УНИВЕРЗИТЕТ „Св. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ ВО СКОПЈЕ
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - СКОПЈЕ

# ОРАЛНА БИОХЕМИЈА И ФИЗИОЛОГИЈА

ПРОФ. Д-Р ЌИРО ИВАНОВСКИ
ПРОФ. Д-Р СНЕЖАНА ПЕШЕВСКА
ПРОФ. Д-Р КАТАРИНА ДИРЈАНСКА
ПРОФ. Д-Р СТЕВИЦА РИСТОСКА

Скопје, 2022

**УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“**
**СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - СКОПЈЕ**

**Ќиро Ивановски**

**Снежана Пешевска** **Катарина Дирјанска**

**Стевица Ристоска**

# ОРАЛНА БИОХЕМИЈА И ФИЗИОЛОГИЈА

**Скопје, 2022**

# ОРАЛНА БИОХЕМИЈА И ФИЗИОЛОГИЈА

Проф. д-р Ќиро Ивановски
Проф. д-р Снежана Пешевска
Проф. д-р Катерина Дирјанска
Проф. д-р Стевица Ристоска

***Издавач:***
Стоматолошки факултет - Скопје
Универзитет „Св. Кирил и Методиј“,

***Рецензенти:***
Проф.Мирјна Поповска
Проф.д-р Ицко Ѓоргоски

***Лектор:***
Валентина Бачваровска

***Тираж:***
100 примероци

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

612.31.015(075.8)
612.31:577.1(075.8)

**ОРАЛНА биохемија и физиологија** / Ќиро Ивановски... [и др.]. - Скопје : Стоматолошки факултет, 2022. - 308 стр. : илустр. ; 25 см

Други автори: Снежана Пешевска, Катарина Дирјанска, Стевица Ристоска. - Библиографија: стр. 264-273

ISBN 978-608-4620-29-7

1. Ивановски, Ќиро [автор] 2. Пешевска, Снежана [автор] 3. Дирјанска, Катарина [автор] 4. Ристоска, Стевица [автор]
а) Орална биохемија - Високошколски учебници б) Орална физиологија - Високошколски учебници

COBISS.MK-ID 56110853

# ПРЕДГОВОР

Од излегувањето на учебникот Орална биохемија помина речиси една декада. Учебникот, за тоа време ги задоволуваше потребите на студентите за стекнување на доволно знаење од областа на биохемиските процеси кои се одвиваат во оралната празнина. Но, десет години се долг временски период, за научната мисла во било која област од стоматологијата да остане непроменета. Научните откритија кои се однесуваат на биохемиските и физиолошките процеси на оралните ткива и на основниот орален медиум - плунката, во последнава декада бележат интензивен напредок. Тоа особено се однесува на откривање на нови класи на саливарни пептиди, разјаснување на функцијата на саливарните пептиди и нивната улога во одржувањето на оралното здравје. Научните откритија за користење на плунката како дијагностички медиум, исто така бележат голем напредок.

Во учебникот Орална биохемија и физиологија, кој ќе го користат студентите веќе од наредната учебна година, внесени се новините со кои е збогатена оваа област од стоматологијата. За реализација на овој учебник од голема помош ни беа и сопствените резултати до кои дојдовме во текот на реализација на поголем број научни студии, а се однесуваат на испитување на различни составни компоненти на плунката. Имено, во последниве пет години откако соодветно ја опремивме биохемиската лабораторија, како дел од научно-истражувачкиот центар на Стоматолошкиот факултет, започнавме со реализација на голем број биохемиски истражувања и проекти. Дел од нив се насочени кон утврдување на референтни вредности на одделни компоненти во плунката, како што се: различни електролити, протеини, ензими и деградациони продукти. За подобро разбирање на најчестите орални заболувања, дел од проучувањата на саливарните компоненти се доведуваат во корелација со кариесот или пародонтопатијата. Особен интерес предизвикуваат истражувањата кои се насочени да ги утврдат корелациите на саливарните компоненти, со соодветните компоненти во

серумот. Целта пак, на овие последни истражувања, е утврдување на можностите за користење на плунката како дијагностички медиум.

Долгогодишното проучување на проблематиката на биохемиските и физиолошките процеси во оралната празнина, како и големиот број на лабораториски истражувања, беа предуслов за издавање на овој учебник.

Материјата е систематизирана во дванаесет поглавја, кои се надоврзуваат, следствено едно на друго, за студентот да може полесно да ја совлада предвидената наставна материја. Учебникот освен за студенти од прв циклус на студии по дентална медицина, претставува корисно четиво и за суденти на втор и трет циклус на студии по стоматологија, како и за специјализанти од различни области во стоматологијата.

Со изучување на наставната материја која е обработена во овој учебник, студентите ќе ги совладаат основните постулати на оралните биохемиски и физиолошки процеси. Тоа во голема мерка ќе им го олесни разбирањето на сложените интеракции помеѓу оралните биофилмови и одбранбените капацитети на оралните ткива и на плунката. Воедно, наставната материја во овој учебник, претставува основа и за разбирање на сложените етиопатогентски случувања на пародонталната болест, кариесот и други бактериски, габични и вирусни заболувања во устата.

проф. д-р **Ќиро Ивановски**

# СОДРЖИНА

1. **ОРАЛНА ХОМЕОСТАЗА, ПЛУНКОВНИ ЖЛЕЗДИ И РЕГУЛАЦИЈА НА СЕКРЕЦИЈАТА НА ПЛУНКАТА....** 13

**АНАТОМО-ХИСТОЛОШКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПЛУНКОВНИТЕ ЖЛЕЗДИ** ..... 14

**Ацинусни клетки** ..... 16

**Дуктусни клетки** ..... 18

**Крвни садови** ..... 20

**Инервација** ..... 21

**ГОЛЕМИ ПЛУНКОВНИ ЖЛЕЗДИ** ..... 21

**РЕГУЛАЦИЈА НА СЕКРЕЦИЈАТА НА ПЛУНКАТА** ..... 25

**ВЛИЈАНИЕ НА РАЗЛИЧНИ ФАКТОРИ ВРЗ КОЛИЧЕСТВОТО НА ИЗЛАЧЕНА ПЛУНКА** ..... 31

**Нестимулирана плунка** ..... 31

**Стимулирана плунка** ..... 32

**ВЛИЈАНИЕ НА РАЗЛИЧНИ ФАКТОРИ ВРЗ КВАЛИТАТИВНИТЕ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПЛУНКАТА** ..... 33

**Количество на излачена плунка** ..... 33

**Должина на стимулација** ..... 36

**Природа на стимулусот** ..... 36

**2. МЕХАНИЗАМ НА СЕКРЕЦИЈА НА ПЛУНКАТА, БИОХЕМИСКИ СОСТАВ НА ПЛУНКАТА** ..... 37

**МЕХАНИЗАМ НА СЕКРЕЦИЈА НА ВОДА И НА ЕЛЕКТРОЛИТИ** ..... 38

**Секреција на калциум и фосфати** ..... 45

**БИОХЕМИСКИ СОСТАВ НА ПЛУНКАТА** ..... 49

**Плунка и перцепција на вкусовите дразби** ..... 52
**Концентрација на калциум и фосфати во плунка** ..... 53

**3. САЛИВАРНИ ПРОТЕИНИ** ..... 57

**ОПШТИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА САЛИВАРНИТЕ ПРОТЕИНИ** ..... 58

**МЕХАНИЗАМ НА СЕКРЕЦИЈА НА САЛИВАРНИТЕ ПРОТЕИНИ** ..... 64

**4. АНТИМИКРОБНИ ПЕПТИДИ ПРИСУТНИ ВО ПЛУНКАТА** ..... 69

**ЛИЗОЗИМ** ..... 71
**Бактериолитично дејство на лизозимот** ..... 72

**ЛАКТОФЕРИН** ..... 74
**Антибактериско дејство на лактоферинот** ..... 76
**Антивирусно дејство на лактоферинот** ..... 77
**Фунгицидно дејство на лактоферинот** ..... 78

**ХИСТАТИНИ** ..... 79
**Создавање на дентална пеликула** ..... 82
**Антибактериско и фунгицидно својство на хистатинот** ..... 83
**Врзување на јони на метали** ..... 85
**Инхибиција на бактериските и ткивните протеолитички ензими и медијатори значајни за патогенезата на пародонталната болест** ..... 85
**Врзување на полифеноли во оралната средина** ..... 87
**Заздравување на рани** ..... 87

**ДЕФЕНЗИНИ** ..... 89

**КАЛПРОТЕКТИНИ** ..... 93

**КАТЕЛИЦИДИНИ** ..... 94

**АДРЕНОМЕДУЛИН** ..... 96

**ПРОТЕИНИ КОИ ЈА ЗГОЛЕМУВААТ ПРОПУСТЛИВОСТА НА БАКТЕРИСКАТА КЛЕТОЧНА МЕМБРАНА-BPI (BACTERICIDAL/PERMEABILITY INCREASING PROTEIN)** ..... 96

**5. ДРУГИ САЛИВАРНИ ПРОТЕИНИ КОИ УЧЕСТВУВААТ ВО НЕСПЕЦИФИЧНАТА ИМУНОЛОШКА ЗАШТИТА НА ОРАЛНАТА ПРАЗНИНА** ..... 97

**МУЦИНИ (сијаломуцини)** ..... 98

**Обложувачка улога на муцинот** ..... 105

**Антимикробно дејство на муцинот** ..... 106

**САЛИВАРНА АМИЛАЗА (САМОЧИСТЕЊЕ НА ОРАЛНАТА ПРАЗНИНА)** ..... 110

**Биохемиски карактеристики на саливарната амилаза** ..... 113

**ПРОТЕИНИ БОГАТИ СО ПРОЛИН - PROLIN RICH PROTEINS (PRP)** ..... 115

**Заштита на емајлот на забот** ..... 117

**Врзување на диететските танини** ..... 118

**Антимикробно дејство** ..... 119

**Создавање на стекнатата дентална пеликула** ..... 120

**ЛИНГВАЛНА ЛИПАЗА** ..... 120

**САЛИВАРНА КАРБОАНХИДРАЗА (СА)** ..... 121

**ОРАЛНА ПЕРОКСИДАЗА** ..... 123

**ЦИСТАТИНИ** ..... 124

**СТАТЕРИНИ** ..... 128

**6. САЛИВАРНИ ПРОТЕИНИ КОИ УЧЕСТВУВААТ ВО СПЕЦИФИЧНА ИМУНОЛОШКА ЗАШТИТА** ..... 131

**КАРАКТЕРИСТИКИ НА ИМУНОГЛОБУЛИНИ** ..... 132

**Основна структура на антителата** ..... 132

**САЛИВАРЕН ИМУНОГЛОБУЛИН А (sIgA)** ..... 137

**ЧАПЕРОКИНИ (*HSP70/HSPA*)** ..... 143

**7. РЕГУЛАТОРИ НА ЕЛЕКТРОХЕМИСКАТА РЕАКЦИЈА, АНТИОКСИДАТИВНА ЗАШТИТА И ЗНАЧЕЊЕ НА ПЛУНКАТА** ..... 145

**РЕГУЛАТОРИ НА ЕЛЕКТРОХЕМИСКАТА РЕАКЦИЈА НА ПЛУНКАТА** ..... 146

**Бикарбонатен пуфер** ..... 147

**Фосфатен пуфер** ..... 148

**Протеински пуфер** ..... 149

**АНТИОКСИДАТИВНА ЗАШТИТА НА ПЛУНКАТА** ..... 151

**Орална пероксидаза, каталаза, супероксид-дизмутаза, глутатион пероксидаза, глутатион редуктаза** ..... 151

**Неензимските антиоксиданти** ..... 154

**САЛИВАРНИ ЕНЗИМИ И ЛИПИДИ ПРИСУТНИ ВО ПЛУНКАТА** ..... 155

**Саливарни ензими значајни за дијагноза на пародонтопатии** ..... 155

**Липиди** ..... 156

**ЗНАЧЕЊЕ НА ПЛУНКАТА ПРИ ОДРЖУВАЊЕ НА ОРАЛНОТО ЗДРАВЈЕ** ..... 158

**8. БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ОРАЛНИТЕ СВРЗНО-ТКИВНИ СТРУКТУРИ И БИОЛОШКА МИНЕРАЛИЗАЦИЈА** ..... 163

**КОЛАГЕН** ..... 164

**Систем на еластични и окситалански влакна** ..... 166

**Глукозоаминогликани** ..... 166

**АЛВЕОЛАРНА КОСКА, ЗАБИ И ПЕРИОДОНЦИУМ** ..... 168

**БИОХЕМИСКИ КАТРАКТЕРИСТИКИ НА ФИБРИЛАРНИОТ КОЛАГЕН** ..... 171

**Биохемиски карактеристики на синтезата на колагенот** ..... 177

**БИОЛОШКА МИНЕРАЛИЗАЦИЈА** ..... 178

**Структура на алвеоларната коска** ..... 181

**Како се одвива биолошката минерализација?** ..... 182

***Биохемиски состав и градба на алвеоларната коска*** ..... 186

**Ремоделирање на алвеоларната коска** ..... 187

***Механизам на калцификација на алвеоларната коска*** ..... 187

***Механизам на разградба на коската (ресорпција)*** ..... 188

***Процеси на ремоделирање на коските*** ..... 188

**9. БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ЗАБНИТЕ ТКИВА** ..... 189

**ЕМАЈЛ НА ЗАБОТ (SUBSTANTIA ADAMANTINA)** ..... 191

**Промени во составот на хидроксиапатитот** ..... 195

**Улога на саливарните електролити во зачувувањето на емајлот на забот** ..... 198

**ДЕНТИН** ..... 201

**ЦЕМЕНТ НА КОРЕНОТ НА ЗАБОТ** ..... 203

**ЗАБНА ПУЛПА** ..... 206

**10. СТРУКТУРА И ФУНКЦИЈА НА СТЕКНАТАТА ДЕНТАЛНА ПЕЛИКУЛА** ..... 207

**СОСТАВ НА ДЕНТАЛНАТА ПЕЛИКУЛА** ..... 211

**Протеини** ..... 212

**Јаглехидрати** ..... 215

**Липиди** ..... 215

**Функции на денталната пеликула** ..... 216

***Лубрикација на површината на забот*** ..... *216*

***Денталната пеликула како семипермеабилна мембрана*** ..... *216*

***Хомеостаза на минерали*** ..... *218*

***Модулација на бактериската адхеренција*** ..... *218*

**11. БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА БИОФИЛМОТ** .. 219

**БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА СОЗДАВАЊЕТО НА БИОФИЛМОТ** ..... 221

**Протеински матрикс на биофилмот** ..... 226

**Адхезивни својства на протеинскиот матрикс** ..... 227

**Екстраклеточните полисахарди** ..... 231

**Услови за синтеза на декстран и леван** ..... 234

**Значење на екстраклеточните полисахариди** ..... 235

**Метаболичка активност на бактериите во биофилмот** ..... 238

**Биохемиски процеси на бактериите во биофилмот** ..... 243

***Синтеза и разградба на гликогенот (гликогеногенеза и гликогенолиза)*** ..... *243*

***Катаболизам на глукоза (гликолиза)*** ..... *245*

***Липогенеза*** ..... *248*

***Катаболизам на уреа*** ..... *250*

***Синтеза на аминокиселини*** ..... *251*

***Синтеза на токсични амини*** ..... ***252***

**ПРОМЕНИ НА pH ВО МИРКОСРЕДИНАТА НА БИОФИЛМОТ** ..... 254

**Класичен концепт на промена на pH во биофилмот** ..... 254

**Незрел биофилм** ..... 254

**Зрел биофилм** ..... 256

**Концепт на промена на pH во биофилмот базиран на составот на неговите метаболички продукти** ..... 257

***Намалување на pH-вредноста на плакот*** ..... 258

***Зголемување на вредностите на pH на плакот*** ..... 259

**12. БИОФИЛМОТ И ОРАЛНАТА ХОМЕОСТАЗА** ..... 261

**САЛИВАРЕН КЛИРЕНС И ОРАЛНА ХОМЕОСТАЗА** ..... 263

**Модели на саливарен клиренс** ..... 264

***А. Модел на Swenander Lanke*** ..... 264

***Б. Модел на Dawes*** ..... 264

**Голтање** ..... 265

**Клиренс на материи кои имаат можност да се поврзат со оралните структури** ..... 266

***Флуориди*** ..... 266

***Хлорхексидин*** ..... 266

***Микроорганизми и епителни клетки*** ..... 267

**Фактори кои влијаат врз саливарниот клиренс** ..... 267

***Волумен на плунка останат во оралната празнина после актот на голтање (резидуелен волумен)*** ..... 268

***Волумен на плунка присутен во устата непосредно пред актот на голтање (Vmax)*** ..... 268

***Лачење на нестимулирана плунка*** ..... 269

***Лачење на стимулирана плунка*** ..... 271

***Плунката како филм*** ..... 272

**Клиренс на одредени супстанции на различни орални површини** ..... 273

***Јаглехидрати внесени преку исхраната*** ..... 273

**ШТЕТНИТЕ ЕФЕКТИ НА БИОФИЛМОТ ВРЗ ПАРОДОНТАЛНИТЕ ТКИВА** ..... 275

**ШТЕТНИТЕ ЕФЕКТИ НА БИОФИЛМОТ ВРЗ ЦВРСТИТЕ ЗАБНИ СУПСТАНЦИИ** ..... 277

## ОРАЛНА БИОХЕМИЈА И ФИЗИОЛОГИЈА

**Калциумови соли во денталниот плак и нивното значење во процесите на деминерализација и реминерализација на забите** ..... 277

**МЕРКИ НА ПРЕВЕНЦИЈА НА ШТЕТНИТЕ ЕФЕКТИ НА БИОФИЛМОТ** ..... 282

**Метаболизам на флуор** ..... 284

# 1

# ОРАЛНА ХОМЕОСТАЗА, ПЛУНКОВНИ ЖЛЕЗДИ И РЕГУЛАЦИЈА НА СЕКРЕЦИЈАТА НА ПЛУНКАТА

## АНАТОМО-ХИСТОЛОШКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПЛУНКОВНИТЕ ЖЛЕЗДИ

### Ацинусни клетки

### Дуктусни клетки

### Крвни садови

### Инервација

## ГОЛЕМИ ПЛУНКОВНИ ЖЛЕЗДИ

## РЕГУЛАЦИЈА НА СЕКРЕЦИЈАТА НА ПЛУНКАТА

## ВЛИЈАНИЕ НА РАЗЛИЧНИ ФАКТОРИ ВРЗ КОЛИЧЕСТВОТО НА ИЗЛАЧЕНА ПЛУНКА

### Нестимулирана плунка

### Стимулирана плунка

## ВЛИЈАНИЕ НА РАЗЛИЧНИ ФАКТОРИ ВРЗ КВАЛИТАТИВНИТЕ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПЛУНКАТА

### Количество на излачена плунка

### Должина на стимулација

### Природа на стимулусот

Улогата на плунката како биолошки флуид, во одржувањето на оралното и системското здравје на човекот, е неспорна и општо прифатена во стоматологијата и медицината. Нејзиното присуство во устата ги овозможува: влажноста, говорењето, џвакањето, голтањето и перцепцијата на голем број сензации. Сето тоа е предуслов за една индивидуа да се чувствува добро. 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 плунковните жлезди.

Тоа се егзокрини органи кои се одговорни за создавање на плунката. Плунковните жлезди се класифицираат според големината, според локализацијата и според хистолошката градба. Во жлездениот апарат се вбројуваат три пара на големи плунковни жлезди: *glandulae parotis, glandulae submandibulares* и *glandulae sublinguales*, како и многубројни, мали мукозни жлезди кои влегуваат во состав на оралната мукоза. Исклучок претставува мукозата на тврдото непце и на гингивата, каде што воопшто нема мукозни жлезди.

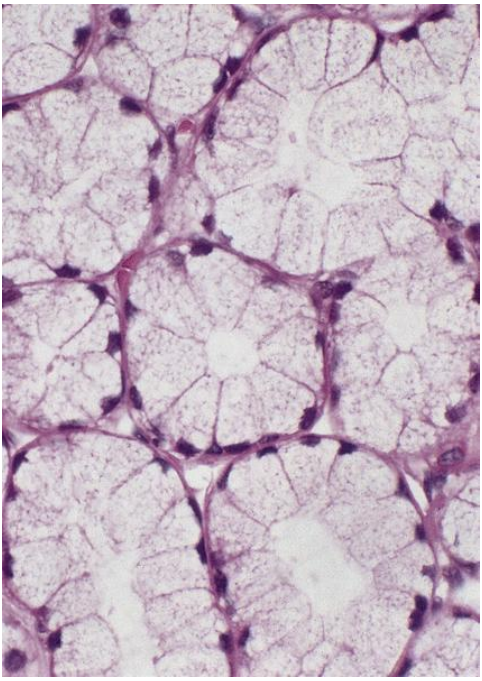
Плунковните жлезди продуцираат секрет, плунка, која е најзначајна алатка за оралната хомеостаза. Плунката претставува вода на животот на оралната празнина. Околу 90 % од плунковниот секрет се создава од големите плунковни жлезди. Отсуство на плунка во оралната средина претставува предуслов за многу орални заболувања.

## АНАТОМО-ХИСТОЛОШКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПЛУНКОВНИТЕ ЖЛЕЗДИ

Според хистолошката градба, плунковните жлезди се изградени од жлездени ацинуси (Слика 1.1) каде што се создава примарниот секрет на

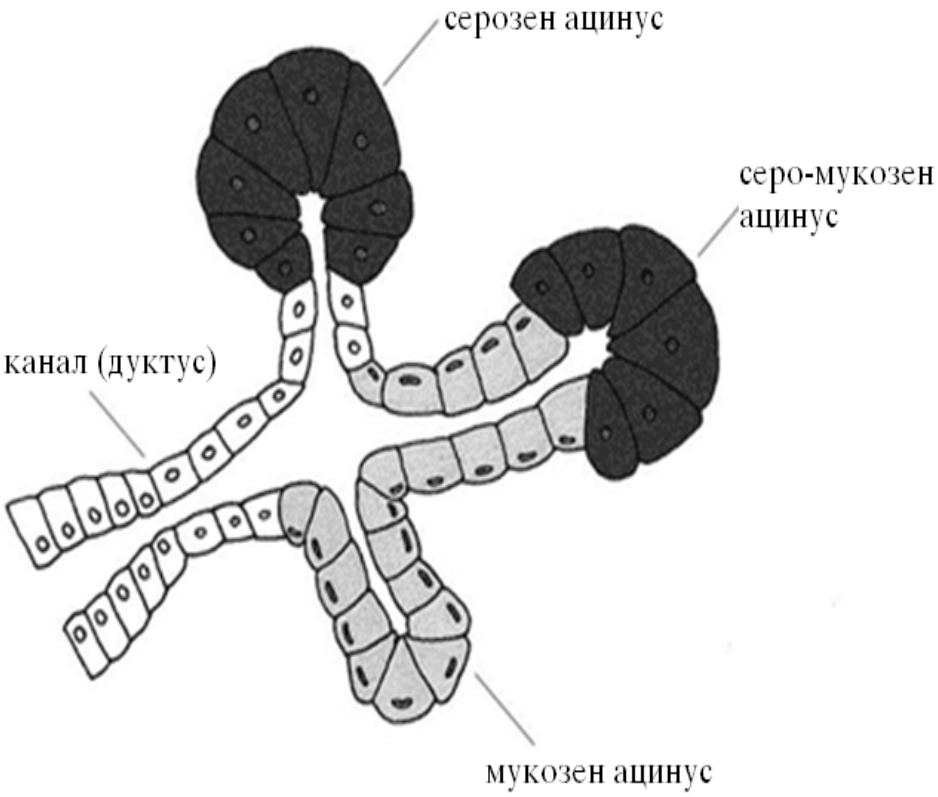
идната плунка, собирни каналчиња (интеркалирани, вметнати), одводни каналчиња (пругасти) и главен одводен канал.

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.



***Слика 1.1:*** *Ацинуси на плунковните жлезди*

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 (Слика 1.2). Поновите истражувања, како и воведувањето на нови техники на боење и детални испитувања на биохемискиот состав на одделни секрети од плунковните жлезди, покажаа дека спомнатата класификација не е соодветна. Класификацијата се смета за несоодветна бидејќи 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.

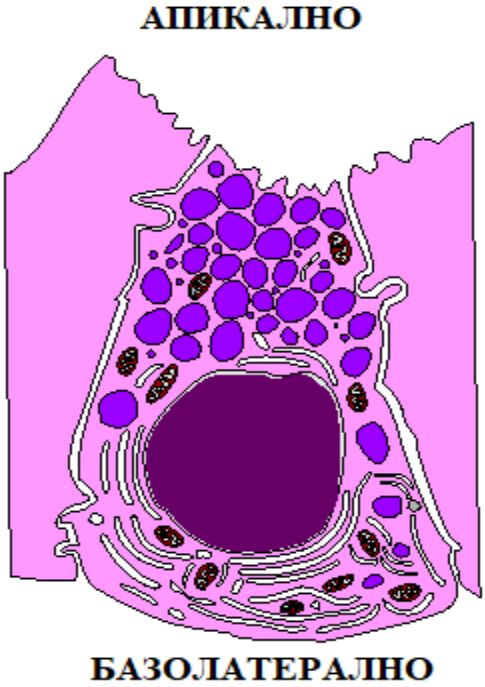



***Слика 1.2:*** *Шематски приказ на серозни и мукозни ацинуси*

## Ацинусни клетки

Ацинусните клетки (Слика 1.3) 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 1.4). Луменската површина на ацинусните клетки има микровилен изглед, додека пак спротивната (базолатерална површина) е поголема и на неа се регистрираат поголем број фалти.

## АЦИНУСНА КЛЕТКА




***Слика 1.3:*** *Ацинусна клетка на плунковна жлезда: мембрана, јадро, рибозоми, митохондрии, ендоплазматски ретикулум и голџи апарат*

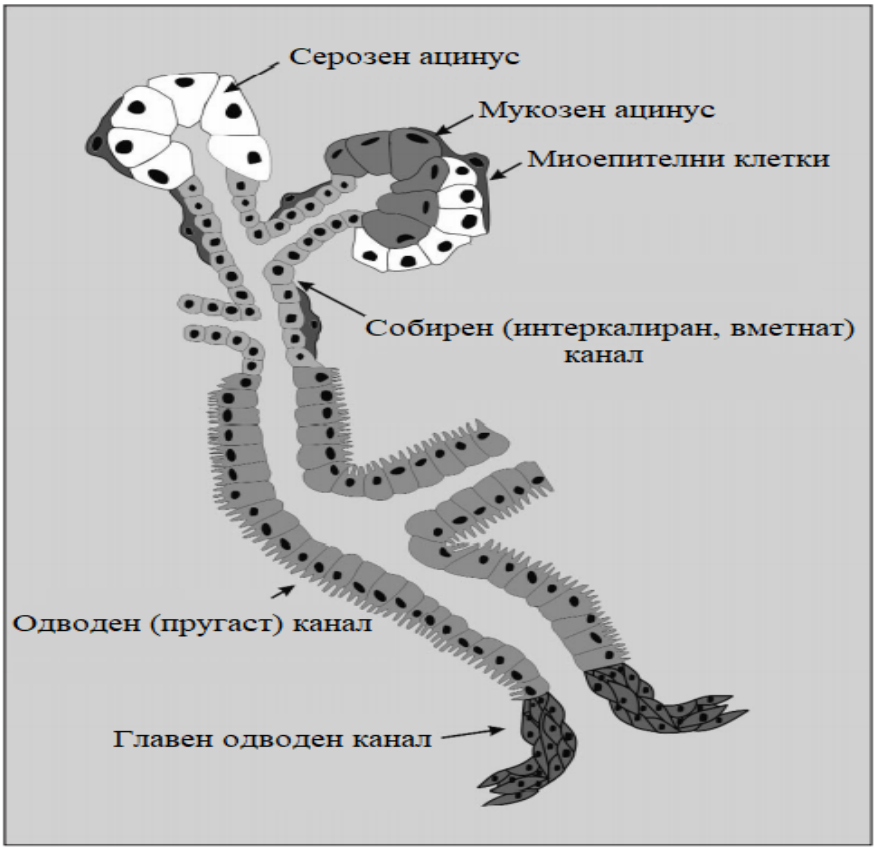
Помеѓу ацинусните клетки се забележуваат меѓуклеточни (интерцелуларни) каналчиња кои, всушност, претставуваат продолжеток на ацинусниот лумен. Помеѓу ацинусните клетки се присутни дезмозомски и друг тип на поврзувања. Се претпоставува дека тие претставуваат бариера помеѓу интерстицијалната течност и плунката во ацинусниот лумен.

Во цитоплазмата на ацинусните клетки се присутни многубројни органели (Слика 1.3). Ендоплазматскиот ретикулум, во вид на мрежа од тенки мембранозни каналчиња, е присутен во базалниот дел на ацинусната клетка каде што се синтетизираат протеините. Голџиев апарат најчесто се забележува над јадрото на клетката во вид на сплескани вреќи на чии краеви 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 јаглехидратниот синџир на саливарните протеини.

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

## Дуктусни клетки

Почетните делови на собирните и одводните каналчиња припаѓаат на ацинусната структура (Слика 1.4). Тие се наречени каналчиња од прв ред. Изградени се од кубични или цилиндрични клетки, а содржат мал број

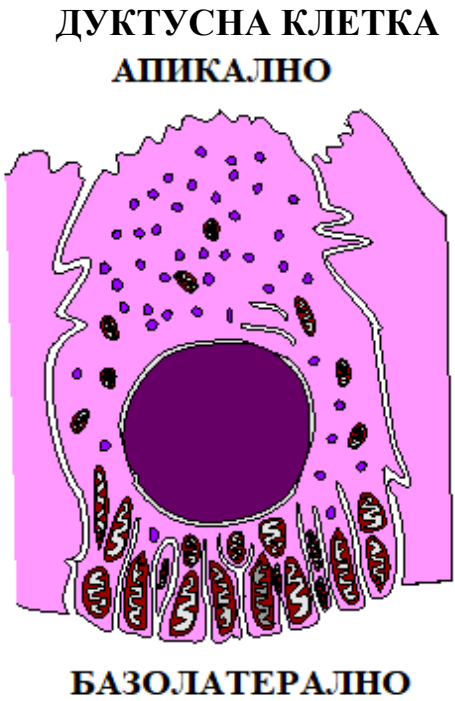



***Слика 1.4:*** *Шематски приказ на ацинусен лумен и систем на собирни и одводни каналчиња*

на органели. Овие каналчиња (вметнати или интеркалирани) служат за проток на плунката и се смета дека тие не учествуваат во модифицирањето на

составот на плунката. Освен што служат за проток на плунка, клетките на каналчињата од прв ред учествуваат и во создавање на одредени органски компоненти во составот на плунката, како што се лизозимот и лактоферинот и имаат улога при лачењето на бикарбонатните јони.

Преостанатите делови од собирните и одводните каналчиња се нарекуваат каналчиња од втор ред. Клетките на овие каналчиња содржат голем број на митохондрии, а нивниот број се поврзува со карактеристичната функција - транспорт на електролити (Слика 1.5). Имено, во овие каналчиња јонот на $Na^+$ се реапсорбира од примарната плунка, додека пак јонот на $K^+$ се излачува, а за таа активност на овие клетки им е потребна енергија која се добива во митохондриите.



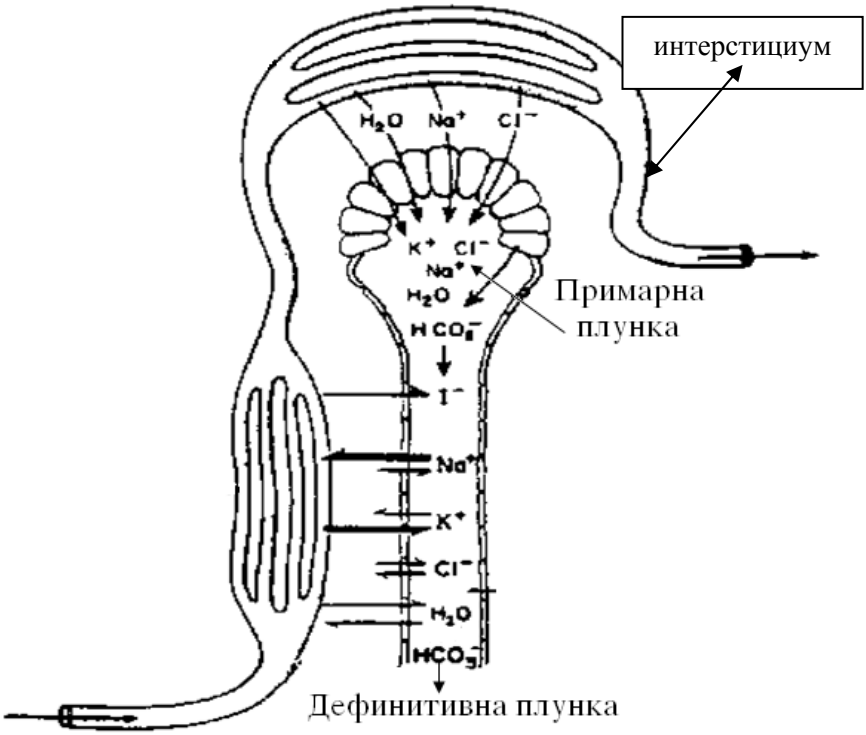

***Слика 1.5:*** *Дуктусна клетка која содржи органели*

Главниот одводен канал на плунковните жлезди ја собира плунката од каналчињата од втор ред. Во споредба со другите каналчиња, овој канал е најдолг и со најголем лумен. Покрај цилиндрични клетки во главниот одводен канал има присутни и базални тркалезни клетки. Приближувајќи се кон оралниот отвор, во главниот одводен канал се

забележува присуство на повеќеслоен епител. Освен што го овозможува протокот на плунката, во главниот одводен канал настанува извесно модифицирање на јонскиот состав на плунката.

## Крвни садови

Плунковните жлезди се богато васкуларизирани (Слика 1.6). Впрочем, добро е познато дека секрецијата на плунка зависи од крвоснабденоста на плунковната жлезда. Една или повеќе артерии влегуваат 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 капилари. Капиларната мрежа е најгуста во пределот на собирните каналчиња од втор ред. Одводните венски садови ги следат одводните каналчиња на плунковната жлезда. Се забележува и присуство на артериовенски анастомози.




***Слика 1.6:*** *Шематски приказ на крвоснабдувањето на плунковните жлезди и интерстициумот*

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

При 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 (стегање на крвните садови) и помало количество на излачена плунка. Поради тоа, при различни стресни ситуации, кога е стимулиран симпатикусот, драстично се намалува лачењето на плунката, а како резултат на тоа се јавува непријатното чувство на сува уста.

# ГОЛЕМИ ПЛУНКОВНИ ЖЛЕЗДИ

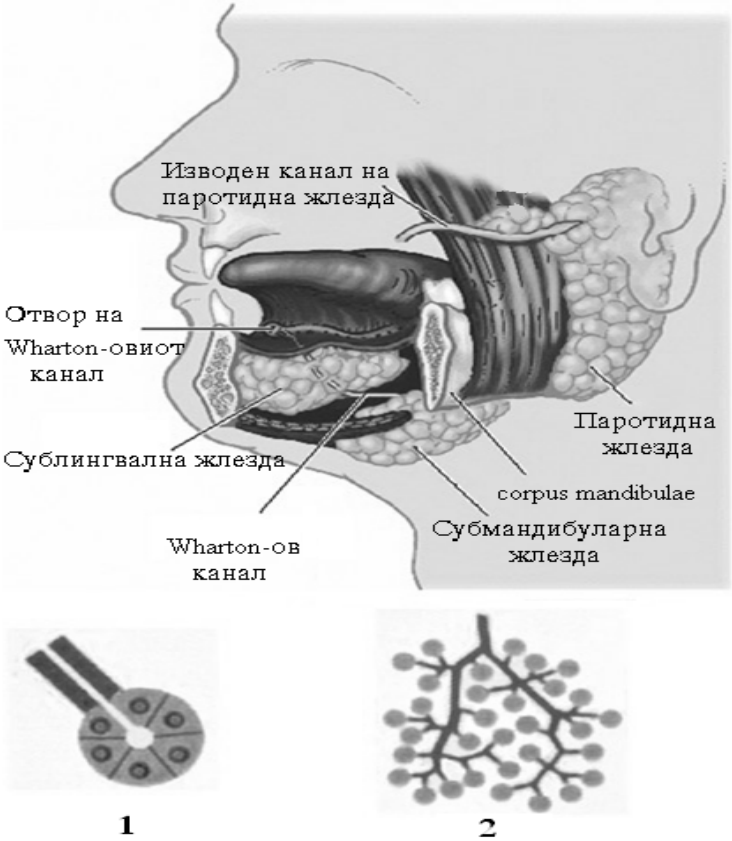
Големите плунковни жлезди и малите мукозни жлезди го излачуваат својот секрет во оралната празнина, каде што се меша секретот од сите жлезди. Плунката претставува мешан производ на секрети кои се излачуваат од страна на трите пара големи плунковни жлезди (заушна, подвилична и подјазична), од малите мукозни жлезди и од гингивалната течност. Притоа се формира мешан секрет или мешана плунка (мешана салива). Процесот на лачење на плунка (салива) се нарекува саливација.

Три пара на големи плунковни жлезди се (слика 1.7):

1. glandulae parotis (заушни жлезди) со просечен волумен 21,6 ml;

2. glandulae submandibularis (подвилични жлезди) со просечен волумен 6,5 ml;

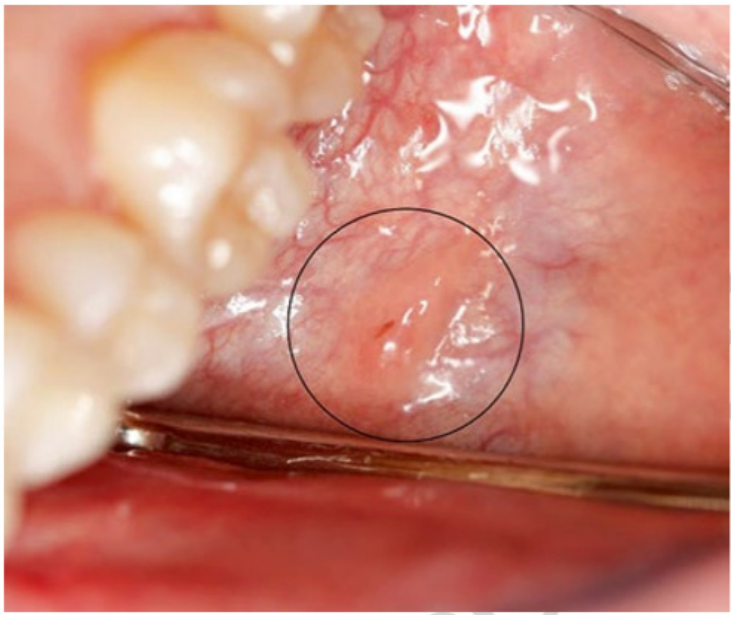
3. glandulae sublingualis (подјазични жлезди) со просечен волумен 3-4 ml;




***Слика 1.7.*** *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 собирен канал кај голема плунковна жлезда (2)*

Паротидните (заушни) жлезди се најголеми плунковни жлезди сместени ретромоларно во fossa parotidea. Нивната просечна тежина изнесува од 15 до 30 грама, а димензијата на овие жлезди е 6 × 4 центиметри. Одводниот канал на овие плунковни жлезди (ductus parotidei - Stennoni) е долг, поминува низ масетеричниот мускул и се излева во оралната празни-

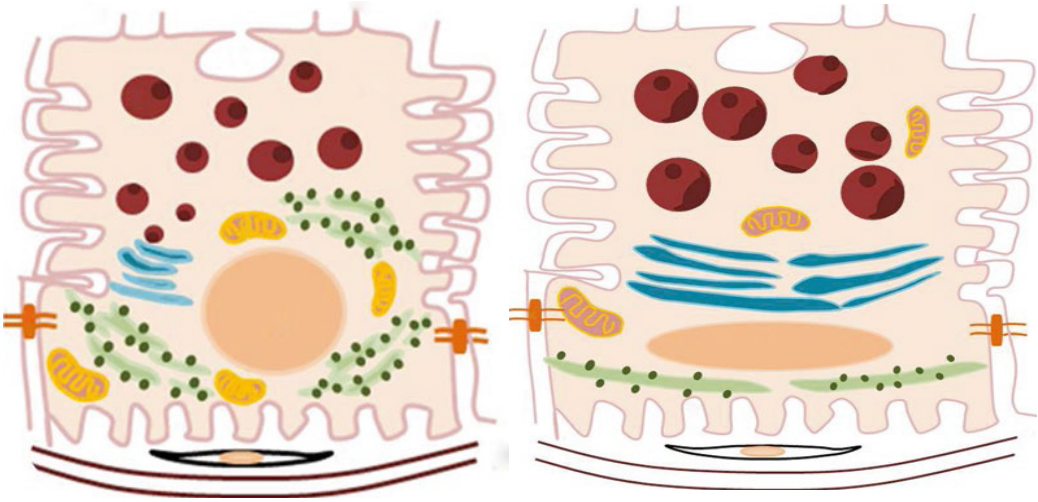
на на букалната мукоза, во предел на првиот, односно вториот максиларен молар (Слика 1.8). Овие жлезди продуцираат претежно серозна плунка. Овој тип на секрет се карактеризира со процентуално ниско ниво на муцин (високомолекуларен гликопротеин) кој ја обезбедува вискозноста на секретот, поради што паротидната плунка е многу малку вискозна.



***Слика 1.8:*** *Одводен канал на паротидни плунковни жлезди (ductus parotidei- Stennoni)*

Субмандибуларните плунковни жлезди се помали во споредба со паротидните и нивната просечна тежина изнесува од 7 до 10 грама. Подвиличните жлезди својот секрет го излачуваат преку Wharton-овиот канал во усната празнина на нејзиното дно, непосредно до frenulum linguae. Овие жлезди лачат серомукозна плунка, која се карактеризира со поголема вискозност, бидејќи содржи поголемо количество на муцин.

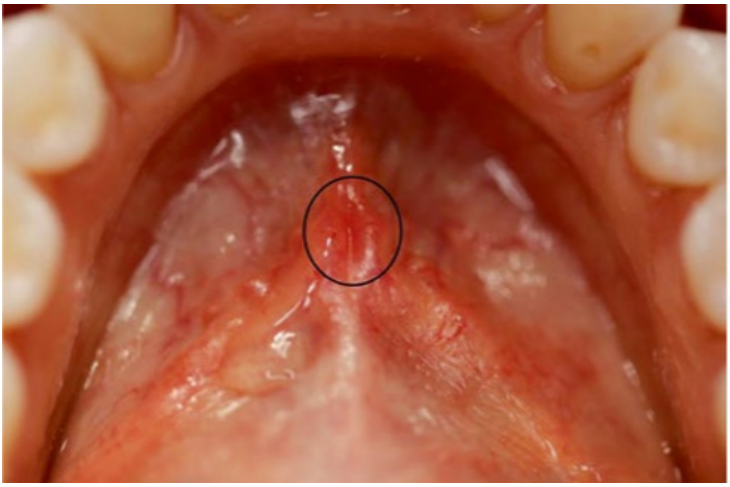
Во паротидните и субмандибуларните жлезди, освен секреторни (ацинусни) клетки, присутни се и други клетки, наречени миоепителни клетки. Тие се сместени помеѓу секреторната клетка и базалната ламина (Слика 1.9).



***Слика 1.9:*** *Лево: поединечна серозна ацинусна клетка со сите нејзини органели; помеѓу ацинусната клетка и мембраната се наоѓа миоепителна клетка; десно: поединечна мукозна ацинусна клетка со сите нејзини органели; помеѓу ацинусната клетка и мембраната се наоѓа миоепителна клетка*

Миоепителните клетки имаат контрактилна функција. Имено, кога е стимулирана секрецијата на плунката, овие клетки предизвикуваат контракција (стегање) и притисок на ацинусната клетка, со што ацинусната клетка добива сила да го потисне секретот од ацинусниот лумен во каналикуларниот систем на плунковната жлезда. Освен тоа миоепителните клетки се значајни и за процесот на деполаризација на мембраната на ацинусните клетки, со што се обезбедува пренесувањето на сигналите за секреција на плунка.

Подјазичните жлезди имаат еден одводен канал (ductus Bartholini), а понекогаш повеќе мали (dd. Rivini) кои се отвораат на подот на усната празнина веднаш до френулумот на јазикот (Слика 1.10). Секретот на овие жлезди е особено мукозен бидејќи се карактеризира со големо количество на муцин.



***Слика 1.10:*** *Одводни канали на подвиличните и подјазичните плунковни жлезди*

# 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 излачува повеќе хормони. Од овие хормони за саливацијата најзначаен е алдостеронот. На ниво на собирните и на одводните 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 $Na^+$ се ресорбира во крвта, додека $K^+$, како замена за $Na^+$, се секретира во плунковниот секрет. Благодарение на оваа улога на алдостеронот, плунката претставува телесна течност која е најбогата со калиум. Вредноста на калиумот во плунката може да биде трипати поголема во споредба со вредноста на калиумот во серумот.

Врз лачењето на плунката значајно влијание имаат и катехоламините, особено адреналинот, кој е хормон на срцевината на надбубрежната жлезда и на симпатикусните нервни завршетоци. Врзувајќи се за α-рецепторите на ендотелните клетки на крвните садови, вклучувајќи ги и крвните садови на плунковните жлезди, истите предизвикуваат нивна

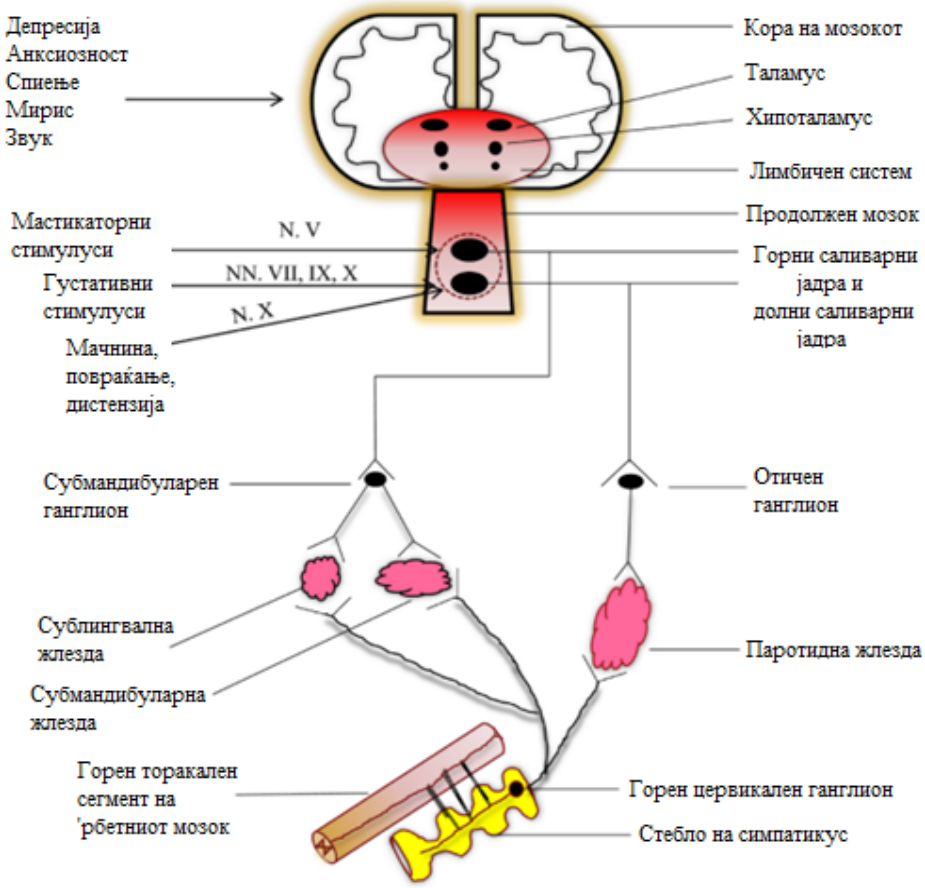
вазоконстрикција (стеснување). На тој начин се намалува протокот на крв низ жлезденият паренхим, а со тоа значително се намалува количеството на излачена плунка. Во услови на психички стрес, што е проследено со зголемено лачење на адреналин во крвта, се лачи мало количество на густа плунка (т.н. симпатикусна плунка).

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

Централниот нервен систем има најзначајна улога при регулацијата на саливацијата. Постојат три 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. Терцијарен 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 седмиот, деветтиот и десеттиот 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 1.11). 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 1.11:*** *Шематски приказ на нервна регулација на саливацијата*

При 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.

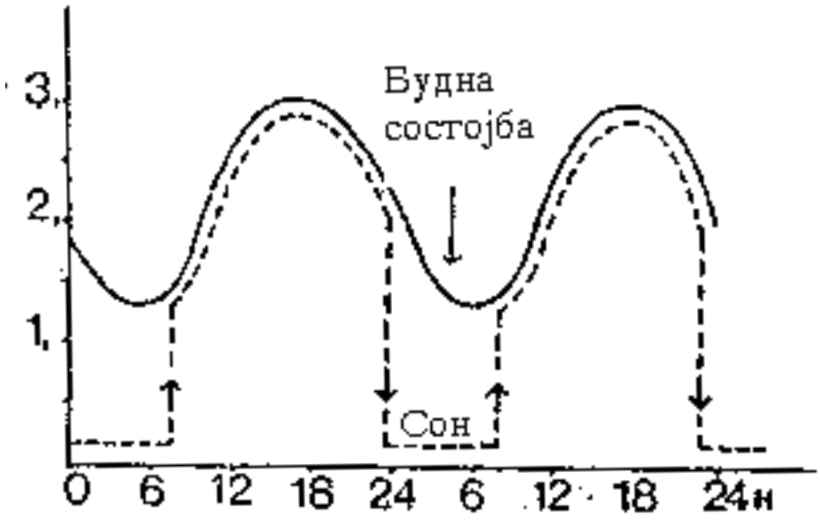
Квантитетот и квалитетот на излачената плунка зависат и од:

- 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 влијаат никакви нутритивни супстанции врз густативните и другите рецептори во усната празнина. Сепак, оваа дефиниција треба критички да се земе 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 таламусот и од 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 какви било 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 одводните 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, секрецијата на плунка практично престанува во периодот од полноќ до 6 часот наутро, за потоа да настане спонтано зголемување на лачењето на плунката сè до 18 часот, кога нестимулираната саливација го постигнува својот максимум. Потоа започнува период кога е намалено лачењето на плунка, сè до полноќ кога престанува лачењето на плунка. (слика 1.12).




***Слика 1.12:*** *Дијаграм на саливација на нестимулирана плунка во текот на 24 часа*

Податокот дека плунката во периодот од полноќ до 6 часот 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 на 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 (Слика 1.13). Овој секрет (нестимулирана плунка) се лачи во релативно мало количество, просечно 0,3 ml/min.

***Слика 1.13:*** *Мали мукозни жлезди сместени во лабијалната мукоза на долната усна*

Плунката, која се лачи во услови на стимулација на многубројните 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 при лачењето на стимулираната плунка има паротидната жлезда, која 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 поради својата големина. Придонесот на заушните 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-што 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 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. Истражувања 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 часа изнесува 700-800 ml.

# ВЛИЈАНИЕ НА РАЗЛИЧНИ ФАКТОРИ ВРЗ КОЛИЧЕСТВОТО НА ИЗЛАЧЕНА ПЛУНКА

## Нестимулирана плунка

Голем број 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, како и гледањето или мирисањето на омиленото јадење, предизвикува зголемено лачење на плунка. Од друга страна, пак, психичкиот стрес поради 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 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, антихипертензиви, 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, сè 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 до 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*. Џвакање 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 зависи 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, главно, биле направени на хоспитализирани испитаници кои примале одредени лекови. Поновите истражувања покажале дека стареењето 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 лекови, а не е последица на стареењето.

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

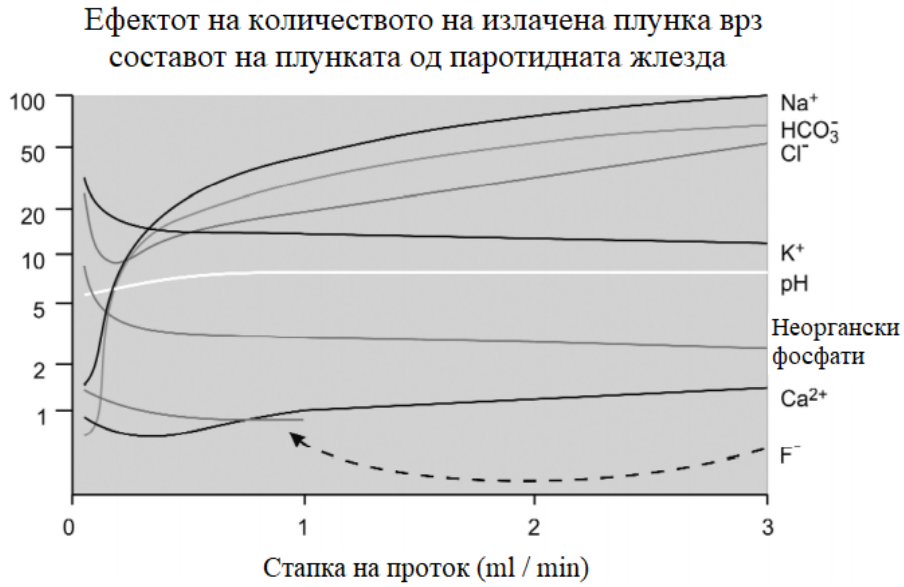
# ВЛИЈАНИЕ НА РАЗЛИЧНИ ФАКТОРИ ВРЗ КВАЛИТАТИВНИТЕ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПЛУНКАТА

## Количество на излачена плунка

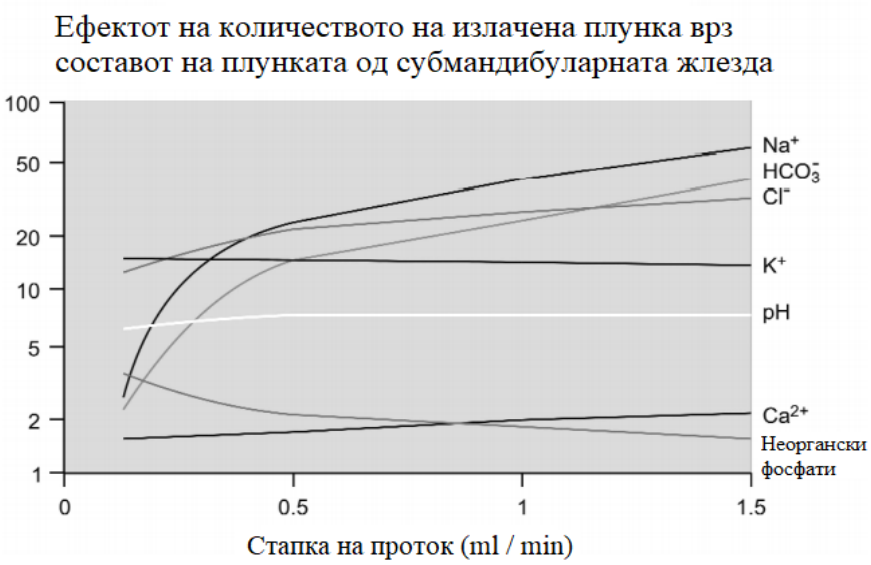
Со зголемување на количеството на излачена плунка се зголемува pH-вредноста на плунката и концентрацијата на одредени составни компоненти на плунката (протеини, натриум, хлориди, бикарбонати), додека пак на други составни компоненти се намалува (магнезиум фосфати), (Табела 1.1, Графикон 1.1 и Графикон 1.2)

**Табела 1.1:** Разлика во концентрацијата на компонентите во стимулирана и нестимулирана плунка

| | **Нестимулирана** | **Стимулирана** |
|---|---|---|
| Вода | 99,55% | 99,53% |
| Цврсти материи | 0,45% | 0,47% |
| | **Просек ± S.D.** | **Просек ± S.D.** |
| Количество на излачена плунка | 0,32 ± 0,23 | 2,08 ± 0,84 |
| pH | 7,04 ± 0,28 | 7,61 ± 0,17 |
| **Неоргански компоненти** | | |
| Натриум (mmol/L) | 5,76 ± 3,43 | 20,67 ± 11,74 |
| Калиум (mmol/L) | 19,47 ± 2,18 | 13,62 ± 2,70 |
| Калциум (mmol/L) | 1,32 ± 0,24 | 1,47 ± 0,35 |
| Магнезиум (mmol/L) | 0,20 ± 0,08 | 0,15 ± 0,05 |
| Хлориди (mmol/L) | 16,40 ± 2,08 | 18,09 ± 7,38 |
| Бикарбонати (mmol/L) | 5,47 ± 2,46 | 16,03 ± 5,06 |
| Фосфати (mmol/L) | 5,69 ± 1,91 | 2,70 ± 0,55 |
| Тиоцијанати (mmol/L) | 0,70 +/- 0,42 | 0,34 +/- 0,20 |
| Јодиди (μmol/L) | | 13,8 ± 8,5 |
| Флуориди (μmol/L) | 1,37 ± 0,76 | 1,16 ± 0,64 |
| **Органски компоненти** | | |
| Тотални протеини (mg/L) | 1630 ± 720 | 1350 ± 290 |
| Секреторен IgA (mg/L) | 76,1 ± 40.2 | 37,8 ± 22,5 |
| MUC5B ($MG_1$) (mg/L) | 830 ± 480 | 460 ± 200 |
| MUC7 ($MG_2$) (mg/L) | 440 ± 520 | 320 ± 330 |
| Амилаза (U/L) | 317 ± 290 | 453 ± 390 |
| Лизозим (mg/L) | 28,9 ± 12.6 | 23,2 ± 10,7 |
| Лактоферин (mg/L) | 8,4 ± 10.3 | 5,5 ± 4,7 |
| Статерин (μmol/L) | 4,93 ± 0.61 | |
| Албумин (mg/L) | 51,2 ± 49.0 | 60,9 ± 53,0 |
| Глукоза (μmol/L) | 79,4 ± 33.3 | 32,4 ± 27,1 |
| Лактат (mmol/L) | 0,20 ± 0.24 | 0,22 ± 0,17 |
| Тотални липиди (mg/L) | 12,1 ± 6.3 | 13,6 |
| Аминокиселини (μmol/L) | 780 | 567 |
| Уреа (mmol/L) | 3,57 ± 1.26 | 2,65 ± 0,92 |
| Амонијак (mmol/L) | 6,86 | 2,57 ± 1,64 |




***Графикон 1.1:*** *Ефектот на на количеството на излачена плунка врз составот на плунката од паротидната жлезда*




***Графикон 1.2:*** *Ефектот на количеството на излачена плунка врз составот на плунката од субмандибуларната жлезда*

## Должина на стимулација

Кога лачењето на плунката се одвива непречено и константно, составот на плунката зависи од должината на стимулацијата. Различен е составот на плунката која е излачена за времетраење на стимулација од 2 минути и за времетраење на стимулацијата од 10 минути. На пример, концентрацијата на бикарбонатите прогресивно се зголемува со должината на стимулацијата. Наспроти тоа, концентрацијата на хлориди по првичното кратко зголемување, со должината на стимулацијата се намалува. Составот на плунката, исто така, зависи и од тоа дали одредена жлезда е стимулирана во претходниот час.

