

МОГУЋНОСТИ УПОТРЕБЕ ПЉУВАЧКЕ КАО ДИЈАГНОСТИЧКЕ ТЕЧНОСТИ У СТОМАТОЛОГИЈИ

Татјана ТОДОРОВИЋ¹, Иван ДОЖИЋ¹, Душан ПАВЛИЦА², Дејан МАРКОВИЋ³,
 Мирјана ИВАНОВИЋ³, Гаврило БРАЈОВИЋ⁴, Гордана СТЕФАНОВИЋ⁴,
 Силвија МИРКОВИЋ⁵, Биљана АНЂЕЛСКИ⁵

¹Ој институтски предмети, наставни предмет Биохемија, stomatолошки факултет, Београд;

²Ој институтски предмети, наставни предмет Микробиологија, stomatолошки факултет, Београд;

³Клиника за превентивну и дечју stomatологију, stomatолошки факултет, Београд;

⁴Ој институтски предмети, наставни предмет Физиологија, stomatолошки факултет, Београд;

⁵Ој институтски предмети, наставни предмет Хемија, stomatолошки факултет, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ

Пљувачка је секрет пљувачних и мукозних жлезда који је значајан за одржавање оралног здравља. Последњих деценија све више се разматра могућност њене примене као замена крви, односно крвном серуму и плазме, ради доказивања показатеља системских обољења, као и за надгледање примене лекова, дрога и хормона. Анализирање биохемијског састава пљувачке посебно је значајно у stomatологији за процену ризика настанка, праћења тока болести и контроле резултата примењеног лечења зубног каријеса, пародонтопатије, оралних карцинома и инфективних обољења усне дупље. У процени ризика настанка каријеса на зубима рутински се изводе испитивања којима се одређују количина излучене пљувачке, њен пуферски капацитет и степен колонизације усне дупље кариогеним врстама бактерија. Једноставност извођења ових испитивања омогућава да их у stomatолошкој ординацији примењује лекар практичар, што представља велику помоћ у процени ризика за настанак зубног каријеса. Због блиског контакта с оралним ткивима, пљувачка садржи бројне биохемијске показатеље патолошких процеса локализованих у овим ткивима (ензими, имуноглобулини, остали протеини, фенотипски показатељи). Испитивање помених показатеља је значајно као допуна клиничком дијагностиковању уколико оно не пружа довољно информација.

Кључне речи: пљувачка; дијагностичка течност; орална обољења

УВОД

Пљувачка је секрет пљувачних и мукозних жлезда који је у сталном контакту са ткивима усне дупље и који је значајан за оралну хомеостазу. Улоге пљувачке у одржавању оралног здравља и њени састојци наведени су у табели 1 [1-3].

Пљувачка може бити узорак биолошког материјала за увођење нових дијагностичких тестова који би допринели постављању правовремене дијагнозе и разјашњавању патогенезе многих системских обољења у медицини. Последњих десет година у литератури се помиње више од 2.500 радова на тему важности употребе пљувачке као биолошког материја-

ТАБЕЛА 1. Улоге и значај пљувачке у оралној хомеостази.

TABLE 1. Major functions of saliva.

| Улоге пљувачке Functions of saliva | Састојак пљувачке Saliva component involved |
|---|---|
| Заштита интегритета слузнице усне дупље Oral mucosa protection | Муцини Mucins |
| Заштита зубне глеђи од атриције и деминерализације Enamel protection | Гликопротеини богати пролином Proline-rich proteins |
| Реминерализација зубне глеђи Enamel remineralisation | Калцијум, фосфати, флуор Calcium, phosphates, fluoride |
| Специфична антимикуробна заштита оралне средине Specific antimicrobial protection of oral environment | Секрециони имуноглобулини Salivary immunoglobulins |
| Неспецифична антимикуробна заштита оралне средине Non-specific antimicrobial protection of oral environment | Лизозим, лактоферин, пљувачни пероксидазни систем, дефензини, хистатини, пљувачни аглутинини Lysozyme, lactoferrin, salivary peroxidase system, defensins, histatins, salivary agglutinin |
| Одржавање pH оралне средине у физиолошким вредностима Oral pH maintenance with physiological values | Бикарбонати и фосфати Bicarbonates and phosphates |
| Антиоксидациона заштита оралне средине Antioxidative protection of oral environment | Каталаза, супероксид-дизмутаза, глутатион-пероксидаза, глутатион-редуктаза, пљувачна пероксидаза Catalases, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, salivary peroxidase |
| Разлагање заосталих честица хране Food hydrolysis | Пљувачна амилаза Salivary amylases |
| Улога у функцији говора, чула укуса, мастикацији, гутању Salivary function in speech, taste, mastication, swallowing | Вода, муцини Water, mucins |

ла уместо крвног серума или крвне плазме. Многи аутори наводе да овај секрет може бити поуздан биолошки материјал за доказивање показатеља системских обољења и надгледање примене лекова, дрога и хормона. Досадашња истраживања су показала да се у пљувачки могу анализирати разни параметри (лекови и њихови метаболити, дроге, антитела, токсични метали, медијатори запаљенских процеса, фактори раста итд.) (Табела 2), чија се анализа рутински спроводи у крвној плазми [4-14].

