

Gdański Uniwersytet Medyczny
Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej

Lek.stom. Małgorzata Zając

**Wpływ rodzaju i czasu trwania stymulacji na wydzielanie, skład i właściwości
śliny mieszanej**

Praca na stopień doktora nauk medycznych

Promotor pracy

Dr hab. Barbara Kochańska prof. ndzw.

Gdańsk, 2011

SPIS TREŚCI

I. Wstęp	5
1.1. Ślina mieszana spoczynkowa i stymulowana.....	5
1.2. Tworzenie śliny gruczołowej	7
1.3. Neurologiczny aspekt wydzielania śliny stymulowanej.....	10
1.4. Potencjał stymulacyjny różnych czynników i bodźców.....	11
1.4.1. Mechanoreceptory w jamie ustnej	13
1.4.2. Receptory smaku w jamie ustnej	15
1.4.3. Receptory węchu.....	16
1.4.4. Receptory wzroku – fotoreceptory.....	16
1.4.5. Termoreceptory w jamie ustnej.....	17
1.4.6. Receptory bólu w jamie ustnej.....	18
1.5. Właściwości i składniki śliny istotne w aspekcie jej fizjologicznych funkcji i zdrowia jamy ustnej.....	18
1.5.1. pH śliny i jej zdolności buforowe	20
1.5.2. Lepkość	21
1.5.3. Fosforany nieorganiczne i wapń	21
1.5.4. Białko całkowite	22
1.5.5. Immunoglobuliny IgA.....	25
1.5.6. Lizozym	26
1.5.7. Laktoferyna	27
1.6. Podsumowanie.....	29
II. Cel pracy.....	30
III. Materiał i metody badań	31
3.1. Ocena szybkości wydzielania śliny	35
3.2. Oznaczanie wartości pH śliny oraz jej zdolności buforowych.....	35
3.3. Ocena lepkości śliny.....	35
3.4. Pomiar stężenia fosforanów nieorganicznych w ślinie	36
3.5. Pomiar stężenia jonów wapnia	37
3.6. Oznaczanie stężenia białka całkowitego	37
3.7. Pomiar stężenia lizozymu, laktoferyny i IgA.....	37
IV. Wyniki badań i ich omówienie	40
1. Właściwości fizyko-chemiczne śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechanicznie z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji	40

1.1.	Szybkość wydzielania śliny.....	41
1.2.	Stężenie jonów wodorowych w ślinie oraz zdolności buforowe śliny.....	43
1.3.	Lepkość śliny.....	49
1.4.	Stężenie wapnia i fosforanów nieorganicznych.....	51
1.5.	Stężenie białka całkowitego, lizozymu, laktoferyny, IgA.....	55
2.	Właściwości fizyko-chemiczne śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej chemicznie kwasem cytrynowym z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji.....	63
2.1.	Szybkość wydzielania śliny.....	64
2.2.	Stężenie jonów wodorowych w ślinie oraz zdolności buforowe śliny.....	66
2.3.	Stężenie wapnia.....	72
2.4.	Stężenie białka całkowitego, lizozymu, laktoferyny, IgA.....	74
3.	Właściwości fizyko-chemiczne śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie żuciem gumy z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji.....	82
3.1.	Szybkość wydzielania śliny.....	82
3.2.	Stężenie jonów wodorowych w ślinie oraz zdolności buforowe śliny.....	84
3.3.	Lepkość śliny.....	90
3.4.	Stężenie jonów wapnia.....	92
3.5.	Stężenie białka całkowitego, lizozymu, laktoferyny, IgA.....	94
4.	Zestawienie zależności występujących pomiędzy wzrostem szybkości wydzielania śliny stymulowanej pobieranej w trakcie pierwszych 5 minut stymulacji oraz w ciągu 5 ostatnich minut stymulacji a badanymi właściwościami i składem śliny w zależności od formy stymulacji (Grupa I, II i III).....	102
V.	Dyskusja.....	108
1.	Zmiany właściwości i składu śliny stymulowanej mechanicznie z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji.....	113
2.	Zmiany właściwości i składu śliny stymulowanej chemicznie z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji.....	125
3.	Zmiany właściwości i składu śliny stymulowanej mechaniczno-chemicznie żuciem gumy z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji.....	132
VI.	Wnioski.....	159

VII. Streszczenie	162
VIII. Spis Schematów.....	172
IX. Spis tabel.....	173
X. Piśmiennictwo	176

I. Wstęp

1.1. Ślina mieszana spoczynkowa i stymulowana

Ślina mieszana (ang. *mixed saliva*), zarówno spoczynkowa jak i stymulowana składa się ze śliny gruczołowej, produkowanej przez duże gruczoły ślinowe, jakimi są ślinianki przyuszne, podżuchwowe i podjęzykowe oraz przez liczne (w piśmiennictwie ocenia się ich liczbę na ok. 450-750) mniejsze gruczoły ślinowe, znajdujące się w wielu częściach błony śluzowej jamy ustnej i zależnie od lokalizacji nazywanych: policzkowymi, wargowymi, podniebiennymi czy językowymi (7,28,175). W ślinie mieszanej znajduje się także płyn pochodzący ze szczeliny dziąsłowej, a którego ilość zależna jest od stanu przyzębia pacjenta (7,28), jak również bakterie oraz ich metabolity, złuszczone komórki nabłonka, erytrocyty, leukocyty a nawet resztki pokarmu (7,28,175).

Ślina całkowita¹ składa się głównie z wody (94-99,5%) i w zależności, czy jest to ślina spoczynkowa czy stymulowana zawiera od 0,5% do 6% substancji stałych. W przypadku śliny stymulowanej proteiny stanowią 0,3%, a substancje nieorganiczne 0,2% (2,175). Białko całkowite (1-2 mg/ml) stanowią głównie glikoproteiny (mucyny), białka surowicy krwi (albuminy, globuliny), a także enzymy (m.in.: lizozym, peroksydaza, alpha-amylaza, anhydraza węglanowa), immunoglobuliny (IgA, IgG, IgM) oraz peptydy (cystatyna, stateryna, histatyny, białka bogate w prolinę) posiadające poza właściwościami przeciwbakteryjnymi, przeciwwirusowymi i przeciwgrzybiczymi powinowactwo do hydroksyapatytów szkliska (128). W ślinie znajdują się także laktoferyna, substancje grupowe krwi (układu ABO), kallikreina oraz naskórkowy czynnik wzrostu (EGF). Niektóre hormony, których poziom zazwyczaj mierzony jest we krwi, mogą dostawać się do śliny z krwi drogą transportu aktywnego lub dyfuzji. Jak wynika z piśmiennictwa, mogą one również znajdować się w ślinie pierwotnie lub pochodzić z obu tych źródeł równocześnie (dotyczy to np. estrogenu, testosteronu czy insuliny) (28,52,115,209).

Ślina zawiera też witaminy A, B, C, K wytwarzane przez drobnoustroje i pochodzące z resztek pokarmowych. Substancje nieorganiczne obecne w ślinie mieszanej to, dwuwęglany, fosforany, jony wapnia, sól, potas, chlor, jony magnezu oraz SCN^- , NH_3 . (7,154,175)

Duże gruczoły ślinowe wytwarzają ok. 90% całkowitej objętości śliny. Ślinianki przyuszne są największymi gruczołami ślinowymi, całkowicie surowiczymi (2,28,67), które

¹ Ślina całkowita (ang. *whole saliva, oral fluid*) w piśmiennictwie jest synonimem śliny mieszanej (50)

wywarzają rzadką, wodnistą i bogatą w amylazę ślinę. Mniejsze ślinianki podżuchwowe, które są gruczołami mieszanymi, zawierają komórki pęcherzykowe zarówno surowicze jak i śluzowe, z przewagą surowiczych (2,28,67). Ślinianki te wydzielają ślinę bardziej lepka, śluzowatą oraz bogatą w mucyny (67). Najmniejszymi z dużych gruczołów ślinowych są ślinianki podjęzykowe - składają się one głównie ze śluzowych komórek pęcherzykowych (2) i produkują lepka wydzielinę (67). Małe gruczoły ślinowe, które odpowiedzialne są za produkcję jedynie 10% objętości całkowitej śliny mieszanej, wydzielają dużą ilość białek ślinowych. Małe gruczoły ślinowe należą do gruczołów mieszanych, z przewagą komórek pęcherzykowych śluzowych (28). Wyjątek stanowią gruczoły podniebienne - całkowicie śluzowe, oraz gruczoły językowe Ebnera – całkowicie surowicze (67,108). Około 70% wydzielanej śliny spoczynkowej pochodzi ze ślinianek podżuchwowych, podjęzykowych i małych gruczołów ślinowych obecnych w całej jamie ustnej. Podczas stymulacji smakowej (w trakcie picia, jedzenia) 60% wydzielonej śliny pochodzi ze ślinianek przyusznych (142). W prawidłowych warunkach dzienna ilość produkowanej śliny gruczołowej waha się od 0,5 do 1 litra (67). W warunkach fizjologicznych uwzględniając wszystkie czynniki regulujące wydzielanie, dorosły człowiek produkuje ok. 1-1,5 litra śliny mieszanej w ciągu doby (7).

Ślinę znajdującą się w jamie ustnej można podzielić na ślinę wydzielaną w warunkach spoczynkowych oraz wydzielaną w trakcie stymulacji. Przyjmuje się, że spoczynkowe wydzielanie śliny wynosi 0,33 – 0,55 ml/min i może ulegać indywidualnym wahaniom. Ślina spoczynkowa stanowi znaczną część śliny wydzielonej do jamy ustnej w trakcie doby. W warunkach fizjologicznych ślina spoczynkowa może być wydzielana przeciętnie przez 22 godziny w ciągu doby, można więc powiedzieć, że ma największy swój udział w rytmie dobowym wydzielania śliny mieszanej. Wydzielanie śliny niestymulowanej może być hamowane w trakcie snu, lęku czy depresji (67,162). Również zmiany hormonalne pojawiające się w trakcie menopauzy mogą powodować zmniejszenie ilości wydzielanej śliny spoczynkowej (7). Zmniejszone wydzielanie śliny często obserwuje się u starszych pacjentów i jest to związane z większą częstością występowania chorób układowych oraz na skutek stosowania licznych leków (przeciwdepresyjnych, przeciwlękowych, przeciwhistaminowych czy diuretycznych) (67).

