, бета и гама. Денес, исто така, познато е дека иако имуноглобулинот G, (главната класа на антитела), најмногу го има во гама глобулинската фракција, но сигнификантни количества од него и други важни класи антитела се најдени и во алфа и бета фракциите од серумот.

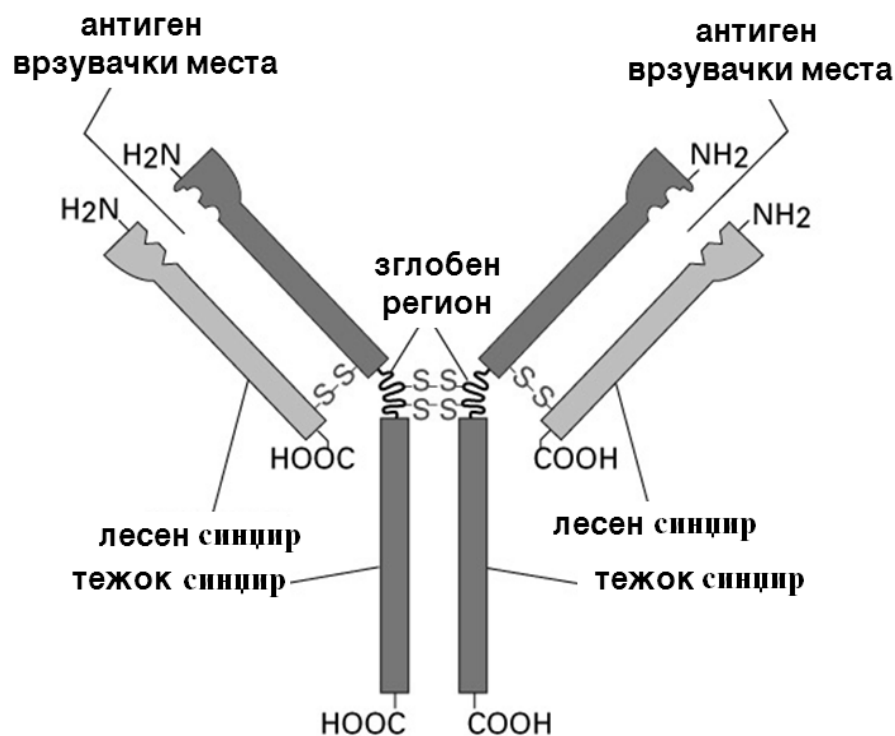


Слика 7.1 Експериментален приказ со кој се покажува дека антителата се наоѓаат во гама-глобулинската фракција на серумските протеини.

Основната структурна единица на имуноглобулините е изградена од два чифта на синџири (два тешки и два лесни) (слика 7.2). Општата формула на имуноглобулините е претставена на следниот начин:  $H_2L_2$ , каде што H ги означува тешките синџири, а L ги означува лесните синџири. Во самите синџири, се присутни бројни дисулфидни врски (S-S врски). Вакви дисулфидни врски се присутни и помеѓу синџирите. Присуството на интрасинџирните S-S врски овозможува создавање на домени во синџирите на имуноглобулините. Под поимот домен се подразбира дел од полипептидниот синџир на имуноглобулинот кој што може да се извива (свиткува) независно од останатите делови во компактната стабилна структура на имуноглобулинот.

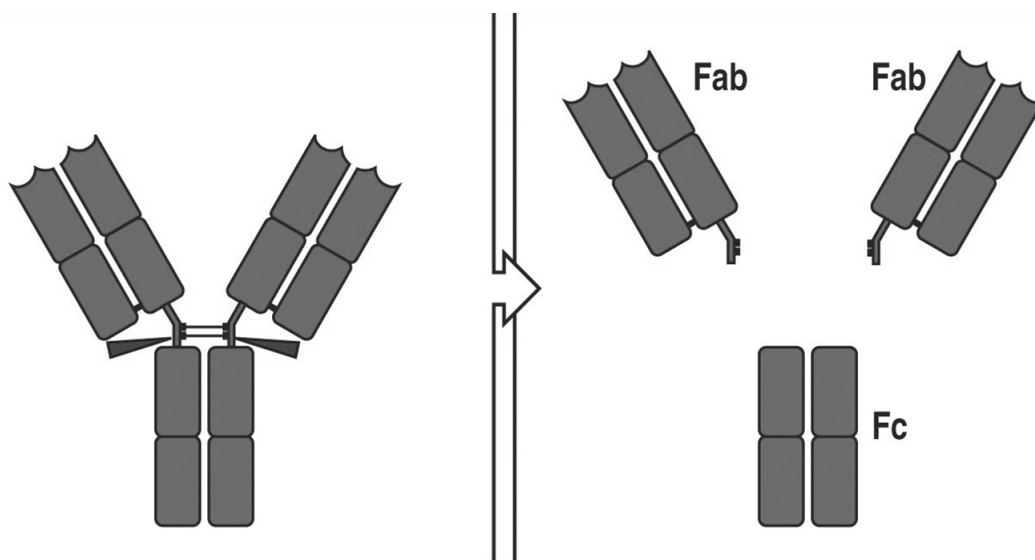
Лесните синцири имаат два домени (NH<sub>2</sub>-амино терминален дел). Првите 110 аминокиселини од лесниот синцир го претставуваат варијабилниот домен. Варијабилниот домен на лесниот синцир и варијабилниот домен на тешкиот синцир претставуваат антиген-врзувачко место, односно паратоп. На варијабилниот домен се надоврзува константен домен на лесниот синцир. Врз основа на распоредот на аминокиселините во лесниот синцир се разликуваат капа и ламбда лесни синцири.

Тешките синцири започнуваат со варијабилен домен, кој што исто така е изграден од 110 аминокиселини и влегува во состав на паратопот. На варијабилниот домен од тешките синцири се надоврзуваат константни домени. Кај IgG, IgA и IgD се присутни три константни домени во тешките синцири додека пак кај IgM и IgE се присутни четири константни домени. Од распоредот на аминокиселините е условена класата или подкласата на имуноглобулините (IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>; IgA<sub>1</sub> и IgA<sub>2</sub>). Под дејство на ензимот папаин молекулата на имуноглобулините "се сече" веднаш над S-S интрасинцирната врска во зглобната регија (слика 7.3). Како резултат на тоа се создаваат три фрагменти: 2Fab-фрагменти (fragment antigen binding) и 1Fc-фрагмент (кристализирачки фрагменти). Основната биолошка функција на Fab-фрагментите е да реагираат со антигенот. Функцијата пак на Fc-фрагментот е во тоа што го овозможува поминувањето на имуноглобулините низ плацентата (IgG). Исто така овој фрагмент од имуноглобулинот учествува во цитотоксични реакции, како и активирање на комплементот по класичен пат.



Слика 7.2: Шематски приказ на типична молекула на имуноглобулин. Имуноглобулините се изградени од четири полипептидни синцири, два идентични тешки синцири и два идентични лесни синцири. Двете места за врзување на антигенот се идентични и се формирани помеѓу N-терминалните краеве на лесните и тешките синцири. Опашката или константниот (Fc) фрагмент е изграден само од тешките синцири.

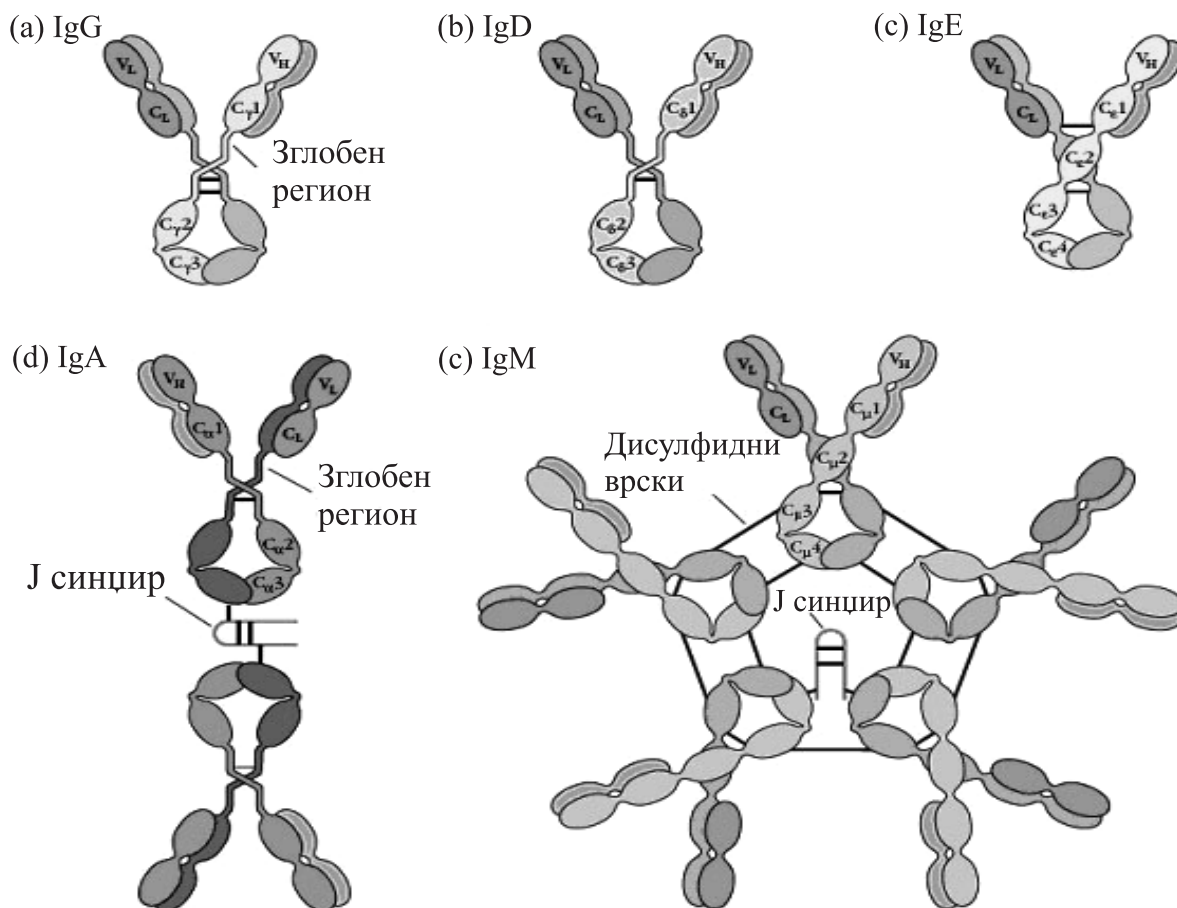
Зглобната регија во молекулата на имуноглобулинот претставува структурен дел врз кој што делуваат протеолитички ензими, како што се споменатиот папаин, или пак пепсинот. Оваа регија е богата со аминокиселините пролин и цистеин. Улогата на цистеинот се состои во тоа што го овозможува дисулфидното поврзување. Аминокиселините пролин овозможуваат двата фрагменти на имуноглобулинот (Fab и Fc) да бидат меѓусебно разделени во просторот. Исто така, овие аминокиселини ја овозможуваат молекуларната подвижност на одделни делови на имуноглобулинската молекула.



Слика 7.3: Протеолитичко цепање на молекула на имуноглобулин со ензимот папаин

Врз основа на распоредот на аминокиселините во константните домени на тешките синџири се разликуваат пет класи на имуноглобулини (слика 7. 4):

1. имуноглобулин G- IgG
2. имуноглобулин A- IgA
3. имуноглобулин M- IgM
4. имуноглобулин D- IgD
5. имуноглобулин E- IgE



Слика 7. 4 Општа градба на петте главни класи антитела. Се гледа дека IgG, IgA и IgD имаат тешки синцири со по 4 домени и зглобен регион, додека IgM и IgE имаат по пет домени, но немаат зглобен регион. Полимерните форми на IgM и IgA содржат J синцир кој со две дисулфидни врски е поврзан за Fc регионот на два мономера. Серумскиот IgM е секогаш пентамер; највеќе од IgA во серумот е како мономер, но се среќава и како ди, три и ретко како тетрамер.

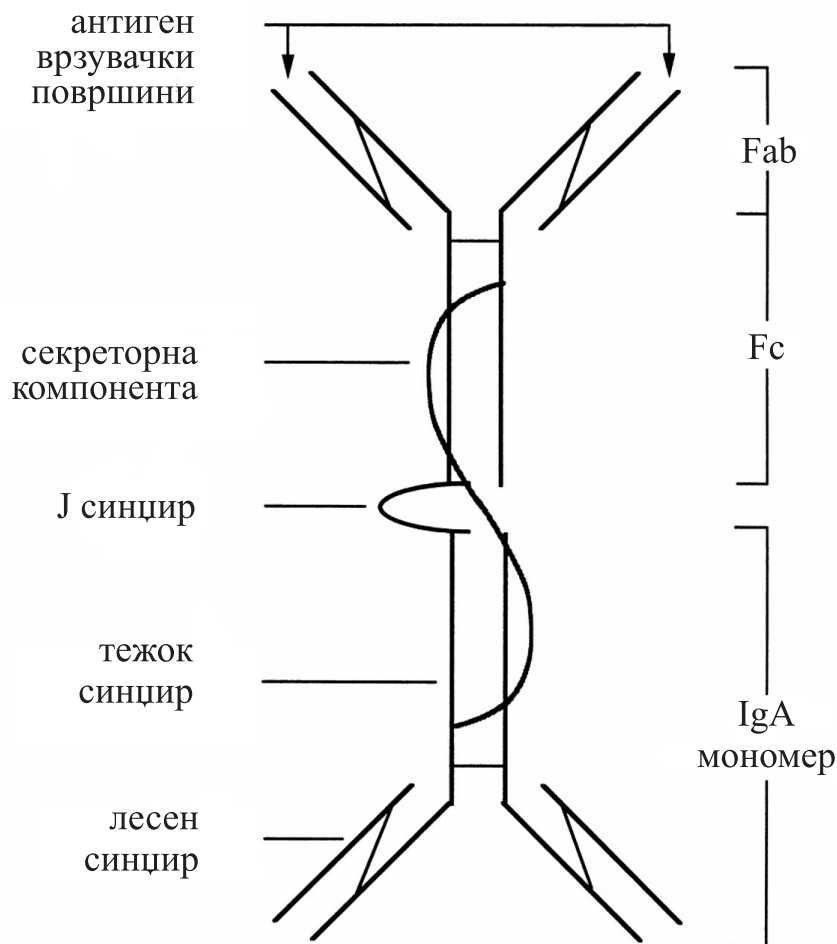
### Секреторни имуноглобулини

Врз основа на тоа каде се наоѓаат имуноглобулините се делат на:

1. мембрански (IgM, IgD)
2. секреторни (присутни во различни видови на секрет)

Класите на имуноглобулините кои се присутни во секретите, па и во плунката се: IgA (најзастапен), IgM и IgG. Овие три класи на имуноглобулини го сочинуваат секреторниот имуноглобулински систем. Дел од овие имуноглобулини се синтетизираат локално. Тоа првенствено се однесува на IgA и на дел од IgM. Имуноглобулинот G во секретите (плунката) пристигнува по пат на филтрација низ сулкусниот епител.

Иако IgA опфаќа околу 10-15% од вкупните имуноглобулини во серумот, тој е најдоминантна класа на имуноглобулини во надворешните секрети, како што се мајчиното млеко, плунката, солзите и мукусот од бронхијалниот, урогениталниот и дигестивниот тракт. Имуноглобулинот А (IgA) е главниот носител на локалниот специфичен имунитет на оралната лигавица кај човекот. Во серумот IgA е присутен во форма на мономер (два лесни и два тешки синцири ја сочинуваат мономерната единица на овој имуноглобулин). Соодносот на IgG и IgA во крвниот серум е 4:1 во корист на IgG, додека пак во секретите на мукозите овој сооднос е 1:1. Во секретите се среќава димерната форма на IgA. Таа е изградена од две основни мономерни единици. Двата мономери на IgA помеѓу себе се поврзани со помош на специфичен пептид кој е наречен J-пептид (слика 7.5). Улогата на J-пептидот е да ги поврзува мономерите на имуноглобулините во полимерни облици. Поврзувањето се остварува со стабилни ковалентни S-S врски. J-пептидот, како и самиот имуноглобулин се создава од страна на плазма клетките. Друга карактеристика на секреторниот IgA е што во неговата молекула е присутна и секреторна компонента (SC).



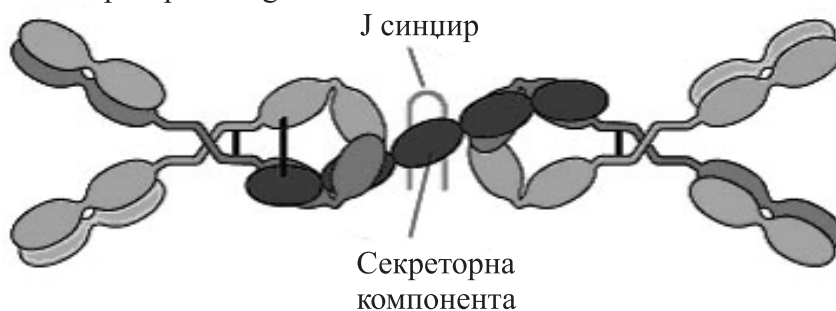
Слика 7.5: Шематски приказ на sIgA. sIgA се состои од два мономери на IgA поврзани со J синцир и секреторна компонента. J синцирот и секреторната компонента со помош на дисулфидни врски се поврзани за Fc фрагментот од IgA молекулата. Секој мономер на IgA се состои од два лесни синцири и два тешки синцири поврзани со ковалентни дисулфидни врски.

Секреторната компонента се вградува во молекулата на IgA во текот на поминувањето на молекулата на имуноглобулинот низ епителните, односно ацинусните клетки на плунковните жлезди. Притоа, секреторната компонента го обвиткува Fc-фрагментот на IgA. Улогата на секреторната компонента е да го заштити имуноглобулинот од дејството на различни саливарни протеази (ги разградуваат протеините) со кои ензими плунката располага во изобилство. Освен тоа, улогата на секреторната компонента е да го транспортира секреторниот IgA до секретите на мукозите, а воедно и ја стабилизира структурата на полимерниот имуноглобулин A. Секреторната компонента се поврзува за имуноглобулинот A со помош на стабилни ковалентни S-S врски. Оваа секреторна компонента во молекуларна форма се сретнува како полиимуноглобулински рецептор. Локализиран е во базолатералниот дел на мембраната на епителните (ацинусните) клетки.

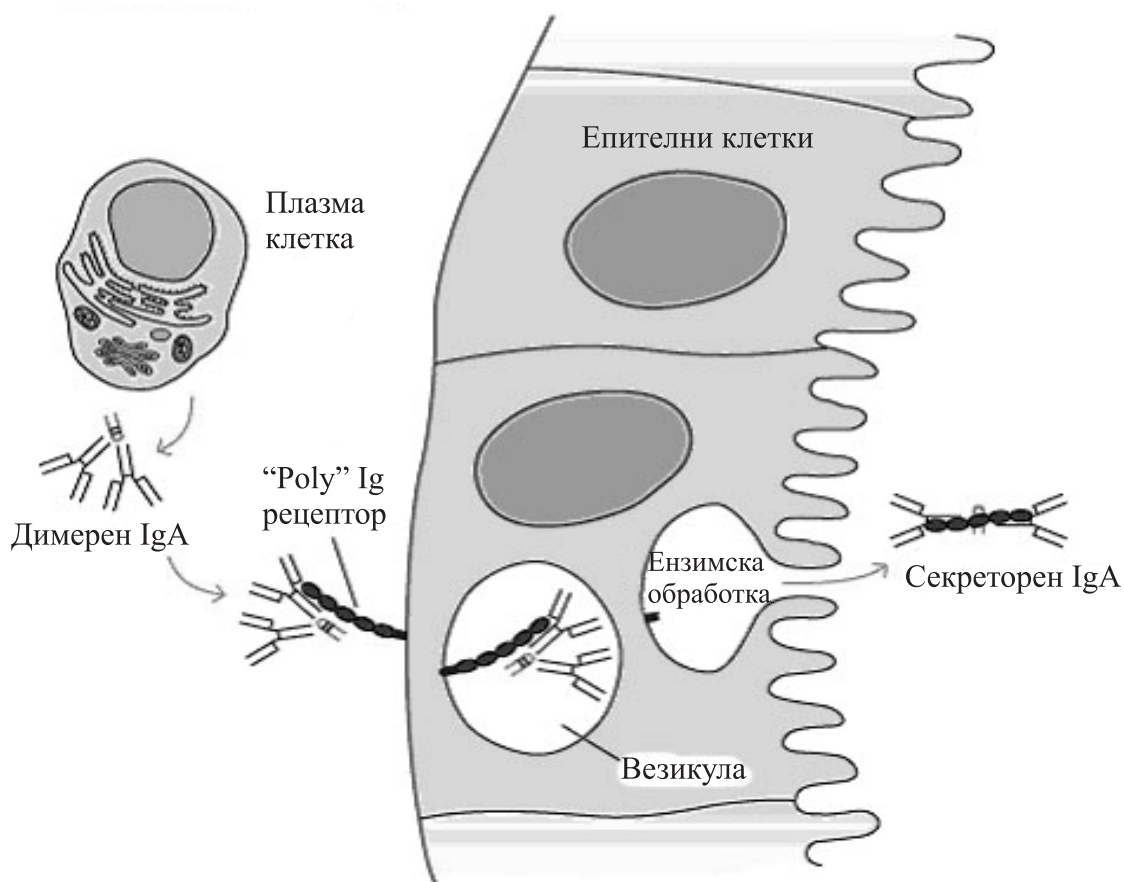
Дневната продукција на секреторен IgA е поголема од било која друга класа на имуноглобулин. IgA-секретирачките плазма клетки се концентрирани долж мукозните мембрански површини. По должина на јејунумот од тенкото црево, на пример, има повеќе од  $2.5 \times 10^{10}$  IgA секретирачки плазма клетки - број кој ја надминува целокупната популација на плазма клетки во коскената срцевина, лимфата и слезината заедно. Секојдневно, човек секретира од 5гр. до 15гр. секреторни IgA во мукозните секрети.

Плазма клетките кои продуцираат IgA, мигрираат во субепителното ткиво, каде што секретираниот IgA се врзуваат цврсто со рецептор за полимерни имуноглобулински молекули (слика 7.6). Овој "poly-Ig" рецептор е изразен на базолатералната површина на повеќето мукозни епители (пример облогите од дигестивниот, респираторниот и гениталниот тракт) и на жлездените епители во млечните, плунковните и солзните жлезди. Потоа полимерниот IgA се врзува со "poly-Ig" рецепторот, комплексот рецептор-IgA е транспортиран преку епителната бариера во луменот. Транспортот на рецептор-IgA комплексот вклучува рецептор- посредувана ендцитоза во обложените јами и насочен транспорт на везикулите преку епителната клетка до луминалната мембрана, каде везикулата се фузионира со плазма мембраната. Тогаш "poly-Ig" рецепторот ензимски се раскинува од мембраната и настанува секреторната компонента, која е врзана и ослободена заедно со полимерниот IgA, во мукозните секрети. Секреторната компонента ги маскира страните на зглобниот регион од секреторните IgA, кои се осетливи на протеазната активност, притоа овозможувајќи и на полимерната молекула, долго да егзистира во мукозната средина која е богата со протеази, што инаку не би било возможно. Пентамерниот IgM е исто така транспортиран во мукозните секрети преку овој механизам, иако на него отпаѓа многу помал процент од антителата кои се наоѓаат во мукозните секрети, за разлика од IgA. "Poly-Ig" рецепторот стапува во интеракција со J-синцирот од обета, полимерниот IgA и IgM, антитела.

(a) Градба на секреторниот IgA



(b) Создавање на секреторниот IgA



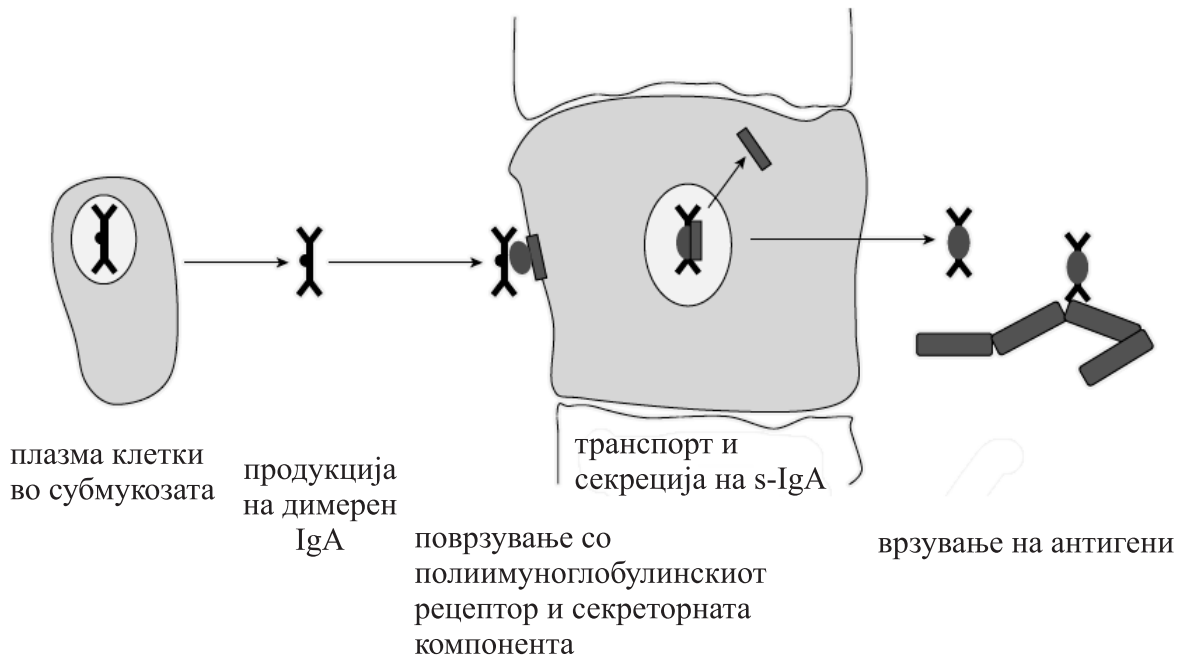
Слика 7.6 Градба и формирање на секреторниот IgA. (a) Секреторниот IgA содржи две молекули IgA кои се ковалентно поврзани меѓусебе со J синцир како и секреторната компонента. Секреторната компонента има пет домени слични на оние во Ig кои со димерот од IgA се поврзани со дисулфидна врска која е меѓу неговиот петти домен и еден од тешките синцири на IgA. (б) Секреторниот IgA е формиран во тек на транспортот низ мукозната мембрана на епителните клетки. Димерот IgA се поврзува за "poly-Ig" рецепторот на базолатералната мембрана на епителната клетка и влегува во процес на ендоцитоза. По транспортот комплексот рецептор-Ig ензимски се разградува и секреторната компонента се ослободува од димерот IgA.



Молекулската маса на секреторниот имуноглобулин А изнесува околу 400.000 Da (двата мономери по 160.000 Da, J-пептидот 15.600 Da и секреторната компонента 70.000 Da.

Се сретнуваат два типа на имуноглобулин А-IgA<sub>1</sub> и IgA<sub>2</sub>. Нивната дистрибуција и застапеност варира од местоположбата на мукозното ткиво. Во горните делови на респираторниот тракт, како и во горните делови на гастроинтестиналниот тракт доминира изотипот IgA<sub>1</sub>. Концентрацијата на IgA<sub>2</sub> се зголемува во долните партии на гастроинтестиналниот тракт.

Индукцијата на создавањето на IgA се одвива на два начини. Антигените пристигнуваат во оралната празнина, предизвикуваат пролиферација и диференцијација на В-лимфоцитите кои се присутни во плунковните жлезди. Се претпоставува дека антигените влегуваат во каналите на плунковните жлезди со ретроградниот тек на плунката. Потоа, по пат на ендоцитоза, антигените се вовлекуваат во дуктусните епителни клетки од каде што пристигнуваат во локалното лимфоидно ткиво. Тука се врши нивна презентација на Т и В-лимфотитите. Активираниите Б-лимфоцити се трансформираат во плазма клетки, кои пак продуцираат IgA (слика 7.7). Продуцираниот имуноглобулин А, поминувајќи низ епителните клетки на ацинусите и на дуктусите се стекнува со секреторна компонента и како комплетирана молекула на секреторен имуноглобулин А поминува во плунката.



Слика 7.7: Фази на продукција на IgA

Вториот механизам на создавање на IgA подразбира миграција на В-лимфоцитите од лимфоидното ткиво од дигестивниот тракт (солитарните лимфни јазли и Паерови плочи) во плунковните жлезди. После антигената стимулација и презентација на антигенот на лимфоцитите, тие го напуштаат лимфоидното ткиво на цревата и пристигнуваат во

пунковните жлезди. Таму се врши диференцијација на В-лимфоцитите, нивна бластна трансформација во плазма клетки, кои што го продуцираат IgA.

Секреторниот IgA има неколку значајни биолошки функции за заштита на оралните ткива. Тие се:

1. инхибиција на бактериската адхеренција за оралните ткива и спречување на пенетрација на антигените низ оралната мукозна мембрана;
2. неутрализација на бактериски токсини;
3. неутрализација на вируси преку блокирање на нивната адхеренција за рецепторите на клетките;
4. синергизам со други механизми на локалната имунолошка одбрана на домаќинот.

Секреторниот IgA има важна ефекторска функција на површините од мукозните мембрани, кои се главните влезни места за повеќето патогени организми. Бидејќи е полимерен, секреторниот IgA може вкрстено да ги поврзува големите антигени со мултипни епитопи. Врзувањето на секреторниот IgA за бактериски или вирусни површини, спречува прикачување на патогените за мукозните клетки, при што се спречува вирусна инфекција или бактериска колонизација. Комплексите, секреторни IgA и антиген, лесно се заробуваат во мукусот и потоа се елиминираат со цилијарните епителни клетки од респираторниот тракт или со перисталтиката на цревата. Секреторниот IgA се покажало дека претставува важна линија на одбраната против бактерии, како што се: *Salmonella*, *Vibrio cholerae* и *Neisseria gonorrhoeae*, и вируси како што се: *Polio*, *Influenza* и *Reovirus*.

Мајчиното млеко содржи секреторен IgA и многу други молекули кои помагаат да се заштити новороденото од инфекции за време на животот. Бидејќи имуниот систем на бебињата не е комплетно функционален, доењето игра важна улога за здравјето на новородените.

# 8

## ЗНАЧЕЊЕ НА ПЛУНКАТА ЗА ОДРЖУВАЊЕ НА ОРАЛНОТО ЗДРАВЈЕ

Основната улога и значењето на плунката е во овозможувањето на оралната хомеостаза. Поимот хомеостаза ги опфаќа сите механизми кои придонесуваат во одржувањето на постојаниот биохемиски состав на внатрешната средина на организмот. Под поимот, пак, орална хомеостаза се подразбира збир на механизми кои учествуваат во одржувањето и зачувувањето на здравјето на сите орални структури. Или поедноставно кажано зачувување на здравјето на забите и на оралната лигавица.

Алатка која што ја овозможува оралната хомеостаза е плунката, односно сите нејзини органски и неоргански составни компоненти. Ќе ги наброиме сите улоги на плунката во одржувањето на оралната хомеостаза:

1. Растворање и разградување на заостанатите честички на храната и нивно отстранување од оралната празнина (самочистење на оралната празнина).
2. Улога на плунката во цваќањето на храната, говорењето и голтањето.
3. Заштитна улога, која можеме да ја поделиме на:
  - антибактериска заштита-агрегирачко, бактерицидно и бактериостатичко дејство,
  - антивирусна заштита,
  - антифугицидна заштита,
  - заштита на емајлот на забот од атриција,
  - заштита од хемиски агенси,
  - пуферска улога (спречување на поголеми варијации на рН на средината),
  - заштита од деминерализација на емајлот на забот
4. Улога на плунката во метаболизмот на водата.
5. Екскреторна улога.
6. Улога на плунката во одржувањето на стабилноста на протетските надоместоци во оралната празнина.
7. Улога на плунката во сетилото на вкусот.
8. Антиоксидативна заштита.
9. Антиканцерогено дејство.
10. Биолошки материјал.

**Функцијата на самочистењето на оралната празнина** се остварува со помош на главната составна компонента на плунката - водата и со помош на саливарната амилаза.

Водата, како универзален растворувач, ги раствора заостанатите честички на храна, кои со актот на голтање се отстрануваат од оралната празнина. Меѓутоа, спомнатите ефекти на плунката се однесуваат само на оние честички кои се растворливи во вода, односно хидросолубилните честички од храната. Составните компоненти кои што не се растворливи во вода, каков што е скробот (учествува со 45% во секојдневната исхрана) претходно се разградуваат под дејство на саливарната амилаза до производи кои се лесно растворливи.

**Антибактериска, антивирусна и антифунгицидна заштита** на плунката се реализира со механизмите на специфичната и неспецифичната заштита. Специфичниот вид на заштита го сочинуваат секреторните имуноглобулини присутни во плунката: IgA, IgG и IgM. Во неспецифичниот вид на заштита на плунката влегуваат следните составни компоненти на овој орален медиум: лизозим, лактоферин, трансферин (лактоферин), саливарниот пероксидазен систем (ензимите на пероксидаза, водородниот пероксид, тиоцијанатите и хипотиоцијанатите), со пролин богатите протеини, хистатините, цистатините, фибронектинот, дефензините, калпротектините и кателицидините.

**Заштитата на емајлот на забот од атриција** се остварува со помош на присутните гликопротеини во плунката, кои создаваат органска наслага на површината на емајлот на забот-стекната дентална пеликула. Денталната пеликула има лубрикантно (подмачкувачко) дејство со што делумно ја намалува загубата на емајлот на забот во текот на актот на мастикација.

**Пуферската улога на плунката** се остварува со помош на бројните саливарни пуфери. Тие овозможуваат одржување на рН вредноста на оралната средина во физиолошки вредности (6,1 – 7,8). Главни претставници или најзначајни пуфери во плунката се бикарбонатниот и фосфатниот пуфер. Протеинскиот пуфер има помалку значајна улога бидејќи протеините во плунката се присутни во ниска концентрација.

Плунката е значајна и за заштита на емајлот на забот од несаканиот процес на деминерализација. Таа го овозможува спротивниот процес, кој што е наречен **реминеализација** на оштетените површински слоеви на емајлот на забот. Од составните компоненти на плунката кои учествуваат во процесите на реминеализација најзначајни се јоните на калциум и фосфатните јони. Имено, саливарниот секрет е заситен токму со овие јони кои истовремено се и главни компоненти на кристалите на хидроксиапатитот на емајлот на забот.

Плунката има значајна улога и во **регулирањето на метаболизмот на водата** во организмот. Кога од одредени причини настанува значително намалување на количеството на водата во организмот (дехидратација), доаѓа до значително намалување на лачењето на плунката. На тој начин се "штеди" водата во човековиот организам.

Со процесот на лачење на плунката **некои материи се елиминираат надвор од организмот**. Таков е случајот со крајните метаболити (уреа, мочна киселина, билирубин и други). Меѓутоа овој начин на елиминација на крајните метаболички продукти е помалку значаен во споредба со елиминацијата на овие метаболити која се одвива со помош на бубрезите или дигестивниот тракт.

Растворувајќи ги хранливите материи во оралната празнина плунката го овозможува **функционирањето на сетилото за вкус**. Хранливите материи само кога се растворени имаат можност да делуваат врз рецепторите на сетилото за вкус кои се сместени на дорзалната (горната) страна на јазикот.