## Природа на стимулусот

Различни стимули имаат ефект врз составот на плунката, пред сè поради нивниот ефект врз брзината на лачење на плунка. При тестирање на влијанието на четирите различни вкусови дразби (кисело, солено, горчливо и благо) врз лачењето на паротидната плунка, утврдено е дека тие не влијаат врз составот на електролити во плунката. Но, сепак, утврдено е дека стимулација на лачење со солен вкус ја зголемува протеинската секреција во паротидната плунка. Потврдено е дека и другите вкусовни дразби влијаат врз концентрацијата и видот на саливарните протеини (види во поглавје Саливарни протеини). Дразба на рецепторите со кисел вкус предизвикува најголемо количество на излачена плунка и предизвикува алкализација на плунковниот секрет. Порано се претпоставуваше дека тоа е корисна адаптација на природата на стимулусот. Но, денес со сигурност се знае дека вредноста на pH на плунката зависи од количеството на излачена плунка, а не зависи од природата на стимулусот.

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

## МЕХАНИЗАМ НА СЕКРЕЦИЈА НА ВОДА И НА ЕЛЕКТРОЛИТИ

### Секреција на калциум и фосфати

## БИОХЕМИСКИ СОСТАВ НА ПЛУНКАТА

### Плунка и перцепција на вкусовите дразби

### Концентрација на калциум и фосфати во плунка

# МЕХАНИЗАМ НА СЕКРЕЦИЈА НА ВОДА И НА ЕЛЕКТРОЛИТИ

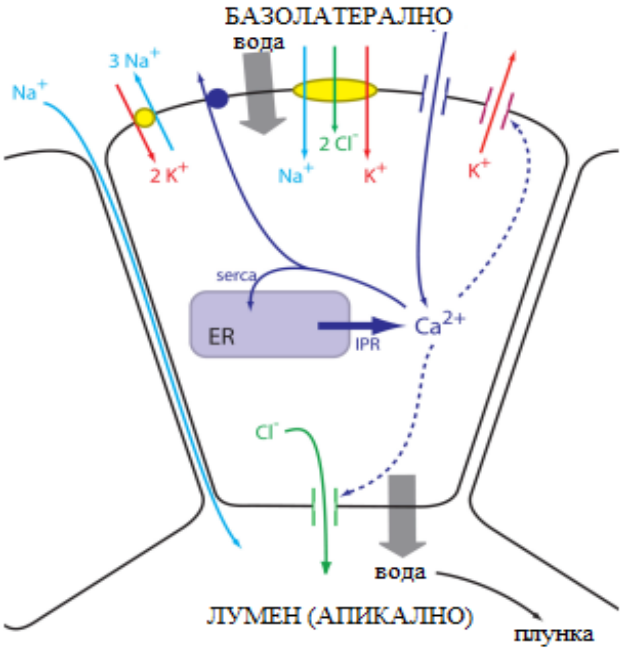
Главен извор на плунката се плунковните жлезди. Тоа се трите пара големи плунковни жлезди (паротидната, субмандибуларната и сублингвалната) и голем број мали мукозни жлезди кои се сместени во оралната лигавица на усните, образите, мекото непце и јазикот. Плунковните жлезди присутни на јазикот се нарекуваат вонебнерови 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 создавање на плунка, односно ултрафилтрација на крвната плазма.

На самата ацинусна клетка (Слика 2.1) се разликуваат два дела: базолатерален и луменски (апикален).

- Базолатералниот 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.

На базолатералната мембрана на ацинусната клетка се присутни различни јонски разменувачи и канали, какви што се $Na^+/K^+$ АТР-аза,

$Na^+/K^+/Cl^-$котранспортери и $Ca^{2+}$-зависниот, $K^+$ канал. На луменскиот дел на ацинусната клетка најважен е $Ca^{2+}$-зависниот канал за јонот на $Cl^-$.




***Слика 2.1:*** *Шематски приказ на ацинусна клетка со нејзиниот апикален и базолатерален дел*

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 одводни 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;

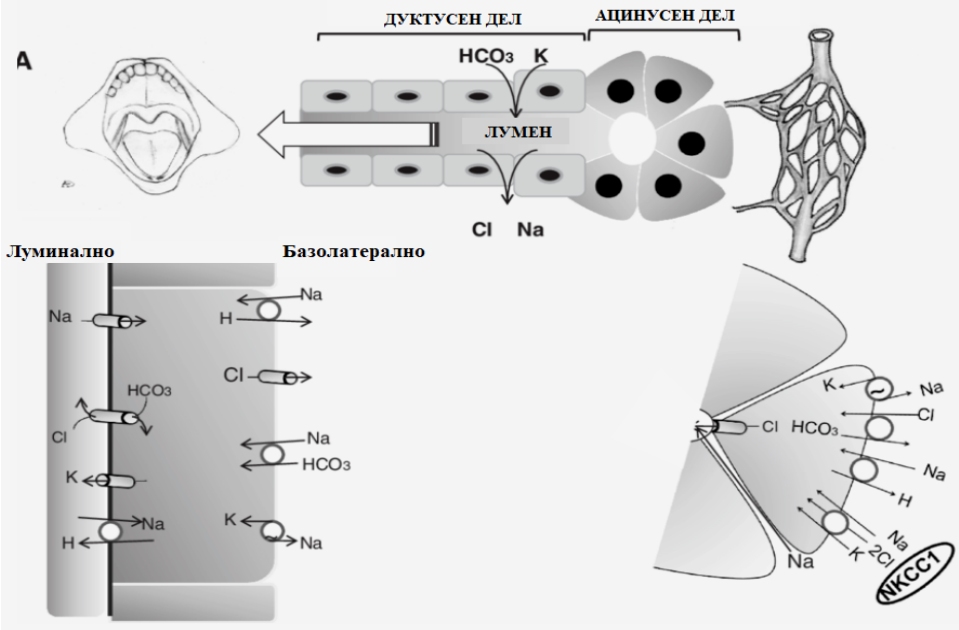
2. Реапсорпција и секреција на одделни материи во текот на поминувањето на примарната плунка низ системот на собирни и одводни каналчиња на плунковната жлезда, при што се формира дефинитивна плунка (Слика 2.2).

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 исто и на ацинусните клетки, имаат липидна структура, па затоа се непропустливи за поларни молекули, поради тоа потребни се специфични протеински канали за транспорт на електролитите. Такви се каналите за $Na^+$, $K^+$ и $Cl^-$. Овие електролити, користејќи ги споменатите канали, можат да поминуваат низ мебраната 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 повисокиот градиент на концентрација, електролитите користат специфични транспортни системи: $Na^+$-АТР-аза и $K^+$-АТР-аза. Значи дека, кога $Na^+$ и $K^+$ се движат од место со помала концентрација кон 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 деполаризацијата на мебраната како последица на навлегување на јоните на $Na^+$ во ацинусната клетка и напуштањето на јоните на $K^+$ на ацинусната клетка. Движењето на јонот на $Na^+$ е условено од градиентот на концентрација на овој катјон. Имено, $Na^+$ од место со поголема концентрација (интерстициум) се движи внатре во ацинусната клетка, каде што неговата концентрација е ниска. Слична е состојбата и со $K^+$, само што овој катјон се движи во спротивна насока, од ацинусната клетка (каде што неговата концентрација е поголема) во интерстициум (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 $Na^+$ секогаш е следено и со навлегување на анјонот на $Cl^-$. Понатамошната судбина на $Na^+$, главниот катјон на екстраклеточните течности е следна: елиминација од ацинусната клетка со помош на транспортниот систем $Na^+$-пумпа, којашто за својата работа користи енергија од АТР ($Na^+$-АТР-аза). Енергијата од АТР е потребна, бидејќи сега $Na^+$ се движи спротивно на градиентот на концентрација, од место со помала концентрација во место со поголема концентрација. Како резултат на работата на $Na^+$-пумпа, $Na^+$ се исфрла во луменот на ацинусот. Во овој случај, движењето на $Na^+$ е следено со движење на $Cl^-$. Водата по пат на осмоза ја напушта ацинусната клетка низ специфични водени канали. Овие канали се лоцирани на апикалниот, луменски дел на мембраната на ацинусната клетка. Благодарение на опишаните процеси во ацинусниот лумен се добива примарна плунка, која е изотонична во однос на крвната плазма.

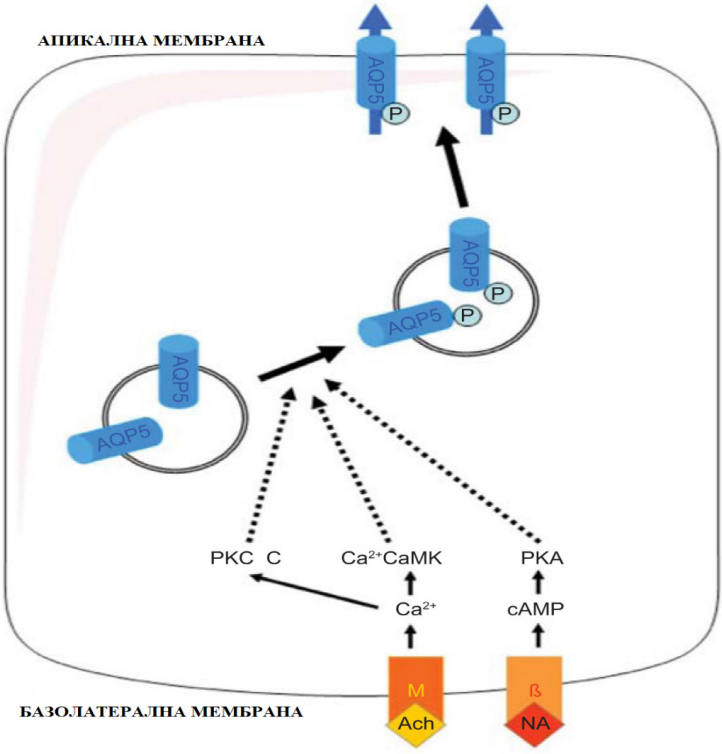



***Слика 2.2:*** *Механизам на секреција на плунка.*

Плунковните жлезди се состојат од високо диференцирани епителни клетки (ацинусни клетки). Жлездите имаат два различни функционални и анатомски дела: ацинусен и дуктусен (А). Водата и електролитите од интерстициумот поминуваат низ ацинусната клетка. Дуктусните клетки реапсорбираат Na и Cl, а излачуваат K и HCO 3 (А-С). По активирањето на

Са, на луменскиот и базолетералниот транспортен дел од клетката, големо количество изотонична со NaCl-богата течност се создава во ацинусниот лумен. Главната задача на дуктусните клетки на плунковните жлезди е да се модифицира примарната изотонична плунка произведена во ацинусниот лумен. Бидејќи реапсорпцијата на Na и на Cl ја надминува секрецијата на K и $HCO_3$, дефинитивната плунка станува хипотонична (C).

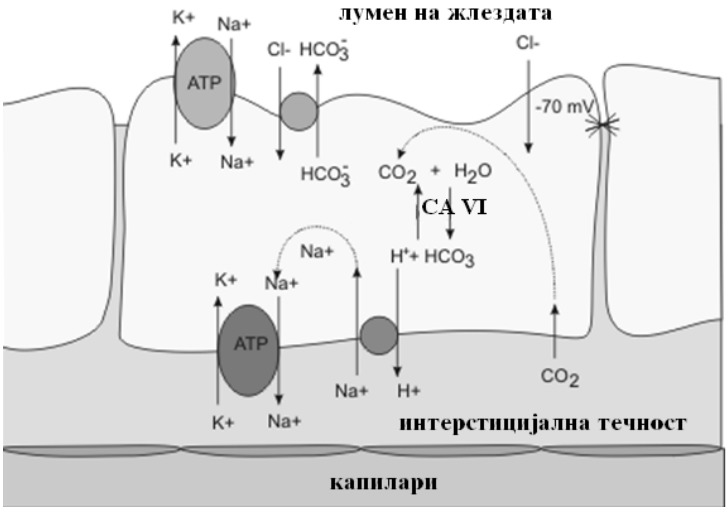
Значајна улога за транспортот на водата и електролитите имаат специфични протеини, наречени аквапорини (AQP). Тие претставуваат фамилија на протеини кои имаат улога да ја транспортираат водата низ клеточните мембрани. Во плунковните жлезди има присутни три класи на овие протеини: AQP-1, AQP-5 и AQP-8. Аквапорин 1 (AQP-1) е присутен во микроваскуларните ендотелни клетки на плунковните жлезди, аквапорин 5 (AQP-5) на апикалната мембрана на ацинусната клетка и аквапорин 8 (AQP-8) на базолатералната мембрана на ацинусната клетка. Докажано е дека најголемо значење во транспортот на водата низ клеточната мембрана има AQP-5 (Слика 2.3).




***Слика 2.3:*** *Три класи на аквапорини: AQP-1, AQP-5 и AQP-8, кои имаат значајна улога за транспортот на водата и електролитите низ ацинусната клетка*

Примарната плунка, во однос на концентрацијата на електролити, е изотонична со крвната плазма и претставува нејзин ултрафилтрат. Концентрацијата на $Na^+$ изнесува 146 mmol/l, а концентрацијата на $K^+$ 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 2.4) на плунковната жлезда се врши реапсорпција на електролитите (се враќаат назад во крвната плазма). Поради тоа дефинитивната плунка е хипотоночна во споредба со крвната плазма. Во овие процеси особено доминира реапсорпцијата на $Na^+$ во замена за $K^+$ ($Na^+$ се реапсорбира, додека пак $K^+$ се секретира). Тоа се остварува под дејство на $Na^+$-АТР-аза и $K^+$-АТР-аза, за што е потребна енергија од АТР. Јонот на $Cl^-$ пасивно го следи движењето на $Na^+$, па затоа се јавува потреба од воспоставување на рамнотежа помеѓу катјоните и анјоните на секретот во фаза на создавање.

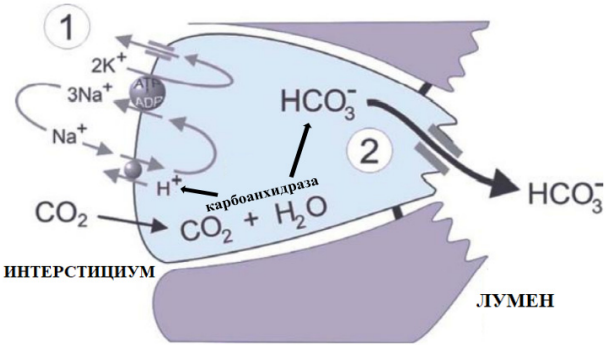



***Слика 2.4:*** *Размена на калиум и натриум во текот на поминувањето на примарната плунка низ системот на собирни и одводни каналчиња (на сликата се прикажани случувањата во една дуктусна клетка)*

Процесот на секреција на бикарбонатите е сличен со процесот на секреција на $Cl^-$, а поврзан е со зголемување на концентрацијата на бикарбонати-

те во ацинусната клетка. Навлегувањето на овие јони во ацинусната клетка е посредувано со јаглеродната анхидраза и зависи од размената на $Na^+$ и $H^+$ јони, како и од градиентот на $Na^+$ (Слика 2.5). Бикарбонатните јони ($HCO_3^-$) во ацинусната клетка навлегуваат преку калциум зависните каналчиња за $Cl^-$.

Бикарбонатните јони се излачуваат и од дуктусните клетки, но исто така и се реапсорбираат во текот на поминување низ системот на собирни и одводни каналчиња, поради што концентрацијата на овие јони во нестимулираната плунка е ниска. При стимулирана саливарна секреција, заради брзиот проток на примарната плунка низ системот на собирни и одводни каналчиња, мало количество на бикарбонатните јони се реапсорбира. Тоа е причината за зголемената концентрација на бикарбонатни јони во стимулираната плунка.

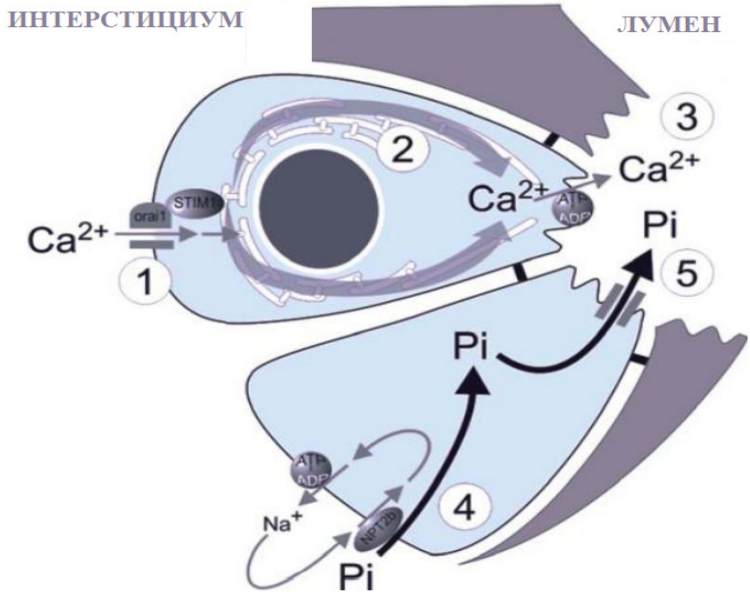



***Слика 2.5:*** *Секреција на вода и електролити - Јаглеродниот диоксид од внатрешноста на клетките се конвертира во $HCO_3^-$ и $H^+$ со помош на карбоанхидразата. $HCO_3^-$ се секретира преку апикалната мембрана на клетката со помош на анјонски канал (2). $H^+$ активно се исфрла преку базолатералната мембрана со помош на $Na^+/H^+$ размена, при што добива енергија од $Na^+$ градиентот, кој се создава како резултат на дејството на $Na^+/K^+$ АТР-азата (1). Ако протоните не би се изгубиле од клетката, карбоанхидразата не би можела да создаде $HCO_3^-$.*

Ацинусните клетки на плунковните жлезди секретираат макромолекули, вода и електролити, додека пак дуктусните клетки вршат реапсорпција на електролитите. Жлездените клетки кои се вметнати или интеркалирани (кои се наоѓаат помеѓу ацинусните и дуктусните клетки) според својата функција повеќе наликуваат на ацинусните клетки отколку на дуктусните клетки. Тие секретираат мала концентрација на протеини, но имаат значајна улога при секрецијата на вода и бикарбонати.

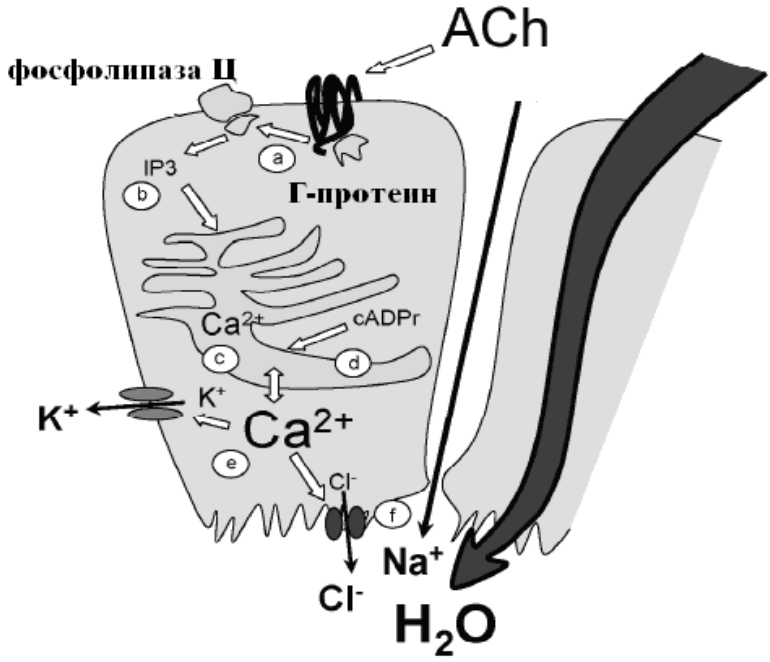
# Секреција на калциум и фосфати

Плунката содржи калциум и фосфати со што се превенира деминерализацијата на забот. Постои еднонасочен транспорт на овие електролити од ацинусната клетка во ацинусниот лумен. Сите компоненти за транслокација на калциумовиот јон се присутни во ацинусната клетка. $Ca^{2+}$ навлегува во ацинусната клетка преку базолатералната мембрана, поминува низ каналите на ендоплазматскиот ретикулум и ја напушта ацинусната клетка преку апикалната мембрана. На сличен начин и фосфатните јони навлегуваат во ацинусната клетка, низ каналите за $Na^{+}$, а преку апикалната мембрана на ацинусната клетка ја напуштаат истата (Слика 2.6). Движењето на фосфатите е зависно од градиентот на концентрацијата на овие јони во ацинусната клетка.




***Слика 2.6:*** *Можен механизам за транслокација на $Ca^{2+}$. $Ca^{2+}$ влегува преку базолатералната мембрана, преку Orai1 $Ca^{2+}$ каналите (1) и патува низ клетката преку ендоплазматскиот ретикулум (2) за на крајот да биде ослободен на апикалната страна и екструдиран со помош на PMCA (3). Активен чекор во фосфатната транслокација е навлегувањето низ базолатералната мембрана со помош на $Na^{+}$-зависниот Pi транспортер NPT2b, кој му олеснува на обратнонасочениот $Na^{+}$ градиент да концентрира Pi во внатрешноста на клетките. Pi излегува преку апикалната мембрана со помош на механизам што сè уште не е утврден.*

Примарната и дефинитивната (конечната) плунка значително се разликуваат, пред сè, 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 $K^+$. 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 $K^+$. Оваа висока концентрација на калиумот е условена со замената на натриумот за калиум ($Na^+$ се реапсорбира, додека пак $K^+$ се излачува) на ниво на собирните и одводните каналчиња на плунковните жлезди.



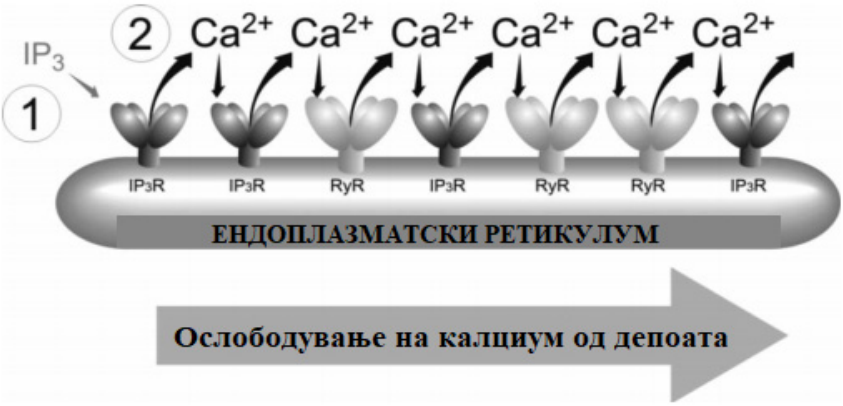

***Слика 2.7:*** *Значењето на ацетилхолинот во регулација на лачењето на електролитите во плунката*

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, нестиму-

лираната 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 реапсорпција 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 реапсорпција на електролитите. Поради тоа поголем дел од електролитите се задржува во дефинитивниот секрет така што дефинитивната плунка се карактеризира со висока осмоларност.

Значајна улога при регулацијата на секрецијата на водата и електролитите од страна на плунковните жлезди имаат инозитол-3-фосфат ($IP_3$) и $Ca^{2+}$ како секундарни гласници. Концентрацијата на калциумот во цитоплазмата на клетката (тој е доминантно присутен како депо во ендоплазматскиот ретикулум на ацинусната клетка) е многу ниска (<100 nM), така што и минимално зголемување на неговата концентрација може да делува како интраклеточен сигнал. Како одговор на различни стимуланси во самата ацинусна клетка се ослободува јонот на $Ca^{2+}$ од неговите интраклеточни резерви. Ослободувањето на $Ca^{2+}$ е потпомогнато и со навлегувањето на $Ca^{2+}$ од екстраклеточната средина во внатрешноста на ацинусната клетка.

Парасимпатикусниот нервотрансмитер, ацетилхолин, предизвикува зголемување на концентрацијата на $Ca^{2+}$ во внатрешноста на ацинусната клетка (Слика 2.7). 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-С. Овој ензим го разградува мембранскиот липид фосфатидил-инозитол на диглицерид и инозитол-3-фосфат ($IP_3$). Инозитол-3-фосфатот како секундарен гласник предизвикува зголемување на концентрацијата на интраклеточниот $Ca^{2+}$, ослободувајќи го од интраклеточните депоа. Тој се врзува за ($IP_3$)-рецепторите, кои се наоѓаат во ендоплазматскиот ретикулум, а тоа, пак, предизвикува големо ослободување на $Ca^{2+}$ од неговите депоа во ендоплазматскиот ретикулум (Слика 2.8). 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 2.8:*** *IP3 стимулира ослободување на $Ca^{2+}$ од IP3 рецепторите (Ip3R). Самиот, веќе ослободен $Ca^{2+}$ стимулира понатамошно ослободување на $Ca^{2+}$ од IP3R и RyR рецепторите. Ослободувањето на $Ca^{2+}$ од еден рецептор ја активира активацијата на следниот рецептор и така настанува активно ширење на сигналот. Затоа, $Ca^{2+}$ сигналот може да започне во апикалниот дел на клетката, а потоа многу брзо да се прошири низ целата клетка.*

Транспортот на органските и неорганските материи од крвната плазма во плунката се одвива на неколку начини (Слика 2.9).

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)

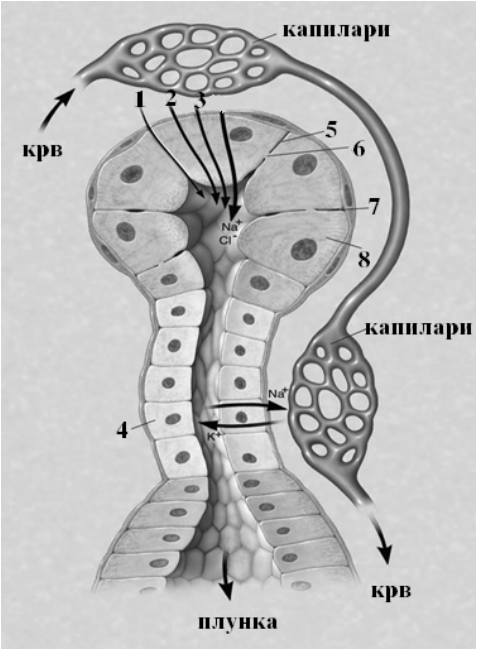
2. Филтрација низ порите на клеточната мембрана на ацинусните клетки.

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 ($Na^+$, $K^+$, $Cl^-$, $Ca^{2+}$)

5. Трансудација на некои составни компоненти на крвната плазма преку гингивалниот сулкус или, пак, директно низ оралната мукоза (албумин)




***Слика 2.9:*** *Механизам на транспорт на протеините и на јоните од крвната плазма во саливарните канали. 1. активен транспорт, 2. пасивна дифузија, 3. обична филтрација 4. $Na^+$ на дуктусните клетки 5. клеточна мембрана 6. пора, 7. интерклеточен простор 8. ацинусна клетка*

# БИОХЕМИСКИ СОСТАВ НА ПЛУНКАТА

Квантитативно најзастапена компонента на плунката е водата (99 %). Само 1 % се други компоненти:

- органски молекули: протеини, гликопротеини, липиди и јаглехидрати (глукоза);
- крајни метаболити: уреа, урична киселина, креатинин, билирубин;

- стероидни хормони;
- лекови и нивни метаболити;
- неоргански состојки-електролити ($Na^+$, $K^+$, $Cl^-$, $Ca^{2+}$, 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, урична киселина, креатинин).

Компоненти на плунката кои 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 дизмутаза, 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 (Табела 2.1). 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, сијаломуцинот и секреторните имуноглобулини.

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

| Компоненти | Плунка | Крвна плазма |
|---|---|---|
| *Неорганski компоненти (mmol/L)* | | |
| $Ca^{2+}$ | 1-2 | 2,5 |
| $Mg^{2+}$ | 0,2 - 0,5 | 1,0 |
| $Na^{+}$ | 6-26 | 140 |
| $K^{+}$ | 1-7 | 4 |
| $NH_4^{+}$ | 14-32 | 0,03 |
| $H_2PO_4$ i $HPO_4^{2-}$ | 2-23 | 2 |
| $Cl^{-}$ | 17-29 | 103 |
| $HCO_3^{-}$ | 2-30 | 27 |
| $F^{-}$ | 0,0005-0,005 | 0,001 |
| $SN^{-}$ | 0,1-2,0 | - |
| *Органski компоненти (mmol/L)* | | |
| уреа | 2-6 | 5 |
| урична киселина | 0,2 | 0,3 |
| слободни амино киселини | 1-2 | 3-5 |
| глукоза | 0,05 | 5 |
| лактат | 0,1 | 1 |
| масни киселини (mg/L) | 10 | 3.000 |
| *Макромолекули (mg/L)* | | |
| протеини | 1.400-2.000 | 70.000 |
| гликопротеини | 110-300 | 1.400 |
| амилаза | 380 | - |
| лизозим | 109 | - |
| пероксидаза | 3 | - |
| IgA | 194 | 1.300 |
| IgG | 14 | 13.000 |
| IgM | 2 | 1.000 |
| липиди | 20-30 | 2.000 |

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 $K^+$, 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.

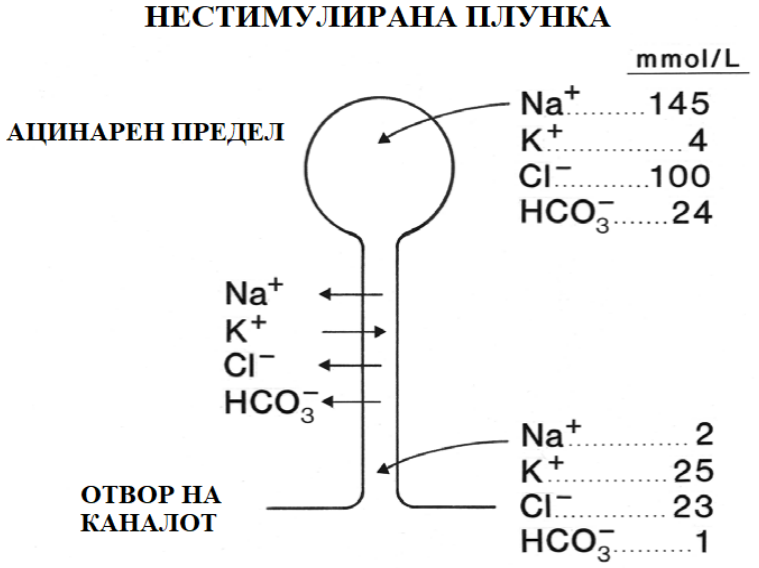
## Плунка и перцепција на вкусовите дразби

Примарната плунка, која се создава во ацинусниот лумен, според концентрацијата на електролити, е изотонична со крвната плазма. Со поминување на примарната плунка низ системот на собирни и одводни каналчиња се менува концентрацијата на електролитите, односно $Na^+$ и $Cl^-$ речиси во потполност се реапсорбираат, а HCO јон во голема мера се реапсорбира. Наспроти тоа, во текот на поминување на примарната плунка низ системот на собирни и одводни каналчиња, се излачува калиумот (Слика 2.10).

Се поставува прашањето, зошто е значајно дефинитивната плунка да биде хипотонична (1/6 од осмоларноста на крвната плазма) во споредба со крвната плазма? Одговорот е за да се овозможи перцепцијата на вкусовните дразби. Ако плунката има иста концентрација на $Na^+$ и $Cl^-$ како и крвната плазма, тогаш не би можеле да се почувствуваат ниските концентрации на сол, која се внесува преку исхраната. Перцепцијата на вкусовните дразби е особено добро регулирана при нестимулирана саливарна секреција. Освен што се пониски концентрациите на натриум и хлор, во нестимулираната плунка се пониски и концентрациите на гликоза, бикарбонати и уреа. Концентрациите на овие биомолекули во нестимулираната плунка и во крвта се разликуваат, а нивната концентрација во нестимулиранта плунка е соодветна на потребниот праг за нивна детекција. Најголема разлика постои помеѓу концентрациите на натриум и хлор во плунката и крвната плазма. Овие разлики се многу поголеми од потребниот праг за детекција на солениот вкус. На табела 2.2 е прикажан соодносот помеѓу составот на плазмата и нестимулираната плунка, за перцепција на одделни вкусови (сите концентрации се изразени во mmol/L)

**Табела 2.2:** Разлика во концентрацијата на одредени компоненти во крвната плазма и плунката поврзани со перцепција на вкусот

| **mmol/L** | Na | Кисело Cl | Кисело H | $HCO_3$ | Слатко гликоза | Горчливо уреа |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Крв | 145 | 101 | $4x10^{-5}$ | 24 | 4.5 | 6 |
| Плунка | 6 | 16 | $1x10^{-4}$ | 5 | 0.08 | 4 |
| Праг на препознавање на вкусот | NaCl | HCl | | $NaHCO_3$ | сахароза | уреа |
| | 12 | 0.8 | | 10 | 30 | 90 |




***Слика 2.10**: Разлика во концентрациите на електролитите на примарна и дефинитивна нестимулирана плунка*

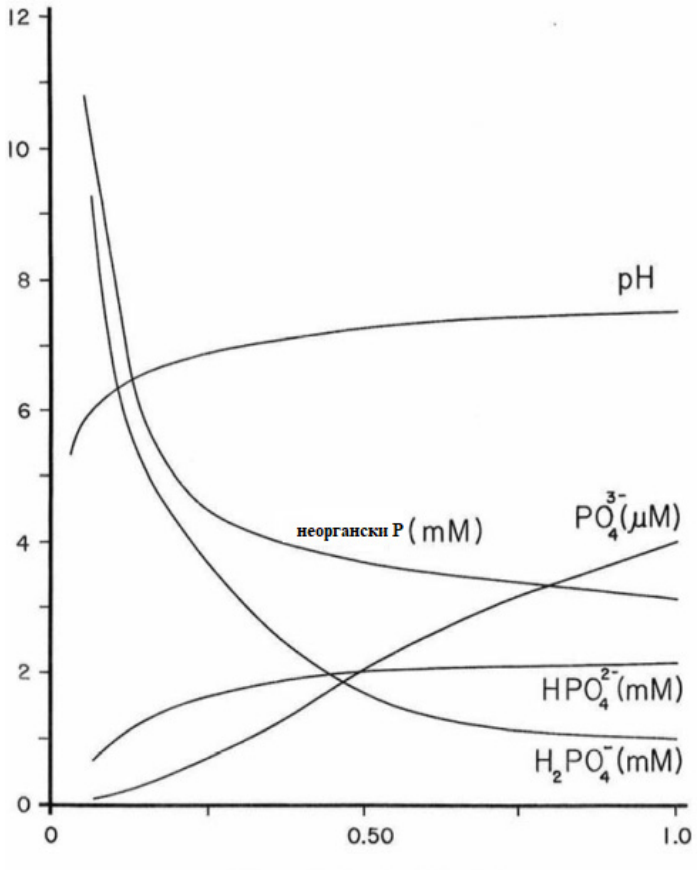
## Концентрација на калциум и фосфати во плунка

Плунката е заситена со калциум, фосфати и хидроксилни јони, кои се јони што влегуваат и во состав на цврстата забна супстанција. Овие

јони се одговорни за создавање на цврстите минерални депозити на забите (забен камен), но и за заштита на забите од појава на ерозии и кариес.

Плунката содржи помало количество на калциум, а поголемо количество на фосфати во споредба со крвната плазма (Ca = 2,5 mmol/L, неоргански P=1 mmol/L) (Табела 2.1). Механизмите кои се одговорни за поголема концентрација на фосфати во плунката, во споредба со нивната концентрација во крвната плазма, се сè уште непознати. Плунковниот секрет од различни плунковни жлезди содржи различни концентрации на калциум и фосфати. Паротидната плунка содржи помало количество на калциум, а поголемо количество на неорганski фосфати во споредба со субмандибуларната плунка. Плунката која потекнува од малите мукозни жлезди се карактеризира со многу ниска концентрација на фосфати (0,4 mmol/L).

Со зголемување на лачењето на плунката се намалува концентрацијата на вкупните фосфати во плунка, а се зголемува pH на плунката и вкупната концентрација на бикарбонати. Со зголемување на pH вредноста на плунката има промени во концентрацијата на различните pH зависни форми на саливарните фосфати: дихидроген фосфат ($H_2PO_4^{1-}$), монохидроген фосфат ($HPO_4^{2-}$) и фосфат ($PO_4^{3-}$). Се намалува концентрацијата на дихидроген фосфат ($H_2PO_4^{1-}$), незначително се зголемува концентрацијата на монохидроген фосфат ($HPO_4^{2-}$), а значително се зголемува концентрацијата на фосфатот ($PO_4^{3-}$) (Слика 2.11). Повеќекратното зголемување на концентрацијата на фосфатот ($PO_4^{3-}$) има големо значење за одржување на интегритетот на цврстите забни супстанции.




***Слика 2.11:*** *Приказ на концентрација на различни форми на фосфати во зависност од количеството на лачење на плунка*

Ако ги разгледаме електролитите, чија концентрација се зголемува со зголемено лачење на плунка, ќе забележиме дека се зголемува концентрацијата на оние електролити кои влегуваат во состав на кристалната решетка на цврстата забна супстанција ($Ca^{2+}$, $PO_4^{3-}$, $OH^-$). Тоа оди во прилог на процесите на реминерализација на забите, но од друга страна може да овозможи наталожување на поголемо количество цврсти депозити на забите.

# 3 САЛИВАРНИ ПРОТЕИНИ

## ОПШТИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА САЛИВАРНИТЕ ПРОТЕИНИ

## МЕХАНИЗАМ НА СЕКРЕЦИЈА НА САЛИВАРНИТЕ ПРОТЕИНИ

# ОПШТИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА САЛИВАРНИТЕ ПРОТЕИНИ

Во составот на плунката има присуство на голем број различни протеини. Главно се продукт на плунковните жлезди, а дел од нив, како што се: албуминот, некои од класите на имуноглобулините и хормоните, потекнуваат од крвната плазма.

Саливарните протеини имаат неколку значајни улоги за одржувањето на оралната хомеостаза, а тоа се: дигестивна, антимикробна, регулација на електролитите, микробна агрегација, заштита на емајлот на забот, лубрикантна и пуферизирачка улога. Нивниот„животен циклус“ започнува со интраклеточна биосинтеза, понатаму со посттранслациона модификација (гликолизација, фосфорилација, протеолиза, сулфатација) и продолжува со нивна секреција во оралната празнина. Протеините во плунката се многу динамични и варијабилни биомолекули, а таа варијабилност зависи од времето на нивната синтеза, од нивните биохемиски карактеристики како и од присуството на различни фактори кои можат да предизвикаат нивна модификација.

Полето на истражување и откривање на различни класи на саливарни протеини во последниве години бележи многу брз напредок. Досега се откриени повеќе од 3.000 различни протеини во хуманата плунка. Меѓу најзначајните фамилии на саливарни протеини се: протеини богати со пролин (англиски prolin rich protein PRP), хистатини, статерини, цистатини и α(алфа)-амилаза. Освен наведените саливарни протеини кои се особено специфични за плунката, во овој орален флуид се присутни протеини кои се сретнуваат и во други биолошки течности (Табела 3.1). Такви се

протеините: муцини, лизозим, лактоферин, пероксидаза, карбоанхидраза, саливарни ИгА, ИгГ, албумини, дефензини, кателицидини и други.

Околу 20 % од вкупните саливарни протеини можат да се сретнат и во серумот, поради што одредени квантитативни и квалитативни промени на протеините можат да се доведат во релација со одредени заболувања. Овој податок укажува на можноста од користење на плунката како дијагностички медиум, не само за орални заболувања туку и за одредени системски заболувања и состојби.

Постојат одредени тешкотии при групирање на овие биомолекули, поради што во литературата се присутни различни класификации на саливарните протеини. Тие се базираат главно на нивната функција и на нивната распространетост во телесните течности. Во групата на протеини и гликопротеини кои потекнуваат од плунковните жлезди, се вбројуваат:

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

Вкупната содржина на протеините во плунка се движи од 0,5-2,5 g/l. Според распространетоста во телесните течности, саливарните протеини можат да се класифицираат во три групи (Табела 3.1):

I. група: протеини што се сретнуваат исклучиво во плунката (хистатини и киселите пролин богати 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);

**Табела 3.1:** Дистрибуција на саливарни протеини во различни телесни течности

| Класа | плунка | солзи | назален секрет | бронхијален секрет | семена (плодова) течност | мукозен секрет на матка | пот | плазма |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Муцини** | ++++ | + | ++++ | ++++ | + | ++++ | ++++ | - |
| **Кисели PRP** | ++++ | - | - | - | - | - | - | - |
| **Алфа амилаза** | ++++ | + | + | + | + | + | + | + |
| **Базни PRP** | +++ | - | + | + | - | - | - | - |
| **Секреторен ИгА** | +++ | ++++ | ++++ | - | + | - | + | |
| **Цистатини** | ++ | + | + | - | + | + | + | ++ |
| **Статерин** | ++ | + | + | + | - | - | - | - |
| **ИгГ** | + | + | + | + | + | - | + | ++++ |
| **ЕП-ГП** | + | + | + | - | + | - | + | - |
| **Хистатини** | + | - | _ | _ | _ | _ | _ | _ |
| **Лизозим** | + | ++++ | +++++ | ++++ | + | + | - | + |
| **Каликреин** | + | - | + | - | + | - | + | + |
| **Лактоферин** | + | ++++ | +++++ | ++++ | + | + | - | + |
| **Пероксидаза** | + | + | + | - | - | + | - | - |
| **ИгМ** | + | + | + | + | - | - | - | ++ |
| **Албумин** | + | + | + | + | - | + | + | ++++ |

- (не се детектирани), + (< од 1% од вкупните протеини), ++ (помеѓу 1 и 5% од вкупните протеини), +++ (помеѓу 5 и 15% од вкупните протеини), ++++ (> од 15% од вкупните протеини)

Пептидите, протеините и гликопротеините кои потекнуваат од плунковните жлезди се синтетизираат во ацинусните и дуктусните клетки. Трите пара на големи плунковни жлезди се разликуваат според природата на нивната протеинска секреција (Табела 3.2). 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 излачуваат главно саливарна амилаза и со пролин богати гликопротеини (PRP). Поради тоа, паротидната плунка е помалку вискозна и помалку густа.

**Табела 3.2:** Застапеност на главните саливарни протеини во различен тип на саливарна секреција

| **протеини μg/mL** | **паротидна секреција** | | **субманд./субл. секреција** | | **вкупна салив. секреција** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | минимум | максимум | минимум | максимум | Минимум | максимум |
| амилаза | 650 | 2600 | 0 | 0 | 380 | 500 |
| цистатин | 2 | 4 | 92 | 280 | 240 | 280 |
| PRP | 230 | 1251 | 270 | 1335 | 90 | 180 |
| Муцуни | 0 | 0 | 80 | 560 | 90 | 700 |
| сИгА | 20 | 230 | 41 | 56 | 19 | 439 |
| **ВКУПНО** | **902** | **4085** | **483** | **2231** | **819** | **2099** |

Различни стимулуси (механички, хемиски и др.) не само што влијаат врз количеството на излачена плунка туку влијаат и врз квалитативните карактеристики на плунката. Докажано е дека различни фактори на стимулација предизвикуваат различна продукција на определени класи на саливарни протеини, во вкупната (мешана) плунка и во плунката која потекнува од големите плунковни жлезди: паротидната и субмандибуларната/сублингвалната плунковна жлезда (СМСЛ) види табела 3.3.

**Табела 3.3:** Промени во саливарниот протеински состав со различни стимуланси

| вид на плунка | стимуланс | промени во лачење на различни саливарни протеини |
|---|---|---|
| СМСЛ | овошни бонбони | Муцин, тип-1 (+)<br>Муцин, тип-2 (НП)<br>Лактоферин (-)<br>Пероксидаза (-)<br>Амилаза(-)<br>Карбоанхидраза (+)<br>PRP (+)<br>PRP Базни и гликолизарани (+) |
| вкупна (мешана) | по четкање на заби | Албумин (+) |
| паротидна и СМСЛ | механички и кисело | Хистатини, паротидна (-)<br>Хистатини, СМСЛ (+) |
| вкупна(мешана) | лимонска киселина | PRP (+)<br>Алфа амилаза (+)<br>Калгранулин (+)<br>Анексин (+)<br>9 неидентификувани протеини(+) |
| паротидна | лимонска киселина | ИгА (-)<br>Албумин (-)<br>Лизозим (-)<br>Амилаза (НП) |
| (+) се зголемува концентрацијата со стимулација, (-) се намалува концентрацијата со стимулација, (НП) нема промени со стимулација | | |

Малите мукозни жлезди учествуваат во продукција на 8-10 % од вкупната мешана плунка. Независно што волуменот на излачена плунка од малите мукозни жлезди не е голем, тие имаат големо значење за оралната

физиологија и одржувањето на оралната хомеостаза. Тоа е овозможено благодарение на:

- нивната карактеристична локализација (по целата орална лигавица),
- нивната близина до површината на оралната мукоза,
- нивната богата содржина на муцин и имуноглобулини во споредба со големите плунковни жлезди.

***Муцин -*** Во секретот на малите мукозни жлезди се присутни двата главни претставници на муцините, високомолекуларниот и нискомолекуларниот. Овие макромолекули се значајни бидејќи спречуваат сушење на оралната мукоза, спречуваат нејзино повредување и ја заштитуваат мукозата од различни микроорганизми. Освен тоа, муцините создаваат комплекси со други помали саливарни протеини, како што се саливарниот имуноглобулин А (сИгА), лизозимот, хистатините, пролин богатите гликопротеини (PRP). Муцините од малите мукозни жлезди, на тој начин (преку овие комплекси) ги заштитуваат помалите саливарни гликопротеини од протеолиза со протеолитички ензими од различно потекло.

***Цистатини -*** Неколку класи од фамилијата на саливарните протеини, наречени цистатини (цистатини А, В, D, SN), се откриени во мукозниот секрет на малите плунковни жлезди. Присуството на овие протеини во секретот на малите мукозни жлезди, докажува дека тие имаат улога во спречување на оштетување на оралните ткива под дејство на ензимите цистеин-протеази. Имено, цистатините се саливарни протеини кои ги инактивираат ензимите цистеин-протеази.

***Пролин богати гликопротеини (PRP) -*** Иако пролин богатите гликопротеини (PRP), доминантно се синтетизираат во големите плунковни жлезди, сепак пет класи од овие протеини се откриени и во секретот на малите мукозни жлезди. Овие саливарни протеини се значајни за хомеостазата на минералите во плунката и за заштита на цврстите забни ткива.

***Хистатини -*** Во плунката, која потекнува од малите мукозни жлезди, утврдено е присуство и на две класи хистатини (хистатин 3 и хистатин 1). Тоа се саливарни протеини кои имаат улога во вродената имунолошка заштита на оралната празнина, така што овие саливарни пептиди имаат фунгицидно дејство (ја убиваат Candida albicans) и бактериостатско дејство (го спречуваат размножувањето на Streptococcus mutans).

Поновите истражување откриле 12 нови саливарни протеини присутни во секретот на малите лабијални мукозни жлезди, што го прави секретот на лабијалните мукозни жлезди единствен и уникатен според протеинската секреција. Саливарните протеини кои се создаваат во малите мукозни жлезди се разликуваат од саливарните протеини кои се создаваат во големите плунковни жлезди, според следниве две карактеристики:

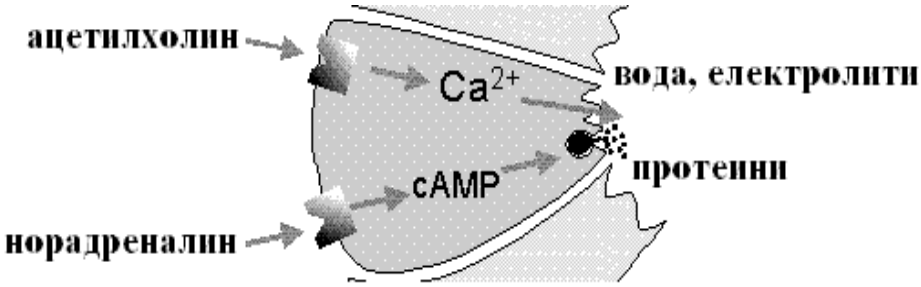
- протеинската анализа на секретот на малите мукозни жлезди покажува присуство само на 56 различни саливарни протеини, додека пак во секретот на паротидната, субмандибуларната и сублингвалата жлезда се докажува присуство на повеќе од илјада саливарни протеини,
- една четвртина од саливарните протеини продуцирани од малите мукозни жледи се карактеристични за овие жлезди и не се создаваат во големите плунковни жлезди.

# МЕХАНИЗАМ НА СЕКРЕЦИЈА НА САЛИВАРНИТЕ ПРОТЕИНИ

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, којшто во вид на странични синџири се поврзува за основниот полипептиден синџир. На тој начин синтетизираните гликопротеини, поради големата молекулска маса, не можат 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 (фосфорилацијата на протеинот) е поврзана со цикличниот аденозин монофосфат (cAMP). Ова соединение е познато како секундарен гласник во механизмот на дејствување на многу хормони, односно, во

регулацијата на биохемиските процеси во клетките. Зголемувањето на нивото на cAMP 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 cAMP 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 cAMP.*

β-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 ATP формира cAMP. cAMP како секундарен гласник ги активира ензимите од групата на протеин киназа A, а тие пак вршат фосфорилација на протеините кои се синтетизираат (слика 3.1).

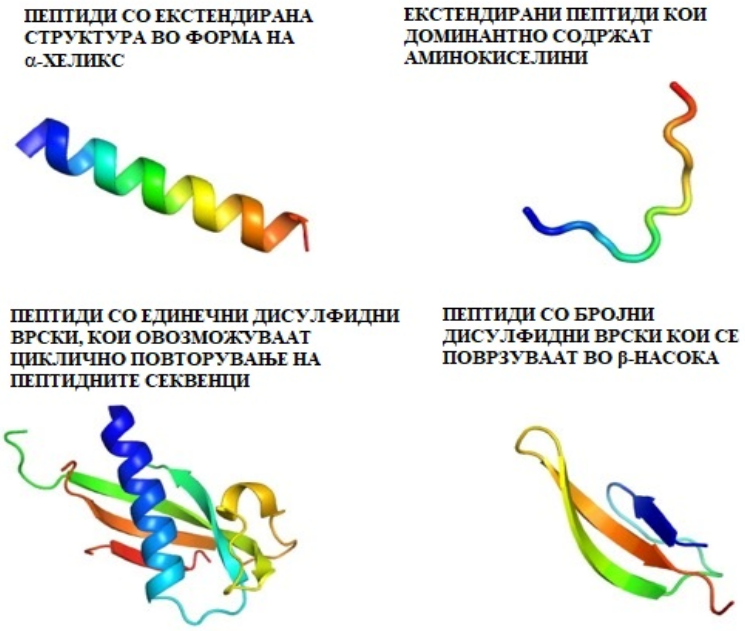
Активацијата со адренергичните нерви не е единствениот начин на којшто се стимулира синтезата на протеините во ацинусните и дуктусните клетки. Плунковните жлезди, освен адренергични и холинергични неврони, содржат и пептидергични неурони. Во овие пептидергични неврони е присутен вазоактивен интестинален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

Речиси сите саливарни протеини или пептиди, според нивната функција, можеме да ги вброиме во група на **антимикробни пептиди (АМП).** Најголем број од АМП се катјонски молекули позитивно наелектри-

зирани. Но, иако во помал број, во плунката се присутни и негативно наелектризирани АМП. Иако се вбројуваат во една голема група со иста функција (антимикробна), сепак поради зголемување на бројот на новооткриени АМП, тешко е нивното заедничко обединување и објаснување. Нивната примарна структура се разликува и може да се состои од еден пептиден синџир од 10 до 50 аминокиселини, или, пак, поголем пептид од неколку стотини аминокиселини. Катјонските АМП содржат различни позитивно наелектризирани аминокиселински резидуи, како што се: аргинин, лизин, хистидин и голем процент на хидрофобни резидуи.