Ślina spoczynkowa jest głównie odpowiedzialna za utrzymanie wilgotności błony śluzowej oraz zdrowia jamy ustnej (142). Ślina spoczynkowa wydzielana jest niezależnie od dopływu bodźców zewnętrznych, takich jak: bodźce wzrokowe, zapachowe, smakowe, czy odruch żucia. Ślina spoczynkowa składa się z dwóch komponentów. Jednym z nich jest ślina spontanicznie wydzielana przez liczne drobne gruczoły ślinowe, znajdujące się

między innymi na podniebieniu, które produkują niewielkie ilości śliny nawet po podaniu antycholinergicznych leków, tj. atropina (84). Emmelin stwierdził, iż u ludzi w głębokiej anestezji, po zastosowaniu atropiny, większość gruczołów ślinowych przestawała pracować, jedynie niektóre z nich nadal produkowały i wydzyelały ślinę i były to wcześniej wspomniane małe gruczoły ślinowe. W badaniach prowadzonych na zwierzętach stwierdzono, że gruczołami spontanicznie wydzielającymi ślinę u zwierząt, mimo obecności blokerów wydzielania śliny, były np. ślinianki podżuchwowe u królików, a w przypadku kotów, psów i szczurów - ślinianki podjęzykowe (cyt.84). Drugim równie ważnym komponentem śliny spoczynkowej jest ślina powstająca w odpowiedzi na uczucie suchości błony śluzowej jamy ustnej oraz jako skutek stymulacji mechanicznej o nieznacznym natężeniu podczas ruchu szczęk i języka (142).

Ślina stymulowana wydzielana jest przez ok. 2 godziny w ciągu doby (143). Do istotnych czynników wpływających na jej wydzielanie należą rodzaj bodźca oraz czas jego trwania, a także wielkość gruczołu ślinowego (90,152,153), wiek (17) oraz płeć (171,202,217). Pobudzenie mechaniczno-chemiczne ślinianek podczas przyjmowania pokarmów (stymulacja) powoduje zwiększenie wydzielania śliny do ok. 1,5-2,3 ml/min. Różnice w sekrecji śliny stymulowanej mogą zależeć od czynników wewnątrzustrojowych lub zewnątrzustrojowych. Wydzieliny ślinianek mogą różnić się składem chemicznym, który zależy między innymi rodzaju stymulacji i czasu jej trwania, a także zakażeń ogólnoustrojowych i podawanych środków farmakologicznych, które w znacznej ilości mogą przenikać do śliny lub zmniejszać jej wydzielanie (7,75,84,133,147,188,189,190,212).

1.2. Tworzenie śliny gruczołowej

Ślinianki są gruczołami cewkowo-pęcherzykowymi, których zrąb tworzy tkanka łączna wiotka, wnika ją pasmami w miąższ gruczołu, oddzielając od siebie grupy płacików oraz poszczególne płaciki. Płacik gruczołowy jest histologiczną jednostką tworzącą zrąb ślinianek (154). Podstawę płacików ślinowych stanowią pęcherzyki gruczołowe połączone rozgałęzionym układem cewek tworzących drogi wyprowadzające ślinę do jamy ustnej. Pęcherzyki gruczołowe wraz z całym układem cewek tworzą końcowy odcinek wydzielniczy, będący jednostką czynnościową gruczołów ślinowych zwaną saliwonem. Część pęcherzykowa saliwonu wytwarza wydzielinę pierwotną, skład której zmienia się podczas przepływu przez układ cewek (154,156). Część wydzielnicza (pęcherzyk lub cewka) zbudowana jest z komórek nabłonkowych o charakterze śluzowym lub surowicznym. Jeśli w skład części wydzielniczej wchodzi tylko komórki surowicze to przyjmuje ona

postać pęcherzyka, jeśli komórki śluzowe to przyjmuje ona postać cewki (154,156) Gruczoły ślinowe zawierające tylko komórki śluzowe, wytwarzają prawie wyłącznie śluz, gruczoły ślinowe zbudowane wyłącznie z komórek surowiczych wytwarzają ślinę surowiczą, natomiast gruczoły mieszane zbudowane zarówno z komórek surowiczych jak i śluzowych wydzielają ślinę mieszaną (201).

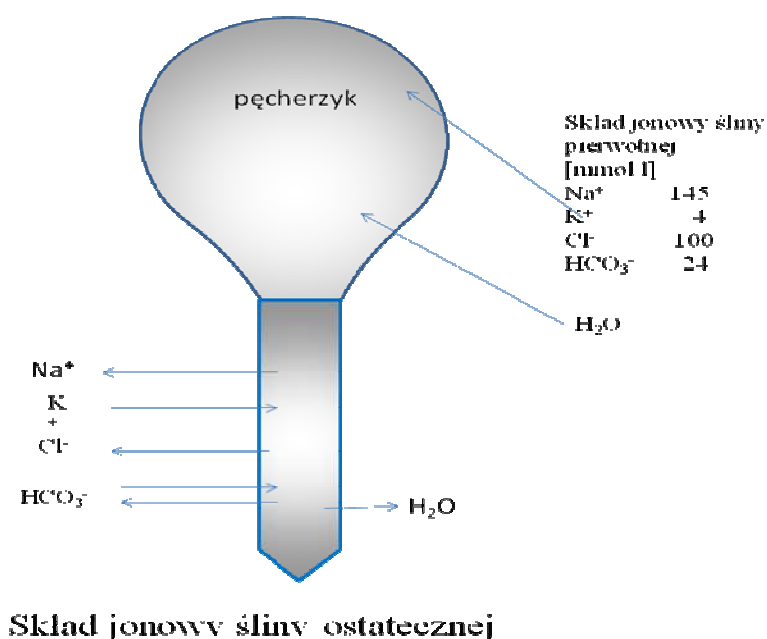
Proces powstawania śliny jest procesem dwustopniowym, w trakcie, którego powstaje najpierw ślina oznaczana jako pierwotna, która następnie przechodzi w ślinę ostateczną. W pierwszym etapie w pęcherzyku, komórki sekrecyjne wydzielają wodę i elektrolity w takiej proporcji, że powstająca ślina pierwotna jest izotoniczna, a składem jonowym przypomina osocze (67,207). Następnie ślina pierwotna w układzie przewodów ulega modyfikacji poprzez selektywną czynną resorpcję jonów Na^+ i Cl^- (bez wody) i sekrecję K^+ i HCO_3^- (207,67). Ponieważ komórki przewodów prążkowanych są względnie nieprzepuszczalne dla wody, osmolarność śliny maleje. W dalszych odcinkach dróg wyprowadzających dochodzi do czynnego wydzielania jonu wodorowęglanowego, co prowadzi do lekkiej alkalizacji śliny (pH 7,8). Należy zaznaczyć, że ze względu na czynną resorpcję sodu oraz brak wchłaniania wody ślina ostateczna jest hipotoniczna i uboga sodowa (67,96).

Jednym z czynników wpływających na wydzielanie śliny jest wzrost stężenia jonów Ca^{2+} . Wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia wymienionych jonów powoduje otwarcie kanałów chlorkowych oraz potasowych (67). Wypływ jonów Cl^- prowadzi do przechodzenia jonów Na^+ do światła przewodu, co ma zrównoważyć wewnątrzkomórkowy gradient elektrochemiczny. Wzrost ciśnienia osmotycznego w świetle pęcherzyka lub cewki wywołany zwiększeniem stężenia jonów chloru i sodu wywołuje napływ wody. Zachodzi on przez kanały (tzw. akwaporyny) w błonie komórkowej oraz przez połączenia zamykające pomiędzy komórkami. Wewnątrzkomórkowa równowaga jonowa i osmotyczna utrzymywana jest dzięki pompie sodowo-potasowej (ATP-azie Na^+K^+) oraz ko-transportowi $\text{Na}^+,\text{K}^+/2\text{Cl}^-$. W ostatecznym rezultacie wydzielanie wody i jonów tworzących ślinę pierwotną wymuszane jest przez aktywny transport elektrolitów do komórek sekrecyjnych (67).

Szybkość z jaką ślina gruczołowa przepływa przez przewody gruczołów ślinowych (która w pewnym sensie ma charakter osobniczy) wpływa na stężenie znajdujących się w niej elektrolitów. Przy dużej szybkości wydzielania śliny zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej, ślina wydzielana do jamy ustnej jest bardziej hipotoniczna, niż w przypadku śliny wydzielanej z mniejszą szybkością. W ślinie gruczołowej stymulowanej

obserwowano wyższe stężenia jonów sodu oraz chloru (67) oraz spadek stężeń potasu i fosforanów w porównaniu ze śliną spoczynkową (28). Mechanizmy odpowiedzialne za resorpcję jonów Na^+ wykazują maksymalną pojemność transportową, a przewody mają ograniczony czas na zmianę składu elektrolitycznego przy wysokich stymulowanych szybkościach wydzielania, więc resorpcja nie nadąża za tym procesem i ślina stymulowana staje się mniej hipotoniczna, z wyższymi stężeniami Na^+ i Cl^- niż ślina spoczynkowa (67). W przypadku białka całkowitego w ślinie gruczołowej stymulowanej obserwowano spadek jego stężenia wraz ze wzrostem szybkości wydzielania tej śliny (7).

Niektóre ze związków znajdujących się w ślinie dostają się do niej drogą dyfuzji komórkowej, inne drogą transportu aktywnego przez kanały białkowe (28) lub ultrafiltracji. Droga dyfuzji dotyczy związków rozpuszczalnych w lipidach, które przechodzą przez błony komórkowe (np. wolne hormony sterydowe). W przypadku ultrafiltracji z wodą przechodzą pomiędzy komórkami pęcherzykowymi gruczołów ślinowych molekuly o masie mniejszej od 1,9kD, takie jak np. glicerol, sacharoza, zestryfikowane hormony sterydowe oraz katecholaminy, przy czym ich stężenie w ślinie jest około 300-3000 razy niższe, niż we krwi (28,207).