Во последните години се поголемо внимание се посветува на **антиоксидативната заштита на плунката**. Во оваа значајна функција на плунката учествуваат следните саливарни ензими: орална пероксидаза, каталаза, супероксид-дизмутаза, глутатион-пероксидаза и глутатион-редуктаза. Овие саливарни ензими ја претставуваат првата линија на одбрана насочена кон штетното дејство на слободните радикали. Во втората линија на одбрана од слободните радикали учествува мочната киселина, која е присутна во плунката а потекнува од крвната плазма.

Одделни составни компоненти имаат **антиканцерогено** дејство, односно инактивираат голем број на мутагени и канцерогени компоненти. Како што самото име кажува овие штетни компоненти се одговорни за појава на голем број на малигни заболувања. Плунката има можност да инактивира многу канцерогени состојки кои навлегуваат во организмот од загадената животна средина ( $\alpha$ -токсин, бензопирен, триптофан пирилизат-1). Инактивацијата се одвива со различни механизми, а пероксидацијата на овие штетни супстанции е еден од можните механизми на нивната неутрализација. Сијалопероксидазата, присутна во плунката, има значајна улога во антиканцерогеното дејство на плунката.

Плунката е значајна и како **биолошки материјал**, со цел да се воведат нови дијагностички тестови за дијагноза и за објаснување на патогенезата на голем број на орални и општи заболувања. Ова особено се однесува на заболувањата на ткивата во оралната празнина со кои плунката доаѓа во непосреден контакт. Поради тоа плунката може да биде "огледало" на оралното здравје. Заболувањето на оралните ткива се од посебен интерес, заради сè поголемата стапка на застапеност на заболувања - пародонтопатија и орален карцином.

Анализирањето на плунката не е значајно само за стоматолошките заболувања, туку добива и сè поголемо значење пошироко во областа на медицината. Модерната медицина воглавно е базирана на анализирање на примероци на крв при што се користат се пософистицирани техники и се произведуваат модерни и прецизни лабораториски алатки. Бидејќи техниката на земање на примерок на крв е инвазивна метода се стеснува можноста на анализирање на овој биолошки материјал, особено кај пациенти какви што се: децата, старите луѓе, хендикепираните лица, како и кај останатите пациенти кои имаат потреба од континуиран клиничко-биохемиски, фармаколошки или токсиколошки мониторинг. Во наведените случаи од голема важност е да се пронајде некоја друга телесна течност која полесно може да се колекционира, а која ќе ги има клиничко-биохемските, фармаколошките и токсиколошките параметри, како и крвта. Според овие барања во одреден број на случаи плунката е таа која претставува алтернатива на крвта. Поновите истражувања ја испитуваат можноста за употребата на плунката како можна дијагностичка течност. Литературните податоци покажуваат дека во плунката може да се одредуваат многу компоненти кои се одредуваат и во крвта, а тоа се хормони, лекови и нивни метаболити, дрога и нејзини метаболити, како и голем број на токсични материи.

<b>Заштита на оралната лигавица</b>	Ја обложува оралната лигавица и ја штити од механички, термички и хемиски иритации. Го олеснува говорот, цваќањето и голтањето.
<b>Заштита на емајлот на забот</b>	Заситена е со електролити кои ја забрзуваат реминерализацијата (обновување) на оштетениот емајл на забот.
<b>Пуферски капацитет</b>	Пуферите на плунката ги спречуваат нефизиолошките промени на рН во устата и на тој начин ја спречуваат деминерализацијата на забот.
<b>Самочистење на оралната празнина</b>	Со помош на водата и саливарната амилаза придонесува за отстранување на заостанатите честички од храна во устата.
<b>Антимикробно дејство</b>	Механизмите на специфичната и неспецифичната заштита го овозможуваат контролирањето на оралната микрофлора.
<b>Заштита на емајлот на забот од атриција</b>	Различни саливарни гликопротеини создавајќи денгална пеликула делумно го намалуваат трошењето на емајлот на забот во текот на мастикацијата.
<b>Улога во сетилото на вкус</b>	Плунката го овозможува функционирањето на сетилото за вкус бидејќи делува растворувачки на различни хранливи материи.
<b>Екскреторна улога</b>	Со плунката е овозможена елиминација на одделни штетни материи во организмот.
<b>Хомеостаза на водата во организмот</b>	Во услови на дехидратација на организмот значително се намалува лачењето на плунката.

Табела 8.1: Најзначајни функции на плунката

# 9

## **БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ОРАЛНИТЕ СВРЗНО-ТКИВНИ СТРУКТУРИ И БИОЛОШКА МИНЕРАЛИЗАЦИЈА**

### **КОЛАГЕН**

Систем на еластични влакна

Глукозоаминогликани

### **АЛВЕОЛАРНА КОСКА, ЗАБИ И ПЕРИОДОНЦИУМ**

### **БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ФИБРИЛАРНИОТ КОЛАГЕН**

Биохемиски карактеристики на синтезата на колагенот.

### **БИОЛОШКА МИНЕРАЛИЗАЦИЈА**

Структура на коски, дентин и цемент

Како се одвива биолошката минерализација?

Алвеоларна коска

Ремоделирање на алвеоларната коска

**С**врзното ткиво (строма) е внатрешна цврста маса на организмот која содржи клетки вградени во матрикс. Главни компоненти на сврзното ткиво се колагени влакна, вградени во полисахаридна градбена супстанца која е изградена од хијалурон и различни глицозаминогликани. Стромалните клетки потекнуваат од мезодермални ембрионални клетки кои се диференцираат во фибробласти, хондробласти и остеобласти кои создаваат, соодветно сврзно ткиво, рскавица и коска.

Стромалниот матрикс е покриен со епител, кој има ектодермално потекло. Таму каде што се допираат сврзното ткиво и епителот, фибробластите стапуваат во интеракција со епителните клетки и формираат базална ламина (базална мембрана). Базалната мембрана има улога на полупропустлива мембрана, ги одделува специјализираните клетки, како што се епителните или мускулните клетки од солубилните стромални протеини. Богатата капиларна мрежа, веднаш под епителот обезбедува хранливите материи и молекулите со мала молекулска маса- модифицирачки агенси (хемокини) да имаат пристап до епителните клетки. Базалните мембрани оневозможуваат растворливите плазма протеини да поминат во стромалниот флуид или пак стромалните протеини да минат во епителниот флуид.

## КОЛАГЕН

Колагенот е протеин (гликопротеин) кој е застапен со околу 25% од сите протеини во човековиот организам. Станува збор за ригидни, во вода нерастворливи молекули, кои се отпорни на истегнување. Самата организација на молекулите на колагенот зависи од тоа, каква е нивната функција во одделни ткива.

Колагенот е главен протеин на сврзното ткиво. Постојат две големи групи на колаген, кои се генетски кодирани: фибриларен (vlakнест) и нефибриларен. Колагените влакна (фибри) се најзастапена група на влакна и се видливи со голо око. Колагените влакненца (фибрили) се видливи само со помош на светлосен микроскоп, а колагените микровлакненца (микрофибрили, филаменти) само со помош на електронски микроскоп. Покрај тоа што учествуваат во формирањето и одржувањето на ткивниот интегритет и стабилност, колагенот, исто така, создава биоактивна површина која го регулира клеточното диференцирање, морфогенезата и миграцијата (подвижноста) на клетките. Исто така, колагенот е значаен за заздравувањето на раните, воспалението и тромбозата.

Според видот на полипептидните синџири се разликуваат повеќе типови на колаген: I, II, III, V, XI. Најзастапен е колагенот тип I, но често пати во сврзните ткива се среќава комбинација од различни типови на колаген. Тип I на колагени влакната често се најдени во комбинација со типот V на колагени влакна од повеќе различни причини:

- за да ја олеснат корнеалната транспарентност,
- за да ја ограничат дебелината на влакната во тек на ткивното репарирање и да помогнат да се формира архитектурата на различните ткива кои содржат колаген, како што се тетивите или плацентата.

Типот II на колагени влакна, кои се единствени за рскавицата, формираат комплекс со тип XI на колагени влакна, за да ја ограничат дебелината и да го подобрат врзувањето за глицозаминогликаните. Ретикуларните влакна се составени главно од колаген тип III и се обемно прекриени со глицозоаминогликани и гликопротеини. Во дермисот на кожата и во гингивата ретикуларните влакна се протегаат и продолжуваат надвор од колагените влакна, тип I, кои веќе се поврзани со колаген, тип V. Во коскената срцевина и другите помалку

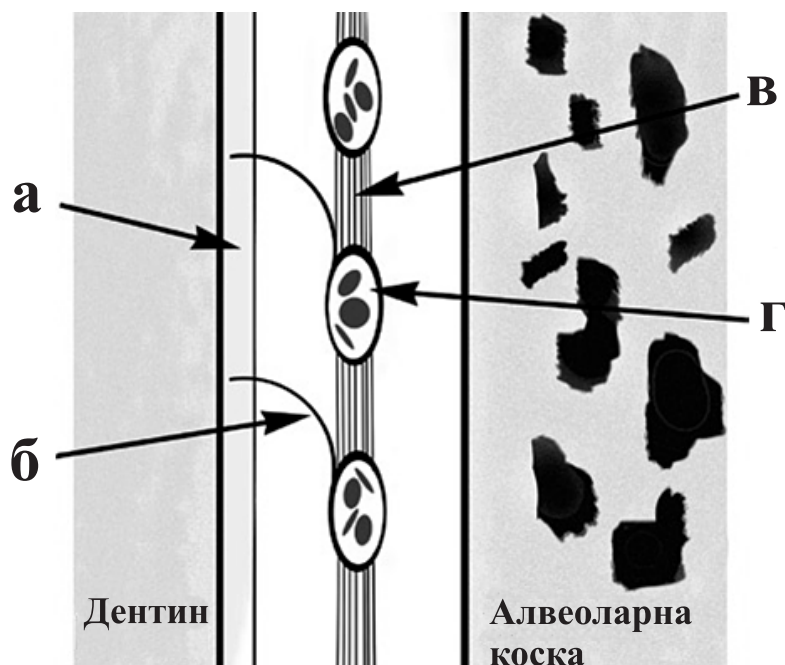


фиброзни ткива, колагенот тип III се поврзува со мешавина од нефибриларниот тип VIII и X.

Сите колагени влакна, влакненца и микровлакненца имаат наизменично, светло и темно пребоен изглед (напречно пругаст, во вид на трака). Ваквиот изглед се должи на развлечената низа на тропоколагенските тројни спирали.

### Систем на еластични влакна

Еластичните влакна во сврзното ткиво ја обезбедуваат можноста за поголема растегливост на ткивото. Тие се изградени од протеинот фибрилин со или без централен дел од протеинот еластин. Еластичните влакна се особено застапени во лигаментите и големите артерии. Окситаланските влакна се фибрилински снопови на влакна без еластин. Присутни се и во периодонциумот (слика 9.1).



Слика 9.1: а. цемент б. основни окситалански влакна в. окситалански снопови на влакна г. периодонтални крвни садови. Окситаланските влакна создаваат мрежа која ги поврзува крвните садови и цементот.

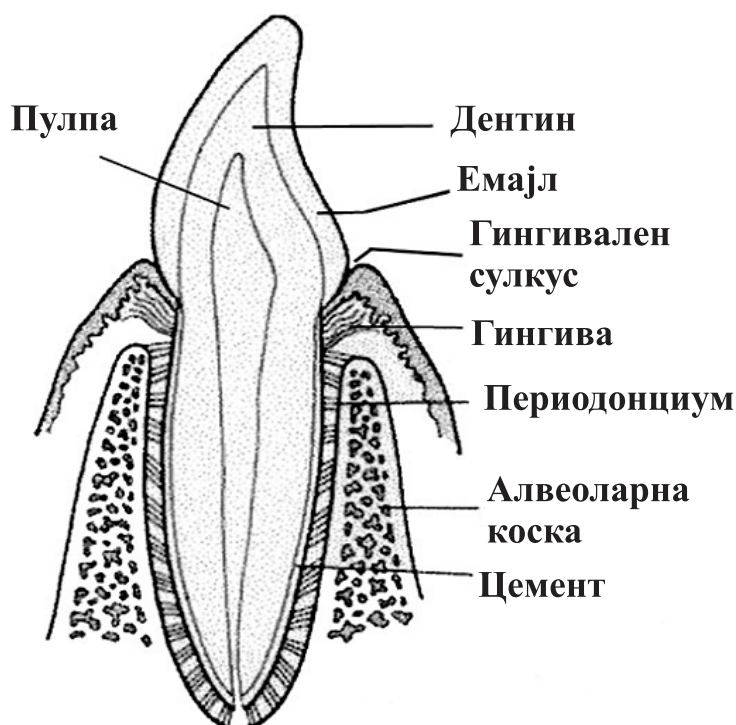
### Глукозааминогликани

Глукозааминогликаните се јаглехидрати важни за развојот, репарирањето (здравувањето) на стромата и за формирањето на рскавиците. Во текот на развојот на ткивата или при отстранување на оштетеното ткиво, од инфекција или повреда, фибробластите се активираат и пролиферираат. Овие клетки тогаш секретираат хијалурон, голем повторувачки димер на глукуронат поврзан со N- ацетилглукозамин. Потоа фибробластите навлегуваат во хијалуронот заедно со пролиферирачките ендотелни клетки кои формираат нови капилари. Кога се веќе во хијалуронот фибробластите секретираат колагени влакна кои ја зголемуваат густината на

стромата. Протео-глицозаминогликаните се протеини кои имаат ковалентно врзани глицозо-аминогликани. Тие се синтетизирани од страна на фибробластите, хондробластите и остеобластите заедно со колагенот. Овие негативно наелектризирани полимери ја даваат резилентноста (еластичноста) на сврзното ткиво и се особено важни кај рскавиците. Стромата, односно сврзното ткиво, е едновременно и резилентна и фиброзна. Долгите хијалуронски молекули се особено важни во одржување на вискозноста на флуидот во зглобовите околу рскавиците помеѓу коските, како и во очните празнини.

## АЛВЕОЛАРНА КОСКА, ЗАБИ И ПЕРИОДОНЦИУМ

Коската ја создаваат остеобластите, клетки кои транспортираат калциумови јони од крвта во секретираниот некалцифициран остеоиден матрикс, составен главно од колаген тип I. Во тек на калцификацијата клетките, како што се моноцитите, ги напуштаат соседните крвни капилари и се прилепуваат за нерегуларностите на калцифицирачките коскени површини и можат да се трансформираат во остеокласти. Остеокластите се клетки кои ја ресорбираат коската. Се создаваат во согласност со генетските и стимулусите од околината. Овие клетки ја одредуваат формата на коската и одговорот на притисок (стрес).



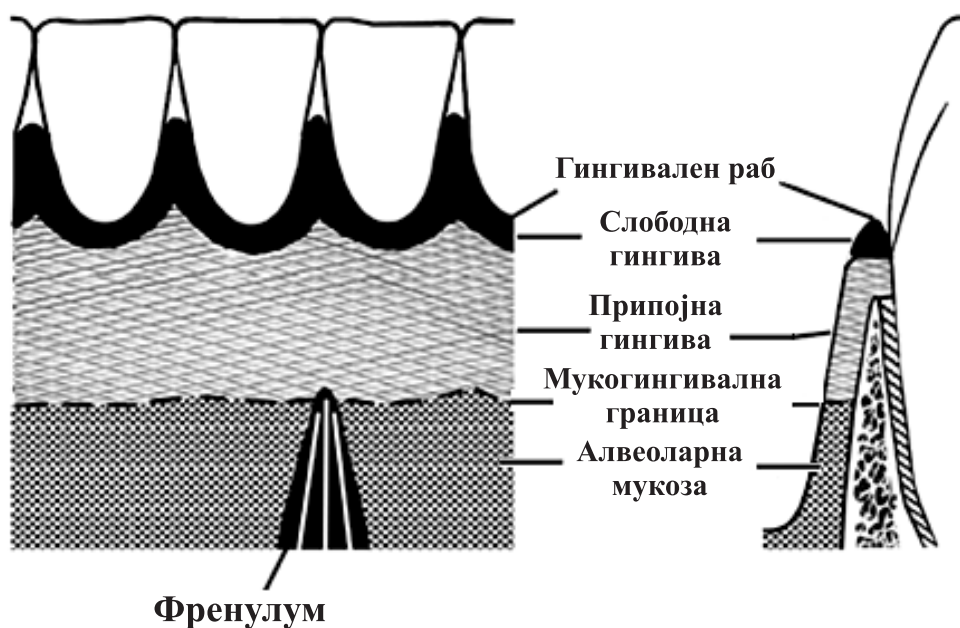
Слика 9.2: Шематски приказ на заб со околните пародонтални ткива

Забот и неговите околни структури (пародонциум) се прикажани на слика 9.2. Емајлот го создаваат амелобластите, клетки со ектодермално потекло. Емајлот е единствено калцифицирано ткиво кое не содржи колаген во телото на рбетниците. Тој создава цврста, непропустлива обвивка околу дентинот. Колагенот, тип I, ја сочинува органската основа на дентинот и на цементот, како и на коската. Колагенот кој учествува во градба на дентинот го продуцираат одонтбластите, додека пак колагенот кој претставува органска основа на цементот, го продуцираат цементобластите.

Кога е завршена синтезата на дентинот, одонтобластите остануваат витални на внатрешна површина на дентинот, во пилпата (некалцифицирано ткиво). На надворешната површина на дентинот апикално во однос на емајлот, цементобластите се диференцираат од фибробластите и формираат цемент.

Периодонциумот се состои од гингива, цемент, периодонтален лигамент (периодонциум) и алвеоларна коска. Гингивата и периодонциумот главно се составени од големи колагени снопови на влакна кои ги апсорбираат мастикаторните сили. Периодонталните колагени влакна се наречени периодонтален лигамент бидејќи обата краја на овие колагени влакна се калцифицирани (во цементот и во алвеоларната коска), налик на лигаментите кои ги припојуваат коските. Колагените влакна и крвните садови на периодонциумот се окружени со окситалански влакна, изградени од фибрилин. Овој протеин обезбедува помал еластицитет кој е неопходен за движење на забите (мобилност на забите).

Гингивата лежи коронарно од периодонталниот лигамент и на неа се разликуваат: припоен и неприпоен (слободен) дел. Слободната гингива е мекоткивен сид на гингивалниот сулкус. Слободната гингива се протега од нејзиниот коронарен дел, кој е наречен гингивален раб, до емајл-цементното споиште. Апикално продолжува во припојната гингива. Надворешната (оралната) страна на слободната гингива е прекриена со кератинизиран епител, додека нејзината внатрешна страна (сулкусна) свртена кон емајлот на забот е прекриена со некератинизиран епител (слика 9.3).



Слика 9.3: Шематски приказ на гингивалното ткиво

Гингивата поседува 5 групи на колагени влакна или лигаменти, кои се категоризирани според ориентацијата и функцијата. Гингивалните влакна се: а) дентогингивални; б) алвеологингивални; в) циркуларни; г) трансептални; и д) периостални (слика 9.4).



Слика 9.4: шематски приказ на гингивалните колагени влакна.

Првите две групи се слободни гингивални влакна, кои се припојуваат во цементот или во коската со едниот крај (каде што влакната се калцифицирани), а другиот крај им е слободен. Тие ја држат слободната гингива цврсто наспроти забната површина. Циркуларните гингивални влакна се припоени во цементот и делумно го окружуваат забот под слободната гингива. Транс-септалните влакна се припојуваат за цементот на два соседни заби. Периосталните влакна ја држат припојната гингива цврсто припоена за надворешната површина на алвеоларната коска.

Периодонталните влакна (периодонтален лигамент) се изградени од основни снопови на колагени влакна. Овие влакна се групирани врз база на нивната местоположба и ориентацијата: А) влакна на алвеоларниот гребен, Б) хоризонтални, Ц) коси, Д) апикални, Е) интеррадикуларни (кај повеќекорените заби). Деловите од периодонталните колагени влакна кои се инсертирани (вкотвени) во цементот и алвеоларната коска се наречени Шарпееви влакна.

Основната супстанца, во која основните периодонтални влакна се вградени, е сочинета од протеоглигани во кои се вградени окситалански влакна. Овие влакна ги обезбедуваат и заштитуваат крвните садови во периодонциумот во тек на цвакањето. Загризувањето предизвикува забите да ги потиснат крвните садови во периодонциумот. Окситаланските влакна им дозволуваат на капиларите да се повлечат така што крвоснабдувањето со кислород и други неопходни нутрициенси, се надоместува веднаш кога притисокот ќе престане.

## БИОХЕМИСКИ КАТРАКТЕРИСТИКИ НА ФИБРИЛАРНИОТ КОЛАГЕН

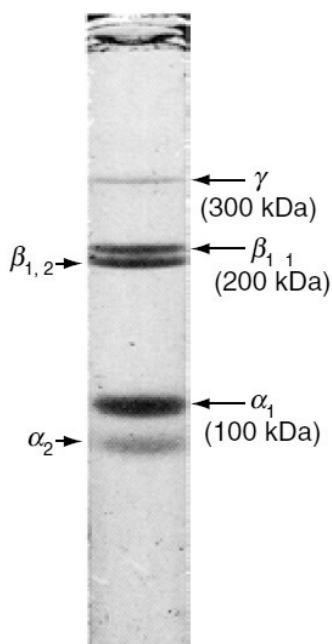
Колагените влакна имаат единствен и карактеристичен аминокиселински состав (табела 9.1). Најзастапени се аминокиселините: глицинон (1/3 од сите аминокиселини), потоа пролинон со 23%, аланинон 12%, хидроксипролинон, серинон, лизинон и хидроксилизинон. Од 20-те присутни аминокиселини, триптофанот и цистеинонот отсутствуют, а преостанатите 13 се присутни во мали количини. Бидејќи триптофанот е нутриционо неоп-

ходен, исхраната која се состои само од колаген неможе да обезбеди живот кај луѓето и другите цицачи, односно нутриционално, колагенот има биолошка вредност нула.

Најзначајни аминокиселини	Процентуална застапеност	Функции
Глицин	33	Ги зајакнува van der Waals- ите и водородните врски кои што ги поврзуваат трите полипептидни синцири во хеликсот на колагенот
Пролин	14	Пролинот одговорен за екстендираноста на хеликсот
Хидроксипролин	9	Хидроксилната група го стабилизира екстендираниот хеликс на високи температури
Аланин	12	Мал страничен синцир кој дозволува полипептидите да лежат надолжно еден до друг и да создаваат влакна
Серин	4	Мал страничен синцир (слични ефекти како аланинот)
Лизин	3	Одговорен за ковалентните вкрстени врски
Хидроксилизин	1	Овозможува припојување на јаглехидратните компоненти во молекулата на колагенот, како и лизинот е вклучен во ковалентните вкрстени врски

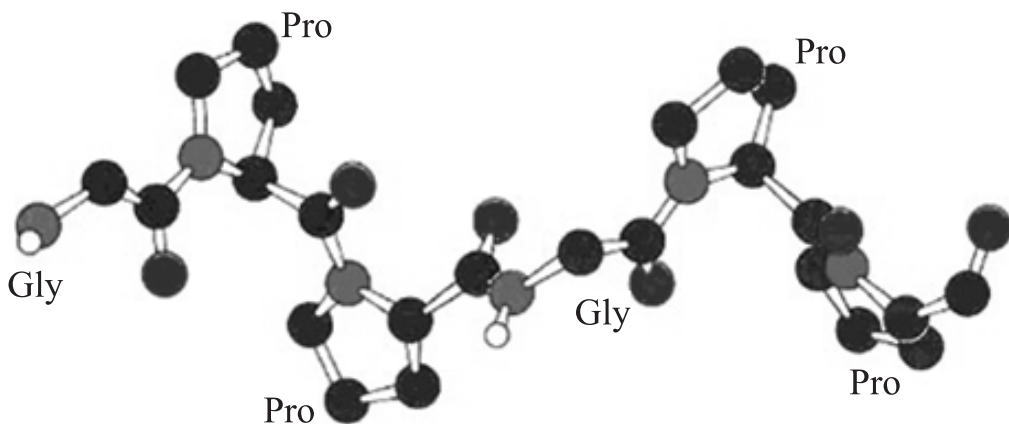
Табела 9.1: Амино киселински состав на  $\alpha_1$  синцирот во тропоколагенот

Колагените влакна се изградени од  $\alpha 1$ -,  $\alpha 2$ -,  $\beta$ -, и  $\gamma$ -, полипептидни синцири и тие ја претставуваат основната единица на колагенот, која е наречена тропоколаген. Најмалите полипептиди  $\alpha 1$ -и  $\alpha 2$ - на тропоколагенот имаат молекулска маса од приближно 100 kDa;  $\alpha 1$ -полипептидот е незначително поголем поради што мигрира поспоро (при електрофореза на полиакриламиден гел). Анализата на  $\alpha 1$ -и  $\alpha 2$ полипептидите покажува дека глицинот е присутен на секоја трета резидуа (Gly-X-Y повторувачки секвенци) во обата  $\alpha$  пептиди, а пролинот е често присутен на X или Y позицијата (слика 9.5).



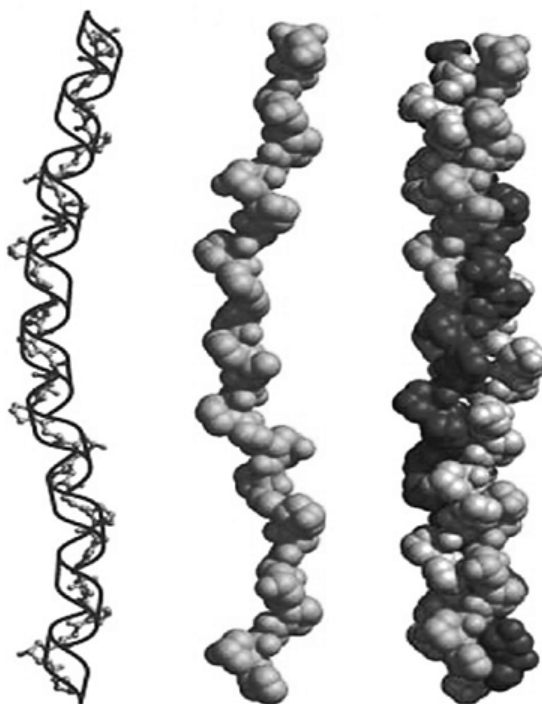
Слика 9.5: Полипептиден состав на колагено влакно

Потврдено е дека полипептидите кои содржат Gly-X-Pro повторувачка секвенца имаат екстендирана (раширена) верига поради структурата на пролинската пептидна врска (слика 9.6).



Слика 9.6: Хеликс на колагенот. Секундарната структура на колагенот е овозможена со пептидните врски кои се создаваат помеѓу глицинот и пролинот.

Глицинските резидуи овозможуваат силна поврзаност помеѓу полипептидните синцири, бидејќи овозможуваат создавање на бројни водородни врски во структурата на тропоколагенот. Амино-киселината хидроксипролин, ја стабилизира структурата на тропоколген при загревање.



Слика 9.7: Троен хеликс на тропоколагенот

Поради сите наведени карактеристики (водородни врски на глициноот, улогата на пролиноот и хидроксипролиноот), полипептидите кои го сочинуваат тропоколагенот создаваат екстендиран троен хеликс (проширена тројна спирала) (слика 9.7). Тропоколагенот, претставува мономерна единица на сите фиброзни (влакнести) колагени. Два  $\alpha$ 1- и еден  $\alpha$ 2 –полипептиди се спојуваат со нивните хидрофобични домени (предели) и ја започнуваат тројно спиралната формација.

Завиткувањето на трите  $\alpha$ -полипептиди во тројна спирала(хеликс), кое постојано се повторува, им ја дава на колагените влакна нивната цврстина, и нерастворливост. Ковалентните вкрстени врски помеѓу  $\alpha$ -полипептидите ги зајакнуваат влакната.

Сите колагени протеини се составени од проколагенски мономерни единици, создадени од три полипептиди во тројна спирала. Секој тип на колаген е изграден од идентични или од различни полипептидни синцири, кои генетски се кодирани. Тројната спирала (хеликс) може да биде создадена од еден ист полипептид, како кај тип II колагенот ( $\alpha$ 1). За разлика од тип II, кај тип I колагенот, тројната спирала е изградена од 2 различни полипептидни синцири (  $\alpha$ 1 и  $\alpha$ 2). Колагенот, тип IV, е изграден од три различни полипептидни синцири. Поради тоа различните полипептидни секвенци од различните типови на колаген создаваат различни структури.

Најголем број на периодонтални влакна се изградени од колаген Тип I. Периодонциумот е релативно богат и со колагенот Тип III (околу 20%), кој се состои од три  $\alpha$  синцири. Во неговиот состав влегуваат хидроксипролин, хидроксизин и цистеин. Колагенот Тип III е повеќе фибриларен и порастеглив од Тип I, а е одговорен за одржување на интегритетот на периодонталниот лигамент, за време на хоризонталните и вертикални движења на забот, кои се случуваат за време на мастикацијата.

Колагенот, според своите биохемиски карактеристики е гликопротеин, бидејќи освен аминокиселини, содржи јаглехидратен дел. Протеинскиот дел, за кого до сега стана збор, е позастапен во колагенот. Јаглехидратниот дел е присутен во вид на странични синцири кои се поврзани со основниот полипептиден синцир. Страничните синцири се кратки и се состојат од два шеќери: глукоза и галактоза. Поврзувањето на страничните јаглехидратни синцири во молекулата на тропоколагенот, е овозможено со присуството на аминокиселините хидроксизин и хидроксипролин. Имено, шеќерните компоненти се поврзуваат со полипептидниот синцир, преку ОН (хидроксилните) групи на овие аминокиселини.

### **Биохемиски карактеристики на ситезата на колагенот**

Синтезата на колагенот се одвива во клетките на дентинот-одонтбластите, на алвеоларната коска-остеобластите, на цементот-цементбластите и во клетките на оралната мукоза-фибробластите. Во споменатите клетки започнува процесот на синтеза на колагенот, а самиот процес интраклеточно се одвива низ четири фази (слика 9.8):

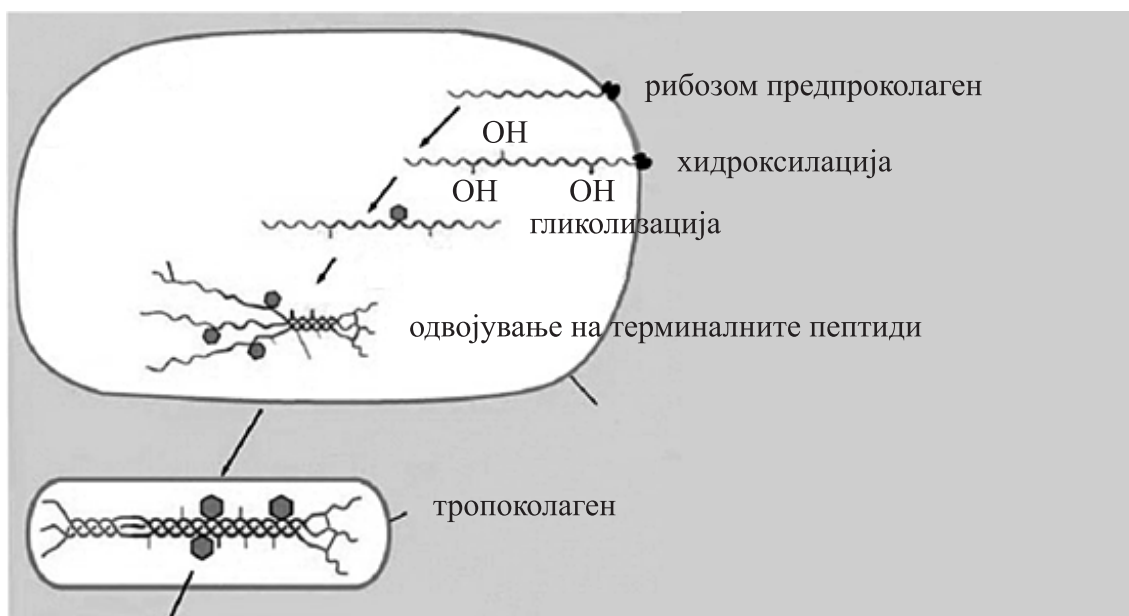
1. Синтеза на полипептидните синцири, која се одвива на рибозомите и ендоплазматскиот ретикулум во клетката. Во оваа фаза се создава **препроколаген**.
2. Воведување на хидроксилни групи (ОН) во аминокиселините лизин и пролин (хидроксилација). Притоа се создаваат аминокиселините хидроксизин и хидроксипролин, а овој процес на хидроксилација се одвива под дејство на ензимите

*хидроксилази*. Активноста на хидроксилацијата е овозможена со присуство на витаминот С.

3. Воведување на глукоза и галактоза, во вид на странични синџири (гликолизација). Глукозата и галактозата се врзуваат за ОН групата од аминокиселините хидроксилизин и хидроксипролин. Споменатата реакција на гликолизација се катализира под дејство на ензимите *трансферази*. На овој начин се синтетизира **проколаген**.
4. Одвојување на терминалните пептиди од проколагенот под дејство на ензимите *протеази*, при што настанува нерастворлив **колаген**.

По завршувањето на овие четири фази од интраклеточната синтеза на колагенот, синтетизираниот колаген во вид на основната единица-тропоколаген, ја напушта клетката. Екстраклеточно се одвива процесот на стабилизација и матурација (зреење) на колагените влакна. Стабилизацијата на колагените влакна настанува со процесот на оксидативна дезаминација на  $\text{NH}_2$  групите при што се добиваат алдехидни групи. Овој процес е катализиран под дејство на ензимите *хидроксилази*. Алдехидните групи реагираат со преостанатите аминокиселини  $\text{NH}_2$  при што се добиваат врски од типот на Schiff-ови бази, кои имаат енергија на врзување слична како и пептидните врски.

Матурацијата на колагените влакна, која продолжува екстраклеточно, настанува со поврзување на создадените колагени влакна со гликопротеини од типот на фибронектин и протеоглигани.



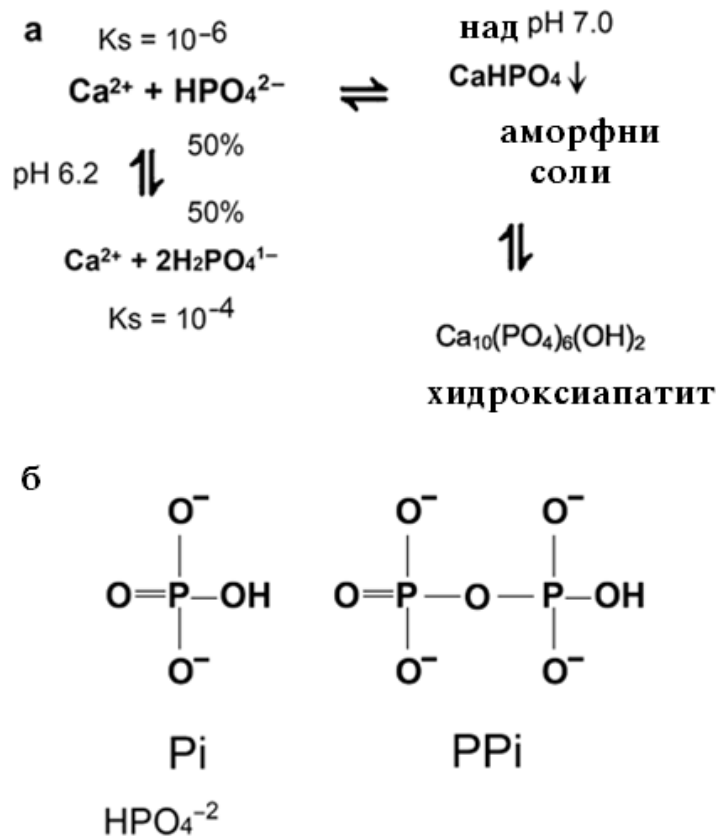
Слика 9.8: Шематски приказ на интраклеточните фази од синтезата на колагенот и неговото напуштање на клетката како тропоколаген



**БИОЛОШКА МИНЕРАЛИЗАЦИЈА**

Минерализацијата претставува таложење на калциумови и фосфатни соли во текот на создавањето на коскениот и на цврстите забни ткива.