Врз основа на нивната секундарна структура, антимикробните пептиди во плунката се групирани во четири групи (Слика 3.2):

1. пептиди со екстендирана структура во форма на α-хеликс
2. пептиди со бројни дисулфидни врски кои се поврзуваат во β-насока
3. пептиди со единечни дисулфидни врски, кои овозможуваат циклично повторување на пептидните секвенци
4. екстендирани пептиди кои доминантно содржат аминокиселини.




***Слика 3.2:*** *Секундарна структура на антимикробните пептиди од плунката*

Повеќето од АМП првично се претставени во вид на долги препептидни прекурсори, кои понатаму претрпуваат протеолитички промени на N-терминалниот дел, за да на крај станат активни пептиди. Најголем број од саливарните протеини се секретираат постојано во оралната празнина, а некои од нив (на пр. ИгА), се секретираат како резултат на специфични стимулуси.

Причина за тешкотиите во класификацијата на саливарните протеини е тоа што, кај голем број од нив вистинската структурна конфигурација може да се регистрира дури по нивната биолошка интеракција со различни биолошки мембрани.

Антимикробните саливарни пептиди содржат и хидрофобни и хидрофилни домени. Позитивно наелектризираните резидуи на пептидите се поврзуваат за ЛПС-липополисахаридот во клеточната мембрана на грам-негативните бактерии и се вградуваат во хидрофобниот внатрешен дел на мембраната. Понатамошната улога на саливарните пептиди во уништувањето на бактериската клетка е различна за различни пептиди и не е во потполност разјаснета.

Голем е бројот на саливарни протеини кои се значајни за одбранбената (имунолошката) заштита во оралната празнина. Некои од овие одбранбени саливарни протеини, како што се саливарните имуноглобулини и саливарните чаперокини, се вклучени и во вродената и во стекнатата имунолошка активност. Катјонските пептиди и другите саливарни протеини, како што се: лизозимот, амилазата, пролин богатите гликопротеини (PRP), цистатините, муцините, пероксидазата, статеринот и други, првенствено се одговорни за вродената одбрана на ниво на оралната празнина. Но, освен тоа, некои од нив имаат својство на имунолошка активација и/или имунолошка модулација.

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. Многу од саливарните протеини го остварува својот ефект во комбинација со други саливарни протеини. Овој кумулативен или синергистички ефект обезбедува ефикасна одбранбена заштита на ниво на оралната лигавица.

Во вкупната мешана плунка се докажани петте (5) различни одбранбени ефекти на саливарните протеини. Тоа се:

- Микробна аглутинација. Таков ефект имаат протеините кои се способни да се поврзат за бактерискиот клеточен ѕид, за други орални површини, или пак да се поврзат со други протеини.
- Бактериолиза, односно уништување на бактериите. Овој ефект го остваруваат, пред сè, катјонските саливарни пептиди и лизозимот.
- Фунгициден (уништување на габички) ефект.
- Антивирусен ефект (сперечување на размножување на вирусните клетки).
- Имунолошки ефект. Ги вклучува, пред сè, саливарните имуноглобулини и останатите протеини кои ја активираат или пак модулираат имунолошката заштита во оралната празнина.

Независно од различните класификации кои се присутни во литературата, од дидактички причини, за полесно разбирање на улогата на саливарните протеини во оралната физиологија и хомеостаза, во понатамошниот текст ние ќе ги групираме во три групи:

1. Саливарни антимикробни пептиди. Во оваа група на саливарни протеини ќе бидат опишани пептидите присутни во плунка со доминантно антимикробна функција.
2. Преостанати саливарни протеини кои учествуваат во неспецифичната имунолошка заштита на оралната празнина.
3. Саливарни протеини кои учествуваат во специфична имунолошка заштита на оралната празнина.

# 4 АНТИМИКРОБНИ ПЕПТИДИ ПРИСУТНИ ВО ПЛУНКАТА

## ЛИЗОЗИМ

### Бактериолитично дејство на лизозимот

## ЛАКТОФЕРИН

### Антибактериско дејство на лактоферинот

### Антивирусно дејство на лактоферинот

### Фунгицидно дејство на лактоферинот

## ХИСТАТИНИ

### Создавање на дентална пеликула

### Антибактериско и фунгицидно 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

### Заздравување на рани

## ДЕФЕНЗИНИ

## КАЛПРОТЕКТИНИ

## КАТЕЛИЦИДИНИ

## АДРЕНОМЕДУЛИН

# ПРОТЕИНИ КОИ ЈА ЗГОЛЕМУВААТ ПРОПУСТЛИВОСТА НА БАКТЕРИСКАТА КЛЕТОЧНА МЕМБРАНА-BPI (BACTERICIDAL/PERMEABILITY INCREASING PROTEIN)

# ЛИЗОЗИМ

Овој ензим-протеин на плунката е значаен за неспецифичната хуморална антибактериска заштита. Изграден е од еден полипептиден синџир кој содржи 129 аминокиселини. Во полипептидниот синџир 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 шест домени A, B, C, D, E и F. Овие шест домени заедно врзуваат шест шеќерни резидуи на пептидогликаните на клеточниот ѕид на бактеријата. Главните каталитички групи на активното место на лизозимот потекнуваат 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.

**Табела 4.1:** Концентрација на лизозимот во плунката (mg/ml)

| | **Мешана плунка** | | **Паротидна плунка** | | **Субмандибулар на-сублингвална плунка** |
|---|---|---|---|---|---|
| | Стимулирана | Нестимулирана | Стимулирана | Нестимулирана | Стимулирана |
| **Лизозим** | 5-50 | 100-200 | 1-20 | 10-80 | 10-70 |

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 4.1). 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

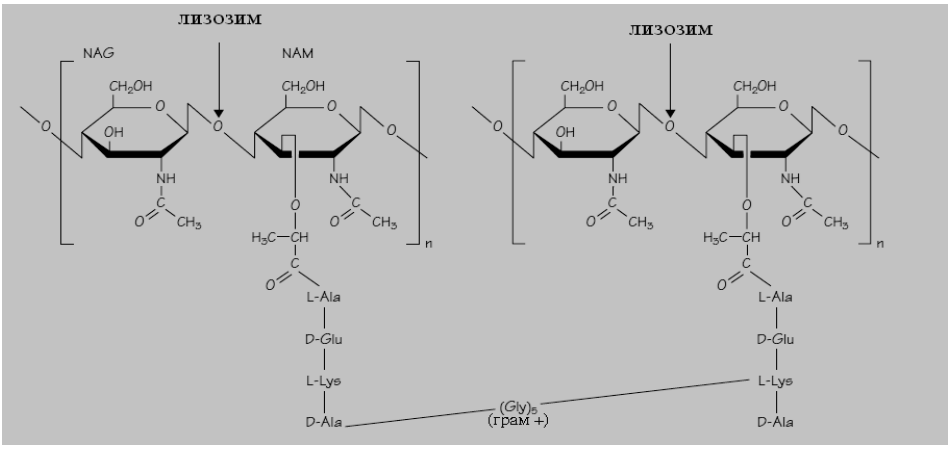
## Бактериолитично дејство на лизозимот

Лизозимот го катализира хидролитичкото разградување на β (1,4) глукозидните врски на N-ацетил-неураминската киселина која влегува во состав на протеогликаните и глукозаминогликаните од бактерискиот клеточен ѕид. На тој начин се врши лиза на бактериската клетка.

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

Грам-позитивните бактерии имаат тенок клеточен ѕид што е изграден од околу 40 слоја на пептидогликани во кои се вметнати синџири на таихоинска и липотаихоинска киселина (Слика 4.1). Грам-негативните бактерии имаат само еден слој на пептидогликани без таихоинска киселина. Овој слој на пептидогликани е опкружен 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 4.1:*** *Дејството на лизозимот врз пептидогликаните на грам-позитивните бактерии (ја раскинува 1,4 глукозидната врска)*

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

Друг предложен механизам во литературата, за дејството на лизозимот, е неговата способност да предизвикува ослободување на двовалентни катјони ($Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$) од клеточната мембрана на бактериската клетка. Познато е дека овие катјони играат значајна улога во стабилизацијата на клеточната мембрана. 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 фунгицидно дејство, особено против габичката Candida albicans. Механизмот на фунгицидното дејство на лизозимот е сè уште дискутабилен. Предложени се два можни механизми:

- првиот е ензимска хидролиза на N-глукозидните врски кои ги поврзуваат полисахаридите и структурните протеини на клетките на габичката. Тоа резултира со 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 гингивит кај деца и помлади индивидуи. Во други студии е докажано зголемување на нивото на лизозимот во плунката кај пациенти кои имаат орална кандидијаза.

Освен антибактериското и фунгицидното 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 муцинот, 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.

# ЛАКТОФЕРИН

Лактоферинот по својата структура е гликопротеин. Припаѓа на фамилијата на трансферини, односно, „нехемиски“ - железоврзувачки протеини. Во семејството на трансферини, покрај лактоферонот, се вбројуваат и: трансферинот (главен транспортен протеин на железото во крвната

плазма), овотрансферинот (протеин во јајцето на кокошката), меланотрансфериниот (протеин на меланоцитите) и неодамна идентификуваниот инхибитор на карбоанхидраза.

***Слика 4.2:*** *Тродимензионална структура на лактоферин*

Лактоферинот е мономерен протеин кој содржи 692 аминокиселини (Слика 4.2). Протеинскиот дел е претставен во вид на еден полипептиден синџир поделен на два домена: амино-термалниот домен (N-термален дел, кој ги содржи до 333. резидуа на аминокиселините) и карбокси-термалниот домен (C-термален дел, кој ги содржи од 345. до 692. резидуа на аминокиселините). Амино-термалниот 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 анјонските молекули. Исто така е докажано дека може да се врзува и со различни видови клетки и тоа преку негативно наелектризираните фосфолипидни групи во мембраната на тие клетки. Меѓутоа, лактоферинот првенствено е железоврзувачки 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 антимикробна заштита на организмот. Овој протеин претставува прва линија на одбраната на мукозите од инфективните агенси.

Лактоферинот е присутен 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 4.2).

**Табела 4.2:** Концентрација на лактоферинот во различните видови саливарна секреција

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

Лактоферинот има антибактериско, антивирусно и фунгицидно 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.

Значењето на способноста лактоферинот да го врзе железото се согледува токму кај пациентите со агресивна пародонтопатија. Имено, кај овие пациенти е утврдено дека саливарниот лактоферин има намалена способност за врзување на железото. Поради тоа овој микроелемент е достапен за раст и развој на еден вирулентен микроорганизам (Agregatibacter actinomycetemcomitans) кој предизвикува сериозни оштетувања на пародонталните ткива.

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.

Лактоферинот освен што има бактериостатско дејство против голем број патогени бактерии, тој прејавува и својство да поттикне раст на одредени видови бактерии. Докажани се неговите пробиотски својства, односно лактоферинот го поттикнува растот на пробиотските соеви L. acidophilus и Bifidobacterium spp.

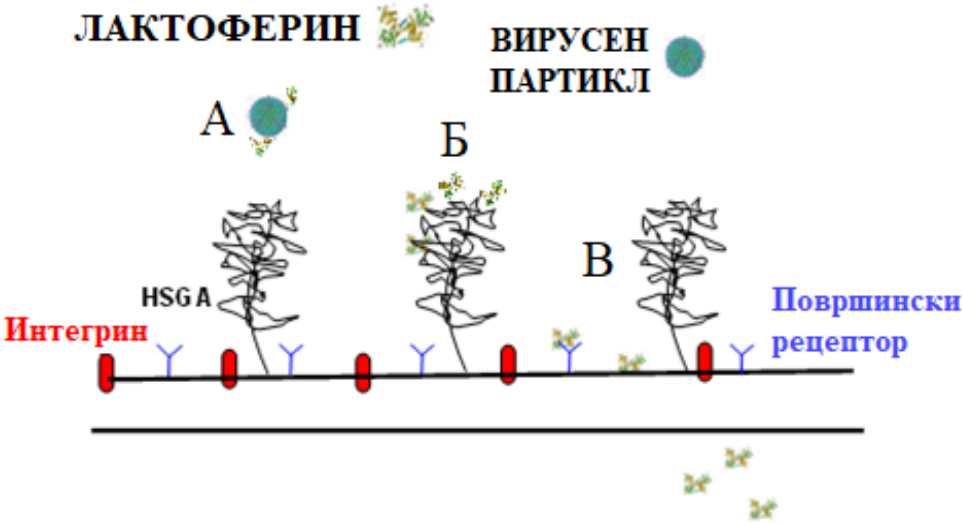
## Антивирусно дејство на лактоферинот

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

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

- 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 корецептори. Така, лактоферинот може да се поврзе со хепарин-сулфат-протеогликаните (Слика 4.3) на клетките. Голем број 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.




***Слика 4.3:*** *Различни механизми на превенција на вирусната инфекција од страна на лактоферинот. А – Директно врзување на лактоферинот за вирусот. Б, В – Врзување на лактоферинот за рецепторите на клетките на домаќинот.*

## Фунгицидно дејство на лактоферинот

Лактоферинот има слично дејство врз габичката Candida albicans како и врз бактериите. Тоа, пред сè, се однесува на врзувањето на железото како и на директна интеракција помеѓу лактоферинот со Candida

albicans, што предизвикува нарушување на пропустливоста на нејзината мембрана.

# ХИСТАТИНИ

Хистатините се фамилија на саливарни протеини кои имаат мала молекулска маса. Овие саливарни протеини содржат голем процент на аминокиселината 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).

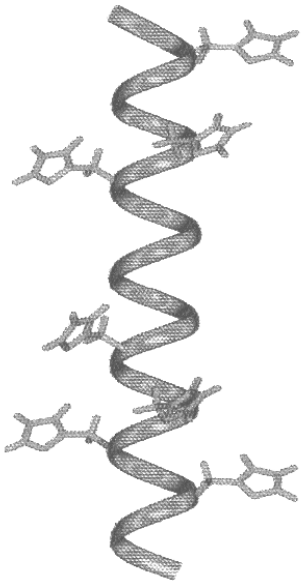
Специфична карактеристика на хистатините е постранслациона модификација. Ова особено се однесува на хистатините 1 и 3. Такви модификации се фосфорилација на втората резидуа на серинот во пептидниот синџир на хистатинот 1, како и сулфатацијата на тирозинот во пептидот на хистатинот 1. Освен тоа, како резултат на протеолитичката активност на плунката, во оваа телесна течност се присутни многубројни протеолитични фрагменти на хистатините. Поради транслационата модификација и протеолитичката активност на плунката, освен главните претставници на хистатините (хистатини 1, 3 и 5) во плунката се присутни и следните протеолитични фрагменти на хистатините: хистатини 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 и 12. Голем број мали пептиди се откриени во плунката, а имаат биолошка активност која е хомологна на хистатините.

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 4.3).

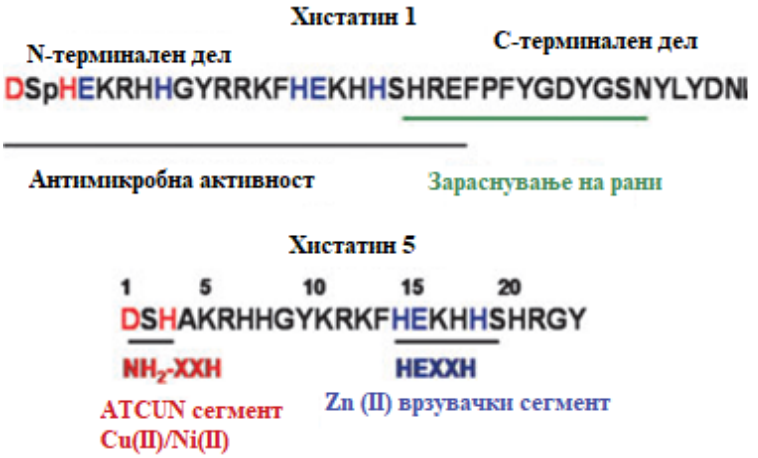
**Табела 4.3:** Биохемиски карактеристики на хистатините

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

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 седум резидуи на аминокиселината хистидин. Исто така, аминотерминалниот дел од 22 аминокиселински резидуи е идентичен за сите три видови хистатини. Кај хистатините 1 и 3 се забележуваат седум 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 4.4).



***Слика 4.4:*** *Структура на хистатинот*




***Слика 4.5:*** *Секвенци на хистатинот 1 и на хистатиниот 5 со нивните функционални домени и домените со кои врзуваат одредени метали. На сликата 4.5 се прикажани секвенци на хистатинот 1 и на хистатиниот 5 со нивните функционални домени. На N-терминалниот домен на хистатинот 5 се забележуваат две секвенци. Едната е т.н. ATCUN (amino-terminal Cu(II)/Ni(II) ) секвенца, која содржи една хистидинска резидуа на третата позиција и за неа се врзуваат Cu(II) и Ni(II), присутни во плунката. Втората секвенца е цинк-врзувачка (HEXXH) и таа е карактеристична секвенца за повеќе различни металопротеинази. Хистатинот 5 ги врзува Zn(II) и Cu(II) дури и при многу ниска константа на дисоцијација. Тоа укажува дека овие метали во плунката многу лесно се поврзуваат за хистатинот 5. Присутниот калциум во плунката не го попречува врзувањето на Zn(II) и Cu(II) за молекулата на овој пептид. Тоа укажува на малиот афинитет за поврзување на Ca јон и хистатинот 5.*

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 μg/ml, додека пак во субмандибуларниот/сублингвалниот секрет нивното количество изнесува 55-347 μg/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 што 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 напреднување 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 фунгицидна заштита на оралната средина;
- можност за врзување со одделни јони на метали во плунката;
- инхибиција на одделни протеолитички ензими и медијатори на воспалението;
- можност за врзување на токсични полифеноли во оралната средина и
- заздравување на рани

## 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 џвакањето. 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 фунгицидно својство на хистатинот

Хистатините се вбројуваат во групата на катјонски пептиди со антимикробни својства. Бидејќи оралната празнина претставува „влезна врата“ на организмот за многу микроорганизми од надворешната средина, од особено значење е присуството на голем број биомолекули во плунката кои имаат одбранбена и антимикробна улога. Токму таква улога имаат хистатините.

Хистатините се активни и против одделни бактерии, кои се поврзуваат со кариесот (Streptococcus mutans) и со пародонтопатијата (Fusobacterium nucleatum, Prevotella intermedia). Особено е значајна активноста на хистатинот 5 против пародонтопатогената бактерија Porphyromonas gingivalis. Поради позитивните полнежи на овие катјонски пептиди, хистатините стапуваат во електростатски реакции со негативно наелектризираниот бактериски клеточен ѕид. Електростатското поврзување на хистатините и нивното насобирање во липидниот двослој на бактериската клеточна мембрана, води кон нејзино истенчување и бактериска лиза. Антибактериски ефекти кон наведените, но и кон други бактериски врсти, покажуваат и протеолитичките фракции на хистатините како и саливарните пептиди со биолошка активност која е хомологна на хистатините.

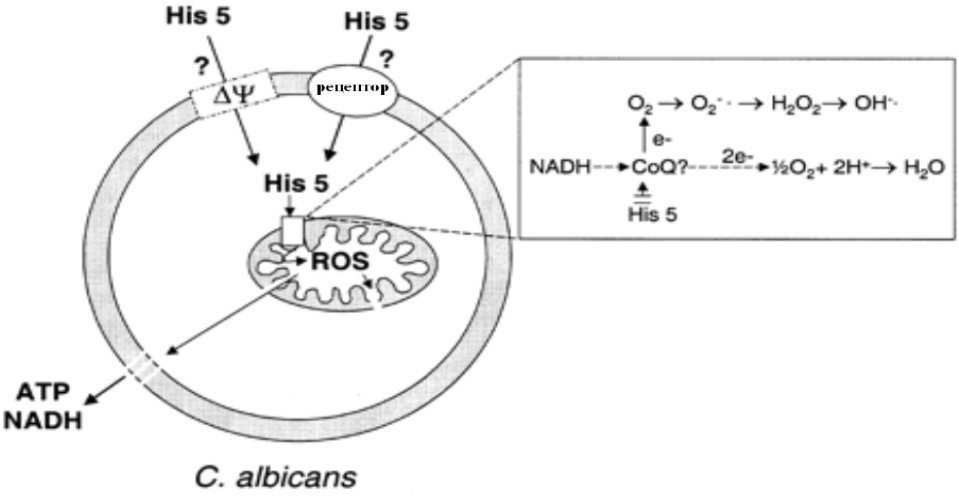
Хистатинот 5 има фунгистатичко и фунгицидно дејство во „in vitro“ услови, насочено против голем број различни габички (Candida albicans, Candida glabrata, Candida krusei, Saccharomyces cerevisiae, Cryptococcus neoformans).

Габичните инфекции на оралната празнина се поврзани со механички оштетувања на оралната мукоза, нарушување на нормалната орална флора како и со имунодефицит (HIV инфекции). Во голем број истражувања е испитувана фунгицидната активност на хистатините, особено на хистатинот 5, чијшто механизам на дејствување сè уште не е во потполност разјаснет. Утврдено е дека хистатинот 5 не дејствува 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 дејствувањето 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 АТР 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" протеини. Целното место на дејствување на хистатинот во внатрешноста на Candida albicans се митохондриите, каде што овие саливарни протеини го инхибираат респираторниот синџир. Со флуориметриски мерења е утврдено дека хистатинот 5 во митохондриите овозможува создавање на кислородни слободни радикали. Споменатите слободни радикали предизвикуваат оксидативна дезинтеграција на мембраната на митохондриите, оксидативно оштетување на биомолекулите, метаболички нарушувања во внатрешноста на клетката и следствено на тоа предизвикува нејзина смрт (Слика 4.6).




***Слика 4.6:*** *Предложен механизам на фунгицидното дејствување на хистатинот*

Поради овој фунгициден ефект и поради тоа што хистатините не се токсични за хуманите ткива се испитува можноста за нивната употреба

како потенцијално фунгицидно 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. На N-терминалниот домен на хистатинот 5 се забележуваат две секвенци. Едната е т.н. ATCUN (amino-terminal Cu(II)/Ni(II) ) секвенца, која содржи една хистидинска резидуа на третата позиција и за неа се врзуваат Cu(II) и Ni(II), присутни во плунка. Втората секвенца е цинк врзувачка (HEXXH) и таа е карактеристична секвенца за повеќе различни металопротеинази. Врзувањето на металните јони, присутни во плунката, има големо значење за заштитата на емајлот на забот како и за растот и размножувањето на оралните микроорганизми. Откако ќе ги врзат цинкот и бакарот на хистатините им се зголемува способноста за оксидативното уништување на бактериите и на Candida albicans.

## 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 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 што

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 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 дејствува врз ензимите кои, пак, не можат да го искажат своето каталитичко дејство без присуство на овој метал. Таков е случајот и 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 пародонтопатијата 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 (Il-6) и интерлеукин 8 (Il-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 е одговорен бактерискиот протеин (115 kDa) кој е наречен леукотоксин. Докажано е дека хистатинот 5 има способност да го инхибира леукотоксинот, иако механизмот на неговото протективно дејство сè уште е неразјаснет.

## Врзување на полифеноли во оралната средина

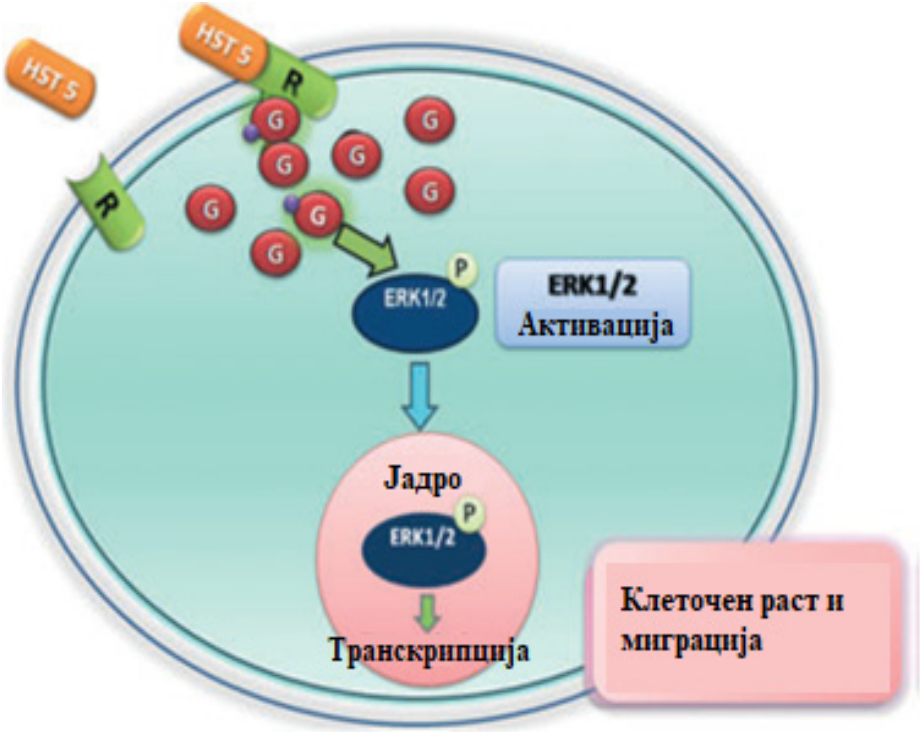
Хистатините имаат можност да ги врзуваат токсичните полифеноли поради што имаат значајна улога во детоксикацијата на диететските танини. Диететските танини претставуваат полифеноли кои имаат штетни ефекти врз организмот, првенствено на белите дробови и на црниот дроб. Со оглед на тоа што овие танини 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 ја содржат аминокиселината 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.

## Заздравување на рани

Во поново време се открива уште една значајна функција на хистатините, која е поврзана со одржувањето на интегритетот на меките орални

ткива. Во случај кога во устата има рани, во плунката има поголемо количеството на хистатините, во споредба со епидермалниот фактор на раст (ЕФР). Оралната мукоза честопати е изложена на механички сили кои предизвикуваат ткивни повреди. Плунката придонесува на повеќе начини да настане репарација на овие повреди. Во оваа телесна течност се откриени повеќе фактори на раст кои учествуваат во заздравувањето на настанатите повреди на оралната мукоза, а тие се: ЕФР, нервен фактор на раст, фибробластен фактор на раст и трефоил фактор 3. Епидермалниот фактор на раст (ЕФР) има важна улога за неколку клеточни процеси кои се вклучуваат во заздравувањето на раните: клеточна диференцијација, клеточна пролиферација и клеточна миграција. Исто така, докажано е дека ЕФР и нервниот фактор на раст кај глодарите имаат клучна улога во заздравувањето на раните. Но, концентрацијата на овие два фактора на раст во хуманата плунка е за 100.000 пати помала во споредба со нивната концентрација во плунката на глодарите.

Овие податоци покажуваат дека ЕФР не претставува клучна детерминанта во заздравувањето на раните. Неодамна е откриено дека на С-терминалниот домен на хистатините 1 и 3 е присутна секвенца одговорна за поттикнување на реепителизацијата и заздравување на раните. Заздравувањето на раните се одвива во повеќе фази, а тоа се: инфламација, пролиферација и матурација. Миграцијата и пролиферацијата на епителните клетки се критичните фактори за ре-епителизацијата и ангиогенезата. Хистатинот 1 е во состојба да ја стимулира миграцијата и пролиферацијата на епителните клетки кога неговата концентрација во плунка во рамките на вредноста од 1–10μм. Активирањето на клеточната миграција, од страна на хистатинот и од страна на ЕФР, е контролирано од различни интраклеточни механизми. Хистатините за да го започнат процесот на активирање на клетката, за нејзина пролиферација и миграција, го активираат G-протеинот во клеточната мембрана (Слика 4.7).




***Слика 4.7:*** *Шематски приказ на механизмот на хистатините во заздравување на раните. Хистатините стапуваат во интеракција со непознат рецептор на клеточната мембрана и го активираат G-протеинот. Потоа следува интраклеточно активирање на различни кинази и фосфорилација, а како резултат на тоа се стимулира клеточниот раст и миграција на клетката.*

# ДЕФЕНЗИНИ

Дефензините се вбројуваат во групата на саливарни протеини што имаат антимикробно својство (пероксидаза, лактоферин, лизозим, хистатини, калпротектин...). Тоа се мали, ниско- молекуларни протеини (3-5 kDa), богати со цистеин и со катјонска електрофоретска подвижност (Табела 4.4). 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. Поделени се во две главни групи: α-дефензини и β-дефензини.

**Табела 4.4:** Биохемиски карактеристики на дефензините

| 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 |

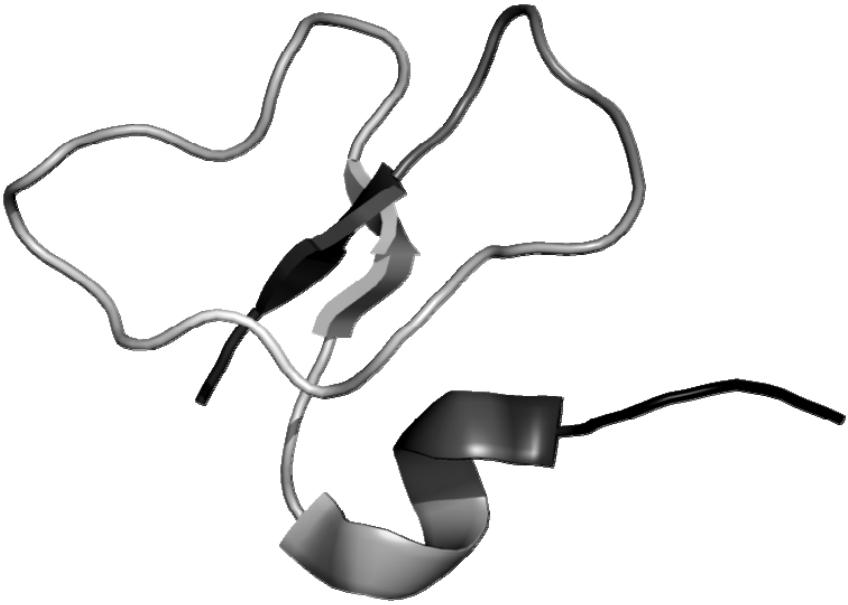
*α-дефензините (класични дефензини)* се кратки пептиди кои се изградени од 29-35 аминокиселини. Во хуманите ткива се идентификувани шест α-дефензини (Слика 4.8). Во неутрофилните гранулоцити се детектирани четири α-дефензини кои се нарекуваат хумани неутрофилни дефензини (HND-1-4). Останатите два α-дефензини (HND-5 и HND-5) се изолирани од Панетовите клетки на тенкото црево и епителните клетки на урогениталниот тракт кај жените.

***Слика 4.8:*** *Структура на α-дефензините*

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

Во мешаната плунка кај здравите индивидуи се откриени HND-1, HND-2 и HND-3. Концентрацијата на HND-1 во плунката изнесува 8,6±8 μg/m l, а концентрацијата на HND-2 изнесува 5,6±5,2 μg/m l. При воспалителни состојби во оралната празнина значително се зголемува концентрацијата на α-дефензините во плунката.

*β-дефензините* се кратки пептиди кои содржат 41 аминокиселина (Слика 4.9). Нивната структура е стабилизирана со помош на три интрамолекулски дисулфидни врски. Докажани се шест видови на хумани β-дефензини (HBD-1-6). Се создаваат од страна на епителните клетки на голем број 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 β-дефензини (HBD-1, HBD-2 и HBD-3).



***Слика 4.9:*** *Структура на β-дефензините*

β-дефензините, освен во плунката, идентификувани се и во некои други секрети (урината, бронхијална течност, секретот на носот). Концентрацијата на HBD-1 и HBD-2 во плунката изнесува 150 μg/ml. Нивното присуство во плунката главно 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 грам-позитивни, грам-негативни бактерии, габички и некои вируси, вклучувајќи го и HIV. 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 другите антимикробни 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. Муцинот е голем анјонски 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 антимикробното 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 анјонски 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. нарушување на синтезата на протеините во бактериската клетка.

Заради големиот потенцијал за „убивање“, дефензините популарно се наречени „природни антибиотици“. Во одделни истражувања се су-

герира нивната употреба во терапијата на оралните заболувања, особено на пародонтопатијата. Меѓутоа, нивната евентуална употреба би била многу ограничена бидејќи кога се во висока концентрација β-дефензини имаат цитотоксичен ефект.

# КАЛПРОТЕКТИНИ

Калпротектинот е антимикробен протеин. Според својата структура е хетеродимер, составен од лесни (MRP 8) и тешки (MRP 14) пептидни синџири. 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 синџири 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 имунохистохемиски 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 е откриена 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 дејствува антимикробно и во состојба е да ја индуцира апоптозата (контролираното програмирано умирање на клетката). Врзувајќи го цинкот, калпротектинот ги инхибира ензимите наречени матриксни металопротеинази. 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 микро-

организмите по пат на механизмот на компетиција за цинкот. Врзувањето на цинкот, за регионите на калпротектинот кои се богати со хистидин, е важен механизам на антимикробната 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 до 250 μg/ml е во состојба да го инхибира растот на бактериите Eschericihia 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 антимикробна 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 туморски клетки;

# КАТЕЛИЦИДИНИ

Кателицидините се мали пептиди со катјонска електрофоретска подвижност. Содржат од 12 до100 аминокиселини и имаат антимикробно дејство. Овие пептиди се создаваат од препротеини 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 антимикробен пептид (hCAP-18). Катјонскиот антимикробен 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 се откриени 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 кателицидините во плунката, заедно со другите антимикробни пептиди на плунката, претставува значаен фактор на неспецифичната одбрана на оралната празнина. Каталицидините ги извршуваат следните биолошки функции во оралната празнина:

- антимикробната 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 нарушување/загрозување на интегритетот на бактериската клетка. Имено, кателицидините, како и некои други катјонски пептиди со антимикробна 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 ($Ca^{2+}$ и $Mg^{2+}$). На овој начин споменатите двовалентни јони се заменуваат од страна на кателицидините со што се нарушува 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.

# АДРЕНОМЕДУЛИН

Адреномедулинот е катјонски, плурипотентен антимикробен пептид, кој се состои од 52 аминокиселини. Овој пептид е присутен во гингивалниот флуид, во плунката која потекнува од паренхимот на плунковините жлезди и во вкупната плунка. Голема е веројатноста и епителните клетки на оралната мукоза да го продуцираат адреномедулинот. Заради неговите катјонски карактеристики, овој саливарен пептид е во состојба да ги „убива“ бактериите. Адреномедулинот се врзува за бактериската мембрана и ја уништува истата. Тоа го постигнува преку создавање на јонски канали во бактериската мембрана или, пак, преку создавање на трансмембрански пори. Овој мал катјонски саливарен пептид е во состојба и да го инхибира бактериското размножување и растење на некои бактериски видови (*S. aureus*), бидејќи ја попречува делбата на бактериската клетка.

# ПРОТЕИНИ КОИ ЈА ЗГОЛЕМУВААТ ПРОПУСТЛИВОСТА НА БАКТЕРИСКАТА КЛЕТОЧНА МЕМБРАНА-BPI (BACTERICIDAL/PERMEABILITY INCREASING PROTEIN)

Тие се протеини кои се врзуваат за липидите и главно имаат слични молекуларни карактеристики. BPI се катјони, а нивната молекулска маса изнесува 52 kDa. Примарен извор на овие пептиди се неутрофилните гранулоцити, епителните клетки на оралната мукоза и паротидните плунковни жлезди. Карактеристики на овие саливарни протеини се: бактерициден ефект, неутрализација на бактериските ендотоксини и опсонизирачки ефекти. Бактерицидниот ефект и неутрализацијата на липополисахаридите (бактериските ендотоксини) се поврзани со N-терминалниот домен, додека пак опсонизирачкиот ефект е во корелација со C-терминалниот домен на овој саливарен протеин.

# 5 ДРУГИ САЛИВАРНИ ПРОТЕИНИ КОИ УЧЕСТВУВААТ ВО НЕСПЕЦИФИЧНАТА ИМУНОЛОШКА ЗАШТИТА НА ОРАЛНАТА ПРАЗНИНА

**МУЦИНИ (сијаломуцини)**

**Обложувачка улога на муцинот**

**Антимикробно дејство на муцинот**

**САЛИВАРНА АМИЛАЗА (САМОЧИСТЕЊЕ НА ОРАЛНАТА ПРАЗНИНА)**

**Биохемиски карактеристики на саливарната амилаза**

**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 (CA)**

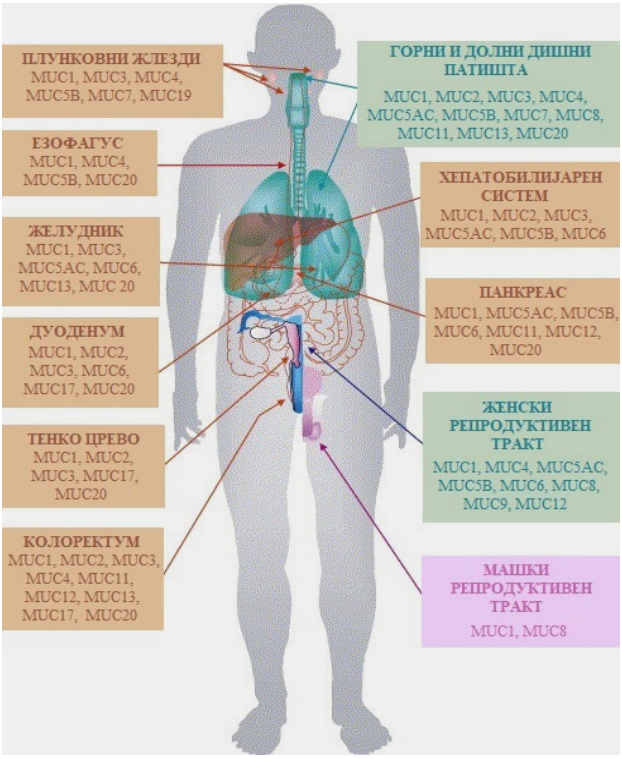
**ОРАЛНА ПЕРОКСИДАЗА**

**ЦИСТАТИНИ**

**СТАТЕРИНИ**

## МУЦИНИ (сијаломуцини)

Во човековото тело се идентифицирани 20 различни класи на муцини. Тие се присутни на епителните клетки во гастроинтестиналниот тракт, во респираторниот и гениталниот систем, како и на очите (Слика 5.1). Сите овие класи на муцини имаат единствена структура која е поврзана со локализацијата на муцинот и неговата функција.




***Слика 5.1:*** *Муцинот во човековото тело*

Во оралната празнина се идентификувани следните класи на муцини: MUC5B (или $MG_1$), MUC7 (или $MG_2$), MUC19, MUC1 и MUC4. Иако саливарните муцини имаат заедничка функција во одржувањето на интегритетот на оралните структури, сепак секоја од овие класи на саливарни муцини во одредена мера се разликува и според нивната биохемиска структура и според функцијата, во зависност од нивната локализација во устата.

$MG_1$ доминантно учествува во создавање на мукозен гел во оралната празнина и овој муцин го продуцираат мукозните клетки на субмандибуларните, сублингвалните, палатиналните и лабијалните плунковни жлезди. MUC19 учествува во создавањето на мукозниот гел, но доминантно создавањето на мукозниот гел во оралната празнина е поврзано со $MG_1$.

$MG_2$ е присутен во плунката како мономер или димер и нема својство да учествува во создавање на мукозен гел. Мономерите и димерите на оваа класа на муцин имаат својство да се поврзуваат помеѓу себе, да создаваат поголеми комплекси, со што учествуваат во агрегација на бактериските клетки во оралната празнина. Присуството на нискомолекуларниот муцин во ацинусните клетки на плунковните жлезди е различно кај различни индивидуи. Докажано е неговото присуство во мукозните жлезди на субмандибуларните и сублингвалните жлезди, додека присуството во серозните клетки на овие жлезди е варијабилно.

MUC1 и MUC4 се муцини кои се присутни на мембраните на дуктусните клетки на паротидната и субмандибуларната жлезда, како и на мембраните на дуктусните клетки на малите мукозни жлезди. За нив се смета дека имаат функција на трансдукција на клеточниот сигнал за секреција на плунка.

Муцините (MG) се високомолекуларни гликопротеини кои 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 даваат 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. Во понатамошниот текст ќе се задржиме само на двете класи на саливарните муцини кои се најдобро проучени: MUC5B (тип 1 - $MG_1$) и MUC7 (тип 2 - $MG_2$). Муцинот, тип $MG_1$, се карактеризира со голема молекулска маса ($>10^6$), додека пак, муцинот тип $MG_2$ има значително помала молекулска маса ($2x10^5$).

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

$MG_1$ е изграден од околу 5.700 аминокиселини кои се распоредени во три домени: N-терминален домен, централен (гликолизиран) домен и C-терминален домен. Егзактниот број на аминокиселини е различен во различни истражувања. Централниот гликолизирачки домен се состои од повторувачки единици на 29 аминокиселини, меѓу кои најзастапени се серин и треонин. Аминокиселините од C-терминалниот домен учествуваат во создавање на дисулфидни врски со кои мономерите на муцинот се поврзуваат во полимерен облик и во таков облик се „здиплени и спакувани“, секреторните гранули на мукозните жлезди. За одржување на стабилноста на вака спакуваниот муцински полимер е одговорен и двовалентниот калциумов јон. По ослободување на муцините од секреторните гранули, калциумот се заменува со едновалентен натриум. На тој начин се зголемува интрамолекулскиот осмотски притисок, а тоа води кон хидратација на целата молекула на муцинот. Поради тоа молекулата на високомолекулрарниот муцин е екстендирана и учествува во создавање на мукозниот гел.

$MG_2$ е саливарен гликопротеин со мала молекулска маса од 20 до 250 кDa. Во полипептидниот синџир содржи 357 аминокиселини, а во централниот регион се присутни повторувачки секвенци од 23 аминокиселини. Овој тип на муцин е сиромашен со аминокиселината цистеин, поради што $MG_2$ не е во можност да создава полимерни облици како високомолекуларниот муцин. Утврдено е дека постојат два вида на овој муцин: $MG_2$a и $MG_2$b. Овие два вида на нискомолекуларен муцин не се разликуваат според аминокиселинскиот состав туку според содржината на сијалинска киселина и на фукоза во јаглехидратниот дел. $MG_2$a содржи 14 % сијалинска киселина и 16 % фукоза, додека пак $MG_2$b содржи 27 % сијалинска киселина и 7 % фукоза (табела 5.2).

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

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

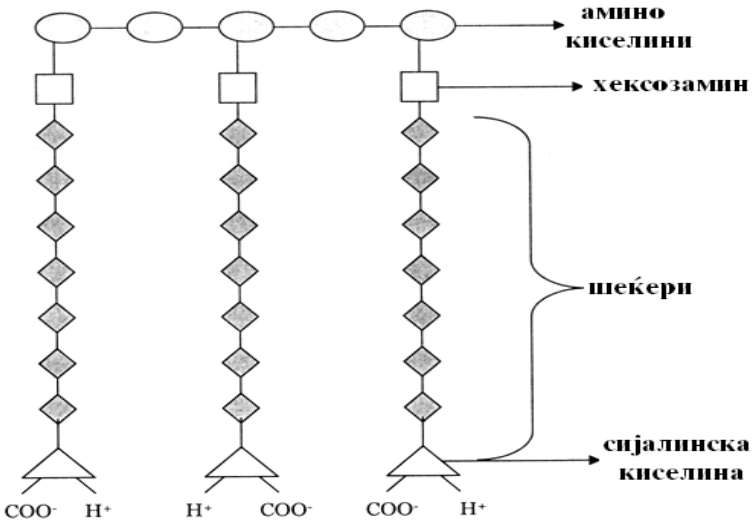
Значењето на пролинот за структурата на муцините произлегува од неговата имино (NH) група, благодарение на која се раскинува секундарната, спиралната конформација на пептидниот синџир. Заради тоа е оневозможено „склопчувањето“ на молекулите на муцините во глобуларен изглед. На тој

начин се овозможува врзување на голем број јаглехидратни синџири со кои муцините располагаат во изобилство.

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

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

Во бочните синџири на муцините, првото место во најголем број случаи го заземаат N-ацетилирани хексозамини (N-ацетил-глукозамин, N-ацетил-галактозамин) (Слика 5.2). Нивната улога е да ги поврзат јаглехидратните синџири со полипептидниот синџир. Се разликуваат три типа на врски помеѓу јаглехидратните синџири и полипептидниот синџир: 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 5.2:*** *Структура на муцинот и дисоцијација на COOH групата на сијалинската киселина*

Последно место (терминална позиција) во бочните синџири на муцините ѝ припаѓа на сијалинската киселина.

Местото кое го зазема сијалинската киселина во јаглехидратниот синџир на сијаломуцините 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 при дејствување на некоја појака минерална киселина (pH 2) (Слика 5.3). Во таков случај ќе се изгуби наелектизираноста на молекулите на муцините, ќе дојде до „склопчување“ и до наталожување на нивните молекули.

***Слика 5.3:*** *Механизам на таложење на саливарниот муцин под дејство на ниски вредности на pH и на ензимот сиалидаза.*

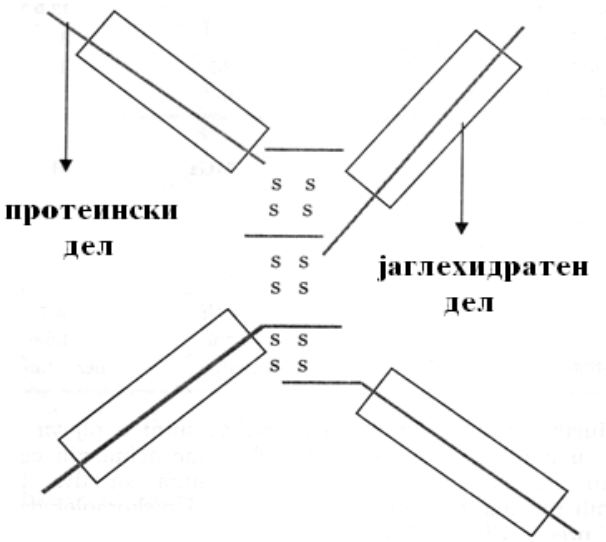
**Табела 5.1:** Биохемиски состав на $MG_1$ и $MG_2$ во плунката

| Муцини | $MG_1$ | $MG_2$ |
|---|---|---|
| Молекулска тежина-Da | $>10^6$ | $2\text{-}2{,}5 \times 10^5$ |
| Протеини- mg/100mg | 21,8 | 14,1 |
| N-ацетилгалактозамин- mg/100mg | 11,8 | 13,7 |
| N-ацетилглукозамин- 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 5.2:** Процентуална застапеност на составните компоненти на $MG_1$ и $MG_2$ во плунката

| Муцини | $MG_1$ | $MG_2$ |
|---|---|---|
| Протеини | 14,9 % | 30,4 % |
| ***Јагленихидрати***<br>Олигосахаридни синџири (број)<br>Сијалинска киселина (број)<br>Шеќери и нивни деривати во бочните синџири (број) | 78,1 %<br>14<br>46<br>4-16 | 68 %<br>170<br>67<br>2-7 |
| Сулфати | 7% | 1,6 % |
| Масни киселини | непознато | непознато |

$MG_1$ е саливарен гликопротеин со голема молекулска маса (>1.000 kDa). Неговата структура е посложена од структурата на $MG_2$. $MG_1$ е тетрамер каде што мономерните единици на муцинот се поврзани со дисулфидни врски (Слика 5.4).




***Слика 5.4:*** *Предложен модел на тетрамерниот муцин MG1*

Двата типа на саливарни муцини стапуваат во интеракција со другите саливарни протеини и на тој начин ги заштитуваат оралните структури. Интеракцијата на муцините и другите саливарни протеини го овозможува подолгото задржување на саливарните протеини во оралната празнина и ја нагласува нивната функција.

Утврдено е дека настанува поврзување на киселите и базните пролин богати протеини (PRP), на статерините и на хистатинот 1 за N-терминалениот домен на MUC7 ($MG_2$). Овие протеини имаат антимикробна улога. Поради нивната интеракција со муцинот, нивното присуство во устата се зголемува, а со тоа и нивната антимикробна функција. Докажано е дека муцините учествуваат во поврзување на сИгА за мукозната пеликула. На тој начин муцините ја зголемуваат неговата концентрација во устата и ја овозможуваат заштитата на оралниот епител.

Интеракциите помеѓу муцините ($MG_1$) и статерините, PRP и хистатините можат да бидат и раскинати под влијание на определени денатурирачки фактори. Тоа укажува дека овие интеракции се воспоставени со

помош на хидрофобни, јонски, водородни или пак van der Waals-ови врски. Но, при определени интеракции и создавање на комплекси на $MG_1$ со статерини и PRP, не се раскинуваат врските ни со денатурирачки фактори, што укажува дека тие комплекси се изградени со помош на силни ковалентни врски. Сите овие податоци укажуваат дека саливарните муцини се транспортери на антимикробните пептиди во оралната празнина, но истовремено ги заштитуваат пептидите од протеолитичка разградба.

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 муцинот е присутен) ја спречуваат автодигестијата на цревната лигавица, која би настанала под влијание на многубројни 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 муцинот

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.

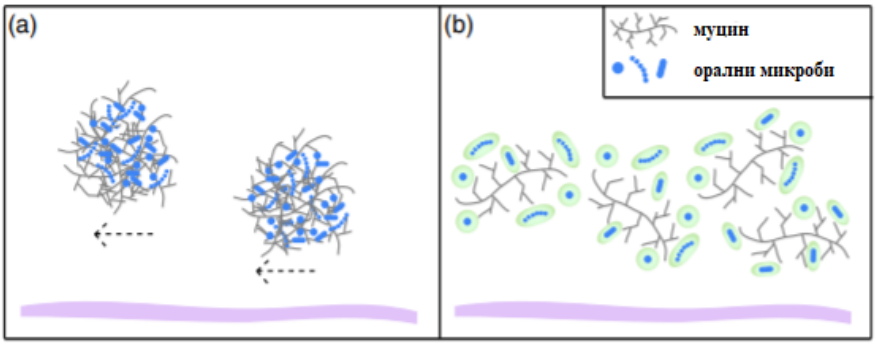
Муцините, при нивна концентрација од 30 до 40 mg/l, создаваат мукозен гел кој ја прекрива лигавицата на оралната празнина. Благодарение на тоа што поседува голем број на јаглехидратни синџири, чии

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 муцинот постои интеракција која настанува како резултат на многубројни хидрофобни, водородни и јонски врски кои се создаваат помеѓу полианјонските молекули на муцинот 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 муцинот на плунката. Интеракцијата помеѓу овој рецептор и муцинот се остварува преку јаглехидратните синџири. Утврдено е дека со дегликолизација на муцинот 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. Нарушување на интеракцијата рецептор-муцин може да настане под дејство на бактериски ензими-глукозидази. Тие го разградуваат јаглехидратниот дел на муцинот и на тој начин го попречуваат создавањето на мукозниот слој. Тоа пак ќе предизвика создавање на лезии (рани) на епителот на оралната празнина.

## Антимикробно дејство на муцинот

Поновите истражувања укажуваат и на антимикробната активност на саливарните муцини. Поради тоа, овие гликопротеини се вклучени во неспецифичната антимикробна одбрана на оралната празнина (Слика 5.6). Нискомолекуларните муцини на плунката во „in vitro“ услови дејствуваат 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. Многуте податоци во литературата покажуваат дека нискомолекуларните муцини се многу поефикасни при агрегацијата на бактериите за разлика од високомолекуларните муцини. Високомолеку-

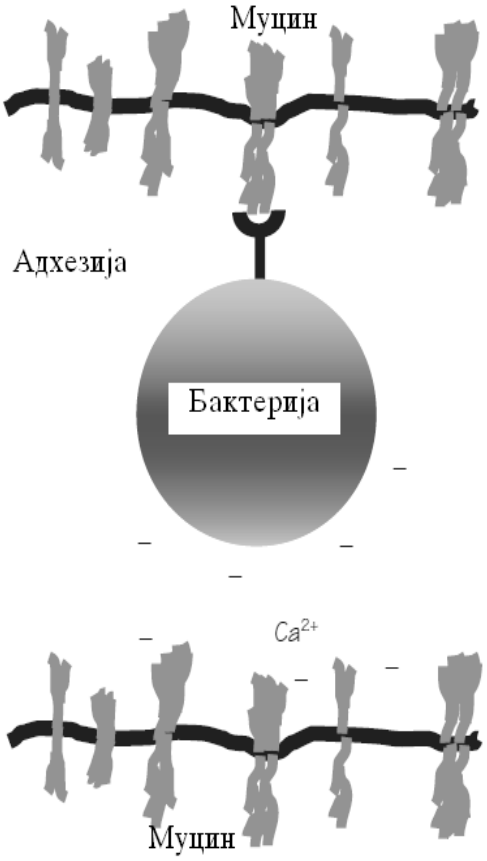
ларните муцини се многу позастапени во плунката кај кариес-чувствителни индивидуи, додека пак кај кариес-резистентните резидуи е утврдена зголемена концентрација на нискомолекуларни муцини. Двата главни муцина во плунката ($MG_1$ и $MG_2$) се продукти на два различни гена. Постојат индиции дека нискомолекуларните 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.




***Слика 5.5:*** *Потенцијални начини на заштита на микробна колонизација на усната шуплина. (а) Муцините во плунка ги аглутинираат микроорганизмите со што полесно се отстрануваат при голтање. (б) Муцинот реагира со адхезините на бактериите при што се раздвојуваат различни колонии на бактерии, се намалува нивната вирулентност и се блокира нивната колонизација во оралната празнина.*

Со тоа што саливарниот муцин предизвикува агрегација на оралните бактерии, тие полесно се отстрануваат при голтање и се спречува нивното врзување на оралната мукоза (Слика 5.5). Некои од олигосахаридите на муцинот имаат слична структура со олигосахридите на епителните клетки на оралната лигавица. Оралните бактерии имаат можност да се поврзат за епителните клетки на оралната лигавица со помош на специфички реактивни молекули наречени ахезини. Поради сличноста во структурата на олигосахаридите на муцинот и на епителните клетки, муцинот реагира со адхезините на бактериите при што ја блокира нивната колонизација во оралната празнина (Слика 5.6). 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 (бактериите се врзуваат за сијалинската киселина од нискомолекуларниот муцин). 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 5.6:*** *Механизам на агрегација на бактериите со помош на саливарниот муцин, вклучува директно поврзување на муцинот (сијалинската киселина) за бактериите или, пак, индиректно поврзување со помош на $Ca^{2+}$ јон*

Во N-терминалниот домен на $MG_2$ 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 излачуваат 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 антимикробна активност. Особено значајна антимикробна активност имаат пептидите кои ја содржат аминокиселината цистеин.

N-терминалниот домен на $MG_2$ има клучна улога за фунгицидната активност. Особено изразена фунгицидна 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 фунгицидното дејствување на споменатите пептиди и на хистатинот 5. Помеѓу овие два 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 $MG_2$ содржи седум позитивни и ниту една негативно наелектризирана резидуа. Така, неговата наелектризираност изнесува +7. Хистатинот 5 има седум позитивни и два негативни резидуи, 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 до 51-та аминокиселина на $MG_2$ како позитивно наелектризиран, електростатски се врзува за негативно наелектризираните групи (фосфатидилхолин, фосфатидилетаноламин, фосфатидилсерин и ергостерол) во мембраната на габичката. Докажано е дека $MG_2$ (пептидот 32-51-та аминокиселина) поминува низ мембраната и се акумулира во внатрешноста на клетката.