Schemat 1. Tworzenie śliny pierwotnej i ostatecznej (opracowane według Fejeskov, Tadlock)(67,192)

1.3. Neurologiczny aspekt wydzielania śliny stymulowanej

Bodźce zewnętrzne, do których należą smak, zapach pożywienia, żucie i ból, docierają do centralnego układu nerwowego (7). Impulsy nerwowe, po zadziałaniu odpowiednich bodźców zapoczątkowują wydzielanie śliny stymulowanej (201). Cały proces jednak jest kontrolowany oraz zależny od neurotransmiterów, które są uwalniane na zakończeniach nerwowych gruczołów ślinowych. Receptory czuciowe znajdujące się w jamie ustnej drogą nerwów: trójdzielnego, twarzowego oraz językowo-gardłowego przewodzą impulsy nerwowe do jąder ślinowych rdzenia przedłużonego (67). W trakcie żucia aktywowane zostają mechanoreceptory w ożębnej oraz chemoreceptory w kubkach smakowych. Ślina powstaje na skutek jednostronnego, ośrodkowego odruchu. Szybkość przepływu jest uzależniona od natężenia działającego bodźca, niezależnie czy jest to np. intensywność smaku kwasu cytrynowego czy częstotliwość żucia (67). Z jąder ślinowych informacje przekazywane są do nerwów współczulnych i przywspółczulnych biegnących do ślinianek. Aktywując swoiste receptory na błonie komórkowej części wydzielniczej

gruczołu, zarówno włókna współczulne jak i przywspółczulne biorą udział w wydzielaniu śliny (67,201). Należy zaznaczyć, iż surowicza część gruczołów ślinowych unerwiona jest wyłącznie przez układ współczulny, natomiast część śluzowa posiada włókna współczulne oraz przywspółczulne (28). Głównymi transmitterami aktywującymi wydzielanie śliny w części obwodowej nerwów są acetylocholina (układ przywspółczulny) oraz noradrenalina (układ współczulny). Istotną rolę odgrywają również ATP (adenozynotrójfosforan), NO (tlenek azotu), substancja P, VIP (wazoaktywny peptyd jelitowy –ang. vasoactive intestinal polypeptide) czy neuropeptyd Y. Część przywspółczulna układu autonomicznego odgrywa decydującą rolę w wydzielaniu śliny stymulowanej, chociaż ma również swój udział w wydzielaniu śliny spoczynkowej. Stymulacja nerwów przywspółczulnych powoduje powstanie wodnistej śliny, o niewielkiej zawartości składników organicznych oraz nieorganicznych, jednak o znacznej szybkości wydzielania (28,67,201). Po przecięciu nerwów przywspółczulnych zmniejsza się aktywność przywspółczulna ślinianek i po pewnym czasie zanika tkanka gruczołowa (201). W wyniku stymulacji części współczulnej produkowana jest ślina lepka, z wysoką zawartością mucyn, jonów potasu (28) oraz niskiej szybkości wydzielania (67). Zmiany wydzielnicze po pobudzeniu współczulnym są wynikiem nie tylko zmian aktywności komórek wydzielniczych, lecz także skurczu naczyń krwionośnych oraz elementów mioepitelialnych, prowadzących do obkurczania przewodów i wyciskania śliny ze zrazików gruczołowych (67,142,162,201).

1.4. Potencjał stymulacyjny różnych czynników i bodźców

Tematem wielu badań dotyczących wydzielania i składu śliny była ocena potencjałów stymulacyjnych różnych czynników i bodźców (30,40,42,74138,212,225). Jak wynika z piśmiennictwa, do czynników stymulujących wydzielanie śliny można zaliczyć bodźce mechaniczne, chemiczne, mechaniczno-chemiczne, termiczne, wzrokowe, akustyczne, które działają na konkretny receptor a następnie poprzez włókna aferentne nerwów czaszkowych trafiają do jąder ślinowych rdzenia przedłużonego, skąd biegną nerwy współczulne i przywspółczulne unerwiające ślinianki.

Receptory, ze względu na rodzaj działającego bodźca można podzielić na (156,193):

- mechanoreceptory, reagujące na odkształcenie, ucisk, dotyk, grawitację i wibracje;
- chemoreceptory, reagujące na chemiczne środowisko wewnętrzne, smak, węch;
- fotoreceptory, odbierające wrażenia świetlne;
- termoreceptory, reagujące na zimno, ciepło;
- nocyreceptory, reagujące na ból;

Ze względu na środowisko działającego bodźca wyróżnia się:

- eksteroreceptory odbierają bodźce ze środowiska zewnętrznego (temperatura, dotyk, uszkodzenie);
- telereceptory odbierają bodźce ze środowiska zewnętrznego dalszego (wzrokowe, słuchowe);
- interoreceptory odbierają bodźce ze środowiska wewnątrzustrojowego;
- proprioreceptory reagujące na zmiany w mięśniach, ścięgnach, torebkach stawowych, narządzie równowagi;

Każdy bodziec odbierany przez narządy zmysłów jest formą energii, która w zetknięciu z receptorem może wywołać w nim określone zmiany – spowodować odkształcenie. Efekty końcowe tych zmian mają charakter elektryczny, polegający na gwałtownych przesunięciach jonowych (zwłaszcza jonów Na^+ , K^+ , Cl^-) przez błonę komórkową receptora. Potencjał elektryczny, który powstaje w receptorze w wyniku jego odkształcenia zwany jest potencjałem generującym. Nie każdy jednak bodziec oddziałujący na receptor jest wystarczająco silny aby wywołać w nim zmianę potencjału elektrycznego. Potencjał generujący zależy od wielkości bodźca i rośnie wraz ze zwiększaniem jego wartości, po osiągnięciu wartości progowej w receptorze indukowany jest impuls elektryczny (71,100).

Receptory mogą wykazywać swoistość, co oznacza, że są nastawione na odbiór jednego rodzaju energii. Receptory znajdujące się w siatkówce oka odbierają energię świetlną, receptory smaku i węchu są nastawione na zmiany składu chemicznego otoczenia, receptory czuciowe w skórze reagują na odkształcenia mechaniczne powstałe w wyniku ucisku, termoreceptory czule są na zmiany temperatur w określonych zakresach (71).

Zakończenia włókien czuciowych tworzą receptory umiejscowione w warstwie podśluzowej błony śluzowej jamy ustnej. Ich szczególnie wrażliwe zakończenia receptorowe penetrują do błony śluzowej, gdzie za pośrednictwem płynu zewnątrzkomórkowego uzyskują łączność ze środowiskiem jamy ustnej. Zakończenia te są wrażliwe na różne rodzaje bodźców (mechaniczne, termiczne, chemiczne) i pełnią w ten sposób rolę mechano-, termo- i chemoreceptorów. Osobną grupą są mniej wyspecjalizowane zakończenia receptyjne, tzw. wolne zakończenia nerwowe, które mają pewną wrażliwość na wyżej wymienioną grupę bodźców, a przede wszystkim na bodźce bólowe (87). Włókna poszczególnych rodzajów znajdują się w obrębie błony śluzowej przyzębia, podniebienia miękkiego oraz twardego, policzków i języka (69).

Jeden bodziec może oddziaływać na różne receptory. Hector i Linden (84) uważają, iż jedzenie jest głównym czynnikiem wpływającym na wzrost szybkości wydzielania śliny powyżej wartości spoczynkowych. Na podstawie własnych doświadczeń stwierdzili, że liczne receptory są pobudzone zarówno przed, w trakcie jak i po spożyciu dowolnego posiłku. Wszystkie te receptory można zaliczyć do kilku wcześniej wymienionych grup receptorów, czyli do: receptorów smaku, żucia, węchu, wzroku, termoreceptorów oraz receptorów nocycceptywnych (84). Podczas jedzenia różne kombinacje wyżej wymienionych receptorów zostają pobudzone i aktywowane. Autorzy stwierdzili także, że wiele innych sytuacji wyłączając jedzenie, również może powodować wzrost wydzielania śliny (np.: odczuwanie nudności, wymioty czy ból) (84). Autorzy stwierdzili, że nie tylko ilość ale również skład śliny mieszanej, znajdującej się w jamie ustnej może różnić się w zależności od rodzaju oraz czasu trwania bodźców stymulujących działających na poszczególne gruczoły ślinowe (84).

1.4.1. Mechanoreceptory w jamie ustnej

Wydzielanie śliny następuje w odpowiedzi na pobudzenie mechanoreceptorów podczas procesu żucia. Już w latach '80 czyniono próby poznania konkretnych mechanoreceptorów zlokalizowanych w jamie ustnej, biorących udział w stymulacji wydzielania śliny. Hector i Linden (85) w jednym ze swoich doświadczeń wykazali dodatnią korelację pomiędzy aktywnością elektromiograficzną żwacza a szybkością wydzielania śliny ze ślinianki przyusznej, zlokalizowanej po tej samej stronie. W tym samym doświadczeniu autorzy wykonując znieczulenie nerwów: zębodołowego dolnego, językowego i zębodołowego górnego stwierdzili znaczną redukcję szybkości wydzielania śliny stymulowanej mechanicznie, wydzielanej przez śliniankę przyuszną, po stronie znieczulenia, w porównaniu do szybkości wydzielania śliny spoczynkowej. Znieczulenie tylko jednego z wymienionych nerwów nie powodowało istotnych zmian w szybkości wydzielania śliny z przyusznic. Doświadczenie udowodniło istotny wpływ zlokalizowanych w obrębie jamy ustnej mechanoreceptorów, a szczególnie receptorów przyzębnych w procesie wydzielania śliny. Już około 100 lat temu (w 1916 r) Lashley (121) stwierdził, że aby pobudzić proces wydzielania śliny należy podczas aktu żucia umieścić „coś” pomiędzy zębami przeciwstawnymi. Jego spostrzeżenia potwierdziły badania Hectora i Linden (85), którzy udowodnili, iż zwykle zaciskanie zębów nie prowadzi do zwiększonego wydzielania śliny, a niejednokrotnie szybkość wydzielonej w ten sposób śliny jest niższa od szybkości wydzielania śliny spoczynkowej. Rola mechanoreceptorów zlokalizowanych w błonie

śluzowej była przedmiotem badań Scott i wsp. (176). Na podstawie badań przeprowadzonych u bezzębnych pacjentów, u których wykonano powierzchniowe znieczulenie maścią znieczulającą błony śluzowej wyrostka zębodołowego szczęki i żuchwy, autorzy dowiedli obecności mechanoreceptorów w śluzówce, obserwując zmniejszone wydzielania śliny w odpowiedzi na proces żucia. Uzyskane przez autorów wyniki sugerują, iż mechanoreceptory zlokalizowane w błonie śluzowej jamy ustnej u bezzębnych pacjentów biorą udział w procesie stymulacji wydzielania śliny. Mechanoreceptory przyzębia, zwane ciałkami Ruffinigo, maksymalną aktywność wykazują podczas ściskania tkanek przyzębia (aparatu zawieszeniowego zęba), czyli głównie podczas bocznych ruchów zębów. Zgrzytanie zębami (bruksizm) w przeciwieństwie do zaciskania, podczas którego ruchy boczne zębów są minimalne, może prowadzić do pobudzenia mechanoreceptorów, czyli zwiększenia wydzielania śliny (6). Stwierdzono, że przyłożenie do zęba siły mniejszej niż 0,5 N powoduje odkształcenie kości wyrostka zębodołowego, co oznacza, że nawet małe siły mogą stymulować receptory sąsiadujących zębów poprzez między przegrodowe sploty włókien kontakty zębów (cyt.203,73).