Присуството на калциумовите и фосфатните јони во биолошките течности е различно. Калциумот константно е присутен како двовалентен јон ( $\text{Ca}^{2+}$ ), но фосфатните јони се присутни во една од трите рН зависни форми (Сл. 9.9): дихидроген фосфат ( $\text{H}_2\text{PO}_4^{1-}$ ), монохидроген фосфат ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ) и фосфат ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). Во раствори со рН над 6,2 доминира преодот на калциум дихидроген фосфат во калциум монохидроген фосфат. Калциум монохидроген фосфат е околу 100 пати помалку растворлив од калциум дихидроген фосфатот. Исталожењето на калциум фосфат всушност се нарекува апатит.



Слика 9.9: Преципитација на калциум фосфатните соли и структура на ортофосфатните (Pi) и пирофосфатните (PPi) јони. а) Преципитација на калциум фосфатот при различни вредности на рН. На левата страна, при рН од 6,2 фракциите на монохидроген фосфатните јони и дихидроген фосфатните јони се речиси изедначени, а растворливоста на монохидроген фосфат е околу 100 пати помала од растворливоста на калциум дихидроген фосфатот. На десната страна од сликата е прикажано дека фосфатните јони при рН 7 се повеќе присутни во форма монохидроген фосфат. Калциум монохидроген фосфатот преципитира како аморфна сол која што понатаму спонтано се ремоделира во кристали на хидроксиапатит. б) Структура на Pi и PPi. Структурите се физиолошки јонизирани форми при рН (~7,2).

Апатитот кој првично се создава е трошлив и кршлив поради неговата аморфна (некристална) структура. Ако околната течност остане со вредност рН над 7, овој апатит е подложен на серија спонтани промени на цврстината. Краен продукт на таложењето на калциумовите и фосфатните соли е хидроксиапатитот, кристал кој содржи десет калциумови јони ( $\text{Ca}^{2+}$ ), шест фосфатни јони ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) и два хидроксилни јони ( $\text{OH}^{1-}$ ).

Хидроксиапатитните кристали во коските и забите сдржат и други анијони и катијони, особено магнезиум, хлориди, карбонат и флуоридни јони. Присуството на други анијони и катијони ги менуваат карактеристиките на хидроксиапатитот. Присуството на карбонатот ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) е многу значајно. При мало присуство на карбонат (<4%), карбонатниот јон го заменува фосфатниот јон во кристалот, но при поголема содржина (>4%) го заменува хидроксилниот јон. Двете замени малку го скратуваат и задебелуваат кристалот и ја зголемуваат растворливоста. Наспроти ова, ако се присутни хидроксилните јони, тие можат да бидат заменети со флуориди, што ја намалува растворливоста на апатитот.

Кристалографската анализа покажува дека, во коската и дентинот, фосфатот е често заменет со карбонат, додека во емајлот почесто е заменет со хлорид ( $\text{Cl}^{1-}$ ). Карбонизируваниот хидроксиапатит е клучен за настанувањето на емајлот. Емајловиот минерал има многу големи хидроксиапатитни кристали, додека пак коските имаат многу мали кристали со бројни слободни места и замени во нив. Овие разлики ја зголемуваат еластичноста на коската во споредба со емајлот и ги овозможуваат интеракциите со околниот колаген.

Растворените калциумови и фосфатни јони, во крвта и екстрацелуларната течност, остануваат растворени независно од нивната концентрација во овие течности. Во крвната плазма минерализацијата е спречена од полианијоните, особено албуминот, цитратот и пирофосфатот (PPi). Тие ги хелираат калциумовите јони и го спречуваат нивното таложење со монохидроген фосфатните јони.

Пирофосфатот (PPi) ја инхибира (кочи) предвремената агрегација на калциумот со монохидроген фосфатните јони во минерализирачките ткива и интерстицијалниот флуид низ телото (Сл.9.9 б). Тип I колагените влакна го започнуваат создавањето на коските, во услови на растечки концентрации на  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$  јоните.

### **Структура на коските, дентинот и цементот**

Се разликуваат два типа на коскено ткиво: густо (компакта или кортикална коска) и спонгиозно (каналкуларно или трабекуларно) коскено ткиво. Коскениот матрикс воглавно е изграден од тип I колагени фибрили.

Компактната коска се состои од голем број на остеоци кои го сочинуваат т.н. Хаверсов систем. Во овие остеоци, централните канали се наречени остеоциски (Хаверсови) канали и се опкружени со концентрични кругови (ламели) на калцифициран матрикс. Коскениите клетки (остеоцити) лежат помеѓу калцифицираните кругови, во простори наречени лакуните. Малите канали (каналкули кои содржат продолжетоци од остеоцитите) зрочно се протегаат од лакуните до остеоцискиот (Хаверсов) канал за да обезбедат пат за

хранливите материи и отпадните продукти. Секој остеоонски канал содржи централен голем капиларен крвен сад кој е паралелен со надолжната оска на коската. Капиларите се поврзани еден со друг, а преку Volkman-овите (отвори на површината на коската) поврзани се и со поголемите крвни садови во тенката строма богата со фибробласти. Оваа тенка строма богата со фибробласти се наоѓа на површината на коската и се нарекува периост.

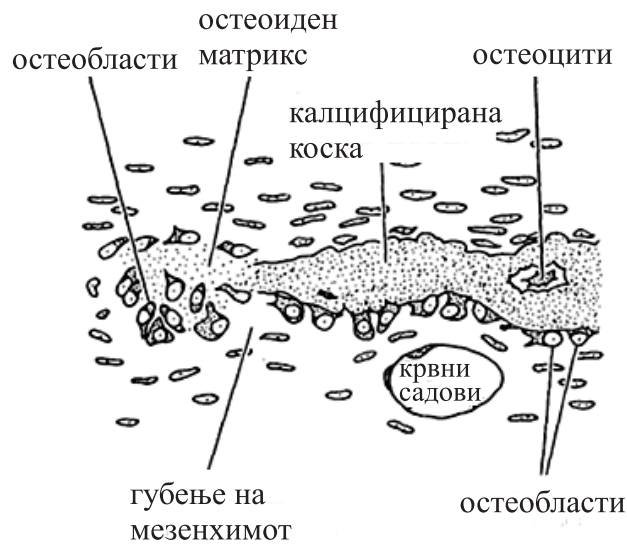
Спонгиозната коска е помалку густа во споредба со компактната коска. Се состои од тенки гредички (трабекули) и интертрабекуларни простори исполнети со коскена срцевина. Трабекулите се поредени и организирани така да обезбедат максимално спротивставување на силата која што делува врз коскено ткиво. Трабекулите на спонгиозната коска ги следат линиите на притисок. Притисокот кој што делува врз коскено ткиво создава микропукнатини во коската при што се активираат остеоластите и остеоластите, причинувајќи соодветно ремоделирање и прегрупирање на коскените гредички. Клетките на коската се диференцираат како остеоласти во периостот или на површината на трабекулите и се трансформираат во остеоцити во лакуните по минерализацијата на матриксот. Остеоластите и остеоцитите претставуваат околу 15 % од коскената маса.

Дентинот започнува да се секретира како неминерализиран, предентин. Предентинскиот матрикс, кој го создаваат клетките наречени одонтобласти, се состои од колаген, гликопротеини и протеогликани. Колагените влакна, продуцирани од одонтоластите, заземаат паралелна полжба со надолжната оска на тенките одонтобластни продолжетоци кои се протегаат преку предентинот. Одонтобластните продолжетоци остануваат во минерализираното ткиво, во центарот на дентинските тубули. За да се минерализира дентинот околу тубулите,  $Ca_2^+$  јоните се транспортираат до местото на минерализација од основните крвни садови во пулпалната празнина која се развива. Дентинските тубули имаат странични гранки (каналчиња) кои ја овозможуваат комуникацијата на одонтоластите едни со други, слично како и остеоцитите. Овие странични каналчиња се многу побројни во коренскиот дентин отколку во дентинот на коронката. **За разлика од коската дентинот не содржи крвни садови.** Цементот е наталожен во слоеви над дентинот на надворешната површина од коренот како калцифициран матрикс во кој се припојуваат Шарпеевите влакна. Цементот е помалку минерализиран од компактната коска и од дентинот.

### **Како се одвива биолошката минерализација?**

*Интрамембранската осифокација* е одговорна за поголемиот дел од минерализацијата на черепот, вклучувајќи ги и максилата и мандибулата. Започнува со диференцијација и активација на остеоластите, кои се диференцираат од мезенхималните клетки, слични на примитивните фибробласти, во пределот на сврзното ткиво каде што коската ќе се создава. Остеоластите секретираат неминерализиран, богат со протеини (остеоиден) матрикс. Како што остеоластите се поместуваат, матриксот минерализира (слика 9.10). Периостот (најповршниот слој на коската) останува некалцифициран и содржи латентни и недиференцирани остеоласти кои се одговорни за подоцнежното коскено ремоделирање.

Одонтоластите и цементоластите, исто така секретираат матрикс кој наликува на остеоидниот матрикс.



Слика 9.10: Интрамембранската осифокација е типична за кранијалните коски. Остеобластите се диференцираат од мезенхималните клетки слични на примитивните фибробласти.

Скелетната ткивна минерализација (формирање на коска) е иницирана од остеобластите кои го секретираат остеоидниот матрикс (слика 9.11). Овие клетки го создаваат проколагенот тип I во секреторните везикули.



Слика 9.11: Секреција на остеобластите и создавање на матриксни везикули. На надворешната површина на коските се наоѓаат клетки слични на фибробластите кои се диференцираат во пре-остеобласти. Остеобластните продолжетоци се протегаат до остеоидното ткиво и се припојуваат со остеоцитите (диференцирани остеобласти). Остеоидниот матрикс е полн со мали матриксни везикули (бели точки на сликата) кои содржат различни базични преципитати на калциум фосфат.

Остеобластите, ги транспортираат  $\text{Ca}^{2+}$ -јоните од периостеалната екстрацелочна течност користејќи ги изменувачите за  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ .  $\text{Ca}^{2+}$ -јоните се пренесуваат до остеоидниот матрикс преку АТФ зависната плазмемембранска  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-аза. Остеобластите исто така го внесуваат и ортофосфатот (Pi) од периостеалната екстрацелочна течност. Кога вредноста на рН е 7,0, Pi се состои од околу 60% монохидроген фосфат и 40% дихидроген фосфат. Ортофосфатот дифундира слободно низ цитоплазмата и навлегува во остеоидниот матрикс, односно во матриксните везикули каде се одвива калцификацијата. Внатрешноста на матриксните везикули е поалкална, благодарение на дејството карбоанхидразата, која ја катализира реакцијата помеѓу дихидроген фосфатот и натриум бикарбонатот. Јаглеродната киселина, која се добива при оваа реакција, е нестабилна и се разложува до вода и јаглерод диоксид, а натриумовите јони се заменуваат во остеоидниот матрикс со надоаѓачкиот Pi. Лактат дехидрогеназата е, исто така, присутна и може да дејствува така што спречува рН да биде премногу алкална, овозможувајќи хидроксиапатитните кристали да бидат помали.

Брзиот минерален раст во везикулата ја одржува концентрацијата на растворените калциумови и неоргански фосфатни јони толку ниско што дополнителни  $\text{Ca}^{2+}$  и Pi јони спонтано влегуваат од екстрацелочната течност преку нивните соодветни транспортери. Кога цврстиот калциум фосфат ќе достигне одредена големина, везикулата се раскинува. Изложениот минерал делумно повторно се раствора.

Колагенот е доминантен протеин кој што го сочинува органскиот матрикс на коскениот ткиво и на дентинот. Но освен него, присутни се и одреден број на неколагени протеини во коската и дентинот. Членови на оваа фамилија на неколагени протеини се **остеокалцин, остеопонтин, матриксен екстрацелочен фосфогликопротеин, коскен сиалопротеин, дентински матрикс протеин-1 и дентин сиалофосфопротеин**. Овие протеини се калциум врзувачки и се присутни главно во неминерализираниот или минерализираниот остеоид или во дентинскиот матрикс. Неколагените протеини во коската и дентинот се примарно вклучени во *постминерализациското коскено моделирање*.

Минерализацијата на емајлот на забот се разликува од минерализацијата на претходно споменатите орални ткива: коска, дентин и цемент. Амелобласти се клетките кои го продуцираат органскиот матрикс за минерализација на емајлот. За разлика од другите ткива, колагенот не учествува во создавање на органскиот матрикс на емајлот. *Амелогенинот* е главен протеински продукт на амелобластите. Емајловиот матрикс, исто така содржи мали количества на два други протеини, *енамелин* и *амелобластин*. Со нивна минерализација, која се одвива само додека забот се развива, настанува емајлот на забот.

### Алвеоларна коска

Алвеоларната коска е дел од горната и долната вилица во која што се наоѓаат корените од забите.

*Долна вилица (mandibula)*. Долната вилица е единствена подвижна коска на лицето благодарение на зглобувањето со темпоралната коска и мускулите кои што се припојуваат на оваа коска. На нејзе се разликуваат: тело на долната вилица (*corpus mandibulae*), кое што е изградено од цврста компактна коска и алвеоларен продолжеток (*pars alveolaris*

mandibulae) во кој што се наоѓаат корените на забите. Од телото на долната вилица се протега ramus mandibulae, од двете страни на мандибулата, кои што завршуваат со два процесуси (procesus condilaris и procesus coronoideus).

*Горна вилица (maxila).* Горната вилица е вглобена со останатите коски на лицето. Изградена е од спонгиозна коска со шуплини. Оваа спонгиозна коска уште се нарекува procesus alveolaris maxile и во неа се наоѓаат корените на забите. Коскените гредички во спонгиозата се така распределени што можат, притисокот кој што делува врз максилата, а се создава во текот на цвакањето, да го распределат на останатите коски на главата и на тој начин да го амортизираат.

#### *Биохемиски состав и градба на алвеоларната коска*

Алвеоларната коска е изградена од неоргански и органски материи, коскени клетки и крвни садови. Неорганските материи во коската се присутни во облик на соли на калциум-фосфат. Овие соли во алвеоларната коска се присутни во форма на кристалот хидроксиапатит. Најголем процент од органските материи на алвеоларната коска е претставен со протеинот колаген. Од останатите органски компоненти во алвеоларната коска се присутни и хондроитин сулфат и хијалуронска киселина.

Коскените клетки се присутни во меѓуклеточната супстанца на алвеоларната коска. Присутни се клетки кои што се наречени остеобласти и клетки наречени остеокласти. Остеобластите учествуваат во создавањето на алвеоларната коска и од нив подоцна се создаваат остецити. Остеокластите се клетки кои што учествуваат во процесот на ресорпција на алвеоларната коска.

Исхраната на алвеоларната коска потекнува од крвните садови на периодонциумот и од интерденталните крвни садови.

Најголем дел од алвеоларната коска е претставен со спонгиозна коска. Спонгиозната коска е изградена од коскени гредички (трабекули) помеѓу кои е присутна коскена срцевина. Во спонгиозната коска се наоѓаат алвеоларните чашки (алвеоли) во кои се наоѓаат корените на забите. Сидовите на алвеолите се изградени од компактна коска која уште се нарекува и вистинска алвеоларна коска. На ренгенска снимка овој дел од алвеоларната коска се забележува како една тенка бела линија околу коренот на забот. Вистинската алвеоларна коска ренгенолозите ја нарекуваат lamina dura. На вистинската алвеоларна коска се наоѓаат бројни отвори низ кои што поминуваат крвни садови и нервни влакна. Во алвеолите се припоени краевите на колагените периодонтални влакна. Со другиот крај овие колагени периодонтални влакна се припоени за цементот на коренот на забот. Овие периодонтални влакна ја обезбедуваат фиксацијата на забот за вилиците. Површината на алвеоларната коска што е свртена кон оралната празнина, е прекриена со периост.

#### **Ремоделирање на алвеоларната коска**

##### *Механизам на калцификација на алвеоларната коска*

Калцификацијата на коската започнува со создавање на остеоид кој што е сличен со `рскавиците. Клетките остеобласти ги синтетизираат мономерите на колагенот и протеогликаните. Со полимеризација на мономерите се создаваат колагени влакна. Неколагените протеини: остеоидин, остеоидин и остеокалцин го овозможуваат

врзувањето на аморфните соли на калциум за колагените влакна. Со исталожување на солите на калциум првобитно настануваат аморфните соли: примарен фосфат и трикалциум фосфат. Со понатамошно исталожување на соли на калциум од аморфните соли се создава хидроксиапатит. Остеобластите освен што учествуваат во создавање на колагените влакна, тие продуцираат и големо количество на алкална фосфатаза, која учествува во создавањето на коскениот матрикс.

Најповршниот слој на коската е наречен мобилен слој на коската, од каде што калциумот кој што е врзан за аморфните соли (трикалциум фосфат) најлесно се отпушта во екстрацелуларната течност. Остеобластите и остеокластите се наоѓаат на површината на коската. Истите, меѓусебно се поврзани клетки и градат една мембрана која ја одвојува коската од екстрацелуларната течност. Помеѓу споменатата мембрана и коската се наоѓа коскена течност. Јоните на калциумот со помош на калциумовата пумпа се испумпуваат од коскена течност во екстрацелуларната течност. Овој процес се нарекува остеолита. Кога ќе се инактивира пумпата за калциум, концентрацијата на калциум во коскена течност расте. При тоа, калциумот повторно се исталожува во коскениот матрикс. Оваа размена на калциумот во мобилниот слој на коската има пуферска улога бидејќи не дозволува концентрацијата на калциумот во екстрацелуларната течност да се намали или да се зголеми.

#### *Механизам на разградба на коската (ресорпција)*

Клетките кои што учествуваат во разградба на коската се наречени остеокласти. Тие имаат продолжетоци и во коската секретираат:

- протеолитички ензими (потекнуваат од лизозомите) кои го разградуваат органскиот матрикс и
- лимонска и млечна киселина кои ги разградуваат коскените соли.

#### *Процеси на ремоделирање на коските*

Создавањето на коската се одвива за временски интервал од 8-10 недели. Разградбата пак на коската се одвива побрзо, за 3-4 недели. Во коските непрекинато се одвиваат и двата процеси: создавање и разградба на коската. Овие два процеси го овозможуваат прилагодувањето на цврстината на коската на степенот на оптеретеноста на истите. Со стареењето овие два процеса се забавуваат. Кај младите индивидуи за една година се изменува 100 % од калциумот, додека пак кај возрасните за една година се изменува 18% од калциумот. Овие процеси се одвиваат во зависност од насоката на дејствување на силата која што ги оптеретува забите. Така, коските се здебелуваат кога се изложени на поголемо оптеретување. Но кога оптеретувањето ќе ја надмине границата на издржливост на алвеоларната коска, доаѓа до разградба на истата. Во текот на процесите на ремоделирање на коската доаѓа до промена на обликот на коската. Менувањето на обликот се случува со цел коската што посоодветно да може да го поднесе механичкото оптеретување. Овие процеси на ремоделирање на коската се искористени за ортодонтско поместување на забите во стоматологијата и за обликување на виличните коски со помош на дистрактори во оралната и максилофацијалната хирургија.

Концентрацијата на  $\text{Ca}^{2+}$  во крвната плазма изнесува од 2, 2-2, 4 mmol/l. Калциумот во крвната плазма се наоѓа во три различни облици:

- $\text{Ca}^{2+}$  врзан за протеините на плазмата (40%),

- нејонизиран  $\text{Ca}^{2+}$  врзан за други соединенија, какви што се цитрати или фосфати (10%) и
- јонизиран или дифузибилен  $\text{Ca}^{2+}$  (50%).

Регулацијата на нивото на калциумот се одвива на два начини: преку брз нехормонски механизам и преку побавниот хормонски механизам. При брзиот, нехормонски механизам, доаѓа до брзо пуферизирање на малите промени на концентрацијата на јонизираниот  $\text{Ca}^{2+}$  преку  $\text{Ca}^{2+}$  кој што е врзан за протеините. Исто така, овој механизам на нехормонска регулација е овозможен и од искористувањето на брзо изменувачките депоа на  $\text{Ca}^{2+}$  во коските. Во хормонскиот механизам на регулација на калциумот, кој што се одвива побавно, учествуваат паратхормонот, 1,25 дихидрохолекалциферолот и калцитонинот.



# 10

## БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ЗАБНИТЕ ТКИВА

### ЕМАЈЛ НА ЗАБОТ (SUBSTANTIA ADAMANTINA)

Промени во составот на хидроксиапатитот

Улога на саливарните електролитите во зачувувањето на емајлот на забот

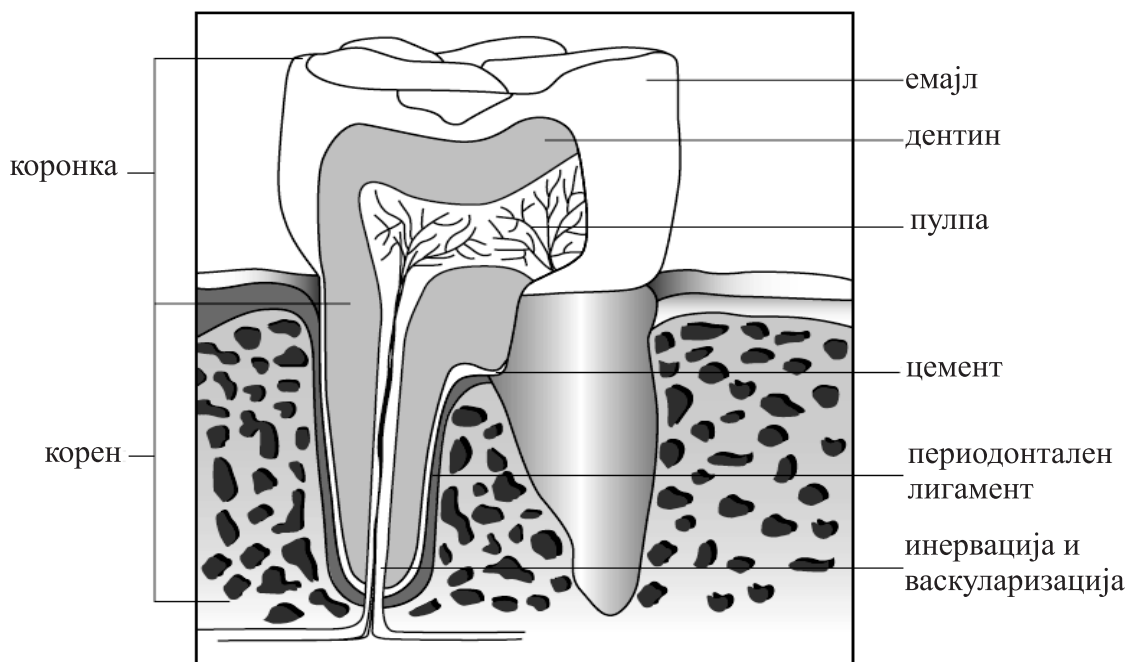
### ДЕНТИН

### ЦЕМЕНТ НА КОРЕНОТ НА ЗАБОТ

### ЗАБНА ПУЛПА

Се разликуваат три цврсти забни ткива: емајл на забот, дентин и цемент. Мекото забно ткиво, кое што е сместено во внатрешноста на овие цврсти забни ткива, се нарекува забна пулпа.

Емајлот на забот (enamelum) е најповршниот слој на забот и тој ја покрива коронката на забот. Дентинот (dentinum) е најмногу застапеното забно ткиво, а се наоѓа помеѓу емајлот на забот и забната пулпа. Цементот (cementum) е третото забно ткиво кое во коренскиот дел на забот го прекрива дентинот. Забната пулпа е витален дел од забот и сместена е во централно поставената шуплина на забот (cavum pulpae) (слика 10.1).



слика 10.1: Надолжен пресек на забот

### ЕМАЈЛ НА ЗАБОТ (SUBSTANTIA ADAMANTINA)

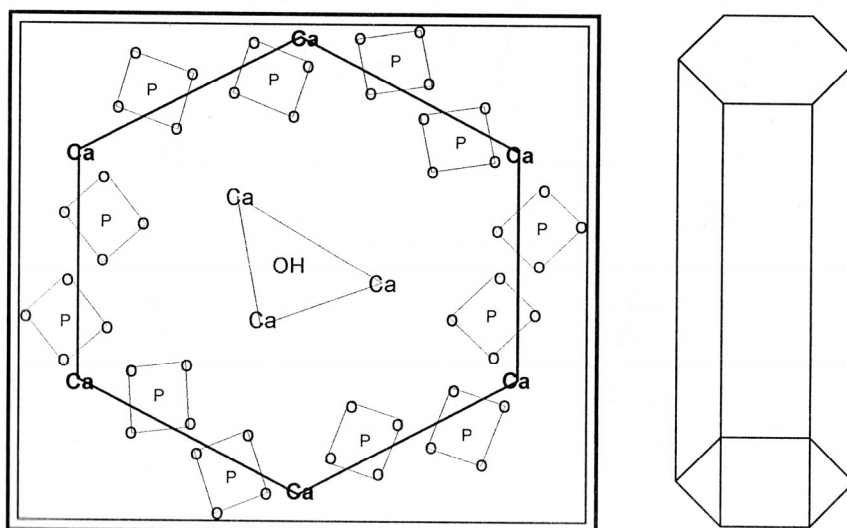
Емајлот на забот претставува најповршно цврсто забно ткиво и го прекрива дентинот во коронарниот дел на забот. Го создаваат клетките амелобласти, а процесот на создавање се нарекува амелогенеза. По завршување на амелогенезата амелобластите исчезнуваат. Ова забно ткиво е најцврстото ткиво во човековиот организам. Ваквата цврстина на емајлот произлегува од многу специфичниот биохемиски состав на ова ткиво.

Емајлот претставува ткиво кое што има квантитативно најголем процент на неоргански материи (95%). Неорганските материи се калциумот и фосфатите кои се наоѓаат во облик на кристална решетка на кристалот хидроксиапатит. Водата во емајлот на забот е застапена со многу мал процент (околу 4%) и според оваа карактеристика емајлот е ткиво во човековиот организам со најмала застапеност на вода. 0,8% од водата е врзана за органската содржина на емајлот на забот и се нарекува лабилно врзана вода. 3,2% е врзана за кристалите на хидроксиапатитот и се нарекува хидратациона вода. Органските материи во ова забно ткиво, исто така, се застапени во многу мал процент (1,1-1,3%).

Емајлот има структура на кристална решетка, а неговите кристали се нарекуваат кристали на хидроксиапатит. Овие кристали се слични со природниот апатит. Во текот на амелогенезата можно е брзо одвивање на кристализацијата при што се создаваат мали кристали на хидроксиапатит. Во случај кога се одвива бавна кристализација се создаваат макрокристали кои се отпорни кон кариес.

Емпириската формула на хидроксиапатитот (НА), главната компонента на емајлот, е  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6 \times (\text{OH})_2$ . Во кристалите на хидроксиапатитот кои имаат облик на ромбоидни призми, три јони на калциум градат триаглести формации. Притоа, групата се наоѓа во внатрешноста на триаголникот. Кислородот од  $\text{OH}^-$  се наоѓа над рамнината на триаголникот, а водородот се наоѓа под кислородот. Водородната врска се создава помеѓу кислородот од еден триаголник и водородот од друг триаголник кој се наоѓа над него. Два триаголници создаваат шестоаголно тело со хексагоналан распоред на  $\text{Ca}^{2+}$  јони во кристалите на хидроксиапатитот. Во овие хексагонални формации  $\text{Ca}^{2+}$  јоните можат да заземаат двојна положба, да бидат столбни или пак да бидат аксијални. Столбните  $\text{Ca}^{2+}$  јони се наоѓаат на темињата на шестоаголникот, додека пак аксијалните се наоѓаат во внатрешноста на кристалните на хидроксиапатитот и распоредени се во облик на триаголник.

Фосфорот е присутен во облик на фосфатна  $\text{PO}_4^{3-}$ . Четирите кислородни атоми од фосфатната група ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) се распоредени во облик на квадрат, а фосфорот (P) се наоѓа во средината на тој квадрат. Помеѓу секои два столбни  $\text{Ca}^{2+}$  јони се наоѓаат по две фосфатни групи. Карактеристична е ориентацијата на овие фосфатни групи. Секоја втора фосфатна група проминира над рамнината, при што поврзува два калциумови јони, со три атоми на кислород и еден атом на фосфор. Заради ова површината на кристалите на хидроксиапатитот, па и на, целиот емајл на забот, е негативно наелектризирана (слика 10.2).



Слика 10.2: Напречен пресек на хидроксиапатитот и просторниот распоред на неговите јони

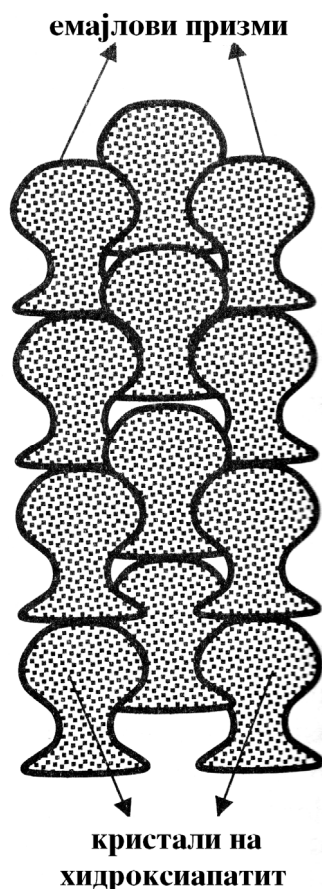
Со биохемиска анализа на цврстите забни ткива, докажано е присуство и на други микроелементи. Притоа најчесто е испитуван емајлот на забот. Докажано е присуство на повеќе од 40 микроелементи во забните ткива. Нивната концентрација воглавно зависи од количеството на внесување на овие микроелементи во организмот. Но, освен од

внесувањето, концентрацијата на микроелементите зависи и од видот на цврстото забно ткиво, од возраста и од полот на испитаникот. Вообичаено, концентрацијата на микроелементите е поголема во емајлот на забот во споредба со дентинот, иако тоа не е правило. Емајлот на забот содржи поголема концентрација на Mn, Cu, Sr, Pb, Zn во споредба со дентинот. Во дентинот, пак, позастапени микроелементи се: Mg, F и Fe. Разлики во концентрацијата на микроелементите во забните ткива се присутни и помеѓу испитаниците со различна возраст. Така, концентрацијата на Cu, Sr, Pb е значително поголема во емајлот на повозрасните индивидуи во споредба со помладите индивидуи. Дентинот на повозрасните индивидуи содржи значително поголема концентрација на Zn и Pb. Во емајлот на забите кај женската популација се регистрира значително поголема концентрација на Zn и Se во споредба со машките индивидуи (табела 10.1).

Група	Концентрација $\mu\text{g/g}$	Микроелементи
I	<0,1	Bi, I, Mo
II	0,1-1,0	Co, Pr, Cs, Rb, Zr
III	1,1-10,0	Ce, La, Cr, V, Ti, Be, Sn, Cd, Br, Ge
IV	10,1-100,0	Ba, Ag, Ni, Li, Ga, Pb, Sb, Se, Mn
V	100,1-1000,0	Fe, Sr, Cu, Al, Mg, Zn
VI	>1000	F, S

Табела 10.1: Поделба на микроелементите според нивната содржина во површинскиот слој на емајлот на забот

Кристалите на хидроксиапатитот се квантитативно најзастапената компонента во емајлот на забот, но и во останатите цврсти забни ткива, па и во алвеоларната коска. Во емајлот на забот, кристалите на хидроксиапатитот се групирани на специфичен начин и создаваат посебна анатомска формација наречена емајлова призма. Емајловите призми се основните анатомски единици на емајлот на забот и карактеристични се само за ова забно ткиво (ги нема ниту во дентинот, ниту пак во цементот). Димензиите на емајловите призми изнесуваат околу 5  $\mu\text{m}$ . Распоредени се во низи, кои се протегаат од емајлдентинската граница кон површината на емајлот на забот. Во најповршните слоеви на емајлот, како и во пределот на самата емајл-дентинска граница, не се присутни призми. Овие делови од емајлот се наречени апризматични слоеви. Дебелината на апризматичните слоеви изнесува 20-30  $\mu\text{m}$ . Кристалите на хидроксиапатитот во апризматичните слоеви се поставени под прав агол во однос на површината на емајлот. Обликот на емајловите призми наликува на "клучалка" или на "риба". Се разликуваат два анатомски дела на емајловата призма: глава и опашка. Главите на призмите се ориентирани кон мастикаторната (грината) површина на забот, додека пак опашките се свртени кон коренот на забот. Главата на една призма е вглобена со две опашки од две соседни призми и обратно, опашката на една призма се наоѓа помеѓу две глави од други две призми. Иако на опишаниот начин емајловите призми релативно добро се вглобени меѓусебно, сепак, помеѓу нив постојат микропростори кои се нарекуваат интерпризматични простори (слика 10.3).



Слика 10.3: Шематски приказ на призмите на емајлот

Освен неоргански материи, во емајлот на забот се присутни и органски материи. Емајлот на забот е единствено цврсто ткиво во човековиот организам кое во органскиот дел не содржи колаген (за разлика од коските, дентинот и цементот каде што колагенот е доминантна органска материја). Од органските материи на најцврстото забно ткиво докажано е присуството на специфични протеини. Протеините на емајлот на забот се создаваат во текот на амелогенезата од страна на амелобластите. Се работи за хидрофобни протеини (амелогенини) како и "не-амелогенински" протеини (анјонски емајлови протеини-амелобластин или амелин, енамелин и енамелизини). Овие специфични протеини учествуваат во процесот на минерализација на емајлот на забот.

Квантитативно најзастапени протеини на емајлот на забот се *амелогенините*. Нив ги има околу 90% од вкупните протеини на ова забно ткиво. Се вбројуваат во групата на хидрофобни протеини, богати со аминокиселините пролин, глутамин, леуцин и хистидин. *Амелобластинот* или *амелинот* е анјонски протеин богат со пролин, глицин и леуцин. *Енамелинот* е најголем протеин на емајлот на забот со молекулска маса од 32 kDa. Содржи хидрофобни кисели и базни домени во различни делови од неговата молекула.

На самата површина на кристалите на хидроксиапатитот од емајлот на забот е присутен еден слој на врзани јони (анјони и катјони) кои потекнуваат од плунката. Бидејќи површината на кристалите на хидроксиапатитот на емајлот на забот е негативно

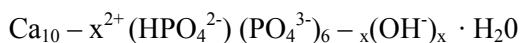
наелектризирана, можно е директно поврзување на катјони од плунката. Преку повеќевалентните катјони (на пример,  $\text{Ca}^{2+}$ ) за површината на емајлот можат да се поврзат и одделни анијони од плунката. Поради тоа што сите овие јони се добро хидратизирани, врзуваат вода, така што на хидроксиапатитот на емајлот над слојот на јоните се наоѓа и слој на вода. За овој слој на вода се смета дека има заштитен ефект за емајлот на забот.