Во неколку испитувања се потврдува дека двата типа на саливарни муцини имаат својство да го инактивираат ХИВ-вирусот и да ја спречат инвазијата на овој вирус во човековиот организам. Во in vitro студија се потврдило дека и при мало присуство на $MG_1$ и $MG_2$, Т-лимфоцитите остануваат неинфицирани во траење од три часа, иако е присутен ХИВ-вирусот. Во други студии овие наоди се негираат. Како и

да е, потребни се дополнителни испитувања за да се утврди вистинскиот ефект на саливарните муцини врз ХИВ-вирусот. Но едно е сигурно, кај ХИВ инфицираните индивидуи, концентрацијата на високомолекуларниот муцин е значително помала во споредба со концентрацијата на овој саливарен муцин кај ХИВ негативните индивидуи.

## САЛИВАРНА АМИЛАЗА (САМОЧИСТЕЊЕ НА ОРАЛНАТА ПРАЗНИНА)

Саливарната амилаза како дигестивен ензим е извонредно значајна за самочистењето во оралната празнина. Функцијата на самочистење на оралната празнина има огромно значење во одржувањето на оралното здравје, ако се земе предвид дека оралната празнина е почетен дел на дигестивниот тракт, каде што разни хранливи продукти се натопуваат со плунка, се џвакаат и се голтаат.

Ако не постои самочистење на оралната празнина, многубројните 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 џвакањето. 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, доаѓаме до сознанието за функцијата на самочистење на оралната празнина. Ефектите на самочистење се одвиваат токму поради растворувачкото и испирачкото дејство на мешаната плунка, благодарение на што честичките од храната успешно се отстрануваат.

Оралната празнина располага со многу ретенциони места (места за задршка на храна), какви што се интерденталните простори и фисурите на премоларите и моларите. Ефектите на самочистење 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, кои буквално„се капат“ 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 излачува дури 30 пати поголемо количество на плунка во споредба со нестимулираната саливација. Поради тоа ефектите на растворувачкото и испирачкото дејство на стимулирана плунка се многу поголеми во споредба со истите на нестимулираната плунка.

Во периодот помеѓу два оброка, кога престанува мастикацијата и кога нема позначителна стимулација на оралните рецептори, се излачува 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 нестимулараната 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 pH-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 самочистење на оралната средина не се намалуваат 30 пати туку и се зголемуваат. Поради улогата на фосфатниот пуфер во зголемувањето на ефектите на самочистење 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 самочистењето 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 амилолитичка вредност.

Саливарната амилаза (птијалин) е ензим кој ја раскинува α 1-4 глукозидната врска во макромолекулата на скробот. Скробното зрно е изградено од амилоза и амилопектин. Макромолекулот амилоза е изграден од голем број молекули на глукоза кои меѓу себе се поврзани со α 1-4 глукозидна 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 глукозите се поврзани со α 1-4, поврзани се и со α 1-6 глукозидни 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 декстрани.

Скробните честички од ретенционите места во устата, со ензимското дејство на саливарната амилаза, многу брзо хидролитички се разградуваат, потоа се растворааат и се испираат. Ефекот на самочистење на оралната празнина е многу поголем кога во него учествува саливарната амилаза, отколку кога самочистењето е резултат само на растворувачкото и испирачкото дејство 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:

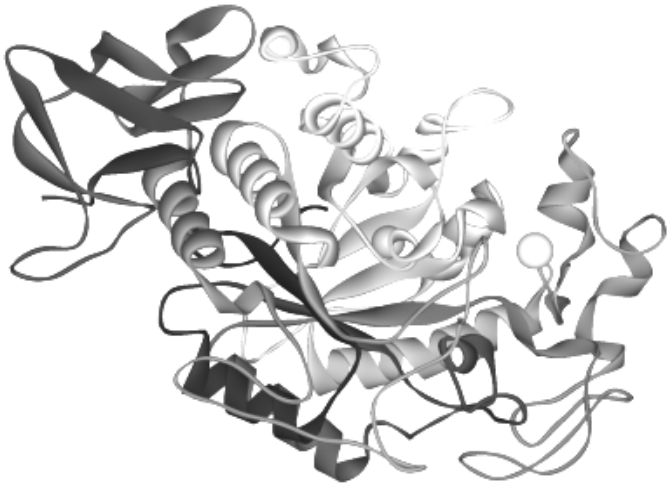
- Скробното зрно се состои од голем број молекули на глукоза (n молекули), а бактериите секој молекул на глукоза го катаболираат во 2 молекули на лактат (млечна киселина). Со насобирање на ретинираните скробни честички, бактериите од n молекули на глукоза би ослободиле енормно количество на лактат. Бидејќи 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 хидроксиапититот на емајлот на забот што ќе предизвика потполна деминерализација на забите. Но, тоа не се случува благодарение на дејството на саливарната амилаза која бргу и ефикасно ги отстранува заостанатите честички од храната. На тој начин, бактериите од оралната флора остануваат без нутритивен и енергетски материјал.

## Биохемиски карактеристики на саливарната 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 реверзибилно губење на активноста на овој ензим. Саливарната амилаза е еден од ретките ензими за чија активност е потребно присуство на анјони на $Cl^-$, кој има дејство на нејзин активатор.

Саливарната амилаза е присутна во две форми: гликолизирана со молекулска маса 62.000-63.000 Da и негликолизирана форма со молекулска маса 56.000-59.000 Da (Слика 5.7).



***Слика 5.7:*** *Структура на саливарната α-амилаза*

Гликолизираната форма на саливарната амилаза содржи странични јаглехидратни синџири кои се поврзани за аспаргинската киселина од основниот полипептиден синџир. Оваа форма, исто така, содржи две SH и четири дисулфидни врски. Полипептидниот синџир 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 другите 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 другите 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.

Постојат повеќе изоензимски облици на овој ензим. Со терминот изоензим во биохемијата се означуваат различни електрофоретски облици на еден ист ензим, кои катализираат еден вид на ензимска реакција, а во реакцијата секогаш се вклучува ист супстрат. Како и другите саливарни протеини така и саливарната амилаза подлегнува на различен степен на протеолитичка активност во оралната празнина. Поновите истражувања докажале дека во плунката можат да се регистрираат повеќе од 500 изоформни облици (изоензими) на саливарната амилаза. Постоењето на толку голем број на изоформни облици на саливарната амилаза се толкува на посттранслационите промени кои се случуваат кај овој ензим, а се резултат на физиолошка протеолитичка активност која е присутна во плунката.

Секој изоензим на саливарната амилаза има различни вредности на изоелектричната точка и различна активност во зависност од вредностите на pH на оралната средина. Во текот на денот постојат нормални варијации на pH на оралната средина од 6,1 до 7,8. Распонот на pH, при којшто саливарната амилиза е активна, изнесува од 5,8 до 6,9. Така што

при која било вредност на pH на оралната средина, којашто одговара на распонот на дејствување 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.

Саливарната амилаза е значајна и за метаболизмот и колонизацијата на оралните бактерии кои учествуваат во создавањето на денталниот биофилм. Во денталната пеликула покрај другите 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. Тоа може да биде позитивно за оралната хомеостаза, затоа што на тој начин врзаните бактерии стануваат достапни до локалните одбранбени заштитни механизми. Но од друга страна, пак, во услови на лоша орална хигиена, својството на амилазата да врзува бактерии е недостаток, бидејќи го зголемува бројот на кариогени и пародонтопатогени микроорганизми.

Овој протеин, според функција ензим, може да се поврзе за бактерискиот ендотоксин, а исто така е во можност да врзува и голем број различни токсин кои во голема мера се одговорни за воспалителната ткивна разградба.

## 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 ≤ 16 kDa;
- базни PRP со молекулска маса од 6 до 9 kDa;
- гликолизирани PRP со молекулска маса од 39 kDa;

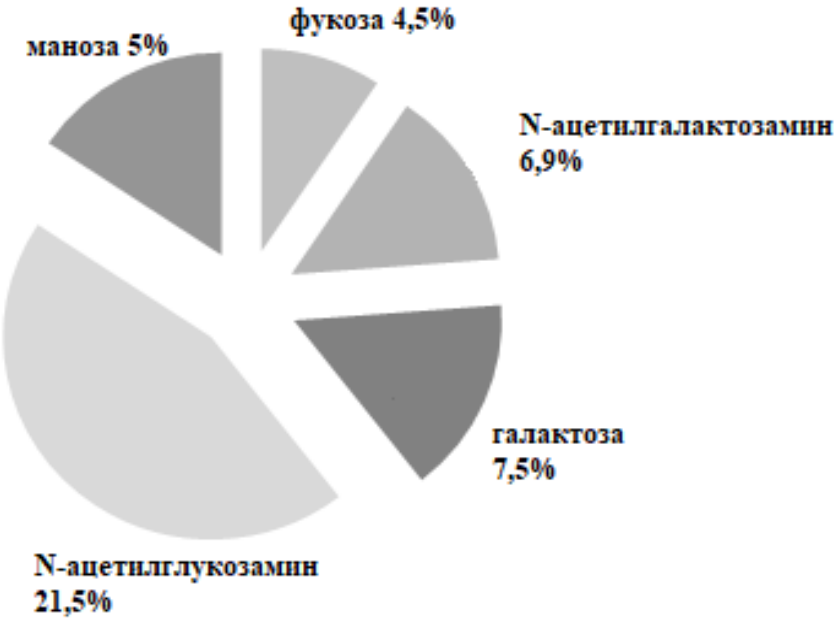
➢ Киселите PRP се вбројуваат во класата на саливарни протеини кои се присутни само во плунковниот секрет. Најзначајни

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 освен во плунката, присутни се и во назалниот и бронхијалниот секрет. Паротидните жлезди ги продуцираат базните PRP, додека пак субмандибуларните и сублингвалните плунковни жлезди не учествуваат во создавање на оваа класа на протеини. Изградени се различни по должина со пролин богати секвенци, а во пептидните синџири се присутни и аминокиселините аргинин и лизин. Базните PRP атхерираат на површината на забот, имаат улога во врзување на различни орални бактерии како и врзување на различни полифеноли.

➢ Гликолизираните PRP претставуваат гликопротеини кои се изградени од протеински и јаглехидратен дел. Протеинскиот дел, кој претставува 60 % од вкупната маса на овие PRP, е претставен со полипептиден синџир во кој се најзастапени аминокиселините пролин, глицин и глутаминска киселина. Присуството на базните аминокиселини (лизин и аргинин) во протеинскиот дел, а отсуството 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 5.8).




***Слика 5.8:*** *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.

## 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 (наталожување) на соли на калциум-фосфат. За да не дојде до спонтано наталожување на овие соли, во плунката се присутни протеини (статерини, кисели PRP) кои 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 одводните 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 преципитацијата на калциумовите и фосфатните соли) 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 $Ca^{2+}$ . 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.

## Врзување на диететските танини

Танините, според биохемискиот состав се полифеноли, кои се присутни 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: нарушување на ресорпцијата на електролитите во дигестивниот тракт, инхибиција на

дигестивните ензими, како и патолошки ефекти врз белите дробови и црниот дроб. Способноста на базните PRP да врзуваат диететски танини се должи на богатата застапеност на пролинските аминокиселински секвенци во молекулата на овие пептиди. Освен тоа, и големата застапеност на аминокиселината глицин овозможува создавање на големи отворени површини во молекулата на PRP за врзување на танини. 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 PRP 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 од паротидната плунка), а со тоа се зголемува создавањето на нерастворливи комплекси со танините и се намалува нивното потенцијално токсично дејство.

При градењето на комплексите помеѓу базните PRP и танините, во устата се јавува чувство на атсрингенција. Тоа особено може да се почувствува по консумирање на црно вино. Атсрингентно чувство во устата, всушност, претставува тактилна перцепција на губење на лубрикацијата (подмачканоста ) во оралната празнина.

## 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 експонирање на одредени специфични рецептори (криптитопи) 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. Исто така потврдено е дека овие пептиди имаат можност да се поврзат со уште една вирулента бактерија во устата, а тоа е Fusobacterium nucleatum. Поврзувањето на бактериите со PRP може да настане и индиректно, со помош на двовалентниот јон на $Ca^{2+}$. 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.

## Создавање на стекнатата дентална пеликула

Базните PRP се позитивно наелектризирани и можат директно да се поврзат за површината на емајлот на забот, која 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 (џвакањето) 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 што настанува во текот на џвакањето на храната. На овој начин делумно се штити емајлот на забот од прекумерна загуба (атрација) 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 вонебнерови (Von Ebner). 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 поради краткото време на задржување на храната во устата и поради отсуството на емулгатори, како што се солите на жолчната киселина.

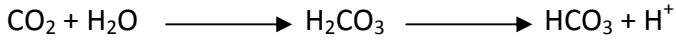
# САЛИВАРНА КАРБОАНХИДРАЗА (CA)

Саливарната карбоанхидраза според својата структура е протеин, а според функцијата е ензим значаен за одржување на физиолошките вредности на pH 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 О-глукозидна врска.

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

Секрецијата на CA VI варира во текот на денонокието. Концентрацијата на CA VI е ниска во текот на ноќта, а најголемо ниво на овој ензим се забележува веднаш по будењето. Утврдена е позитивна корелација помеѓу активноста на саливарната амилаза и концентрацијата на CA VI во плунката. Ова укажува на податокот дека и двата ензима 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 pH во оралната средина. Имено, саливарната карбоанхидраза учествува во создавањето на бикарбонатни јони, значајни за пуферизација на плунката. Бикарбонатните јони ($HCO_3^-$) имаат ендогено потекло. Јаглеродниот диоксид, 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.



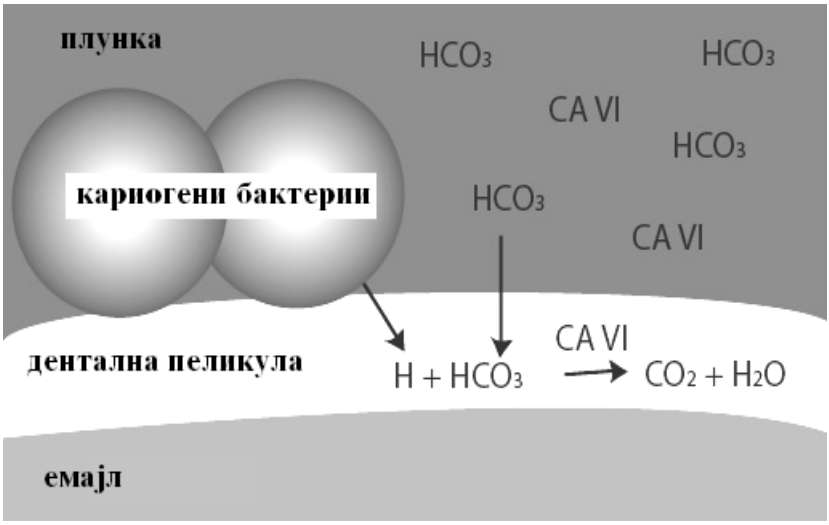
$$CO_2 + H_2O \longrightarrow H_2CO_3 \longrightarrow HCO_3 + H^+$$

Поради 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 CA VI во плунката.

Во составот на денталната пеликула влегува и саливарната карбоанхидраза. Во забната пеликула CA VI ја катализира конверзијата на сали-

варните бикарбонати и водородните јони (продукти на бактерискиот метаболизам) во јаглерод диоксид и вода. На тој начин саливарната CA VI го штити емајлот од киселите продукти, кои се ослободуваат во текот на бактерискиот метаболизам (Слика 5.9).

$$HCO_3 + H^+ \xrightarrow{CA\ V\ \ I} CO_2 + H_2O$$




***Слика 5.9:*** *Дејството на CA VI во денталната пеликула*

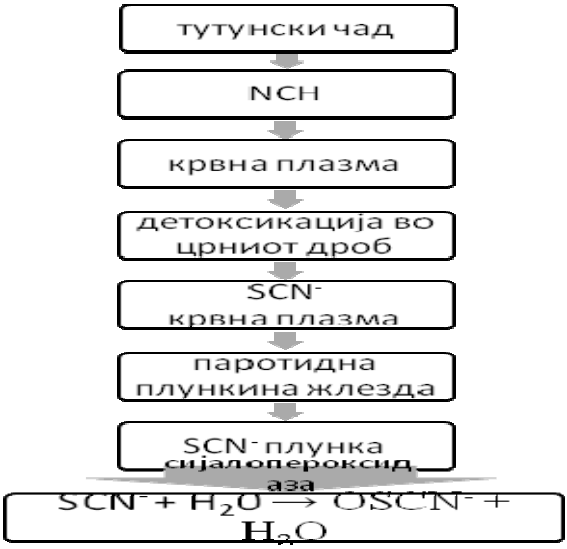
Епителните клетки на оралната мукоза и на езофагусот константно се изложени на различни хемиски и физички дразби со внесувањето на храната. Една од заштитните улоги на плунката е и заштита на лигавицата на почетните делови на дигестивниот тракт. Голем број на саливарни протеини (муцини, амилаза, цистатини, 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 дејство на протеолитичките ензими кои се ослободуваат од бактериите и од неутрофилните леукоцити. Саливарните бикарбонати се значајни за одржување на физиолошките вредности на pH 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 карбоан-

хидраза, се наметнува заклучокот дека овој ензим има значајна улога и во заштитата на мукозата на почетните делови на дигестивниот тракт.

# ОРАЛНА ПЕРОКСИДАЗА

Оралната пероксидаза е најзначајниот ензимски антиоксидант на плунката. Овој ензим е изграден од два пероксидазни ензими: саливарна пероксидаза (80 %) и миелопероксидаза (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 другите 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 5.10).




***Слика 5.10:*** *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 сулфорводородните 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.

# 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 (стефини).* 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 јаглехидратен дел. Локализирани се 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 5.11). Во оваа група се вбројуваат и новоидентификуваните цистатини E/M и F (наречени леукоцистатини) кои имаат слична структура со другите 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 главно се негликолизирани, освен цистатинот F, кој содржи две гликолизирачки места и цистати-

нот 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 и 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 C-терминалниот дел од кининогенот и се ослободува со разградба на овој цистатин.

***Слика 5.11:*** *Структура на цистатинот C*

Главната биолошка улога на цистатините е инхибиција на протеините цистеин-протеази, кои 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 во 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 до 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 дејствување на цистеин протеазите кои потекнуваат од вирусите, бактериите и паразитите (егзогени-цистеин протеази).

Цистатините ги инхибираат цистеин протеазите 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 часови 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 5.3).

**Табела 5.3:** Концентрација на цистатините (μмол/l) во различни видови на саливарна секреција

| 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 | - | - | - |

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 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 наелектризирани аминокиселински резидуи, како 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 5.4).

**Табела 5.4:** Концентрација на статеринот во различни видови на саливарна секреција

| | **Стимулирана мешана плунка** | **Стимулирана паротидна плунка** | **Стимулирана субмандибуларна и сублингвална плунка** |
|---|---|---|---|
| Концентрација на статерин (μg/ml) | 4,30 ± 3,11 | 95,99 ± 64,90 | 73,60 ± 45,80 |

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 наталожувањето на калциум-фосфатите во одводните 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 наталожување и формирање на камен. Тоа особено може да се случи во одводните канали на плунковните жлезди. За намалување на оваа можност задолжен е саливарниот статерин кој е во состојба да го врзе $Ca^{2+}$ 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, како што е плунката. N-терминалниот дел на полипептидниот синџир на статеринот (аминокиселински 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.

# 6 САЛИВАРНИ ПРОТЕИНИ КОИ УЧЕСТВУВААТ ВО СПЕЦИФИЧНА ИМУНОЛОШКА ЗАШТИТА

**КАРАКТЕРИСТИКИ НА ИМУНОГЛОБУЛИНИ**

**Основна структура на антителата**

**САЛИВАРЕН ИМУНОГЛОБУЛИН А (sIgA)**

**ЧАПЕРОКИНИ (*HSP70/HSPA*)**

# КАРАКТЕРИСТИКИ НА ИМУНОГЛОБУЛИНИ

Имуноглобулините (Ig) уште се наречени и антитела. Тие претставуваат ефективни молекули, кои се создаваат од страна на В-лимфоцити, односно од плазма-клетки. Имуноглобулините според биохемискиот состав се гликопротеини и во електрично поле се движат во γ-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.

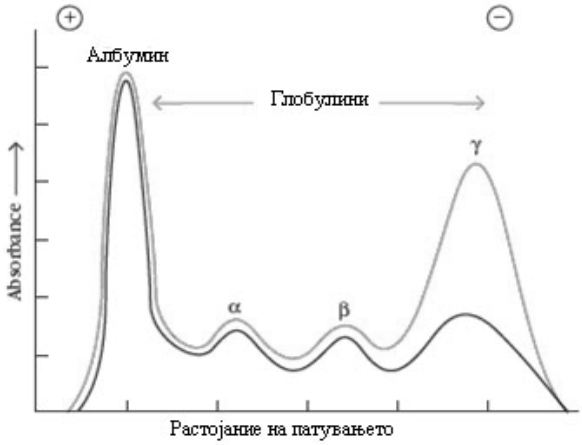
За сите антитела заеднички се: структурни карактеристики, врзувањето за антиген и учество во ограничен број на ефекторски функции. Антителата што се продуцирани како одговор на одреден антиген се разновидни. Повеќето антигени се комплексни и содржат многу различни антигенски детерминанти, а имуниот систем 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 детерминанти. 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 фракци-

ја 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 првпат 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 имунизираните серуми од зајаците во два аликвоти (вдлабнатинки во кои се става материјалот во гелот пред електрофореза).

Електрофорезата на дел од крвниот серум покажала четири врвови кои одговарале на албумини, алфа, бета и гама-глобулини (Слика 6.1). Притоа делот од серумот кој реагирал со овалбуминот и преципитатот што се формирал, бил отстранет. Другите серумски протеини, кои не реагирале со антигенот, потоа биле подложени на електрофореза. Кога биле споредени електрофоретските профили на овие две 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 кои било други протеини што може да се содржат во гама-глобулинската фракција. Според раните експерименти на Tiselius и Kabat, серумските протеини се поделени на три 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.

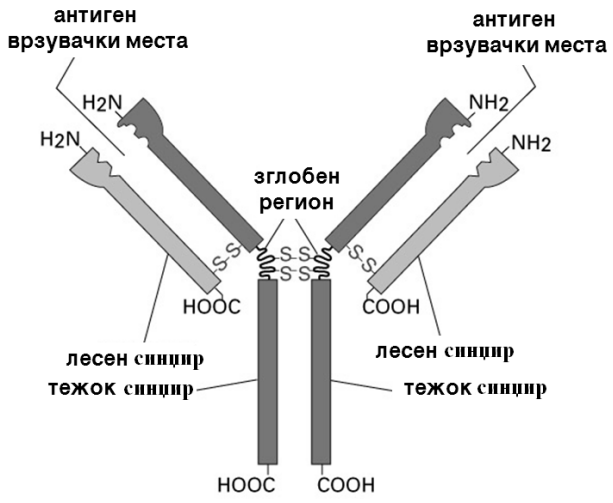



***Слика 6.1:*** *Експериментален приказ со кој се покажува дека антителата се наоѓаат во гама-глобулинската фракција на серумските проетини*

Основната структурна единица на имуноглобулините е изградена од два чифта на синџири (два тешки и два лесни) (Слика 6.2). 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 многубројни 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 што може да се извива (свиткува) независно од преостанатите делови во компактната стабилна структура на имуноглобулинот.

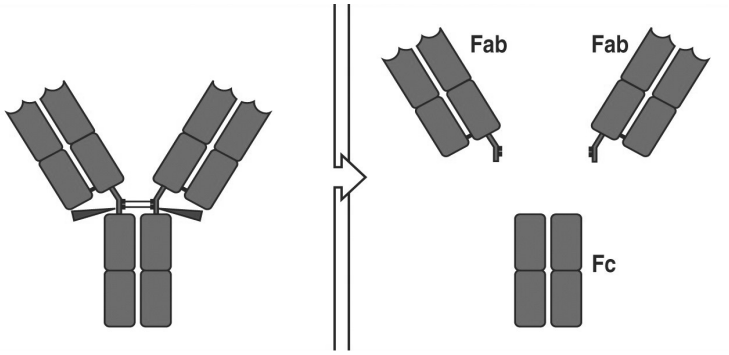
Лесните синџири имаат два домена ($NH_2$-амино терминален дел). Првите 110 аминокиселини од лесниот синџир го претставуваат варијабилниот домен. Варијабилниот домен на лесниот синџир и варијабилниот домен на тешкиот синџир претставуваат антиген-врзувачко место, односно паратоп. На варијабилниот домен се надоврзува константен домен на лесниот синџир. Врз основа на распоредот на аминокиселините во лесниот синџир се разликуваат капа и ламбда лесни синџири.

Тешките синџири започнуваат со варијабилен домен, кој исто така е изграден од 110 аминокиселини и влегува во состав на паратопот. На варијабилниот домен од тешките синџири се надоврзуваат константни домени. Кај IgG, IgA и IgD се присутни три константни домени во тешките синџири додека пак кај IgM и IgE се присутни четири константни домени. Од распоредот на аминокиселините е условена класата или поткласата на имуноглобулините ($IgG_1$, $IgG_2$, $IgG_3$, $IgG_4$; $IgA_1$ и $IgA_2$). Под дејство на ензимот папаин молекулата на имуноглобулините „се сече“ веднаш над S-S интрасинџирната врска во зглобната регија (Слика 6.3). 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 6.2:*** *Шематски приказ на типична молекула на имуноглобулин. Имуноглобулините се изградени од четири полипептидни синџири, два идентични тешки синџири и два идентични лесни синџири. Двете места за врзување на антигенот се идентични и се формирани помеѓу N-терминалните краеви на лесните и тешките синџири. Опашката или константниот (Fc) е изграден само од тешките синџири.*

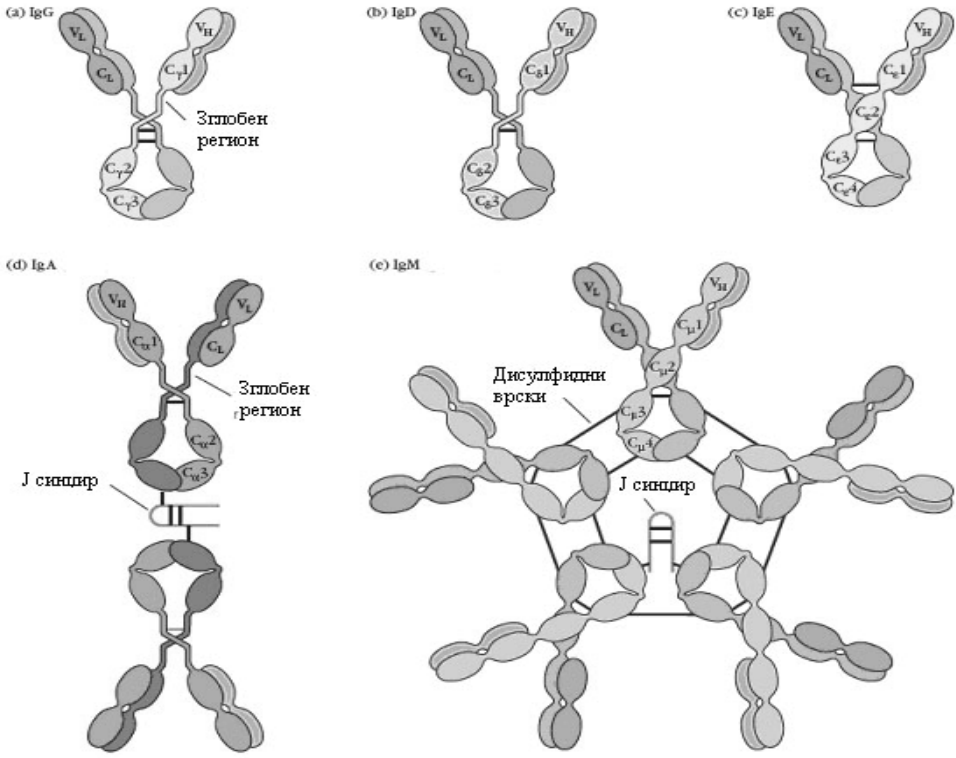
Зглобната регија во молекулата на имуноглобулинот претставува структурен дел врз кој дејствуваат протеолитички ензими, како што се споменатиот папаин или пак пепсинот. Оваа регија е богата со аминокиселините пролин и цистеин. Улогата на цистеинот се состои во тоа што го овозможува дисулфитното поврзување. 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 6.3:*** *Протеолитичко цепење 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 6.4):

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




***Слика 6.4:*** *Општа градба на петте главни класи антитела. Се гледа дека IgG, IgA и IgD имаат тешки синџири со по четири домени и зглобен регион, додека IgM и IgE имаат по пет домени но немаат зглобен регион. Полимерните форми на IgM и IgA содржат J синџир, кој со две дисулфидни врски е поврзан за Фц регионот на два мономера. Серумскиот IgM е секогаш пентамер; најмногу од IgA во серумот е како мономер, но се среќава и како димер, тример, а ретко и како тетрамер.*

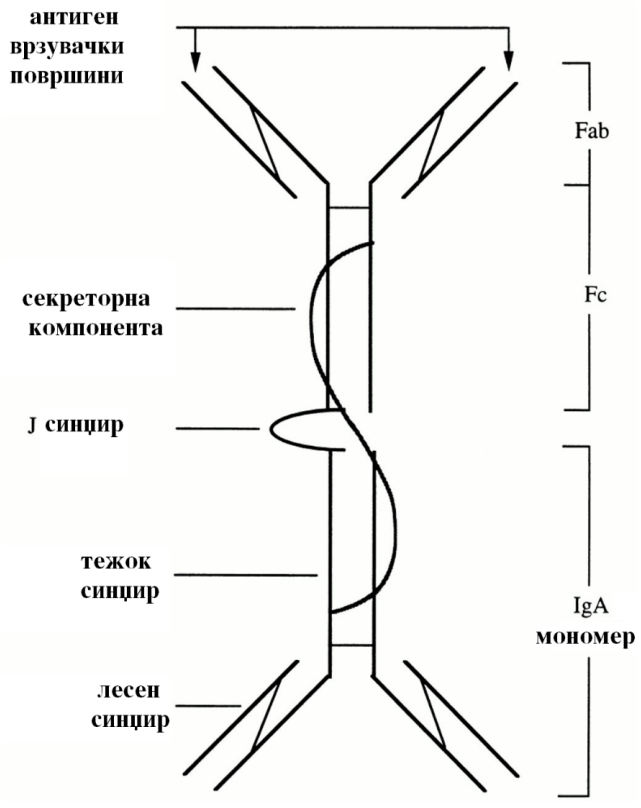
Врз основа на тоа каде се наоѓаат имуноглобулините се делат на:

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

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.

## САЛИВАРЕН ИМУНОГЛОБУЛИН А (sIgA)

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 синџири 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 6.5). 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).



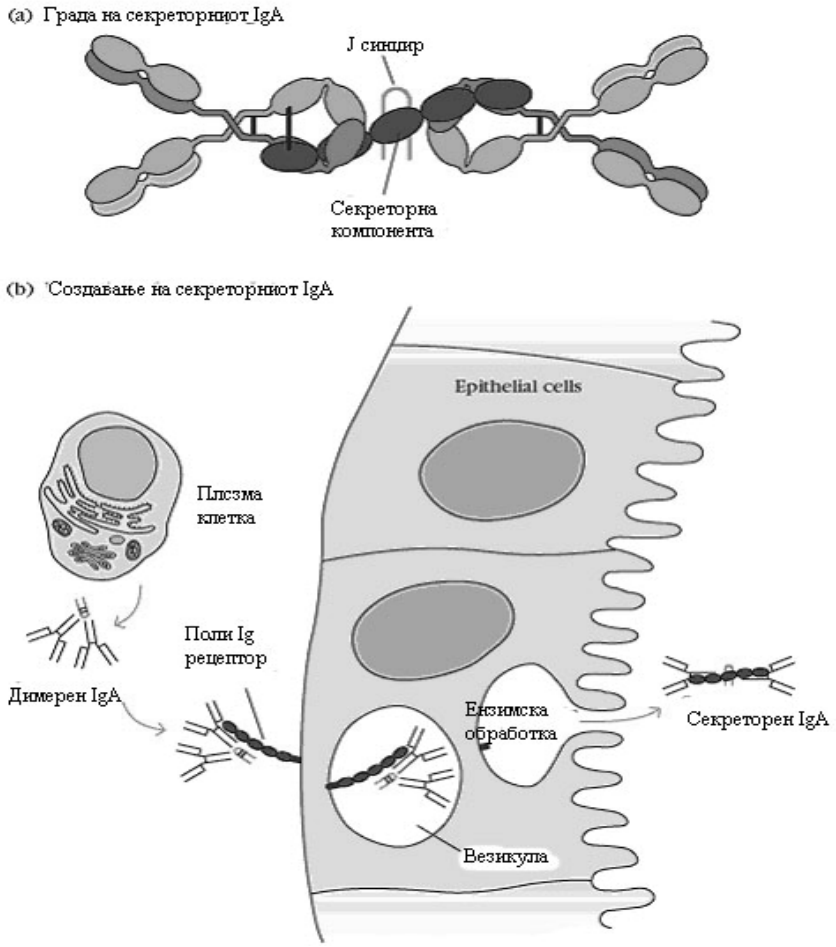

***Слика 6.5:*** *Шематски приказ на sIgA. sIgA се состои од два мономера на IgA поврзани со J синџир и секреторна компонента. J синџирот и секреторната компонента со помош на дисулфидни врски се поврзани за Fc фрагментот од IgA молекулата. Секој мономер на IgA се состои од два лесни синџири и два тешки синџири поврзани со ковалентни дисулфитни 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 А. Секреторната компонента се поврзува за имуноглобулинот А 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 која било 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×x $10^{10}$ IgA секретирачки плазма-клетки - број кој ја надминува целокупната популација на плазма-клетки во коскената срцевина, лимфата и слезината заедно. Секојдневно, човек секретира од 5 г до 15 г секреторни IgA во мукозните секрети.

Плазма-клетките кои продуцираат IgA, мигрираат во субепителното ткиво, каде што секретираните IgA се врзуваат цврсто со рецептор за полимерни имуноглобулински молекули (Слика 6.6). 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 ендоцитоза во обложените јами и насочен транспорт на везикулите преку епителната клетка до луминалната мембрана, каде што 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 ѝ 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-синџирот од обата (двата типа антитела -), полимерниот IgA и IgM, антитела.

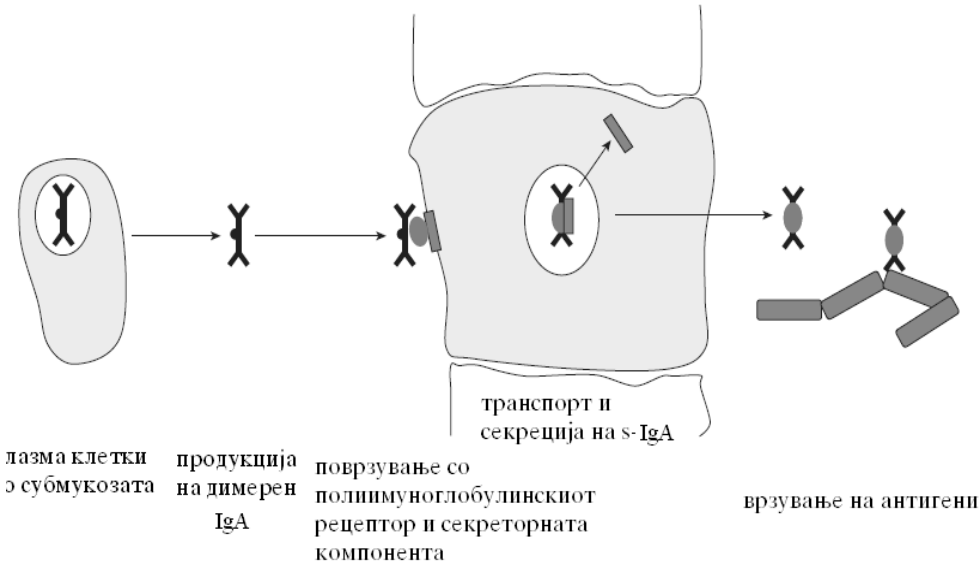



***Слика 6.6:*** *Градба и формирање на секреторниот IgA. (а) Секреторниот IgA содржи две молекули IgA кои се ковалентно поврзани меѓу себе со J-синџир како и секреторната компонента. Секреторната компонента има пет домени слични на оние во Ig кои со димерот од IgA се поврзани со дисулфидна врска која е меѓу неговиот петти домен и еден од тешките синџири на IgA. (б) Секреторниот IgA е формиран во тек на транспортот низ мукозната мембрана на епителните клетки. Димерот IgA се поврзува за поли Ig рецепторот на базолатералната мембрана на епителната клетка и влегува во процес на ендоцитоза. По транспорот комплексот рецептор-Ig ензимски се разградува и секреторната компонета 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. $IgA_1$ и $IgA_2$. 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 $IgA_1$. Концентрацијата на $IgA_2$ се зголемува во долните партии на гастроинтестиналниот тракт.

Индукцијата на создавањето на IgA се одвива на два начина. 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-лимфоцитите. Активираните Б-лимфоцити се трансформираат во плазма-клетки, кои пак продуцираат IgA (Слика 6.7). 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 6.7:*** *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 плунковните 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 атхеренција 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 атхеренција 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.

# ЧАПЕРОКИНИ (*HSP70/HSPA*)

Оваа фамилија на протеини, кои уште се означени како Heat shock (*HSP70/HSPA)* протеини, имаат молекулска маса од 70 kDa и присутни се во голем број клетки, ткива и во различни телесни течности. Нивно присуство е докажано и во плунката. Во оваа телесна течност се присутни двата вида на чаперокини, константни (постојано присутни) и чаперокини кои се појавуваат под влијание на некоја дразба. Присуството на (*HSP70/HSPA)* протеините во оралната средина се поврзува со оралниот одбранбен механизам.

Плунковните жлезди се главниот извор од кој потекнуваат (*HSP70/HSPA)* чаперокините присутни во плунката. Овие протеини имаат големи варијации во концентрација и во вкупната плунка и во паротидната плунка кај различни индивидуи. Чаперокините, најверојатно, не се секретираат по класичен пат како другите саливарни протеини, што подразбира процес на егзоцитоза во ацунисната клетка. Се претпоставува дека овие протеини од крвната плазма преку пасивен транспорт поминуваат низ ацинусните и дуктусните клетки на плунковните жлезди и пристигнуваат во оралната средина.

Други значајни извори на потекло на саливарните чаперокини се и мукозните клетки, гингивалниот флуид, оралниот мукозен трансудат и гингивалното крвавење.

Саливарните чаперокини ги врзуваат и аглутинираат како грам-позитивните бактерии (*Streptococcus mutans* и *mitis)* така и грам-негативните бактерии (Escherichia coli). Со оглед дека саливарните *HSP70/HSPA* имаат својство да создаваат димери и олигомери, нивната аглутинирачка способност се зголемува. Потврдено е дека чаперокините се поврзуваат и за хидроксиапатитот на забот и на тој начин учествуваат во создавање на денталната пеликула.

Саливарните чаперокини се вклучуваат и во специфичната имунолошка одбрана на оралната празнина. Под нивно влијание се ослободуваат многубројни проинфламаторни цитокини од различни клетки (од моноцитите, од макрофагите, Т-лимфоцитите) се ослободува NO од макрофагите. Исто така, саливарните *HSP70/HSPA* ги активираат NK (Naturall Killer)

клетките и предизвикуваат активација на комплементот. **[49–51].** Овие мали саливарни пептиди имаат улога и во презентацијата на антигенот на цитотоксичните Т-клетки и на NK (Naturall Killer) клетките.

*HSP70/HSPA* протеините имаат значајна имунолошка улога, која подразбира опсонизација на бактериите со што се олеснува улогата на полиморфонуклеарите кои ги уништуваат бактериите. Преку гингивалниот флуид во плунката постојано пристигнуваат полиморфонуклеари (неутрофилни леукоцити). При воспаление на гингивата или при одредени ранички на оралната мукоза, бројот на овие одбранбени клетки во гингивалниот флуид се зголемува.

Екстрацелуларните *HSP70/HSPA* протеини присутни во плунката имаат цитопротективна улога. Оваа улога се темели на три различни механизми:

1. неспецифично поврзување на *HSP70/HSPA* протеините за епителните клетки, со што се заштитува оралната мукоза од продирање на бактериски токсини,
2. специфично (ахзински тип) поврзување на овие протеини за сулфогликолипидните структури на епителните клетки, со што се превенира бактериска колонизација,
3. намалување на механизмот на апоптотичната смрт на епителните клетки.

Во поново време се испитува синергистичкиот ефект на саливарните чаперокини и хистатинот-5, кој би ја штител оралната мукоза од кандидомикотична инфекција.

# 7

# РЕГУЛАТОРИ НА ЕЛЕКТРОХЕМИСКАТА РЕАКЦИЈА, АНТИОКСИДАТИВНА ЗАШТИТА И ЗНАЧЕЊЕ НА ПЛУНКАТА

**РЕГУЛАТОРИ НА ЕЛЕКТРОХЕМИСКАТА РЕАКЦИЈА НА ПЛУНКАТА**

- **Бикарбонатен пуфер**
- **Фосфатен пуфер**
- **Протеински пуфер**

**АНТИОКСИДАТИВНА ЗАШТИТА НА ПЛУНКАТА**

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

**САЛИВАРНИ ЕНЗИМИ И ЛИПИДИ ПРИСУТНИ ВО ПЛУНКАТА**

- **Саливарни ензими значајни за дијагноза на пародонтопатии**
- **Липиди**

**ЗНАЧЕЊЕ НА ПЛУНКАТА ПРИ ОДРЖУВАЊЕ НА ОРАЛНОТО ЗДРАВЈЕ**

# РЕГУЛАТОРИ НА ЕЛЕКТРОХЕМИСКАТА РЕАКЦИЈА НА ПЛУНКАТА

Актуелната киселост (pH) 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, поради анатомската локализација на одводните канали на двете подвилични и двете подјазични жлезди, во овие делови на оралната празнина плунката е присутна во изобилство, па затоа не станува збор за присуство на тенок филм од плунковен секрет.

Познавајќи ги физиолошкиот тек на плунката (со голтањето се пренесува до желудникот) како и нејзиниот пуферски капацитет, може да се каже дека мешаната плунка ја одредува pH на оралната средина и дека со одредување на киселоста на плунката се добива рамковна вредност за киселоста на оралната средина. Со мерење на pH на мешаната плунка докажано е дека постои широк дијапазон на овие вредности, од најкиселиот pH =5,3 па до алкалниот pH =7,8. Добиените вредности за pH 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 плунка-та. 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-профилактичкиот 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 $NaHCO_3$ и јаглеродна киселина $H_2CO_3$ 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 јаглеродна киселина, којашто пак понатаму ќе дисоцира на јаглероден диоксид и вода:

$$NaHCO_3 + HCl = NaCl + H_2CO_3$$

$$H_2CO_3 \rightarrow H_20 + CO_2$$

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

$$H_2CO_3 + NaOH = NaHCO_3 + H_20$$

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 pH 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 растворувачкото својство на основната компонета на плунката-водата, што претставува заштита на цврстите забни супстанции од губење на минерали.
4. Во алкални услови се поттикнува реминерализацијата на површинските слоеви на забот како резултат на наталожување 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 супстанција.

## 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 ($NaH_2PO_4$) и секундарен ($Na_2HPO_4$) 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.

$$NaH_2PO_4 + NaOH = Na_2HPO_4 + H_20$$

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

$$Na_2HPO_4 + HCl = NaH_2PO_4 + NaCl$$

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

1. Со својата концентрација од 7-8 mmol/l ја смалува pH 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. Поради 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 наталожуваат при зголемена саливација. Нивното наталожување 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 присуство на слободни карбоксилни (кисели) и базни групи (најважни се амино-групите). 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 јаглеродната 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 разградува според следната реакција:

$$\begin{array}{l} NH_2 \\ | \\ C = O + H_2O \xrightarrow{\text{уреаза}} 2NH_3 + CO_2 \\ | \\ NH_2 \end{array}$$

Ослободениот амонијак реагира со вода и во плакот се создава јака база $NH_4OH$ (амониум хидроксид), којшто дисоцира на амониум и хидроксилна група:

$$NH_3 + H_20 = NH_4OH$$

$$NH_4OH \longrightarrow NH_4 + OH$$

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 pH

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 наслагите 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 pH 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, не дозволувајќи 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 pH 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 глукозата, што ќе доведе и до намалување на нивото на крајни метаболити од овој процес од типот на лактат. На тој начин се елеминира можноста од намалување на pH на средината, а воедно и од деминерализација на забите.

# 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, сè 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 нарушуваат нивната структура и функција. На опишаниот начин можат да бидат оштетени различни биолошки структури: ѕидови на крвните садови, клеточната мембрана, DNK итн. 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, HOO-перхидроксилен радикал, $H_20_2$-водороден пероксид, OH-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 органски и неорганski 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 излачува во секретот на големите плунковни жлезди, пред сè во секретот на паротидната плунковна жлезда. Овој ензим во својот активен центар содржи селен. Улогата на саливарната пероксидаза е да го редуцира водородниот пероксид $H_20_2$, 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 другите 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 $H_20_2$ и јоните на тиоцијанатот. Притоа се добиваат 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 $H_2O_2$ (потенцијалниот слободен радикал) од оралната средина.

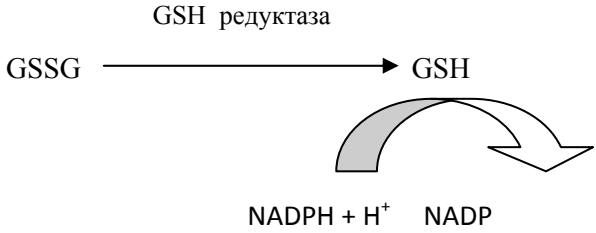
Супероксид дизмутазата (SOD) ја катализира реакцијата на дизмутација на кислородот ($0_2$) во водород пероксид. Кај прокариотските организми присутни се супероксид дизмутази, што содржат $Fe^{2+}$ и $Mn^{2+}$. Еукариотските организми содржат две форми на SOD: цитозолен димер (Cu, Zn-SOD) и тетрамер (Mn-SOD), локазизирана во митохондриите.

$$0_2 + 0_2 + 2H^+ \xrightarrow{\text{SOD}} H_20_2 + 0_2$$

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 $H_20_2$ –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).

$$H_20_2 + 2GSH \xrightarrow{\text{GSH пероксидаза}} 2H_20_2 + GSSG$$

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 HEM 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 $H_20_2$. Овој ензим ја катализира разградбата на водородниот пероксид до молекуларен кислород и вода.

$$H_20_2 + H_20_2 \xrightarrow{\text{каталаза}} 0_2 + 2H_20$$

Активноста на овој ензим се зголемува при зголемена продукција на $H_20_2$, 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: уричната киселина, албуминот, витаминот С и глутатионот.

Уричната киселина (acidum uricum) е краен производ на метаболизмот на пуринските нуклеотиди. Како резултат на неможноста за разградба на уричната киселина во организмот на човекот (бидејќи недостасува 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 уричната киселина (урати) по пат на пасивна дифузија се транспортираат од крвната плазма во плунката. Во плунката концентрацијата на уричната киселина е помала отколку во крвната плазма. Можно е уричната киселина во плунката да пристигнува и со помош на гингивалната течност. Независно од каде пристигнува, уричната киселина е главниот антиоксиданс на плунката (70 % од антиоксидативниот капацитет на плунката се должи на уричната киселина).

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

Кај пациентите со пародонтопатија и пациентите со орален карцином утврдено е дека има намалување на концентрацијата на уричната киселина во плунката. Тоа е резултат на зголемената „потрошувачка“ на овој антиокси-

дант поради неутрализацијата на слободните радикали чија концентрација енормно 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 pH 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 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 многубројни 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.

# САЛИВАРНИ ЕНЗИМИ И ЛИПИДИ ПРИСУТНИ ВО ПЛУНКАТА

## Саливарни ензими значајни за дијагноза на пародонтопатии

CK (креатинин киназа), LDH (лактат дехидрогеназа), AST (аспартат аминотрансфераза), ALT(аланин аминотрансфераза), GGT(гама глутамилтрансфераза), ACP (кисела фосфатаза), ALP (алкална фосфатаза)

CK (креатинин киназа), LDH (лактат дехидрогеназа), AST (аспартат аминотрансфераза), ALT(аланин аминотрансфераза), GGT (гама глутамилтрансфераза), се интраклеточни ензими кои се значајни за одвивање на метоболичките процеси во клетките. Особено се значајни за метаболичките процеси во клетките на меките орални ткива, какви што се гингивата и целата орална мукоза. При оштетување на клетките се

зголемува концентрацијата на овие интраклеточни ензими во различни телесни течности. Во гингивалниот флуид и во плунката се присутни овие ензими. Нивната концентрација значително се зголемува во плунката при воспалителни состојби на гингивата или на пародоциумот.

ALP (алкална фосфатаза) и ACP (кисела фосфатаза) се исто така интрацелуларни ензими кои се присутни во повеќе ткива и органи, особено во коскеното ткиво. Во плунката се присутни овие ензими, а потекнуваат од гингивалниот флуид. Нивната концентрација во плунката се зголемува при воспалителни процеси на пародонтот кои се поврзани со оштетување на алвеоларната коска.

## 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 е докажано присуството на холестеридите, холестеролот, триглицеридите, диглицеридите, моноглицеридите и слободните масни киселини. Нивните концентрации во различните видови на саливарен секрет се прикажани во табелата 7.1 .

**Табела 7.1:** Неполарни липиди во плунката кои потекнуваат од различни плунковни жлезди и нивни концентрации (mg/100 ml)

| | **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 |
| **Вкупно липиди** | **0,21** | **0,89** | **1,31** |

Поларни липиди што се присутни во саливарниот секрет се: фосфатидил-холин, фосфатидил-етаноламин и сулфатиди (табела 7.2).

**Табела 7.2:** Процент на поединечни видови поларни липиди во плунката во однос на вкупните поларни липиди

| | **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 |

Доминантни липиди во плунката се неполарни липиди. Од изолираните липиди во паротидната плунка 99 % се претставници на неполарните липиди. Субмандибуларната плунка исто така содржи неполарни липиди во голема концентрација (околу 98 %), во мешаната плунка, пак, неполарните липиди се застапени со 96,4 %. Со ултрацентрифугирање на плунката не е можно издвојување на одделни видови липиди како што тоа е можно кога станува збор на липидите на крвната плазма. Потеклото на липидите во плунката сè уште не е утврдено, како ни нивната физиолошка улога во овој секрет. Бидејќи се работи за неполарни молекули кои се нерастворливи во вода, се поставува прашањето за 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, чијашто природа и функција сè уште не е утврдена.

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

# ЗНАЧЕЊЕ НА ПЛУНКАТА ПРИ ОДРЖУВАЊЕ НА ОРАЛНОТО ЗДРАВЈЕ

Основната улога и значењето на плунката е во овозможувањето на оралната хомеостаза. Поимот хомеостаза ги опфаќа сите механизми кои придонесуваат при 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 којашто 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 храна и нивно отстранување од оралната празнина (самочистење на оралната празнина).
2. Улога на плунката при џвакањето 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 pH на средината),
   - заштита од деминерализација на емајлот на забот
4. Улога на плунката во метаболизмот на водата.
5. Екскреторна улога.
6. Улога на плунката при одржување 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 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 фунгицидна 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 многубројните саливарни пуфери. Тие овозможуваат одржување на pH 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 е наречен **реминерализација** на оштетените површински слоеви на емајлот на забот. Од составните компоненти на плунката, кои учествуваат во процесите

на реминерализација, 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 и 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, урична 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 дејствуваат врз рецепторите на сетилот за вкус кои се сместени на дорзалната (горната) страна на јазикот.

Во последниве години сè 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 уричната киселина која е присутна во плунката, а потекнува од крвната плазма.

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

та, 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 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 заболувањето се пародонтопатијата и оралниот карцином.

Анализирањето на плунката не е значајно само за стоматолошките заболувања туку добива сè поголемо значење и пошироко во областа на медицината. Модерната медицина, главно, е базирана на анализирање на примероци на крв, при што се користат сè пософистицирани техники и се произведуваат модерни и прецизни лабораториски алатки. Бидејќи техниката на земање на примерок на крв е инвазивен метод, се стеснува можноста на анализирање на овој биолошки материјал особено кај пациенти какви што се: децата, старите луѓе, хендикепираните лица, како и кај оние 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 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 токсични материи.

**Табела 7.3:** Најзначајни функции на плунката

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

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

**КОЛАГЕН**

**Систем на еластични и окситалански влакна**

**Глукозоаминогликани**

**АЛВЕОЛАРНА КОСКА, ЗАБИ И ПЕРИОДОНЦИУМ**

**БИОХЕМИСКИ КАТРАКТЕРИСТИКИ НА ФИБРИЛАРНИОТ КОЛАГЕН**

**Биохемиски карактеристики на синтезата на колагенот**

**БИОЛОШКА МИНЕРАЛИЗАЦИЈА**

**Структура на алвеоларната коска**

**Како се одвива биолошката минерализација?**

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

**Ремоделирање на алвеоларната коска**

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

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

***Процеси на ремоделирање на коските***

Сврзното 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 супстанција која е изградена од хијалурон и различни глукозаминогликани. 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 поминат 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 (влакнест) 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 и учествува во заздравувањето на раните како и различни воспалителни процеси.

Според видот на полипептидните синџири се разликуваат повеќе типови на колаген: I, II, III, V, XI. Најзастапен е колагенот тип I, но честопати 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:

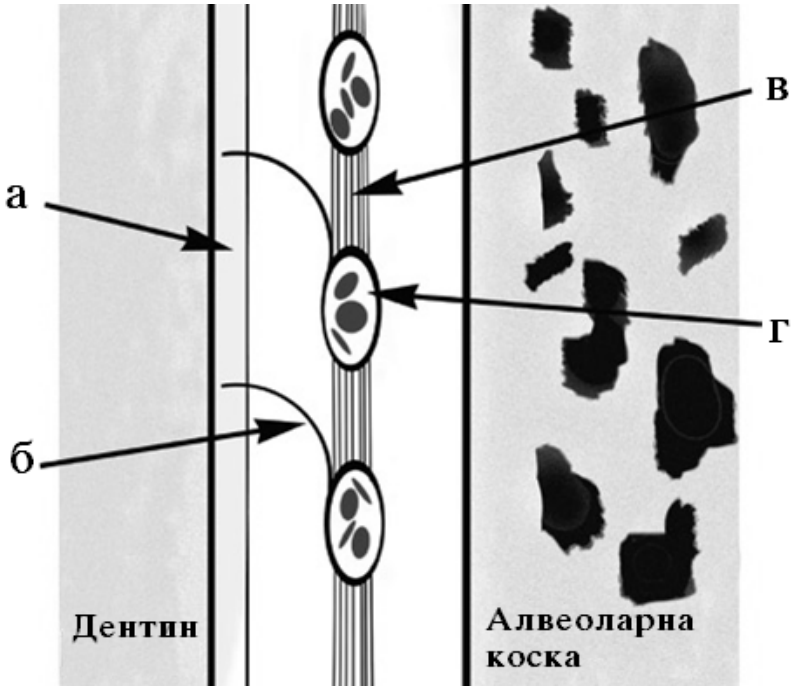
- за да ја олеснат корнеалната транспарентност,
- за да ја ограничат дебелината на влакната во тек на ткивното репарирање и да помогнат да се формира архитектурата на различните ткива кои содржат колаген, како што се тетивите или плацентата.

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 глукозаминогликаните. Ретикуларните влакна, главно, се составени од колаген тип III и се обемно прекриени со глукозоаминогликани 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 нефибриларните типови VIII и X.

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

## Систем на еластични и окситалански влакна

Во сврзното ткиво на оралните ткива може да има присутни и еластични влакна. Тие во сврзното ткиво ја обезбедуваат можноста за поголема растегливост. Изградени се 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 8.1).