Због тога што је у интимном контакту са ткивима усне дупље, пљувачка одражава и сва збивања у њима, било физиолошка, било патолошка, па је аутори популарно називају „огледалом оралног здравља”. Стога анализирање биохемијског састава пљувачке може бити од посебног значаја у стоматологији ради процене ризика за настанак, дијагностиковање, праћење тока болести и контроле резултата примењеног лечења зубног каријеса, пародонтопатије, оралног карцинома и инфективних обољења оралне средине [15-17].

МОГУЋНОСТИ УПОТРЕБЕ ПЉУВАЧКЕ У ПРОЦЕНИ РИЗИКА ЗА НАСТАНАК ЗУБНОГ КАРИЈЕСА

Зубни каријес је најчешће орално обољење сложене етиологије које се јавља у свим животним добима. Дијагноза зубног каријеса поставља се релативно лако на основу клиничког и радиографског прегледа. Анализирање пљувачке с аспекта зубног каријеса није значајно у дијагностици, као што је то случај са пародонтопатијом и другим оралним обољењима, већ за процену ризика настанка овог обољења. На основу физичко-хемијских особина пљувачке (количина излучене пљувачке, пуферски капацитет), као и микробиолошког мониторинга овог секрета (степен колонизације оралне средине кариогеним врстама бактерија) откривају се особе код којих постоји повећан ризик за настанак каријеса. То омогућава правовремену примену мера превенције ради смањења настанка овог обољења код људи [18-25].

Количина излучене пљувачке зависи од тога да ли се лучи нестимулисана или стимулисана пљувачка, а подлеже и индивидуалним разликама. Познато је да количина излучене пљувачке директно утиче на зубни каријес код особе с ризиком за настанак овог обољења. Повећано лучење пљувачке омогућава ефикасније одстрањивање заосталих честица хране из усне дупље (самочишћење). Како се с повећањем количине излучене пљувачке повећава и концентрација бикарбоната, главних пуфера пљувачке, умањује се и штетан ефекат киселих производа хране. Количина излучене пљувачке одређује се мерењем количине излучене стимулисане пљувачке у одређеном временском периоду, што је, у просеку, 0,7-1 ml у минути. Смањење количине излучене пљувачке директно утиче на повећани ризик за настанак зубног каријеса, што је посебно уочљиво код особа са ксеростомијом.

Пуферска улога пљувачке је способност овог секрета да одржава рН вредност оралне средине у физиолошким вредностима (рН 6,1-7,8), при којима не

ТАБЕЛА 2. Параметри који се испитују у пљувачки.
TABLE 2. Parameters analysed in saliva.

| Категорија Category | Параметар Parameter |
|---|---|
| Дроге Drugs | Алкохол Alcohol |
| | Амфетамини Amphetamines |
| | Кокаин Cocaine |
| | LSD |
| | Марихуана Marijuana |
| | Никотин Nicotine |
| | Опијати Opioids |
| Антитела Antibodies | Кофеин Caffeine |
| | HIV |
| | HPV <i>Helicobacter pylori</i> |
| Хормони Hormones | Кортизол Cortisol |
| | Прогестерон Progesterone |
| | Тестостерон Testosterone |
| | Андростенадион Androstenedione |
| Токсини из окружења Environmental toxins | Супстанција P Substance P |
| | Кадмијум Cadmium |
| | Олово Lead |
| Медикаменти Medicaments | Жива Mercury |
| | Барбитурати Barbiturates |
| | Антипирин Antipyrine |
| | Аминопурин Aminopurine |
| | Дигоксин Digoxin |
| Транспортни протеини Transport proteins | Фенитоин Phenytoin |
| | Толбутамид Tolbutamide |
| | Кортикостероид-везујући глобулин Corticosteroid-binding globulin |
| Фактори раста Growth factors | DHEA-везујући гликопротеин DHEA-binding glycoprotein |
| | Глобулин који везује полни хормон Sex hormone-binding globulin |
| Фактори раста Growth factors | Фактор раста I сличан инсулину Insulin-like growth factor I |
| | Фактор раста II сличан инсулину Insulin-like growth factor II |
| | Епидермни фактор раста Epidermal growth factor |

долази до деминерализације глеђи зуба. На основу пуферског капацитета пљувачке може се процени-ти ризик за настанак зубног каријеса. Постоји више стандардизованих поступака за одређивање пуферског капацитета пљувачке који су једноставни за употребу у амбулантним условима. Један од најчешће коришћених тестова је *Dentobuff®* (*Vivadent, Liechtenstein/Europe*).