Jeśli rozważamy wykorzystanie mechanicznych właściwości czynników stymulujących wydzielanie śliny podczas żucia, musimy wziąć pod uwagę takie czynniki jak: siła żucia, szybkość wykonywania ruchów żucia, rozmiar oraz twardość żutego przedmiotu. Lourdis i wsp. (131) badając wpływ częstotliwości wykonywanych ruchów żucia na szybkość wydzielania śliny mieszanej, wyznaczyli średnie wartości tempa żucia występujące u 94% badanych, uznając, że jest to 40-80 ruchów żucia/min. U większości badanych szybkość żucia mieszcząca się w fizjologicznym przedziale nie wpływała istotnie na szybkość wydzielania śliny mieszanej. Lourdis i wsp. stwierdzili, iż tempo żucia powinno być dodatkowym czynnikiem brany pod uwagę (obok czasu pobierania śliny) podczas standaryzacji metod zbierania próbek śliny stymulowanej mechanicznie. Podobne badanie dotyczące zależności pomiędzy siłami żucia (bite forces) a szybkością wydzielania śliny u starszych pacjentów przeprowadzili Ikebe i wsp. (89). W badaniu wzięło udział 934 ochotników (449 mężczyzn i 485 kobiet) w wieku 60-84 lat. Siłę żucia mierzono wykorzystując płytki rejestrujące nacisk (Dental Prescale, Fuji Film Co, Tokio) o grubości 97µm. Wyniki badań wskazywały, że średnia szybkość wydzielania śliny była istotnie wyższa u mężczyzn niż u kobiet. Autorzy wykazali istotną statystycznie zależność pomiędzy szybkością wydzielania śliny a siłą żucia w całej badanej populacji, oraz u kobiet i mężczyzn oddzielnie. Stwierdzili, iż spadek siły żucia ma wpływ na obniżenie szybkości wydzielania śliny niezależnie od płci badanej populacji (89).

Do czynników stymulujących wydzielanie śliny wyłącznie na drodze procesu mechanicznego, często wykorzystywanych w badaniach dotyczących szybkości wydzielania śliny oraz jej składu można zaliczyć: kostkę parafiny o standardowym rozmiarze i wadze, neutralną bazę gumową, cienki płatek parafiny, gumową/kauczukową taśmę, plastikowe krawki o standardowym rozmiarze i kształcie (28,63,64,6,12,31,149,163,165,168,210).

1.4.2. Receptory smaku w jamie ustnej

Receptory smaku są chemoreceptorami pobudzonymi przez substancje chemiczne rozpuszczone w wydzielinie kubka i w ślinie. Substancje te działają na mikrokosmki komórek kubka smakowego i powodują powstanie potencjału generującego, który z kolei odpowiedzialny jest za wyzwolenie potencjału czynnościowego w neuronach czuciowych. Rozpuszczone cząsteczki substancji smakowych w różny sposób wyzwalają potencjał włókien nerwowych, przewodzących różne rodzaje czucia smaku (100). Stwierdzono, że stymulacja receptorów smakowych znajdujących się głównie w kubkach smakowych prowadzi do wzrostu wydzielania śliny (100,192). Objętość oraz skład chemiczny śliny wydzielonej w odpowiedzi na pobudzenie receptorów smaku zależy od jakości/właściwości bodźca stymulującego (84).

Istniejące setki substancji chemicznych wzbudzających aktywność receptorów smaku zalicza się zaledwie do czterech bardzo szerokich kategorii smaku słonego, kwaśnego, słodkiego i gorzkiego (84). Najczęściej wykorzystywanym w badaniach czynnikiem stymulującym wydzielanie śliny na drodze chemicznej był 2-5% kwas cytrynowy (63,74,75,130,202,219) rzadziej 40% cukier oraz 30% chlorek sodu (148). Autorzy badający te związki są zgodni, iż 5% kwas cytrynowy jest jednym z najsilniejszych bodźców pobudzającym większość gruczołów ślinowych. Niższe stężenie kwasu cytrynowego na równi z innymi bodźcami o smaku słonym, słodkim i gorzkim powodują również wzrost szybkości wydzielania śliny, ale już na niższym poziomie (72,75,130,129).

Jak wynika z piśmiennictwa poszczególne bodźce smakowe mogą w różnym stopniu stymulować wydzielanie śliny i tym samym pośrednio wpływać na jej skład, uzyskując w wyniku stymulacji określoną szybkość przepływu przez przewody gruczołów ślinowych, w których następuje absorpcja i sekrecja np. elektrolitów. Istnieją badania stwierdzające, iż bodziec słodki u królików powoduje powolne wydzielanie śliny o wysokiej zawartości protein przez ślinianki przyuszne (78). Dawes & Jenkins (41) wykazali, iż u ludzi bodziec słony powoduje wydzielanie przez śliniankę przyuszną śliny o zwiększonej zawartości

białka w porównaniu do śliny wydzielonej w odpowiedzi na zadziałanie bodźca kwaśnego. W badaniach przeprowadzonych kilka lat później, wykorzystując różne bodźce smakowe: smak słodki, słony, kwaśny i gorzki Dawes (47) ponownie dowiódł, iż u ludzi bodziec słony najsilniej ze wszystkich bodźców wpływa na sekrecję białka przez ślinianki przyuszne. Natomiast Bonnans & Noble w swoim doświadczeniu wykorzystującym bodziec kwaśny, słodki oraz smak owocowy nie wykazali istotnych różnic w szybkości wydzielania śliny u ludzi przez ślinianki przyuszne (20).

1.4.3. Receptory węchu

Receptory węchu, które należą do chemoreceptorów odpowiedzialne za zmysł powonienia również mają swój udział w procesie wydzielania śliny. Znajdują się one w nabłonku nerwowym układu węchowego i reagują na przenoszone przez powietrze lotne molekuly podczas przechodzenia powietrza tylną część jamy nosowej oraz ustną część gardła. Zapachy stymulują urzęsione dendryty neuronów receptorów powonienia przechodzące przez cienką warstwę śluzówki (84). Jest to jedyne miejsce w organizmie człowieka, gdzie komórki nerwowe bezpośrednio odbierają bodźce ze środowiska zewnętrznego. Nabłonek węchowy pokrywa stale warstwa śluzu, która jest jedyną przegrodą dzielącą komórki nerwowe od świata zewnętrznego (201). Shannon (180) i Pangborn (155) w swoich badaniach dowiedli, że stymulacja wyłącznie zapachem wpływała na zwiększone wydzielania śliny przez ślinianki przyuszne. Analizując wyniki badań Lee & Linden (124) można stwierdzić, że zapach cytryny oraz mięty w największym stopniu powodowały wzrost szybkości wydzielania śliny przez ślinianki podżuchwowe.

1.4.4. Receptory wzroku – fotoreceptory

Człowiek ma bardzo dobrze rozwinięty zmysł wzroku. Do rejestrowania bodźców świetlnych służy oko. Wewnętrzna część gałki ocznej- siatkówka, wysłana jest warstwą komórek nerwowych. Siatkówka jest zaopatrzona w fotoreceptory: pręciki i czopki, wyspecjalizowane neurony, posiadające światłoczułe barwniki wzrokowe, zwłaszcza rodopsynę. Czopki są odpowiedzialne za widzenie barwne, szczegółowe – przy dobrym oświetleniu, natomiast pręciki reagują na słabe bodźce świetlne, umożliwiają widzenie czarno-białe. Mechanizm oddziaływania energii świetlnej na receptory polega na zmianach w strukturze cząsteczki rodopsyny. Zmiany te inicjują wewnątrzkomórkowe reakcje biochemiczne, w rezultacie których dochodzi do wytworzenia potencjału generującego i odpowiedniego impulsu elektrycznego. W siatkówce, w kilku warstwach neuronów

wstępnie powstaje obraz obserwowanego przedmiotu. Jednak ostateczna analiza bodźców i ich scalanie w obraz ma miejsce w korze wzrokowej mózgu (71,100).

Ivan Pawłow dokonywał jako pierwszy pomiarów wydzielania śliny u psów badając odruchy warunkowe. Pawłow zauważył, że ślina wydzielana jest już w momencie gdy pies widzi pokarm, a nie dopiero pod wpływem pokarmu znajdującego się w jamie ustnej. W toku dalszych badań stwierdził, że bodźcem warunkowym wywołującym ślinienie może stać się jakikolwiek bodziec niemający związku z widokiem pokarmu (71,100,123).