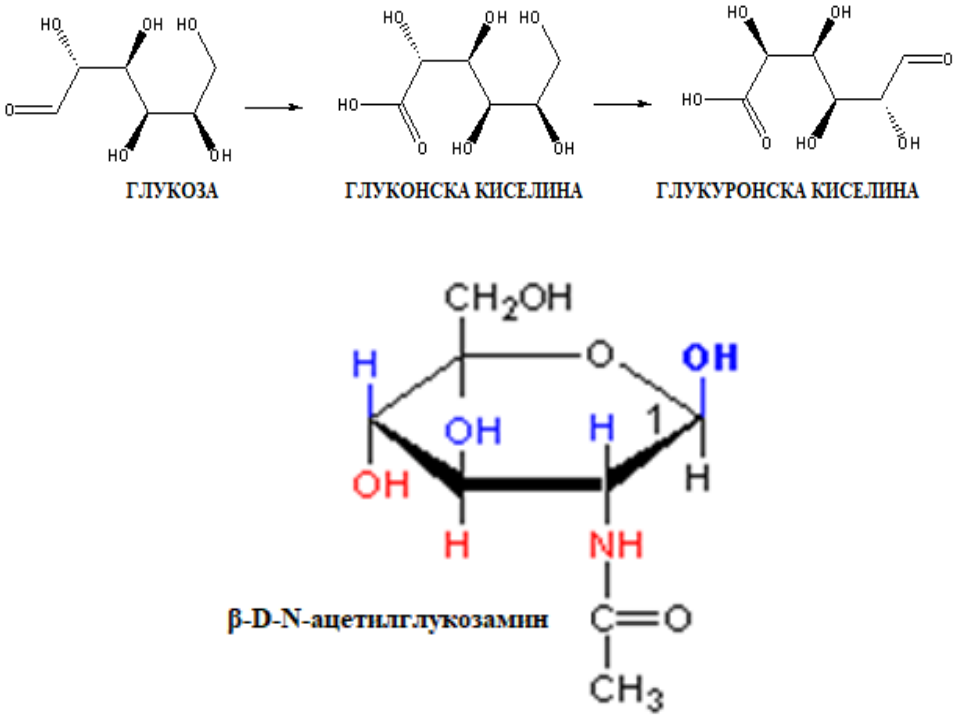



***Слика 8.1: а.*** *цемент* ***б.*** *основни окситалански влакна* ***в.*** *окситалански сноп на влакна* ***г.*** *периодонтални крвни садови. Окситаланските влакна создаваат мрежа која ги поврзува крвните садови и цементот.*

## Глукозоаминогликани

Глукозоаминогликаните се јаглехидрати важни за развојот, репарирањето (заздравувањето) на сврзното ткиво и за формирањето на ‘рскавиците. Во текот на развојот на ткивата или при отстранување на оштетеното

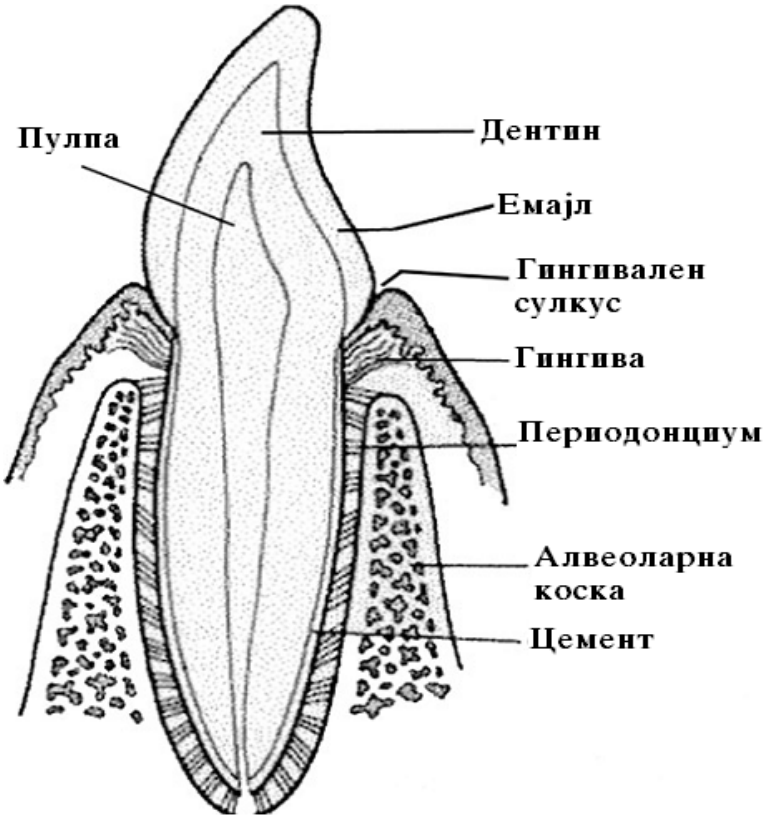
ткиво, од инфекција или повреда, фибробластите се активираат и пролиферираат. Овие клетки тогаш секретираат хијалурон, кој претставува голем повторувачки димер на глукуронска киселина поврзана со N- ацетилглукозамин (Слика 8.2). Потоа фибробластите навлегуваат во хијалуронот заедно со пролиферирачките ендотелни клетки кои формираат нови капилари. Кога се веќе во хијалуронот, фибробластите секретираат колагени влакна кои ја зголемуваат густината на стромата. Протео-глукозоаминогликаните се протеини кои имаат ковалентно врзани глукозоаминогликани. Тие се синтетизирани од страна на фибробластите, хондробластите и остеобластите заедно со колагенот. Овие негативно наелектризирани полимери ја даваат резилиентноста (еластичноста) на сврзното ткиво и се особено важни кај ‘рскавиците. Стромата, односно сврзното ткиво, е едновремено и резилиентна 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.




***Слика 8.2****: Хемиска структура на глукуронска киселина и β-D-N-ацетилгукозамин*

# АЛВЕОЛАРНА КОСКА, ЗАБИ И ПЕРИОДОНЦИУМ

Коската ја создаваат клетки наречени остеобласти. Тие најнапред секретираат колаген (најчесто колаген тип I), кој го сочинува некалцифицираниот остеоиден матрикс. Потоа остеобластите ги транспортираат калциумови јони од крвта во секретираниот остеоиден матрикс. 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 развиваат во согласност со генетските и стимулусите од околината. Овие клетки ја одредуваат формата на коската, особено кога дејствува притисок врз коскеното ткиво.



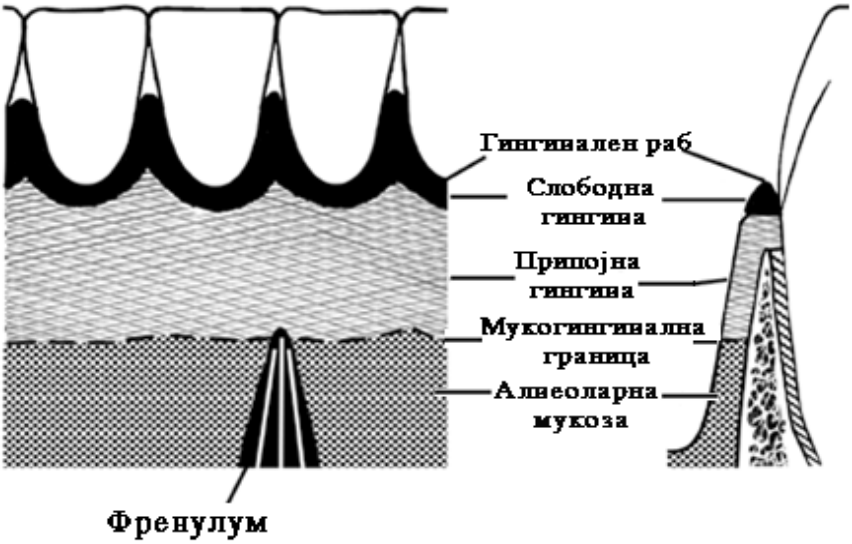

***Слика 8.3:*** *Шематски приказ на заб со околните пародонтални ткива*

Забот и неговите околни структури (пародонциум) се прикажани на слика 8.3. 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 одонтобластите, додека пак колагенот кој претставува органска основа на цементот, го продуцираат цементобластите.

Кога е завршена синтезата на дентинот, одонтобластите остануваат витални во внатрешноста на дентинот, односно во пулпата (некалцифицирано ткиво). На надворешната површина на дентинот, апикално во однос на емајлот, фибробластите се диференцираат во цементобласти и формираат цемент.

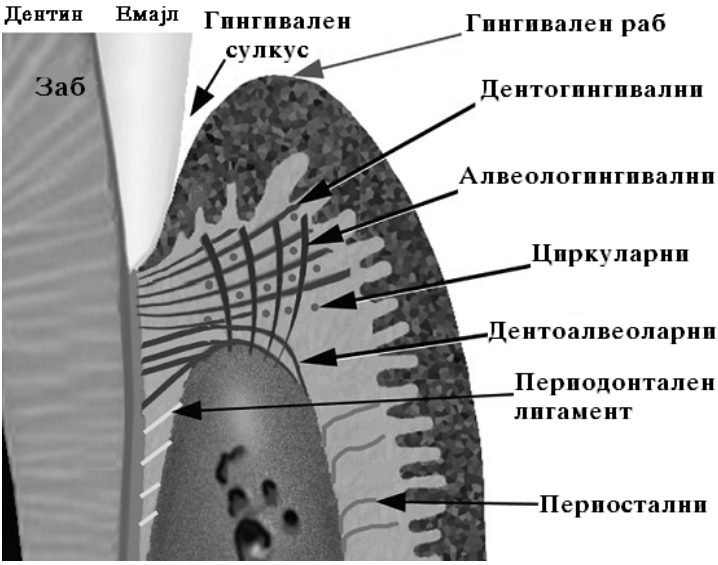
Пародонциумот се состои од гингива, цемент, периодонтален лигамент (периодонциум) и алвеоларна коска. Гингивата и периодонциумот главно се составени од големи колагени снопови на влакна кои ги апсорбираат мастикаторните сили. Периодонталните колагени влакна се наречени периодонтален лигамент бидејќи обата краја на овие колагени влакна се калцифицирани (со едниот крај во цементот, а со другиот во алвеоларната коска), налик на лигаментите кои ги припојуваат коските. Колагените влакна и крвните садови на периодонциумот се опкружени 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 ѕид 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 внтрешна страна (сулкусна) свртена кон емајлот на забот е прекриена со некератинизиран епител (слика 8.4).




***Слика 8.4:*** *Шематски приказ на гингивалното ткиво*

Во сврзното ткиво на гингивата се присутни пет групи на колагени влакна, кои се категоризирани според ориентацијата и функцијата. Гингивалните влакна се: а) дентогингивални; б) алвеологингивални; в) циркуларни; г) транссептални; и д) периостални (слика 8.5).




***Слика 8.5:*** *Шематски приказ на гингивалните колагени влакна.*

Првите две групи се слободни гингивални влакна, кои се припојуваат во цементот или 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 опкружуваат забот под слободната гингива. Транссепталните влакна се прикрепуваат 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 супстанција, во која основните периодонтални влакна се вградени, е сочинета од протеогликани во кои се вградени окситалански влакна. Овие влакна ги обезбедуваат и заштитуваат крвните садови во периодонциумот во тек на џвакањето. 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

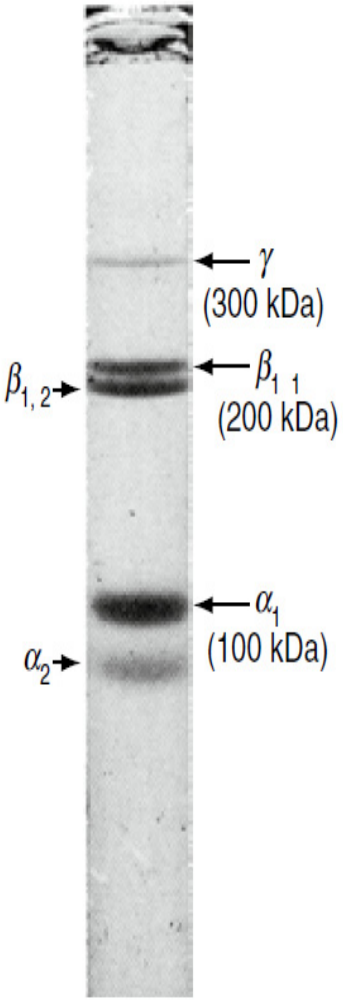
Колагените влакна имаат единствен и карактеристичен амино-киселински состав (табела 8.1). Најзастапени се амино-киселините: глицинот (1/3 од сите амино-киселини), потоа пролинот со 23%, аланинот 12%, хидроксипролинот, серинот, лизинот и хидрксилизинот. Од 20 присутни аминокиселини, триптофанот и цистеинот отсуствуват, а преостанатите 13 се присутни во мали количества. Бидејќи триптофанот е нутриционо неопходен, исхраната која се состои само од колаген не може да обезбеди живот кај луѓето и другите цицачи, односно нутритивно колагенот има биолошка вредност нула.

**Табела 8.1:** Аминокиселински состав на $\alpha_1$ синџирот во тропоколагенот

| Најзначајни аминокиселини | Процентуална застапеност | Функции |
|---|---|---|
| Глицин | 33 | Ги зајакнува van der Walls- ите и водородните врски кои што ги поврзуваат трите полипептидни синџири во хеликсот на колагенот |
| Пролин | 14 | Пролинот одговорен за екстендираноста на хеликсот |
| Хидроксипролин | 9 | Хидроксилната група го стабилизира екстендираниот хелекс на високи температури |
| Аланин | 12 | Мал страничен синџир кој дозволува полипептидите да лежат надолжно еден до друг и да создаваат влакна |
| Серин | 4 | Мал страничен синџир (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 |

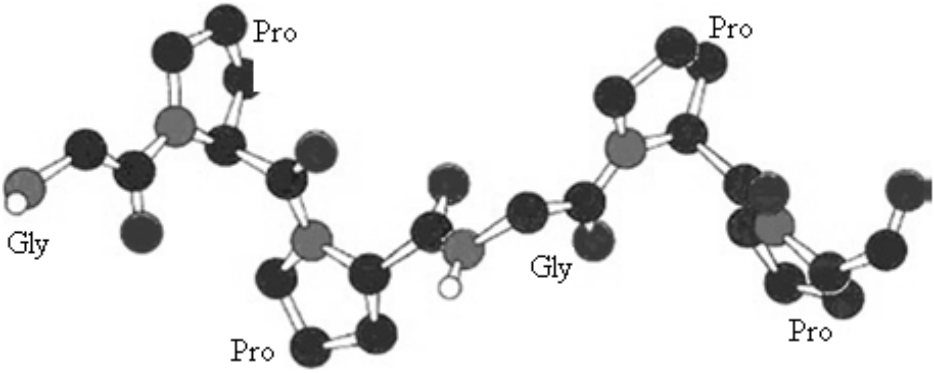
Колагените влакна се изградени од α1-, α2-, β-, и γ-, полипептидни синџири и тие ја претставуваат основната единица на колагенот, која е наречена тропоколаген. Најмалите полипептиди α1-и α2- на тропоколагенот имаат молекулска маса од приближно100 kDa; α1-полипептидот е незначително поголем поради што мигрира побавно (при електрофореза на полиакриламиден гел). Анализата на α1-и α2 полипептидите покажува дека

глицинот е присутен на секоја трета резидуа (Gly-X-Y повторувачки секвенци) во обата α пептиди, а пролинот е често присутен на X или Y позицијата (слика 8.6).

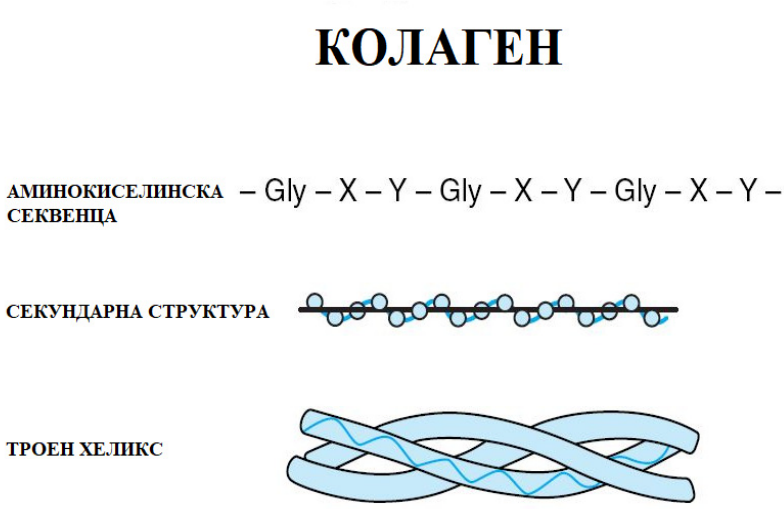



***Слика 8.6:*** *Полипептиден состав на колагено влакно*

Потврдено е дека полипептидите кои содржат Gly-X-Pro повторувачка секвенца имаат екстендирана (раширена) верига поради структурата на пролинската пептидна врска (слика 8.7).

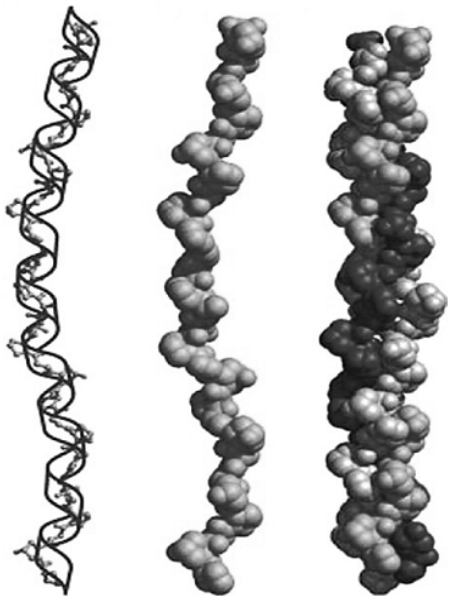



***Слика 8.7:*** *Хеликс на колагенот. Секундарната структура на колагенот е овозможена со пептидните врски кои се создаваат помеѓу глицинот и пролинот.*




***Слика 8.8:*** *Примарна, секундарна и терциерна структура на колагенот*

Глицинските резидуи овозможуваат силна поврзаност помеѓу полипептидните синџири, бидејќи овозможуваат создавање на многубројни водородни врски во структурата на тропоколагенот. Аминокиселината хидроксипролин ја стабилизира структурата на тропоколаген при загревање.



***Слика 8.9:*** *Троен хеликс на тропоколагенот*

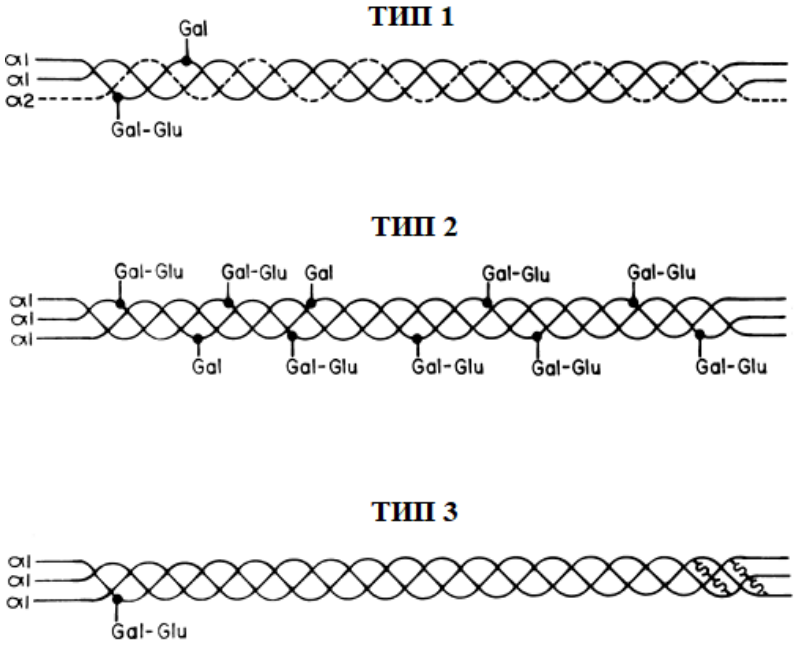
Поради сите наведени карактеристики (водородни врски на глицинот, улогата на пролинот и хидроксипролинот), полипептидите кои го сочинуваат тропоколагенот создаваат екстендиран троен хеликс (проширена тројна спирала) (слика 8.9). Тропоколагенот, претставува мономерна единица на сите фибриларни (влакнести) колагени. Два α1- и еден α2 – полипептиди се спојуваат со нивните хидрофобични домени (предели) и ја започнуваат тројно спиралната формација.

Завиткувањето на трите α-полипептиди во тројна спирала (хеликс), кое постојано се повторува, им ја дава на колагените влакна нивната цврстина и нерастворливост. Ковалентните вкрстени врски помеѓу α-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 синџири, кои генетски се кодирани (Слика 8.10). Тројната спирала (хеликс) може да биде создадена од еден ист полипептид, како кај тип II колагенот (α1). За разлика од тип II, кај тип I колагенот, тројната спирала е изградена од 2 различни полипептидни синџири (алфа 1 и алфа 2). Колагенот, тип

IV, е изграден од три различни полипептидни синџири. 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 α синџири. Во неговиот состав влегуваат хидроксипролин, хидроксилизин 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.




***Слика 8.10:*** *Три типа на колаген*

Колагенот, според своите биохемиски карактеристики е гликопротеин, бидејќи освен аминокиселини, содржи јаглехидратен дел. Протеинскиот дел, за кого досега стана збор, е позастапен во колагенот. Јаглехидратниот дел е присутен во вид на странични синџири кои се поврзани со основниот полипептиден синџир. Страничните синџири се кратки и се состојат од два шеќери: глукоза и галактоза. Поврзувањето на страничните

јаглехидратни синџири во молекулата на тропоколагенот, е овозможено со присуството на аминокиселините хидроксилизин и хидроксипролин. Имено, шеќерните компоненти се поврзуваат со полипептидниот синџир, преку ОН (хидроксилните) групи на овие аминокиселини.

## Биохемиски карактеристики на синтезата на колагенот

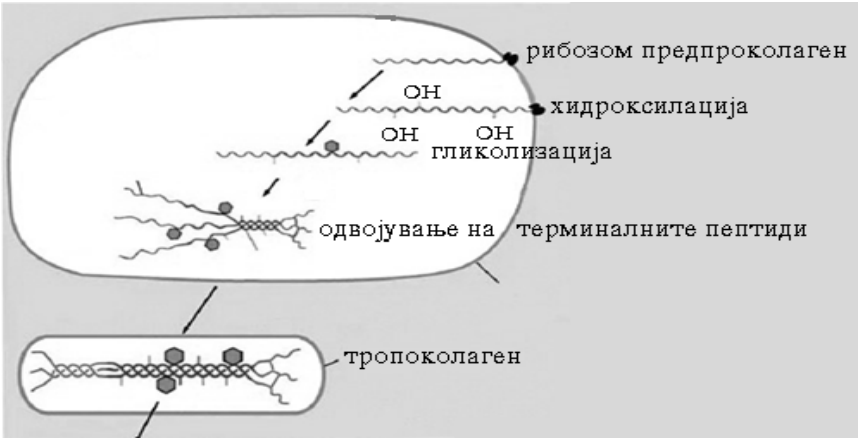
Синтезата на колагенот се одвива во клетките на дентинот-одонтобластите, на алвеоларната коска-остеобластите, на цементот-цементобластите и во клетките на оралната мукоза-фибробластите. Во споменатите клетки започнува процесот на синтеза на колагенот, а самиот процес интраклеточно се одвива низ четири фази (Слика 8.11):

1. Синтеза на полипептидните синџири, 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 хидроксилизин 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 $NH_2$ групите при што се добиваат алдехидни групи. Овој процес е катализиран под дејство на ензимите *хидроксилази*. Алдехидните групи реагираат со преостанатите амино групи $NH_2$ 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 протеогликани.



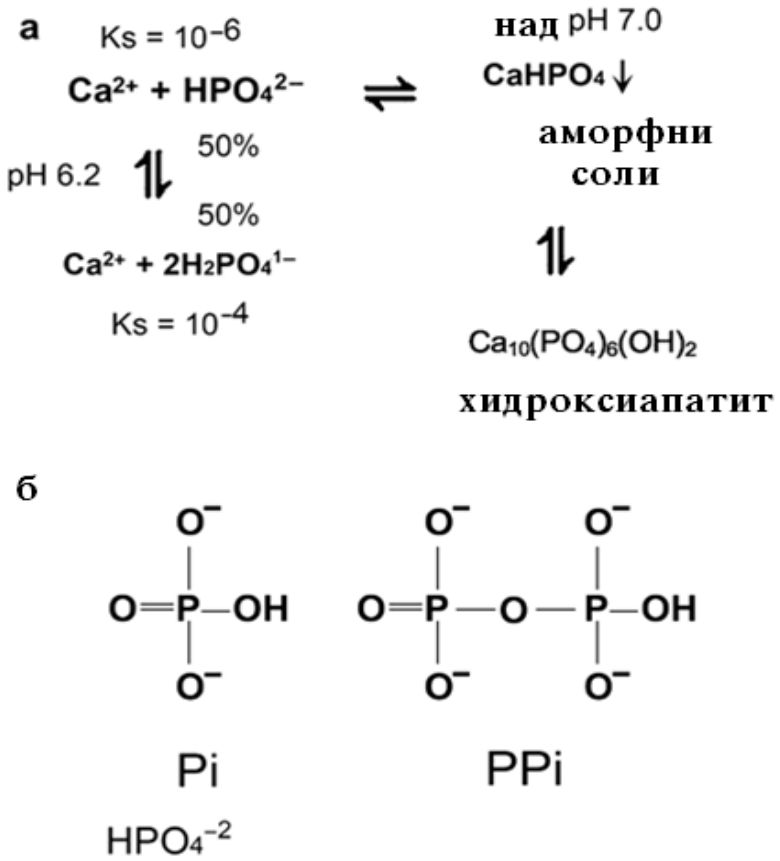

***Слика 8.11:*** *Шематски приказ на интраклеточните фази од синтезата на колагенот и неговото напуштање на клетката како тропоколаген*

# БИОЛОШКА МИНЕРАЛИЗАЦИЈА

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

Присуството на калциумовите и фосфатните јони во биолошките течности е различно. Калциумот константно е присутен како двовалентен јон ($Ca^{2+}$), но фосфатните јони се присутни во една од трите pH зависни форми (Слика 8.12): дихидроген фосфат ($H_2PO_4^{1-}$), монохидроген фосфат ($HPO_4^{2-}$) и фосфат ($PO_4^{3-}$). Во раствори со pH 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. Наталожениот калциум фосфат всушност се нарекува апатит.




***Слика 8.12:*** *Преципитација на калциум фосфатните соли и структура на ортофосфатните (Pi) и пирофосфатните (PPi) јони. а) Преципитација на калциум фосфатот при различни вредности на pH. На левата страна, при pH 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 pH7 се повеќе присутни во форма монохидроген фосфат. Калциум монохидроген фосфатот преципитира како аморфна сол којашто понатаму спонтано се ремоделира во кристали на хидроксиапатит. б) Структура на Pi и PPi. Стуктурите се физиолошки јонизирани форми при pH (~7.2).*

Апатитот кој првично се создава е трошлив и кршлив поради неговата аморфна (некристална) структура. Ако околната течност остане со вредност pH над 7, овој апатит е подложен на серија спонтани промени на цврстината. Краен продукт на таложењето на калциумовите и фосфатните соли е хидроксиапатиот, кристал кој содржи десет калциумови јони ($Ca^{2+}$), шест фосфатни јони ($PO_4^{3-}$) и два хидроксилни јони ($OH^{1-}$).

Хидроксиапатитните кристали во коските и забите содржат и други анјони и катјони, особено магнезиум, хлориди, карбонат и флуоридни јони. Присуството на други анјони и катјони ги менуваат карактеристиките на хидроксиапатитот. Присуството на карбонатот ($CO_3^{2-}$) 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, хидроксилните јони 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 ($Cl^{1-}$). Карбонизираниот хидроксиапатит е клучен за настанувањето на емајлот. Емајловиот минерал има многу големи хидроксиапатитни кристали, додека пак коските имаат многу мали кристали со многубројни слободни места и замени во нив. Овие разлики ја зголемуваат еластичноста на коската во споредба со емајлот и ги овозможуваат интеракциите со околниот колаген.

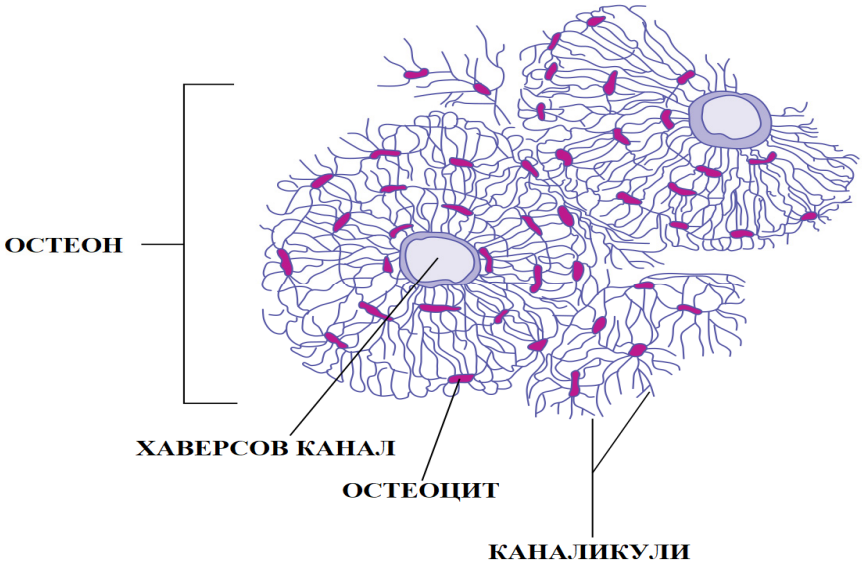
Растворените калциумови и фосфатни јони, во крвта и екстрацелуларната точност, остануваат растворени назависно од нивната концентрација во овие течности. Во крвната плазма минерализацијата е спречена од полианјоните, особено албуминот, цитратот и пирофосфатот (PPi). Тие ги хелираат калциумовите јони и го спречува 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 (Слика 8.12, дел б). Колагените влакна тип I го започнуваат создавањето на коските во услови на растечки концентрации на $Ca^{2+}$ и $HPO_4^{2-}$ јоните.

## Структура на алвеоларната коска

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

Компактната коска се состои од голем број остеони кои го сочинуваат т.н. Хаверсов систем (Слика 8.13). Во овие остеони, централните канали се наречени остеонски (хаверсови ) канали и се опкружени со концентрични кругови (ламели) на калцифициран матрикс. Коскените клетки (остеоцити) лежат помеѓу калцифицираните кругови во простори наречени лакуни. Малите канали (каналикули кои содржат продолжетоци од остеоцитите) зрачно се протегаат од лакуните до остеонскиот (хаверсов) канал за да обезбедат пат за хранливите материи и отпадните продукти. Секој остеонски канал содржи централен голем капиларен крвен сад кој е паралелен со надолжната оска на коската. Капиларите се поврзани еден со друг, а преку волкмановите (отвори на површината на коската) се поврзани 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.




***Слика 8.13:*** *Структура на остеон*

Спонгиозната коска е помалку густа во споредба со компактната коска. Се состои од тенки гредички (трабекули) и интертрабекуларни простори исполнети со коскена срцевина (Слика 8.14). Трабекулите се поредени и организирани така да обезбедат максимално спротивставување на силата којашто дејцтвува врз коскеното ткиво. Трабекулите на спонгиозната коска ги следат линиите на притисок. Притисокот кој дејствува врз коскеното ткиво создава микропукнатини во коската при што се активираат остеокластите и остеобластите, причинувајќи соодветно ремоделирање и прегрупирање на коскените гредички. Клетките на коската се диференцираат како остеобласти во периостот или на површината на трабекулите и се трансформираат во остеоцити во лакуните по минерализацијата на матриксот. Остеобластите и остеоцитите претставуваат околу 15 % од коскената маса.

***Слика 8.14:*** *Трабекули и интертрабекуларни простори*

## 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 остеобластите, кои се диференцираат од мезенхималните клетки слични на фибробласти, во

пределот на сврзното ткиво кое означува (демаркира) каде што коската ќе се создава. Остеобластите секретираат неминерализиран, богат со протеини (остеоиден) матрикс. Како што остеобластите се поместуваат, матриксот минерализира (Слика 8.15). Периостот (најповршниот слој на коската) останува некалцифициран и содржи латентни и недиференцирани остеобласти кои се одговорни за подоцнежното коскено ремоделирање.

Одонтобластите и цементобластите, исто така, секретираат матрикс кој наликува на остеоидниот матрикс.

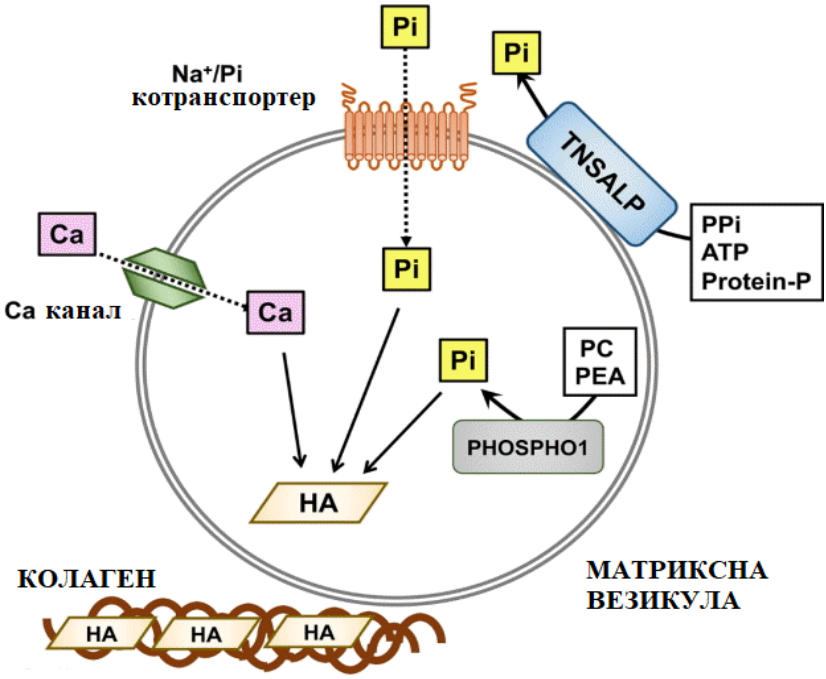
***Слика 8.15:*** *Интрамембранската осифокација е типична за кранијалните коски. Остеобластите се диференцираат од мезенхималните клетки слични на примитивните фибробласти.*

Скелетната ткивна минерализација (формирање на коска) е иницирана од остеобластите кои го секретираат остеоидниот матрикс (слика 8.16). Овие клетки го создаваат проколагенот тип I во секреторните везикули.

***Слика 8.16:*** *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 продолжетоците на 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 **C**a $^{2+}$-јоните од периосталната екстраклеточна течност, користејќи ги изменувачите за $Na^{+}$/ **C**a $^{2+}$-. **C**a $^{2+}$-јоните се пренесуваат до остеоидниот матрикс преку АТП зависната плазмено мембранска **C**a $^{2+}$-**A**TP- аза. Остеобластите исто така го внесуваат и ортофосфатот (Pi) од периосталната екстраклеточна течност. Кога вредноста на pH 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 што се одвива калцификацијата (Слика 8.17). 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 pH да биде премногу алкална, овозможувајќи хидроксиапатитните кристали да бидат помали.




***Слика 8.17:*** *Транспорт на Са и ортофосфат во матриксните везикули*

Брзиот минерален раст во везикулата ја одржува концентрацијата на растворените калциумови и неоргански фосфатни јони толку ниско што дополнителни $Ca^{2+}$ и Pi јони спонтано влегуваат од екстраклеточната 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 што го сочинува органскиот матрикс на коскеното 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 екстраклеточен фосфогликопротеин, коскен сиалопротеин, дентински матрикс протеин-1 и дентин сиалофосфопротеин.** Овие протеини се калциум-врзувачки и се присутни главно во неминерализира-

ниот 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.

## *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 ходроитин сулфат и хијалуронска киселина.

Коскените клетки се присутни во меѓуклеточната супстанција на алвеоларната коска. Присутни се клетки коишто се наречени остеобласти и клетки наречени остеокласти. Остеобластите учествуваат во создавањето на алвеоларната коска и од нив подоцна се создаваат остеоцити. Остеокластите се клетки коишто 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. Ѕидовите на алвеолите се изградени од компактна коска која уште се нарекува и вистинска алвеоларна коска. На рендгенска 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 многубројни 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 што е сличен со ‘рскавиците. Клетките остеобласти ги синтетизираат мономерите на колагенот и протеогликаните. Со полимеризација на мономерите се создаваат колагени влакна. Неколагените протеини: остеонектин, остеопонтин и остеокалцин го овозможуваат врзувањето на аморфните соли на калциум за колагените влакна. Со наталожување на солите на клациум првобитно настануваат аморфните соли: примарен фосфат и трикалциум фосфат. Со понатамошно наталожување 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 коскената течност во екстрацелуларната течност.

Овој процес се нарекува остеолиза. Кога ќе се инактивира пумпата за калциум, концентрацијата на калциум во коскената течност расте. Притоа, калциумот повторно се наталожува 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 учествуваат при разградбата на коската се наречени остеокласти. Тие имаат продолжетоци и секретираат во коската:

- 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 до 10 недели. Разградбата пак на коската се одвива побрзо, за 3-4 недели. Во коските непрекинато се одвиваат и двата процеса: создавање и разградба на коската. Овие два процеса го овозможуваат приспособувањето на цврстината на коската на степенот на нивната оптовареност. 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 којашто ги оптоварува забите. Така, коските се здебелуваат кога се изложени на поголемо оптоварување. Но кога оптоварувањето ќе ја надмине границата на издржливост на алвеоларната коска, доаѓа до нејзина разградба. 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 оптоварување. 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.

# 9

# БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ЗАБНИТЕ ТКИВА

## ЕМАЈЛ НА ЗАБОТ (SUBSTANTIA ADAMANTINA)

### Промени во составот на хидроксиапатитот

### Улога на саливарните електролити во зачувувањето на емајлот на забот

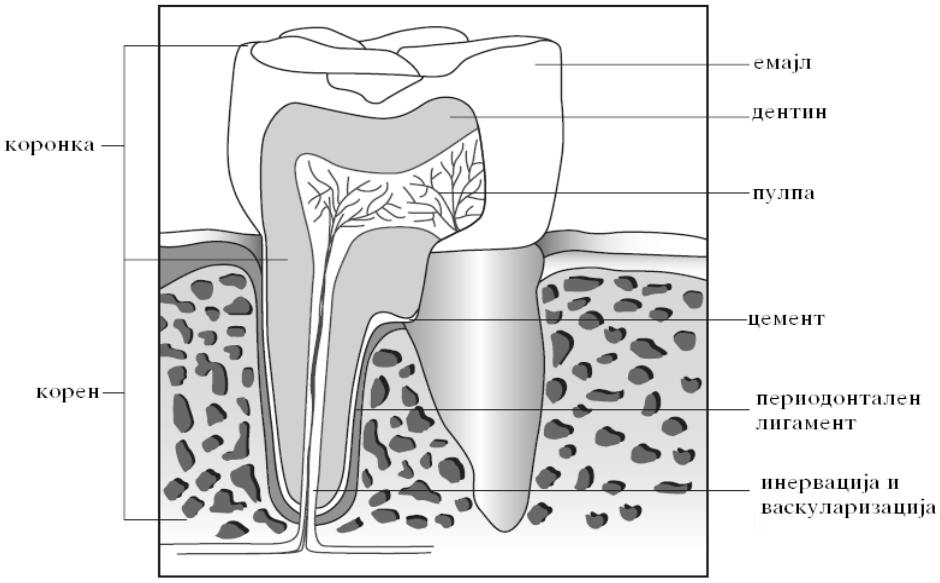
## ДЕНТИН

## ЦЕМЕНТ НА КОРЕНОТ НА ЗАБОТ

## ЗАБНА ПУЛПА

Се разликуваат три цврсти забни ткива: емајл на забот, дентин и цемент. Мекото забно ткиво, коешто 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 најзастапеното 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 9.1).




***Слика 9.1:*** *Надолжен пресек на забот*

# ЕМАЈЛ НА ЗАБОТ (SUBSTANTIA ADAMANTINA)

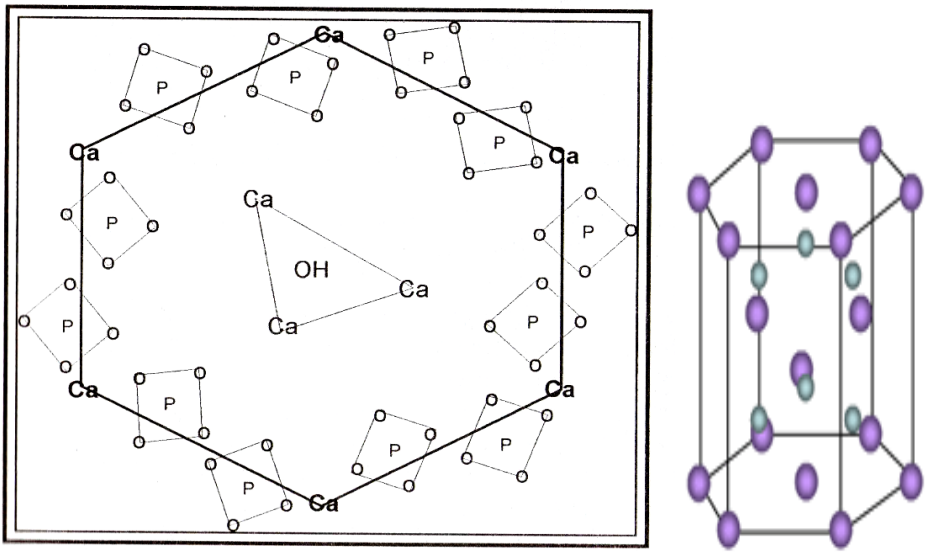
Емајлот на забот претставува најповршно цврсто забно ткиво и го прекрива дентинот во коронарниот дел на забот. Го создаваат клетките амелобласти, а процесот на создавање се нарекува амелогенеза. По завршување на амелогенезата, амелобластите исчезнуваат. Ова забно ткиво е најцврстото ткиво во човековиот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

Емајлот претставува ткиво коешто има квантитативно најголем процент на неорганski 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 (HA), главната компонента на емајлот, е $Ca_{10}(PO_4)_6$ x $(OH)_2$. Во кристалите на хидроксиапатитот кои имаат облик на хексагонални призми, три јони на калциум градат триаглести формации. Притоа, групата се наоѓа во внатрешноста на триаголникот. Кислородот од $OH^-$ 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 хексагонален распоред на $Ca^{2+}$ јони во кристалите на хидроксиапатитот. Во овие хексагонални формации $Ca^{2+}$ јоните можат да заземаат двојна положба, да бидат столбни или пак да бидат аксијални. Столбните $Ca^{2+}$ 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 $PO_4^{3-}$. Четирите кислородни атоми од фосфатната група ($PO_4^{3-}$) се распоредени во облик на квадрат, а фосфорот (P) се наоѓа во средината на тој квадрат. Помеѓу секои два столбни $Ca^{2+}$ јони се наоѓаат по две фосфатни групи. Карактеристична е орентацијата 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. Поради ова површината на кристалите на хидроксиапатитот, па и на, целиот емајл на забот, е негативно наелектризирана (Слика 9.2).




***Слика 9.2:*** *Лево: Напречен пресек на хидроксиапатитот и просторниот распоред на неговите јони.* ***Десно:*** *Хексагонална форма на хидроксиапатитот*

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 главно 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

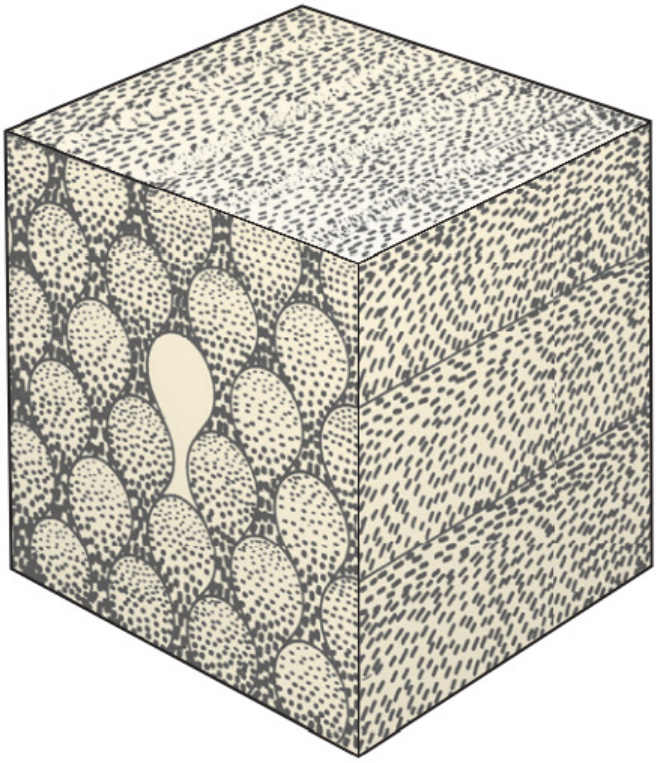
дентинот, пак, позастапени микроелементи се: Mg, F и Fe. Разлики во концентрацијата на микроелементите во забните ткива се присутни и помеѓу испитаниците со различна возраст. Така, концентрацијата на Cu, Sr, Pb е значително поголема во емајлот на повозрасните индивидуи во споредба со помладите индивидуи. Дентинот пак 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 9.1).

**Табела 9.1:** Поделба на микроелементите според нивната содржина во површинскиот слој на емајлот на забот

| Група | Концентрација μg/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 |

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 анатамоска 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). Димензи-

ите на емајловите призми изнесуваат околу 5 μm. Распоредени се во низи, кои се протегаат од емајл-дентинската 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 μm. 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 (гризната) површина на забот, додека пак опашките се свртени кон коренот на забот. Главата на една призма е взглобена 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 взглобени меѓусебно, сепак помеѓу нив постојат микропростори кои се нарекуваат интерпризматични простори (Слика 9.3).



***Слика 9.3:*** *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 присуство на специфични протеини. Протеините на емајлот на забот се создаваат во текот на амелогенезата од страна на амелобласти. Се работи за хидрофобни протеини (амелогенини) како и „неамелогенински“ 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 а*мелогенините*. 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 макса од 32 kDa. Содржи хидрофобни кисели и базни домени во различни делови од неговата молекула.

## 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 наелектризирани 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 тровалентни) можат да се врзат и анјони. Токму поради тоа, на кристалната структура на хидроксиапатитот може да се докаже и присуство на адсорбиран јонски слој којшто при промена на локалната pH може да биде

отстранет. Тогаш настанува деапсорпција на сите наелектризирани 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.

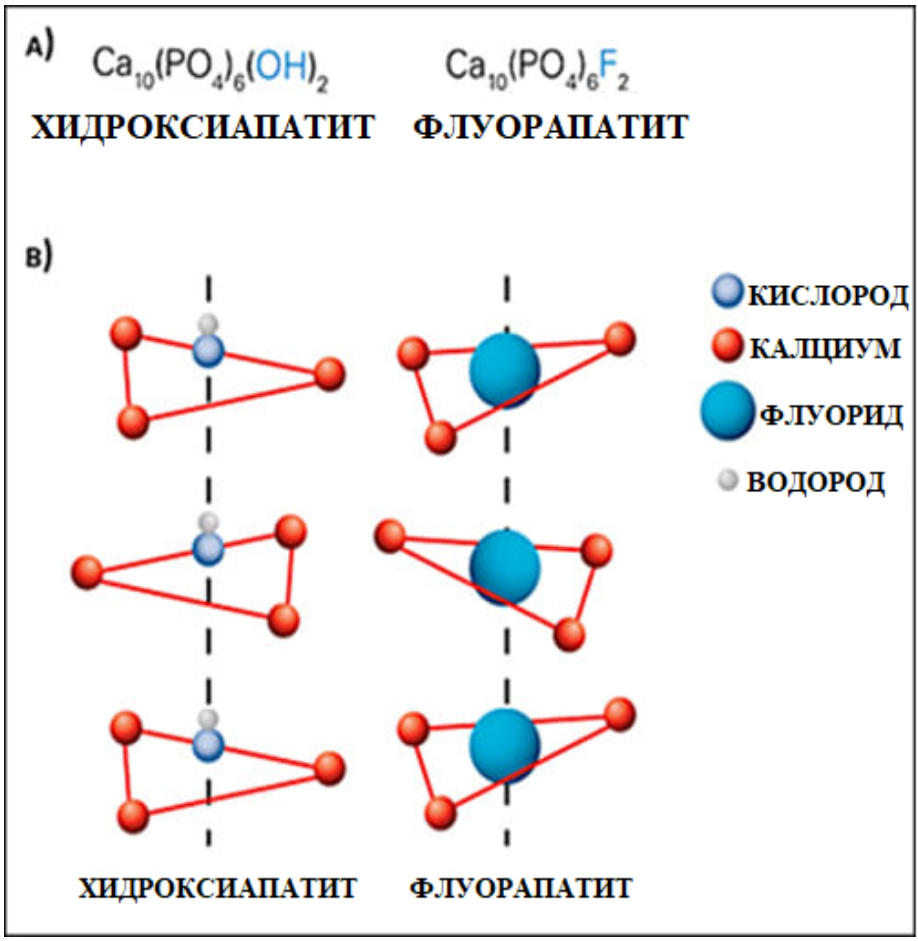
Јонската промена претставува друг вид на промена во составот на хидроксиапатитот. Ваквата промена настанува заради размена на јони помеѓу хидроксиапатитот и неговата околина. Се смета дека под одредени услови можат да бидат заменети дури до една третина од јоните на кристалната решетка на хидроксиапатитот. 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 мошне 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 нарушување на процесот на минерализација на емајлот и на останатите цврсти забни ткива, причинета заради витамински дефицит или хормонски нарушувања.

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 (Слика 9.4) 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 опкружувачките 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 анјон, а тоа значи дека со иста сила ги врзува опкружувачките калциумови јони и поради тоа ја оневозможува нивната замена во структурата на хидроксиапатитот.




***Слика 9.4:*** *Позитивна хетеројонска промена*

# Улога на саливарните електролити во зачувувањето на емајлот на забот

Во плунката се присутни многубројни 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 разлики 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 9.2).

**Табела 9.2:** Концентрација на одделни електролити во стимулирана плунка, во нестимулирана плунка и во крвна плазма

| Електролити | Нестимулирана плунка mmol/L | Стимулирана плунка mmol/L | Крвна плазма mmol/L |
|---|---|---|---|
| $Na^+$ | 15 | 30 | 140 |
| $Cl^-$ | 23 | 40 | 105 |
| $Ca^{2+}$ | 2 | 4 | 2,5 |
| $K^+$ | 25 | 4,5 | 4,5 |
| $HCO_3^-$ | 1 | 60 | 27 |
| $H_2PO_4^-$ | 7-8 | 2-3 | 4 |

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 дејствува 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 излачуваат 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, на 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 pH-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 pH. 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 pH на плунката се намалуваат, киселоста расте 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 pH вредност под 5,5. Тоа придонесува да се помести рамно-

тежата на електролитите во неповолна и несакана насока, односно во насока на растворање и деминирализација на емајлот на забот.

Спроведени се бројни испитувања за влијанието на гумите за џвакање врз состојбата на електролитите во емајлот и во плунката. Заклучокот од овие испитување е дека гумите за џвакање со или без шеќер, влијаат поволно врз рамнотежата на електролитите, односно врз здравјето на забите. Со џвакањето се поттикнува рефлексот на саливација, а со тоа повеќекратно се зголемува количеството на излачена плунка. Во такви услови се зголемува концентрацијата на електролитите и нивното вкупно количество, се зголемува концентрацијата на бикарбонатите, а се зголемува и вредноста на pH. Сето тоа има поволни ефекти врз состојбата на минералите во емајлот на забот. Освен тоа, се поништуваат и несаканите ефекти на консумирањето шеќери и нивниот катаболизам до лактат, бидејќи лактатот се неутрализира со помош на излачените 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 кои 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 pH-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, главно, е изградена од саливарни гликопротеини. Во самата дентална пеликула се вградени многубројни 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 многубројни и разновидни механизми кои рефлексно се поттикнуваат или се запираат со цел да се зачува како здравјето на забите така и севкупното орално здравје.

# ДЕНТИН

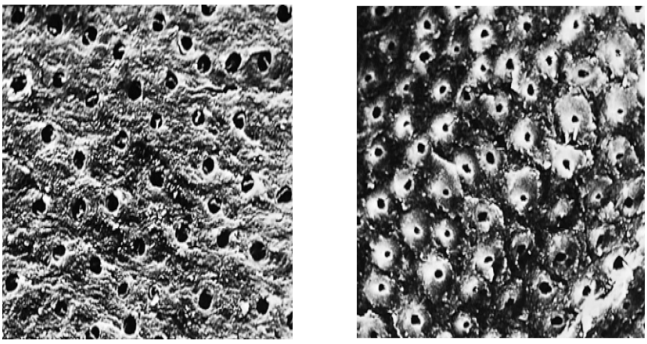
Дентинот е второто цврсто забно ткиво и е најзастапено ткиво од сите цврсти забни ткива. Клетките кои го создаваат дентинот потекнуваат од пулпата на забот, а се нарекуваат одонтобласти. Процесот на дентиногенеза, создавање на дентин, се одвива во текот на целиот живот на една индивидуа, сè додека забот 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 $Ca^{2+}$ 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 сè до забната пулпа. Дентинските каналчиња имаат конусен изглед, најтесни се во предел на емајл-дентинската граница, а најшироки се во предел на забната пулпа (Слика 9.5). 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 поради кариес на забот) ќе се оштети, дентинот се изложува на влијанието на надворешната средина. Притоа, преку дентинските каналчиња се овозможува релативно лесно поминување на антигените до виталното забно ткиво-забната пулпа.



***Слика 9.5:*** *Лево: Дентински тубули во близина на забната пулпа*
*Десно: Дентински тубули во близина на емајл-дентинската граница*

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 многубројни дентински каналчиња. Во текот на животот се синтетизираат два вида на дентин: секундарен и терцијарен. 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

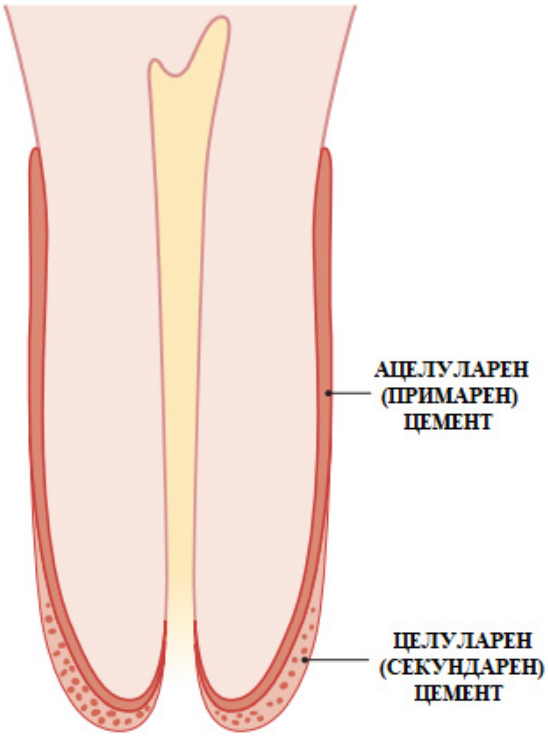
пулпа како одговор на пулпата на нормални физиолошки дразби. Овие физиолошки дразби можат да бидат механички (притисок при гризната површина при џвакање на храна) и термички (консумирање на топла и ладна храна). Поради тоа, дентинот којшто се создава како резултат на овие дразби, се нарекува физиолошки 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. Терцијарниот дентин се создава од однотобластите 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 терцијарен дентин. Терцијарниот дентин се карактеризира со најмала тубуларност. Бројот на дентинските каналчиња кај овој вид на дентин е значително помал, а присутни се и зони каде што каналчињата воопшто не се присутни. Поради тоа, терцијарниот дентин покажува добри бариерни карактеристики во смисла 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

Цементот 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, цементо-

бласти и е присутен долж целиот корен на забот. Се создава во текот на процесот на цементогенезата. Целуларниот цемент содржи клетки кои учествувале во неговото создавање (цементобласти) и е присутен во предел на врвот на коренот на забот, а го покрива ацелуларниот цемент (Слика 9.6). 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 поради 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 алевеоларната коска (периодонтален простор, spatium periodontale).