Такође, у процени ризика за настанак зубног каријеса значајно је и одређивање степена колонизације усне дупље кариогеним врстама бактерија (*Streptococcus mutans* и *Lactobacillus*). Ове врсте бактерија поседују кариогене одлике, јер производи њиховог метаболизма могу допринети настанку почетне кариозне лезије глеђи зуба, односно њеном ширењу у дентин. Повећање степена колонизације усне дупље овим микроорганизмима указује на значајно већу количину наслага на зубима, лошу оралну хигијену и повећан ризик за настанак каријеса. Степен колонизације оралне регије овим врстама одређује се стандардизованим тестовима: *Dentocult* – *Streptococcus mutans* и *Dentocult* – *Lactobacillus* (*Vivadent, Liechtenstein/Europe*) и *CRT* – *Caries Risk Test* (*Vivadent, Liechtenstein/Europe*). Помоћу *CRT* теста истовремено се може доказати степен колонизације усне дупље обе врсте кариогених бактерија, уз примену пљувачке као узорка материјала. Ови пљувачки тестови су од велике помоћи стоматологу у процени ризика за настанак зубног каријеса, јер омогућавају да се на време планирају мере превенције а пацијент додатно мотивише у одржавању оралне хигијене.

МОГУЋНОСТИ УПОТРЕБЕ ПЉУВАЧКЕ У ДИЈАГНОСТИКОВАЊУ ПАРОДОНТОПАТИЈЕ

Пародонтопатија је инфективно обољење праћено уништавањем потпорног апарата зуба, које на крају доводи до губитка зуба. Дијагностиковање пародонтопатије заснива се на клиничким параметрима (индекс плака, гингивни индекс, дубина пародонталног џепа, индекс крвављења, ниво припојног епитела) и радиографским параметрима (степен губитка алвеоларне кости). Ова клиничка мерења су корисна за дијагностиковање пародонтопатије, али пружају врло ограничене информације у вези са супклиничким облицима обољења, прогнозом ове болести и проценом ефеката примењене терапије. Анализа биохемијског састава пљувачке може бити значајна као допунски дијагностички тест. У пљувачки се могу доказати бројни биохемијски показатељи патолошког процеса у пародонцијуму (ензими, имуноглобулини, фактори раста, антимицробни пептиди, показатељи липидне пероксидације и оксидационог оштећења ДНК и друго) [15-17].

Испитивање протеина пљувачке применом модификованих електрофоретских метода на основу разлике у електрофоретској покретљивости према молекулским масама и различитом *pH* градијенту омогућава да се сагледа и оцени стање пародонталних ткива у различитим стадијумима обољења пародонцијума. Испитивања применом модификованог метода

на *Pol-E* филму агарозе указују на анодну и катодну електрофоретску покретљивост протеина паротидне пљувачке и на искључиво анодну покретљивост протеинских фракција нестимулисаних мешовитих пљувачке. Киселе протеинске фракције из субмандибулне и сублингвалне жлезде на електрофореграму и дензитограму мешовите пљувачке одговарају, по покретљивости, области албумина. Ензим α амилаза (*pHi* 6,7) стимулисане паротидне и мешовите пљувачке заузима област β глобулина у односу на протеине хуманог серума здравих особа.

Електрофореза на полиакриламидном гелу са додатком натријум-додецилсулфата (*SDS*) мешовите пљувачке особа без знакова обољења пародонцијума показала је да постоји правилан распоред протеинских фракција. Са напредовањем пародонтопатије, што се оцењује вредностима пародонталних индекса, смањује се број раздвојених фракција, које добијају неправилан и замућен изглед, што је нарочито изражено у терминалном стадијуму обољења. Неправилности се односе на базни гликопротеин *Mr 21000* и *Mr 35000* богат пролином, као и калцијум-преципитабилне гликопротеине пљувачке подјезичне жлезде, чија се заступљеност у мешовитом секрету с напредовањем пародонталног обољења интензивира. Фракција калцијум-преципитабилних гликопротеина има покретљивост албумина нормалног хуманог серума и не налази се у паротидној пљувачки.

Испитивања мешовите пљувачке код особа с различитим стадијумима пародонтопатије показала су да се највећи број протеинских фракција јасно и правилно раздвојио у узорцима узетих од особа са здравим пародонцијумом или у узорцима узетих од особа код којих је дијагностикован почетни стадијум пародонтопатије. Са напредовањем пародонталног обољења смањује се број фракција протеина зоне *psA* (посталбумина), а повећава заступљеност протеинских фракција у области *psT* (посттрансферина) [26, 27].

Електрофореза укупних протеина пљувачке, иако пружа одређене информације, релативно је „груб“ аналитички метод. Прецизније информације могу се добити анализом појединачних протеина пљувачке, а због њихове улоге у физиолошким и патолошким процесима који се одигравају на нивоу молекула у пародонталним ткивима. Због тога, бројни протеини пљувачке могу се сматрати потенцијалним показатељима пародонтопатије.