1.4.5. Termoreceptory w jamie ustnej

Specyficzne receptory wrażliwe na zmianę temperatury, dzięki którym możliwa jest detekcja ciepła i zimna nazywane są termoreceptorami (71,100). Są to bezosłonkowe zakończenia dendrytów protoneuronów o bardzo małych polach recepcyjnych. Receptorów zimna jest od 3 do 10 razy więcej od receptorów ciepła. Termoreceptory ciepła występują w postaci ciałek zmysłowych Ruffiniego, wykazują wrażliwość na temperaturę w zakresie od 30 do 50 °C, bodźce przewodzą włókna C, natomiast termoreceptory zimna to kolbki końcowe Krausego, wrażliwe na temperaturę 12-35°C, impulsy nerwowe przewodzą włókna Aδ. Temperatura **zero fizjologiczne** to stan, w którym notuje się jednakową temperaturę powierzchni np. skóry oraz otoczenia. W takiej sytuacji nie są pobudzane żadne receptory. Niewielkie wolne zmiany w granicach 20-40°C nie powodują wrażeń temperaturowych, natomiast szybkie zmiany zachodzące w tych granicach są odczuwalne. Pod wpływem bardzo niskiej lub bardzo wysokiej temperatury pobudzane są receptory bólowe.

Eksperymentalne badania na zwierzętach dowodzą obecności termoreceptorów w układzie pokarmowym (51,61,170,179). Celem badania Nicoli Villanovej i wsp była ocena lokalizacji oraz charakterystyka wyżej wymienionych receptorów w układzie pokarmowym człowieka. Było to jedno z pierwszych tego rodzaju badań. Wyniki badań autorów potwierdzają fakt istnienia termoreceptorów w przełyku, żołądku i jelicie. Bodźce zimne powodowały nie tylko uczucie zimna ale również skurcz ścian żołądka, natomiast bodźce ciepłe miały istotny wpływ na uczucie ciepła i powodowały rozkurcz ścian żołądka. Podobne reakcje zaobserwowano w przypadku jelit (206).

Dawes zbadał wpływ temperatury czynnika stymulującego na szybkość wydzielania śliny. Stwierdził, iż lód powoduje najwyższe wydzielania śliny, natomiast płyny o temperaturze 37°C wpływają na wydzielania śliny w najmniejszym stopniu ze wszystkich czynników stymulujących (43).

1.4.6. Receptory bólu w jamie ustnej

Za odczuwanie bólu powierzchniowego odpowiedzialne są nocyreceptory w postaci nagich zakończeń nerwowych. Impulsacja bólowa przewodzona jest przez włókna aferentne z osłonką rdzenia należące do grupy A, oraz bez osłonki rdzennej, należące do grupy C. w uszkodzonych tkankach dochodzi do aktywacji enzymów proteolitycznych zwanych kalikreinami tkankowymi. Enzymy te działają na białka tkankowe – kinino geny, odczepiając od nich aktywne polipeptydy- kininy, które depolaryzują nagie zakończenia nerwowe i wyzwalają w aferentnych włóknach nerwowych salwy impulsów bólowych (71,100).

1.5. Właściwości i składniki śliny istotne w aspekcie jej fizjologicznych funkcji i zdrowia jamy ustnej

Ślina zarówno spoczynkowa jak i stymulowana stanowi naturalne środowisko dla zębów, tkanek przyzębia i błony śluzowej jamy ustnej. Jej obecność warunkuje prawidłowe funkcjonowanie wszystkich elementów jamy ustnej, stanowiąc ochronę przed szkodliwym wpływem różnorodnych czynników patogennych, poprzez zmniejszanie efektywności ich działania lub przez całkowitą ich eliminację (2). Fizjologiczne wydzielanie śliny, zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej odgrywa ważną rolę w zapewnieniu prawidłowej przemiany i wchłanianiu produktów pokarmowych (95), utrzymaniu homeostazy (20,95), realizacji funkcji obronnej i wydzielniczej. Wydzielanie śliny ma wpływ na utrzymanie równowagi wodnej organizmu. Nadmierna utrata wody przez organizm powoduje zmniejszenie wydzielania śliny przez ślinianki, pojawia się suchość błony śluzowej oraz uczucie pragnienia, sygnalizuje to konieczność dostarczenia płynów organizmowi (108). Ślina zwilża błonę śluzową, chroniąc ją przed wysychaniem, a także przed urazami pojawiającymi się w trakcie aktu żucia (20,28). Zwilżona błona śluzowa jamy ustnej uczestniczy w odbieraniu wrażeń smakowych (28,95) dotyku (95), temperatury (95) poprzez znajdujące się w niej zakończenia nerwowe (20).

W środowisku jamy ustnej ślina odgrywa istotną rolę w obronie przed drobnoustrojami (194). Jest to możliwe dzięki mechanizmom swoistym (IgA, IgM, IgG), jak i mechanizmom nieswoistym (lizozym, laktoferyna, histatyna) obecnym w ślinie (2,28,108,67). Za aktywność przeciwbakteryjną i utrzymanie równowagi ekologicznej w jamie ustnej odpowiadają również peroksydazy i jony rodankowe (108). Ślina jest również

barierą ochronną przed działaniem enzymów proteolitycznych i hydrolitycznych produkowanych przez bakterie znajdujące się w płytce nazębnej (28).

Do funkcji śliny stymulowanej należy umożliwienie i ułatwienie tworzenia kęsa pokarmowego. W jamie ustnej rozpoczyna się proces trawienny głównie dzięki znajdującej się w ślinie amylazie (28,95). Ślina spoczynkowa, w przeciwieństwie do śliny stymulowanej nie pełni istotnych funkcji trawiennych (142). Natomiast odpowiada za stałe nawilżenie błony śluzowej ułatwiając min. Artykulację (95).

Ślina zarówno spoczynkowa jak i stymulowana, opłukuje błonę śluzową i zęby z resztek pokarmowych, złuszczonej komórki nabłonka - zmniejsza to ilość bakterii (95) oraz zapobiega odkładaniu się kamienia nazębnego (28). Obecność wysokich stężeń wapnia i fosforanów w ślinie sprzyja dojrzewaniu szkliwa oraz remineralizacji (28). Ślina odpowiada za utrzymanie prawidłowego pH, jest to możliwe przede wszystkim dzięki dwuwęglanowemu systemowi buforującemu Ślina działa również przeciwutleniająco, dzięki zdolności redukcji nadtlenków lipidów (95,108).

Ślina spoczynkowa jak i stymulowana sprzyja procesom gojenia ran błony śluzowej, poprzez wiele fizykochemicznych czynników do których należą min.: neutralne pH, optymalna siła jonowa oraz obecność jonów wapnia i magnezu (96). W 1942 roku Volker wykazał, że ślina przyspiesza krzepnięcie krwi zarówno przez bezpośredni wpływ na antykoagulanty krwi, dostające się wraz z krwią do jamy ustnej oraz zmniejsza stężenie antytrombiny poprzez jej rozcieńczenie (208).

Właściwe wypełnianie przez ślinę wszystkich tych fizjologicznych funkcji związane jest zarówno z jej właściwościami jak i składem, które mogą zmieniać się min. zależnie od szybkości wydzielania śliny (12,42), w zależności czy jest to ślina spoczynkowa czy stymulowana (208,217), wpływ ma również sposób stymulacji (63,210). Wydzielanie śliny podlega fizjologicznej zmienności osobniczej Szybkość wydzielania śliny, jej skład i właściwości nie są wartościami stałymi, w znacznym stopniu podlegają wahaniom dobowym, miesięcznym, rocznym (52,44,88,111,180). Wiek (17), płeć (171,202,217), czy też wielkość ślinianek (90,152,153) również mogą wpływać w istotny sposób na ilość oraz skład wydzielanej śliny.

Jak wynika z piśmiennictwa, do najistotniejszych parametrów śliny uwzględnianych w badaniach prowadzonych w aspekcie funkcji fizjologicznych śliny w środowisku jamy ustnej, a także w aspekcie procesów patologicznych występujących w jamie ustnej, zalicza się (poza samą szybkością wydzielania śliny, mającą istotny wpływ na jej właściwości i skład) takie jej właściwości jak pH, zdolności buforowe, lepkość (106). Ponadto w tym

kontekście pod uwagę bierze się składniki mineralne śliny (fosforany, wapń) oraz białka śliny związane z odpornością swoistą i nieswoistą (IgA, lizozym, laktoferyna).

1.5.1. pH śliny i jej zdolności buforowe

Odczyn śliny zależy od zawartości elektrolitów i układów buforowych takich jak dwuwęglany, fosforany oraz białko całkowite (96,117). Wartość pH śliny obok jonów wapnia, fosforanów i fluoru stanowi jeden z głównych czynników odpowiedzialnych za stabilność apatytu szkliwa (67,117). Optymalne wartości pH śliny mieszczą się w granicach 6,3-7,3 (2,117,139). Spadek pH poniżej wartości krytycznej 5,5 inicjuje demineralizację szkliwa (117). W utrzymaniu optymalnych wartości pH, najważniejszą rolę odgrywają wodorowęglany, odpowiadając w 85% za pojemność buforową śliny (12,117). Ich stężenie jest związane z sekrecją śliny i wynosi ok. 5mmol/l w ślinie spoczynkowej, wzrastając maksymalnie do 60mmol/l w ślinie stymulowanej (12,67). Wahania pH zależą od rodzaju, częstości spożywanego pokarmu oraz higieny jamy ustnej. Badania wskazują, że przy małej szybkości wydzielania odczyn śliny zmienia się w kierunku kwaśnym (47), natomiast po stymulacji w kierunku zasadowym. Wraz ze wzrostem objętości wydzielanej śliny zwiększa się proporcjonalnie stężenie zarówno węglowodanów jak i fosforanów (47). Wartości pH charakteryzuje również zmienność dobową. Eisenbrandt (60) stwierdziła, że istotne różnice w wartościach pH występowały głównie w godzinach porannych. Ślina wówczas miała bardziej kwaśny odczyn w porównaniu do wartości uzyskanych w środku dnia. Nieznaczny spadek kwasowości śliny występował w godzinach popołudniowych, także w porównaniu do wartości uzyskanych w środku dnia. Inne wyniki uzyskali w swoich badaniach Kochańska i wsp. (101). Wykazali, że pH śliny mieszanej, pobranej na czczo po przebudzeniu było najniższe, wzrastało nieznacznie po umyciu zębów, obniżając się nieznacznie po jedzeniu. Ponowny wzrost obserwowali wieczorem przed snem i myciem zębów (101).