Количникот на Ca/P во цврстите забни ткива е 2,0. Во оваа вредност е пресметан и калциумот во состав на хидроксиапатитот, но и калциумот кој се наоѓа во интерпризматичните простори и не е во форма на кристали. Намалувањето на споменатиот количник, укажува на т.н. калциум дефицитарен апатит. Тој може да настане поради:

1. адсорпција на вишокот на фосфати во облик на  $\text{HPO}_4^{2-}$  на површината на кристалите,
2. супституција на  $\text{Ca}^{2+}$  со  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  или со јони на хидрониум ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ),
3. отсуство на некои јони на  $\text{Ca}^{2+}$  во кристалната решетка.

Во сите наведени случаи се пореметува рамнотежата помеѓу позитивните и негативните полнежи. За да се израмнат позитивно и негативно наелектризираните јони од непосредната околина се воведуваат водородни јони во фосфатната  $\text{PO}_4^{3-}$  група. Со создавањето на  $\text{HPO}_4^{2-}$  група се намалува вкупниот негативен полнеж и се воспоставува рамнотежа.

Поголема можност за супституција постои на површината на кристалите на емајлот на забот, отколку во внатрешноста на кристалите на хидроксиапатитот. Во сите наведени случаи на настанување на калциум дефицитарен апатит, формулата на кристалите на апатитот може да варира според следнава формула:



каде што  $x$  може да варира од 0 до 2. Ако  $x=1$ , тогаш формулата на апатитот ќе гласи:



### Промени во составот на хидроксиапатитот

Промените во составот на хидроксиапатитот настануваат од две причини: заради адсорпција или заради јонска промена.

Адсорпцијата е карактеристична за најповршните слоеви на емајлот. Тие слоеви се најподложни на ваков тип на промени поради непосредниот контакт со составните делови на плунката. Од друга страна, пак, реализацијата на адсорпцијата е овозможена заради негативната наелектризираност на кристалите на хидроксиапатитот.

Јасно произлегува дека до адсорпција на позитивно наелектризираните јони (катјони) лесно доаѓа бидејќи тие се врзуваат за преостанатата негативна валенција на фосфатната група која влегува во состав на хидроксиапатитот. Меѓутоа, со посредство на адсорбираните катјони (дво- и тро-валентни) можат да се врзат и анијони. Токму поради тоа, на кристалната структура на хидроксиапатитот може да се докаже и присуство на адсорбиран јонски слој којшто при промена на локалната рН може да биде отстранет. Тогаш настанува деадсорпција на сите наелектризираните честички.

Меѓутоа, кога е присутен адсорбиран јонски слој на површината на кристалната структура на хидроксиапатитот, тој овозможува и врзување на извесно количество вода. Поради тоа настанува хидратационен слој, а сето тоа пак, овозможува промени во вкупниот состав на хидроксиапатитот.

Јонската промена претставува друг вид на промена во составот на хидроксиапатитот. Ваквата промена настанува заради размена на јони помеѓу хидроксиапатитот и неговата околина. Се смета дека под одредени услови можат да бидат заменети дури до една третина од јоните на кристалната решетка на хидроксиапатитот. Се разликуваат два вида на јонска промена: изојонска и хетеројонска.

Изојонската промена не влијае на менувањето на природните карактеристики на кристалот на хидроксиапатитот бидејќи во текот на оваа промена калциумот од кристалната решетка на хидроксиапатитот се заменува со калциумот од непосредната околина (плунка). Се претпоставува дека овој тип на промена иако е доста бавен процес, сепак непрекинато се одвива во оралната средина, а докажан е со посредство на маркирани калциумови јони.

Хетеројонската промена настанува кога калциумот од кристалната решетка на хидроксиапатитот се заменува со двовалентни катјони од типот на манган, магнезиум, а во некои случаи и со натриум или јон на хидрониум ( $H_3O$ ). На тој начин се менува вкупниот состав на кристалот, поради што се губат неговите природни карактеристики, а особено неговата растворливост која станува поголема. Во текот на хетеројонската промена може да се зголеми вкупниот процент на вода во емајлот. Тоа настанува бидејќи еден калциумов јон се заменува со два јони на хидрониум. Опишаните промени настануваат кога ќе дојде до пореметување на процесот на минерализација на емајлот и на останатите цврсти забни ткива, причинети заради витамински дефицит или хормонски пореметувања.

Како и да е, хетеројонската промена во составот на хидроксиапатитот е штетна и непосакувана, освен кога се работи за хетеројонска промена при која хидроксилната група се заменува со флуор. Тогаш настанува флуорапатит кој значително ја стабилизира структурата на кристалот, бидејќи флуорот ја истиснува хидроксилната група која по својата природа е диполен јон и заради тоа со различна сила ги врзува окружувачките јони на калциум. Тоа е причината поради која хидроксилната група придонесува за нестабилноста на кристалот на хидроксиапатитот, во којшто се можни различни хетеројонски или изојонски промени. За разлика од хидроксилната група, флуорот е многу покомпактен ајон, а тоа значи дека со иста сила ги врзува окружувачките калциумови јони и поради тоа ја оневозможува нивната замена во структурата на хидроксиапатитот.

### **Улога на саливарните електролитите во зачувувањето на емајлот на забот**

Во плунката се присутни бројни електролити: бикарбонати, калциум, хлориди, флуориди, јодиди, магнезиум, фосфати, натриум, калиум, сулфати и тиоцијанати. Во саливарниот секрет пристигнуваат со помош на ултрафилтрација од крвната плазма. Се забележува значителна разлика помеѓу концентрацијата на електролитите во крвната плазма и во плунката. Исто така, се забележува разлика и помеѓу концентрацијата на електролитите во нестимулираната плунка и концентрацијата на истите во стимулираната плунка (табела 10.2).

Електролити	Нестимулирана плунка mmol/L	Стимулирана плунка mmol/L	Крвна плазма mmol/L
Na <sup>+</sup>	15	30	140
Cl <sup>-</sup>	23	40	105
Ca <sup>2+</sup>	2	4	2,5
K <sup>+</sup>	25	4,5	4,5
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1	60	27
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	7-8	2-3	4

Табела 10.2: Концентрација на одделни електролити во стимулирана и нестимулирана плунка и во крвната плазма.

Саливарните електролити претставуваат единствен и незаменлив фактор во сложениот механизам на зачувувањето на емајлот. Без нивно присуство, со одреден состав и сооднос, не би било можно да се заштитат цврстите забни ткива, особено емајлот на забот од растворање и деминерализација.

Водата е основен составен дел на секоја телесна течност. Како таква влегува и во состав на плунката овозможувајќи ги нејзините многубројни функции во оралната празнина. Благодарение на фактот дека водата е основен и универзален растворувач, таа делува растворувачки и на цврстите забни ткива, особено емајлот на забот, којшто со целата своја површина е изложен на наводенување и растворање од страна на водата од саливарниот секрет. За да се отстранат несаканите и штетните ефекти на растворање во плунката се излучуваат електролити кои со своето присуство, во одредена концентрација и во одреден сооднос, обезбедуваат воспоставување рамнотежа со електролитите депонирани во емајлот на забот.

Најновите испитувања од оваа област укажуваат дека плунката е презаситена со одредени јони, а особено со јони на калциум, фосфати и хидроксилни јони. Наведените јони се основни составни делови и на кристалната решетки на хидроксиапатитот. Произлегува дека помеѓу електролитната содржина на сол-фазата и електролитната содржина депонирана во емајлот на забот е присутна одредена и контролирана рамнотежа. Во зависност од рН вредноста на плунката рамнотежата на електролитите може да биде поместена на страна на растворање и деминерализација или пак, на страна на депонирање и реминерализација на емајлот на забот.

Во услови на зголемена саливација настанува повеќекратно зголемување на вкупно излачената плунка, зголемување на вкупната содржина на саливарните електролити (калциум, фосфати и хидроксилни јони), значајно зголемување на вредноста на бикарбонатите и неминовно зголемување на вредноста на рН. Во такви услови, рамнотежниот сооднос на електролитите се поместува во правец на депонирање, т.е. реминерализација.

Од друга страна, пак, по престанување на функцијата на мастикацијата, се намалува обемот на саливацијата. Тогаш е намалено и вкупното количество на плунка, се намалува и содржината на излачените електролити, концентрацијата на бикарбонатите опаѓа на минимални вредности, додека пак, концентрацијата на фосфатите значително расте. Вредностите на рН на плунката се намалуваат, расте киселоста и се создаваат глобални услови за поместување на рамнотежата на електролитите на страната на растворање, т.е. деминерализација. До наведениот процес сепак не доаѓа во глобална смисла, туку единствено во одредени микрорегии, каде што се создадени бактериски колонии (дентален плак). Во овие микрорегии заради лоша хигиена и



прекумерно конзумирање на шеќери се зголемува концентрацијата на кисели метаболити, особено лактат, и се намалува локалната рН вредност под 5,5. Тоа придонесува да се помести рамнотежата на електролитите во неповолна и несакана насока, односно во насока на растворање и деминерализација на емајлот на забот.

Спроведени се бројни испитувања за влијанието на гумите за цваќање врз состојбата на електролитите во емајлот и во плунката. Заклучокот од овие испитувања е дека гумите за цваќање со или без шеќер, делуваат поволно врз рамнотежата на електролитите, односно врз здравјето на забите. Со цваќањето се поттикнува рефлексот на саливација, а со тоа повеќекратно се зголемува количеството на излучена плунка. Во такви услови се зголемува концентрацијата на електролитите и нивната вкупна количина, се зголемува концентрацијата на бикарбонатите, а се зголемува и вредноста на рН. Сето тоа има поволни ефекти врз состојбата на минералите во емајлот на забот. Освен тоа, се поништуваат и несаканите ефекти на конзумирањето шеќери и нивниот катаболизам до лактат, бидејќи лактатот се неутрализира со помош на излучените бикарбонати. Рамнотежниот сооднос на саливарните електролити / емајл на заб, се поместува во поволна насока, односно во насока на реминерализација.

Познато е дека саливарниот секрет содржи повеќе протеински фракции коишто покажуваат афинитет кон калциумот. Такви протеини се: статерин, различни фосфопротеини и протеини богати со пролин. Под претпоставка дека со помош на споменатите протеински носачи во пределот на настаната лезија на емајлот која треба да се реминерализира и рекристализира, се обезбедува критичната концентрација на калциум и фосфати. Калциумот и фосфатите, при одредена рН вредност на локалната средина (базна), се ослободуваат и меѓусебно реагираат создавајќи соодветни соединенија.

Потребата од реминерализација е присутна во оние микрорегии на емајлот на забот каде што тој е оштетен, односно, каде што еден дел од минералната содржина е отстранет. Емајлот на тие места е ”оголен“. Бидејќи неговите кристали на хидроксиапатит се негативно наелектризирани, тие се препокриваат со дентална пеликула, особено во текот на актот на мастикација. Денталната пеликула воглавно е изградена од саливарни гликопротеини. Во самата дентална пеликула се вградени бројни калциумови јони. Освен тоа, во микропросторите помеѓу адсорбираните саливарни гликопротеини е присутен и саливарен секрет кој располага со јонски состав, карактеристичен за плунката во оралната празнина.

Во оралната средина се присутни бројни и разновидни механизми коишто рефлексно се поттикнуваат или се запираат со цел да се зачува како здравјето на забите така и севкупното орално здравје.

## ДЕНТИН

Дентинит е второто цврсто забно ткиво и е најзастапено ткиво од сите цврсти забни ткива. Клетките кои го создаваат дентинот, потекнуваат од пулпата на забот а се нарекуваат одонтобласти. Процесот на дентиногенеза, создавање на дентин, се одвива во текот на целиот живот на една индивидуа, се додека забот е витален.

Според биохемиските карактеристики, дентинот значително се разликува од емајлот на забот. Ова забно ткиво содржи значително поголем процент на вода (10%), а исто така содржи и поголем процент на органски материи (20%). Останатиот дел (70%) на ова ткиво се неоргански материи, првенствено  $\text{Ca}^{2+}$  и фосфати кои се наоѓаат во облик на кристали на хидроксиапатит. Во органските материи на дентинот најзастапен е структурниот протеин,

колаген (18%). Освен во дентинот, колагенот е застапен и во третото цврсто забно ткиво-цементот. И во ова ткиво колагенот претставува главна органска материја.

Во органскиот дел на дентинот, освен колаген, присутни се т.н. "неколагени протеини". Тие протеини се: дентински фосфопротеин, дентински сијалопротеин и дентински матриксен протеин. Се работи за фосфорилирани протеини кои имаат значајна улога во минерализацијата на дентинот во текот на дентиногенезата. Овие протеини, како и колагенот, се синтетизираат од страна на пулпините клетки-одонтобласти.

Освен според биохемиските карактеристики, дентинот на забот се разликува од емајлот и според хистолошката градба. На хистолошки препарат од дентин се забележуваат дентински каналчиња (тубули). Овие каналчиња се протегаат напречно долж целата дебелина на дентинот, тргнувајќи од емајл-дентинската граница па се до забната пулпа. Дентинските каналчиња имаат конусен изглед, најтесни се во предел на емајл-дентинската граница, а најшироки се во предел на забната пулпа. Помеѓу овие каналчиња се наоѓа т.н. интертубуларен дентин. Овој вид на дентин е најзастапен во забните ткива. Во внатрешноста на дентински каналчиња е присутен интратубуларен дентин. Овој вид на дентин е подобро минерализиран во споредба со дентинот кој се наоѓа помеѓу дентинските каналчиња. Заради специфичната тубуларна градба, дентинот има послаби бариерни својства во споредба со емајлот на забот, кој е непропустлив и претставува одлична бариера. Бариерните својства се однесуваат на продорот на антигени од надворешната средина во внатрешноста на забните ткива. За одлични бариерни својства на емајлот станува збор само кога тој е здрав и неоштетен. Кога емајлот поради некоја причина (најчесто заради кариес на забот) ќе се оштети, дентинот се изложува на влијанието на надворешната средина. При тоа преку дентинските каналчиња се овозможува релативно лесно поминување на антигените до виталното забно ткиво-забната пулпа.

Постои уште една значителна разлика помеѓу емајлот на забот и дентинот. Имено, емајлот на забот се создава само еднаш во животот, во текот на процесот на развојот на забот во алвеоларната коска, а овој процес е наречен амелогенеза. Кога забот ќе изникне емајлот на забот повеќе не се создава. Дентинот како и емајлот се синтетизира во текот на развојот на забот (дентиногенеза), но можна е негова синтеза и подоцна во текот на животот. Дентинот кој се создава во текот на дентиногенезата е наречен примарен дентин. Овој вид на дентин хистолошки се карактеризира со назначена тубуларна градба бидејќи поседува бројни дентински каналчиња. Во текот на животот се синтетизираат два вида на дентин: секундарен и терцијален. Двата вида на дентин се синтетизираат од страна на специјализираните клетки на забната пулпа (одонтобласти), како резултат на одредени физиолошки или нефизиолошки дразби на пулпиното ткиво. Секундарниот дентин се создава од одонтобластите на забната пулпа како одговор на пулпата на нормални физиолошки дразби. Овие физиолошки дразби можат да бидат механички (притисок на гризната површина при цвакање на храна) и термички (конзумирање на топла и ладна храна). Поради тоа, дентинот кој што се создава како резултат на овие дразби, се нарекува физиолошки или секундарен дентин. Според хистолошките карактеристики, овој вид на дентин се разликува од примарниот бидејќи содржи значително помал број на дентински каналчиња. Освен тоа каналчињата се со помал пречник и повеќе се извиени. Поради тоа, кај секундарниот дентин, значително се намалува можноста од евентуален продор од антигени од надворешната средина во пулпата. Терцијалниот дентин се создава од одонтобластите на пулпата, како одговор на нефизиолошки дразби при што доаѓа до губење на емајлот на забот. Тоа најчесто се случува при кариозен процес на забот при што дентинските каналчиња се изложени на влијанија од надворешната средина. Тогаш кон пулпата преку отворените дентински каналчиња се спроведуваат различни дразби со поголем интензитет. Поради тоа, пулпата "се брани" со синтеза на нови слоеви на терцијален дентин. Терцијалниот дентин се карактеризира со најмала тубуларност. Бројот на дентинските каналчиња кај овој вид

на дентин е значително помал, а присутни се и зони каде каначињата воопшто не се присутни. Порати тоа, терцијалниот дентин покажува добри бариерни карактеристики во смисол на спречување на продор на антигени. Меѓутоа, ваквите одбранбени можности на пулпата не се неограничени. Често настанува продор на антигените (првенствено на микроорганизмите) во забната пулпа при што настанува нејзин воспалителен процес (пулпитис).

## ЦЕМЕНТ НА КОРЕНОТ НА ЗАБОТ

Цеменот е третото цврсто забно ткиво кое го покрива дентинот во коренскиот дел на забот. Содржи 12% вода, 23% органски материи и 65% неоргански материи. Неорганската компонента на цементот е претставена со кристалите на хидроксиапатитот. Во органскиот дел доминантна материја е колагенот.

Се разликуваат два вида на цемент: ацелуларен (примарен) и целуларен (секундарен). Ацелуларниот цемент не содржи клетки, цементобласти и е присутен долж целиот корен на забот. Се создава во текот на процесот на цементогенезата. Целуларниот цемент содржи клетки, кои што учествувале во неговото создавање (цементобласти) и е присутен во предел на врвот на коренот на забот, а го покрива ацелуларниот цемент. Улогата на цементобластите е да синтетизираат секундарен цемент. Овој вид на цемент се создава непрекинато во текот на целиот живот, независно од тоа дали забот е витален (зачувана е пулпата) или не е витален (пулпата е отстранета заради воспалителен процес). Независноста на цементот од забната пулпа е условена од фактот дека цементобластите добиваат нутритивни материи од периодонталната течност. Оваа течност се наоѓа помеѓу коренот на забот и алвеоларната коска (периодонтален простор, *spatium periodontale*).

Внатрешната површина на цементот цврсто е припоена за дентинот. Неговата надворешна површина е место каде се припојуваат периодонталните влакна и на тој начин го прицврстуваат забот во вилицата. Со другиот крај периодонталните влакна се поврзуваат за алвеоларната коска.

Според биохемиските карактеристики цементот е сличен со коскениот ткиво. Сепак постои значајна разлика помеѓу овие две ткива. Разликата се состои во тоа што коските се васкуларизирани (содржат крвни садови) и инервирани (содржат нервни влакна), додека пак цементот е аваскуларно ткиво и не е инервиран. Поради тоа цементот се разликува од коската по тоа што е отпорен на притисок, односно, на делување на механички сили. Кога на коската делува механичка сила таа подлегува на процеси на ресорпција (губиток) во насока на делување на силата. На спротивната страна на делувањето на силата, алвеоларната коска се обновува (апозиција на коска). Ваквите процеси не се карактеристични за цементот. На оваа особина на цементот е заснована ортодонтската терапија за исправување на неправилно поставените заби во вилицата. Имено, со примена на соодветни ортодонтски апарати кои овозможуваат делување на механички сили се поттикнува ресорпцијата на алвеоларната коска. Цементот, при тоа, не трпи никакви промени поради што забите се поместуваат и се доведуваат во соодветна положба.

Како што веќе беше нагласено, секундарниот цемент се синтетизира во текот на целиот живот а тоа се случува на самиот врв на коренот на забот. Со создавање на нови слоеви на секундарен цемент на врвот на коренот на забот, забот се поместува кон оралната празнина (горните заби се поместуваат кон доле, а долните кон горе). На овој начин се

компензира загубата на емајлот на забот настаната заради атриција. Иако емајлот на забот е заштитен од прекумерно трошење во текот на мастикацијата со помош на денталната пеликула, сепак, во извесна мерка настанува оваа штетна појава. Така, со текот на стареењето површните слоеви на емајлот на забот како резултат на присутната атриција "се трошат". Доколку не би се одвивала синтезата на секундарниот цемент би се изгубил контактот помеѓу забите од горната и долната вилица со што би се пореметила функцијата на цвакалниот апарат. Но, тоа не се случува бидејќи се синтетизира секундарен цемент во таа мерка колку што се троши емајлот на забот како резултат на атрицијата. Оваа појава е позната уште и како "постојано никнување на забот". Оттука произлегува и придонесот на цементот во одржувањето на оралната хомеостаза, овозможувајќи го одржувањето на контактот на забите антагонисти (забите од горната и соодветните заби од долната вилица).

## ЗАБНА ПУЛПА

Забната пулпа е меко и витално ткиво на забот. Се наоѓа во централно поставената празнина на забот, која се нарекува *savum pulpaе*. Изградена е од растресито сврзно ткиво во кое се присутни: основна супстанца на пулпата, различни видови на клетки, крвни садови, нервни влакна и колагени влакна. Пулпата има три основни улоги: нутритивна (заради присуството на крвните садови ги исхранува забните ткива), сензитивна (заради присуството на нервните влакна, забот е чувствителен) и одбранбена (заради присуство на специјализирани одбранбени клетки).

Биохемиските карактеристики на пулпата покажуваат дека таа е изградена од 75% вода и 25% органски материи.

Основната супстанца на пулпата има желатинозен изглед и големи дифузиони способности. Заради големите дифузиони способности низ пулпата се одвива брза размена на метаболити и на нутритивни материи. Основната супстанца на пулпата е изградена од различни протеини, гликопротеини, особено глюкозаминогликани од типот на хијалуронска киселина и хондроитин сулфат во протеогликанска комбинација.

Протеини кои што се застапени во пулпата се: колаген, фибронектин, хондроитин-сулфат, дерматин-сулфат, кератин-сулфат.

Одонтобластите, фибробластите и одбранбените клетки се клетки кои се присутни во забната пулпа. Одонтобластите се специјализирани клетки на пулпата кои се наоѓаат до самиот дентински ѕид на *savum pulpaе*. Овие клетки учествуваат во создавање на секундарниот и терцијалниот дентин во текот на целиот живот како одговор на пулпата на различни физиолошки и нефизиолошки дразби. На овој начин пулпата "се брани" од продорот на антигени и можното воспаление. Поради синтезата на нови слоеви на секундарен и терцијален дентин волуменот на пулпата со стареење се повеќе се намалува, поради тоа, пулпата кај децата и младинците е голема и волуминозна, додека пак кај повозрасните индивидуи таа е мала, па дури може и да се сведе на една тесна пукнатина. Под слојот на одонтобластите на пулпата се наоѓа една безклеточна зона наречена Weil-ова зона. Под оваа зона пак се наоѓаат фибробласти. Тие се најбројните клетки во пулпата кои синтетизираат колагени влакна. Во оваа зона се присутни и одбранбени клетки, крвни садови и нервни влакна. Одбранбените клетки ја штитат пулпата од антигени. Претставници на одбранбените клетки во пулпата се: леукоцити, мастоцити, хистиоцити и други.



## СТРУКТУРА И ФУНКЦИЈА НА СТЕКНАТАТА ДЕНТАЛНА ПЕЛИКУЛА

### СОСТАВ НА ДЕНТАЛНАТА ПЕЛИКУЛА

**Протеини**

**Јаглехидрати**

**Липиди**

**Функции на денталната пеликула**

*Лубрикација на површината на забот*

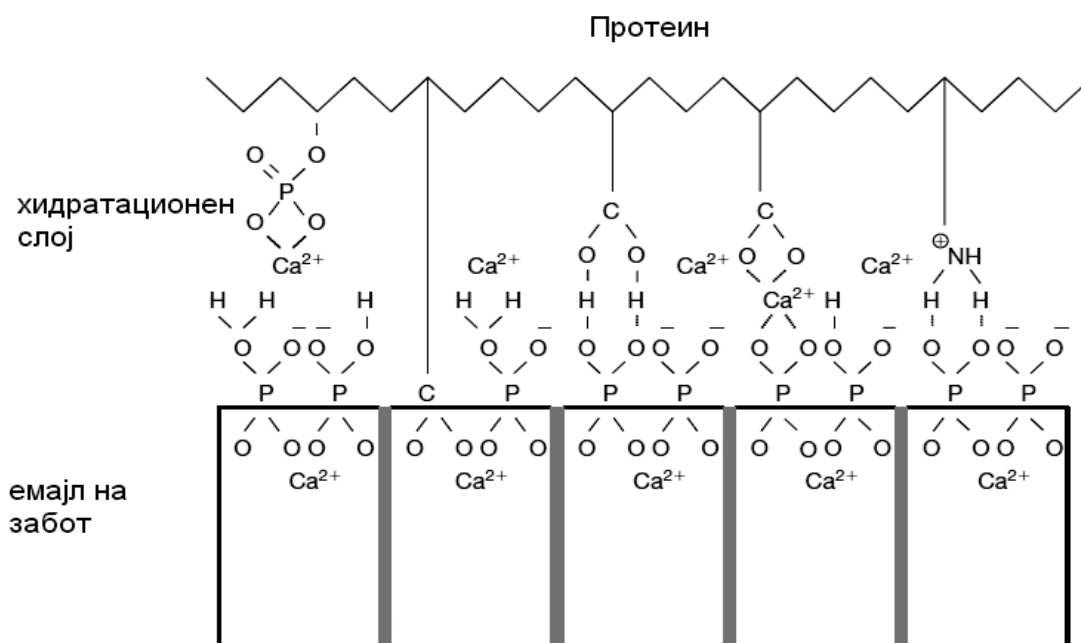
*Денталната пеликула како семипермеабилна мембрана*

*Хомеостаза на минерали*

Создавањето на стекнатата дентална (саливарна пеликула) е резултат на адсорпција на саливарните биополимери на површината на забот. Пеликулата се состои од адсорбирани протеини и останати макромолекули кои потекнуваат од локалната, оралната средина (пљунка, гингивален флуид) и се разликува од бактерискиот биофилм (плак). Процесот на создавање на денталната пеликула е високо селективен. Имено, само одредени фракции на протеините присутни во пљунката се застапени и во денталната пеликула.

**Првата фаза (Иницијална фаза)** од создавањето на пеликулата се карактеризира со забрзана адсорпција на саливарни протеини на површината од емајлот на забот. Процесот на иницијална адсорпција трае неколку минути, а дебелината на иницијалниот протеински слој изнесува од 10-20nm.

Првото ниво од формирањето на денталната пеликула подразбира дискретно адсорбирање на саливарни протеини врз површината на емајлот на забот. Кога саливарните електролити ќе дојдат во контакт со емајлот на забот, калциумовите јони од кристалната решетка на емајлот покажуваат посилна можност за растворање во споредба со фосфатните јони. Како резултат на тоа, фосфатните јони на површината на емајлот ќе го дадат севкупниот негативен полнеж. Оваа негативно наелектризирана површина ќе биде прекриена со позитивно наелектризирани јони на калциум по потекло од саливата. Примарната адсорпција на саливарните протеини настанува како резултат на електростатски (јонски) интеракции помеѓу јонскиот двослој (калциум и фосфатни јони) од една страна и спротивно наелектризираните групи на саливарните протеини, од друга страна (11.1).



Слика 11.1: Шематски приказ на создавање на пеликулата со адсорпција на саливарни протеини на површината на емајлот на забот преку различни електростатски интеракции

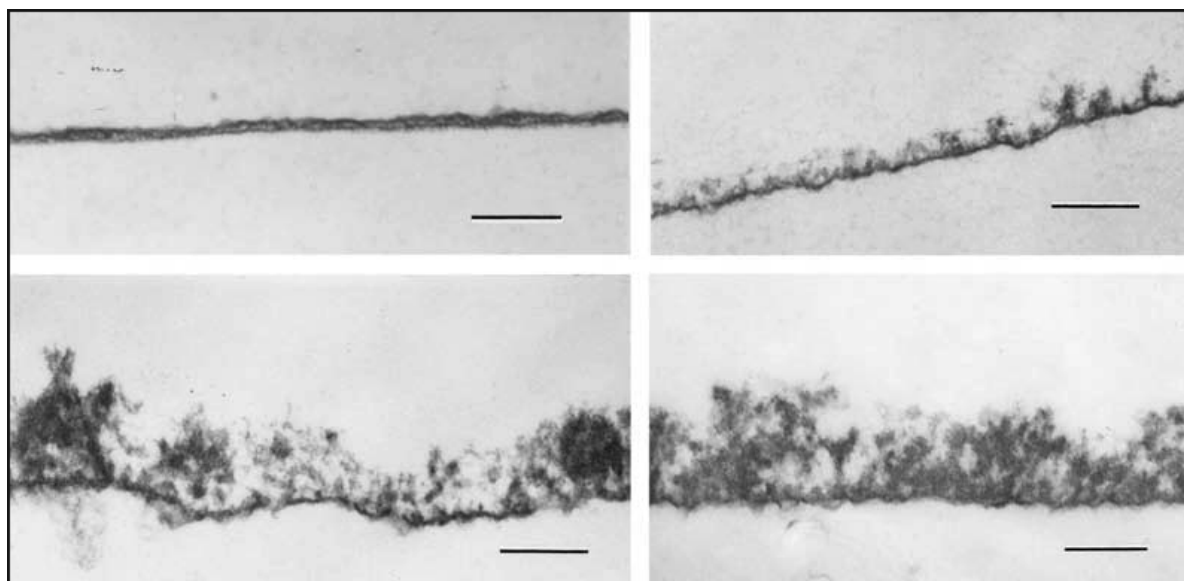
Саливарните протеини кои покажуваат висок афинитет кон хидроксиапатитот од емајлот на забот, се наречени “протеини-пеликуларни прекурзори”. Фосфопротеините какви што се статерините, хистатините и со пролин богатите протеини имаат висок афинитет за поврзување со хидроксиапатитот на емајлот на забот. Тие се првите саливарни протеини кои се адсорбираат на површината на хидроксиапатитот. Иницијалниот слој на денталната пеликула, создаден во временски интервал од 30 секунди до 3 минути, се состои од поразновидни и похетерогени биомолекули отколку што се сметаше порано. Со методата на електрофореза откриени се повеќе од 10 различни протеини присутни во иницијалната дентална пеликула, какви шо се: муцин тип 1 и тип 2, амилаза, статерин, хистатин, повеќе форми на цистатин, лизозим, лактоферин, карбо-анхидраза 1 и карбо-анхидраза 2, како и глукозил трансфераза.

Со оглед на тоа што голем број на различни саливарни протеини учествуваат во иницијалното пеликуларно создавање, разбирливо е дека нивното поврзување за површината на емајлот на забот не настанува исклучиво со јонски интеракции. Другите начини на поврзување на саливарните протеини за површината на емајлот на забот се: Van der Waals-ови интеракции и хидрофобни интеракции. Овие подоцнежни интеракции се термодинамски водени, како резултат на добиената енергија при адсорпцијата на “протеини-пеликуларни прекурзори”. Рапидната иницијална фаза на саливарна, протеинска адсорпција е следена со секундарна фаза од создавањето на денталната пеликула.

**Секундарната фаза** од создавањето на денталната пеликула се карактеризира со побавна адсорпција на саливарни протеини за веќе создадениот, иницијален протеински слој на површината на емајлот на забот. Оваа фаза од создавањето на денталната пеликула се карактеризира со континуиран процес на адсорпција на биополимери од плунката. Овој процес се карактеризира со интеракции протеин-протеин помеѓу веќе адсорбираните протеини во иницијалниот слој од пеликулата и протеински агрегати од плунката. Со анализа на аминокиселинскиот состав на денталната пеликула е потврдено дека дебелината на пеликулата која се постигнува на самиот почеток (за 2-3 минути), останува на тоа ниво и во следните триесетина минути. Дебелината на пеликулата потоа се зголемува за околу три пати, а максималната дебелина ја постигнува околу 90-та минута од почетокот на создавање. Во рок од 60 минути дебелината на пеликулата ќе се зголеми од 100-1000nm, во зависност од присуството на биополимери во плунката, како и од условите во оралната празнина.

Зголемувањето на дебелината на пеликулата во периодот од 30-та до 90-та минута, се должи на адсорпција на протеински агрегати од плунката, а не на адсорпција на одделни саливарни протеини. Докажано е дека најголемиот дел од протеините во паротидната плунка се агрегати со глобуларна структура, со дијаметар од 100-200 nm. Овие глобули имаат хидрофобна внатрешност, негативно наелектризирана површина, наликуваат на мицелите на млекото и наречени се структури слични на мицели. Исто така, докажано е присуство во пеликулата на различни комплекси на саливарни муцини и други саливарни протеини. Некои од овие комплекси се создаваат пред, а некои после нивната адсорпција за хидроксиапатитот на емајлот на забот. Овие комплекси (агрегати) на саливарни протеини се состојат од нековалентно поврзани амилаза, PRP, хистатини, статерин, цистатини и лизозим

од една страна и МГ1 (муцин тип 1) од друга страна. Овој податок покажува дека создавањето на денталната пеликула пред сè, се должи на адсорпција на агрегати на протеини, а не на одделни саливарни протеини. Ензимот трансглутаминаза, кој се создава од букалните епителни клетки, има значајна улога во создавањето и поврзувањето на агрегатите на саливарните протеини. На овој начин создадените агрегати претставуваат резервоар на протеински прекурсори за денталната пеликула, а воедно претставуваат заштита од протеолитичка деградација (слика 11.2).



Слика 11.2: Микрофотографија на слоевите на пеликулата 1 минута (горе лево), 10 минути (горе десно), 60 минути (доле лево) 120 минути (доле десно) создадени на емајлот на забот на букалната површина од горниот прв молар.

Создавањето на пеликулата, претставува динамички процес, при што се одвиваат и процеси на адсорпција и процеси на десорпција, под влијание на бактериски ензими или ензими на домаќинот. Не постои објаснување за ограничувачките фактори и за параметрите кои ја определуваат рамнотежата помеѓу процесите на адсорпција и десорпција.

### **СОСТАВ НА ДЕНТАЛНАТА ПЕЛИКУЛА**

Резултатите од истражувањата на составот на денталната пеликула се контрадикторни. Се претпоставува дека во слојот на пеликулата која се формира на лабијалната површина на забите за време од 2 часа се содржани околу 1ng на протеини.



Во седумдесетите години од минатиот век било укажувано дека не постојат разлики во составот на денталната пеликула, независно на кои од површините на забите или во кои регии од устата се создава истата. Аминокиселинскиот состав на пеликулата, испитувана од букалните површини на горниот молар и горниот инцизив и на долните предни заби, бил идентичен. Истражувањата спроведени во овој период, исто така укажуваат, дека аминокиселинскиот состав на пеликулата не се разликува и помеѓу различни индивидуи.

Во подоцнежните испитувања на составот на пеликулата, со користење на методата на електрофореза на протеини, е потврдено дека составот на пеликулата е условен од карактеристиките на плунката со која забот доаѓа во контакт. Овие наоди укажуваат дека локалната достапност на одредени саливарни биополимери значително влијае врз составот на денталната пеликула.

Во последниве години се усовршени методите за колекционирање на пеликулата со комбинирање на механичкото и хемиското отстранување на истата. Пеликулата се колекционира од површината на забите со користење на филтер мембрана (polyvinylidene fluoride) потопена во 0,5 моларен раствор на натриум бикарбонат.

## Протеини

Протеинскиот состав на денталната пеликула се испитува со анализа на аминокиселинскиот состав користејќи имунолошки, хистохемиски, хроматографски и електрофоретски методи. Потврдено е дека протеините кои влегуваат состав на денталната пеликула се всушност протеини и гликопротеини присутни во плунковниот секрет. Истите се дадени во табелата која што следи (табела 11.1).