Од пљувачних протеина, могућих показатеља пародонтопатије, нарочито се издвајају бројни ензими, који могу потицати од самих патогених бактерија које су одговорне за настанак овог обољења. У питању су бактеријске протеиназе, које су директно одговорне за разградњу структурних протеина пародонцијума, посебно колагена, као што су: колагеназа, еластаза, гелатиназа, аргинин-протеиназа, лизин-цистеин протеиназа, серин-протеиназа, кератиназа, арилсулфатаза, неураминидаза, фибронектин-деградирјући ензим, фосфолипаза А, ензим сличан трипсину. Значајни су и хидролитички ензими ослобођени из неутрофилних леукоцита као одговор организма на бактеријску инфекцију пародонцијума на локалном нивоу – еластаза, катепсин G, катепсин D, мијелопероксидаза, β глукуронидаза, матриксна металопро-

теиназа 8 (MMP-8) и матриксна металопротеиназа 9 (MMP-9) – који такође могу изазвати уништавање структурних протеина пародонцијума. У пљувачки се анализирају и интраћелијски ензими, одговорни за одигравање метаболичких процеса у ћелијама пародонцијума, који се појачано ослобађају из оштећених ћелија у пљувачку: аминотрансферазе (AST и ALT), лактат-дехидрогеназа (LDH), алкална фосфатаза (ALP), кисела фосфатаза (ACP). Подаци из литературе показују да поменути ензими могу бити показатељи акутног патолошког процеса у пародонцијуму, јер је њихова активност била значајно повећана у пљувачки особа оболелих од пародонтопатије у односу на здраве испитанике. Такође, ови ензими могу бити показатељи степена активности пародонтопатије, јер је установљена позитивна корелација између њихове активности у пљувачки и вредности неких клиничких параметара (гингивни индекс, индекс крвављења, дубина пародонталног џепа и друго). С обзиром на то да се активност појединих ензима (ослобођени из леукоцита) у пљувачки особа оболелих од пародонтопатије значајно смањила после примењене терапије, аутори истичу да ти ензими могу бити корисни и за процену ефеката лечења помнуте болести [16, 17, 28-31].

Осим ензима, и остали протеини пљувачке (тромбоцитни активирајући фактор, ендотелни фактор раста, хепатоцитни фактор раста, лактоферин, фибронектин, цистатини, дефензини) могу се сматрати потенцијалним показатељима пародонтопатије. Током истраживања установљена је њихова повећана концентрација у пљувачки оболелих особа у односу на здраве испитанике. Нарочито су занимљиви протеини (цистатини, лактоферин) чија се концентрација у пљувачки испитаника оболелих од пародонтопатије значајно смањила после лечења, који показују да ли се и на молекулском нивоу стишао патолошки процес и у којој мери [16, 17, 32-35].

Пародонтална обољења су, по правилу, праћена квантитативним и квалитативним променама имуноглобулина. Те промене се могу пратити анализом гингивне течности и пљувачке. Одређивање нивоа пљувачких имуноглобулина је значајно, како за постављање дијагнозе, тако и за прогнозу пародонталних обољења, као и за праћење ефеката лечења ових обољења. С обзиром на то да у пародонталним обољењима постоји селективна дистрибуција појединих категорија имуноглобулина, развијени су методи за процену њиховог садржаја током обољења. Једноставан и осетљив *Dot Blot Assay* је погодан за откривање поткласа имуноглобулина G у пљувачки и гингивној течности, а *ELISA (Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay)* за откривање поткласа имуноглобулина A. Одређивање нивоа ових имуноглобулинских изотипова у оралним течностима је значајно у процени степена запаљења гингиве [33, 36-40].

Једна од значајних улога пљувачке у оралној хомеостази је антиоксидациона заштита оралне средине, што овај секрет обезбеђује својим специфичним ензимима (пљувачна пероксидаза, супероксид-дизмутаза, глутатион-пероксидаза и глутатион-редуктаза), као и неким неензимским антиоксидансима (мокраћна киселина, албумини, глутатион). Испитива-

ње антиоксидационе способности пљувачке особа оболелих од пародонтопатије показало је да је укупни антиоксидациони капацитет овог секрета значајно смањен у односу на здраве испитанике. Друга студија је показала да је у пљувачки повећан садржај малондиалдехида (MDA), познатог показатеља степена липидне пероксидације у ткивима, што говори у прилог томе да оксидациони стрес има значајно место у патогенези ове болести. Због тога се у превенцији пародонтопатије, поред осталих познатих мера, препоручује и примена антиоксиданса, као што су витамини A, C, E и биоелемент селен [41-47].

Лабораторијски дијагностички тест би требало да буде високоспецифичан и осетљив да би био валидан за дијагностиковање неког обољења. С обзиром на сложену етиопатогенезу пародонтопатије, испитивање једног састојка пљувачке било би недовољно специфично и осетљиво за постављање дијагнозе, прогнозу или процену ефеката лечења. Међутим, анализирање више пљувачких показатеља обезбедило би много прецизније информације у вези с овим обољењем.