Zdolności buforowe śliny są szczególnie istotne w aspekcie zahamowania procesów demineralizacyjnych struktur szkliwa (67,191,224). Wiedza na temat zmian zachodzących w zdolnościach buforowych śliny, która jest istotna z punktu widzenia szeroko pojętego zdrowia jamy ustnej, nie jest do końca poznana i temat ten wymaga dalszej wnikliwej analizy.

Przyjmuje się, że zdolność buforowa śliny jest uwarunkowana przede wszystkim właściwościami konstytucjonalnymi - wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny zwiększają się zdolności buforowe śliny (197). Najważniejsze znaczenie w utrzymaniu

osmolarności i zdolności buforowych śliny mają jony wodorowęglanowe (HCO_3^-) (12,67). Zaobserwowano, że stężenie HCO_3^- w ślinie jest uzależnione od szybkości wydzielania śliny, najmniejsze stężenia występują przy niskich szybkościach wydzielania (12,67), a wzrasta wraz ze wzrostem pH (92). Pojemność buforowa śliny osiąga swoje maksymalne wartości przy pH 6,3 - 7,4 (67,211). Na zdolność buforową śliny ma wpływ również rodzaj diety - stwierdzono, że węglowodany obniżają zdolność buforową śliny, białka natomiast ją podwyższają (12).

1.5.2. Lepkość

Lepkość śliny zależy od glikoprotein głównie MG1, które są wydzielane przez śliniankę podjęzykową, podżuchwową i gruczoły podniebienne. Różnice w lepkości śliny zależą od rodzaju mucyn, a nie ich stężenia (31). Lepkość śliny zmienia się wraz z szybkością jej wydzielania (31). Od lepkości śliny, zależą jej właściwości lubrykacyjne, które odgrywają istotną rolę w utrzymaniu zdrowia jamy ustnej, a także umożliwiają ruchy języka i warg podczas połykania i żucia. Zwiększona lepkość śliny z jednej strony może powodować wzrost liczby ubytków próchnicowych, równocześnie przyczynia się do lepszego utrzymania się ruchomych uzupełnień protetycznych.

Rantonen i wsp. (165) stwierdzili, że lepkość śliny przechowywanej w temperaturze pokojowej nie ulegała zmianom przez 30 min od momentu jej pobrania. Natomiast Roberts (168) wykazał, że lepkość śliny spoczynkowej pozostawała na niezmiennym poziomie tylko przez 5-8 min od pobrania.

Na podstawie uzyskanych wyników badań Rantonen (165) zasugerował, że lepkość śliny spoczynkowej może być zależna od szybkości wydzielania śliny, przy czym wpływ na lepkość mogą mieć również inne czynniki takie jak zmiana składu śliny w kolejnych próbkach (głównie dotyczy to glikoprotein ślinowych) w trakcie pobierania przez dłuższy okres czasu.

1.5.3. Fosforany nieorganiczne i wapń

Fosforany i wapń należą do głównych składników nieorganicznych śliny. Fosforany znajdujące się w ślinie w większości występują w połączeniu z jonami wapnia i w niewielkiej ilości łączą się z białkami (117). Poziom fosforanów w ślinie spoczynkowej średnio wynosi 10 μmol , w pH 6-8 wykazują one zdolności buforowe.

Fosforany obok jonów wapnia i fluoru oraz pH są głównymi czynnikami zapewniającymi stabilność apatytu szkliwa (191). Największe znaczenie biologiczne

fosforanów w ślinie to ich udział w procesach demineralizacji i remineralizacji, które przebiegają naprzemiennie przy powierzchni szkliwa (95,117). Badania Leach i wsp. (122) wykazały, iż ośmiowapniowe fosforany $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2 \times 5\text{H}_2\text{O}$ stanowią produkt pośredni pomiędzy kwaśnymi fosforanami a hydroksyapatytami $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (117). Wzrost wysycenia jonami wapnia i fosforanami śliny stymulowanej może wpływać na utrzymanie równowagi kwasowo-zasadowej w ślinie-płytkce nazębnej, co wpływa na wcześniej wspomniane procesy demineralizacji oraz remineralizacji przebiegające na powierzchni szkliwa. Badania Larsen & Fejerskov (119), wykazały, że wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny całkowite stężenie fosforanów nieorganicznych nieznacznie spadało (119). Natomiast Rugg-Gunn i wsp. stwierdzili, że stężenie PO_4^{3-} wzrastało nieznacznie (172) w odpowiedzi na wzrost pH, który powodował zamianę HPO_4^{3-} na PO_4^{3-} , kompensując ogólny spadek fosforanów nieorganicznych. Zdaniem obu zespołów badawczych właśnie jony PO_4^{3-} uczestniczą w procesie remineralizacji szkliwa (119,172). Około 3% całkowitej ilości wapnia występuje w ślinie w postaci kompleksów z białkami śliny. Są to głównie białka bogate w prolinę oraz zasadowa glikoproteina bogata w prolinę, obecna w ślinie spoczynkowej. W ślinie stymulowanej ilość kompleksów wapnia z białkami wzrasta do 11% (117,172). Jony wapnia występują również w połączeniu z jonami fosforanowymi CaHPO_4 , $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, z wodorowęglanem, mleczanem oraz cytrynianem. Wyniki badań wskazują, że stężenie tych związków wzrastało w ślinie stymulowanej (119). Ślina stymulowana wydzielana przez gruczoły przyuszne o pH 6-7,5 zawiera ok. 45% całkowitej ilości jonów Ca^{2+} w postaci kompleksów z wyżej wymienionymi anionami (117).

1.5.4. Białko całkowite

Podstawowym składnikiem organicznym śliny są białka, których stężenie waha się od 1,1-6,4 mg/ml w ślinie spoczynkowej do 3,5 mg/ml w ślinie mieszanej stymulowanej. Białka są syntetyzowane w zrazikach gruczołowych ślinianek, niewielka ich ilość bo ok. 1%, przenika do śliny z surowicy krwi lub pochodzi z elementów komórkowych śliny. Zawartość białka całkowitego w ślinie mieszanej zmienia się wraz z wiekiem (195). W skład białka całkowitego wchodzi wcześniej wspomniane białka pochodzące z osocza i są to: albumina, ceruloplazmina, gamma-globuliny, oraz białka wytwarzane w śliniankach (mucyny, aglutyniny) w tym enzymy (amylaza, peptydazy, transaminazy, lizozym, laktoferyna) (3,33).

Oznaczając stężenie białka całkowitego oznacza się wszystkie składniki białkowe w ślinie. Mucyny są jednymi z ważniejszych białek jamy ustnej, w ślinie spoczynkowej, stanowią aż 20-30% całkowitej ilości białek (159). Rola fizjologiczna mucyn ślinowych wyraźnie powiązana jest z ich budową biochemiczną. Złożona struktura cząsteczek mucyn wyjaśnia mechanizm działania mniej lub bardziej znanych biologicznych czynności, jakie spełniają one w środowisku jamy ustnej.

Mucyny zawarte w ślinie ludzkiej stanowią niejednorodną grupę glikoprotein. Dwie podstawowe grupy mucyn ślinowych to mucyny o masie powyżej 1000kDa – MG1, mucyny o masie 200 – 300 kDa – MG2. Mucyny syntetyzowane i wydzielane są przez ślinianki podżuchwowe, podjęzykowe oraz drobne gruczoły błony śluzowej jamy ustnej (57). Mucyna MG1 stanowi około 30% wszystkich zawartych w ślinie cząsteczek mucyny. Mucyny tej grupy mają budowę oligomeryczną. Mucyny pełnią wiele funkcji takich jak zwilżanie jamy ustnej, tworzenie połączeń kompleksowych, ochrona pokrywanych powierzchni, wpływ na mikroflorę jamy ustnej, udział w swoistych i nieswoistych mechanizmach obronnych, udział w procesach gojenia. MG1 powleka powierzchnię zawartych w jamie ustnej narządów i tkanek. Utworzona przy współdziałaniu MG1 i MG2 błonka powierzchniowa nawilża błonę śluzową jamy ustnej i pokrywając zęby zmniejsza siły tarcia, warunkując tym samym sprawny przebieg wielu procesów fizjologicznych takich jak fonacja, żucie czy przełykanie kęsów pokarmowych. Glikoproteiny tworzą heterotypowe kompleksy z lizozymem, lipidami, fosfoproteinami, hydroksyapatytem szkliwa zębów, błoną śluzową i mikroorganizmami. Wykazano istotne różnice pomiędzy udziałem MG1 i MG2 w funkcji powlekania szkliwa. MG1 posiada wyższe powinowactwo do hydroksyapatytów szkliwa. Niższe powinowactwo MG2 do zmineralizowanej powierzchni zębów może być wynikiem kompetencyjnego wiązania z tą powierzchnią zawartej w ślinie cystatyny. Glikoproteinowe kompleksy pełnią ochronną funkcję w stosunku do tkanek miękkich i twardych jamy ustnej. Niwelują szkodliwe wpływy środowiska jamy ustnej (fizyczne, chemiczne, biologiczne), zapobiegając wysuszeniu, mikrourazom oraz skutkom działania czynników infekcyjnych (91).

W skład cienkiego „płaszczka” śluzu pokrywającego powierzchnię zębów i błon śluzowych wchodzi białka i glikoproteiny bogate w prolinę, cystatyna i stateryna. Z upływem czasu dominującym składnikiem śluzowej błonki powierzchniowej pokrywającej powierzchnię zębów stają się mucyny. Glikoproteiny będące głównym składnikiem organicznym błonki zapobiegają zarówno chemicznym jak i mechanicznym uszkodzeniom pokrywanych powierzchni (59). Mucyny ochraniają powierzchnię błony śluzowej nie tylko

przed szkodliwym działaniem substancji drażniących i toksyn zawartych w używkach i pokarmach, ale też przed autolizą komórek powodowaną czynnikami rakotwórczymi o charakterze lipotropowym (alfatoksyna beta, benzopiren) (137). Mucyny ślinowe dobrze nawilżają śluzówkę, ponieważ skutecznie wiążą wodę, na powierzchni błon śluzowych służą jako naturalna impregnacja wodoodporna i pomagają w stałym nawodnieniu tkanek.