Биополимери	Физиолошка улога	Молекулска маса (kDa)
PRP (пролин богати протеини)	Прекурсори на пеликулата	5-30
Статерин	Инхибиција на перципитација на калциум	8
Хистатин	Антимикробни ефекти наспроти <i>Candida albicans</i>	3-5
$\alpha$ -амилаза	Разградба на скроб	54-57
Грикозилтрансферази	Бактериски ензими (синтетизираат гликани)	140
Карбоанхидраза VI	Неутрализира киселини	42
Лизозим	Антибактериски ефект (лиза на бактерискиот сид)	14
Лактоферин	Железо-врзувачки гликопротеин, антибактериски својства	80
Муцин MG1	Лубрикантно дејство	>1000

Муцин MG2	Лубрикантно дејство	200-250
Цистатин SA, SN	Антибактериски и антивирусни својства	9
Албумин	Регулација на колоидо- осмотскиот притисок	69
sIgA, IgM, IgG	Имунолошки одговор, инхибиција на бактериски припој	60/90
Комплемент 3/3c	Активација на системот на комплементот	210 (80 и 130)
Фибриноген	Фактор I на коагулацијата на крвта	340
Фибронектин	Структурен протеин	2225
Калгранулин B	Врзувач на калциумот	13
Цитокератин 13, 15	Клеточен протеин	40-67
Саливарен аглутинин	Аглутинација на оралните бактерии	300-400
Саливарната амилаза е откриена во пеликулата во две изоформи: гликолизирана изоформа која што е позастапена во пеликулата отколку негликолизираната форма		

Табела 11.1: Протеини и други биополимери присутни во денталната пеликула, создадена во *in vivo* услови на површината на емајлот на забот

Ензимите од типот на саливарната амилаза, лизозимот како и бактериската глукозилтрансфераза, кои се “заробени” во слоевите на пеликулата, ги задржуваат нивните ензимски активности.

Серумските компоненти, фибриногенот, фибронектинот, албуминот и IgG, исто така се регистрираат во денталната пеликула. Овие протеини се поприсутни во пеликулата која се создава на гингивалната третина од забот, отколку во пеликулата која се создава на инцизалната третина од забот. Кај индивидуи со здрава гингива, значително повеќе серумски протеини (албумин, фибриноген, фибронектин) се присутни во слоевите на денталната пеликула локализирани гингивално, во споредба со слоевите на денталната пеликула локализирани инцизално. Зголеменото количество на гингивалниот флуид, при воспалителни промени на гингивата, предизвикува одредени промени во протеинскиот состав на денталната пеликула. Имено количеството на серумски протеини, во пеликулата на инцизалната третина од забот, се зголемува. Овој податок уште еднаш го потврдува ставот дека достапноста на локалните саливарни биополимери влијае врз создавањето на денталната пеликула и врз нејзиниот состав.

Анализите на пеликулата создадена во “*in vitro*” и во “*in vivo*” услови, покажаа одредени разлики. Кај пеликулата која е создадена во “*in vitro*” услови, се регистрираат повеќе интактни саливарни протеини во споредба со пеликулата која е создадена во “*in vivo*” услови. Тоа укажува дека саливарните протеини кои што влегуваат во состав на денталната пеликула се изложени на дејство на голем број на протеолитички процеси во оралната празнина.

Интактни протеини присутни во денталната пеликула создадена во “in vivo” услови се: хистатин1, цистатин SN, статерин, лизозим, албумин, амилаза, цитокератини 13 и 15 и калгранулин В. Присуството на калгранулин В е докажано и во плунката и во гингивалниот флуид. Присуството на цитокератините во денталната пеликула укажува дека оралниот епител е еден од изворите на саливарните протеини кои учествуваат во создавањето на денталната пеликула.

Со современите имунолошки испитувања е потврдено дека биомолекули кои се интегрален дел од денталната пеликула се: муциноот тип 1(MG1), PRP, статерин, хистатин1, албумин, амилаза, секреторен IgA, IgG, IgM, лактоферин, лизозим и саливарна карбоанхидраза II.

### Јаглехидрати

Во денталната пеликула се содржани повеќе различни шеќери, меѓу кои глюкозата е најзастапена. Околу половина, од вкупното количество на шеќери присутни во пеликулата, отпаѓа на глюкозата. Други шеќери присутни во пеликулата се: галактоза, маноза, фукоза, глюкозамини и галактозамни. Не е јасно потеклото на глюкозата во денталната пеликула. Најверојатно доаѓа до директна адсорпција на полимери на глюкоза ( декстран, односно гликан) кои потекнуваат од бактериите. Ензимите глюкозилтрансферази, адсорбирани во пеликулата учествуваат во синтезата на гликаните кои пак, служат како извор на глюкоза за денталната пеликула. Исто така гликолипидите, кои се главните претставници на липидите во пеликулата, се можен извор на глюкоза, бидејќи гликопротеините кои влегуваат во состав на гликолипидите содржат само глюкоза.

### Липиди

Липидите претставуваат значајна составна компонента на денталната пеликула. Тие се застапени со 22-23% од вкупната сува маса на пеликулата. Од липидите кои се најмногу застапени во денталната пеликула се издвојуваат следниве:

1. неутрални липиди, кои се богати со слободни масни киселини, триглицериди, холестерол и естри на холестеролот;
2. фосфолипиди, кои се карактеризираат со висока содржина на фосфатидилетанол-амин, сфингомиелин и фосфатидилхолин;
3. гликолипиди, кои содржат неутрални и сулфатирани глицерогликолипиди.

Утврдено е дека кај различни индивидуи се забележува различен состав на липидите во пеликулата, а тоа пак од своја страна укажува на различна кариес активност кај индивидуите. Тоа се објаснува со својството на некои од класите на липидите да ја попречуваат дифузијата на млечната киселина низ слоевите на пеликулата, на тој начин штитејќи го емајлот на забот. Можноста на фосфолипидите да ги сменат физичко-хемиските

својства на пеликулата, правејќи ја истата поотпорна на дејството на киселините, се должи на интеракцијата на оваа класа на липиди со муцините.

### **Функции на денталната пеликула**

Денталната пеликула има големо физиолошко и патофизиолошко значење за сите интеракции кои се случуваат помеѓу забот и медиумот кој го окружува (пунктата). Таа учествува во неколку значајни процеси кои се одвиваат во оралната празнина, како што се: реминерализација и деминерализација, лубрикација на површината на забот и бактериска агрегација.

#### ***Лубрикација на површината на забот***

Денталната пеликула има лубрикантно дејство врз површината на забите што ги олеснува цвакањето на храната и говорењето. Ефектот на лубрикација е поврзан со саливарните гликопротеини, муцин тип 1, муцин тип 2 и статерин, кои се адсорбирани во слоевите на денталната пеликула. Особено значајна улога во ефектот на лубрикација има високомолекуларниот муцин MG1. Денталната пеликула ја намалува фриксијата (триењето) помеѓу забите антагонисти и помеѓу забите и оралната мукоза. Утврдено е дека присуството на забната пеликула помеѓу цврстите забни површини го намалува коефициентот на фриксија за фактор 20.

#### ***Денталната пеликула како семипермеабилна мембрана***

Пеликулата има улога на бариера со што ги превенира процесите на деминерализација и ги олеснува процесите на минерализација. Кај “in vitro” создадена пеликула, докажано е дека таа е селективно пермеабилна, со што ги регулира процесите на минерализација и деминерализација на површината на емајлот на забот. Благодарение на селективната пермеабилност на денталната пеликула, таа има можност да ги модифицира дифузијата на киселини и транспортот на калциум и фосфати, во и надвор од површината на емајлот на забот. Сеуште не е прецизно разјаснет механизмот на регулацијата на дифузија на јони, помеѓу површината на емајлот на забот и оралната средина.

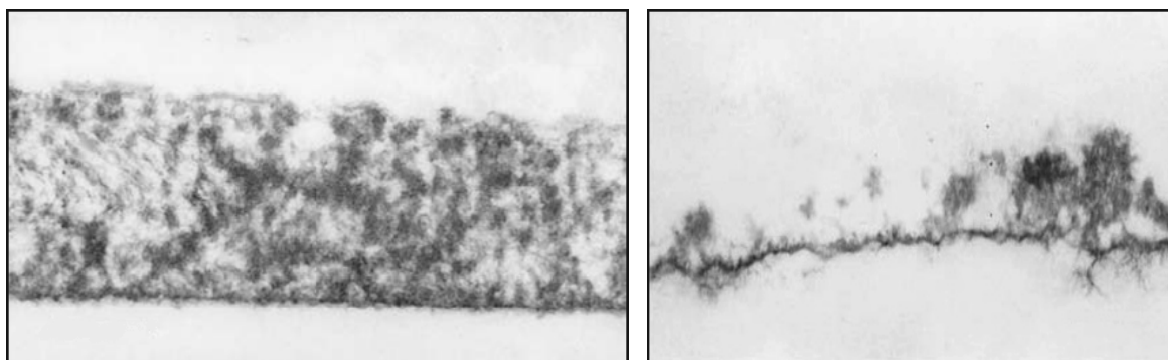
Истражувањата покажувале дека во слоевите на пеликулата се присутни отворени структури кои ја овозможуваат размената на јоните на површината на забот. Според тие укажувања пеликулата претставува медиум низ кој се доставуваат флуоридите, калциумот и фосфатите, во текот на реминерализацијата. Исто така, пеликулата ја одложува или ја намалува можноста за деминерализација.

По експериментално изложување на пеликулата на дејство на 0,1% лимонска киселина (период од 300 секунди), се забележува непрекинат континуитет на базалните слоеви на денталната пеликула и не се забележуваат оштетувања на емајлот на забот. Овој

податок покажува дека пеликулата е делумно отпорна на делување киселини, а до одредена мера може да делува како дифузиона бариера (слика 11.3).

Постојат одредени разлики во ултраструктурата, дебелината и составот на слоевите на пеликулата формирана на различни површини од забите во устата. Заштитата од ерозија на површината на емајлот на забот е во директна корелација со дебелината на пеликулата.

За заштитната улога на пеликулата не е значајна само дебелината, значаен е и нејзиниот состав. Саливарната карбоанхидраза VI, е присутна во денталната пеликула и таа во самата пеликула покажува ензимска активност. Овој ензим ја катализира реверзибилната реакција:  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ . Саливарната карбоанхидраза, имобилизирана во пеликулата, ја катализира и ја забрзува неутрализацијата на киселините, на тој начин штитејќи го емајлот од деминерализација.



Слика 11.3: Слоевеи на дентална пеликула создадени во рок од 120 минути (лево), остатоци од пеликулата (десно) по нејзино третирање со 0,1% р-р на лимонска киселина во рок од 60 секунди

### *Хомеостаза на минерали*

Денталната пеликула ги модулира процесите на преципитација на минерали на површината на емајлот на забот. Плунката е презаситена со јони на калциум и фосфати, што претставува еден од условите за процесите на реминерализација на деминерализираните површини од забот. Во отсуство на дентална пеликула, калциум-фосфатните соли континуирано би се исталожувале на површината на забот. Киселите PRP (со пролин богати протеини), присутни во пеликулата, покажуваат голем афинитет кон хидроксиапатитот. Овие саливарни протеини, присутни во пеликулата, имаат улога на инхибитори на преципитацијата на калциумовите соли, на површината на емајлот на забот. На тој начин се обезбедува хомеостазата на минералите помеѓу плунката и емајлот на забот.

### ***Модулација на бактериската атхеренција***

Денталната пеликула покажува селективност кон атхеренцијата на бектериите и е вклучена во раните фази од создавањето на денталниот, бактериски биофилм. Составните компоненти на пеликулата имаат улога на рецептори за бактериите. Саливарните и бактериските ензими ги менуваат функционалните карактеристики на денталната пеликула. На тој начин, пеликулата станува добра основа за поврзување на бактериите.

# 12

## БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА БИОФИЛМОТ

### БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА СОЗДАВАЊЕТО НА БИОФИЛМОТ

Протеински матрикс на биофилмот

Адхезивни својства на протеинскиот матрикс

Екстраклеточни полисахарди

Услови за синтеза на декстран и леван

Значење на екстраклеточните полисахариди

Метаболичка активност на бактериите во биофилмот

Биохемиски процеси на бактериите во биофилмот

### ПРОМЕНИ НА pH ВО МИРКОСРЕДИНАТА НА БИОФИЛМОТ

Незрел биофилм

Зрел биофилм

## БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА СОЗДАВАЊЕТО НА БИОФИЛМОТ

**В**о новата стручна и научна литература терминот биофилм се повеќе се заменува со терминот дентален плак. Биофилмот претставува стекната органска, бактериска наслага на површината на забите. Воедно биофилмот претставува сложена заедница на бактерии кои потекнуваат од оралната микрофлора. Биофилмот е изграден од:

- стекната дентална пеликула
- бактерии од оралната флора
- матрикс (протеини и полисахариди)

Од вкупната содржина на биофилмот, 70-80% отпаѓа на бактериите, поради што оваа стекната наслага на забите уште се нарекува бактериски биофилм. Само 1 mg на биофилм содржи  $10^8$  различни видови на бактерии по потекло од оралната флора.

Помеѓу бактериите во биофилмот се наоѓа интерцелуларниот матрикс, на кого отпаѓаат околу 25% од вкупната маса на биофилмот. Интерцелуларниот матрикс е изграден од:

- саливарни гликопротеини
- метаболитски производи на бактериите
- специфични екстраклеточни полисахариди (синтетизирани од страна на бактериите).

Матриксот на плакот(биофилмот) претставува подлога за меѓусебно поврзување на бактериите и за нивно фиксирање за површината на емајлот на забот. Но, освен тоа интерклеточниот матрикс содржи голем број на штетни продукти кои се ослободуваат од бактериите и предизвикуваат воспалителни промени на гингивалното ткиво и оштетување на цврстите забни супстанции. Во матриксот на биофилмот се присутни и неорганични материји: јони на Са, фосфати, Mg, K, Na. Овие материји имаат значајна улога во процесот на минерализацијата на биофилмот и создавањето на цврста наслага на забите- забен камен.

За да се создаде биофилмот бактериите треба:

- да се поврзат за стекнатата дентална пеликула
- да се размножуваат
- да се поврзуваат помеѓу себе

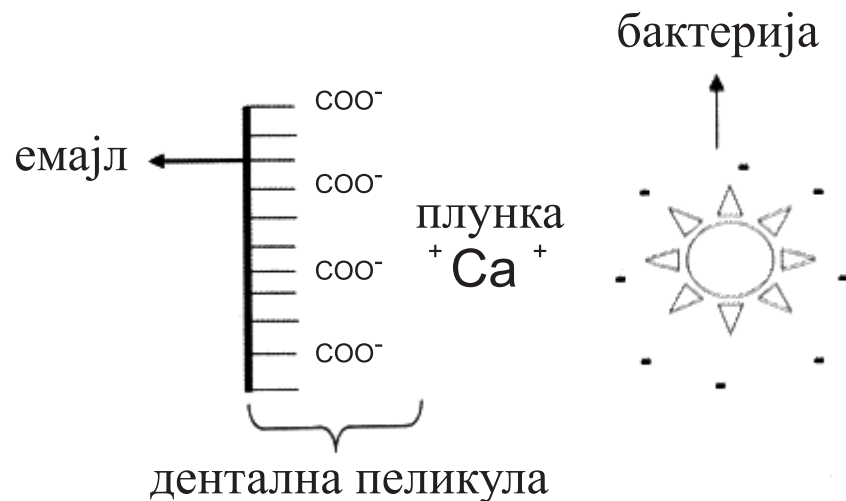
Бактериите пристигнуваат пасивно до денталната пеликула, благодарение на саливарниот тек и постојаниот контактот на забите со плунката.

Од биохемиски аспект се разликуваат три фази на создавањето на биофилмот:

1. иницијална фаза;
2. фаза на агрегација и акумулација; и
3. фаза на рекомпозиција или созревање;

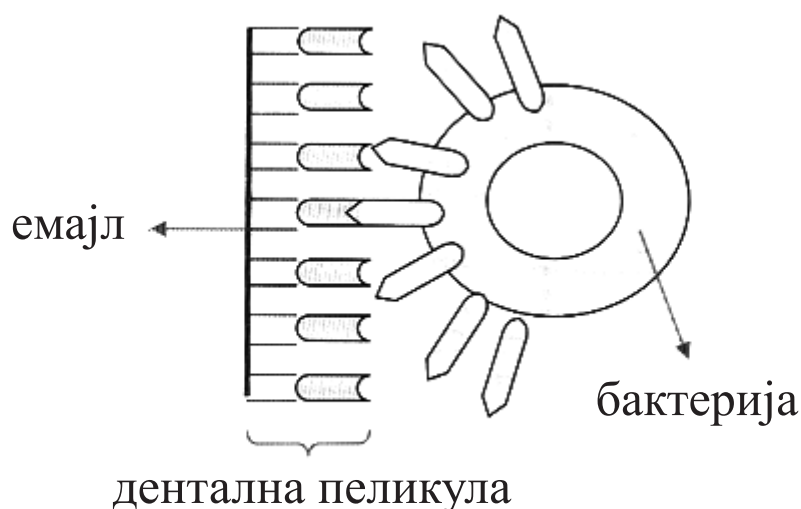


Доминантна активност во **иницијалната фаза** на создавањето на плакот е интеракцијата помеѓу бактериите на оралната флора и стекнатата дентална пеликула. Во состав на клеточниот сид на бактериите влегуваат гликопротеини, поради што бактериската клетка е негативно наелектризирана. Анјонските резидуи (COO-) на овие гликопротеини промибираат кон надворешноста со што се обезбедува негативен набој на бактеријата. Во составот на денталната пеликула, исто така, влегуваат различни гликопротеини кои што содржат исти анјонски резидуи (COO-). Поради тоа не е можно директно поврзување на бактериите со денталната пеликула. Значајна улога во поврзувањето на првите бактерии (“пионери“) со денталната пеликула имаат јоните на  $Ca^{++}$  кои се присутни во плунката. Благодарение на нивната двовалентно позитивна наелектризираност, тие со едната позитивна валенција се поврзуваат со (COO-) групата на гликопротеините кои влегуваат во состав на бактерискиот клеточен сид, а со другата позитивна валенција се поврзуваат со (COO-) групата на гликопротеините кои влегуваат во состав на денталната пеликула. На тој начин со помош на електростатски сили, кои се создаваат помеѓу анјонските резидуи (COO-) на гликопротеините од денталната пеликула и на гликопротеините од бактерискиот сид од една страна и јоните на калциум од друга страна, се овозможува врзувањето на првите бактерии “пионери“ со денталната пеликула (слика 12.1).



Слика 12.1: Улога на јонот на  $Ca^{2+}$  од плунката во поврзувањето на бактериите “пионери” со денталната пеликула

Хидрофобната интеракција е вториот начин на врзување на бактериите со денталната пеликула (слика 12.2). Оваа интеракција се базира на структурното совпаѓање помеѓу соодветни хидрофобни молекули на денталната пеликула и на бактериската површина. Овој тип на поврзување на бактериите со денталната пеликула, сеуште не е доволно проучен, но докажано е дека некои бактерии содржат хидрофобна структура на својата површина. Таква структура е липотаихоинската киселина која е изградена од хидрофилна полимерна структура на глицерофосфат и од неполарна опашка составена од масни киселини кои обезбедуваат голема хидрофобна површина.

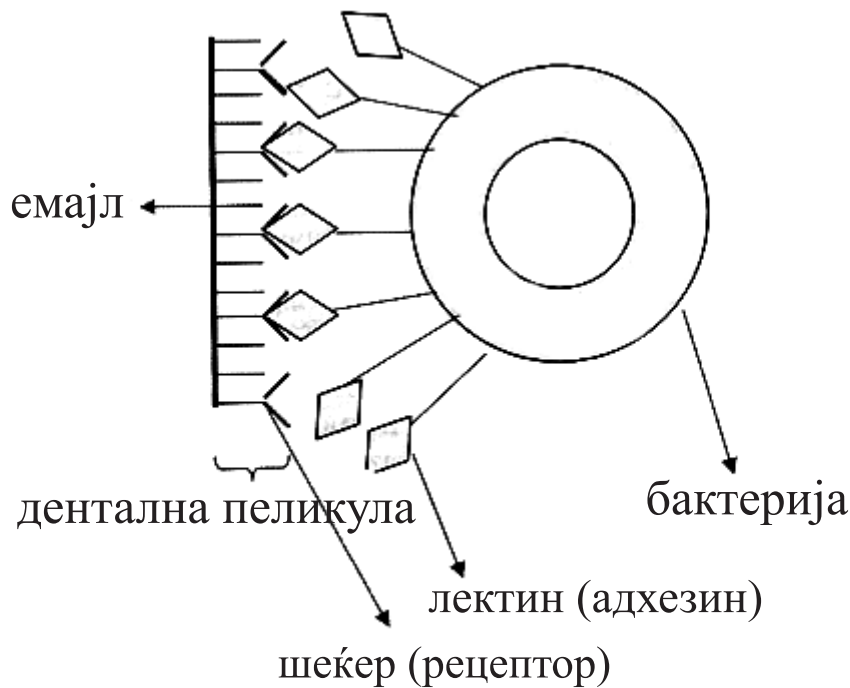


Слика 12.2: Врзување на бактериите со помош на хидрофобна интеракција, која се базира на структурното совпаѓање помеѓу одредени хидрофобни молекули на денталната пеликула и исти такви молекули на бактериите

Електростатските и хидрофобните врски кои се создаваат помеѓу бактериите и денталната пеликула се нестабилни и реверзибилни. Освен со ваков тип на врски, бактериите со денталната пеликула се поврзуваат и со помош на стабилни или иреверзибилни врски.

Поновите истражувања, покажуваат дека бактериите на својата површина имаат специфични молекули (врзувачки места) кои се во состојба да стапат во реакција (да се врзат) со специфични рецептори присутни во денталната пеликула. Молекулите на бактериската површина, кои се во состојба да се врзат со специфичните рецептори присутни во денталната пеликула, се нарекуваат адхезини. Голем број на органски молекули кои влегуваат во состав на денталната пеликула можат да послужат како рецептори за врзување на бактериите. Такви молекули се: со пролин богати протеини, статерин, амилаза, лизозим, имуноглобулини. Помеѓу адхезините на бактериите и рецепторите во денталната пеликула постои одредено просторно совпаѓање (слика 12.3).

Ваквиот начин на поврзување на бактериите не е значаен само за нивната атхеренција на површината од забот, туку и за нивната атхеренција на оралната мукоза. Епителните клетки на оралната мукоза поседуваат одредени рецептори за поврзување со бактериските адхезини. Тие рецептори на епителните клетки се: сијалинска киселина, галактозил резидуи, колагени влакна и фибронектин.



Слика 12.3: Врзување на бактериите со денталната пеликула со помош на стабилни иреверзибилни врски, помеѓу лектините и специфичните рецептори (шеќери)

Функција на адхезини, кои се присутни на површината на бактериската клетка, имаат лектините (специфични протеини). Лектините ги препознаваат специфичните шеќерни резидуи (рецептори) од денталната пеликула (тоа се јаглехидратните делови на гликопротеините од денталната пеликула). Лектините на бактериите се во состојба да се поврзат за одредена шеќерна резидуа на гликопротеините од денталната пеликула и на тој начин го овозможуваат врзувањето на бактеријата со пеликулата. Некои од бактериите се поврзуваат со галактозил резидуи, додека пак други се поврзуваат со резидуи на сијалинска киселина. Ваквиот начин на врзување е значаен и за адхеренција на бактериите на денталната пеликула и за меѓусебно поврзување (агрегација) на бактериите.

По иницијалното поврзување на бактериите “пионери” со денталната пеликула, започнува втората фаза од создавањето на биофилмот или **фаза на агрегација и акумулација**. Во оваа фаза настанува размножување и меѓусебно поврзување на бактериите во биофилмот. Првите бактерии кои се населиле започнуваат да ги катаболираат шеќерите на гликопротеините од денталната пеликула, за да обезбедат енергија која што им е потребна за нивен опстанок и размножување. Со отстранување на јаглехидратниот дел на гликопротеините, остануваат само “оголени” протеини кои влегуваат во состав на матриксот на денталниот плак.

## Протеински матрикс на биофилмот

Протеинскиот матрикс претставува значајна компонента на денталниот плак, но сеуште постојат дискусии за неговото потекло. Став кој што е најприфатен, е дека протеинскиот матрикс потекнува од изменетите саливарни гликопротеини, односно од гликопротеините кои влегуваат во состав на денталната пеликула. Саливарните гликопротеини претрпуваат измени (губење на јагленихидратниот дел) под дејство на екстрацелочните ензими на бактериите од плакот. Губењето на јагленихидратниот дел на гликопротеините настанува заради големата потреба од шеќери на бактериите. Освен губиток на јагленихидратниот дел на гликопротеините, доаѓа и до деградација на полипептидните синџири до ниво на пептиди.

Со биохемиска анализа на протеинскиот матрикс е утврдено дека тој, за разлика од плунката, не содржи сијалинска киселина. Сиаломуциноот влегува во состав на денталната пеликула, но не и во состав на протеинскиот матрикс на денталниот плак, бидејќи јагленихидратниот дел на сиаломуциноот се катаболира под дејство на ензими кои ги ослободуваат бактериите од плакот.

Еден од најактивните ензими, ослободени од бактериите во екстрацелочната средина, е ензимот сијалидаза. Овој ензим има афинитет кон молекулите на сијалинската киселина кои што се вградени во макромолекулата на сиаломуциноот. Под дејство на овој ензим настанува одвојување на резидуите на сијалинската киселина, поради што настанува таложеење на сиаломуциноот. На тој начин доаѓа до неповратно денатурирање на сиаломуциноот и губење на неговите биолошки карактеристики.

Познато е дека нативниот сиаломуцин (оној кој што е присутен во плунката) има многу ниска вредност на изоелектричната точка  $pK=2.6$ . Оваа особина на сиаломуциноот го оневозможува неговото таложеење дури и при најниски вредности на рН на плунката. Поголемо закиселување и поголем пад на локалната рН вредност (на пр. 2) не е вообичаена физиолошка појава, но ако се случи (на пример заради враќање на желудечната содржина во устата) ќе настане повратно таложеење на сиаломуциноот. Неговото таложеење ќе се одвива до оној момент додека локалната рН вредност не се корегира под дејство на саливарните пуфери.

Согласно со претходните факти за карактеристиките на сиаломуциноот, малку е веројатно дека локалната рН вредност во плакот (под дејство на киселите метаболити) ќе предизвика таложеење на сиаломуциноот. Наспроти тоа, бактериската сијалидаза предизвикува исталожување и денатурирање на сиаломуциноот кој што влегува во состав на денталната пеликула, или пак, пристигнува со плунката во плакот.

Значењето на протеинскиот матрикс е во поврзувањето на бројни и разновидни бактерии во своевидни колонии. На тој начин бактериите се доведуваат на многу блиско растојание бидејќи доаѓа до израз адхезивната способност на протеинскиот матрикс. Благодарение на тоа се собираат голем број на бактерии во релативно мал и ограничен простор и настанува зголемување на количеството на кисели метаболити и токсични производи во плакот. Тие пак, имаат двојно штетно дејство:

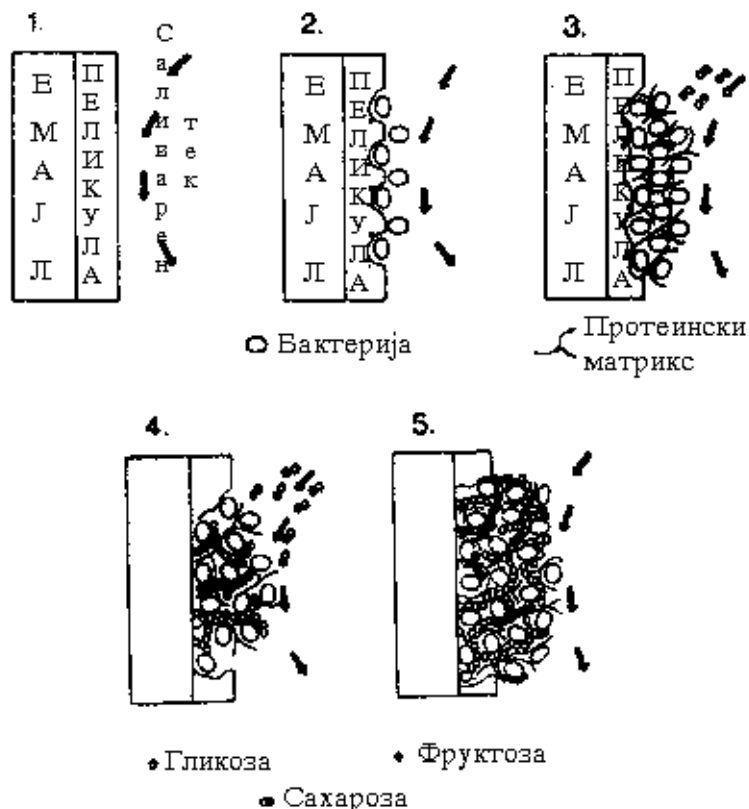
- штетни ефекти на цврстите забни супстанции;
- воспалителни промени на гингивата и потпорните ткива на забот.

Во почетокот на создавањето на плакот, додека тој е сеуште незрел, иако е создаден протеинскиот матрикс, просторите помеѓу бактериите се доволно големи за да може да

струи течност и да ги испира ослободените метаболити. Подоцна, кога плакот ќе созрее и кога ќе се создадат и екстраклеточните полисахариди, микропросторите помеѓу бактериите толку се стеснуваат што не дозволува дифузија на течност и на ослободените метаболити.

### Адхезивни својства на протеинскиот матрикс

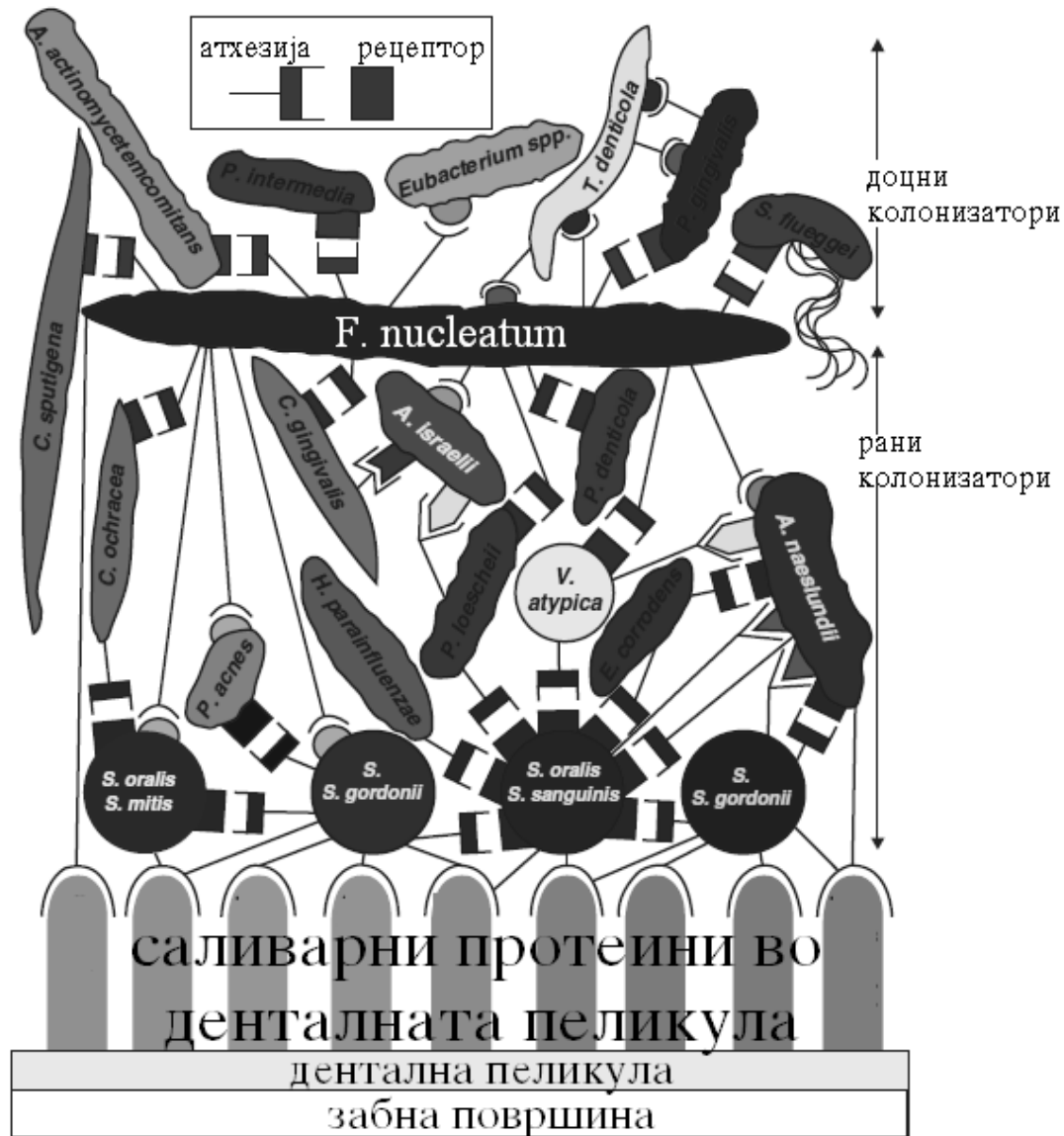
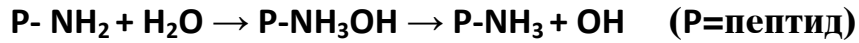
По отстранувањето на сијалинската киселина од молекулата на гликопротеините под дејство на ензимот сијалидаза, гликопротеините ги губат нивните својства: екстендираност, степенот на хидратација и стабилноста во растворот. Откако ќе се отстрани шеќерната компонента на гликопротеините остануваат само нивните “оголени” пептидни синцири. Таквите синцири имаат адхезивни својства и ги поврзуваат бактериите кои влегуваат во состав на денталниот плак. На тој начин, протеинскиот матрикс ја остварува својата основна задача: агрегација на голем број на бактерии во релативно мал простор (слика 12.4 и 12.5).



Слика 12.4: Фази на настанување на плакот: (1) Емајлот со денталната пеликула во контакт со плунката; (2) Почеток на колонизација и промени во составот на пеликулата; (3) Создавање на протеинскиот матрикс; (4) “Созревање” на плакот со вклучување на сахарозата; (5) Потполно формиран “зрел” плак со присуство на екстраклеточни полисахариди.

Поврзувачкиот ефект на пептидните синцири може да се објасни на следниов начин: во состав на бактерискиот ѕид се наоѓаат гликопротеини чиешто слободни дисоцирани карбоксилни - COOH групи придонесуваат бактериите помеѓу себе да се одбиваат.

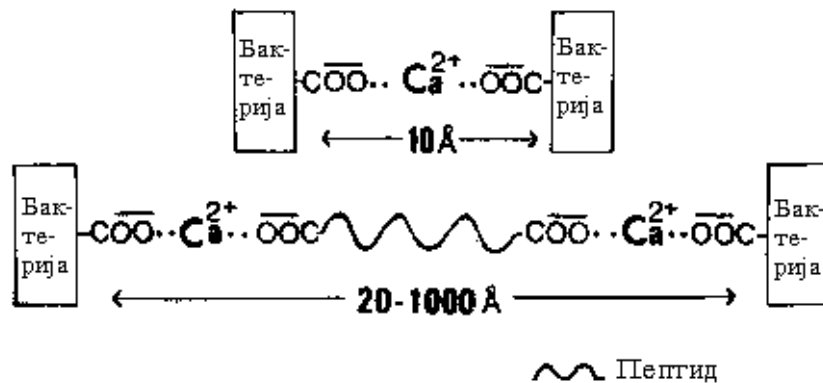
Пептидните синдери располагаат со amino - NH<sub>2</sub> и карбокси - COOH терминален завршеток, поради што се вметнуваат помеѓу две најблиски бактерии на тој начин што NH<sub>2</sub> завршетокот реагира со COOH групата од бактерискиот сид. Пред да настане споменатата реакција, NH<sub>2</sub> групата од пептидниот синдир реагира со вода, се создава база која дисоцира на NH<sub>3</sub> катјон и OH група според следната реакција:



Слика 12.5: Шематски приказ на врзување на различни бактерии за површината на забот, како нивното меѓусебно поврзување и создавање на биофилм

Позитивно наелектризираниот аминотерминален завршеток на пептидот овозможува воспоставување на јонска врска со некоја од дисоцираните COOH групи на бактерискиот сид. Другиот завршеток на пептидот секако е карбокситерминален, доколку се работи за

пептиден синџир којшто не е фрагментиран, така што неговата COOH група не може да реагира со истоимената група од бактерискиот сид. Но, бидејќи течноста на денталниот плак изобилува со електролити, особено калциум, тој се вклучува во реакција. Калциумовиот јон се вметнува помеѓу двете споменати карбоксилни групи со што се поврзуваат две соседни бактерии (слика 12. 6). Доколку, пак, пептидот е фрагментиран и на двата свои краеве има по една слободна NH<sub>2</sub> група, поврзувачкото дејство на калциумот е непотребно.