МОГУЋНОСТИ УПОТРЕБЕ ПЉУВАЧКЕ У ДИЈАГНОСТИКОВАЊУ ОРАЛНОГ КАРЦИНОМА

Испитивање пљувачке, према мишљењу многих аутора, значајно је и код дијагностиковања оралног карцинома. Предмет истраживања студије кинеских аутора [48] био је *p53* у пљувачки као могући биохемијски показатељ оралног сквамозног карцинома. У узорцима пљувачке код 71% испитаника оболелих од оралног сквамозног карцинома пре операције су забележене мутације на *p53* специфичне за тумор. У настанку оралног карцинома значајну улогу имају слободни радикали и оксидациони стрес. Највећи број радова из доступне литературе на тему могућности употребе пљувачке као узорка биолошког материјала у дијагностиковању оралног карцинома управо је посвећен антиоксидационој заштити овог секрета [48-52]. Тако је у радовима испитиван утицај пушења, најчешћег фактора ризика за настанак оралног карцинома, на садржај појединих антиоксиданса пљувачке код испитаника који нису оболели од ове болести. Установљено је да пушење значајно смањује садржај пљувачног глутатиона, значајног неензимског антиоксиданса [52].

У другој студији испитиван је утицај пушења на активност ензима пљувачке пероксидазе, која је значајна у антиоксидационој заштити оралне средине од слободних радикала, чији је настанак у вези с овом штетном навиком. Установљено је да пушење смањује активности пљувачке пероксидазе за чак 60%. Анализа неензимских антиоксиданса спроведена је и у пљувачки особа оболелих од оралног карцинома у поређењу са здравим испитаницима. Установљено је значајно смањење садржаја мокраћне киселине и албумина у пљувачки оболелих испитаника у односу на испитанике контролне групе [50, 51]. Из горенаведеног се може закључити да испитивање антиоксидационих особина пљувачке може бити од користи за унапређење мера превенције у настанку

оралног карцинома, па се, као и у случају пародонтопатије, препоручује примена разних антиоксиданса.

МОГУЋНОСТИ УПОТРЕБЕ ПЉУВАЧКЕ У ДИЈАГНОСТИКОВАЊУ ИНФЕКТИВНИХ ОБОЉЕЊА

Крв, односно серум крви данас представља узорак биолошког материјала који се користи у свакодневном, рутинском дијагностиковању инфективних обољења. Међутим, последњих деценија двадесетог века чине се велики напори да се серум крви као узорак материјала замени неком другом врстом. Један од њих свакако може бити пљувачка, нарочито ако је инфицирана орофаринксна регија. Али, њена употреба као узорка биолошког материјала може бити значајна и у лабораторијском дијагностиковању великог броја системских инфективних обољења. Треба истаћи да се за потребе доказивања антитела специфичних према различитим патогенима користи искључиво нестимулисана пљувачка, која се лучи током највећег дела дана и најверније одсликава вредности концентрација свих састојака значајних за лабораторијско дијагностиковање инфективних обољења.

Пљувачку чине многе компоненте које представљају чиниоце неспецифичне хуморалне имуности, као што су: лактоферин, лизозим, пероксидаза, компоненте алтернативног пута активације комплекса, интерферони типа 1. У њој се налазе значајне количине цитокина, фактора некрозе туморских ћелија алфа ($TNF-\alpha$) и β_2 микроглобулин. Њихово доказивање, као и утврђивање њихове концентрације у пљувачки значајно је у прогнози *HIV* и неких других инфекција [53, 54]. Поред тога, у пљувачки се налазе антитела класе *IgA*, *IgG* и *IgM*, које су значајне за серолошко дијагностиковање инфективних обољења [55, 56].

Са покушајима увођења замена серума крви у лабораторијско дијагностиковање инфективних обољења, јавио се проблем примене одговарајућих тестова којима би било могуће доказати одговарајућа антитела у таквим материјалима. Због малих концентрација пљувачних имуноглобулина, они морају имати висок степен осетљивости и специфичности. Почетком осамдесетих година двадесетог века уведени су имуноензимски тестови (*ELISA*) у рутинску лабораторијску праксу. Они у почетку нису показивали задовољавајућу осетљивост при примени ради доказивања постојања и квантификовања антитела у узорцима материјала као што је пљувачка. Поређење налаза антитела специфичних према *HIV* у серуму и пљувачки било је неуспешно због малог степена осетљивости примењеног *ELISA* теста и немогућности откривања пљувачних анти-*HIV IgG* антитела [57]. Временом је дошло до усавршавања постојећих тестова побољшавањем њихове осетљивости и специфичности ради доказивања различитих врста инфективних агенаса [55, 58-60]. Студије које су се бавиле налазом специфичних анти-*HSV1* антитела у серуму и пљувачки имунокомпетентних и особа оболелих од сиде са примарном и секундарном *HSV* инфекцијом у орофаринксној регији урађене су и

код нас. Добијени резултати су показали могућност употребе пљувачке не само код серолошког дијагностиковања *HSV* инфекције, већ и могућност разликовања примарне инфекције од рекурентне на основу вредности авидитета пљувачних *IgG* [61]. Као резултат технолошког развоја данас постоје методи којима је могуће врло брзо и поуздано доказати геном многих врста патогена у различитим материјалима, укључујући и пљувачку. Једна од њих је ланчана реакција полимеразе (*PCR*), која већ има примену у лабораторијској пракси доказивања припадника фамилије *Herpesviridae* у пљувачки особа које су *HIV*-позитивне [62]. Такође, рутинска примена *PCR* метода омогућава брзо откривање вируса рабијеса у пљувачки, што је од великог значаја за правовремену и ефикасну серопротекцију и серотерапију [60].