***Слика 9.6:*** *Ацелуларен (примарен) и целуларен (секундарен) цемент*

Внатрешната површина на цементот цврсто е припоена за дентинот. Неговата надворешна површина е место каде што 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 коскеното 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 дејствување на механички сили. Кога на коската дејствува механичка сила, таа подлегнува на процеси на ресорпција (губиток) во насока на делување на силата. На спротивната страна на дејствувањето 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 дејствување на механички сили се поттикнува ресорпцијата на алвеоларната коска. Цементот, притоа, 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 долу, а долните кон горе). На овој начин се компензира загубата на емајлот на забот настаната поради атриција. Иако емајлот на забот е заштитен од прекумерно трошење во текот на мастикацијата со помош на денталната пеликула, сепак, во извесна мера 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 нарушила функцијата на џвакалниот апарат. Но, тоа не се случува бидејќи се синтетизира секундарен цемент во таа мера 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 cavum pulpae. Изградена е од растресито сврзно ткиво во кое се присутни: основна супстанција 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 супстанција 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 супстанција на пулпата е изградена од различни протеини, гликопротеини, особено глукозаминогликани од типот на хијалуронска киселина и хондроитин сулфат во протеогликанска комбинација.

Протеини кои 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 cavum pulpae. Овие клетки учествуваат во создавање на секундарниот и терцијарниот 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 терцијарен дентин, волуменот на пулпата со стареење сè 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 бесклеточна 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.

# 10 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*

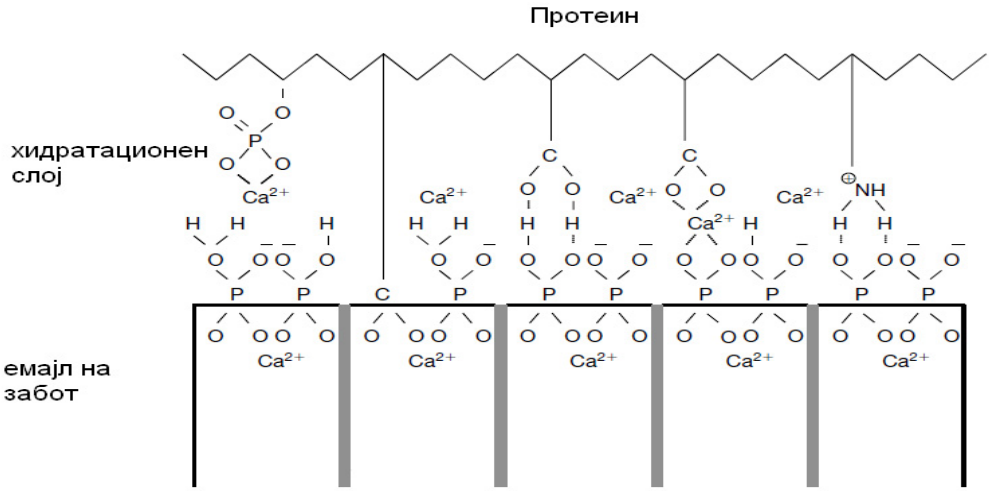
*Хомеостаза на минерали*

*Модулација на бактериската адхеренција*

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 (плунка, 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 плунката, 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 до 20 nm.

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 (Слика 10.1).




***Слика 10.1:*** *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 протеини богати со пролин, 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 методот 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.

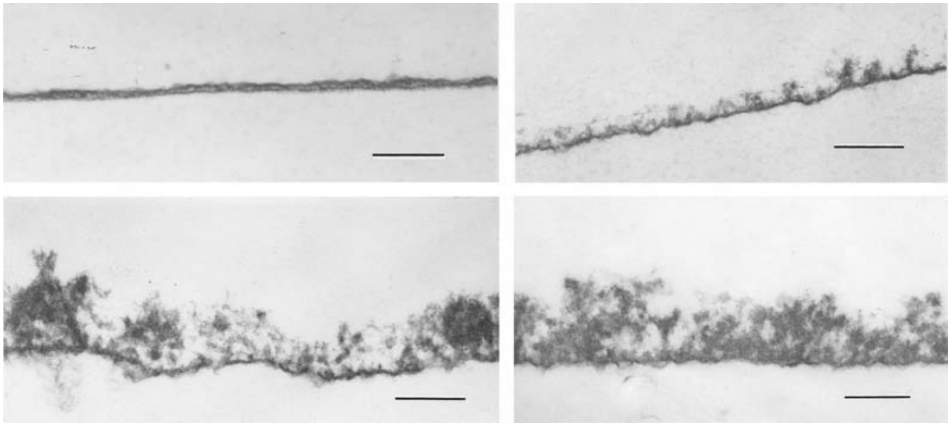
Со оглед на тоа што голем број на различни саливарни протеини учествуваат во иницијалното пеликуларно создавање, разбирливо е дека нивното поврзување за површината на емајлот на забот не настанува исклучиво со јонски интеракции. Другите начини на поврзување на саливарните протеини за површината на емајлот на забот се: вандервалсови (Van der

Waals) 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 дебелина 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-тата минута од почетокот на создавање. Во рок од 60 минути дебелината на пеликулата ќе се зголеми од 100 до 1000 nm, во зависност од присуството на биополимери во плунката како и од условите во оралната празнина.

Зголемувањето на дебелината на пеликулата во периодот од 30. до 90. 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 до 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 10.2).



***Слика 10.2:*** *Микрофотографија на слоевите на пеликулата 1 минута (горе лево), 10 минути (горе десно), 60 минути (долу лево) 120 минути (долу 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 70-тите 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 методот 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 во состав на денталната пеликула се всушност проетини и гликопротеини присутни во плунковниот секрет. Истите се дадени во табелата која што следува (Табела 10.1).

**Табела 10.1:** Протеини и други биополимери присутни во денталната пеликула, создадена во in vivo услови на површината на емајлот на забот

| 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 Candida albicans | 3-5 |
| α-амилаза | Разградба на скроб | 54-57 |
| Грикозилтрансферази | Бактериски ензими (синтетизираат гликани) | 140 |
| Карбоанхидраза VI | Неутрализира киселини | 42 |
| Лизозим | Антибактериски ефект (лиза на бактерискиот ѕид) | 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 е позастапена во пеликулата отколку негликолизираната форма | | |

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 количеството 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 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 B. Присуството на калгранулин B 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: муцинот 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 глукозата е најзастапена. Околу половина, од вкупното количество на шеќери присутни во пеликулата, отпаѓа на глукозата. Други шеќери присутни во пеликулата се: галактоза, маноза, фукоза, глукозамини и галактозамини. Не е јасно потеклото на глукозата во денталната пеликула. Најверојатно доаѓа до директна адсорпција на полимери на глукоза (декстран, односно гликан) кои потекнуваат од бактериите. Ензимите глукозилтрансферази, адсорбирани во пеликулата учествуваат во синтезата на гликаните кои, пак, служат како извор на глукоза за денталната пеликула. Исто така гликолипидите, кои се главните претставници на липидите во пеликулата, се можен извор на глукоза, бидејќи гликопротеините кои влегуваат во состав на гликолипидите содржат само глукоза.

## 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 опкружува (плунката). 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 со што ги олеснува џвакањето 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 фрикцијата (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 фрикција 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. Сè уште не е прецизно разјаснет механизмот на регулацијата на дифузија на јони, помеѓу површината на емајлот на забот и оралната средина.

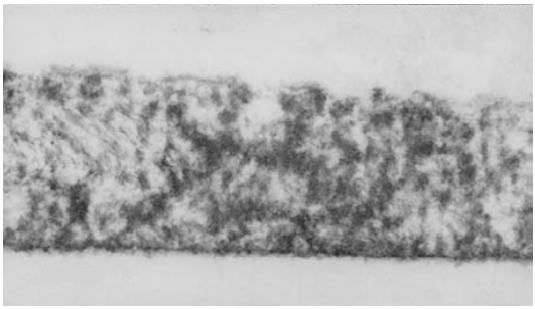
Истражувањата покажувале дека во слоевите на пеликулата се присутни отворени структури кои ја овозможуваат размената на јоните на површината на забот. Според тие укажувања пеликулата претставува

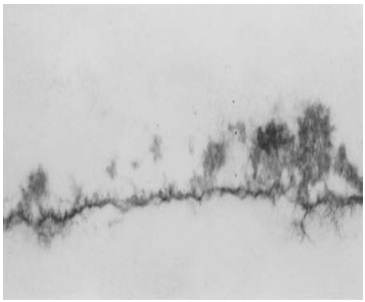
медиум низ кој се доставуваат флуоридите, калциумот и фосфатите, во текот на реминерализацијата. Исто така, пеликулата ја одложува или ја намалува можноста за деминерализација.

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 дејствување на киселини, а до одредена мера може да се јави како дифузиона бариера (Слика 10.3).

Постојат одредени разлики во ултраструктурата, дебелината и составот на слоевите на пеликулата формирана на различни површини од забите во устата. Заштита 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: $CO_2+H_2O \rightarrow HCO_3^- + H^+$. Саливарната карбоанхидраза, имобилизирана во пеликулата, ја катализира и ја забрзува неутрализацијата на киселините, на тој начин штитејќи го емајлот од деминерализација.





***Слика 10.3:*** *Слоеви 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 наталожувале на површината на забот. Киселите PRP (протеини богати со пролин), 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 адхеренција*

Денталната пеликула покажува селективност кон адхеренцијата на бактериите 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.

# 11

# БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА БИОФИЛМОТ

## БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА СОЗДАВАЊЕТО НА БИОФИЛМОТ

**Протеински матрикс на биофилмот**

**Адхезивни својства на протеинскиот матрикс**

**Екстраклеточните полисахарди**

**Услови за синтеза на декстран и леван**

**Значење на екстраклеточните полисахариди**

**Метаболичка активност на бактериите во биофилмот**

**Биохемиски процеси на бактериите во биофилмот**

***Синтеза и разградба на гликогенот (гликогеногенеза и гликогенолиза)***

***Катаболизам на глукоза (гликолиза)***

***Липогенеза***

***Катаболизам на уреа***

***Синтеза на аминокиселини***

***Синтеза на токсични амини***

## ПРОМЕНИ НА pH ВО МИРКОСРЕДИНАТА НА БИОФИЛМОТ

**Класичен концепт на промена на pH во биофилмот**

**Незрел биофилм**

**Зрел биофилм**

**Концепт на промена на pH во биофилмот базиран на составот на неговите метаболички продукти**

***Намалување на pH-вредноста на плакот***

***Зголемување на вредностите на pH на плакот***

# БИОХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ НА СОЗДАВАЊЕТО НА БИОФИЛМОТ

Во новата стручна и научна литература терминот биофилм сè 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
- метаболички 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 неоргански материи: јони на Ca, фосфати, Mg, K, Na. Овие материи 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

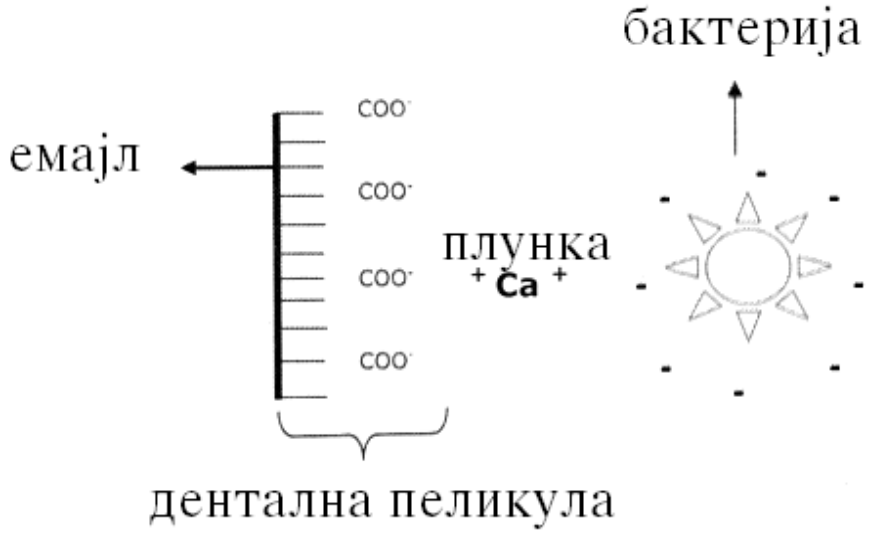
Бактериите пристигнуваат пасивно до денталната пеликула, благодарение на саливарниот тек и постојаниот контактот на забите со плунката.

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;

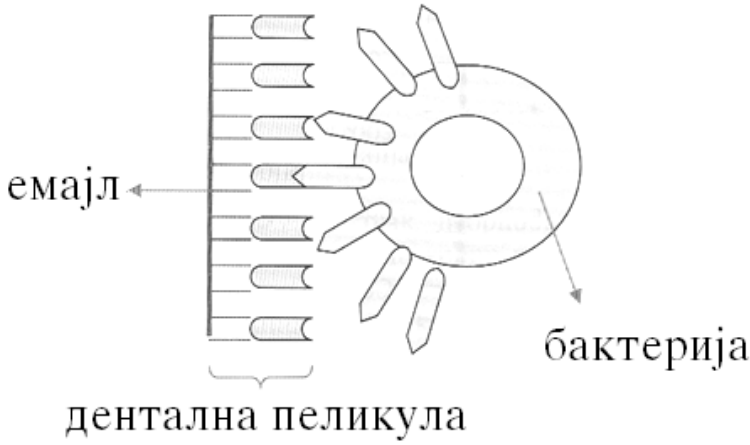
Доминантна активност во **иницијалната фаза** на создавањето на плакот е интеракцијата помеѓу бактериите на оралната флора и стекнатата дентална пеликула. Во состав на клеточниот ѕид на бактериите влегуваат гликопротеини поради што бактериската клетка е негативно наелектризирана. Анјонските резидуи (COO-) на овие гликопротеини проминираат кон надворешноста со што се обезбедува негативен набој на бактеријата. Во составот на денталната пеликула, исто така, влегуваат различни гликопротеини кои 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 sид, 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 sид, од една страна, и јоните на калциум, од друга страна, се овозможува врзувањето на првите бактерии „пионери“ со денталната пеликула (Слика 11.1).




***Слика 11.1:*** *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 11.2). 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, сè уште 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.



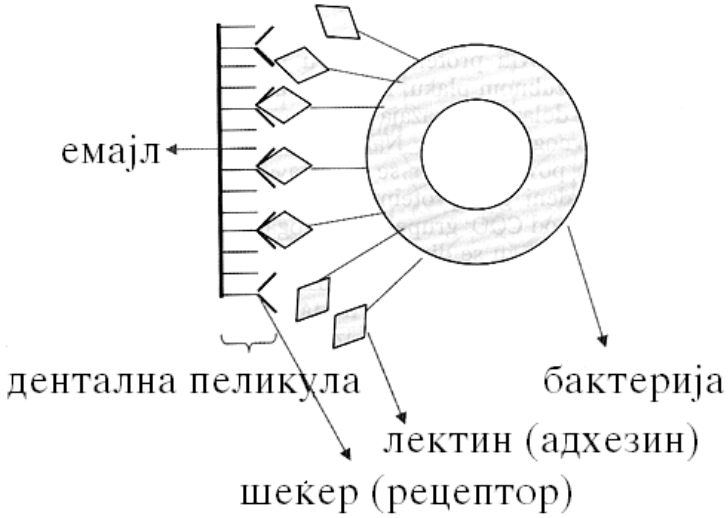

***Слика 11.2:*** *Врзување на бактериите со помош на хидрофобна интеракција, која се базира на структурното совпаѓање помеѓу одредени хидрофобни молекули на денталната пеликула и исти такви молекули на бактериите*

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 11.3).

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. Епитилните 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 11.3:*** *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 гликопроте-

ините од денталната пеликула, за да обезбедат енергија што им е потребна за нивен опстанок и размножување. Со отстранување на јаглехидратниот дел на глиопротеините, 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 сè уште постојат дискусии за неговото потекло. Став кој 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 јаглехидратниот дел) под дејство на екстраклеточните ензими на бактериите од плакот. Губењето на јаглехидратниот дел на гликопротеините настанува заради големата потреба од шеќери на бактериите. Освен губењето на јаглехидратниот 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. Сијаломуцинот влегува во состав на денталната пеликула, но не и во состав на протеинскиот матрикс на денталниот плак, бидејќи јаглехидратниот дел на сијаломуцинот се катаболира под дејство на ензими кои ги ослободуваат бактериите од плакот.

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

Познато е дека нативниот сијаломуцин (оној што е присутен во плунката) има многу ниска вредност на изоелектричната точка pK=2,6. Оваа особина на сијаломуцинот го оневозможува неговото таложење дури и при најниски вредности на pH на плунката. Поголемо закиселување и поголем пад на локалната pH 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 таложење на сијаломуцинот. Неговото таложење ќе се одвива до оној момент додека локалната pH вредност не се коригира под дејство на саливарните пуфери.

Во согласносст со претходните факти за карактеристиките на сијаломуцинот, малку е веројатно дека локалната pH вредност во плакот (под дејство на киселите метаболити) ќе предизвика таложење на сијаломуцинот. Наспроти тоа, бактериската сијалидаза предизвикува наталожување и денатурирање на сијаломуцинот кој влегува во состав на дентална-та пеликула, или, пак, пристигнува со плунката во плакот.

Значењето на протеинскиот матрикс е во поврзувањето на многубројни 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 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:

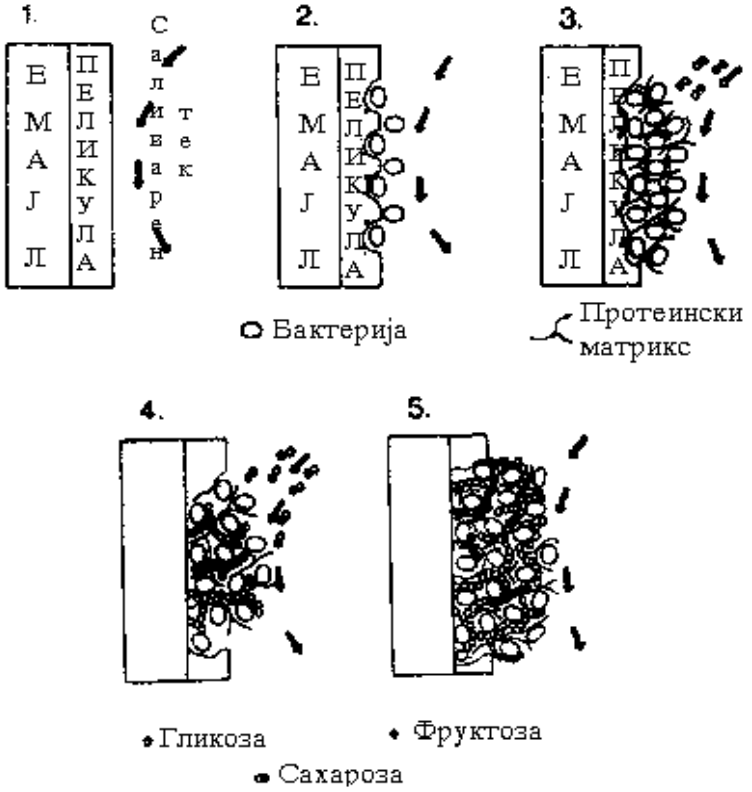
- штетни ефекти на цврстите забни супстанции;
- воспалителни промени на гингивата и потпорните ткива на забот.

Во почетокот на создавањето на плакот, додека тој е сè уште 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 синџири. Таквите синџири 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 бактерии во релативно мал простор (слика 11.4 и 11.5).

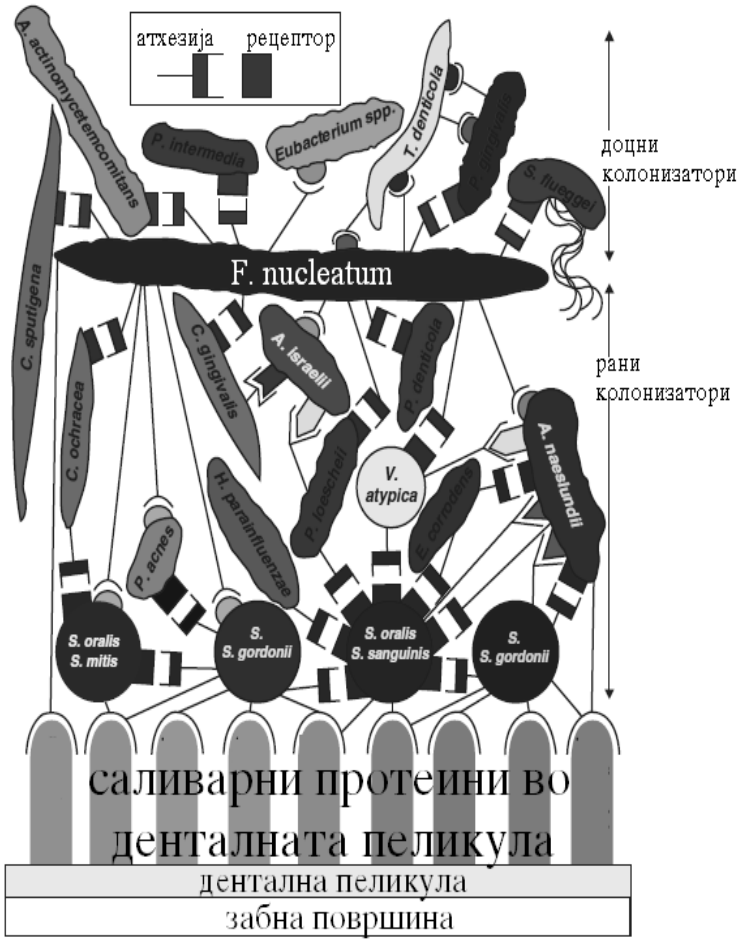



***Слика 11.4:*** *Фази на настанување на плакот: (1) Емајлот со денталната пеликула во контакт со плунката; (2) Почеток на колонизација и промени во составот на пеликулата; (3) Создавање на протеинскиот матрикс; (4) „Созревање“ на плакот со вклучување на сахарозата; (5) Потполно формиран „зрел“ плак со присуство на екстраклеточни полисахариди.*

Поврзувачкиот ефект на пептидните синџири може да се објасни на следниов начин: во состав на бактерискиот ѕид се наоѓаат гликопротеини чиишто слободни дисоцирани карбоксилни - COOH групи придонесуваат бактериите помеѓу себе да се одбиваат. Пептидните синџири располагаат со амино - $NH_2$ и карбокси - COOH терминален завршеток, поради што се вметнуваат помеѓу две најблиски бактерии на тој начин што $NH_2$ завршетокот реагира со COOH групата од бактерискиот ѕид. Пред да

настане споменатата реакција, $NH_2$ групата од пептидниот синџир реагира со вода, се создава база која дисоцира на $NH_3$ катјон и OH група според следната реакција:

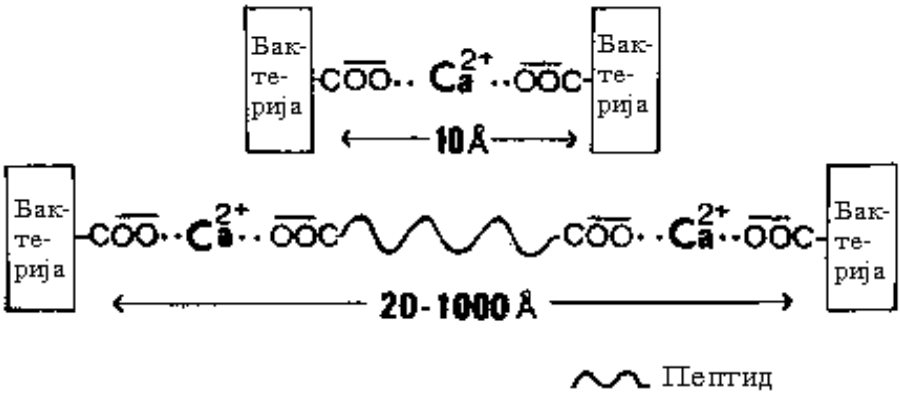
$$P\text{-}\ NH_2 + H_2O \rightarrow P\text{-}NH_3OH \rightarrow P\text{-}NH_3 + OH \quad (P=\text{пептид})$$



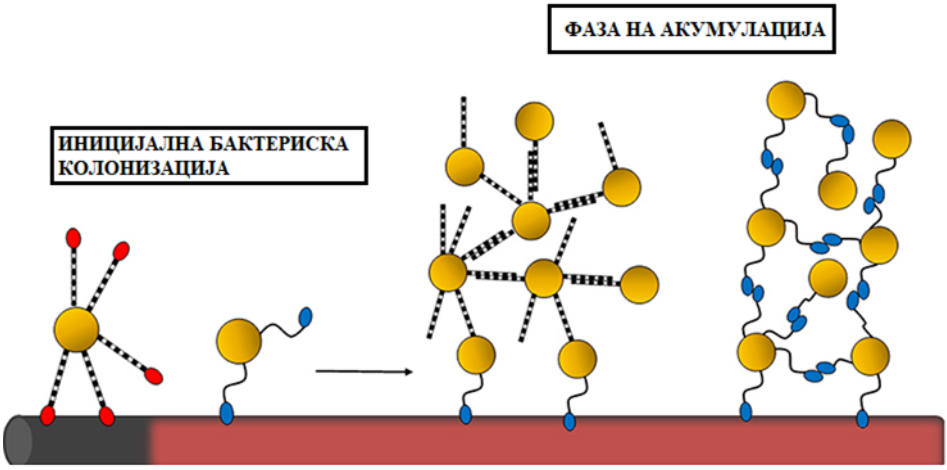

***Слика 11.5:*** *Шематски приказ на врзување на различни бактерии за површината на забот, како нивното меѓусебно поврзување и создавање на биофилм*

Позитивно наелектризираниот аминотерминален завршеток на пептидот овозможува воспоставување на јонска врска со некоја од дисоцираните COOH групи на бактерискиот ѕид. Другиот завршеток на пептидот секако е карбокситерминален, доколку се работи за пептиден синџир кој не е фрагмен-

тиран, така што неговата COOH група не може да реагира со истоимената група од бактерискиот ѕид. 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 11.6). Доколку, пак, пептидот е фрагментиран и на своите два краја има по една слободна $NH_2$ група, поврзувачкото дејство на калциумот е непотребно.




***Слика 11.6:*** *Поврзувачката улога на Са, односно, поврзување на овој јон и пептидниот фрагмент настанат во текот на создавањето на протеинскиот матрикс во денталниот плак.*




***Слика 11.7:*** *Инцијална бактериска колонизација и акумулација на биофилмот овозможена со пептидите од протеинскиот матрикс*

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 sид). Поради тоа логично е да се очекува дека одделни саливарни имуноглобулини (најмногу IgA) ќе реагираат според реакцијата антиген-антитело и ќе овозможуват 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 М, кој може да е пентамер.

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

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

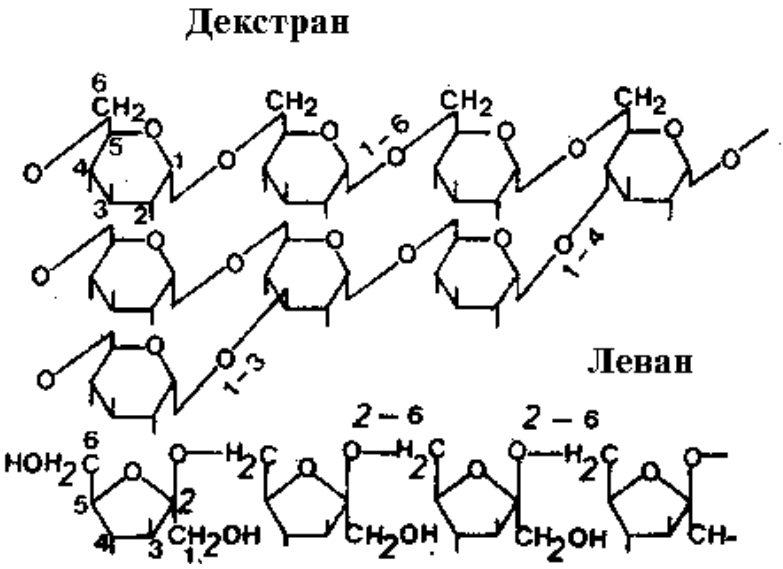
## Екстраклеточните полисахарди

Екстраклеточните полисахарди 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.

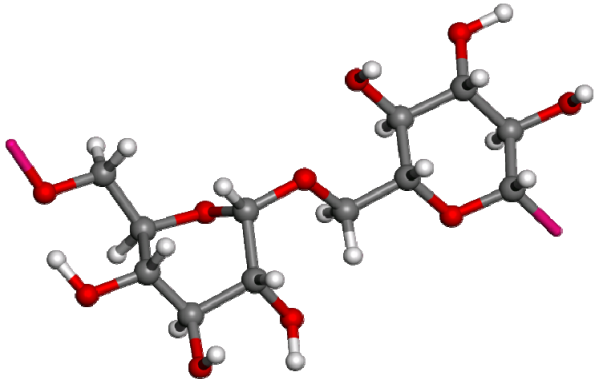
Декстранот е полисахарид што настанува со полимеризација на голем број молекули на глукоза. Бидејќи глукозата во литературата се сретнува и под друго име (декстроза), тогаш логично произлегува името на полисахаридот. Декстранот претставува полисахарид кој настанува со поврзување на голем број глукози со помош на глукозидна врска од типот α 1-6. Молекулата на декстранот е разгранета. За основниот синџир на декстранот се врзуваат и странични синџири со секундарен тип на α 1-4

глукозидна врска, а за нив, пак, се поврзуваат други синџири од терцирален тип α 1-3 врска (Слика 11.8).

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 синџир во којшто фруктозите се поврзани со β 2-6 глукозидна врска (Слика 11.8).




***Слика 11.8:*** *Структура на екстраклеточните полисахариди декстран и леван. Основниот синџир на декстранот е разгранет, додека, пак, оној на леванот не е.*



***Слика 11.9:*** *Разгранет синџир на декстранот*

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 што секојдневно се внесува во исхраната на цивилизираниот човек. Од биохемиски аспект тоа е дисахарид кој се состои од две молекули: глукоза и фруктоза. Со разградувањето на сахарозата се обезбедуваат основните субединици неопходни за синтезата на декстран и леван. Ако кон ова се додаде и фактот дека сахарозата лесно се раствора во вода, 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 ѕид. 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 кои можат да се претстават на следниот начин:

$$n\ \text{Сахарози} + n\ H_2O \xrightarrow{\text{Декстран сахараза}} \text{Декстран} + n\ \text{Фруктози}$$

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.

$$n\ \text{Сахарози} + n\ H_2O \xrightarrow{\text{Леван сахараза}} \text{Леван} + n\ \text{Глукози}$$

Споменатите ензимски реакции, во кои 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.

$$n\ \text{Сахарози} + n\ H_2O \xrightarrow[\text{Леван сахараза}]{\text{Декстран сахараза}} \text{Декстран} + \text{Леван}$$

## 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 (Слика 11.9) има разгранет основен синџир, но поврзувањето во основниот синџир се остварува со помош на α 1-4 глукозидна врска. За основниот синџир се врзуваат странични, секундарни синџири, со помош на α 1-6 глукозидна врска. На секундарните синџири се надоврзуваат терцијарни поврзани со ист тип на врска.

Очигледно е дека помеѓу овие два полисахариди 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 глукозата е инертна и многу неактивна молекула. Енергијата на активација се обезбедува од АТР. Станува збор за соединение 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 глукозата учествуваат ензими од типот на хексокинази или гликокинази. За активација на секоја молекула на глукоза се троши по еден мол на АТР и се добива активирана молекула глукозо 6-фосфат.

Синтезата на екстраклеточните полисахариди се одвива во вонклеточна (вонбактериска) средина, каде што недостасува АТР. Тоа значи дека

изостанува можност за активација на молекулите на глукоза 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 глукоза 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.

$$\text{Сахароза} + H_2O \xrightarrow{\text{Хидролиза}} \text{Глукоза} + \text{Фруктоза} - 7\ \text{kcal/mol}$$

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

## Значење на екстраклеточните полисахариди

Декстранот е слабо растоворлив полисахарид кој придонесува за зголемување на волуменот на плакот. При оптимални услови на синтеза на екстраклеточните полисахариди плакот има сланинест изглед, благодарение токму на декстранот, бидејќи тој е доминантен и најзастапен 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 локал-

ната течност, отежнато е навлегувањето на саливарни бикарбонати значајни за пуферизацијата на оралната, но и за микросрединатa на плакот.

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

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 (α 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 интрабактериски-от 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 pH-вредност. Докажано е дека флуориди во ниска концентрација во плакот ефикасно ја намалуваат можноста за синтеза на интрабактерискиот полисахарид.

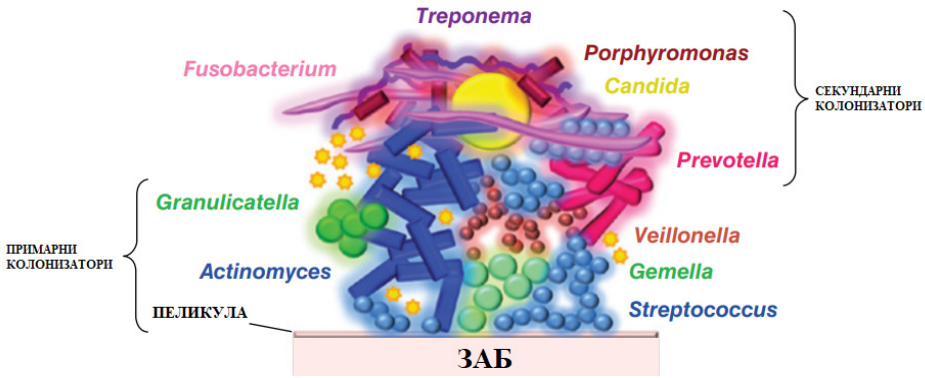
Според содржината на декстранот и леванот, како и според бројот и видот на бактериите, се разликуваат два типа на биофилм: незрел и зрел

биофилм. Незрелиот биофилм е тенка, со голо око невидлива наслага на забите, која се создава веднаш по миењето на забите (во текот на 24 часа). Се карактеризира со присуство на мал број на бактерии и протеини, а екстраклеточните полисахариди сè уште не започнале да се создаваат. Бидејќи не содржи декстран и леван, овој биофилм е тенок и порозен и присутни се многубројни меѓупростори во него. Заради неговата порозност, овозможена е дифузија на метаболити од биофилмот во плунката, како 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 дифунфира 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 дејствуваат алкализирачки. Благодарение на дифузионите способности на незрелиот биофилм не настанува долготрајно насобирање на метаболити ослободени од страна на бактериите. Така, pH во биофилмот не се разликува од pH на плунката (6,1-7,8). Кога вредноста на pH во биофилмот има ваква вредност, не доаѓа до растворање на кристалите на хидроксиапатитот (деминерализација). Критична вредност на pH во биофилмот при која започнува деминерализацијата е 5,5.

Зрелиот биофилм се создава од младиот, незрел биофилм кога бактериите започнуваат да синтетизираат екстраклеточни полисахаради: 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 штетно е насобирањето

на кисели бактериски метаболити кои предизвикуваат значително и дологтрајно намалување на вредноста на pH во биофилмот. Кога pH 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.




***Слика 11.10:*** *Модел за создавање на плакот - Примарните колонизатори се врзуваат за компонентите на стекнатата пеликула на површината на забот, како и помеѓу себе преку коатхезија/коагрегација. Со тоа се создава еден супслој со кого во интеракција можат да стапат секундарните колонизатори. Како што созрева плакот, продукцијата на екстрацелуларните полисахариди овозможува структурен интегритет и размена на молекули. Нутритивната адаптација, интермикробните сигнали (жолтите ѕвезди на сликата) и корисните/антагонистички интеракции, водат до формирање на посебни „микробни општества“ во плакот, што овозможуваат оптимални метаболички мрежи и заштита. На крајот се формира таква микробиолошка заедница којашто постои во еквилибриум со самиот домаќин.*

## 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 енергент-ските материите потребни за нивниот метаболизам ги искористуваат од локалната средина. Енергетските материи се биополимери по потекло од плунката или од гингивалната течност, но и од хранливите материи кои се внесуваат во оралната празнина. Токму хранливите материи претставуваат и најзначаен извор на енергетски материи 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 има пресудно значење за опстанокот на бактериите во биофилмот. Добиените моносахариди, при разградбата на полисахаридите и дисахаридите, во бактериската клетки 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 секојдневно се внесуваат во оралната празнина. Се разградува под дејство на бактериски-от ензим *β-амилаза*, кои што го разградува скробот до малтоза, изомалтоза и малтотриоза. Малтозата, внесена со исхраната или добиена при разградба на скробот, 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

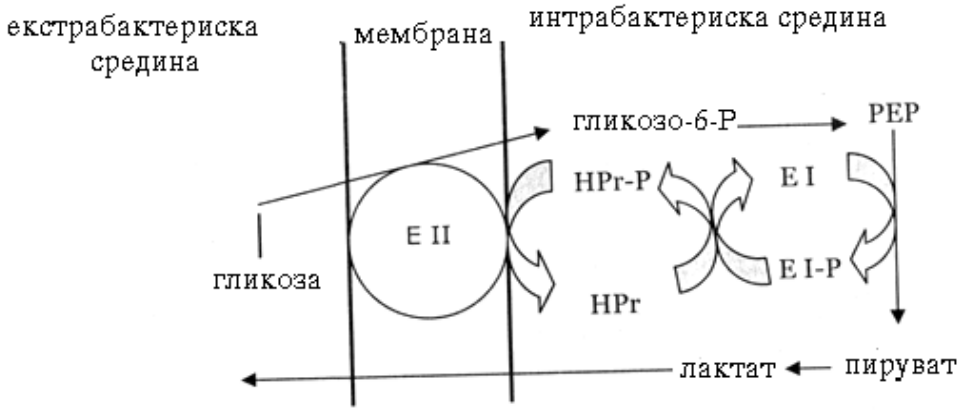
киселина се разградува под дејство на бактерискиот ензим *хијалуронидаза* до своите основни составни компоненти. Под дејство на споменатиот бактериски ензим се разградуваат структурните биохемиски компоненти на гингивата, што предизвикува појава на пародонтопатија.

Ходроитин-сулфатот е структурна компонента на цврстите ткива, пред сè на коските и на ‘рскавиците. Некои бактерии во биофилмот лачат ензим *хондроитин-сулфатаза*, којшто 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 карактеристички 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 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*, што е строго специфичен за одредени шеќери. Последниот ензим (мембранскиот ензим *II*) го катализира транспортот и фосфорилацијата на шеќерот 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 11.11).




***Слика 11.11:*** *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 сè уште доволно разјаснета. Тој се вклучува во транспортот на крајните продукти на разградба на полисахаридите во вонбактериска средина во услови кога на бактериската клетка ѝ недостасуваат шеќери за добивање на енергија.

Кога во бактериската средина на биофилмот има висока концентрација на шеќери, активноста на траспортнинот систем PEP-PTS е намалена. Тогаш шеќерите се транспортираат во внатрешноста на бактериите со помош на АТР-зависниот систем со учество на ензимот *глукозопермеаза*. 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 специфички 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 структурни 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 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. Поради ослободување на базни метаболити, вредноста на pH 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 pH-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 разновидни метаболички процеси. Овие процеси се многу слични на метаболичките процеси кои се одвиваат во клетките на човекот. Тоа се главно 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:

Синтеза и разградба на гликогенот (гликогеногенеза и гликогенолиза).

Разградба на глукозата (гликолиза).

Циклус на три карбонски киселини.

Оксидативна фосфорилација.

Хексозомонофосфатен пат.

Липогенеза.

Катаболизам на уреа.

Катаболизам на аминокиселини.

Синтеза на токсични амини.

Синтеза на аминокиселини.

Синтеза на пурини и пиримидини.

Синтеза на протеини.

### *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 антагонис-

тички 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 ѝ 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 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.

$$(\text{Глукоза})n + H_3PO_4 \xrightarrow[\text{Гликоген}]{\text{Гликоген фозфорилаза}} (\text{глукоза})n\text{-}1 + \text{глукозо-1-фосфат}$$

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

$$\text{Глукозо- 1-фосфат} \xrightarrow{\text{Фосфоглукомутаза}} \text{Глукозо-6-фосфат}$$

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 бактериски-от 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 започнува процесот на обновување и складирање на гликоген во бактериската клетка, односно започнува процесот на гликогеногенеза. И овој биохе-

миски процес е многу сличен со истоимениот процес што се случува во човековите клетки.

За да започне процесот на гликогенеза 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).

$$\text{Глукоза} + \text{ATP} \xrightarrow{\textit{Хексокиназа}} \text{Глукозо-6-фосфат} + \text{ADP}$$

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

$$\text{Глукозо-6-фосфат} \xrightarrow{\textit{Фосфогликомутаза}} \text{Глукозо-1-фосфат}$$

Уридинтрифосфатот (UTP) е коензим што се вклучува во гликогенезата, овозможувајќи го преносот и вградувањето на глукозата во гликогенската молекула. Притоа се добива уридиндифосфат (UDP-глукоза) и пирофосфат, а ензимот што учествува во оваа реакција е UDP-*глукозопирофосфорилаза*.

$$\text{Глукозо-1-фосфат} + \text{UDP} \xrightarrow{\textit{UDP-глукопирофозфорилаза}} \text{UDP-глукоза} + H_4P_2O_7$$

$$\text{UDP-глукоза} + (\text{Глукоза})n \xrightarrow[\text{Гликоген}]{\textit{Гликоген синтаза}} (\text{глукоза})n + 1 + \text{UDP-гликоген}$$

## *Катаболизам на глукоза (гликолиза)*

Гликолизата претставува основен катаболички процес со кој се разградува глукозата, но и останатите моносахариди, а се со цел добивање на енергија, потребна на бактериската клетка во биофилмот. Бактериите во

биофилмот ја разградуваат глукозата на два начина: оксидативен (аеробен) начин и ферментативен (анаеробен) начин. Двата начина на разградба на глукозата се одвиваат според метаболитичките процеси кои се разликуваат во текот на гликолизата според механизмот на продукција на АТР и според крајните метаболички продукти. Меѓутоа, првата фаза од разградбата на глукозата е идентична и за двата начина на гликолиза. Во првата фаза глукозата се разградува на две молекули на пируват. Понатамошната метаболичка судбина на пируватот зависи од типот на бактериите.

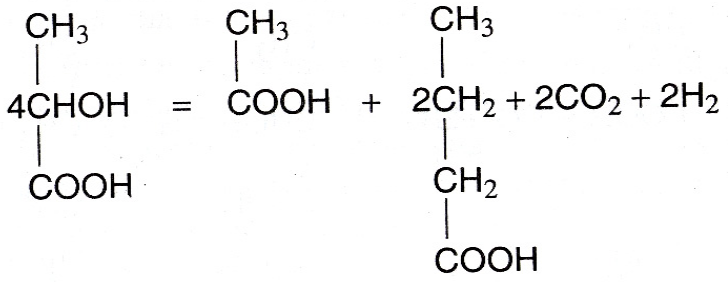
*Оксидативниот метаболизам* на глукозата се одвива кај анаеробните и факултативно анаеробните бактерии. Пируватот, кој е добиен при првата фаза на гликолиза, се преведува во ацетил-КоА. Создадениот ацетил-КоА се вклучува во циклусот на трикарбонските киселини и во потполност се разградува на $CO_2$ и $H_2O$. Во циклусот на трикарбонските киселини (кребсов циклус или циклус на лимонска киселина) се создаваат редуцирани коензими NADH + $H^+$ $FADH_2$ кои се реоксидираат (оддавајќи ги протоните и електроните) преку респираторниот синџир до $O_2$. 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, АТР се синтетизира по пат на оксидативна фосфорилација.

Кај бактериите кои што се обликатни анаероби се одвива другиот начин на разградба на шеќерите и тоа по пат на *ферментативен метаболиза*. 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 (АТР) се добива единствено со фосфорилација на ниво на супстратот. Поради тоа кај анаеробните бактерии во биофилмот гликолизата завршува со продукција на лактат. Имено, пируватот 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 + $H^+$ што се добива во една од реакциите на гликолизата (оксидација на глицерин алдехид-3-фосфат). Значи, редуцираниот NADH

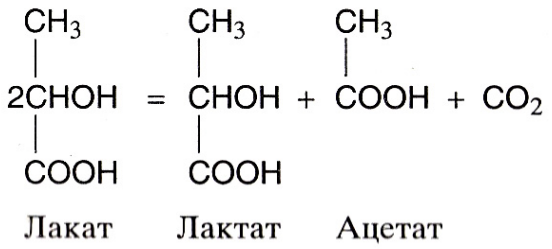
+ $H^+$ добиен во реакцијата на оксидација на глицерин алдехид-3-фосфат нема можност одземените водородни атоми и неговите електрони да ги предаде на респираторен синџир туку ги предава на друг супстрат. Тој друг супстрат е пируватот. Притоа, пируватот се редуцира со кататалитичко дејствување на ензимот *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 pH-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 дејствува 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 pH во биофилмот. На тој начин флуорот ја оневозможува деминерализацијата на емајлот на забот во кисела средина. Токму на ова, меѓу 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.

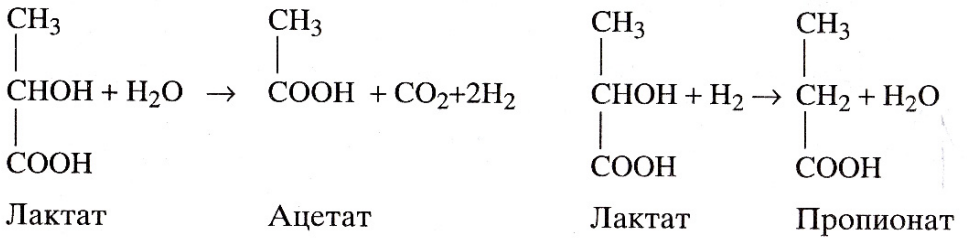
Некои бактерии во биофилмот (Clostridium, Veillonella) го продолжуваат катаболитичкиот процес на глукоза, разградувајќи го лактатот до ацетат, бутерит и пропионат.




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 pH. Овој микроорганизам има локално пуферско дејство во денталниот плак.




## *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 С-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 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 атипично се разградува до ацетат, $CO_2$ и $H_2$ (како што видовме во примерот со Clostridium).

Создадениот 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.

$$\text{Ацетат} + \text{ATP} \xrightarrow{\textit{Тиокиназа}} \text{Ацетил-CoA} + \text{AMP} + H_4P_2O_7$$

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.*

$$\text{Ацетил-CoA} + CO_2\ \text{ATP} \xrightarrow[\textit{Карбоксилаза}]{\textit{Ацетил-CoA}} \text{Малонил-CoA} + \text{ADP} + \text{P}$$

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).

$$7\ \text{Малонил-CoA} + 1\ \text{Ацетил-CoA} \xrightarrow{\text{С.С.П.К}} \text{Палмитил-CoA} + \text{CoA-SH}$$

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

Палмитил-CoA → Систем на елонгаза → Продолжени масни киселини

Палмитил-CoA → Систем на десатураза → Незаситени масни киселини

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.

## *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 метаболитичките 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 ($NH_3$) и една молекула на $CO_2$.

$$\begin{array}{l} NH_2 \\ | \\ C{=}O + H_2O \xrightarrow{\textit{Уреаза}} 2NH_3 + CO_2 \\ | \\ NH_2 \end{array}$$

Добиениот производ дејствува силно алкално бидејќи двете молекули на амонијак во воден раствор даваат база амониум-хидроксид ($NH_4OH$).

$$2NH_3 + 2H_2O \longrightarrow 2HN_4OH$$

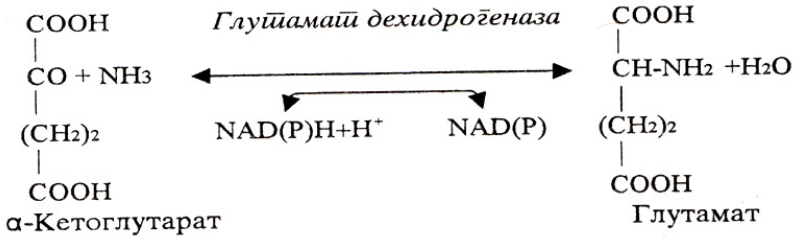
Ослободениот $CO_2$ не ја нарушува алкалната средина, бидејќи само еден мал дел од него реагира со вода градејќи слаба јаглеродна киселина.

$$CO_2 + 2H_2O \longrightarrow H_2CO_3$$

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.

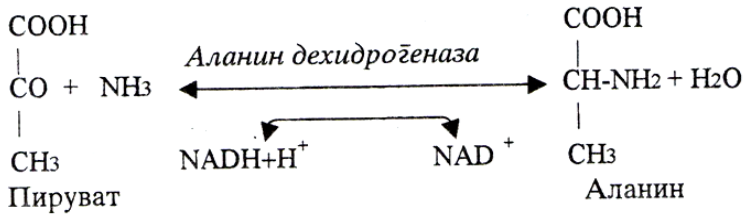
## *Синтеза на аминокиселини*

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

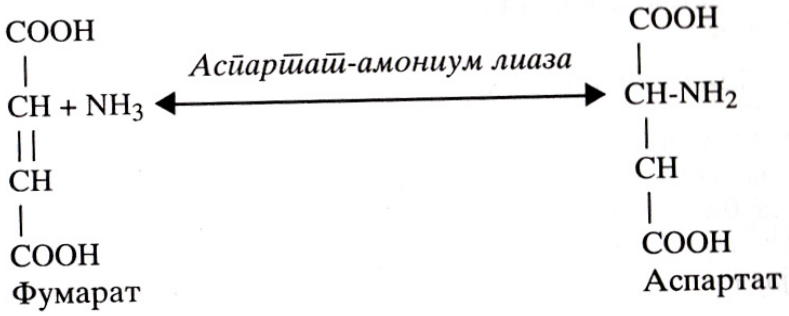



На тој начин со помош на редуктивна амонијација се отстранува силна кетокиселина и се добива нова амино киселина потребна за понатамошниот метаболизам на одделни микроорганизми во денталниот плак.

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




Со аминација на фумарната кетокиселина се синтетизира амино киселината аспартат (аспаргинска киселина) под дејство на ензимот *аспартат-амониум лиаза*.

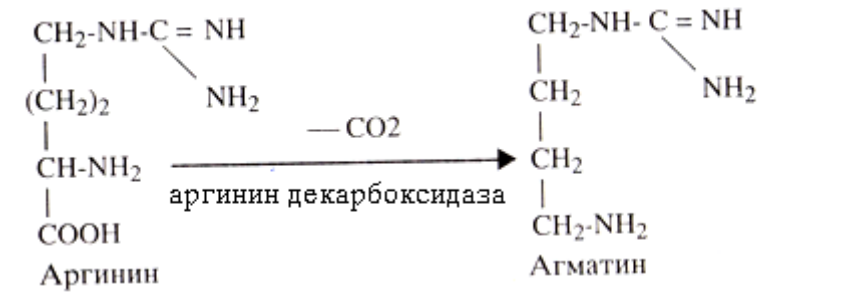



## *Синтеза на токсични амини*

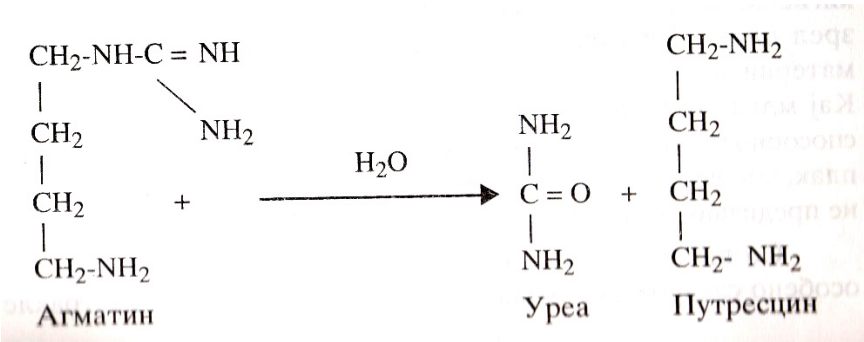
Синтезата на токсични амини е метаболичка активност што се одвива главно во биофилмот, што содржи бактерии кои ги разградуваат азотните материи, односно протеините. Овие бактерии поседуваат специфични ензими *протеинази* кои ги разградуваат протеините до аминокиселини. Протеините кои се разградуваат 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 аминоки-

селини кои имаат вишок на амино група во споредба со карбоксилната група. Нивното ослободување во биофилмот предизвикува алкализација или зголемување на вредноста на pH 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 pH на биофилмот.

Со декарбоксилација на аминокиселината аргинин се добива токсичниот амин агматин.




Со понатамошна разградба на агматинот се добива уреа и токсичен амин путресцин. Путресцинот, 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

Промените на pH кои се случуваат во микросредината на биофилмот имаат сериозно влијание врз појавата на двете најчести орални заболувања, пародонтопатијата и кариесот. Воедно, деталната анализа на промените на електрохемиската реакција во плакотовозможува да се разбере биохемиската основа на етиопатогенетските случувања кај овие орални заболувања. Затоа промената на pH на плакот ќе ја разгледаме преку двата концепта кои ја објаснуваат оваа материја: класичниот и концептот базиран на метаболичките продукти во биофилмот.

## Класичен концепт на промена на pH во биофилмот

Класичниот концепт, со кој се објаснуваат промените во микросредината на биофилмот, се базира на фазите на создавање на биофилмот и на видот на бактериите кои преовладуваат во него. Според овој концепт вредноста на електрохемиската реакција или pH во биофилмот зависи од два фактора:

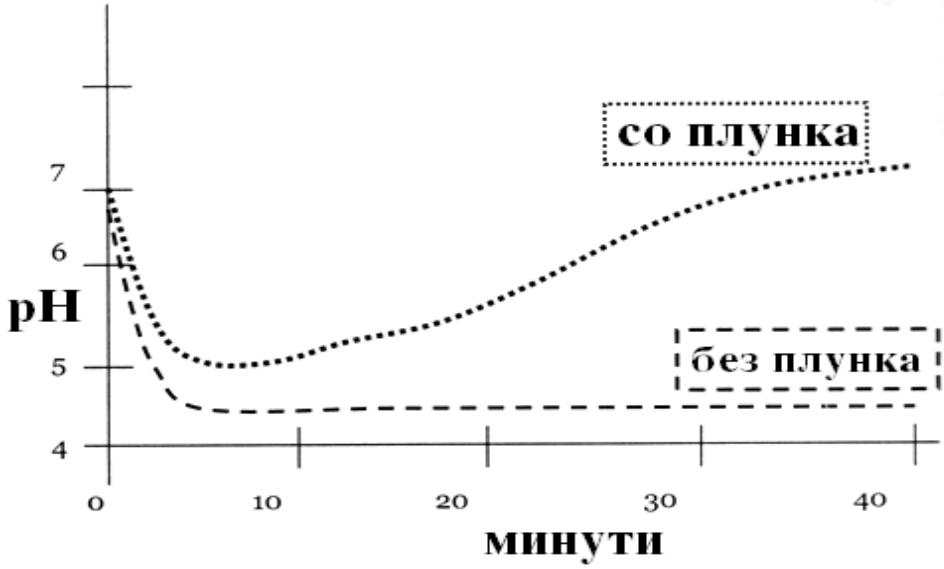
1. Дали биофилмот е зрел или незрел?
2. Дали во биофилмот преовладува катаболизам на азотни соединенија или катаболизам на јаглехидрати?