Слика 12.6: Поврзувачката улога на Ca, односно, поврзување на овој јон и пептидниот фрагмент настанат во текот на создавањето на протеинскиот матрикс во денталниот плак.

Поврзувањето на бактериите во денталниот плак се остварува и со имунохемиски тип на врска. Имуноглобулините на плунката се вклучуваат во поврзувањето на бактериите на плакот бидејќи се работи за молекули кои функционираат како антитела. Синтезата на антителата настанува како одговор на антигена стимулација на организмот (антигени има и во составот на бактерискиот сид). Поради тоа, логично е да се очекува дека одделни саливарни имуноглобулини (најмногу IgA) ќе реагираат според реакцијата антиген-антитело и ќе овозможуваат поврзување на најмалку две бактерии. Кога станува збор за молекулата на секреторниот IgA, бидејќи тој претставува димер располага со вкупно четири активни места за врзување антиген. Поради тоа, овој имуноглобулин овозможува поврзување на три или четири бактерии на многу блиско растојание. Слични својства има и имуноглобулинот M, кој може да е пентамер.

Првите создадени колонии на бактерии, со тек на време започнуваат да синтетизираат екстрацелочни полисахариди, кои што, исто така, влегуваат во состав на матриксот на биофилмот.

Почетокот на синтезата на екстрацелочните полисахариди го означува и почетокот на третата фаза од создавањето на биофилмот, односно фаза на рекомпозиција или созревање.

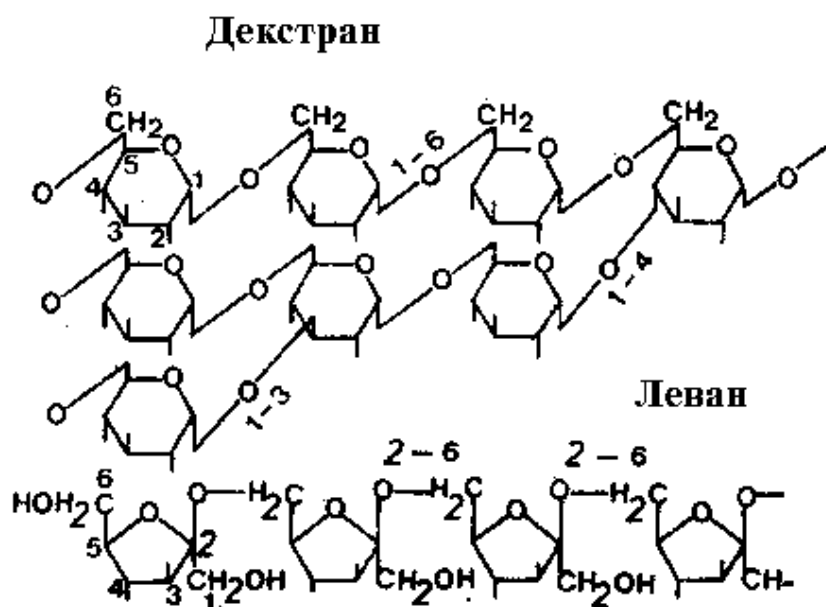
### Екстрацелочните полисахариди

Екстрацелочните полисахариди претставуваат нова категорија во денталниот плак. Нивното појавување во плакот претставува сигурен знак на ”зреење“ на плакот. Со тоа денталниот плак добива нов квалитет и клиничко значење бидејќи со појавувањето на овие

полисахарди се создава можност за оштетување на забите, на гингивата, како и на потпорниот апарат на забот. Во екстраклеточни полисахарди се вбројуваат два вида на полисахарди, а тоа се: декстран и леван.

Декстранот е полисахарид којшто настанува со полимеризација на голем број на молекули на глюкоза. Бидејќи глюкозата во литературата се сретнува и под друго име (декстроза), тогаш логично произлегува името на полисахаридот. Декстранот претставува полисахарид кој настанува со поврзување на голем број на глюкози со помош на глюкозидна врска од типот  $\alpha$  1-6. Молекулата на декстранот е разгранета. За основниот синцир на декстранот се врзуваат и странични синцири со секундарен тип на  $\alpha$  1-4 глюкозидна врска, а за нив, пак, се поврзуваат други синцири од терцијален тип  $\alpha$  1-3 врска.

Леванот е втор по значење екстраклеточен полисахарид во денталниот плак. Се состои од  $n$  молекули на фруктоза. Бидејќи фруктозата според своите оптички карактеристики е левулоза, логично произлегува и името на полисахаридот. Овој полисахарид е изграден од неразгранет синцир во којшто фруктозите се поврзани со  $\beta$  2-6 глюкозидна врска (слика 12.7).



Слика 12.7: Структура на екстраклеточните полисахариди декстран и леван. Основниот синцир на декстранот е разгранет, додека, пак, оној на леванот не е.

Синтезата на декстранот и леванот се одвива во денталниот плак и претставува анаболичен процес кој се одвива во услови на доволно внесување на шеќерот сахароза. Сахарозата е шеќер којшто секојдневно се внесува во исхраната на цивилизираниот човек. Од биохемиски аспект тоа е дисахарид кој се состои од две молекули: глюкоза и фруктоза. Со разградувањето на сахарозата се обезбедуваат основниот субединици неопходни за синтезата на декстран и леван. Ако кон ова се додаде и фактот дека сахарозата во вода лесно се раствора, дека е електронеутрална, дека е со мала молекулска маса поради што лесно дифундира во микросредината на плакот, тогаш е сосема јасно дека сахарозата е шеќер на избор за брза и ефикасна синтеза на екстраклеточните полисахариди декстран и леван.

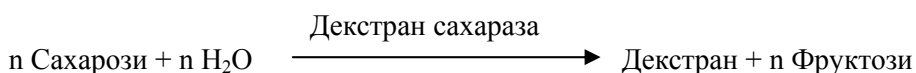


За да се обезбеди брзо и масовно настанување на зрел дентален плак, потребно е да се задоволат два основни принципи:

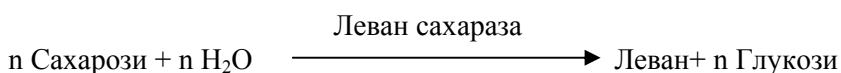
- Лоша орална хигиена, и
- Користење големо количество на шеќерот сахароза.

Синтезата на екстраклеточните полисахариди се одвива со помош на специфични бактериски ензими. Станува збор за декстран сахараза и леван сахараза. Тие ензими можат да бидат слободни, можат да бидат присутни во течноста на плакот, или пак, да бидат вградени во бактерискиот сид. Овие ензими се од типот на глукозил, односно фруктозил трансферази, коишто разградувајќи ја сахарозата овозможуваат пренос на глукозни, односно фруктозни резидуи и нивна полимеризација во декстран, односно леван.

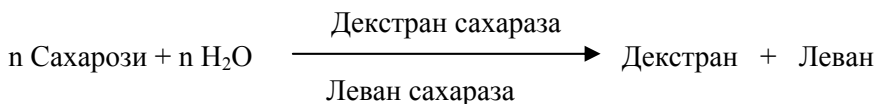
Реакциите на разградувањето на шеќерот сахароза и понатамошната синтеза на екстраклеточните полисахариди се две меѓузависни реакции коишто можат да се претстават на следниот начин:



Од прикажаната реакција се гледа дека молекулите на сахароза хидролитички се разградуваат под дејство на ензимот декстран сахараза. Понатаму, овој ензим го овозможува преносот на глукозил резидуите и нивното вградување во екстраклеточниот полисахарид декстран. Голем број на резидуи на фруктози остануваат слободни поради што логично е дека на оваа реакција се надоврзува следната, во којашто при разградувањето на молекулата на сахароза се користат токму фруктозил резидуите.



Споменатите ензимски реакции во коишто два различни ензими користат ист супстрат (сахароза) можат да бидат обединети во една реакција. Ова е сосема логично бидејќи синтезата на двата екстраклеточни полисахариди се одвива истовремено.



### Услови за синтеза на декстран и леван

Синтезата на овие екстраклеточни полисахариди, значајни за зреењето на плакот, според своите карактеристики е специфична. Декстранот по својата градба многу наликува на гликогенот, полисахаридот од животинско потекло. Гликогенот, како и декстранот има разгранет основен синцир, но поврзувањето во основниот синцир се остварува со помош на  $\alpha$  1-4 глукозидна врска. За основниот синцир се врзуваат странични, секундарни синцири,

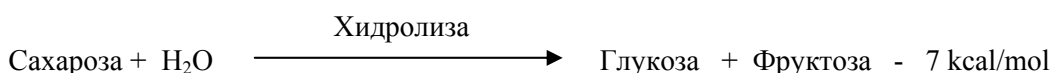
со помош на  $\alpha$  1-6 глицозидна врска. На секундарните синџири се надоврзуваат терцијални поврзани со ист тип на врска.

Очигледно е дека помеѓу овие два полисахарида има голема структурна сличност. Но, во начинот на нивната синтеза постојат значителни разлики.

За да започне синтезата на гликогенот во црниот дроб или мускулите, неопходно е да се обезбеди енергија на активација, бидејќи глицозата е инертна и многу неактивна молекула. Енергијата на активација се обезбедува од АТФ. Станува збор за соединението богато со енергија коешто има универзално примена во метаболички процеси, било да станува збор за анаболички или за катаболички процеси. Во ензимската реакција на активација на глицозата учествуваат ензими од типот на хексокинази или гликокинази. За активација на секоја молекула на глицоза се троши по еден мол на АТФ и се добива активирана молекула глицозо 6-фосфат.

Синтезата на екстраклеточните полисахарида се одвива во вонклеточна (вонбактериска) средина, кадешто недостасува АТФ. Тоа значи дека изостанува можност за активација на молекулите на глицоза и фруктоза. Синтезите на декстранот и леванот се ендоенергетски процес и за полимеризација на декстранот е потребно 4 kcal/mol, а за леванот 2 kcal/mol. Тоа значи дека за секоја вградена молекула на глицоза и фруктоза мора да се обезбеди 6 kcal/mol дополнителна енергија.

Таа енергија (6 kcal/mol) се обезбедува со хидролиза на сахарозата, бидејќи со хидролитичкото разградување на овој дисахарид се ослободува вкупно 7 kcal/mol.



Вишокот од 1 kcal/mol не претставува пречка за синтезата на овие екстраклеточни полисахарида, туку напротив, го олеснува процесот на добивањето на декстранот и на леванот.

### Значење на екстраклеточните полисахарида

Декстранот е слабо растворлив полисахарид кој придонесува за зголемување на волуменот на плакот. При оптимални услови на синтеза на екстраклеточните полисахарида плакот има сланинест изглед, благодарение токму на декстранот, бидејќи тој е доминантен и најзастапент полисахарид.

Декстранот има голема способност за адсорпција за хидроксиапатитот со што се овозможува подобра фиксација на бактериите за површината на забот. Настанува еден вид на “цементирање” на плакот и во таа фаза плакот може да се отстрани само со механички средства (паста и четка). Способноста за адсорпција на декстранот се намалува во присуство на фосфати.

Декстранот покажува способност за аглутинација на одредени бактерии, како што е *Streptococcus mutans*, којашто е многу значајна за создавањето на денталниот плак. Со појавата на декстранот во плакот значително се намалува неговата способност за дифузија

бидејќи се стеснуваат микропросторите помеѓу бактериите. На тој начин е отежната дифузијата на бактериските метаболити, отежнато е движењето на локалната течност, отежнато е навлегувањето на саливарни бикарбонати значајни за пуферизацијата на оралната, но и за микросредината на плакот.

Намалената способност за дифузија со помош на декстранот се објаснува на два начини:

1. Физички - стеснување на микропросторите помеѓу бактериите;
2. Електрохемиски - со помош на фосфатите, кои се естерски врзани за самиот декстран.

Во самиот плак е присутен ензимот декстраназа кој го овозможува хидролитичкото разградување на декстранот. Значи дека разградбата и отстранувањето на овој полисахарид е возможно, но оваа активност е толку мала така што не може да се смета дека во потполност би можело да биде отстрането целото количество на декстран.

Леванот е помалку значаен екстраклеточен полисахарид во денталниот плак. Нема некоја постојана вредност во плакот бидејќи лесно се синтетизира, но и лесно се отстранува со помош на специфичниот ензим леваназа. Бактериите со помош на овој ензим хидролитички го разградуваат леванот до молекули на фруктоза и понатаму ја искористуваат фруктозата за свои метаболички цели (во услови на намалено внесување шеќер).

Освен екстраклеточни полисахариди бактериите можат да синтетизираат и интраклеточен (интрабактериски) полисахарид. Според типот на врската ( $\alpha$  1-4 глукозидна врска) и типот на субединиците (глукоза) станува збор за макромолекула која многу потсетува на полисахаридот гликоген. Присуство на вакви бактерии во денталниот плак укажува на постоење на кариес-активни бактерии. Тие во услови на недоволно внесување на шеќери во исхраната можат да го мобилизираат интрабактерискиот полисахарид и да го разградат до соодветен број молекули на глукоза. Со понатамошното разградување на глукозата се ослободува енергија за метаболичката активност на самите бактерии, но и за создавање на млечна киселина која се исфрла во вонбактериската средина и доведува до намалување на локалната рН вредност. Докажано е дека флуориди во ниска концентрација во плакот ефикасно ја намалуваат можноста за синтеза на интрабактерискиот полисахарид.

Според содржината на декстранот и леванот, како и според бројот и видот на бактериите, се разликуваат два типа на биофилм: незрел и зрел биофилм. Незрелиот биофилм е тенка со голо око невидлива наслага на забите, која се создава веднаш после миењето на забите (во текот на 24 часа). Се карактеризира со присуство на мал број на бактерии и протеини, а екстраклеточните полисахариди сеуште не започнале да се создаваат. Бидејќи не содржи декстран и леван, овој биофилм е тенок и порозен и присутни се бројни меѓупростори во него. Заради неговата порозност, овозможена е дифузија на метаболити од биофилмот во плунката, како и од плунката во биофилмот. Во текот на метаболичката активност на бактериите, се ослободуваат различни метаболити (кисели и базни) кои се штетни за емајлот на забот, но и за потпорниот апарат на забот.

Од киселите метаболити најзначајна е млечната киселина (лактат) која претставува производ на анаеробната гликолиза. За сметка на тоа, бактериите добиваат енергија. Кога станува збор за незрел, порозен биофилм, лактатот дифундира од биофилмот во плунката и не доаѓа до негова акумулација во внатрешноста на биофилмот. Исто така овозможена е и дифузија на плунката во внатрешноста на биофилмот, каде што саливарните бикарбонати

делуваат алкализирачки. Благодарение на дифузионите способности на незрелиот биофилм не настанува долготрајно насобирање на метаболити ослободени од страна на бактериите. Така, рН во биофилмот не се разликува од рН на плунката (6,1-7,8). Кога вредноста на рН во биофилмот има ваква вредност не доаѓа до растворување на кристалите на хидроксиапатитот (деминерализација). Критична вредност на рН во биофилмот при која започнува деминерализацијата е 5,5.

Зрелиот биофилм се создава од младиот, незрел биофилм кога бактериите започнуваат да синтетизираат екстраклеточни полисахарида: декстран и леван (4-10 дена од започнувањето на создавањето на биофилмот). Исто така, значително се зголемува и бројот на бактериите во биофилмот, а се појавуваат и анаеробни микроорганизми. Со појавата и со засилената синтеза на екстраклеточните полисахариди, се пополнуваат микропросторите помеѓу бактериите. Поради тоа зрелиот биофилм е речиси непорозен. Се намалува можноста за дифузија на бактериските штетни метаболити од биофилмот, се попречува испирачкото дејство на плунката, односно оневозможено е навлегувањето на саливарните бикарбонати во микросредината на биофилмот. Поради сето тоа во зрелиот непорозен биофилм доаѓа до акумулација на бактериски метаболити (базни и кисели), а истовремено значително е намалено пуферското дејство на плунката. За емајлот на забот особено штето е насобирањето на кисели бактериски метаболити кои предизвикуваат значително и долготрајно намалување на вредноста на рН во биофилмот. Кога рН во зрелиот биофилм ќе ја достигне критичната вредност од 5,5, започнува процесот на растворање на кристалите на хидроксиапатитот на емајлот (деминерализација) односно забен кариес.

### **Метаболичка активност на бактериите во биофилмот**

Во бактерискиот биофилм се одвиваат голем број на разновидни и интензивни метаболички процеси. Бактериите од биофилмот припаѓаат на категоријата на хетеротрофни микроорганизми. Тоа значи дека енергетските материите потребни за нивниот метаболизам ги искористуваат од локалната средина. Енергетските материји се биополимери по потекло од плунката или од гингивалната течност, но и од хранливите материји кои што се внесуваат во оралната празнина. Токму хранливите материји претставуваат и најзначаен извор на енергетски материји за бактериите. За да можат овие биомолекули да се вклучат во соодветни енергетски процеси, преку кои процеси бактериите ја задоволуваат својата потреба за енергија, мораат претходно да бидат разградени до нивните основни состојки. Тоа пак е овозможено со дејството на специфични ензими кои потекнуваат од бактериите во биофилмот.

Со оглед на тоа што бактериите во биофилмот имаат голема потреба за јаглехидратни и азотни соединенија разградувањето на сложените биомолекули е од огромно значење за нивниот опстанок и размножување. Тоа е така бидејќи биомолекулите (полисахариди, протеини и липиди) не можат да се транспортираат во бактериска средина ниту по пат на дифузија, ниту пак со активен транспорт.

Полисахаридите и дисахаридите се најзастапените биополимери, така што нивното разградување до основните состојки-моносахариди е од пресудно значење за опстанокот на бактериите во биофилмот. Добиените моносахариди, при разградбата на полисахаридите и дисахаридите, во бактериската клетка се вклучуваат во соодветни биохемиски процеси при кои се ослободува потребната енергија. Од биополимерите кои имаат јаглехидратна природа бактериите се во состојба да ги разградуваат: скробот, хијалуронската киселина, хондроитин-сулфатот, како и дисахаридите (малтоза, лактоза и сахароза).

Скробот потекнува од хранливите материи кои што секојдневно се внесуваат во оралната празнина. Се разградува под дејство на бактерискиот ензим  $\beta$ -амилаза, кои што го разградува скробот до малтоза, изомалтоза и малтотриоза. Малтозата, внесена со исхраната или добиена при разградба на скоробот, се разградува под дејство на бактерискиот ензим *малтаза* до молекули на глукоза.

Сахарозата, која се внесува со исхраната, се разградува со каталитичкото дејство на бактерискиот ензим *сахараза* до молекули на глукоза и на фруктоза.

Лактозата, која исто така се внесува со исхраната, се разградува под дејство на бактерискиот ензим *лактаза* до молекули на глукоза и галактоза.

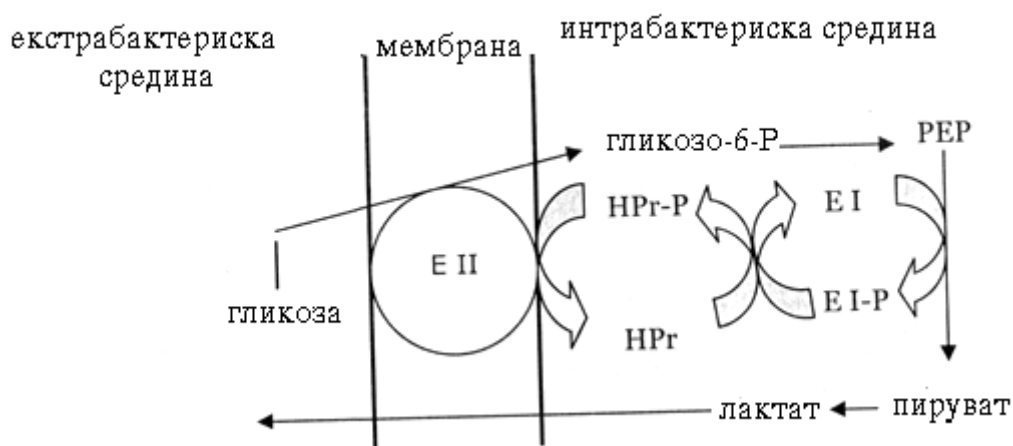
Хијалуронската киселина е значајна составна компонента на меките орални ткива (гингивата). Влегува во составот на протеогликаните кои во меките ткива имаат врзувачка улога. Протеогликаните се изградени од протеини и простатична група-хијалуронска киселина. Хијалуронската киселина се разградува под дејство на бактерискиот ензим *хијалуронидаза* до своите основни составни компоненти. Под дејство на споменатиот бактериски ензим се разградуваат структурните биохемиски компоненти на гингивата, што предизвикува појава на пародонтопатија.

Хондроитин-сулфатот е структурна компонента на цврстите ткива, пред се на коските и на 'рскиците. Некои бактерии во биофилмот лачат ензим *хондроитин-сулфатаза*, кој што го разградува хондроитин-сулфатот до неговите основни состојки. Со разградбата на оваа структурна компонента на алвеоларната коска настанува нејзина деструкција и ресорпција. Вакви процеси се карактеристични за заболувањето пародонтопатија.

За да можат моносахаридите, добиени при разградба на биополимерите со јаглехидратна природа, да бидат искористени за добивање на енергија претходно мораат да се транспортираат во бактериската клетка. Најважни начини на транспорт на простите шеќери во бактеријата се:

1. специфичен, со фосфоенолпируват посредуван систем или т.н. фосфотрансеразен транспортен систем (PEP-PTS).
2. неспецифични транспортни системи за различни шеќери.
3. глукозо-пермеазен транспортен систем.

Најзначаен транспортен систем е со фосфоенолпируват посредуван систем или т.н. фосфотрансеразен транспортен систем (PEP-PTS). Тој претставува високо специфичен транспортен систем на моносахаридите во бактеријата. Во овој систем учествуваат повеќе ензими и протеини локализирани во цитоплазмата и во мембраната на бактериската клетка. Споменатиот транспортен систем вклучува транспорт на фосфатната група од фосфоенопируватот (PEP) кој што е меѓупроизвод на гликолизата со помош на два цитозолни протеини: HPr и ензим *I* (не се специфични за одредени шеќери). Фосфатната група со овој транспортен систем се транспортира до мембранскиот ензим *II*, кој што е строго специфичен за одредени шеќери. Последниот ензим (мембранскиот ензим *II*) го катализира транспортот и фосфорилацијата на шеќерот кој што се внесува во бактериската клетка. Како што видовме, фосфатната група се обезбедува од фосфоенолпируват (PEP). Потоа истата се пренесува со помош на HPr во форма на HPr-P на ензимот *II*. Опишаниот транспортен систем е специфичен за транспортот на глукоза во бактериската клетка (слика 12.8).



Слика 12.8: Шематски приказ на транспорт на глукоза во бактеријата со помош на PEP-PTS систем

Вториот начин на транспорт на простите шеќери во бактериската средина е неспецифичниот транспортен систем. Овој систем е во состојба да транспортира различни шеќери. Улогата на неспецифичниот транспортен систем во метаболизмот на бактериите од биофилмот не е сеуште доволно разјаснета. Тој се вклучува во транспортот на крајните продукти на разградба на полисахаридите во вонбактериска средина во услови кога на бактериската клетка и недостасуваат шеќери за добивање на енергија.

Кога во бактериската средина на биофилмот има висока концентрација на шеќери, активноста на транспортниот систем PEP-PTS е намалена. Тогаш шеќерите се транспортираат во внатрешноста на бактериите со помош на АТР-зависниот систем со учество на ензимот *глукозо-пермеаза*. Во такви услови бактериската клетка се стреми да синтетизира гликоген, со оглед на тоа дека поседува "вишок" на шеќери.

Кога шеќерите (моносахаридите) ќе бидат транспортирани во бактериската клетка, тие понатаму се искористуваат за различни катаболички или анаболички процеси во зависност од метаболичките потреби на бактериите во биофилмот.

Протеините, исто така како и јаглехидратите, се разградуваат под дејство на специфични бактериски ензими до аминокиселини. Аминокиселините се вклучуваат во соодветни катаболички или анаболички процеси. Протеини, кои бактериите можат да ги разградат, потекнуваат од плунката, од внесената храна или претставуваат структурни протеини на меките и цврстите ткива на потпорниот апарат на забот. Со разградување на структурните протеини на меките и цврстите ткива на потпорниот апарат на забот доаѓа до деструкција на гингивата, на периодонталните влакна и на алвеоларната коска. Тоа се патолошки процеси кои што се одвиваат во текот на пародонталните заболувања. Од структурните протеини на оралните ткива најзначајни се оние кои спаѓаат во групата на потпорни белковини. Тоа се колагенот и еластинот. Колагенот е потпорен протеин присутен во гингивата, дентинот, цементот, алвеоларната коска и периодонталните влакна. Бактерискиот ензим кој е во состојба да го разгради колагенот се нарекува *колагеназа*. Еластинот е протеин присутен во меките орални ткива и се разградува под дејство на бактерискиот ензим еластаза. Бактериските ензими пак кои ги разградуваат протеините од плунката или внесените со исхраната, припаѓаат на групата на *протеази*.

Липидите и фосфолипидите кои влегуваат во состав на клеточната мембрана може да се разградат под дејство на бактериските ензими *липази* и *фосфолипази* до нивните основни составни компоненти.

Бактериите од биофилмот според нивните метаболички карактеристики се поделени во две групи:

1. бактерии кои разградуваат азотни соединенија (протеини). Тие се уште наречени и протеолитички бактерии.
2. бактерии кои разградуваат јагленихидрати. Тие се уште наречени и сахаролитички бактерии.

Првата група на бактерии, разградувајќи ги азотните соединенија, ослободуваат базни метаболити (базни аминокиселини, амонијак, токсични амини) во микро средината на биофилмот. Заради ослободување на базни метаболити, вредноста на рН во биофилмот се зголемува. Тоа нема штетни последици за забот, туку штетните последици се однесуваат на пародонталните ткива. Другата група на бактерии, кои ги разградуваат шеќерите, ослободуваат кисели метаболити (лактат и други органски киселини). Насобирањето на вакви кисели метаболити во биофилмот предизвикува намалување на рН вредноста во самиот биофилм. Тоа може да предизвика деминерализација на емајлот на забот.

### Биохемиски процеси на бактериите во биофилмот

Во бактериските биофилмови се одвиваат голем број на разновидни метаболички процеси. Овие процеси се многу слични на метаболичките процеси кои се одвиваат во клетките на човекот. Тоа се воглавно катаболички процеси со цел да се ослободи енергија, но и процеси на синтеза на нови органски соединенија кои им се потребни на бактериите. Најзначајни метаболички процеси кои се одвиваат во бактериската клетка се:

1. Синтеза и разградба на гликогенот (гликогеногенеза и гликогенолиза).
2. Разградба на глукозата (гликолиза).
3. Циклус на три карбонски киселини.
4. Оксидативна фосфорилација.
5. Хексозомонофосфатен пат.
6. Липогенеза.
7. Катаболизам на уреа.
8. Катаболизам на аминокиселини.
9. Синтеза на токсични амини.
10. Синтеза на аминокиселини.
11. Синтеза на пурини и пиримидини.
12. Синтеза на протеини.

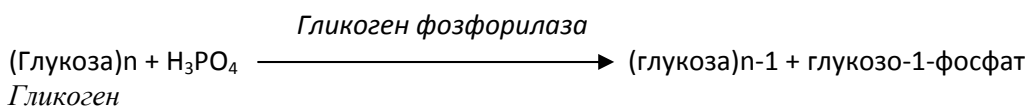
1. Синтеза и разградба на гликогенот (гликогеногенеза и гликогенолиза)

Процесите на гликогенолиза и гликогеногенеза се два антагонистички процеси. При првиот процес гликогенот се разградува на онолку молекули на глукозо 1-фосфат, колку што е потребно да се задоволат енергетските потреби на бактериите. При вториот процес се зголемува масата на гликогенот со вградување на нови молекули на глукоза во него. За да

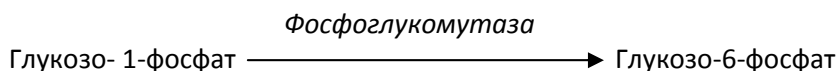
можат овие антагонистички процеси да се одвиваат брзо и ефикасно, секогаш кога стартува едниот процес, ензимите потребни за другиот процес се блокираат и обратно.

Гликогенот претставува депо на глукоза во бактериските клетки, каков што е и гликогенот во човековите клетки. Во услови кога на бактериската клетка и недостасува глукоза како основен извор на енергија, гликогенот се разградува со процесот на гликогенолиза. Притоа бактеријата ендогено се снабдува со глукоза. Процесот на гликогенолиза во бактериите се одигрува на многу сличен начин како и гликогенолизата во мускулното ткиво на човекот. Бактериските ензими кои што се вклучени во овој процес се идентични со ензимите кои го регулираат процесот на гликогенолиза кај човекот. Тоа се: *гликоген фосфорилаза, фосфогликомутаза, трисахарид трансфераза и ензимот на израмнување*. Во бактериската клетка како и во мускулните клетки, не е присутен ензимот *глукозо-6-фосфатаза*. Поради тоа добиените молекули на глукозо-6-фосфат се вклучуваат во процесот на гликолиза и понатаму се разградуваат до млечна киселина.

Разградувањето на гликогенот е фосфорилитичко и за секоја ослободена молекула на глукоза се користи по една молекула на ортофосфат.



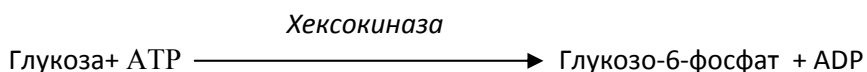
За да може да биде искористен глукозо-1-фосфатот тој се претвора во глукозо-6-фосфат, со помош на ензимот *фосфогликомутаза*.



Кога ќе се потрошат сите резерви на интраклеточниот бактериски гликоген, а бактеријата и понатаму има потреба од глукоза, се разградува екстраклеточниот полисахарид леван. Леванот под дејство на бактерискиот ензим *леваназа* се разградува до повеќе молекули на фруктоза. Ослободената фруктоза се користи како извор на енергија.

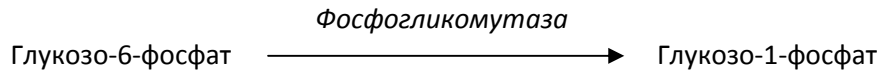
Кога во бактерискиот биофилм има изобилство на глукоза отпочнува процесот на обновување и складирање на гликоген во бактериската клетка, односно започнува процесот на гликогеногенеза. И овој биохемиски процес е многу сличен со истоимениот процес што се случува во човековите клетки.

За да отпочне процесот на гликогеногенеза во бактериската клетка, глукозата од вонбактериската средина претходно треба да се транспортира во бактериската клетка. Во бактериската клетка, глукозата се фосфорилира под влијание на ензимот *хексокиназа*. За секоја молекула на фосфорилирана глукоза е потребна по една молекула на АТР (аденозинтрифосфат).

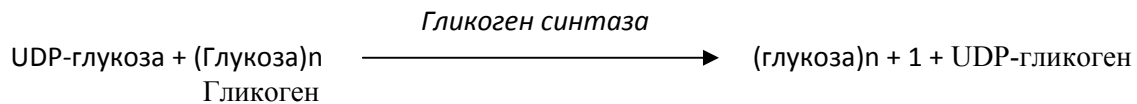
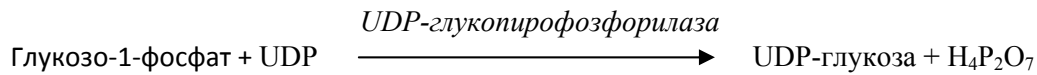


Добиениот производ глукозо-6-фосфат означува дека глукогеногенезата може да почне. Под влијание на ензимот *фосфогликомутаза*, глукозо-6-фосфатот се трансформира во глукозо-1-фосфат.





Уридинтрифосфатот (UTP) е коензим којшто се вклучува во гликогенезата, овозможувајќи го преносот и вградувањето на глюкозата во гликогенската молекула. При тоа се добива уридиндифосфат (UDP-глукоза) и пирофосфат, а ензимот кој што учествува во оваа реакција е *UDP-глюкозопирофосфорилаза*.



## 2. Катаболизам на глюкоза (гликолиза)

Гликолизата претставува основен катаболички процес со кој се разградува глюкозата, но и останатите моносахариди, а се со цел добивање на енергија, потребна на бактериската клетка во биофилмот. Бактериите во биофилмот ја разградуваат глюкозата на два начини: оксидативен (аеробен) начин и ферментативен (анаеробен) начин. Двата начини на разградба на глюкозата се одвиваат според метаболичките процеси кои се разликуваат во текот на гликолизата, според механизмот на продукција на АТФ и според крајните метаболички продукти. Меѓутоа, првата фаза од разградбата на глюкозата е идентична и за двата начини на гликолиза. Во првата фаза глюкозата се разградува на две молекули на пируват. Понатамошната метаболичка судбина на пируватот зависи од типот на бактериите.

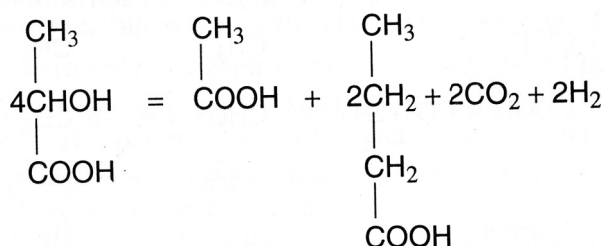
*Оксидативниот метаболизам* на глюкозата се одвива кај анаеробните и факултативно анаеробните бактерии. Пируватот, којшто е добиен при првата фаза на гликолиза се преведува во ацетил-КоА. Создадениот ацетил-КоА се вклучува во циклусот на трикарбонските киселини и во потполност се разградува на  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Во циклусот на трикарбонските киселини (кребсов циклус или циклус на лимонска киселина) се создаваат редуцирани коензими  $\text{NADH} + \text{H}^+$   $\text{FADH}_2$  кои се реоксидираат (оддавајќи ги протоните и електроните) преку респираторниот синџир до  $\text{O}_2$ . Респираторниот синџир се наоѓа во бактериската цитоплазматска мембрана (бактериите не поседуваат митохондрии). Крајниот акцептор на протоните и електроните, кои се одземаат од органскиот супстрат, е молекуларниот кислород. Притоа, АТФ се синтетизира по пат на оксидативна фосфорилација.