Истраживање обављено на Стоматолошком факултету у Београду које је обухватило 40 имунокомпетентних испитаника различитог пола и старости указало је на предност *PCR* метода коришћењем пљувачке као узорка биолошког материјала, у односу на серолошко дијагностиковање *HSV* инфекције орофаринксне регије. У 26 узорка пљувачке доказан је геном *HSV*, док је у 23 узорка крвног серума доказан повећан титар анти-*HSV1* антитела. Притом, код свих испитаника код којих је у узорцима пљувачке *PCR* методом доказан вирусни геном доказан је и повишен титар анти-*HSV1* антитела (необјављени подаци).

ЗАКЉУЧАК

Пљувачка је биолошки материјал чије је прикупљање једноставно и безболно за болесника, не захтева скупу опрему и посебно обучено особље. Овај поступак је такође релативно безбедан, како за болесника, тако и за здравствено особље. Због блиског контакта с оралним ткивима, пљувачка садржи бројне показатеље патолошких процеса у овим ткивима. Може се користити не само за постављање дијагнозе обољења, већ и за процену тежине патолошких стања. Овај секрет одражава промене које се дешавају на молекуларном нивоу у оралним ткивима, што се не може утврдити клиничким прегледом. Поред тога, испитивање пљувачке је корисно за утврђивање ефеката примењене терапије, као и за унапређење мера превенције оралних обољења. Овоме треба додати чињеницу да многи биохемијски и серолошки тестови у којима се као узорак материјала користи пљувачка још нису до те мере усавршени да се могу користити у свакодневной рутинској пракси. Истраживања која се баве овом проблематиком усмерена су у правцу усавршавања њихове осетљивости, специфичности и поједностављења употребе, како би се омогућило њихово свакодневно коришћење у рутинском раду.

ЛИТЕРАТУРА

1. FDI Working Group 10 CORE. Saliva: Its role in health and disease. *Int Dent J* 1992; 42:291-304.
2. Sreebny LM. Saliva in health and disease: an approach and update. *Int Dent J* 2000; 3:140-61.
3. Todorović T. Oralna biohemija. Beograd: Stručna knjiga; 2004.