Błonka powierzchniowa jest półprzepuszczalna i umożliwia selektywny przepływ jonów odgrywających istotną rolę w procesach remineralizacji szkliwa. Wolna od bakterii, chroni ona szkliwo zębów przed demineralizacją. Jeżeli jest ona tworzona przez śliniankę przyuszną i nie zawiera mucyn, nie jest w stanie zapobiec demineralizacji inicjowanej przez zakwaszenie środowiska jamy ustnej. Dlatego też funkcję ochronną przypisuje się mucynom MG1 produkowanym przez śliniankę podżuchwową i podjęzykową. Mucynom tym przypisuje się również rolę czynnika zapobiegającego nadmiernemu mechanicznemu zużyciu zębów, penetracji jonu H^+ oraz ograniczającego wypłukiwanie składników mineralnych szkliwa (81). Struktury pokryte błoną powierzchniową dzięki obecności w niej cukrów są odporne na działanie enzymów proteolitycznych, co odgrywa istotną rolę w patogenezie schorzeń przyzębia, którym towarzyszy bardzo wysoka aktywność proteaz ślinowych (187). Zaburzenie składu biochemicznego błonki powierzchniowej może inicjować próchnicę zębów i choroby przyzębia. Należy podkreślić, że samo istnienie błonki nie jest równoznaczne z rozwojem próchnicy (215).

Glikoproteiny ślinowe biorą udział w aglutynacji drobnoustrojów jak i kolonizacji bakterii w jamie ustnej. W czasie wiązania cząsteczki glikoproteiny ze szkliwem zębów, komórkami błony śluzowej jamy ustnej i innych powierzchni stałych towarzyszą zmiany konformacyjne w jej strukturze. Zmiany te mogą spowodować odsłonięcie receptorów wiążących bakterie, co ułatwia mikroorganizmom kolonizację jamy ustnej (174). Oznacza to, że glikoproteiny zaadsorbowane do powierzchni nabłonka wielowarstwowego płaskiego wyściełającego jamę ustną i do zębów, ułatwiają bakteriom kolonizację. Natomiast glikoproteiny znajdujące się w roztworze wodnym śliny prowadzą do aglutynacji drobnoustrojów. W aglutynacji drobnoustrojów biorą również udział aglutyniny, proteiny o masie ok. 340kDa. Pierwotnie sądzono, że proteiny te odpowiedzialne są za agregację wyłącznie bakterii *S.mutans* (3). Ligtenberg w przeprowadzonym badaniu dowiódł, iż proteiny te są zdolne powodować agregację licznych drobnoustrojów w tym: *S.mutans*, *S.salivarius* oraz *S.sanguis* (127).

1.5.5. Immunoglobuliny IgA

Immunoglobulina IgA stanowi jeden z najważniejszych elementów odporności swoistej jamy ustnej. Dzielne wydzielenie IgA u dorosłego człowieka wynosi 4,5 g i przewyższa produkcję wszystkich pozostałych immunoglobulin (136).

Stężenie IgA w ślinie mieszanej spoczynkowej waha się od 65-928 µg/ml do 143-234 µg/ml w ślinie stymulowanej (205). Dotychczas w ślinie wykazano obecność 3 klas immunoglobulin: sIgA, IgG oraz IgM. Najważniejszą funkcję przypisuje się jednak wydzielniczej sIgA. Jest ona syntetyzowana przez komórki plazmatyczne związane z nabłonkiem przewodów wyprowadzających gruczołów ślinowych już od 1 tygodnia życia dziecka, a w ciągu pierwszych 2 lat osiąga poziom zbliżony do wartości cechujących osoby dorosłe. Większość dzieci w wieku 3 lat posiada przeciwciała IgA przeciwko wszystkim antygenom *Streptococcus mutans*. Wyniki badań wskazują, że stężenie IgA (sIgA) wzrasta wraz z wiekiem (95). Poziom sIgA zależy od wielu czynników m.in. stanu emocjonalnego, aktywności fizycznej, diety, czynników hormonalnych czy palenia tytoniu (86,116). Również uwarunkowania genetyczne determinują poziom syntezy sIgA (80). Wszystkie te wymienione czynniki sprawiają, że stężenie sIgA w ślinie może ulegać istotnym zmianom nawet u jednej osoby w stosunkowo krótkim czasie (32). Ślinowa sIgA posiada komponentę wydzielniczą S.C., co odróżnia ją od IgA surowiczej. Fragment S.C. to glikoproteina o masie 72 kDa, ułatwiająca transport i wydzielenie sIgA. Ponadto chroni łańcuchy polipeptydowe sIgA przed działaniem proteaz bakteryjnych (134).

Istnieją dwie formy sIgA: IgA1 oraz IgA2. Główną różnicę między nimi stanowi brak 13 aminokwasów w regionie zawiasowym w IgA2. Cecha ta uniemożliwia inaktywację IgA2 bakteriom posiadającym zdolność rozszczepiania połączeń prolinowo-treoninowych i prolinowo-serynowych znajdujących się w tym regionie (94). Ślinowa sIgA wiąże się z determinantami antygenowymi bakterii znajdujących się w jamie ustnej, jednak jej związek z rozwojem próchnicy jest kontrowersyjny i nadal badany. Nie można wyciągnąć jednoznacznych wniosków ze względu na sprzeczne wyniki niezależnych ośrodków badawczych. Diagnozowanie chorych z selektywnym niedoborem IgA wykazało wzrost, spadek lub brak jakiegokolwiek związku z rozwojem próchnicy a stężeniem immunoglobulin (126).

Bakteryjne lektyny *Streptococcus salivarius* rozpoznają oligocukrowe reszty mannozy obecne w łańcuchach sIgA, co prowadzi do aglutynacji drobnoustrojów (94). Immunoglobulina sIgA osłabia również adhezję bakterii do błony śluzowej jamy ustnej

(76,93). Immunoglobulina sIgA bierze również udział w zwalczaniu infekcji wywołanych przez rinowirusy i wirusa polio (94). Wydzielnicze IgA ślinowe przeciwdziałają destrukcji tkanek przyzębia, hamując aktywność hialuronidazy, chondroitynosulfatazy oraz neuroaminidazy – enzymy produkowane przez bakterie odpowiedzialne za rozwój chorób przyzębia (70,93). Immunoglobulina wpływa na przebieg procesu próchnicowego, utrudniając proces kolonizacji bakterii, produkcję kwasów, oraz utrudnia syntezę glikanu (93).

Dotychczasowe badania roli immunoglobulin w etiologii próchnicy najczęściej miejsca poświęcają immunoglobulinie klasy A. Istnieje dużo rozbieżności dotyczących powiązania poziomu immunoglobulin śliny i intensywności próchnicy zębów. Challacombe wykazał dodatnią korelację IgA śliny z nasileniem próchnicy zębów (26). Cyprysiak i wsp. stwierdzili dodatnią korelację pomiędzy nasileniem próchnicy a poziomem IgA i IgG śliny (37). Barańska-Gachowska i wsp. stwierdzili, że zwiększeniu liczby ubytków z czynną próchnicą towarzyszy wzrost poziomu IgA i IgG (11). Lehner i wsp. donoszą, że u osób skłonnych do próchnicy stwierdzono spadek stężenia ślinowej IgA (125). Również Bolton, Everhart stwierdzili ujemną korelację ślinowej IgA z nasileniem próchnicy (19,65). Podobne wyniki uzyskała Piątkowska badając dzieci ze żłobków, gdzie poziom ślinowej IgA był wyższy u dzieci bez próchnicy (157). Jest to zgodne z badaniami Brandtzaega (21). W miarę zwiększania się liczby bakterii *S. mutans* i *Lactobacillus* stwierdza się wzrost poziomu IgA. Zwiększona produkcja przeciwciał w chorobie próchnicowej może być wyrazem stanu miejscowej nadwrażliwości na dostarczane antygeny. Podsumowując powyższe rozważania stężenie IgA w ślinie prawdopodobnie nie jest bezwzględnym wyznacznikiem procesu próchnicowego. Jest częścią, w którym współdziałanie pojedynczych elementów warunkuje sprawność czynności całego systemu obronnego jamy ustnej (224).

1.5.6. Lizozym

Lizozym jest jednym z najważniejszych komponentów nieswoistych mechanizmów immunologicznych, ze względu na dużą skuteczność przeciwbakteryjną oraz powszechne występowanie (79,83,216). Lizozym – muramidaza, glikohydrolaza mukopeptydowa pochodzi z wydzieliny dużych gruczołów ślinowych oraz z płynu z kieszonki dziąsłowej. Lizozym jest produkowany przede wszystkim przez ślinianki podżuchwowe i podjęzykowe. Yao i wsp. wykazali, że lizozym występuje w niezmienionej postaci w błonce nabytej łącznie ze stateryną, albuminą i amylazą (99,218). Stężenie lizozymu charakteryzuje się

znacznymi wahaniami zarówno w ślinie spoczynkowej 14-160 µg/ml jak i stymulowanej 11-18 µg/ml (83).

Lizozym jest białkiem kationowym, posiada zdolność rozkładu ścian komórkowych bakterii Gram-dodatnich i niektórych Gram-ujemnych. Jego działanie przeciwbakteryjne polega na rozkładzie wiązań beta 1,4-glikozydowych łańcuchów glikanowych mureiny, głównego składnika ścian bakteryjnych. Ściana komórkowa pełni rolę mechanicznej podpory. Bakterie, które są jej pozbawione ulegają rozpadowi na skutek wysokiego wewnętrznego ciśnienia osmotycznego. Efektem jest liza komórki bakteryjnej. Lizozym ma zdolność łączenia się z kwasami nukleinowymi mikroorganizmów, co w konsekwencji może prowadzić do mutacji lub dezintegracji materiału genetycznego bakterii. W ostatnich latach stwierdzono, że oddziaływanie lizozymu polega również na wiązaniu się tego białka z kwasami nukleinowymi mikroorganizmów. Łączenie się lizozymu z DNA i RNA bakterii udowodniono w badaniach elektroforetycznych, enzymatycznych, i precypitacji (83,216). Jednowartościowe aniony tj. tiocyjaniany, chlorki, azotany, fluor, czy dwuwęglany mogą pobudzać działanie lityczne lizozymu. Redukując przyswajanie glukozy oraz produkcję kwasu mlekowego lizozym ogranicza wzrost i metabolizm mikroorganizmów. Najskuteczniej działa na bakterie *Neisseria* i *Streptococcus mutans* (83,95,99,108). W warunkach patologicznych można go znaleźć w płynach biologicznych takich jak płwocina, płyn stawowy, płyny torbieli i płyny jam ciała. W warunkach fizjologicznych przenika do płynu mózgowo-rdzeniowego z osocza krwi poprzez filtrację dyfuzję, pinocytozę lub z komórek OUN.