Кај бактериите кои што се облигатни анаероби се одвива другиот начин на разградба на шеќерите и тоа по пат на *ферментативен метаболизам*. Кај овој тип на бактерии шеќерите се разградуваат до органски молекули со мала молекулска маса, какви што се некои органски киселини и алкохоли. При овој метаболички процес не е вклучен респираторниот синџир, а кислородот не е краен акцептор на протоните и електроните одземени при оксидацијата на органскиот супстрат. Притоа, енергијата (АТФ) се добива единствено со фосфорилација на ниво на супстратот. Поради тоа, кај анаеробните бактерии во биофилмот гликолизата завршува со продукција на лактат. Имено, пируватот кој што е добиен во првата фаза од гликолизата под дејство на ензимот *лактат дехидрогеназа* се редуцира и се добива лактат. На овој начин е овозможена реоксидацијата на коензимот

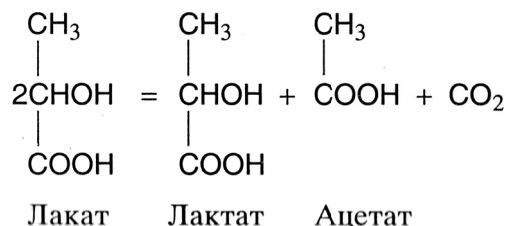
NADH + H<sup>+</sup> кој се добива во една од реакциите на гликолизата (оксидација на глицерин алдехид-3-фосфат). Значи, редуцираниот NADH + H<sup>+</sup> добиен во реакцијата на оксидација на глицерин алдехид-3-фосфат нема можност одземените водородни атоми и неговите електрони да ги предаде на респираторен синцир, туку ги предава на друг супстрат. Тој друг супстрат е пируватот. Притоа, пируватот се редуцира со каталитичко делување на ензимот *лактат дехидрогеназа* и се создава лактат, кој претставува краен производ на анаеробната гликолиза. Лактатот се ослободува во вонбактериска средина, односно во микросредината на биофилмот. Доколку постојат услови за поголема акумулација на лактатот во биофилмот, тоа ќе предизвика значајно намалување на рН вредноста во биофилмот и ќе претставува предуслов за деминерализација. Докажано е дека флуорот кога локално ќе се аплицира на забот, може да ги инхибира гликолитичките процеси во бактериите во биофилмот, на начин што инхибиторно делува на ензимот *енолаза* кој се вклучува во гликолизата. Со инхибирање на гликолизата се попречува ослободувањето на лактат, а со тоа се попречува намалување на вредноста на рН во биофилмот. На тој начин флуорот ја оневозможува деминерализацијата на емајлот на забот во кисела средина. Токму на ова, помеѓу другото, се базира превентивното дејство на флуорот во појавата на забниот кариес.

Процесот на анаеробната гликолиза во бактериската клетка е идентичен со гликолизата во човековите клетки.

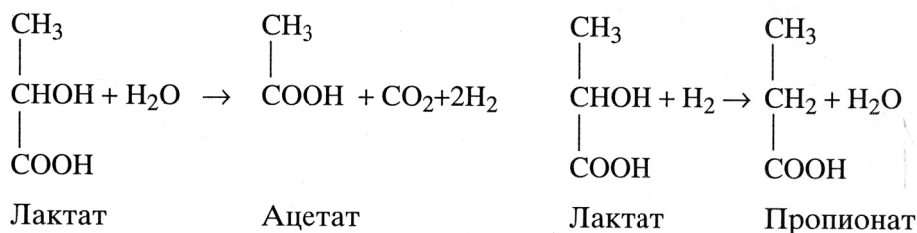
Некои бактерии во биофилмот (*Clostridium*, *Veillonella*) го продолжуваат катаболитичкиот процес на глукоза, разградувајќи го лактатот до ацетат, бутерит и пропионат.



Лактат → Ацетат      Бутират



Микроорганизмот *Veillonella*, нема сопствени ензими за катаболизмот на глукозата. Таа го користи лактатот добиен при гликолизата од страна на *Streptococcus* и притоа се добиваат ацетат и пропионат. Бидејќи ацетатот и пропионатот се послаби киселини во споредба со лактатот, *Veillonella* ги зголемува вредностите на локалниот рН. Овој микроорганизам има локално пуферско дејство во денталниот плак.



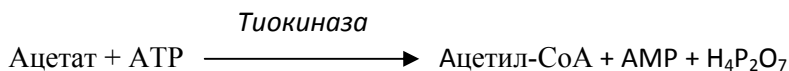
### 3. Липогенеза

Липогенезата е процес на синтеза на липиди. Бактериите во биофилмот, исто како и сите други клетки, во клеточната мембрана содржат липиди. Поради тоа, и бактериите имаат потреба да синтетизираат сложени органски соединенија од типот на липидите.

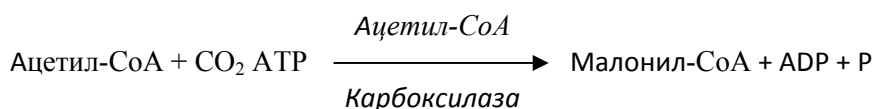
Липидите, односно триглицеридите, се синтетизираат од глицерол и од масни киселини. Глицеролот во бактериската клетка се добива од глукозата, која по пат на гликолиза се разградува до меѓупроизводи. Од овие меѓупроизводи може да се добие активиран глицерол во облик на глицеро-3-фосфат. На истиот начин и во липоцитите на човекот се добива глицерол, за потребите на синтезата на липидите.

Масните киселини во бактериите се добиваат на ист начин како и во човековите клетки, односно со синтезниот систем на палмитинската киселина (ССПК). ССПК овозможува добивање на палмитинска киселина и на сите други заситени масни киселини кои имаат помалку од 16 C-атоми. За синтеза на масните киселини неопходно е да се обезбедат појдовните соединенија, а тоа се ацетил-СоА и малонил-СоА. Ацетил-СоА во човековите клетки се добива од глукозата, која што се разградува до пируват. Пируватот со оксидативна декарбоксилација во митохондриите го дава појдовното соединение за синтеза на липидите, ацетил-СоА. Меѓутоа, бидејќи бактериите немаат митохондрии, не е можно добивање на ацетил-СоА со оксидативна декарбоксилација на пируватот. Поради тоа ова соединение во бактериската клетка се добива од лактатот, кој што атипично се разградува до ацетат,  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2$  (како што видовме во примерот со *Clostridium*).

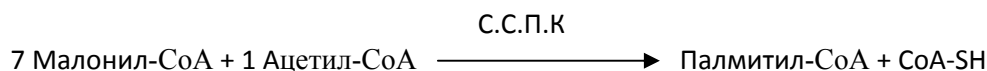
Созданиот ацетат се активира под дејство на ензимот *тиокиназа*, во присуство на АТР, при што се добива ацетил-СоА (неопходен за синтезата на масните киселини) АМР и пирофосфат.



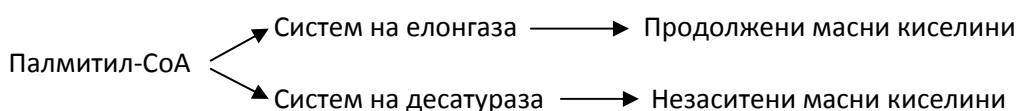
Малонил-СоА се добива на ист начин како и во човековите клетки, односно со карбоксилација на ацетил-СоА под дејство на ензимот *ацетил-СоА карбоксилаза*.



Седум молекули на малонил-СоА и една молекула на ацетил-СоА се потребни за синтеза на една молекула на палмитинска киселина. За овој процес е одговорен синтезниот систем на палмитинската киселина (ССПК).



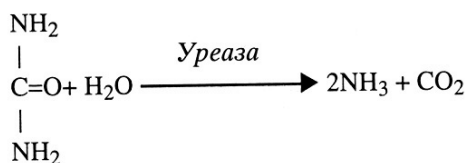
Од палмитил-СоА можат да се добијат масни киселини со поголем број на С-атоми или пак незаситени масни киселини, во зависност од тоа кој систем ќе се вклучи во процесот (систем на елонгаза или систем на сатураза).



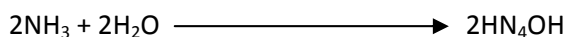
Видовме на кој начин се добиваат појдовните производи за синтеза на триглицеридите: глицеролот и масните киселини. Откако се тие добиени понатамошната синтеза на триглицеридите во бактериската клетка се одвива на ист начин како и кај човекот.

#### 4. Катаболизам на уреа

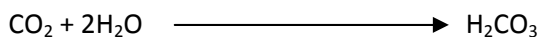
Уреата е краен производ на разградувањето на протеините, односно на аминокиселините во човековиот организам. Од крвта уреата пристигнува во плунката, а од плунката таа се транспортира во денталниот плак. Исто така, уреата во биофилмот може да се добие при метаболичките процеси (катаболизам на аргининот). Бактерискиот ензим кој има можност да ја разградува уреата се нарекува *уреаза*. Овој ензим ја разградува уреата на две молекули на амонијак ( $\text{NH}_3$ ) и една молекула на  $\text{CO}_2$ .



Добиениот производ делува силно алкално бидејќи двете молекули на амонијак во воден раствор даваат база амониум-хидроксид ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ).



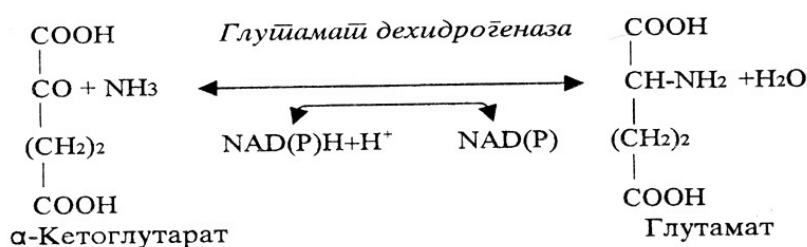
Ослободениот  $\text{CO}_2$  не ја нарушува алкалната средина, бидејќи само еден мал дел од него реагира со вода градејќи слаба јаглеродна киселина.



Поради тоа разградбата на уреата од страна на бактериите во биофилмот предизвикува алкализација на микросредината на биофилмот. Ослободениот амонијак при разградба на уреата, може да се користи и за синтеза на аминокиселини кои им се потребни на бактериите.

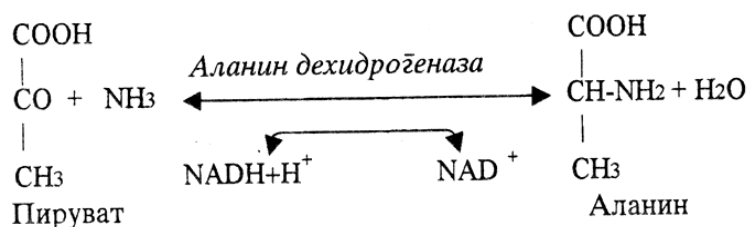
### 5. Синтеза на аминокиселини

Бактериите во биофилмот поседуваат ензимски системи за синтеза на аминокиселини. Овој вид на метаболичка активност е карактеристичен за бактериите кои што ги метаболизираат азотните соединенија. За синтезата на аминокиселините се потребни соодветни  $\alpha$  кето-киселини и амонијак.  $\alpha$  кето-киселините се создаваат од страна на бактериите кои ги катаболизираат шеќерите. Спомнатите бактерии ги искористуваат кето-киселините како непотребни крајни метаболити во микро средината на биофилмот. Ваквите кето-киселини ги преземаат другите бактерии во биофилмот и ги искористуваат за синтеза на аминокиселини. Со воведување на амонијакот во кето-киселината се синтетизира соодветната аминокиселина. Типичен пример за оваа метаболичка активност е воведувањето на амонијак во  $\alpha$ -кетоглутарна киселина. Во оваа реакција учествува бактерискиот ензим *глутамат дехидрогеназа* и аминокиселината која што притоа се добива е глутамат. Се работи за редуktivно воведување на амонијак-редуktivна амонијација.

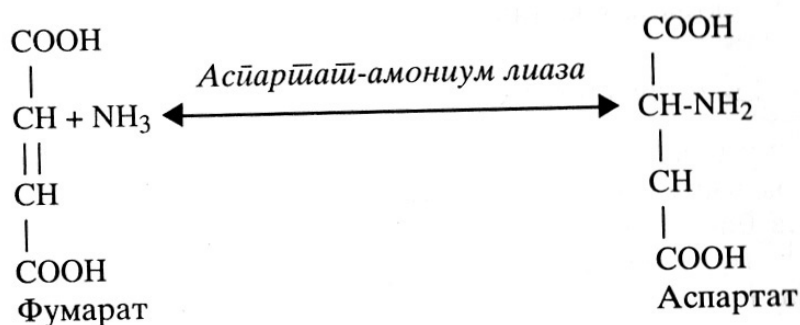


На тој начин со помош на редуktivна амонијација се отстранува силна кето-киселина и се добива нова аминокиселина потребна за понатамошниот метаболизам на одделни микроорганизми во денталниот плак.

Со редуktivно воведување на амонијакот во приогроздовата кето-киселината се добива аминокиселината аланин. Во оваа реакција е вклучен ензимот *аланин дехидрогеназа*.



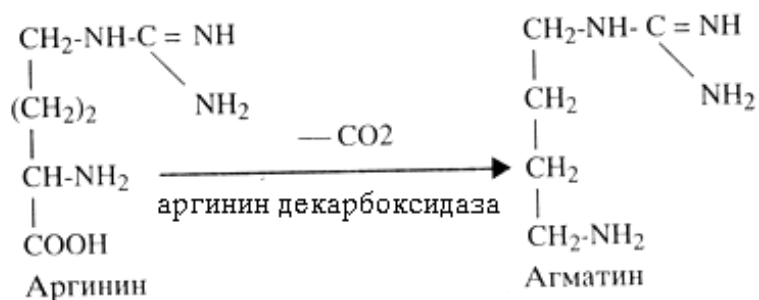
Со аминација на фумарната кето киселина се синтетизира аминокиселината аспартат (аспаргинска киселина) под дејство на ензимот *аспартат-амониум лиаза*.



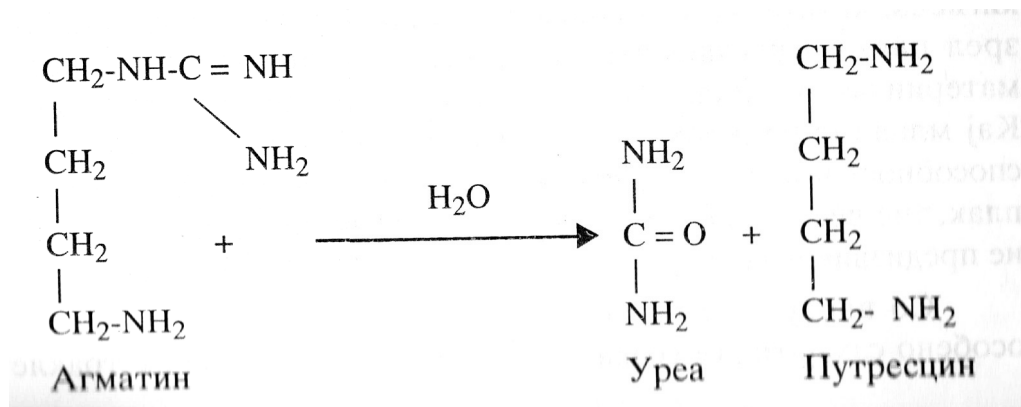
### 6. Синтеза на токсични амини

Синтезата на токсични амини е метаболичка активност што се одвива во главно во биофилмот, што содржи бактерии кои ги разградуваат азотните материји односно протеините. Овие бактерии поседуваат специфични ензими *протеинази* кои што ги разградуваат протеините до аминокиселини. Протеините кои се разградуваат под дејство на бактериските ензими имаат различно потекло. Тие потекнуваат од плунката, од гингивалната течност, но и од заостанатите честички на храна во оралната празнина. Со разградба на протеините се ослободуваат различни аминокиселини, а од особено значење се базните аминокиселини орнитин, цитрулин, аргинин и лизин. Станува збор за диамино-монокарбонски аминокиселини кои имаат вишок на аминогрупа во споредба со карбоксилната група. Нивното ослободување во биофилмот предизвикува алкализација или зголемување на вредноста на рН на биофилмот. Со понатамошен катаболизам на овие базни аминокиселини, односно со нивна декарбоксилација се добиваат уште поалкални производи во денталниот плак. Тие производи се наречени токсични амини (путресцин, кадаверин и агматин) кои предизвикуваат уште поизразено покачување на вредноста на рН на биофилмот.

Со декарбоксилација на аминокиселината аргинин се добива токсичниот амин агматин.



Со понатамошна разградба на агматинот се добива уреа и токсичен амин путресцин. Путресциот, исто така, може да се добие со декарбоксилација на базната аминокиселина цитрулин. Кадаверинот пак, се добива со декарбоксилација на базната аминокиселина лизин.



Токсичните амини имаат штетно дејство врз потпорниот апарат на забот.

### ПРОМЕНИ НА pH ВО МИРКОСРЕДИНАТА НА БИОФИЛМОТ

Вредноста на електрохемиската реакција или pH во биофилмот зависи од два фактори:

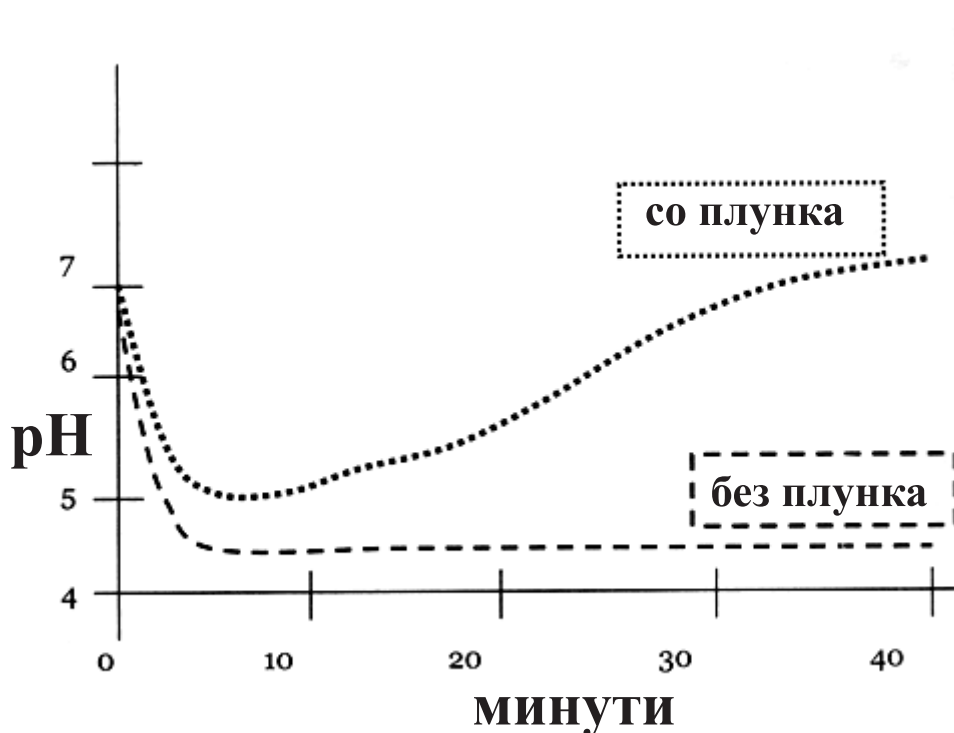
1. Дали биофилмот е зрел или незрел?
2. Дали во биофилмот преовладува катаболизам на азотни соединенија или катаболизам на јаглехидрати?

#### Незрел биофилм

Незрелиот биофилм е тенка порозна наслага на забите, кој се создава веднаш по четкањето на забите. Се карактеризира со присуство на мал број на бактерии и протеини и се уште не ги содржи екстраклеточните полисахариди декстран и леван. Поради тоа, помеѓу бактериите во биофилмот се присутни микропростори кои им даваат на овие наслаги порозен изглед. Дифузионите способности на овој незрел биофилм се силно изразени.

Доколку бактериите во биофилмот доминантно ги разградуваат јаглехидратите, како крајни продукти се ослободуваат различни кисели метаболити. Првенствено тоа е лактатот, но и други кето киселини. Овие потенцијално штетни кисели метаболити лесно дифундираат од микро средината на биофилмот во плунката. Освен тоа, овозможена е и дифузијата на саливарните бикарбонати од плунката во микросредината на биофилмот. Овие пуфери може да ја алкализираат средината во биофилмот. Поради тоа pH во незрелиот биофилм и покрај ослободувањето на кисели метаболити не се менува значително во споредба со pH на плунката. Доколку сепак pH вредноста во биофилмот се намали заради ослободување на кисели метаболити, плунката со своето испирачко дејство и саливарните бикарбонати релативно брзо ќе ја неутрализира киселата средина. Така pH вредноста во биофилмот се корегира. Експериментално е докажано дека pH во биофилмот после испирање на забите со 10% раствор на глукоза се намалува во првите 5-20 минути поради бактериското разградување на глукозата и ослободувањето на лактатот. Намалената pH вредност постепено се зголемува за период од 30-60 минути по апликација на глукозата благодарение на саливарните бикарбонати кои делуваат во насока на алкализација. Графиконот кој ги покажува овие осцилации на вредноста на pH во биофилмот е наречен

Стефанова-крива (слика 12.9). Доколку се спречи протокот на плунката во оралната средина, ниските вредности на рН во биофилмот се задржуваат значително подолго.



Слика 12.9: Промени на рН во биофилмот после испирање на забите со 10% раствор на глюкоза со и без присуство на плунката во оралната средина

Доколку во биофилмот доминира катаболизмот на азотни материи, се ослободуваат базни метаболити какви што се базните аминокиселини, амонијакот и токсичните амини. Меѓутоа спомнатите базни метаболити нема да се наталожуваат во незрелиот порозен биофилм. Тие дифундираат во плунката, а исто така доаѓа до дифузија на фосфатниот пуфер од плунката во биофилмот. Поради тоа вредноста на рН во биофилмот нема значително да се зголеми во споредба со вредноста на рН во плунката. Доколку пак дојде до зголемување на рН вредноста во биофилмот настанатата промена е краткотрајна.

### Зрел биофилм

Зрелиот биофилм се создава од незрелиот биофилм и се карактеризира со присуство на екстраклеточни полисахариди. Овие полисахариди ги пополнуваат микро просторите помеѓу бактериите, делуваат цементирачки и го зголемуваат волуменот на наслагите на биофилмот. Поради тоа зрелиот биофилм е непорозен заради што неговите дифузиони способности се минимални.

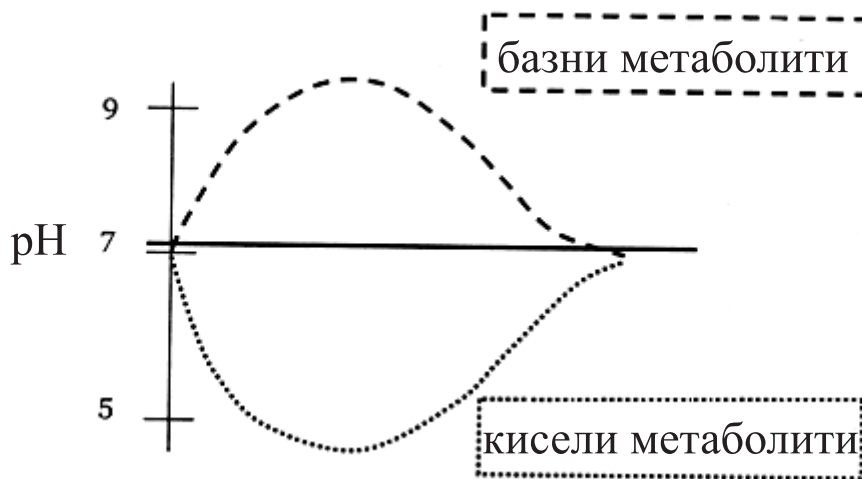
При катаболизмот на јаглехидрати се ослободуваат кисели метаболити (лактат и други кето-киселини) кои не може да дифундираат во плунката. Оневозможена е исто така, и дифузијата на саливарните бикарбонати во биофилмот. Поради тоа, доаѓа до наталожување на кисели метаболити во зрелиот биофилм. Тоа предизвикува значително и



долготрајно намалување на вредноста на рН во биофилмот. Вредноста на рН во зрелиот биофилм може да ја достигне вредноста 5.

Кога во зрелиот биофилм преовладува катаболизмот на азотни соединенија, се ослободуваат базни метаболити (базни аминокиселини, амонијак и токсични амини). Поради ограничените дифузиони способности на зрелиот биофилм овие метаболити се наталожуваат во микросредината на биофилмот. Тоа предизвикува значително зголемување на вредноста на рН (до 9) во зрелиот биофилм. Вака зголемената вредност на рН поволно делува на емајлот на забот, но штетно делува на гингивата.

Во зрелиот биофилм промените на рН се значително поголеми во споредба со незрелиот биофилм. Овие промени се движат во границите од 5 до 9. Намалувањето или зголемувањето на вредноста на рН во биофилмот секако зависи од тоа кои метаболити на бактериите се доминантно присутни (кисели или базни) (слика 12.10).



Слика 12.10: Промени на рН во зрелиот биофилм во зависност од метаболичките активности на бактериите



# 13

## БИОФИЛМОТ И ОРАЛНАТА ХОМЕОСТАЗА

**ШТЕТНИ ЕФЕКТИ НА БИОФИЛМОТ ВРЗ ПАРОДОНТАЛНИТЕ ТКИВА**

**ШТЕТНИ ЕФЕКТИ НА БИОФИЛМОТ ВРЗ ЦВРСТИТЕ ЗАБНИ СУПСТАНЦИИ**

Калциумови соли во денгалниот плак и нивното значење за процесите на деминерализација и реминерализација на забите

**МЕРКИ НА ПРЕВЕНЦИЈА НА ШТЕТНИТЕ ЕФЕКТИ НА БИОФИЛМОТ**

Метаболизам на флуор

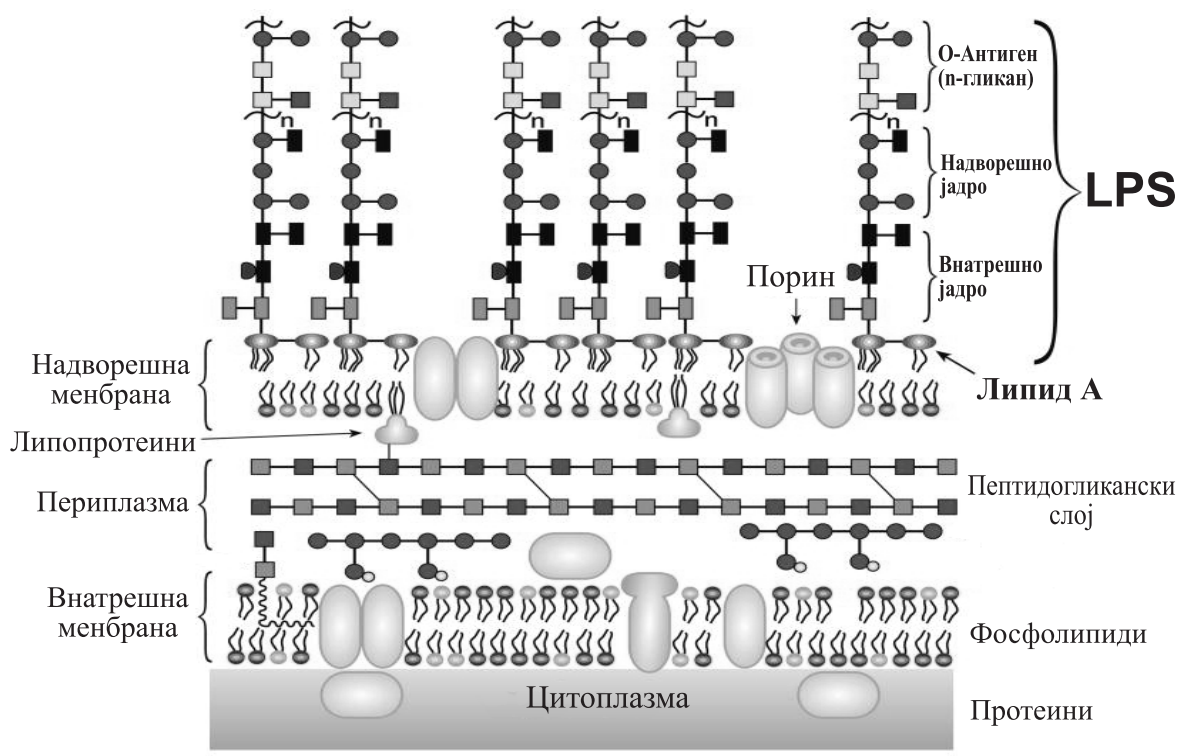
## ШТЕТНИ ЕФЕКТИ НА БИОФИЛМОТ ВРЗ ПАРОДОНТАЛНИТЕ ТКИВА

**И**ntenзивната метаболичка активност во микросредината на биофилмот предизвикува ослободување на бројни штетни метаболити, кои што неповолно делуваат врз емајлот на забот, односно предизвикуваат негова деминерализација. Но, освен тоа метаболитите ослободени од биофилмот делуваат штетно и врз другите орални структури особено на гингивата, периодонталните влакна, цементот и алвеоларната коска. Под дејство на бактериските ензими и токсините овие ткива можат да бидат оштетени и разградени, односно може да настане пародонтопатија. Поради тоа што бактериите од биофилмот предизвикуваат оштетување на емајлот на забот и на потпорните ткива на забот, може да се каже дека биофилмот ја нарушува оралната хомеостаза.

Заболувањата на потпорниот апарат на забот се најраспространети заболувања кај човекот, а главниот причинител за овие заболувања се бактериите од биофилмот. Од штетните материи кои се ослободуваат од плакот се издвојуваат хидролитичките ензими. Овие ензими ги разградуваат структурните биомолекули кои влегуваат во состав на меките и на цврстите орални ткива. Такви ензими се хијалуронидаза и хондроитин-сулфатаза кои учествуваат во разградбата на хијалуронската киселина и на хондроитин-сулфатот, значајни структурни компоненти на оралните ткива. За потпорниот апарат на забот, особено штетно дејство имаат бактериските ензими колагеназа и еластаза. Овие ензими учествуваат во разградба на структурните протеини колаген и еластин.

Освен хидролитички ензими, бактериите во биофилмот ослободуваат и други штетни материи како што се ендотоксини или липополисахариди (слика 13.1). Ендотоксините се составни компоненти на надворешната мембрана на некои бактерии во биофилмот. Ендотоксинот се состои од три компоненти:

- О-полисахариден синцир
- надворешно и внатрешно полисахаридно јадро
- хидрофобен липид А.



Слика 13.1: Шематски приказ на површинските структури на грам негативните бактерии (ендотоксин)

Хидрофобниот липид А претставува токсичен дел од молекулата на ендотоксинот. Ендотоксинот уште се нарекува и модулин. Тој предизвикува ослободување на проинфламаторни медијатори (цитокини) од страна на леукоцитите. Најзначајни цитокини се: интерлеукин 1, простагландин Е2, тумор-некротисис-фактор (TNF). Се смета дека овие медијатори (цитокини) се најодговорни за деструктивните процеси во ткивата на пародонтот, а особено за ресорпцијата на алвеоларната коска.

За разградба на ткивните протеини на пародонтот (колаген, еластин, гелатин) одговорен е и ензимот матриксна-металопротеиназа(ММР). Овој ензим првобитно се ослободува во неактивна форма и во овој облик не е во состојба да ги разградува екстрацелеточните протеини на ткивото на пародонтот. За да помине во активен облик потребно е да се изврши парцијална протеолиза (одвојување на еден дел од полипептидниот синџир) на овој ензим. Овој процес се одигрува под дејство на химотрипсинот сличен ензим, кој потекнува од бактериите на биофилмот.

Штетно дејство врз пародонтот, особено врз гингивата, имаат крајните продукти на метаболизмот на протеолитичките бактерии, амоњакот и токсичните амини.

**ШТЕТНИ ЕФЕКТИ НА БИОФИЛМОТ ВРЗ ЦВРСТИТЕ ЗАБНИ СУПСТАНЦИИ****Калциумови соли во денгалниот плак и нивното значење во процесите на деминерализација и реминерализација на забите**

Интензивните метаболни активности во денгалниот плак предизвикуваат соодветни промени во емајлот на забот. Освен во емајлот на забот, плак метаболните активности имаат соодветно влијание и врз гингивата, а во случаи со заболени пародонтални ткива овие влијанија се случуваат и во алвеоларната коска.

Заради положбата на емајлот и неговиот директен контакт со плак -продуктите, ова ткиво е првото ткиво изложено на штетното влијание на метаболните продукти од плакот.

Неорганската содржина на емајлот преовладува во неговиот состав, а главна компонента на неорганската содржина е калциумот. Ослободувањето на кисели метаболни продукти на плакот (лактат, ацетат, пропионат и бутерит) предизвикува значителна промена на локалната рН вредност, во насока на киселост. Токму оваа појава (особено доколку рН се намали под 5,5) влијае неповолно врз емајлот, бидејќи предизвикува растворање на калциумовите соли, или поконкретно, на кристалите на хидроксиапатитот. На тој начин, се овозможува започнување на забниот кариес.

Калциум фосфатот, основното соединение на неорганскиот дел на емајлот, како и на останатите цврсти ткива во организмот, може да се сретне во повеќе различни облици. Неговите својства се во директна зависност од соодносот Ca/P, што е прикажани подолу на табела 13.1.

Име на солта	Формула	Ca/P количник
Фосфорна киселина	$H_3PO_4$	0
Монокалциумфосфат	$Ca(H_2PO_4)_2$	0,50
Дикалциумфосфат	$CaHPO_4$	1,00
Октакалциумфосфат	$Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot H_2O$	1,33
Трикалциумфосфат	$Ca_3(PO_4)_2$	1,50
Хидроксиапатит	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	1,66
Алкален калциумфосфат	$(Ca_2PO_4OH) \cdot H_2O$	2,00

Табела 13.1: Сооднос на калциум и фосфор кај одделни соли на калциум фосфат

Карактеристиките на калциумовите соли, освен што зависат од соодносот на калциум и фосфор, зависат и од рН на средината во која што соодветната сол се наоѓа. Изложувањето на било која сол на калциум фосфат на дејство на некоја киселина ќе предизвика растворање на солта, односно создавање на друг вид на сол со помал количник на Ca и  $PO_4$ . Создавањето на ваква сол настанува заради губиток на калциумов јон, којшто преминува во околната средина. На тој начин се зголемува растворливоста на соодветната сол.

Спротивни ефекти се постигнуваат доколку на одредена сол се делува со база. Во тој случај се добива нов облик на сол која се карактеризира со намалена растворливост. На овој начин создадената сол на калциум фосфат (под дејство на база) има поголем количник Ca/P, бидејќи базата предизвикува ослободување и губиток на фосфатните јони.

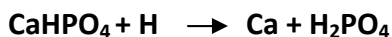
Јасно произлегува дека рН на плакот ги регулира составот и природата на соодветната сол, односно нејзините основни својства. За стоматологијата од најголема важност е однесувањето на хидроксиапатитот, најзначајната компонента во минералната содржина на цврстите ткива.

Во коските метаболната активност на остеобластите е соодветно регулирана и контролирана. Но, тоа не важи и за емајлот којшто е во непосредна близина на денталниот плак. Во коскениот ткиво рН се одржува во релативно мал распон од 6,5 до 7,5. Наспроти ова, метаболната активност на плакот не е така успешно регулирана и контролирана, па поради тоа вредноста на рН на плакот има големи осцилации - од 5 до 9, а во некои ситуации и поголеми.