4. Aquirre A. Sialochemistry: a diagnostic tool? *Crit Oral Biol Med* 1993; 4:343-51.
5. Dubayova K, Kusnir J. Problems and perspectives of wider use of saliva for diagnostic purpose. *Bratisl Lek Listy* 1996; 5:304-7.
6. Hofman LF. Human saliva as a diagnostic specimen. *J Nutr* 2001; 131:1621-5.
7. Karin M. Saliva as an analytical tool in toxicology. *International Journal of Drug Testing* 2000; 1-33.
8. Lawrence HP. Salivary markers of systemic disease: Noninvasive diagnosis of disease and monitoring of general health. *J Can Dent Assoc* 2002; 68:170-4.
9. Mandel ID. The diagnostic uses of saliva. *J Oral Pathol Med* 1990; 3:119-25.
10. Malamud D. Saliva as a diagnostic fluid. *Br Med J* 1992; 305: 207-8.
11. Mortimer P, Parry JV. Non-invasive virological diagnosis: are saliva and urine specimens adequate substitutes for blood? *Rev Med Virol* 1991; 1:73-8.
12. Pavlica D, Todorović T. Pljuvačka – dijagnostička tečnost? *SGS* 2001; 48:137-41.
13. Rantonen P. Salivary flow and composition in healthy and diseased adults. Helsinki: Dissertation; 2003.
14. Streckfus CF, Bigler LR. Saliva as a diagnostic fluid. *Oral Diseases* 2002; 8:69-76.
15. Kaufman E, Lamster IB. Analysis of saliva for periodontal diagnosis. *J Clin Periodontol* 2000; 27:453-65.
16. Numabe Y, Hisano A, Kamoi K, Yoshie H, Ito K, Kurihara H. Analysis of saliva for periodontal diagnosis and monitoring. *Dentistry in Japan* 2004; 40:115-9.
17. Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. *Clinica Chimica Acta* 2004; 343:1-16.
18. Alaluusua S, Kleemola-Kujala E, Gronroos L, Evalahti M. Salivary caries-related tests as predictors of future caries increment in teenagers. A three-year longitudinal study. *Oral Microbiol Immunol* 1990; 5:77-81.
19. Hall AF, Creanor SL, Strang R, Foye R. Determination of plaque pH changes within the trough of an in situ appliance used to study mineral changes in early carious lesions. *Caries Res* 1997; 31:50-4.
20. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz CJ. Biological factors in dental caries: Role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization. *Clin Pediatr Dent* 2003; 28:47-52.
21. Houte J. Microbiological predictors of caries risk. *Adv Dent Res* 1993; 7:87-96.
22. Messer LB. Assessing caries risk in children. *Australian Dental Journal* 2000; 45:10-6.
23. Shellis RP, Dibdin GH. Analysis of the buffering systems in dental plaque. *J Dent Res* 1988; 67:438-46.
24. Vehkalahti M, Nikula-Sarakorpi E, Paunio I. Evaluation of salivary tests and dental status in the prediction of caries increment in caries-susceptible teenagers. *Caries Res* 1996; 3:22-8.
25. Vulović M, Carević M, Ivanović M. Dijagnostika rizika za pojavu oralnih oboljenja. *SGS* 1993; 40:28-40.
26. Henskens YM, van der Weiden FA, van den Keibus PA, et al. Effect of periodontal treatment on the protein composition of whole and parotid saliva. *J Periodontol* 1996; 67:205-12.
27. Mirković S. Elektroforetsko ispitivanje proteina humane pljuvačke [doktorska disertacija]. Beograd: Stomatološki fakultet; 1987.
28. Cesco RT, Ito IY, Albuquerque RF. Levels of aspartate aminotransferase (AST) in saliva of patients with different periodontal conditions. *J Clin Periodontol* 2003; 30:752-5.
29. Todorović T, Ljušković B, Jović P, Pejović J. Enzimi pljuvačke – mogući biohemijski markeri oboljenja parodontalnih tkiva. *SGS* 1999; 46:7-14.
30. Lamster IB, Kaufman E, Grbic JT, Winston LJ, Singer RE. Beta-glucuronidase activity in saliva: relationship to clinical periodontal parameters. *J Periodontol* 2003; 74:353-9.
31. Uitto VJ, Nieminen A, Coil J, Hurtta H, Larjava H. Oral fluid elastase as an indicator of periodontal health. *J Clin Periodontol* 1996; 23:30-7.
32. Garito ML, Prihoda TJ, McManus LM. Salivary PAF levels correlate with the severity of periodontal inflammation. *J Dent Res* 1995; 74:1048-56.
33. Henskens YM, van den Keibus PA, Veerman EC, et al. Protein composition of whole and parotid saliva in healthy and periodontitis subjects. Determination of cystatin, albumin, amylase and IgA. *J Periodontol Res* 1996; 31:57-65.
34. Jentsch H, Sievert Y, Gocke R. Lactoferrin and other markers from gingival crevicular fluid and saliva before and after periodontal treatment. *J Clin Periodontol* 2004; 31:511-4.
35. Mizukawa N, Sugiyama K, Ueno T, Mishima K, Tagaki S, Sugahara T. Levels of human defensin-1 an antimicrobial peptide in saliva of patients with oral inflammation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endot* 1999; 87:539-43.
36. Brajović G, Stefanović G. Immunoglobulins in gingival fluid and saliva in reference to the degree of gingival inflammation. 9th Congress of the Balkan Stomatological Society. Ohrid; 2004.
37. Haegewald SJ. Salivary IgA in response to periodontal treatment. *Eur J Oral Sci* 2003; 111:203-8.
38. Stefanović G, Milošević-Jovčić N, Ilić V, Ćirić D. Subclasses of salivary IgG. 6th Congress of the Balkan Stomatological Society. Bucharest; 2001.
39. Stefanović G, Ilić V, Ćirić D, Milošević-Jovčić N. Dot Blot assay for quantitative measurement of human salivary IgG subclasses. 7th Congress of the Balkan Stomatological Society. Kushadasi; 2002.
40. Stefanović G, Brajović G, Milošević-Jovčić N, Ilić V, Ćirić D. Immunoglobuline glycoforms in gingival fluid and saliva in periodontal disease. 9th Congress of the Balkan Stomatological Society. Ohrid; 2004.
41. Batino M, Ferreira MS, Gallardo I, Newman HN, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol* 2002; 29:189-94.
42. Broock GR, Butterworth CJ, Matthews JB, Chapple ILC. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol* 2004; 31:515-21.
43. Diab-Ladki R, Pellat B, Chahine R. Decrease in the total antioxidant activity of saliva in patients with periodontal disease. *Clin Oral Investig* 2003; 7:103-7.
44. Moore S, Calder KA, Miller NJ, Rice-Evans CA. Antioxidant activity of saliva and periodontal disease. *Free Radic Res* 1994; 21:417-25.
45. Nagler MR, Klein I, Zarzhevsky N, Drigues N, Reznick AZ. Characterization of the differentiated antioxidant profile of human saliva. *Free Radic Biol and Med* 2002; 32:268-77.
46. Sculley DV, Langley-Evans SC. Periodontal disease is associated with lower antioxidant capacity in whole saliva and evidence of increased protein oxidation. *Clinical Science* 2003; 105:167-72.
47. Todorović T, Jović P. Salivary malondialdehyde as a marker of periodontal disease. 6th Congress of the Balkan Stomatological Society. Bucharest; 2001.
48. Liao PH, Chang YC, Huang MF, Tai KW, Chou MY. Mutation of p53 gene codon 63 in saliva as molecular marker for oral squamous cell carcinomas. *Oral Oncology* 2000; 5:272-6.
49. Guyton KZ, Kensler TW. Oxidative mechanism in carcinogenesis. *Br Med Bull* 1993; 49:523-44.
50. Mandić B, Todorović T. Antioxidant status in oral cancer patients. *Oral Oncology* 2002; 8:38-42.
51. Reznick AZ, Klein I, Eiserich JP, Kross EC, Nagler MR. Inhibition of oral peroxidase activity by cigarette smoke in vivo and in vitro studies. *Free Radical Biology and Medicine* 2003; 34:377-84.
52. 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; 44:485-8.
53. Grant RM, Piwowar EM, Katongole-Mbidde. Comparison of saliva and serum for human immunodeficiency virus type 1 antibody testing in Uganda using a rapid recombinant assay. *Clin Diag Laboratory Immunol* 1996; 8:640-4.
54. Nishainan P, Aziz N, Chung J, Detels R, Fahej JL. Oral fluids as an alternative to serum for measurement of markers of immune status. *Clinical and Diagnostic Immunology* 1998; 5:507-12.
55. Holmstrom P, Synjjanen S, Laine B, Valle SL, Suni J. HIV antibodies in whole saliva detected by ELISA and Western blot assays. *J Med Virol* 1990; 73:245-8.
56. Ramos J, Arce AY, Santos SI, Morones M, Mendoza J. Antigens and antibodies for HIV type 1 in serum, saliva and gingival fluid in patients with advanced disease [abstract]. *Int Conf AIDS*; 1994 Aug 7-12.
57. Archibald DW, Zon LI, Gropman JE. Salivary antibodies as a means of detecting human T cell lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus infection. *J Clin Microbiol* 1986; 24:873-5.
58. Martinez P, Ortez de Lejarazy R, Eiros JM, Perledo E, Flores E. Comparison of two assays for detection of HIV antibodies in saliva. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995; 732:330-6.