## 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 сè 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.

Ако бактериите во биофилмот доминантно ги разградуваат јаглехидрати 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 коригира. 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 до 60 минути по апликација на глукозата благодарение на саливарните бикарбонати кои дејствуваат во насока на алкализација. Графиконот кој ги покажува овие осцилации на вредноста на pH во биофилмот е наречен Стефанова-крива (Слика 11.12). Доколку се спречи протокот на плунката во оралната средина, ниските вредности на pH во биофилмот се задржуваат значително подолго.




***Слика 11.12:*** *Промени на pH во биофилмот после испирање на забите со 10 % раствор на глукоза 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 биофиилмот. Поради тоа вредноста на pH во биофилмот нема значително да се зголеми во споредба со вредноста на pH во плунката. Доколку пак дојде до зголемување на pH вредноста во биофилмот настанатата промена е краткотрајна.

## Зрел биофилм

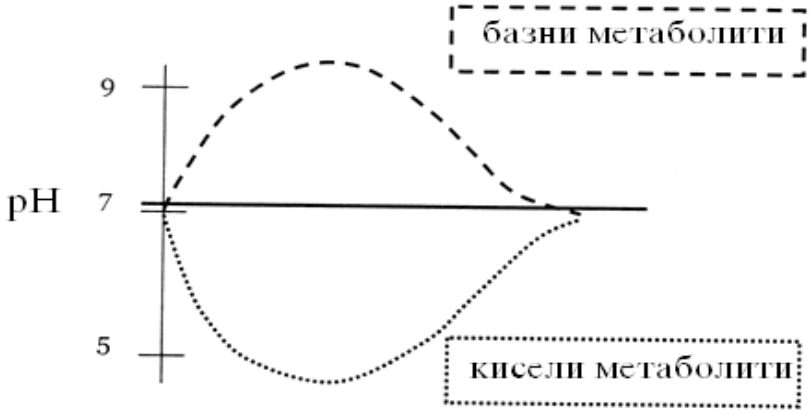
Зрелиот биофилм се создава од незрелиот биофилм и се карактеризира со присуство на екстраклеточни полисахариди. Овие полисахариди ги пополнуваат микропросторите помеѓу бактериите, дејствуваат цементирачки и го зголемуваат волуменот на наслагите на биофилмот. Поради тоа зрелиот биофилм е непорозен заради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

При катаболизмот на јаглехидрати се ослободуваат кисели метаболити (лактат и други кето-киселини) кои не можат 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 значителено и долготрајно намалување на вредноста на pH во биофилмот. Вредноста на pH 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 pH (до 9) во зрелиот биофилм. Вака зголемената вредност на pH поволно влијае на емајлот на забот, но штетно влијае на гингивата.

Во зрелиот биофилм промените на pH се значително поголеми во споредба со незрелиот биофилм. Овие промени се движат во границите од 5 до 9. Намалувањето или зголемувањето на вредноста на pH во

биофилмот секако зависи од тоа кои метаболити на бактериите се доминантно присутни (кисели или базни) (Слика 11.13).




***Слика 11.13:*** *Промени на pH во зрелиот биофилм во зависност од метаболичките активности на бактериите*

## Концепт на промена на pH во биофилмот базиран на составот на неговите метаболички продукти

Овој концепт не го негира објаснувањето на кое се базира класичниот концепт. Напротив, со него се прецизира и подетално се објаснува влијанието на различни метаболички продукти во денталниот биофил врз промената на електрохемиската реакција во него. Според овој концепт објаснувањето на намалување или зголемување на **pH** во биофилмот се темели на присуството на различни метаболички продукти во самиот биофилм.

Кога се разгледува промената на pH-вредноста на биофилмот (плакот), се употребуваат два различни поими за плакот во зависност од времето поминато по последната консумација на храна богата со јаглени хидрати. Поимот „заситен плак“ се однесува на плак кој е присутен на забите 2-2,5 часа по консумирање на храна богата со јаглени хидрати. Плакот, кој е присутен на забите 8-12 часа по консумирање на храна богата со јаглени хидрати, се нарекува „незаситен плак“. pH-вредноста на заситениот плак се движи во распон од 6-7, додека пак распонот на pH на незаситениот плак е од 7-8.

Заситениот плак содржи релативно големо количество на ацетат во споредба со содржината на лактат. Доминантни аминокиселини во плакот се глутаминската аминокиселина и пролинот. Исто така, во плакот со значителна концентрација е присутен и амонијакот. Поголемото присуството на ацетатот се должи на крајните продукти кои се ослободуваат при метаболизмот на аминокиселините и на јаглехидратите. Овие крајни продукти се присутни во поголемо количество во плакот, во споредба со нивното количество во плунката. Тие постојано се продуцираат при метаболизмот на интраклеточните и екстраклеточните бактериски јаглехидрати како и при метаболизмот на саливарните гликопротеини.

## *Намалување на pH-вредноста на плакот*

Постојат два значајни фактора кои влијаат на намалување на pH вредноста на плакот:

1. Присуство на егзогени брзоферментирачки јаглехидрати, особено сахароза
2. Нискиот пуферски капацитет на нестимулираната плунка

Намалувањето на pH вредноста на биофилмот е поврзано со поголемо производство, пред сè на **млечна киселина (лактат)**. Напоредно со зголемување на лактатот во плакот се намалува количеството на ацетат и на пропионат кои од плакот дифундираат во плунката. Овие случувања влијаат врз промената на pH во средината на плакот поради тоа што:

1. Киселините кои имаат повисоки вредности на pK имаат подобар пуферски капацитет
2. Ацетатот и пропионатот имаат многу повисока pK од лактатот (односно имаат подобар пуферски капацитет)
3. Се зголемува количеството на лактат, кој има ниска вредност на pK (односно има послаб пуферски капацитет).

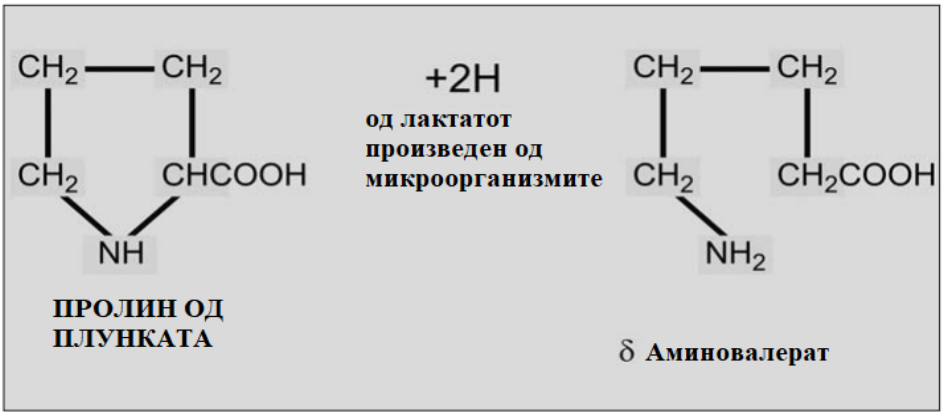
Кисеилините кои се со повисоки вредности на pK имаат подобар пуферски капацитет бидејќи ги апсорбираат водородните јони кои се ослободуваат со дисоцијација на киселините кои се со ниски pK вредности. Поради тоа, преминувањето на ацетатот (кој има подобар пуферски капацитет) од денталниот плак во плунката, дополнително предизвикува

намалување на pH во средината на плакот. Како што се намалува вредноста на pH на плакот, така се намалува и концентрацијата на аминокиселините и на амонијакот во плакот. Намалувањето на нивната концентрација се должи и на користење на азотните соединенија за анаболички процеси на бактериите.

## *Зголемување на вредностите на pH на плакот*

Факторите кои беа споменати претходно влијаат и врз зголемувањето на pH вредноста во биофилмот. Амонијакот е високоалкално соединение и може да ги неутрализира киселините во биофилмот. Ова соединение се создава со разградба на уреата и со деаминација на аминокиселините во плакот. Други базни соединенија во биофилмот се различни амини кои се добиваат со декарбоксилација на аминокиселините во биофилмот.

Глутаминската киселина е доминантна аминокиселина во плакот и е многу значајна бидејќи преставува амино-донор за синтеза на многу аминокиселини од други органски киселини (кето-киселини) во плакот. На тој начин се неутрализираат јаките органски киселини и се зголемува pH вредноста на плакот. Делта-аминовалеријанската киселина, која е присутна во плакот а се добива од аминокиселината пролин, е значајна за зголемување на pH-вредноста во плакот. Тоа е овозможено затоа што за нејзино создавање е потребно да се разгради лактатот (Слика 11.14).




***Слика 11.14:*** *Добивање на делта-аминовалеријанска киселина преку реакција на пролинот од плунката и водородни јони добени при разградба на лактатот*

Зголемување на pH вредноста, исто така, може да се должи и поради присуството на бактеријата Vellonela, која го продолжува метаболирањето на лактатот до ацетат и бутерит, киселини кои се послаби од лактатот.

# 12 БИОФИЛМОТ И ОРАЛНАТА ХОМЕОСТАЗА

## САЛИВАРЕН КЛИРЕНС И ОРАЛНА ХОМЕОСТАЗА

**Модели на саливарен клиренс**

***А. Модел на Swenander Lanke***

***Б. Модел на Dawes***

**Голтање**

**Клиренс на материи кои имаат можност да се поврзат со оралните структури**

***Флуориди***

***Хлорхексидин***

***Микроорганизми и епителни клетки***

**Фактори кои влијаат врз саливарниот клиренс**

***Волумен на плунка останат во оралната празнина после актот на голтање (резидуелен волумен)***

***Волумен на плунка присутен во устата непосредно пред актот на голтање (Vmax)***

***Лачење на нестимулирана плунка***

***Лачење на стимулирана плунка***

***Плунката како филм***

**Клиренс на одредени супстанции на различни орални површини**

***Јаглехидрати внесени преку исхраната***

## ШТЕТНИТЕ ЕФЕКТИ НА БИОФИЛМОТ ВРЗ ПАРОДОНТАЛНИТЕ ТКИВА

## ШТЕТНИТЕ ЕФЕКТИ НА БИОФИЛМОТ ВРЗ ЦВРСТИТЕ ЗАБНИ СУПСТАНЦИИ

### Калциумови соли во денталниот плак и нивното значење во процесите на деминерализација и реминерализација на забите

## МЕРКИ НА ПРЕВЕНЦИЈА НА ШТЕТНИТЕ ЕФЕКТИ НА БИОФИЛМОТ

### Метаболизам на флуор

# САЛИВАРЕН КЛИРЕНС И ОРАЛНА ХОМЕОСТАЗА

Согледувањето на разликите во саливарниот клиренс на јаглехидратите од исхраната, киселите метаболички плак-продукти и на тераписките средства (на пример, флуоридите) овозможува да се објасни различната подложност кон орални заболувања на различни индивидуи, како и појава на заболување на различни орални површини.

Секојдневно во оралната празнина се внесуваат голем број супстанции. Дел од нив, какви што се сахарозата и различни кисели продукти, можат да ги оштетат оралните ткива. Други пак супстанции, какви што се флуоридите, имаат позитивни ефекти за оралните ткива. Голем број од супстанциите се растворaат во плунката, од каде што можат да дифундираат во оралните ткива или пак да реагираат со нив. Свежо излачената плунка и актот на голтање ја намалуваат концентрацијата на егзогено внесените супстанции во оралната празнина. Овој процес се опишува како саливарен клиренс. За да стане појасно, во македонскиот јазик се користат повеќе синоними за поимот саливарен клиренс, како што се: промена на концентрацијата на определена супстанција во плунката, самочистење или отстранување на определени растворени честички (супстанции) во плунката од оралната празнина.

Брзиот саливарен клиренс, односно чистење на штетните супстанции, е погоден за оралното здравје. Но, брзиот клиренс е непогоден кога станува збор за протективните супстанции, бидејќи тие на тој начин за кратко време се елиминираат од оралната празнина.

# Модели на саливарен клиренс

## *А. Модел на Swenander Lanke*

Тоа е првиот едноставен, опишан модел за саливарен клиренс во средината на минатиот век. Според овој модел, растворената сахароза во плунка (волумен V), предизвикува иницијална концентрација на сахарозата во плунката ($C_0$). Стапката на излачена плунка е со определена константа (F), која е еднаква на плунката која се отстранува од устата со актот на голтање. Концентрацијата на сахарозата (Ct) после извесно време од лачењето на плунката се намалува, а може да се прикаже со следната формула: $Ct = C_0.e^{-Ft/V}$. Во експерименталните студии, логаритмот на концентрацијата на сахарозата во корелација со времето, прикажан на графикон, формира права линија. Правата линија означува дека од тој момент, иако поминува уште време, концентрацијата на сахароза во плунката не продолжува да се намалува. Линијата е права од моментот кога секрецијата на плунка повторно станува нестимулирана, бидејќи претходно дадениот раствор на сахараоза ја стимулирал секрецијата

## *Б. Модел на Dawes*

Според поновиот модел, процесот на голтање се споредува со функцијата на некомплетен сифон. По завршување на актот на голтање, во устата се задржува минимален волумен на плунка, наречен резидуелен волумен (преостанат). Плунката понатаму продолжува да се лачи во зависност од стимулацијата која сè уште постои од проголтаната супстанција. Но, кога ќе се намали густативната перцепција на супстанцијата или, пак, откако ќе се адаптираат рецепторите на дразбата, започнува нестимулирано лачење на плунка. На тој начин се постигнува максимален волумен на плунка во устата (Vmax). Со актот на џвакање се отстрануваат, се чистат одредени супстанции од оралната празнина. Заостанатите честички (растворени во резидуелниот волумен на плунка) прогресивно се раствораат во поголемо количество на плунка кое се лачи до постигнување на ниво од Vmax. Со овој модел се опишува самочистењето на растворените супстанции во плунката, а не се однесува на материите кои се атхерирани на оралните површини.

Според поновиот модел, процесот на голтање се споредува со функцијата на некомплетен сифон. По завршувањето на актот на голтање,

во устата се задржува минимален волумен на плунка, наречен резидуален (преостанат) волумен (Resid). Плунката (стимулирана плунка) понатаму продолжува да се лачи во количество кое зависи од стимулацијата, која сè уште постои од проголтаната супстанција. Поради ова, волуменот на плунката во устата постепено се зголемува, сè додека не го достигне својот максимум (Vmax). Максималниот волумен на плунка во устата (Vmax) го стимулира субјектот (испитаникот) да голтне, со што се прочистува дел од супстанцијата во оралната празнина. Остатокот од супстанцијата (растворен во резидуалниот волумен на плунка), прогресивно се раствора од плунката којашто постојано се лачи, сè додека повторно се достигне Vmax и повторно се стимулира актот на голтање. Кога супстанцијата ќе дојде до онаа концентрација при која веќе не ги надразнува густативните рецептори или, пак, доколку дошло до адаптирање на вкусот, тогаш престанува лачењето на стимулирана плунка, а плунката продолжува да се лачи како нестимулирана. Со помош на овој модел, со голема точност се опишува клиренсот на супстанции, вклучувајќи ја и сахарозата, кои не се врзуваат за оралните површини.

## Голтање

Актот на голтање е сложен нервномускуларен процес кој подразбира не само пренесување на храната од устата во дигестивниот тракт, туку и заштита на респираторниот тракт од аспирација на храна, течности и плунка.

Во устата, после џвакање на храната се одвива подготвителната фаза на голтањето на храната. Таа фаза вклучува создавање на болус од храна, кој е натопен со плунка, и негово позиционирање на дорзумот на јазикот. Понатаму, оралната фаза од голтањето, подразбира елевација на јазикот и трансфер на болусот до фаринксот. Редоследот на настаните во фарингеалната фаза од голтањето, во голема мера е под контрола на центарот за голтање, кој се наоѓа во понсот.

Механизмот на голтање на плунка, кога не се консумира храна и пијалак, најверојатно се должи на дразба на рецепторите на ларингсот со плунката која е присутна на задната третина на дорзумот на јазикот.

Дисфагија или отежнато голтање, може да се јави кај старите лица поради намалување на фината моторна контрола или, пак, поради некои заболувања, како што се Паркинсоновата болест, мултипла склероза, мозочен удар или траума.

## Клиренс на материи кои имаат можност да се поврзат со оралните структури

### *Флуориди*

За клиренсот на присутните флуориди во плунка *моделот на Dawes,* треба да се допрецизира, бидејќи по плакнење на устата со флуорни течности и пасти, неколку часа потоа концентрацијата на флуор во плунката е голема и таа претставува резервоар на флуор. Во раната фаза на клиренсот, кога концентрацијата на флуор во плунката е висока, тој дифундира во денталниот плак, се врзува за оралната мукоза (од каде што подоцна може повторно да се трансферира во плунката) или, пак, создава депозити на забите од калциум флуорид. Поради ова, самиот клиренс на флуоридите се одложува, а исто така клиренсот се одложува и поради формирањето на депозити од калциум флуорид на забите. Со постепено ослободување на флуорот од оралната мукоза и од депозитите на калциум флуорид, тој повторно се враќа во плунката и на тој начин се одржуваат високи концентрациите на флуорот. Поголемиот дел од флуорот, кој се проголтува, се ресорбира во дигестивниот тракт. Само мал дел (<0,2 %) од ресорбираниот флуор во крвта од дигестивниот тракт, по пат на ултрафилтрација низ ацинусните клетки на плунковните жлезди, се враќа во плунковниот секрет.

### *Хлорхексидин*

Хлорексидинот, внесен во форма на раствор, гел или лак, има ефект во намалување на создавањето на плакот. Поради тоа, хлорхексидинот позитивно влијае за превенција и на кариес и на пародонтопатија. За разлика од другите антимикробни сретства, хлорхексидинот има својство силно да се поврзува за оралните површини (и за забите и за епителните клетки на оралната мукоза). На тој начин неговата концентрација останува

повисока подолго време, поради што има одложени ефекти, но како резултат на тоа и неговиот клиренс е побавен.

### *Микроорганизми и епителни клетки*

Плунката која се излачува од жлездите е стерилна, но во вкупната мешана плунка се присутни $10^9$ бактерии на 1 ml плунка. За да опстанат бактериите во оралната празнина, тие треба да се припојат за оралните површини во текот на нестимулираната саливарна секреција. Клетките на оралниот епител постојано десквамираат. Утврдено е дека клетките од најповршниот епителен слој остануваат таму само 3 часа. Секоја епителна клетка која десквамира и влегува во состав на плунката, на себе има поврзано околу стотина бактерии. Така што, во плунката има трипати повеќе бактерии поврзани за епителните клетки отколку што има слободни бактерии. Повеќето од бактериите присутни во плунката потекнуваат од епителните клетки, отколку што потекнуват од забните површини. По применетата профилакса и последователно неодржување на оралната хигиена, количеството на плак на површината на забите ќе се зголемува сè додека не настане еквилибриум помеѓу бактериите кои од денталниот плак преминуваат во плунката и бактериите кои пролифери-раат во денталниот плак. Ваквиот саливарен клиренс овозможува полесно отстранување на бактериите и десквамираните епителни клетки од устата. Поради тоа, саливарниот клиренс игра важна улога во отстранувањето на бактерии и епителни клетки од устата, па затоа кај луѓе со хипосаливација ќе има поголемо количество на бактерии и епителни клетки во плунката. Количеството на излачена плунка во текот на сонот е многу мало, поради што и квантумот на бактерии и десквамирани епителни клетки се зголемува во устата во текот на ноќта. Халитозата во утринските часови е присутна токму поради тоа што епителните клетки содржат супстрат од кој грам-негативните бактерии произведуваат испарливи сулфурни гасови со непријатна миризба.

## Фактори кои влијаат врз саливарниот клиренс

Најважни фактори кои влијаат врз саливарниот клиренс се: резидуелниот и максималниот волумен на плунка, лачењето на нестимулирана и

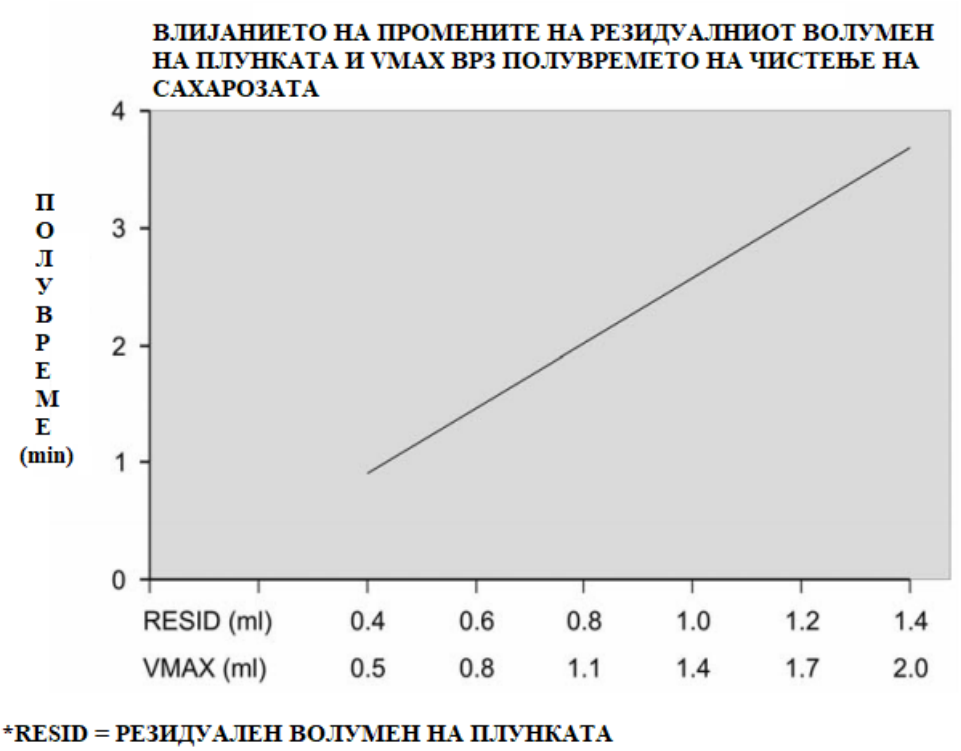
стимулирана плунка, како и степенот на поврзување за орални површини на супстанцијата што се чисти.

## *Волумен на плунка останат во оралната празнина после актот на голтање (резидуелен волумен)*

Во студијата, во која биле вклучени 40 здрави индивидуи, бил мерен резидуелниот волумен на плунка. Средната вредност изнесувала 0,8 ml, но постоела голема варијација на вредностите кај различни индивидуи. Распонот на варијациите се движел од 0,4 до 1,4 ml. Според моделот на *Dawes* овие варијации влијаат и на полувремето (на пример: време за кое ќе се намали половина од концентрацијата на саливарната сахароза) на клиренсот или намалувањето на определена супстанција од оралната празнина (Графикон 12.1). Утврдено е дека индивидуи кои многу побрзо голтаат и имаат помал резидуелен волумен, многу побрзо ќе ја отстранат (исчистат) определената супстанција.

## *Волумен на плунка присутен во устата непосредно пред актот на голтање (Vmax)*

Друга значајна варијабла која влијае врз саливарниот клиренс е волуменот на плунка присутен во устата непосредно пред да започне актот на голтање. Средна вредност на тој волумен изнесува 1,1 ml, но како и резидуелниот волумен и тој покажува распон на варијации (0,5-2,1 ml). Утврдено е дека индивидуи со поголем резидуален волумен имаат и поголем максимален волумен. Исто така, докажано е дека индивидуи кои имаат помало количество на максимален волумен пред актот на голтање, многу побрзо ги отстрануваат заостанатите честички од оралната празнина (Графикон 12.1).




***Графикон 12.1:*** *Компјутерска симулација од влијанието на промените во резидуалниот волумен после голтање (Resid) и максималниот волумен пред голтање (Vmax) врз полувремето на самочистење на сахарозата, по испирање на устата со 10 % сахароза. Полувремето на самочистење е времето потребно за концентрацијата на супстанцијата (во овој случај сахарозата) да се намали за половина.*

## *Лачење на нестимулирана плунка*

Количеството на излачена нестимулирана плунка изнесува помеѓу 0,3-0,4 ml/min. и покажува варијации помеѓу различни индивидуи. Количеството на излачена плунка влијае врз актот на голтање и на фреквенцијата на голтање. Според моделот на *Dawes,* помала стапка на нестимулирана саливарна секреција води кон одложено полувреме на клиренсот на сахарозата (Графикон 12.2). Со оглед на тоа што кај индивидуи со изразена хипосаливација, количеството на излачена нестимулирана плунка е под дозволениот минимум од 0,05 ml/min., клиренсот на јаглените хидрати е

многу бавен. Затоа тие индивидуи се многу почувствителни за појава на карис.

Важно е да се истакне дека иако две индивидуи имаат подеднаква стапка на нестимулирана саливарна секреција, можат да имаат различно полувреме на саливарниот клиренс, доколку едната од нив има ниско ниво на резидуелен и максимален волумен на плунка, а кај другата индивидуа овие две нивоа се повисоки.

***Графикон 12.2:*** *Компјутерска симулација од влијанието на промените во лачењето на нестимулираната плунка врз чистењето на сахарозата, по испирање на устата со 10 % сахароза. Симулацијата одреди просечни вредности за излачената нестимулирана плунка (0,32 ml/min.), Resid (0,8 ml), и Vmax (1,1 ml). Кривата покажува дека што е помало количеството на излачена плунка, толку се одложува и чистењето, односно клиренсот на супстанцијата (во овој случај сахарозата).*

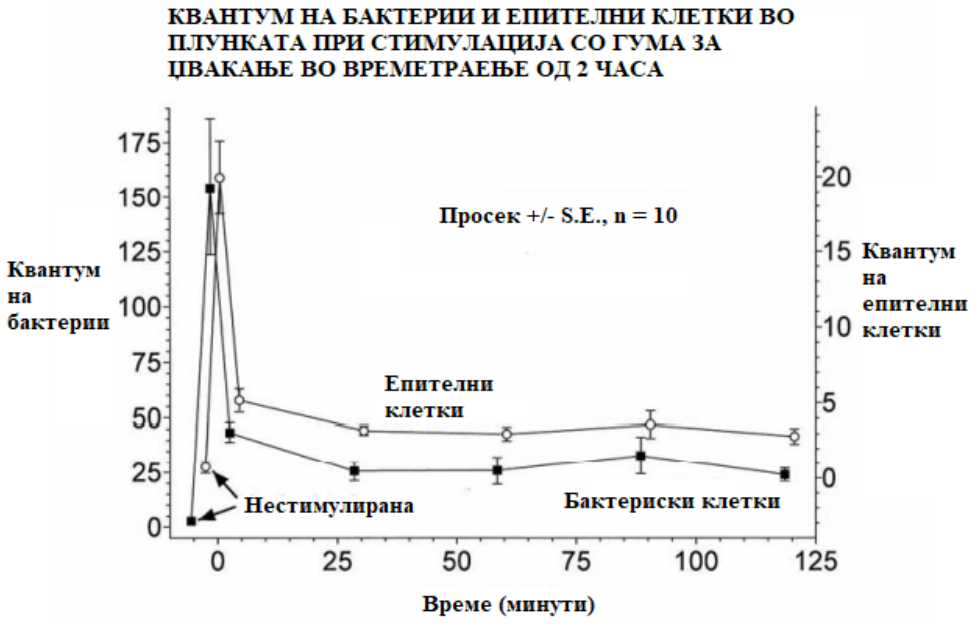
Голем број на саливарни антимикробни пептиди, при нормални вредности на резидуелен и максимален волумен на плунка и физиолошки вредности на излачена нестимулирана плунка, имаат ниско полувреме на саливарен клиренс (2,2 минути).

## *Лачење на стимулирана плунка*

Lagerlöf и соработниците преку компјутерски модел утврдиле дека стимулираната саливарна секреција може да има голем ефект на саливарниот клиренес на флуориди. Брзиот саливарен клиренс на сахарозата и флуорот, кој е предизвикан од стимулираното лачење на плунка, ја редуцира дифузијата на овие супстанции растворени во плунката. Поради тоа таблети на флуор, кои се користат за локална употреба во устата, не треба да содржат материи со кои ќе се дразнат рецепторите за вкус, што пак би предизвикало дополнителна саливарна секреција. Ваквите таблети треба бавно да се раствораат во плунката и по можност да не се џвакаат.

Спроведени се испитувања на квантумот на бактерии присутни во плунка при стимулација на лачењето на плунка со џвакање на парафински топчиња. Како што може да се види од графиконот 12.3, количеството на бактерии и на десквамирани епителни клетки значително се зголемува во првите неколку минути од џвакањето, а потоа опаѓа. Поради тоа е значајно да се обезбедат најсоодветни услови за контрола на секрецијата на плунка, при колекција на плунката за биохемиска анализа.

Употреба на гуми за џвакање, во првите минути предизвикува зголемување на лачењето за 12 пати, во споредба со лачењето на нестимулирана плунка. При продолжено џвакање на гумата, количеството на излачена плунка е 2-3 пати поголемо, во споредба со количеството на нестимулирана плунка. Изненадувачки е што употребата на гумата за џвакање во поголема мера не го зголемува мешањето на плунковниот секрет од различни плунковни жлезди, но зголеменото количество на излачена плунка го забрзува саливарниот клиренс.




***Графикон 12.3*** *– Квантумот на бактерии и епителни клетки во плунката по стимулација со гума за џвакање во времетраење од 2 часа.*

## *Плунката како филм*

Долго време оралните биолози сметаа дека денталниот плак е препокриен со плунката, при што составот на плунката со која е препокриен плакот останува константен, а се менува само количеството на излачената плунка. Но, докажано е дека плакот речиси постојано е препокриен со плунка во облик на многу тенок филм, чиј состав локално се менува при навлегување или напуштање на одредени материи во или надвор од плакот. Доколку просечниот волумен на плунка изнесува околу 1 ml, а површината на уста-та кај една возрасна индивидуа изнесува 200 $cm^2$, тогаш дебелината на плунковниот биофилм со кој се препокриени оралните површини изнесува 0,1 mm.

Потврдено е дека на различни површини во оралната празнина дебелината на плунковниот биофилм е различна и варира од 70 μm на задната третина на дорзумот на јазикот па сè до 10 μm на мукозата на предниот дел на тврдото непце. Кај пациентите кои се жалат дека нивната уста е многу сува (ксеростомија), резидуелниот волумен на плунка во

просек изнесува околу 71 % од нормалниот резидуелен волумен. Тоа укажува дека не е присутна комплетна сувост на устата, туку сувост на определени орални површини, како што се предниот дел на тврдото непце и предната третина на јазикот. При нестимулирана саливарна секреција настанува брзо менување на дебелината на саливарниот филм (0,8-8,0 mm/min.) на различни површини во устата. Екстремно ниската брзина на саливарниот проток има големо влијание на клиренсот на внесените јаглехидрати и топично (локално) аплицираните флуориди, но особено за клиренсот на киселите метаболички продукти кои се ослободуваат од плакот.

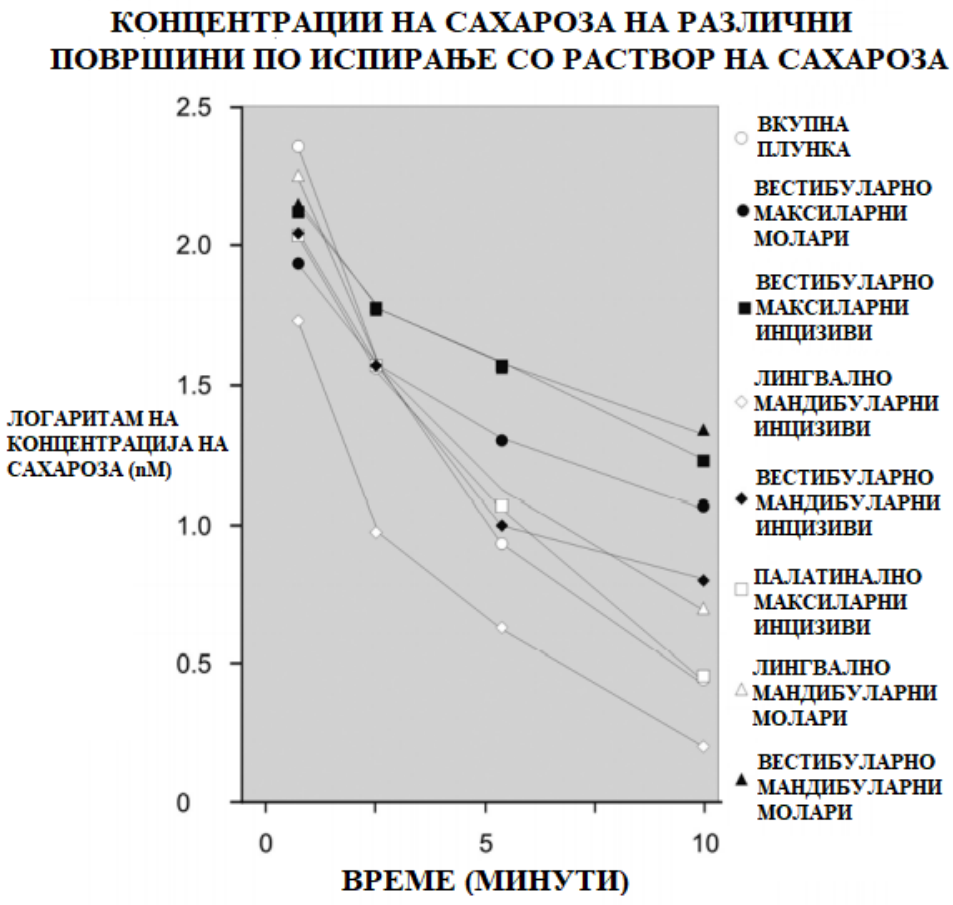
## Клиренс на одредени супстанции на различни орални површини

### *Јаглехидрати внесени преку исхраната*

Кариесот е предизвикан од деминерализирачките ефекти на органските киселини кои се создаваат во денталниот биофилм, при разградба на јаглените хидрати (особено сахарозата) под дејство на бактериите. На оралните површини каде што клиренсот е брз, мало количество од внесената сахароза може да навлезе во денталниот плак, поради што и ќе има помала можност да се создадат органски киселини. Докажано е дека сахарозата, внесена во различни форми, во оралната празнина нерамномерно се распределува и од различни орални површини различно се отстранува. Саливарниот клиренс е многу побрз на лингвалните отколку на букалните површини на забите, освен на букалните површини на горните молари каде што се лачи паротидната плунка. Изземајќи ги овие површини на горните молари, букалните површини на забите се многу изложени на екстремно вискозна плунка која потекнува од малите мукозни жлезди. Наспроти тоа, лингвалните површини на забите се најизложени на секретот на двете големи плунковни жлезди: субмандибуларната и сублингвалната.

На сликата 12.1 се прикажани средните вредности на клиренсот на сахарозата во вкупна плунка и на шест различни специфични орални

површини, после плакнењето на устата со 10 % р-р на сахароза кај десет различни индивидуи. Колку е поголема брзината на протокот на плунка во определена регија толку е помала иницијалната концентрација на сахарозата и побрз е нејзиниот саливарен клиренс. За споредба можат да се земат лингвалните површини на долните инцизиви и вестибуларните површини на долните молари. Просечната брзина на промената на саливарниот филм на лингвалната површина на предните заби е 8 mm/min., а на вестибуларните површини на моларите промената на саливарниот биофилм изнесува 1mm/min.




***Слика 12.1:*** *Концентрации на сахароза во плунката на различни површини по испирање со 10 % раствор на сахароза*

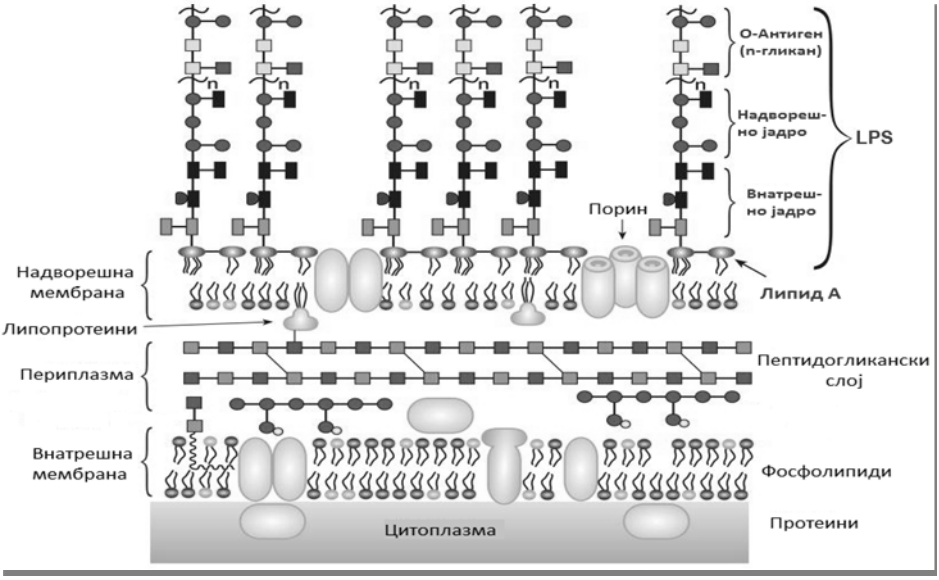
# ШТЕТНИТЕ ЕФЕКТИ НА БИОФИЛМОТ ВРЗ ПАРОДОНТАЛНИТЕ ТКИВА

Интензивната метаболичка активност во микросредината на биофилмот предизвикува ослободување на многубројни штетни метаболити, кои неповолно влијаат врз емајлот на забот, односно предизвикуваат негова деминерализација. Но, освен тоа метаболитите ослободени од биофилмот влијаат 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 12.2). Ендотоксините се составни компоненти на надворешната мембрана на некои бактерии во биофилмот. Ендотоксинот се состои од три компоненти:

- О-полисахариден синџир
- надворешно и внатрешно полисахаридно јадро
- хидрофобен липид А.




***Слика 12.2:*** *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-некросис-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 (MMP). Овој ензим првобитно се ослободува во неактивна форма и во овој облик не е во состојба да ги разградува екстраклеточните 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 матеболизмот на протеолитичките бактерии, амонијакот и токсичните амини.

# ШТЕТНИТЕ ЕФЕКТИ НА БИОФИЛМОТ ВРЗ ЦВРСТИТЕ ЗАБНИ СУПСТАНЦИИ

## Калциумови соли во денталниот плак и нивното значење во процесите на деминерализација и реминерализација на забите

Интензивните метаболни активности во денталниот 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 Ph-вредност, во насока на киселост. Токму оваа појава (особено доколку pH 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 другите 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 12.1.

**Табела 12.1:** Сооднос на калциум и фосфор кај одделни соли на калциум фосфат

| 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 | $Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot H_20$ | 1,33 |
| Трикалциумфосфат | $Ca_3(PO_4)_2$ | 1,50 |
| Хидроксиапатит | $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ | 1,66 |
| Алкален калциумфосфат | $(Ca_2PO_4OH) \cdot H_20$ | 2,00 |

Карактеристиките на калциумовите соли, освен што зависат од соодносот на калциумот и фосфорот, зависат и од pH на средината во која се наоѓа соодветната сол. Изложувањето на која било сол на калциум фосфат на дејство на некоја киселина ќе предизвика растворање на солта, односно создавање на друг вид сол со помал количник на Ca и $PO_4$. Создавањето на ваква сол настанува поради губење на калциумов јон кој преминува во околната средина. На тој начин се зголемува растворливоста на соодветната сол.

Спротивни ефекти се постигнуваат доколку на одредена сол се дејствува со база. Во тој случај се добива нов облик на сол која се карактеризира со намалена растоворливост. На овој начин создадената сол на калциум фосфат (под дејство на база) има поголем количник Ca/P, бидејќи базата предизвикува ослободување и губење на фосфатните јони.

Јасно произлегува дека pH 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 кој е во непосредна близина на денталниот плак. Во коскеното ткиво pH 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 pH на плакот има големи осцилации - од 5 до 9, а во некои ситуации и поголеми.

Намалувањето на локалната pH-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 дикалциумфосфат кој претставува сол со значително изменет и неповолен сооднос на калциум и фосфор:

$$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 8H \rightarrow 6\ CaHPO_4 + 2H_2O + 4Ca$$

Создадениот дикалциумфосфат се карактеризира со стабилност и нерастворливост во услови на неутрална pH средина. Меѓутоа, оваа сол има тенденција на постојана дисоцијација во услови дури и на сосема мала киселост поради што настанува губење на калциумови јони и практично губење на целата минерална содржина:

$$CaHPO_4 + H \rightarrow Ca + H_2PO_4$$

Почетната разградрба на хидроксиапатитот и неговото преминување во сол на дикалциумфосфат може привремено да има и заштитно дејство. Станува збор за $CaHPO_4$, 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 екстраклеточни полисахариди и се карактеризира со голема дифузна способност за метаболитите на плакот како и за саливарните бикарбонати, може да доведе до дисоцијација на $CaHPO_4$ и да предизвика прогредирачко губење на оваа заштитна покривка. Со целосно губење на $CaHPO_4$, 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 каде што хидроксиапатитот делумно е претворен во дикалциумфосфат, се создаваат услови за повторно создавање на хидроксиапатит. Притоа настанува ослободување и губење на дел од фосфатните јони според следната реакција:

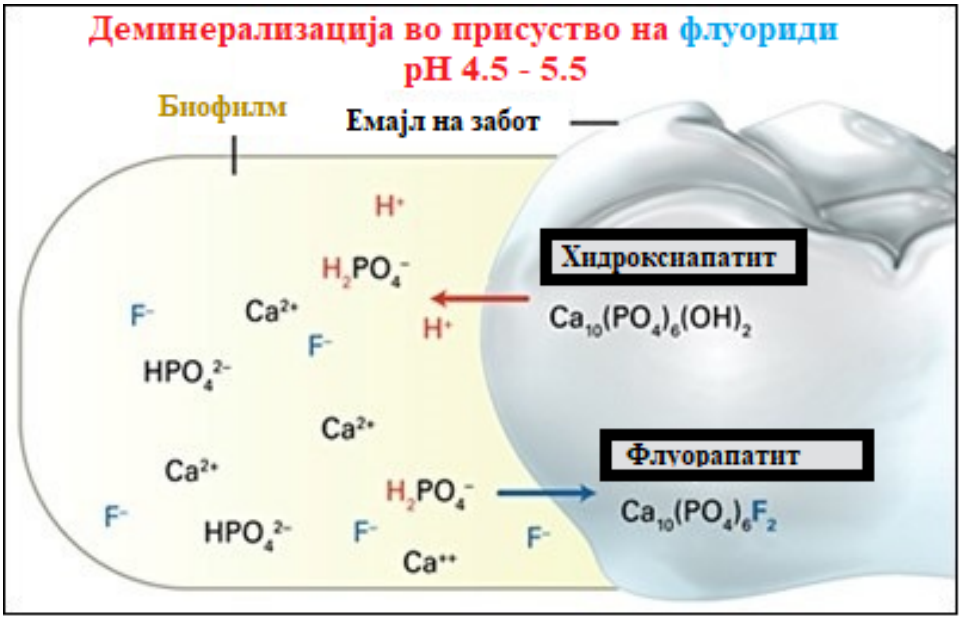
$$10CaHPO_4 + 8OH \rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 4HPO_4 + 6H_20$$

Бидејќи молекулата на хидроксиапатитот е изградена од 18 јони, и тоа: 10Ca + 6$PO_4$ + 2OH, 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 мера. Тоа е особено тешко да се очекува во сложените и крајно неповолните 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 $CaHPO_4$ потребно е да се обезбедат уште четири нови вакви молекули за да се добие потребен материјал за обновување на една молекула на хидроксиапатит $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Произлегува дека е потребен материјал од две молекули на хидроксиапатит за да се добијат вкупно 10$CaHPO_4$ и да се обнови една 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 кои не се реткост во стоматолошката пракса. Ваквите бели дамки на забите се забележуваат само како површини кои ја сменилe 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 губење на калциум, а потоа и на фосфат и создавање на нова сол на калциум и фосфор којашто има поголема растворливост.




***Слика 12.3:*** *Деминерализација на хидроксиапатитот при ниски вредности на pH, во присуство на флуориди*

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 која најчесто не е на задоволително ниво.

Бактериите кои 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) најпрвин 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:

$$\text{Сахароза} \xrightarrow[\text{Леван сахараза}]{\text{Декстран сахараза}} \text{Декстран} + n\ \text{Фруктози}$$

$$\text{Сахароза} \longrightarrow \text{Леван} + n\ \text{Глукози}$$

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:

$$\text{Сахароза} \xrightarrow[\text{Леван сахараза}]{\text{Декстран сахараза}} \text{Декстран} + \text{Леван}$$

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:

$$\text{Сахароза} + 7\ \text{kcal} \xrightarrow[\text{Леван сахараза}]{\text{Декстран сахараза}} \text{Декстран} + \text{Леван} - 1\ \text{kcal}$$

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 чии продукти штетно влијаат врз забите и врз пародонталните ткива.
3. Примена на флуориди. Станува збор за превентивно-тераписка мерка која 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 кои 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 желудниковиот 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 поголемо количество 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.

По 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 μmol/L и зависи од внесеното количество 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 биофолмот зависи од концентрацијата на флуорот во плунката и од pH-вредноста на плакот. Пониска концентрација на флуор се забележува во биофилм во којшто pH вредноста е пониска.

Повеќе од 99 % од вкупното количество 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 $Ca^{++}$. 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 (OH 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 кои 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 OH 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 количеството 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 коскеното 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 коскеното ткиво се зголемува. Флуорот не е иреверзибилно депониран во коскеното ткиво, што значи дека е можно неговото мобилизирање од овие депоа.

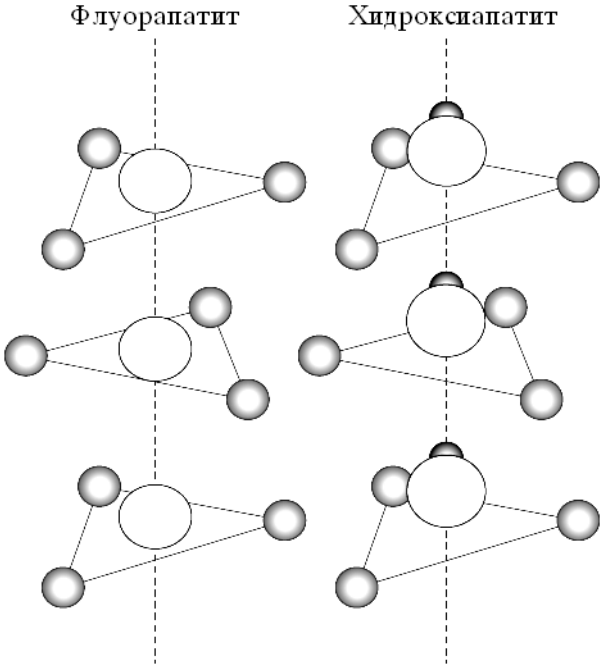
Концентрацијата на флуорот во меките ткива е помала од концентрацијата на овој елемент во крвната плазма, освен во бубрезите. За разлика од цврстите ткива, концентрацијата на флуорот во меките ткива не се зголемува со текот на годините, ниту пак зависи од експозицијата на организмот на овој елемент.

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 подлегнуваат на ремоделирање каков што е случајот со коските. Еднаш вграден флуор во забните ткива не може повеќе од нив да се ослободи. Концентрацијата на флуор во емајлот, е два пати поголема на неговите површински слоеви и постепено се смалува кон емајлодентинската граница. Во дентинот концентрацијата на флуор е поголема во споредба со неговата концентрација во емајлот. Најголема концентрација на флуорот во дентинот се регистрира во одонтобластичниот слој (веднаш над пулпа). Цементот содржи најголема концентрација на флуор, дури поголема и од коскеното 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 12.4). 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 дејствување.




***Слика 12.4:*** *Кристална структура на флуорапатитот е покомпактна од кристалната структура на хидроксиапатитот – дали останува или претходните ќе одат како графикони*

Во текот на локалната апликација (импрегнација на забите со флуоридни течности или примена на забни пасти со различна концентрација на флуор) се нанесуваат мали количества 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 12.5).

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.

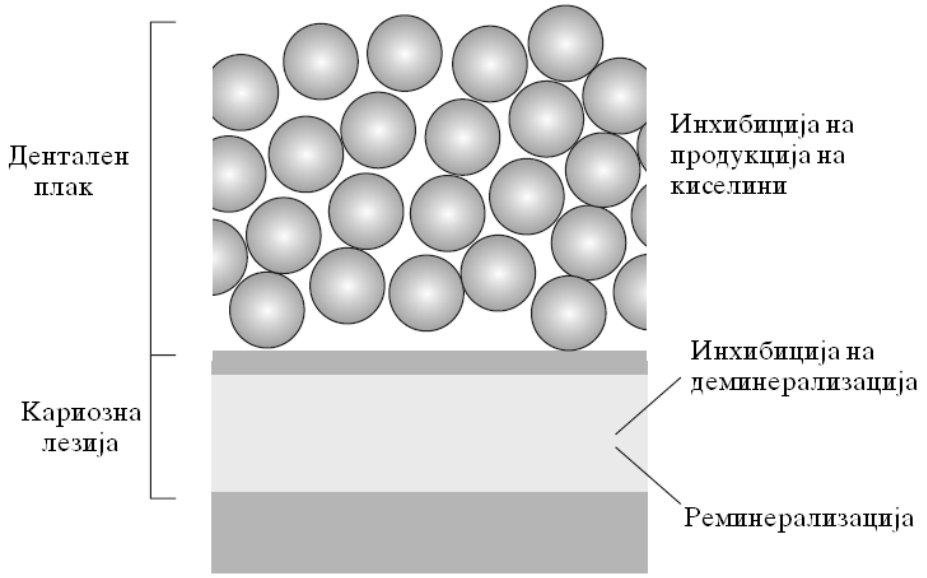
3. Со прекинување на глукозата се оневозможуваат многу метаболни активности, но она што е многу важно е дека се оневозможува обновувањето на АТР.

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, односни 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 приниципот на некомпетитивна инхибиција. Со инхибирање на овој ензим се нарушува метаболизот на азотните соединенија во бактериската клетка.




***Слика 12.5:*** *Механизам на дејствување 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 количества 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 губење на дел од минералната содржина на емајлот.
2. Со локалната апликација се одвива следната реакција на површината на емајлот:

$$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 2OF \rightarrow 10CaF_2 + 6PO_4 + H_2O$$

Ослободениот $CaF_2$ 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 pH вредноста во депото на $CaF_2$ 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 $CaF_2$, 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 $CaF_2$. Оваа молекула се таложи и создава препрека за понатамошна деминерализација со што се обезбедува преовладување на реминерализацијата што претставува тераписко 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-тераписки аспект.

# Литература


1. Ambudkar IS. Regulation of calcium in salivary gland secretion. Crit Rev Oral Biol Med 2000;11:4–25.
2. Andic j, Popovic V. Mehanizmi zastite oralne mukoze. Stom Glasnik Srbije 1987; 5:343
3. Andic J. Oralna homeostaza. Beograd: Nauka 1995
4. Andic J. Oralna homeostaza. Beograd: Nauka 2000
5. Andic J. Osnovi medicinske biohemije. Beograd: Nauka, 1994
6. Andic J. Osnovi oralne fiziologije i biohemije. Beograd: Naucna knjiga, 1981
7. Andic J. Osnovi oralne fiziologije i biohemije. Beograd: Naucna knjiga, 1990
8. Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, Newman HN, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. J Clin Periodontol 2002; 29(3): 189–94.
9. 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.
10. Baum BJ. Evaluation of stimulated parotid saliva flow rate in different age groups. J Dent Res 1981;60:1292–6.
11. 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.
12. Bolscher JGM, Nazmi K, Ran LJ, van Engelenburg FAC, Schuitemaker H, Veerman ECI, Nieuw Amerongen AV. Inhibition of HIV-1 IIIB and clinical isolates by human parotid, submandibular, sublingual and palatine saliva. Eur J Oral Sci 2002;110:149–56.
13. Centers for Disease Control and Prevention. Public health and aging: trends in aging—United States and worldwide. JAMA 2003;289:1371–3.
14. 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.
15. 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.
16. Dodds MWJ, Johnson DA, Yeh CK. Health benefits of saliva: a review. J Dent 2005;33:223–33.
17. Đorđević V, Pavlović D, Kocić G. Biochemistry of free radicals. 1st ed. Niš: Sirius Print; 2000.

18. Ghezzi EM, Ship JA. Aging and secretory reserve capacity of major salivary glands. J Dent Res 2003;82:844–8.
19. 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
20. Ivanovski ], Imunolo{ki status kaj zaboleni od rekurenten aftozen stomatit. (magisterski trud) Skopje 1993:8-19
21. Karincaoglu 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.
22. Kasai H and Augustine GJ. Cytosolic Ca2+ gradients triggering unidirectional fluid secretion from exocrine pancreas. Nature 1990;348:735–8.
23. 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.
24. Krsljak E. Oralna fiziologija. Beograd: Sluzbeni glasnik 2009
25. Levine M. Topic in dental biochemistry. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2011
26. Mandić B, Todorović T. Antioxidant status in oral cancer patients. Oral Oncology 2002; (8): 38–42.
27. 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.
28. Moore S, Calder KA, Miller NJ, Rice-Evans CA. Antioxidant activity of saliva and periodontal disease. Free Radic Res 1994; 21(6): 417–25.
29. 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.
30. 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.
31. Nakova M, Ivanovski K, Pe{evska S, Radojkova V. Mikrobiolo{ki i klini~ki efekti na Hibidex-DAP preparatot vo razvoj na plakot i gingivitite. Maked. Stomatol. Pregled 1997;21 (1-2):3-8
32. Nakova M, Ivanovski K, Pe{evska S. Osnovi na oralnata fiziologija i biohemija. Skopje, Stomatolo{ki fakultet 2002
33. Nakova M. Prilog kon poznavaweto na proteinite, jaglenohidratite i lipidite vo plazmata i plunkata od pacienti so parodontopatija. (magisterski trud) Skopje, 1976: 62-74
34. Nauntofte B. Regulation of electrolyte and fluid secretion in salivary acinar cells. Am J Physiol 1992;263:G823–37.
35. Nieuw Amerongen AV, Bolscher JGM, Veerman ECI. Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? Caries Res 2004;38:247–53.
36. Nieuw Amerongen AV, Veerman ECI. Saliva—the defender of the oral cavity. Oral Dis 2002;8:12–22.
37. 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
38. 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.
39. Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. Clin Chim Acta 2004; 343(1–2): 1–16.
40. Park K, Evans RL, Watson GE, et al. Defective fluid secretion and NaCl absorption in the parotid glands of Na+/H+ exchanger-deficient mice. J Biol Chem 2001;276:27042–50.
41. Pavlica D, Todorović T. Saliva – diagnostic fluid? Stom Glas S 2001; (48): 137–41.

42. 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.

43. Reznick AZ, Klein I, Eiserich JP, Cross CE, Nagler RM. Inhibition of oral peroxidase activity by cigarette

44. 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.