Намалувањето на локалната рН вредност на плакот неизбежно предизвикува промени во хидроксиапатитот. Под дејство на киселите метаболни продукти, хидроксиапатитот губи соодветен број јони на калциум со што се создава дикалциум фосфат којшто претставува сол со значително изменет и неповолен сооднос на калциум и фосфор:



Создадениот дикалциум фосфат се карактеризира со стабилност и нерастворливост во услови на неутрална рН средина. Меѓутоа, оваа сол има тенденција на постојана дисоцијација во услови дури и на сосема мала киселост поради што настанува губиток на калциумови јони и практично губиток на целата минерална содржина:



Почетната разградба на хидроксиапатитот и неговото преминување во сол на дикалциумфосфат може привремено да има и заштитно дејство. Станува збор за  $\text{CaHPO}_4$ , сол со слаба растворливост во неутрална средина, која го прекрива хидроксиапатитот во подлабоките слоеви. Сепак ова е само привремено дејство на дикалциумфосфатот, бидејќи неговата заштита се манифестира само во услови на потполно отстранување на денталниот плак. Повторното создавање на плак, дури и во мало количество, брзо ќе укаже дека местото на создавање на дикалциумфосфат е место на помала отпорност.

Ова се потврдува со фактот дека и незрелиот плак којшто не содржи екстрацелочни полисахариди и се карактеризира со голема дифузна способност за метаболитите на плакот како и за саливарните бикарбонати, може да доведе до дисоцијација на  $\text{CaHPO}_4$  и да предизвика прогресивен губиток на оваа заштитна покривка. Со комплетниот губиток на  $\text{CaHPO}_4$ , хидроксиапатитот во подлабоките слоеви станува изложен на нови оштетувања.

Но, во денталниот плак при одредени услови се ослободуваат и базни метаболити. Под дејство на алкалните (базните) метаболити, на местото кадешто хидроксиапатитот делумно е претворен во дикалциумфосфат, се создаваат услови за повторно создавање на хидроксиапатит. При тоа настанува ослободување и губиток на дел од фосфатните јони според следната реакција:



Бидејќи молекулата на хидроксиапатитот е изградена од 18 јони, и тоа:  $10\text{Ca} + 6\text{PO}_4 + 2\text{OH}$ , потребно е сите овие јони да се најдат на едно место заедно во сооднос којшто е наведен за да започне процесот на кристализација. Токму заради ова многу е тешко да се очекува дека ќе се обнови процесот на создавање на хидроксиапатит во поголема мерка. Тоа е особено тешко да се очекува во сложените и крајно неповољните услови на микросредината на денталниот плак.

Во текот на созревањето и развојот, кристализацијата на емајлот, на дентинот, на цементот, како и на нормалното коскено ткиво настанува заради константните услови коишто владеат во средината каде што се одвива кристализацијата. Во оралната средина како и во микросредината на денталниот плак нема оптимални услови поради што и не се очекува рекристализација во поголем обем, особено не во обем на првобитното претворање на хидроксиапатитот во дикалциумфосфат.

При создавањето на дикалциумфосфат настанува преминување на јонскиот калциум во течноста на денталниот плак, а оттука калциумот преоѓа во плунката. Токму заради тоа, освен  $6 \text{CaHPO}_4$  потребно е да се обезбедат уште 4 нови вакви молекули за да се добие потребен материјал за обновување на 1 молекула на хидроксиапатит  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Произлегува дека е потребен материјал од 2 молекули на хидроксиапатит за да се добијат вкупно  $10\text{CaHPO}_4$  и да се обнови 1 молекула на хидроксиапатит. Секако дека овој процес може да се одвива само во присуство на алкалии. Доколку се сведат сметките за претходните реакции јасно произлегува дека процесот на рекристализација на емајлот е дефицитарен процес, бидејќи води кон неминовно губење на минералите на емајлот, а со тоа и кон негова разградба.

Ваквите промени предизвикуваат појава на кавитација (создавање на дефекти со различна големина) на површината на забот. Станува збор за бели дамки коишто не се реткост во стоматолошката пракса. Ваквите бели дамки на забите се забележуваат само како површини коишто ја смениле бојата, а не оддаваат впечаток на присуство на дефект на емајлот на забот, поради што при прегледот на таквиот заб може да се смета дека е здрав. Овие бели дамки настануваат заради долготрајното дејство на метаболитите од денталниот плак врз емајлот на забот. Најпрво настанува губиток на калциум, а потоа и на фосфат и создавање на нова сол на калциум и фосфор којашто има поголема растворливост.

Овие бели дамки ни приближно немаат ист состав, ниту карактеристики како здравиот емајл, бидејќи во најголем дел се изградени од дикалциумфосфат. Познавајќи ги карактеристиките на дикалциумфосфатот лесно може да се заклучи дека доколку на белата дамка се создаде иницијален плак, многу бргу ќе настане губење на површниот слој на оваа бела дамка. Процесот ќе продолжи со создавање на дефект којшто во присуство и на бактерии од плакот создава услови за формирање на кариозен процес.

## **МЕРКИ НА ПРЕВЕНЦИЈА НА ШТЕТНИТЕ ЕФЕКТИ НА БИОФИЛМОТ**

Денталниот плак настанува како резултат на колонизација на денталната пеликула со бактерии од оралната флора, како и користење на шеќери во исхраната особено на шеќери од типот на сахароза. Секако дека тука треба да се спомене и оралната хигиена којашто најчесто не е на задоволително ниво.

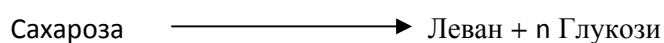
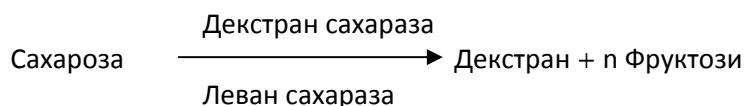
Бактериите коишто влегуваат во состав на оралната флора се секогаш присутни во оралната средина, дури и кај најздравите индивидуи. Колонизацијата на оралната средина настанува веднаш по раѓањето на детето и тие бактерии ја сочинуваат сапрофитната флора со којашто домаќинот воспоставува биолошка рамнотежа. Таа рамнотежа се одржува со помош на плунката и имунолошки активните состојки од типот на имуноглобулини, комплементот и лизозимот кои се составни делови на плунката.

Исхраната, особено онаа богата со сахароза, е една од најзначајните алки во настанувањето на плакот. Без сахарозата, која според своите биохемиски карактеристики претставува дисахарид, иницијалниот, односно “младиот” плак не може да еволуира во

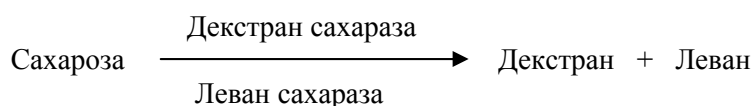


“зрел” плак. Оваа поврзаност се објаснува со фактот дека со разградбата на глукозидната врска на сахарозата се ослободува потребната енергија за полимеризација на молекулата на глукоза во декстран, како и на фруктозата во леван.

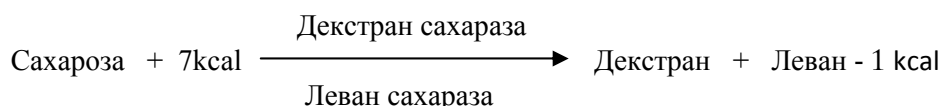
Под дејство на специфични бактериски ензими (декстран-сахараза и леван-сахараза) најпрво се одвива хидролитично разградување на сахарозата на основните компоненти - глукоза и фруктоза. Потоа, со помош на ослободената енергија овие компоненти се полимеризираат во декстран, односно, леван:



Овие две ензимски реакции може да се разгледуваат и збирно. Тоа е логично бидејќи нивниот почеток, тек и создавањето на производите (декстран и леван) се одвива истовремено. Затоа оваа реакција може да се напише и на следниов начин:



Бидејќи за оваа реакција е потребна и енергија којашто се ослободува со раскинувањето на глукозидните врски од сахарозата, термодинамички оваа реакција може да се претстави на следниот начин:



При разградбата на сахарозата се ослободуваат 7 kcal енергија, онолку енергија колку што е вградена во овој дисахарид. За синтеза на декстранот потребни се 4 kcal, додека пак, за синтеза на леванот потребни се 2 kcal. Значи дека се ослободува енергија од 1 kcal и таа има улога на забрзување и насочување на реакцијата кон синтеза на декстран и леван.

Очигледно е дека комбинацијата на двата значајни фактори, а тоа се оралните бактерии и исхраната, заедно со несоодветната орална хигиена, сигурно ќе предизвикаат создавање на зрели желатинозни плаки. Се поставува прашањето: „Што треба да се преземе за заштита на оралните ткива од несаканите дејства на зрелиот дентален плак?“

1. Избегнување на поголемо количество на шеќерни компоненти во исхраната.
2. Соодветна орална хигиена. Со редовно и правилно механичко отстранување на иницијалниот плак се оневозможува неговото зреење и создавање на плак чиишто продукти штетно делуваат врз забите и врз пародонталните ткива.

3. Примена на флуориди. Станува збор за превентивно-тераписка мерка којашто може да се спроведува на два начини:
- системска примена - флуорирање на водата за пиење, готварската сол, млекото и користење на таблети со флуор;
  - локална примена на раствори на флуориди со различна концентрација.

Системската примена подразбира редовно внесување на флуориди во организмот, а по нивното ресорбирање во дигестивниот тракт, истите пристигнуваат на местото на развојот на забот. На тој начин се овозможува во текот на развојот на забот да се одвива хетеројонска супституција, во текот на која се создаваат кристали на флуороапатит коишто се карактеризираат со поголема тврдина и со помала растворливост во споредба со хидроксиапатитот.

Локалната примена, пак, има за цел да ги заштите најзагрозените површини на емајлот на забот, а со тоа и да го намали штетното дејство на денталниот плак.

Меѓутоа, треба да се истакне дека системската и локалната апликација на флуориди овозможува присуство на флуориди и во плунката и во денталниот плак.

### **Метаболизам на флуор**

Примената на флуорот претставува успешна мерка во превенцијата на кариесот. Овој биоелемент наоѓа системска и локална примена.

По внесувањето на флуорот со водата за пиење или со таблети кои содржат флуор, овој елемент се ресорбира во тенкото црево. Се претпоставува дека ресорпцијата настанува по пат на активен транспорт. Лесно растворливите соединенија на флуорот (натриум флуорид) брзо и потполно се ресорбираат. Ресорпцијата на калциум, магнезиум и алуминиум флуоридот е помалку ефикасна. Послабо растворливите соединенија на флуорот во желудничкиот сок дисоцираат и ослободените флуорни јони се врзуваат за водородните јони и го создаваат соединението флуорводород. Флуорводородот лесно поминува низ сите клеточни мембрани. На овој начин се овозможува поголема количина на внесен флуор да се ресорбира (60-75%). Присуство на калциум, магнезиум и алуминиум во исхраната ја намалува ресорпцијата, а присуството на железо и фосфати ја зголемува ресорпцијата на флуорот во дигестивниот тракт.

После ресорпцијата од дигестивниот тракт флуорот пристигнува во циркулацијата и се распределува низ организмот. Концентрацијата на флуор во неминерализираните ткива и телесните течности е ниска. Во крвната плазма флуорот се наоѓа во два облика: јонски облик (50%) и врзан за протеините (50%). Само јонскиот облик на флуорот е активен. Концентрацијата на вкупниот флуор во плазмата (и јонскиот и врзаниот за протеини) е 0,7-2,4  $\mu\text{mol/L}$  и зависи од внесената количина флуор во организмот.

Од крвта флуорот пристигнува во плунката и неговата концентрација во овој секрет е помала во споредба со концентрацијата во крвта за 30-35%. Понатаму, флуорот пристигнува во биофилмот, односно во течноста на биофилмот каде што е присутен во 2 облика: јонски (5%) и врзан флуор. Големата реактивност на флуорот го овозможува неговото врзување за разни биомолекули во биофилмот, какви што се протеините. Освен тоа флуорот навлегува и во цитоплазмата на бактериите на биофилмот. Во течноста на плакот, флуорот е присутен во облик на калциум флуорид. Концентрацијата на калциум флуоридот во течноста на биофилмот се зголемува после локалната апликација на концентрираните раствори на флуор на површината

на емајлот на забот. Внатрешните слоеви на биофилмот содржат поголема концентрација на флуор, во споредба со надворешните. Концентрацијата на флуор во биофилмот зависи од концентрацијата на флуорот во плунката и од рН вредноста на плакот. Пониска концентрација на флуор се забележува во биофилм во којшто рН вредноста е пониска.

Повеќе од 99% од вкупната количина на флуор во организмот е депонирана во коските и цврстите забни ткива (емајл, дентин и цемент). Јонот на флуор има извонредно голем афинитет кон минерализираните ткива. Степенот на вградување на флуорот во овие ткива е поголем од степенот на вградување на  $\text{Ca}^{++}$ . Флуорот релативно лесно се вградува во кристалите на хидроксиапатитот или пак се врзува за неговата површина. Механизмот на вградување на флуорот во кристалите на хидроксиапатитот, во текот на амелогенезата, се изведува според принципот на хетеројонската измена (ОН групата од кристалите на хидроксиапатитот се заменува со F од крвта и се добива флуорхидроксиапатит).

Во сите цврсти ткива во организмот, концентрацијата на F е најголема во површинските слоеви коишто се изложени на ткивни течности а од каде што овие ткива постојано се снабдуваат со овој биоелемент. Вградувањето на флуорот во цврстите ткива се одвива во три фази:

- јоните на флуор пристигнуваат во хидратациониот слој на хидроксиапатитот,
- замена на ОН групите со јон на F, на површината на кристалите на хидроксиапатитот,
- од површинските слоеви јоните на флуорот пристигнуваат во подлабоките слоеви на цврстите ткива.

На тој начин настанува флуорхидроксиапатит кој се карактеризира со помала растворливост во споредба со хидроксиапатитот. Освен тоа, со вградување на флуорот во кристалите на хидроксиапатитот, се намалува и количината на други јони вградени во овој кристал. Тие други јони се: карбонати, цитрати, магнезиум, а тие сите заедно ги сочинуваат главните “нечистотии“ на емајлот. Доколку овие “нечистотии“ се присутни во емајлот, тие придонесуваат за неговата поголема растворливост во кисела средина.

Од циркулацијата флуорот пристигнува во коскениот ткиво, каде што исто така лесно се вградува. Коските претставуваат депо на флуор во организмот и имаат значајна улога во биокинетиката на овој елемент. Со напредување на возраста концентрацијата на флуор во коскениот ткиво се зголемува. Флуорот не е иреверзибилно депониран во коскениот ткиво, што значи дека е можно неговото мобилизирање од овие депоа.

Концентрацијата на флуорот во меките ткива е помала од концентрацијата на овој елемент во крвната плазма, освен во бубрезите. За разлика од цврстите ткива, концентрацијата на флуорот во меките ткива не се зголемува со текот на годините, ниту пак зависи од експозицијата на организмот на овој елемент.

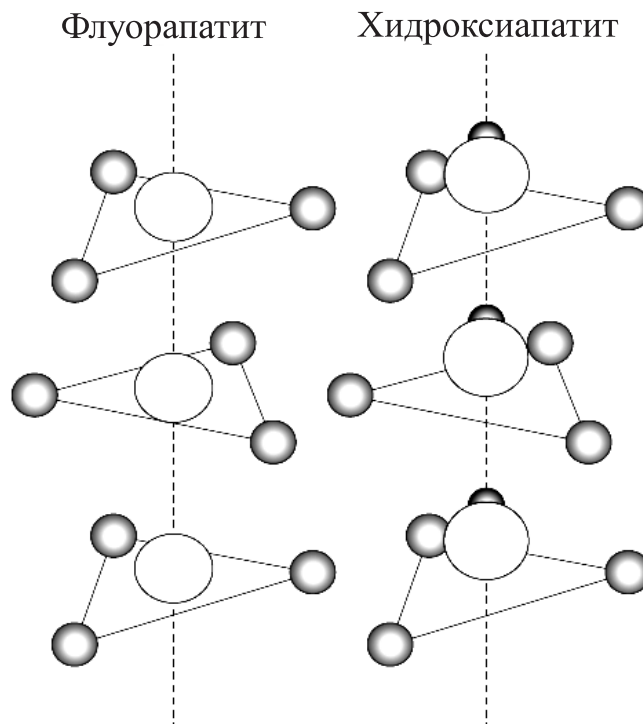
Концентрацијата на флуор во емајлот (освен во неговите најповршни слоеви), во дентинот и во цементот е константна. Овие ткива не учествуваат во биокинетиката на флуорот, односно, не подlegнуваат на ремоделирање, каков што е случајот со коските. Еднаш вграден флуор во забните ткива неможе повеќе од нив да се ослободи. Концентрацијата на флуор во емајлот, е два пати поголема на неговите површински слоеви и постепено се смалува кон емајло-дентинската граница. Во дентинот концентрацијата на флуор е поголема во споредба со неговата концентрација во емајлот. Најголема концентрација на флуорот во дентинот се регистрира во одонтбластичниот слој (веднаш над пулпа). Цементот содржи најголема концентрација на флуор, дури поголема и од коскениот ткиво. Концентрацијата на флуорот во цементот е

најголема бидејќи ова забно ткиво е со најмала дебелина. Поради тоа ова ткиво е многу поизложено на ткивните течности богати со флуор. Концентрацијата на флуорот во внатрешните слоеви на цементот е помала во споредба со неговата концентрација во надворешните слоеви.

Флуорот има својство да поминува низ плацентата, од крвта на мајката непречено пристигнува во крвта на фетусот. Кај фетусот флуорот интензивно се вградува во цврстите ткива, во текот на нивниот развој.

Флуорот се елиминира од организмот преку урината (60-70%), преку фецесот (15%), преку потење, солзите и мајчиното млеко (15%). Преку урината се исфрла јонската фракција на флуорот.

Долго време се сметало дека флуорот своето профилактичко дејство, во однос на појавата на кариесот на забите го остварува благодарение на своето вградување во кристалите на хидроксиапатитот. Механизмот на вградување на флуорот во кристалите на хидроксиапатитот во текот на развојот на емајлот (амелогенеза) се одвива според принципот на хетеројонска замена. Притоа ОН групата од кристалите се заменува со флуор од крвта. Со вградување на F во кристалите на хидроксиапатитот се создава флуорхидроксиапатит (слика 13.2). Исто така се сметало дека локално аплицираниот F на површината на емајлот на забот треба да се задржи подолго на тоа место за да се овозможи супституцијата на ОН групата со јони на F. Меѓутоа, поновите истражувања покажале дека F вграден во хидроксиапатитот на емајлот на забот (системски или локално) не е најважниот механизам на неговото превентивно делување.



Слика 13.2: Кристална структура на флуорапатитот е покомпактна од кристалната структура на хидроксиапатитот

Во текот на локалната апликација (импрегнација на забите со флуоридни течности или примена на забни пасти со различна концентрација на флуор) се нанесуваат мали количини на флуориди, со помош на кои денталниот плак се натопува со овие анјони. И во

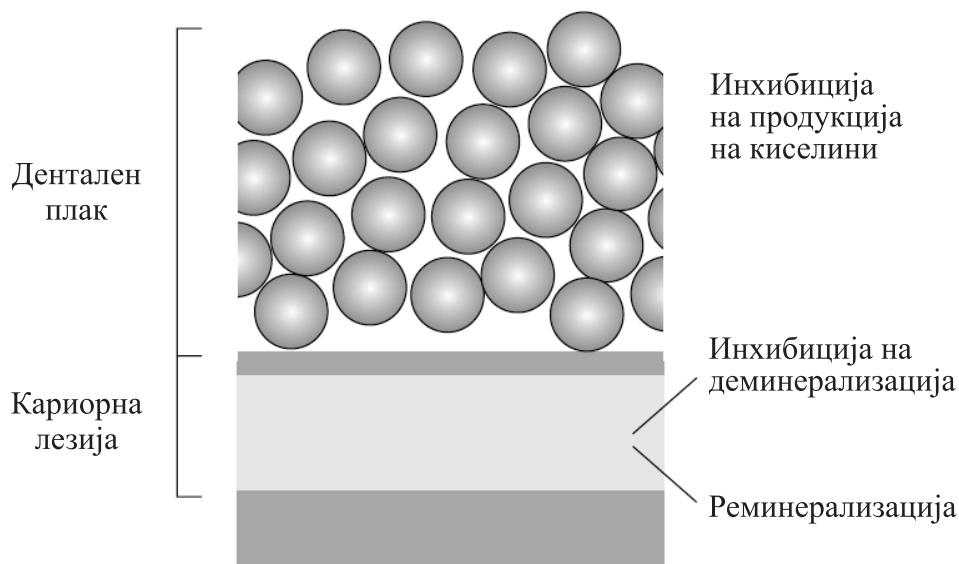
двата случаи (системско и локално внесување) се очекуваат одредени ефекти во микросредината на плакот кои се значајни за одржувањето на оралното здравје (слика 13.3).

Ефектите на флуоридите во денталниот плак се:

1. Флуоридите ја инхибираат активноста на ензимот енолаза, еден од клучните ензими за одвивање на процесот на гликолиза.
2. Со инхибиција на енолазата се прекинува гликолизата, основниот катаболички пат на сите шеќери.
3. Со прекинување на глукозата се оневозможуваат бројни метаболни активности, но она што е многу важно е дека се оневозможува обновувањето на АТР.
4. Со блокирањето на синтезата на АТР се оневозможува фосфорилирањето на молекулата на глукоза во глукозо 6-фосфат. На тој начин се оневозможува искористувањето на овој шеќер во катаболички, односно анаболички цели. Конкретно, оневозможена е гликогенезата, а тоа значи дека е оневозможена синтезата на бактерискиот гликоген.
5. Со инхибиција на синтезата на гликогенот се оневозможува ослободување на кисели метаболити, односно најзначајниот - млечната киселина.

Исто така флуорот ги инхибира и ензимите кои содржат хем (уреаза и каталаза). Инхибицијата настанува како резултат на врзувањето на F за хемот што ќе предизвика инхибиција на ензимот каталаза. На тој начин се намалува антиоксидативната заштита на бактериската клетка. Тоа предизвикува акумулација на слободни радикали и оксидативно оштетување на бактериската структура.

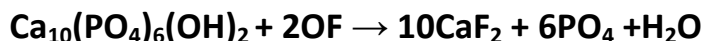
Докажано е дека F е потентен инхибитор на бактериската уреаза според принципот на некомпетитивна инхибиција. Со инхибирање на овој ензим се пореметува метаболизот на азотните соединенија во бактериската клетка.



Слика 13.3: Механизам на делување на флуоридите. Флуоридите ја инхибираат продукцијата на киселините и растворливоста на кристалите на хидроксиапатитот и ја стимулираат реминерализацијата.

Локалното дејство на флуоридите е особено значајно, бидејќи со постојано внесување на мали количество на овој елемент се обезбедуваат следните позитивни ефекти:

1. Се овозможува преовладување на процесот на реминерализација за сметка на процесот на деминерализација, а со тоа се оневозможува губиток на дел од минералната содржина на емајлот.
2. Со локалната апликација се одвива следната реакција на површината на емајлот:



Ослободениот  $\text{CaF}_2$  е лесно растворлив во водена средина. Меѓутоа во оралната средина неговата растворливост ја намалуваат фосфатните јони кои овозможуваат создавање на депо на флуориди на површината на забот.

3. Со намалување на рН вредноста во депото на  $\text{CaF}_2$  под 5,5 се овозможува неговото растворање и ослободување на флуоридни јони кои ја спречуваат деминерализацијата на емајлот. Флуоридните јони, кои се карактеризираат со голема реактивност, се врзуваат за кристалите на хидроксиапатитот и овозможуваат создавање на флуороапатит кој, пак, се карактеризира со помала растворливост.
4. Зголемената локална киселост може да предизвика ослободување на HF (флуороводородна киселина) од  $\text{CaF}_2$ , која дифундира низ слоевите на плакот предизвикувајќи инхибиција на ензимот енолаза.
5. HF лесно се пробива помеѓу емајловите призми и кристалите на хидроксиапатитот во подлабоките слоеви на емајлот каде што под влијание на H јони е започната деминерализацијата. На тоа место се одвива хетеројонска измена и создавање на флуороапатит како и реакција со ослободените јони на калциум со цел да се создаде  $\text{CaF}_2$ . Оваа молекула се таложи и создава препрека за понатамошна деминерализација со што се обезбедува преовладување на реминерализацијата што претставува терапевско дејство.

Ако се согледаат дејствата на флуоридите, како оние на површината на емајлот така и оние во денталниот плак, може да се увиди значењето на флуорот од превентивно-терапевски аспект.

## Литература

- Ambudkar IS. Regulation of calcium in salivary gland secretion. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000;11:4–25.
- Andic J, Popovic V. Mehanizmi zastite oralne mukoze. *Stom Glasnik Srbije* 1987; 5:343
- Andic J. Oralna homeostaza. Beograd: Nauka 1995
- Andic J. Oralna homeostaza. Beograd: Nauka 2000
- Andic J. Osnovi medicinske biohemije. Beograd: Nauka, 1994
- Andic J. Osnovi oralne fiziologije i biohemije. Beograd: Naucna knjiga, 1981
- Andic J. Osnovi oralne fiziologije i biohemije. Beograd: Naucna knjiga, 1990
- Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, Newman HN, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol* 2002; 29(3): 189–94.
- Baum BJ, Ship JA, Wu AJ. Salivary gland function and aging: a model for studying the interaction of aging and systemic disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 1992;4:53–64.
- Baum BJ. Evaluation of stimulated parotid saliva flow rate in different age groups. *J Dent Res* 1981;60:1292–6.
- Bolscher JGM, Groenink J, van der Kwaak JS, et al. Detection and quantification of MUC7 in submandibular, sublingual, palatine, and labial saliva by antipeptide antiserum. *J Dent Res* 1999;78:1362–9.
- Bolscher JGM, Nazmi K, Ran LJ, van Engelenburg FAC, Schuitemaker H, Veerman ECI, Nieuw Amerongen AV. Inhibition of HIV-1 IIB and clinical isolates by human parotid, submandibular, sublingual and palatine saliva. *Eur J Oral Sci* 2002;110:149–56.
- Centers for Disease Control and Prevention. Public health and aging: trends in aging—United States and worldwide. *JAMA* 2003;289:1371–3.
- Challacombe SJ, Percival RS, Marsh PD. Age-related changes in immunoglobulin isotypes in whole and parotid saliva and serum in healthy individuals. *Oral Microbiol Immunol* 1995;10:202–207.
- Cook DI, Van Lennep EW, Roberts ML, Young JA. Secretion by the major salivary glands. In: Johnson LR, ed., *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 3rd edn. New York: Raven Press; 1994:1061–1117.
- Dodds MWJ, Johnson DA, Yeh CK. Health benefits of saliva: a review. *J Dent* 2005;33:223–33.
- Dorđević V, Pavlović D, Kocić G. Biochemistry of free radicals. 1st ed. Niš: Sirius Print; 2000.
- Ghezzi EM, Ship JA. Aging and secretory reserve capacity of major salivary glands. *J Dent Res* 2003;82:844–8.
- Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, Salsman S, Floyd RA. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radic Biol Med* 2000; 28(10): 1456–62
- Ивановски Ќ, Имунолошки статус кај заболени од рекурентен афтозен стоматит. (магистерски труд) Скопје 1993:8-19
- Karıncaoglu Y, Batcioglu K, Erdem T, Esrefoglu M, Genc M. The levels of plasma and salivary antioxidants in the patient with recurrent aphthous stomatitis. *J Oral Pathol Med* 2005; 34(1): 7–12.
- Kasai H and Augustine GJ. Cytosolic Ca<sup>2+</sup> gradients triggering unidirectional fluid secretion from exocrine pancreas. *Nature* 1990;348:735–8.
- Klein I, Nagler RM, Toffler R, van Der Vliet A, Reznick AZ. Effect of cigarette smoke on oral peroxidase activity in human saliva: role of hydrogen cyanide. *Free Radic Biol Med* 2003; 35(11): 1448–52.
- Krsljak E. Oralna fiziologija. Beograd: Sluzbeni glasnik 2009
- Levine M. Topic in dental biochemistry. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2011

- Mandić B, Todorović T.* Antioxidant status in oral cancer patients. *Oral Oncology* 2002; (8): 38–42.
- Melvin JE, Yule D, Shuttleworth T, Begenisich T. Regulation of fluid and electrolyte secretion in salivary gland acinar cells. *Annu Rev Physiol* 2005;67:445–69.
- Moore S, Calder KA, Miller NJ, Rice-Evans CA.* Antioxidant activity of saliva and periodontal disease. *Free Radic Res* 1994; 21(6): 417–25.
- Nagler RM, Klein I, Zarzhevsky N, Drigues N, Reznick AZ.* Characterization of the differentiated antioxidant profile of human saliva. *Free Radic Biol Med* 2002; 32(3): 268–77.
- Nakamoto T, Srivastava A, Romanenko VG, et al. Functional and molecular characterization of the fluid secretion mechanism in human parotid acinar cells. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007;292:R2380–90.
- Накова М, Ивановски К, Пешевска С, Радојкова В. Микробиолошки и клинички ефекти на Hibidex-DAP препаратот во развој на плакот и гингивитите. *Макед. Стоматол. Преглед* 1997;21 (1-2):3-8
- Накова М, Ивановски К, Пешевска С. Основи на оралната физиологија и биохемија. Скопје, Стоматолошки факултет 2002
- Накова М. Прилог кон познавањето на протеините, јагленохидратите и липидите во плазмата и плунката од пациенти со пародонтопатија. (магистерски труд) Скопје, 1976: 62-74
- Nauntofte B. Regulation of electrolyte and fluid secretion in salivary acinar cells. *Am J Physiol* 1992;263:G823–37.
- Nieuw Amerongen AV, Bolscher JGM, Veerman ECI. Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? *Caries Res* 2004;38:247–53.
- Nieuw Amerongen AV, Veerman ECI. Saliva—the defender of the oral cavity. *Oral Dis* 2002;8:12–22.
- Nishioka T, Maki K, Kimura M, Takahama U.* Determination of salivary peroxidase activity in human mixed whole saliva. *Arch Oral Biol* 2003; 48(5): 397–400
- Osterberg T, Landahl S, Hedegard B. Salivary flow, saliva pH and buffering capacity in 70-year old men and women. Correlation to dental health, dryness in the mouth, disease and drug treatment. *J Oral Rehabil* 1984;11:157–70.
- Ozmeric N.* Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta* 2004; 343(1–2): 1–16.
- Park K, Evans RL, Watson GE, et al. Defective fluid secretion and NaCl absorption in the parotid glands of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger-deficient mice. *J Biol Chem* 2001;276:27042–50.
- Pavlica D, Todorović T.* Saliva – diagnostic fluid? *Stom Glas S* 2001; (48): 137–41.
- Pruitt KM, Kamau DN, Miller K, Mansson-Rahemtulla B, Rahemtulla F.* Quantitative, standardized assays for determining the concentrations of bovine lactoperoxidase, human salivary peroxidase, and human myeloperoxidase. *Anal Biochem* 1990; 191(2): 278–86.
- Reznick AZ, Klein I, Eiserich JP, Cross CE, Nagler RM.* Inhibition of oral peroxidase activity by cigarette
- Romanenko V, Nakamoto T, Srivastava A, Melvin JE, Begenisich T. Molecular identification and physiological roles of parotid acinar cell maxi-K channels. *J Biol Chem* 2006;281:27964–72.
- Romanenko VG, Nakamoto T, Srivastava A, Begenisich T, Melvin JE. Regulation of membrane potential and fluid secretion by Ca<sup>2+</sup>-activated K channels in mouse submandibular glands. *J Physiol* 2007;581:801–17.
- Ruissen ALA, van der Reijden WA, van 't Hof W, Veerman ECI, Nieuw Amerongen AV. Evaluation of the use of xanthan as vehicle for cationic antifungal peptides. *J. Control Release* 1999;60:49–56.
- Ruttiger L, Sausbier M, Zimmermann U, et al. Deletion of the Ca<sup>2+</sup>- activated potassium (BK) alpha-subunit but not the BKbeta1-subunit leads to progressive hearing loss. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:12922–7.



- Sausbier M, Hu H, Arntz C, et al. Cerebellar ataxia and Purkinje cell dysfunction caused by Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channel deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:9474–8.
- Scott J, Flower EA, Burns J. A quantitative study of histological changes in the human parotid gland occurring with adult age. *J Oral Pathol* 1987;16:505–510.
- Sculley DV, Langley-Evans SC*. Periodontal disease is associated with lower antioxidant capacity in whole saliva and evidence of increased protein oxidation. *Clin Sci (Lond)* 2003; 105(2): 167–72.
- Sculley DV, Langley-Evans SC*. Salivary antioxidants and periodontal disease status. *Proc Nutr Soc* 2002; 61(1): 137–43.
- Ship JA, Baum BJ. Is reduced salivary flow normal in old people? *Lancet* 1990;336:1507.
- Ship JA, Nolan NE, Puckett SA. Longitudinal analysis of parotid and submandibular salivary flow rates in healthy, different-aged adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1995;50:M285–9.
- Tabak LA. In defense of the oral cavity: structure, biosynthesis, and function of salivary mucins. *Annu Rev Physiol* 1995;57:547–64.
- Tenovuo J, Grahn E, Lehtonen OP, Hyye T, Karhuvaara L, Vilja P. Antimicrobial factors in saliva: ontogeny and relation to oral health. *J Dent Res* 1987;66:475–79.
- Thorneloe KS, Meredith AL, Knorn AM, Aldrich RW, Nelson MT. Urodynamic properties and neurotransmitter dependence of urinary bladder contractility in the BK channel deletion model of overactive bladder. *Am J*
- Todorovic T, Dozic I (et al.). Beograd: Sluzbeni glasnik 2009
- Todorović T, Dožić I, Pavlica D, Marković D, Brajović G, Stefanović G, et al*. Using of saliva as a diagnostic fluid in dentistry. *Srpsi Arhiv*. In press 2005.
- Todorović T, Ljušković B, Jović P, Pejović J*. Salivary enzymes – possible biochemical markers of periodontal disease. *Stom Glas S* 1999; (46): 7–14.
- Todorovic T. Oralna biohemija. Beograd: Cigoja 2006
- Tojyo Y, Tanimura A, Nezu A, Morita T. Possible mechanisms regulating ATP- and thimerosal-induced Ca<sup>2+</sup> oscillations in the HSY salivary duct cell line. *Biochim Biophys Acta* 2001;1539:114–21.
- Turner RJ. Mechanisms of fluid secretion by salivary glands. *Ann NY Acad Sci* 1993;694:24–35.
- Veerman ECI, Bank CMC, Namavar F, Appelmelk BJ, Bolscher JGM, Nieuw Amerongen AV. Sulfated glycans on oral mucin as receptors for *Helicobacter pylori*. *Glycobiology* 1997;7:737–43.
- Veerman ECI, Ligtenberg AJM, Schenkels LCPM, Walgreen-Weterings E, Nieuw Amerongen AV. Binding of human high-molecular-weight salivary mucins (MG1) to *Hemophilus parainfluenzae*. *J Dent Res* 1995;74:351–7.
- Werner ME, Zvara P, Meredith AL, Aldrich RW, Nelson MT. Erectile dysfunction in mice lacking the large-conductance calcium-activated potassium (BK) channel. *J Physiol* 2005;567:545–56.
- Wong DT. Salivary diagnostics powered by nanotechnologies, proteomics, and genomics. *J Am Dent Assoc* 2006;137(3):313–21.
- Wu AJ, Atkinson JC, Fox PC, Baum BJ, Ship JA. Cross-sectional and longitudinal analyses of stimulated parotid salivary constituents in healthy, different-aged subjects. *J Gerontol* 1993;48:M219–24.
- Zappacosta B, Persichilli S, De Sole P, Mordente A, Giardina B*. Effect of smoking one cigarette on antioxidant metabolites in the saliva of healthy smokers. *Arch Oral Biol* 1999; 44(6): 485–8.