59. Parry JV, Perry KR, Mortimer PP. Sensitive assay for viral antibodies in saliva an alternative to test on serum. *The Lancet* 1987; 33: 72-6.
60. Crepin P, Audry L, Rotivel Y, Gacoin A, Caroff C, Bourhy H. Intra-vitam diagnosis of human rabies by PCR using saliva and cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol* 1998; 8:1117-21.
61. Pavlica D. Lokalni i sistemski humoralni imunski status kod pacijenata sa herpes simplex virusnom infekcijom orofaringealne regije [doktorska disertacija]. Beograd: Medicinski fakultet; 2000.
62. Lucht E, Brytting M, Bjerregaard L, Julander I, Linde A. Shedding of cytomegalovirus and herpes viruses 6, 7, and 8 in saliva of human immunodeficiency virus type 1-infected patients and healthy controls. *Clin Infect Dis* 1998; 8:137-41.

USE OF SALIVA AS A DIAGNOSTIC FLUID IN DENTISTRY

Tatjana TODOROVIĆ¹, Ivan DOŽIĆ¹, Dušan PAVLICA², Dejan MARKOVIĆ³, Gavriilo BRAJOVIĆ⁴, Mirjana IVANOVIĆ³, Gordana STEFANOVIĆ⁴, Silvija MIRKOVIĆ⁵, Biljana ANĐELSKI⁵

¹Department of Biochemistry, School of Dentistry, Belgrade; ²Department of Microbiology, School of Dentistry, Belgrade;

³Paedodontic Clinic, School of Dentistry, Belgrade, ⁴Department of Physiology, School of Dentistry, Belgrade;

⁵Department of Chemistry, School of Dentistry, Belgrade

ABSTRACT

Saliva is a secretion of the salivary and mucous glands and is of major importance in the maintenance of oral health. Over the last few decades, saliva has been evaluated as a diagnostic fluid in medicine for determining systemic disease markers as well as for monitoring numerous drugs, narcotics, and hormones. The biochemical analysis of saliva is particularly important in dentistry. The estimation of the risk of appearance and diagnosis of disease, monitoring of disease progression, evaluation of therapy efficacy for caries, periodontitis, premalignant and malignant oral lesions, as well as infectious diseases of the oral cavity, can be assessed by analysing different constituents of saliva. Individuals at risk of caries can be identified using tests that determine saliva flow rate, saliva buffer capacity, and colonisation of the oral cavity by cariogenic bacteria. Today, these

rapid and simple diagnostic tests are used routinely in caries risk determination. The study and use of saliva-based diagnostics have increased over the last few decades. Clinical testing of saliva shows much promise. However, there is a need for much additional research in this area, before the true clinical value of saliva as a diagnostic fluid in dentistry can be determined.

Key words: saliva; diagnostic fluid; oral diseases

Tatjana TODOROVIĆ
OJ institutski predmeti (nastavni predmet Biohemija)
Stomatološki fakultet
Dr Subotića 8, 11000 Beograd
Tel: 011 682 373
E-mail: meche@yubc.net