45. Romanenko VG, Nakamoto T, Srivastava A, Begenisich T, Melvin JE. Regulation of membrane potential and fluid secretion by Ca2+-activated K channels in mouse submandibular glands. J Physiol 2007;581:801–17.

46. 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.

47. Ruttiger L, Sausbier M, Zimmermann U, et al. Deletion of the Ca2+- activated potassium (BK) alpha-subunit but not the BKbeta1-subunit leads to progressive hearing loss. Proc Natl Acad Sci USA 2004;101:12922–7.

48. Sausbier M, Hu H, Arntz C, et al. Cerebellar ataxia and Purkinje cell dysfunction caused by Ca2+-activated K+ channel deficiency. Proc Natl Acad Sci U S A 2004;101:9474–8.

49. 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.

50. 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.

51. Sculley DV, Langley-Evans SC. Salivary antioxidants and periodontal disease status. Proc Nutr Soc 2002; 61(1): 137–43.

52. Ship JA, Baum BJ. Is reduced salivary flow normal in old people? Lancet 1990;336:1507.

53. Ship JA, Nolan NE, Puckett SA. Longitudinal analysis of parotid and submandibular salivary flow rates in healthy, different-aged adults. J GerontolA Biol Sci Med Sci 1995;50:M285–9.

54. Tabak LA. In defense of the oral cavity: structure, biosynthesis, and function of salivary mucins. Annu Rev Physiol 1995;57:547–64.

55. Tenovuo J, Grahn E, Lehtonen OP, Hyppe T, Karhuvaara L, Vilja P. Antimicrobial factors in saliva: ontogeny and relation to oral health. J Dent Res 1987;66:475–79.

56. 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

57. Todorovic T, Dozic I (et al.). Beograd: Sluzbeni glasnik 2009

58. 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.

59. Todorović T, Ljušković B, Jović P, Pejović J. Salivary enzymes – possible biochemical markres of periodontal disease. Stom Glas S 1999; (46): 7–14.

60. Todorovic T. Oralna biohemija. Beograd: Cigoja 2006

61. Tojyo Y, Tanimura A, Nezu A, Morita T. Possible mechanisms regulating ATP- and thimerosal-induced Ca2+ oscillations in the HSY salivary duct cell line. Biochim Biophys Acta 2001;1539:114–21.

62. Turner RJ. Mechanisms of fluid secretion by salivary glands. AnnNY Acad Sci 1993;694:24–35.

63. Veerman ECI, Bank CMC, Namavar F, Appelmelk BJ, Bolscher JGM, Nieuw AmerongenAV. Sulfated glycans on oral mucin as receptors for Helicobacter pylori. Glycobiology 1997;7:737–43.

64. 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.

65. 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.

66. Wong DT. Salivary diagnostics powered by nanotechnologies, proteomics, and genomics. J Am Dent Assoc 2006;137(3):313–21.

67. 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.

68. 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.

69. Crossner CG. Salivary flow in children and adolescents. Swed Dent J 1984; 8: 271-276.

70. Dawes C, Dong C. The flow rate and electrolyte composition of whole saliva elicited by the use of sucrose-containing and sugar-free chewing-gums. Arch Oral Biol 1995; 40: 699-705.

71. Gow BS. Analysis of metals in saliva by atomic absorption spectroscopy. II. Magnesium. J Dent Res 1965; 44: 890-894.

72. Jalil RA, Ashley FP, Wilson RF, Wagaiyu EG. Concentrations of thiocyanate, hypothiocyanite, 'free' and 'total' lysozyme, lactoferrin and secretory IgA in resting and stimulated whole saliva of children aged 12-14 years and the relationship with plaque and gingivitis. J Periodont Res 1993; 28: 130-136.

73. Tenovuo J, Makinen KK. Concentration of thiocyanate and ionisable iodine in saliva ofvsmokers and non-smokers. J Dent Res 1976; 55: 661-663.

74. Bruun C, Thylstrup A. Fluoride in whole saliva and dental caries experience in areas with high or low concentrations of fluoride in the drinking water. Caries Res 1984; 18: 450-456.

75. Eakle WS, Featherstone JDB, Weintraub JA, Shain SG, Gansky SA. Salivary fluoride levels following application of fluoride varnish or fluoride rinse. Comm Dent Oral Epidemiol 2004; 32: 462-469.

76. Rayment SA, Liu B, Soares RV, Offner GD, Oppenheim FG, Troxler RF. The effects of duration and intensity of stimulation on total protein and mucin concentrations in resting and stimulated whole saliva. J Dent Res 2001; 80: 1584-1587.

77. Gandara BK, Izutsu KT, Truelove EL, Mandel ID, Sommers EE, Ensign WY. Sialochemistry of whole, parotid, and labial minor gland saliva in patients with lichen planus. J Dent Res 1987; 66: 1619-1622.

78. Contucci AM, Inzitari R, Agostino S, Vitali A, Fiorita A, Cabras T, Scarano E, Messana I. Statherin levels in saliva of patients with precancerous and cancerous lesions of the oral cavity: a preliminary report. Oral Diseases 2005; 11: 95-99.

79. Jurysta C, Bulur N, Oguzhan B, Satman I, Yilmaz TM, Malaisse WJ, Sener A. Salivary glucose concentration and excretion in normal and diabetic subjects. J Biomed Biotechnol Article ID 430426.Epub May 26 2009.

80. Brasser AJ, Barwacz CA, Dawson DV, Brogden KA, Drake DR, Wertz PW. Presence of wax esters and squalene in human saliva. Arch Oral Biol 2011; 56: 588-591.

81. Larsson B, Olivecrona G, Ericson T. Lipids in human saliva. Arch Oral Biol 1996; 41: 105-110.

82. Liappis N, Hildenbrand G. Freie Aminosäuren im Gesamptspeichel gesunder Kinder Einfluss von Karies. Zahn Mund Kieferheilkd 1982 70: 829-835.

83. Syrjänen SM, Alakuijala L, Alakuijala P, Markkanen SO, Markkanen H. Free amino acid levels in oral fluids of normal subjects and patients with periodontal disease. Arch Oral Biol 1990; 35: 189-193.

84. Macpherson LMD, Dawes C. Urea concentration in minor mucous gland secretions and the effect of salivary film velocity on urea metabolism by Streptococcus vestibularis in an artificial plaque. J Periodont Res 1991; 26: 395-401.

85. Evans MW. The ammonia and inorganic phosphorus content of the saliva in relation to diet and dental caries. Aust J Dent 1951 55: 264-270.

86. Huizenga JR, Vissink A, Kuipers EJ, Gips CH. Helicobacter pylori & ammonia concentrations of whole, parotid and submandibular/sublingual saliva. Clin Oral Invest 1999; 3: 84-87.

87. Hector MP, Linden RWA. Reflexes of salivary secretion. In: Neural Mechanisms of Salivary Gland Secretion, Garrett JR, Ekström J, Anderson LC, Eds. 1999, Karger: Basel. p. 196–217.

88. Melvin JE, Yule D, Shuttleworth T, Begenisich T. Regulation of fluid and electrolyte secretion in salivary gland acinar cells. Ann Rev Physiol 2005; 67: 445-469.

89. Rodbell M. Nobel Lecture. Signal transduction: evolution of an idea. Biosci Rep 1995; 15: 117-133.

90. Oldham WM, Hamm HE. Heterotrimeric G protein activation by G-protein-coupled receptors. Nat Rev Mol Cell Biol 2008; 9: 60-71.

91. Gloerich M, Bos JL. Epac: defining a new mechanism for cAMP action. Ann Rev Pharmacol Toxicol 2010; 50: 355-375.

92. Bossis I, Stratakis CA. Minireview: PRKAR1A: normal and abnormal functions. Endocrinology 2004; 145: 5452-5458.

93. Seino S, Shibasaki T. PKA-dependent and PKA-independent pathways for cAMP-regulated exocytosis. Physiol Rev 2005; 85: 1303-1342.

94. Bender AT, Beavo JA, Cyclic nucleotide phosphodiesterases: molecular regulation to clinical use. Pharmacol Rev 2006; 58: 488-520.

95. Petersen OH, Tepikin AV. Polarized calcium signaling in exocrine gland cells. Ann Rev Physiol 2008; 70: 273-299.

96. Dawson A. IP(3) receptors. Curr Biol 2003; 13: R424.

97. Galione A, Churchill GC. Interactions between calcium release pathways: multiplemessengers and multiple stores. Cell Calcium 2002; 32: 343-354.

98. Harmer AR, Gallacher DV, Smith PM. Role of Ins(1,4,5)P3, cADP-ribose and nicotinic acid - adenine dinucleotide phosphate in Ca2+ signalling in mouse submandibular acinar cells. Biochem J 2001; 353: 555-560.

99. Putney JW, Bird GS. Regulation of calcium entry in exocrine gland cells and other epithelial cells. J Med Invest 2009; 56: 362-367.

100. Liou J, Kim ML, Heo WD, Jones JT, Myers JW, Ferrell Jr JE, Meyer T. STIM is a Ca2+ sensor essential for Ca2+-store-depletion-triggered Ca2+ influx. Curr Biol 2005; 15: 1235-1541.

101. Feske S, Gwack Y, Prakriya M, Srikanth S, Puppel SH, Tanasa B, Hogan PG, Lewis RS, Daly M, Rao A. A mutation in Orai1 causes immune deficiency by abrogating CRAC channel function. Nature 2006; 441: 179-185.

102. Lewis RS. The molecular choreography of a store-operated calcium channel. Nature 2007; 446: 284-287.

103. Soboloff J, Spassova MA, Tang XD, Hewavitharana T, Xu W, Gill DL. Orai1 and STIM reconstitute store-operated calcium channel function. J Biol Chem 2006; 281: 20661-20665.

104. Garrett JR. Effects of Autonomic Nerve Stimulations on Salivary Parenchyma and Protein Secretion. In: Neural Mechanisms of Salivary Gland Secretion. Garrett JR, Ekström J, Anderson LC, Eds. 1999, Karger: Basel. pp. 59-79.

105. Turner RJ, Sugiya H. Understanding salivary fluid and protein secretion. Oral Dis 2002; 8: 3-11.

106. Fujita-Yoshigaki J. Divergence and convergence in regulated exocytosis: the characteristics of cAMP-dependent enzyme secretion of parotid salivary acinar cells. Cell Signal 1998. 10: 371-375.

107. Shimomura H, Imai A, Nashida T. Evidence for the involvement of cAMP-GEF (Epac) pathway in amylase release from the rat parotid gland. Arch Biochem Biophys 2004; 431: 124-128.

108. Proctor GB, Garrett JR, Carpenter GH, Ebersole LE. Salivary secretion of immunoglobulin A by submandibular glands in response to autonomimetic infusions in anaesthetised rats. J Neuroimmunol 2003; 136: 17-24.

109. Thaysen JH, Thorn NA, Schwartz IL. Excretion of sodium, potassium, chloride and carbon dioxide in human parotid saliva. Am J Physiol 1954; 178: 155-159.

110. Peng JB, Brown EM, Hediger MA. Epithelial Ca2+ entry channels: transcellular Ca2+ transport and beyond. J Physiol 2003; 551: 729-740.

111. Harmer AR, Gallacher DV, Smith PM. Correlations between the functional integrity of the endoplasmic reticulum and polarized Ca2+ signalling in mouse lacrimal acinar cells: a role for inositol 1, 3, 4, 5-tetrakisphosphate. Biochem J 2002; 367: 137-143.

112. Petersen OH. Localization and regulation of Ca2+ entry and exit pathways in exocrine gland cells. Cell Calcium 2003; 33: 337-344.

113. Homann V, Rosin-Steiner S, Stratmann T, Arnold WH, Gaengler P, Kinne RKH. Sodiumphosphate cotransporter in human salivary glands: molecular evidence for the involvement of NPT2b in acinar phosphate secretion and ductal phosphate reabsorption. Arch Oral Biol 2005; 50: 759-768.

114. Loo DD, Wright EM, Zeuthen T. Water pumps. J Physiol 2002; 542: 53-60.

115. Agre P, King LS, Yasui M, Guggino WB, Ottersen OP, Fujiyoshi Y, Engel A, Nielsen S. Aquaporin water channels--from atomic structure to clinical medicine. J Physiol 2002; 542: 3-16.

116. Song Y, Verkman AS. Aquaporin-5 dependent fluid secretion in airway submucosal glands. J Biol Chem 2001; 276: 41288-41292.

117. Thorn P, Lawrie AM, Smith PM, Gallacher DV, Petersen OH. Ca2+ oscillations in pancreatic acinar cells: spatiotemporal relationships and functional implications. Cell Calcium 1993; 14: 746-757.

118. Marty A. Calcium release and internal calcium regulation in acinar cells of exocrine glands. J Membr Biol 1991; 124: 189-197.

119. Dawson LJ, Christmas SE, Smith PM. An investigation of interactions between the immune system and stimulus-secretion coupling in mouse submandibular acinar cells. A possible mechanism to account for reduced salivary flow rates associated with the onset of Sjögren's syndrome. Rheumatology 2000; 39: 1226-1233.

120. Caulfield VL, Balmer C, Dawson LJ, Smith PM. A role for nitric oxide-mediated glandular hypofunction in a non-apoptotic model for Sjögren's syndrome. Rheumatology 2009; 48: 727-733

121. Dawes C. How much saliva is enough for avoidance of xerostomia? Caries Res 2004; 38: 236-240.

122. Dawes C. Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance, and the sensation of dry mouth in man. J Dent Res 1987; 66: 648-653.

123. awes C. Rhythms in salivary flow rate and composition. Int J Chronobiol 1974; 2: 253-279.

124. Watanabe S, Dawes C. The effects of different foods and concentrations of citric acid on the flow rate of whole saliva in man. Arch Oral Biol 1988; 33: 1-5.

125. Dawes C. The effects of flow rate and duration of stimulation on the concentrations of protein and the main electrolytes in human parotid saliva. Arch Oral Biol 1969; 14: 277-294.

126. Ono K, Morimoto Y, Inoue H, Masuda W, Tanaka T, Inenaga K. Relationship of the unstimulated whole saliva flow rate and salivary gland size estimated by magnetic resonance image in healthy young humans. Arch Oral Biol 2006, 51: 345-349.

127. Simons D, Brailsford SR, Kidd EAM, Beighton D. The effect of medicated chewing gums on oral health in frail older people: a 1-year clinical trial. J Am Geriatrics Soc 2002; 50: 1348-1353.

128. Jensen SB, Pedersen AM, Vissink A, Andersen E, Brown CG, Davies AN, et al.A systematic review of salivary gland hypofunction and xerostomia induced by cancer therapies: management strategies and economic impact. Support Care Cancer 2010; 18: 1061-1079.

129. Jensen SB, Pedersen AM, Vissink A, Andersen E, Brown CG, Davies AN, et al. A systematic review of salivary gland hypofunction and xerostomia induced by cancer therapies: prevalence, severity and impact on quality of life. Support Care Cancer 2010; 18: 1039-1060.

130. Thomson WM, Chalmers JM, Spencer AJ, Ketabi M. The occurrence of xerostomia and salivary gland hypofunction in a population-based sample of older South Australians. Spec Care Dent 1999; 19: 20-23.

131. Norman JE, Mitchell RD. Unusual conditions of the major and minor salivary glands. Int J Oral Maxillofac Surg 1998; 27: 157-172.

132. Nagler RM, Laufer D. Tumors of the major and minor salivary glands: review of 25 years of experience. Anticancer Res 1997; 17: 701-707.

133. Fox RI, Stern M, Michelson P. Update in Sjögren syndrome. Curr Opin Rheumatol 2000; 12: 391-398.

134. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. Ann Rheum Dis 2002; 61: 554-558.

135. 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-M289.
Atkinson JC, Wu A. Salivary gland dysfunction: causes, symptoms, treatment. J Am Dent Assoc 1994; 125: 409-416.

136. Sreebny LM, Schwartz SS. A reference guide to drugs and dry mouth-2nd edition. Gerodontology 1997; 14: 33-47.

137. Ghezzi EM, Ship JA. Aging and secretory reserve capacity of major salivary glands. J Dent Res 2003; 82: 844-848.

138. Smith RG, Burtner AP. Oral side-effects of the most frequently prescribed drugs. Spec Care Dent 1994; 14: 96-102.

139. Henson BS, Eisbruch A, D'Hondt E, Ship JA. Two-year longitudinal study of parotid salivary flow rates in head and neck cancer patients receiving unilateral neck parotid-sparing radiotherapy treatment. Oral Oncol 1999; 35: 234-241.

140. Eisbruch A, Ten Haken RK, Kim HM, Marsh LH, Ship JA. Dose, volume, and function relationships in parotid salivary glands following conformal and intensity modulated irradiation of head and neck cancer. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1999; 45: 577-587.

141. Dawes C. Circadian rhythms in the flow rate and composition of unstimulated and stimulated human submandibular saliva. J Physiol 1975; 244: 535-548.

142. Fox PC, Busch KA, Baum BJ. Subjective reports of xerostomia and objective measures of salivary gland performance. J Am Dent Assoc 1987; 115: 581-584.

143. Navazesh M, Christensen C, Brightman V. Clinical criteria for the diagnosis of salivary gland hypofunction. J Dent Res 1992; 71: 1363-1369.

144. Pai S, Ghezzi EM, Ship JA. Development of a visual analogue scale questionnaire for subjective assessment of salivary dysfunction. Oral Surg Oral Med Oral Path Oral Radiol Endo 2001; 91: 311-316.

145. Thomson WM, Chalmers JM, Spencer AJ, Williams SM. The xerostomia inventory: a multiitem approach to measuring dry mouth. Comm Dent Health 1999; 16: 12-17.

146. Ship JA, Fox PC, Baum BJ. How much saliva is enough? Normal function defined. J Am Dent Assoc 1991; 122: 63-69.

147. Ghezzi EM, Lange LA, Ship JA. Determination of variation of stimulated salivary flow rates. J Dent Res 2000; 79: 1874-1878.

148. Dawes C. Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance, and the sensation of dry mouth in man. J Dent Res 1987; 66 (Spec Issue): 648-653.

149. Daniels TE, Whitcher JP. Association of patterns of labial salivary gland inflammation with keratoconjunctivitis sicca. Analysis of 618 patients with suspected Sjögren's syndrome. Arthritis Rheum 1994; 37: 869-877.

150. Murdoch-Kinch CA. Salivary gland imaging. J Calif Dent Assoc 2011; 39: 649-654.

151. Jorkjend L, Johansson A, Johansson AK, Bergenholtz A. Periodontitis, caries and salivary factors in Sjögren's syndrome patients compared to sex- and age-matched controls. J Oral Rehabil 2003; 30: 369-378.

152. Almståhl A, Wikström M. Oral microflora in subjects with reduced salivary secretion. J Dent Res 1999; 78: 1410-1416.

153. Spielman AI. Interaction of saliva and taste. J Dent Res 1990; 69: 838-843.

154. Loesche WJ, Schork A, Terpenning MS, Chen YM, Stoll J. Factors which influence levels of selected organisms in saliva of older individuals. J Clin Microbiol 1995; 33: 2550-2557.

155. Jentzen W, Balschuweit D, Schmitz J, Freudenberg L, Eising E, Hilbel T, et al. The influence of saliva flow stimulation on the absorbed radiation dose to the salivary glands during radioiodine therapy of thyroid cancer using 124I PET(/CT) imaging. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2010; 37: 2298-2306.

156. Vivino FB, Al-Hashimi I, Khan Z, LeVeque FG, Salisbury PL, 3rd, Tran-Johnson TK, et al. Pilocarpine tablets for the treatment of dry mouth and dry eye symptoms in patients with Sjögren syndrome: a randomized, placebo-controlled, fixed-dose, multicenter trial. P92- 01 Study Group. Arch Intern Med 1999; 159: 174-181.

157. Epstein JB, Stevenson-Moore P. A clinical comparative trial of saliva substitutes in radiationinduced salivary gland hypofunction. Spec Care Dent 1992; 12: 21-23.

158. Blom M, Lundeberg T. Long-term follow-up of patients treated with acupuncture for xerostomia and the influence of additional treatment. Oral Dis 2000; 6: 15-24.

159. Malouf JG, Aragon C, Henson BS, Eisbruch A, Ship JA. Influence of parotid-sparing radiotherapy on xerostomia in head and neck cancer patients. Cancer Detect Prev 2003; 27: 305-310.

160. Brizel DM, Wasserman TH, Henke M, Strnad V, Rudat V, Monnier A, et al. Phase III randomized trial of amifostine as a radioprotector in head and neck cancer. J Clin Oncol 2000; 18: 3339-3345.

161. Jha N, Seikaly H, Harris J, Williams D, Liu R, McGaw T, et al. Prevention of radiation induced xerostomia by surgical transfer of submandibular salivary gland into the submental space. Radiother Oncol 2003; 66: 283-289.

162. Baum BJ, Goldsmith CM, Hoque AT, Wellner RB, Baccaglini L, Ding C, et al. Salivary glands as a model for craniofacial applications of gene transfer. Int J Oral Maxillofac Surg 2000; 29: 163-166.

163. Swenander Lanke L. Influences on salivary sugar of certain properties of foodstuffs and individual oral conditions. Acta Odontol Scand 1957; 15: Supplement 23.

164. Dawes C. A mathematical model of salivary clearance of sugar from the oral cavity. Caries Res 1983; 17: 321-334.

165. Plant RL, Schechter GL. Dysphagia in children, adults, and geriatrics. Otolaryngologic Clinics of North America 1998; 31: 397-584

166. Aasenden R, Brudevold F, Richardson B. Clearance of fluoride from the mouth after topical treatment or the use of a fluoride mouthrinse. Arch Oral Biol 1968; 13: 625-636.

167. Lagerlöf F, Oliveby A, Ekstrand J. Physiological factors influencing salivary clearance of sugar and fluoride. J Dent Res 1987; 66: 430-435.

168. Dawes C. Estimates, from salivary analyses, of the turnover time of the oral mucosal epithelium in humans and the number of bacteria in an edentulous mouth. Arch Oral Biol 2003; 48: 329-336.

169. Dawes C. Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance, and the sensation of dry mouth in man. J Dent Res 1987; 66: 648-653.

170. Lagerlöf F, Dawes C. The volume of saliva in the mouth before and after swallowing. J Dent Res 1984; 63: 618-621.

171. Dawes C, Tsang RWL, Suelzle T. The effects of gum chewing, four oral hygiene procedures, and two saliva collection techniques, on the output of bacteria into human whole saliva. Arch Oral Biol 2001; 46: 625-632.

172. Collins LMC, Dawes C. The surface area of the adult human mouth and thickness of the salivary film covering the teeth and oral mucosa. J Dent Res 1987; 66: 1300-1302.

173. DiSabato T, Kleinberg I. Measurement and comparison of the residual saliva on various mucosal and dentition surfaces in humans. Arch Oral Biol 1996; 41: 655-665.

174. Wolff MS, Kleinberg I. The effect of ammonium glycopyrrolate (Robinul®)-induced xerostomia on oral mucosal wetness and flow of gingival crevicular fluid in humans. Arch Oral Biol 1999; 44: 97-102.

175. Dawes C, Watanabe S, Biglow-Lecomte P, Dibdin GH. Estimation of the velocity of the salivary film at some different locations in the mouth. J Dent Res 1989; 68: 1479-1482.

176. Britse A, Lagerlöf F. The diluting effect of saliva on the sucrose concentration in different parts of the human mouth after a mouth-rinse with sucrose. Arch Oral Biol 1987; 32: 755-756.

177. Lindfors B, Lagerlöf F. Effect of sucrose concentration in saliva after a sucrose rinse on the hydronium ion concentration in dental plaque. Caries Res 1988; 22: 7-10.

178. Weatherell JA, Duggal MS, Robinson C, Curzon MEJ. Site specific differences in human dental plaque pH after sucrose rinsing. Arch Oral Biol 1988; 33: 871-873.

179. Dawes C, Macpherson LMD. The distribution of saliva and sucrose around the mouth during the use of chewing gum and the implications for the site-specificity of caries and calculus deposition. J Dent Res 1993; 72: 852-857.

180. Macpherson LMD, Dawes C. Distribution of sucrose around the mouth and its clearance after a sucrose mouthrinse or consumption of three different foods. Caries Res 1994; 28: 150-155.

181. Weatherell JA, Strong M, Robinson C, Ralph JP. Fluoride distribution in the mouth after fluoride rinsing. Caries Res 1986; 20: 111-119.

182. Dawes C. An analysis of factors influencing diffusion from dental plaque into a moving film of saliva and the implications for caries. J Dent Res 1989; 68: 1483-1488.

183. Macpherson LMD, Dawes C. Effects of salivary film velocity on pH changes in an artificial plaque containing Streptococcus oralis, after exposure to sucrose. J Dent Res 1991; 70: 1230-1234.

184. Shellis RP, Dibdin GH. Analysis of the buffering systems in dental plaque. J Dent Res 1988; 67: 438-446.

185. Higham SM, Edgar WM. Human dental plaque pH, and the organic acid and free amino acid profiles in plaque fluid, after sucrose rinsing. Arch Oral Biol 1989; 34: 329-334.

186. Geddes DAM. The production of L(+) and D(-) lactic acid and volatile acids by human dental plaque and the effect of plaque buffering and acidic strength on pH. Arch Oral Biol 1972;17: 537-545.

187. Geddes DAM, Weetman DA, Featherstone JDB. Preferential loss of acetic acid from plaque fermentation in the presence of enamel. Caries Res 1984; 18: 430-433.

188. Kleinberg I, Craw D, Komiyama K. Effect of salivary supernatant on the glycolytic activity of the bacteria in salivary sediment. Arch Oral Biol 1973; 18: 787-798.

189. Dawes C, Dibdin GH. Salivary concentrations of urea released from a chewing gum containing urea and how these affect the urea content of gel-stabilised plaques and their pH after exposure to sucrose. Caries Res 2001; 35: 344-353.

190. Ashley FP. Calcium and phosphorus concentrations of dental plaque related to dental caries in 11-14-year-old male subjects. Caries Res 1975; 9: 351-362.

191. Lindfors B, Lagerlöf F. Effect of sucrose concentration in saliva after a sucrose rinse on the hydronium ion concentration in dental plaque. Caries Res 1988; 22: 7-10.

192. Lagerlöf F, Dawes C. The volume of saliva in the mouth before and after swallowing. J Dent Res 1984; 63: 618-621.

193. Al-Nowaiser A, Roberts GJ, Trompeter RS, Wilson M, Lucas VS. Oral health in children with chronic renal failure. Pediatr Nephrol 2003; 18: 39-45.

194. Sjögren K, Ruben J, Lingström P, Lundberg A B and Birkhed D. Fluoride and urea chewing gums in an intra-oral experimental caries model. Caries Res 2002; 36: 64-69.

195. Dodds MW, Hsieh SC, Johnson DA. The effect of increased mastication by daily gumchewing on salivary gland output and dental plaque acidogenicity. J Dent Res 1991; 70: 1474-1478.

196. Edgar WM, Bibby BG, Mundorff SM, Rowley J. Acid production in plaques after eating snacks: modifying factors in foods. J Amer Dent Ass 1975; 90: 418-425.

197. van Wuyckhuyse BC, Perinpanayagam HER, Bevacqua D, Raubertas RF, Billings RJ, Bowen WH, Tabak LA. Association of free arginine and lysine concentrations in human parotid saliva with caries experience. J Dent Res 1995; 74: 686-690.

198. Shu M, Morou-Bermudez E, Suárez-Pérez E, Rivera-Miranda C, Browngardt CM, Chen YY, Magnusson I, Burne RA. The relationship between dental caries status and dental plaque urease activity. Oral Microbiol Immunol 2007; 22: 61-66.

199. Morou-Bermudez E, Elias-Boneta A, Billings RJ, Burne RA, Garcia-Rivas V, Brignoni-Nazario V, Suárez-Pérez E. Urease activity as a risk factor for caries development in children during a three-year study period: a survival analysis approach. Arch Oral Biol 2011; 56:1560-1568.

200. Edgar WM. Sugar substitutes, chewing gum and dental caries – a review. Br Dent J 1998; 184: 29-32.

201. Isokangas P, Söderling E, Pienihäkkinen K, Alanen P. Occurrence of dental decay in children after maternal consumption of xylitol chewing gum, a follow-up from 0 to 5 years of age. J Dent Res 2000; 79: 1885-1889.

202. Markovic N, Abelson DC, Mandel ID. Sorbitol gum in xerostomics: the effects on dental plaque pH and salivary flow rates. Gerodontol 1988; 7: 71-75.

203. Dawes C. Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. J Am Dent Assoc 2008; 139:18S-24S.

204. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu W-H, Lakshmanan A, Wade WG. The human oral microbiome. J Bacteriol 2010; 192: 5002-5017.

205. Zijnge V, van Leeuwen MBM, Degener JE, Abbas F, Thurnheer T, Gmur R, Harmsen HJM. Oral biofilm architecture on natural teeth. Plos One 2010; 5: e9321.

206. Valm AM, Welch JL, Rieken CW, Hasegawa Y, Sogin ML, Oldenbourg R, Dewhirst FE, Borisy GG. Systems-level analysis of microbial community organization through combinatorial labeling and spectral imaging. Proc Natl Acad Sci USA 2011; 108: 4152-4157.

207. Tabak LA. In defense of the oral cavity: structure, biosynthesis, and function of salivary mucins. Ann Rev Physiol 1995; 57: 547-564.

208. Sönju T, Rölla G. Chemical analysis of the acquired enamel pellicle formed in two hours on cleaned human teeth in vivo. Rate of formation and amino acid analysis. Caries Res 1973; 7: 30-38.

209. Yao Y, Berg EA, Costello CE, Troxler RF, Oppenheim FG. Identification of protein components in human acquired enamel pellicle and whole saliva using novel proteomics approaches. J Biol Chem 2003; 278: 5300-5308.

210. Al-Hashimi I, Levine MJ. Characterization of in vivo salivary-derived enamel pellicle. Arch Oral Biol 1989; 34: 289-295.

211. Li J, Helmerhorst EJ, Corley RB, Luus LE, Troxler RF, Oppenheim FG. Characterization of the immunologic responses to human in vivo acquired enamel pellicle as a novel means to investigate its composition. Oral Microbiol Immunol 2003; 18: 183-191.

212. Yao Y, Grogan J, Zehnder M, Lendenmann U, Nam B, Wu Z, Costello CE, Oppenheim FG. Compositional analysis of human acquired enamel pellicle by mass spectrometry. Arch Oral Biol 2001; 46: 293-303.

213. Bandhakavi S, Stone MD, Onsongo G, Van Riper SK, Griffin TJ. A dynamic range compression and three-dimensional peptide fractionation analysis platform expands proteome coverage and the diagnostic potential of whole saliva. J Proteome Res 2009; 8: 5590-5600.

214. Oudhoff MJ, Bolscher JG, Nazmi K, Kalay H, van 't Hof W, Nieuw Amerongen AV, Veerman ECI. Histatins are the major wound-closure stimulating factors in human saliva as identified in a cell culture assay. FASEB J 2008; 22: 3805-3812.

215. Al-Hashimi I, Dickinson DP, Levine MJ. Purification, molecular cloning, and sequencing of salivary cystatin SA-1. J Biol Chem 1988; 263: 9381-9387.

216. Bobek LA, Levine MJ. Cystatins – inhibitors of cysteine proteinases. Crit Rev Oral Biol Med 1992; 3: 307-332.

217. Childers NK, Tong G, Li F, Dasanayake AP, Kirk K, Michalek SM. Humans immunized with Streptococcus mutans antigens by mucosal routes. J Dent Res 2002; 81: 48-52.

218. Kirstilä V, Tenovuo J, Ruuskanen O, Nikoskelainen J, Irjala K, Vilja P. Salivary defense factors and oral health in patients with common variable immunodeficiency. J Clin Immunol 1994; 4: 229-236.

219. Loimaranta V, Tenovuo J, Virtanen S, Marnila P, Syväoja E-L, Tupasela T, Korhonen H. Generation of bovine immune colostrum against Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus and its effect on glucose uptake and extracellular polysaccharide formation by mutans streptococci. Vaccine 1997; 15: 1261-1268.

220. Ma J K-C, Lehner T, Stabila P, Fux CI, Hiatt A. Assembly of monoclonal antibodies with IgG1 and IgA heavy chain domains in transgenic tobacco plants. Eur J Immunol 1994; 24: 131-138.

221. Vissink A, Burlage FR, Spijkervet FK, Jansma J, Coppes RP. Prevention and treatment of the consequences of head and neck radiotherapy. Crit Rev Oral Biol Med 2003; 14: 213-225.

222. Hannig M. Ultrastructural investigation of pellicle morphogenesis at two different intraoral sites during a 24-h period. Clin Oral Investig 1999; 3: 88-95.

223. Siqueira WL, Zhang W, Helmerhorst EJ, Gygi SP, Oppenheim FG. Identification of protein components in in vivo human acquired enamel pellicle using LC-ESI-MS/MS. J Proteome Res 2007; 6: 2152-2160.

224. Hannig M, Balz M. Influence of in vivo formed salivary pellicle on enamel erosion. Caries Res 1999; 33: 372-379, ten Cate JM. Biofilms, a new approach to the microbiology of dental plaque. Odontology 2006; 94: 1-9.

225. Zaura E, Keijser BJ, Huse SM, Crielaard W. Defining the healthy "core microbiome" of oral microbial communities. BMC Microbiol 2009; 9: 259.

226. Posner AS, Beebe RA. The surface chemistry of bone mineral and related calcium phosphates. Semin Arthritis Rheum 1975; 4: 267-291.

227. Carey C, Gregory T, Rupp W, Tatevossian A, Vogel GL. In Leach S (Ed.) Factors relating to demineralisation and remineralisation of the teeth. IRL Press, 1986, pp. 163-174.

228. Arends J, Christoffersen J, Christoffersen MR, Ogaard B, Dijkman AG, Jongebloed WL. Rate and mechanism of enamel demineralization in situ. Caries Res 1992; 26:18-21.

229. Groeneveld A. Longitudinal study of prevalence of enamel lesions in a fluoridated and nonfluoridated area. Community Dent Oral Epidemiol 1985; 13: 159-163.

230. Biesbrock AR, Faller RV, Bartizek RD, Court LK, McClanahan SF. Reversal of incipient and radiographic caries through the use of sodium and stannous fluoride dentifrices in a clinical trial. J Clin Dent 1998; 9: 5-10.

231. ten Cate JM, Imfeld T. Dental erosion, summary. Eur J Oral Sci 1996; 104: 241-244.

232. Young WG, Khan F. Sites of dental erosion are saliva-dependent. J Oral Rehabil 2002; 29: 35-43.

233. Meurman JH, Frank RM. Scanning electron microscopic study of the effect of salivary pellicle on enamel erosion. Caries Res 1991; 25:1-6.

234. West NX, Hughes JA, Parker DM, Moohan M, Addy M. Development of low erosive carbonated fruit drinks 2. Evaluation of an experimental carbonated blackcurrant drink compared to a conventional carbonated drink. J Dent 2003; 31: 361-365.

235. White DJ. Recent advances in methods for the assessment of dental calculus-research and clinical implications. Monogr Oral Sci 2000; 17: 163-173.

236. Tenovuo J. Salivary parameters of relevance for assessing caries activity in individuals and populations. Community Dent Oral Epidemiol 1997; 25:82-86.

237. Margolis HC, Duckworth JH, Moreno EC. Composition and buffer capacity of pooled starved plaque fluid from caries-free and caries-susceptible individuals. J Dent Res 1988; 67: 1476-1482.

238. Bellini HT, Arneberg P, von der Fehr FR. Oral hygiene and caries. A review. Acta Odontol Scand 1981; 39: 257-265.

239. Petzold M. The influence of different fluoride compounds and treatment conditions on dental enamel: a descriptive in vitro study of the CaF2 precipitation and microstructure. Caries Res 2001; 35(Suppl. 1): 45-51.

240. Duckworth RM, Morgan SN. Oral fluoride retention after use of fluoride dentifrices. Caries Res 1991; 25:123-129.

241. Sjögren K, Birkhed D, Rangmar S, Reinhold AC. Fluoride in the interdental area after two different post-brushing water rinsing procedures. Caries Res 1996; 30:194-199.

242. Edgar M, Dawes C, O'Mullane D, editors. Saliva and oral health. 4th ed. London (UK): Stephen Hancocks Ltd; 2012.

243. N. Malathi, S. Mythili, H. R. Vasanthi. Salivary diagnostics: a brief review. ISRN Dentistry 2014; 2014: 158786.

244. Y. H. Lee, D. T. Wong. Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. American Journal of Dentistry 2009; 22:241-248.

245. S. Chiappin, G. Antonelli, R. Gatti, E. F. De Palo. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. Clinica Chimica Acta 2007; 383:30-40.

246. R. M. Nagler, O. Hershkovich, S. Lischinsky, E. Diamond, A. Z. Reznick. Saliva analysis in the clinical setting: revisiting an underused diagnostic tool. Journal of Investigative Medicine 2002; 50:214-225.

247. T. Pfaffe, J. Cooper-White, P. Beyerlein, K. Kostner, C. Punyadeera. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. Clinical Chemistry 2011: 57:675-687.

248. B. M. Brinkman, D. T. W. Wong. Disease mechanism and biomarkers of oral squamous cell carcinoma. Current Opinion in Oncology 2006; 18:228-223.

249. M. Castagnola, I. Messana, R. Inzitari et al. Hypo-phosphorylation of salivary peptidome as a clue to the molecular pathogenesis of autism spectrum disorders. Journal of Proteome Research 2008; 7:5327-5332.

250. H. B. Cho, S. W. Hong, Y. J. Oh et al. Clinical significance of osteopontin expression in cervical cancer. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology 2008; 134:909-917.

251. A. Marini, E. Cabassi. La saliva: approccio complementare nella diagnostica clinica e nella ricerca biologica. Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma 2002; 22:295-311.

252. S. Hu, Y. Xie, P. Ramachandran et al. Large-scale identification of proteins in human salivary proteome by liquid chromatography/mass spectrometry and two-dimensional gel electrophoresis-mass spectrometry. Proteomics 2005; 5:1714-1728.

253. E. J. Helmerhorst, C. Dawes, F. G. Oppenheim. The complexity of oral physiology and its impact on salivary diagnostics. Oral Diseases 2018; 24:363-371.

254. V. de Almeida Pdel, A. M. Grégio, M. A. Machado, A. A. de Lima, L. R. Azevedo. Saliva composition and functions: a comprehensive review. The Journal of Contemporary Dental Practice 2008; 9:72-80.

255. M. Carranza, M. E. Ferraris, M. Galizzi. Structural and morphometrical study in glandular parenchyma from alcoholic sialosis. Journal of Oral Pathology and Medicine 2005; 34:374-379.

256. S. Hu, P. Denny, P. Denny et al. Differentially expressed protein markers in human submandibular and sublingual secretions. International Journal of Oncology 2004; 25:1423-1430.

257. J. K. M. Aps, L. C. Martens. Review: the physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. Forensic Science International 2005;150:119-131.

258. Z. T. Dame, F. Aziat, R. Mandal et al. The human saliva metabolome. Metabolomics 2015; 11:1864-1883.

259. A. B. Actis, N. R. Perovic, D. Defagò, C. Beccacece, A. R. Eynard. Fatty acid profile of human saliva: a possible indicator of dietary fat intake. Archives of Oral Biology 2005; 50:1-6.

260. B. Larsson, G. Olivecrona, T. Ericson. Lipids in human saliva. Archives of Oral Biology 1996; 41:105-110.

261. J. L. Chicharro, A. Lucia, M. Perez, A. F. Vaquero, R. Urena. Saliva composition and exercise. Sports Medicine 1998; 26:17-27.

262. C. M. Huang. Comparative proteomic analysis of human whole saliva. Archives of Oral Biology 2004; 49:951-962.

263. C.-Z. Zhang, X.-Q. Cheng, J.-Y. Li et al., “Saliva in the diagnosis of diseases,” International Journal of Oral Science 2016; 8:133-137.

264. M. A. Javaid, A. S. Ahmed, R. Durand, S. D. Tran. Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases. Journal of Oral Biology and Craniofacial Research 2016; 6:67-76.

265. D. B. Ferguson. Current diagnostic uses of saliva. Journal of Dental Research 2016; 66:420-424.

266. P. C. Fox, P. F. van der Ven, B. C. Sonies, J. M. Weiffenbach, B. J. Baum. Xerostomia: evaluation of a symptom with increasing significance. Journal of the American Dental Association 1985; 110:519-525.

267. D. L. Korte, J. Kinney. Personalized medicine: an update of salivary biomarkers for periodontal diseases. Periodontology 2000 2016; 70:26-37.

268. O. Brinkmann, L. Zhang, W. V. Giannobile, D. T. Wong. Salivary biomarkers for periodontal disease diagnostics. Expert Opinion on Medical Diagnostics 2010; 5:25-35.

269. T. Yucel-Lindberg, T. Bage. Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. Expert Reviews in Molecular Medicine 2013; 15: e7

270. D. T. Graves, D. Cochran. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. Journal of Periodontology 2003; 74:391-401.

271. S. Kwan Tat, M. Padrines, S. Theoleyre, D. Heymann, Y. Fortun. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. Cytokine & Growth Factor Reviews 2004; 15:49-60.

272. H. E. Barksby, S. R. Lea, P. M. Preshaw, J. J. Taylor. The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. Clinical and Experimental Immunology 2007; 149:217-225.

273. P. Stashenko, F. E. Dewhirst, W. J. Peros, R. L. Kent. Synergistic interactions between interleukin 1, tumor necrosis factor, and lymphotoxin in bone resorption. Journal of Immunology 1987; 138:1464-1468.

274. S. P. Engebretson, J. T. Grbic, R. Singer, I. B. Lamster. GCF IL-1-beta profiles in periodontal disease. Journal of Clinical Periodontology 2002; 29:48-53.

275. U. K. Gursoy, E. Könönen, P. J. Pussinen et al. Use of hostand bacteria-derived salivary markers in detection of periodontitis: a cumulative approach. Disease Markers 2011; 30:305.

276. S. Becerik, N. Özsan, A. Gürkan, V. Ö. Öztürk, G. Atilla, G. Emingil. Toll like receptor 4 and membrane-bound CD14 expressions in gingivitis, periodontitis and CsAinduced gingival overgrowth. Archives of Oral Biology 2011; 56:456-465.

277. P. P. Costa, G. L. Trevisan, G. O. Macedo et al. Salivary interleukin-6, matrix metalloproteinase-8, and osteoprotegerin in patients with periodontitis and diabetes. Journal of Periodontology 2010; 81:384-391.

278. M. Geivelis, D. W. Turner, E. D. Pederson, B. L. Lamberts. Measurements of interleukin-6 in gingival crevicular fluid from adults with destructive periodontal disease. Journal of Periodontology 1993; 64:980-983.

279. S. Liskmann, T. Vihalemm, O. Salum, K. Zilmer, K. Fischer, M. Zilmer. Correlations between clinical parameters and interleukin-6 and interleukin-10 levels in saliva from totally edentulous patients with peri-implant disease. The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants 2006; 21:543-550.

280. G. Schierano, G. Bellone, E. Cassarino, M. Pagano, G. Preti, G. Emanuelli. Transforming growth factor-β and interleukin 10 in oral implant sites in humans. Journal of Dental Research 2016; 82:428-432.

281. C. S. Miller, J. D. Foley, A. L. Bailey et al. Current developments in salivary diagnostics. Biomarkers in Medicine 2010; 4:171-189.

282. J. S. Kinney, T. Morelli, T. Braun et al. Saliva/pathogen biomarker signatures and periodontal disease progression. Journal of Dental Research 2011; 90:752-758.

283. C. A. Ramseier, J. S. Kinney, A. E. Herr et al. Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease. Journal of Periodontology 2009; 80:436-446.

284. T. Sorsa, L. Tjäderhane, Y. T. Konttinen et al. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. Annals of Medicine 2009; 38:306-321.

285. M. al-Sabbagh, A. Alladah, Y. Lin et al. Bone remodelingassociated salivary biomarker MIP-1α distinguishes periodontal disease from health. Journal of Periodontal Research 2012; 47:389-395.

286. H. D. Jenifer, S. Bhola, V. Kalburgi, S. Warad, V. M. Kokatnur. The influence of cigarette smoking on blood and salivary super oxide dismutase enzyme levels among smokers and nonsmokers—a cross sectional study. Journal of Traditional and Complementary Medicine 2015; 5:100-105.

287. J. L. Ebersole, R. Nagarajan, D. Akers, C. S. Miller. Targeted salivary biomarkers for discrimination of periodontal health and disease(s). Frontiers in Cellular and Infection Microbiology 2015; 5.

288. M. K. Hendek, E. O. Erdemir, U. Kisa. Evaluation of salivary procalcitonin levels in different periodontal diseases. Journal of Periodontology 2015; 86:820-826.

289. S. Banu, N. R. Jabir, R. Mohan et al. Correlation of toll-like receptor 4, interleukin-18, transaminases, and uric acid in patients with chronic periodontitis and healthy adults. Journal of Periodontology 2015; 86:431-439.

290. D. C. Matthews, K. McNeil, C. A. McCulloch, M. Glogauer. Adoption issues associated with a new periodontal screening tool: an online survey of Canadian dentists. Journal of the Canadian Dental Association 2013; 80:e57.

291. S. A. Khuder, I. al-Hashimi, A. B. Mutgi, N. Altorok. Identification of potential genomic biomarkers for Sjögren's syndrome using data pooling of gene expression Microarrays. Rheumatology International 2015; 35:829-836.

292. S. Hu, K. Gao, R. Pollard et al. Preclinical validation of salivary biomarkers for primary Sjögren's syndrome. Arthritis Care & Research 2010; 62:1633-1638.

293. J. M. Yoshizawa, D. T. W. Wong. Salivary microRNAs and oral cancer detection. Methods in Molecular Biology 2013; 936:313-324.

294. K. M. Pattani, Z. Zhang, S. Demokan et al. Endothelin receptor type B gene promoter hypermethylation in salivary rinses is independently associated with risk of oral cavity cancer and premalignancy. Cancer Prevention Research 2010; 3:1093-1103.

295. C. J. Liu, S. C. Lin, C. C. Yang, H. W. Cheng, K. W. Chang. Exploiting salivary miR-31 as a clinical biomarker of oral squamous cell carcinoma. Head & Neck 2012; 34:219-224.

296. N. J. Park, H. Zhou, D. Elashoff et al. Salivary microRNA: discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection. Clinical Cancer Research 2009; 15:5473-5477.

297. M. A. R. St John, Y. Li, X. Zhou et al. Interleukin 6 and interleukin 8 as potential biomarkers for oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma. Archives of Otolaryngology – Head & Neck Surgery 2004; 130:929-935.

298. Y. Li, M. A. St John, X. Zhou et al. Salivary transcriptome diagnostics for oral cancer detection. Clinical Cancer Research 2004; 10:8442-8450.

299. R. Nagler, G. Bahar, T. Shpitzer, R. Feinmesser. Concomitant analysis of salivary tumor markers. A new diagnostic tool for oral cancer. Clinical Cancer Research 2006; 12:3979-3984.

300. S. Warnakulasuriya, T. Soussi, R. Maher, N. Johnson, M. Tavassoli. Expression of p53 in oral squamous cell carcinoma is associated with the presence of IgG and IgA p53 autoantibodies in sera and saliva of the patients. The Journal of Pathology 2000; 192:52-57.

301. J. J. Balan, R. S. Rao, B. R. Premalatha, S. Patil. Analysis of tumor marker CA 125 in saliva of normal and oral squamous cell carcinoma patients: a comparative study. The Journal of Contemporary Dental Practice 2012; 13:671-675.

302. D. G. Bernabé, A. C. Tamae, G. I. Miyahara, M. L. M. Sundefeld, S. P. Oliveira, É. R. Biasoli. Increased plasma and salivary cortisol levels in patients with oral cancer and their association with clinical stage. Journal of Clinical Pathology 2012; 65:934-939.

303. T. Kosaka, Y. Kokubo, T. Ono et al. Salivary inflammatory cytokines may be novel markers of carotid atherosclerosis in a Japanese general population: the Suita study. Atherosclerosis 2014; 237:123-128.

304. C. S. Miller, J. D. Foley III, P. N. Floriano et al. Utility of salivary biomarkers for demonstrating acute myocardial infarction. Journal of Dental Research 2014; 93:72S-79S.

305. P. N. Floriano, N. Christodoulides, C. S. Miller et al. Use of saliva-based nano-biochip tests for acute myocardial infarction at the point of care: a feasibility study. Clinical Chemistry 2009; 55:1530-1538.

306. H. Zheng, R. Li, J. Zhang et al. Salivary biomarkers indicate obstructive sleep apnea patients with cardiovascular diseases. Scientific Reports 2015; 4:7046.

307. R. J. Bateman, C. Xiong, T. L. Benzinger et al. Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease. The New England Journal of Medicine 2012; 367:795-804.

308. F. Hulstaert, K. Blennow, A. Ivanoiu et al. Improved discrimination of AD patients using beta-amyloid(1-42) and tau levels in CSF. Neurology 1999; 52:1555-1562.

309. S. A. Small, G. M. Perera, R. DeLaPaz, R. Mayeux, Y. Stern. Differential regional dysfunction of the hippocampal formation among elderly with memory decline and Alzheimer's disease. Annals of Neurology 1999; 45:466-472.

310. F. Bermejo-Pareja, D. Antequera, T. Vargas, J. A. Molina, E. Carro. Saliva levels of Abeta1-42 as potential biomarker of Alzheimer's disease: a pilot study. Arthritis Care & Research 2010; 10.

311. M. Shi, Y. T. Sui, E. R. Peskind et al. Salivary tau species are potential biomarkers of Alzheimer's disease. Journal of Alzheimer's Disease 2011; 27:299-305.

312. I. Devic, H. Hwang, J. S. Edgar et al. Salivary α-synuclein and DJ-1: potential biomarkers for Parkinson's disease. Brain 2011; 134:e178.

313. C. Holmes, C. Cunningham, E. Zotova et al. Systemic inflammation and disease progression in Alzheimer disease. Neurology 2009; 73:768-774.

314. J. M. Hill, C. Clement, A. I. Pogue, S. Bhattacharjee, Y. Zhao, W. J. Lukiw. Pathogenic microbes, the microbiome, and Alzheimer's disease (AD). Frontiers in Aging Neuroscience 2014; 6:127.

315. E. Carro, F. Bartolomé, F. Bermejo-Pareja et al. Early diagnosis of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease based on salivary lactoferrin. Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring 2017; 8:131-138.

316. B. W. A. van der Strate, L. Beljaars, G. Molema, M. C. Harmsen, D. K. F. Meijer. Antiviral activities of lactoferrin. Antiviral Research 2001; 52:225-239.

317. L. Beljaars, B. Vanderstrate, H. Bakker et al. Inhibition of cytomegalovirus infection by lactoferrin in vitro and in vivo. Antiviral Research 2004; 63:197-208.

318. F. Ahmadi-Motamayel, M. T. Goodarzi, S. Tarazi, M. Vahabian. Evaluation of salivary acetylcholinesterase and pseudocholinesterase in patients with Alzheimer's disease: a case–control study. Special Care in Dentistry 2018; 39:39-44.

319. W. Song, V. Kothari, A. M. Velly et al. Evaluation of salivary heme oxygenase-1 as a potential biomarker of early Parkinson's disease. Movement Disorders 2018; 33:583-591.

320. M. R. Parisi, L. Soldini, G. Vidoni et al. Point-of-care testing for HCV infection: recent advances and implications for alternative screening. The New Microbiologica 2014; 37:449-457.

321. F. Nefzi, N. A. Ben Salem, A. Khelif, S. Feki, M. Aouni, A. Gautheret-Dejean. Quantitative analysis of human herpesvirus-6 and human cytomegalovirus in blood and saliva from patients with acute leukemia. Journal of Medical Virology 2015; 87:451-460.

322. K. P. Delaney, B. M. Branson, A. Uniyal et al. Evaluation of the performance characteristics of 6 rapid HIV antibody tests. Clinical Infectious Diseases 2010; 52:257-263.

323. J. K. Gohagan, P. M. Marcus, R. M. Fagerstrom et al. Final results of the Lung Screening Study, a randomized feasibility study of spiral CT versus chest X-ray screening for lung cancer. Lung Cancer 2005; 47:9-15.

324. F. R. Hirsch, W. A. Franklin, A. F. Gazdar, P. Bunn. Early detection of lung cancer: clinical perspectives of recent advances in biology and radiology. Clinical Cancer Research 2001; 7:5-22.

325. R. J. van Klaveren, M. Oudkerk, M. Prokop et al. Management of lung nodules detected by volume CT scanning. The New England Journal of Medicine 2009; 361:2221-2229.

326. M. Hassanein, J. C. Callison, C. Callaway-Lane, M. C. Aldrich, E. L. Grogan, P. P. Massion. The state of molecular biomarkers for the early detection of lung cancer. Cancer Prevention Research 2012; 5:992-1006.

327. H. Xiao, L. Zhang, H. Zhou, J. M. Lee, E. B. Garon, D. T. W. Wong. Proteomic analysis of human saliva from lung cancer patients using two-dimensional difference gel electrophoresis and mass spectrometry. Molecular & Cellular Proteomics 2012; 11: M111.012112.

328. L. Zhang, H. Xiao, H. Zhou et al. Development of transcriptomic biomarker signature in human saliva to detect lung cancer. Cellular and Molecular Life Sciences 2012; 69:3341-3350.

329. J. P. Goulet, A. M. Velly. Orofacial Pain Biomarkers. Springer, 2017.

330. T. V. Macfarlane, A. S. Blinkhorn, R. M. Davies, J. Kincey, H. V. Worthington. Oro-facial pain in the community: prevalence and associated impact. Community Dentistry and Oral Epidemiology 2002; 30:52-60.

331. T. V. Macfarlane, A. S. Blinkhorn, R. Craven et al. Can one predict the likely specific orofacial pain syndrome from a selfcompleted questionnaire?. Pain 2004; 111; 270-277.

332. C. J. Woolf. Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. Pain 2011; 152:S2-15.

333. M. Von Korff, D. L. Miglioretti. A prognostic approach to defining chronic pain. Pain 2005; 117:304-313.

334. H. C. Simmons. Craniofacial Pain: A Handbook for Assessment, Diagnosis and Management. Chroma Incorporated, 2009.

335. R. A. Pertes, S. G. Gross. Clinical Management of Temporomandibular Disorders and Orofacial Pain. Quintessence Books, Chicago, IL, USA, 1995.

336. J. P. Okeson. Bell's oral and facial pain. 7th edition, Quintessence Inc, Chicago, IL, USA, 2014.

337. H. Merskey, N. Bugduk. Classification of Chronic Pain: Descriptions of Chronic Pain Syndromes and Definitions of Pain Terms. 2nd edition, ASP Task Force on Taxonomy, Ed., IASP Press, Seattle, WA, USA,1994.

338. R. De Leeuw, G. D. Klasser. Orofacial Pain – Guidelines for Assessment, Diagnosis, and Management. 5th edition, Quintessence, Chicago, IL, USA, 2013.

339. H. Jasim, A. Carlsson, B. Hedenberg-Magnusson, B. Ghafouri, M. Ernberg. Saliva as a medium to detect and measure biomarkers related to pain. Scientific Reports 2018; 8:3220-3229.

340. E. E. Castrillon, M. Ernberg, B. E. Cairns et al. Interstitial glutamate concentration is elevated in the masseter muscle of myofascial temporomandibular disorder patients. Journal of Orofacial Pain 2010; 24:350-360.

341. A. Shimada, E. E. Castrillon, L. Baad-Hansen et al. Increased pain and muscle glutamate concentration after single ingestion of monosodium glutamate by myofascial temporomandibular disorders patients. European Journal of Pain 2016; 20:1502-1512.

СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

9 786084 620297