Lizozym obniża poziom mikroorganizmów w jamie ustnej poprzez interakcje z innymi składnikami śliny np. z IgA. Uczestniczy w regulacji aktywności fagocytarnej i chemotaktycznej leukocytów oraz pośredniczy w procesach agregacji, aglutynacji i wzrostu bakterii (83,158). Lizozym wykazuje właściwości grzybobójcze, w wyższych stężeniach zabija *C.albicans* (183,184).

1.5.7. Laktoferyna

Laktoferyna, jeden z mechanizmów obrony nieswoistej organizmu, jest substancją białkową, należąca do rodziny transferyn, wiążących żelazo. Po raz pierwszy obecność tej glikoproteiny stwierdzono w mleku. Do tej pory wykryto ją w wielu narządach takich jak nerki, pęcherzyk żółciowy, płuca, trzustka, prostata, pęcherzyki nasienne, jelita czy wątroba oraz w błonach surowiczych i ich wydzielinach, sianie, ślinie, łzach, nasieniu, w płynie maziówkowym (118,135). Laktoferyna w ślinie mieszanej spoczynkowej posiada bardzo

duży zakres stężeń - 0,89-928 µg/ml, w ślinie stymulowanej ta rozbieżność jest znacznie mniejsza, waha się w granicach - 3,4-7,1 µg/ml. Laktoferyna jest monomerycznym, dodatnio naładowanym białkiem o masie cząsteczkowej 80 kDa., zbudowanym 692 aminokwasów. Jest pojedynczym łańcuchem polipeptydowym, zwiniętym w dwa kuliste płaty (N-,C-), połączone regionem zawiasowym. Każdy łańcuch laktoferyny ma zdolność wiązania jednego jonu metalu – najczęściej jest to Fe^{2+} , Fe^{3+} , czasem Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} . Glikoproteina ta może występować w dwóch formach: apo – wolnej i holo – związanej z jonami metalu, w stanie naturalnym w organizmie jest wysycona żelazem tylko 15-20% (16).

Działa hamująco na rozwój niektórych pałeczek Gram-ujemnych, *Candida albicans* i paciorkowców. Laktoferyna wiąże 2 jony żelaza, niezbędne bakteriom tlenowym i fakultatywnym w ich przemianach metabolicznych. Region wiążący jony żelaza znajduje się na C-końcu łańcucha polipeptydowego.

Za działanie bakteriobójcze i grzybobójcze odpowiedzialny jest region N-końcowy. Mechanizm bakteriobójczego działania laktoferyny polega na tworzeniu porów w błonie komórkowej bakterii, co prowadzi do jej uszkodzenia i wycieku składników wewnątrzkomórkowych. Laktoferyna reaguje z lipopolisacharydami (LPS) ściany komórkowej bakterii gram-ujemnych, powodując ich usuwanie ze ściany. Niezwykle istotnym czynnikiem decydującym o przebiegu interakcji laktoferyny ze ścianą komórkową bakterii i jej bakteriobójczym efekcie jest stężenie tego białka (99). Czynniki wpływające na wrażliwość bakterii na laktoferynę to faza wzrostu bakterii, temperatura (brak wiązania poniżej 4° C), pH (większa wrażliwość bakterii w środowisku kwaśnym poniżej pH 5), obecność jonów Ca^{2+} i Mg^{2+} (spadek zdolności LF do wchodzenia w interakcji z LPS) (66).

Laktoferyna posiada również zdolność do hamowania replikacji wirusów, zarówno RNA jak i DNA. Istnieją dwa mechanizmy przeciwwirusowego działania laktoferyny. Jeden z nich to bezpośrednie wiązanie laktoferyny z cząsteczkami wirusa. Drugi mechanizm polega na jej wiązaniu z cząsteczkami powierzchniowymi błony komórkowej gospodarza, które wykorzystywane są przez wirus jako receptor lub ko-receptor (82,135). Mechanizm grzybobójczy nie został do końca wyjaśniony. Jeden z fragmentów łańcucha białkowego laktoferyny wiąże się z aglutyniną, wzmacniając efekt działania obu białek w jamie ustnej. Apolaktoferyna – laktoferyna nie związana z jonami żelaza w środowisku tlenowym ma zdolność aglutynacji *Streptococcus mutans*., ułatwia to usuwanie bakterii z jamy ustnej (95). Laktoferyna działa wielokierunkowo na układ immunologiczny modulując aktywację układu dopełniacza, indukuje czynnik hamujący migrację leukocytów, pobudza konwersję

nieaktywnego lizozymu w formę aktywną, generuje powstawanie tlenku azotu w makrofagach, wzmacnia fagocytozę i cytotoksyczność monocytów, zwiększa aktywność komórek NK, kontroluje produkcję cytokin prozapalnych (IL 1, IL6, TNF α) (1,23).

1.6. Podsumowanie

Ślina i jej funkcje były przedmiotem licznych badań prowadzonych już od wczesnych lat siedemdziesiątych(41,44,45). Jak wynika z piśmiennictwa, część badań z zakresu fizjologii śliny dotyczyła metodyki pobierania i przechowywania śliny (28,175) oraz koncentrowała się na określeniu jej składu jakościowego (3,7,15,28,175) i ilościowego (3,7,25,28). Wyniki badań wskazywały, że ślina jest materiałem biologicznym o dużej zmienności fizjologicznej (28,175), a na jej skład i właściwości wpływa wiele czynników co sprawia, że nadal nie są rozwiązane problemy metodyczne, związane z pobieraniem śliny i analizą jej właściwości i składu, a tym samym problemem pozostaje standaryzacja badań śliny.

Jednym z najczęściej badanych parametrów była szybkość wydzielania śliny. Parametr ten analizowano nie tylko w aspekcie fizjologii (63,163,210) ale również próbowano odnosić go do patologii jamy ustnej oraz zmian ogólnoustrojowych (188,189). Próbowano określić czynniki, które mogą wpływać na szybkość wydzielania śliny (17,42,45,48,54,56,68,63,88), a także współzależności występujące pomiędzy szybkością wydzielania śliny a jej składnikami, zarówno w aspekcie ilościowym jak i jakościowym (17,42,45,48,54,56,68,63,88) . Ślina spoczynkowa wydzielana jest przez ok. 22 godz. w ciągu doby (142,143), zapewnia więc właściwy stan zdrowia jamy ustnej. Podczas działania czynnika stymulacyjnego skład śliny ulega znacznym zmianom, które mogą wpływać na zaburzenie homeostazy jamy ustnej.

Jednym z podstawowych zagadnień do rozwiązania pozostaje nadal ocena wpływu czasu trwania stymulacji na poszczególne parametry śliny, istotne z punktu widzenia zdrowia jamy ustnej. W związku z faktem, iż piśmiennictwo dostępne w literaturze nie wyczerpywało omawianego tematu postanowiłam podjąć badania mające na celu ocenę wpływu różnych typów stymulacji (mechanicznej, chemicznej, mechaniczno-chemicznej) oraz czasu trwania stymulacji na szybkość wydzielania śliny mieszanej i na jej właściwości (pH, zdolności buforowe, lepkość, stężenie fosforanów nieorganicznych, jonów wapnia, IgA, lizozymu, laktoferyny, białka całkowitego), czyli na parametry, które mają istotny wpływ na utrzymanie zdrowia jamy ustnej. Wyniki tych badań mogłyby być również wykorzystane na potrzeby standaryzacji metod pobierania i analizowania śliny.

II. Cel pracy

Celem podjętej pracy była ocena wpływu różnych typów stymulacji (mechanicznej, chemicznej, mechaniczno-chemicznej) oraz czasu trwania stymulacji na szybkość wydzielania śliny mieszanej i na jej właściwości (pH, zdolności buforowe, lepkość, stężenie fosforanów nieorganicznych, jonów wapnia, IgA, lizozymu, laktoferyny, białka całkowitego). Punktem odniesienia dla uzyskanych wyników dla śliny mieszanej stymulowanej była ślina mieszana spoczynkowa.

III. Materiał i metody badań

Na przeprowadzenie wszystkich badań, które zostały wykorzystane w przedstawionej pracy uzyskano zgodę Niezależnej Komisji Etyki Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym na.

1. Badana populacja

Badaniem objęto 110 ochotników w wieku od 22 do 37 lat. Od każdej osoby zebrano wywiad dotyczący aktualnych oraz przebytych chorób, nawyków higienicznych, obecnych nałogów (w tym palenia papierosów, przyjmowanych leków) a także zaburzeń w wydzielaniu śliny oraz związanego z tym uczucia suchości jamy ustnej. Na podstawie zebranego wywiadu do udziału w dalszych badaniach zakwalifikowano 100 ogólnie zdrowych osób (58 kobiet, 42 mężczyzn) w wieku 20-36 lat ($22,06 \pm 3,1$), z prawidłowym wydzielaniem śliny, nie zgłaszających żadnych dolegliwości ze strony jamy ustnej. Następnie badanych podzielono losowo na 3 grupy:

Grupa I → $n=21$ osób (8 kobiet, 13 mężczyzn), w wieku 21-34 lat ($22,7 \pm 3,3$);

Grupa II → $n=40$ osób (18 kobiet, 21 mężczyzn), w wieku 19-33 lat ($22,5 \pm 3,5$);

Grupa III → $n=39$ osób (32 kobiety, 8 mężczyzn), w wieku 20-36 lat ($21,0 \pm 2,6$);

W każdej grupie od badanych pobrano ślinę mieszaną spoczynkową oraz ślinę mieszaną stymulowaną według opisanych 3 procedur, przedstawionych na schematach 1,2 i 3.

Wydzielanie śliny w **Grupie I** stymulowano mechanicznie (schemat 2), w **Grupie II** chemicznie (schemat 3) a w **Grupie III** mechaniczno-chemicznie (schemat 4).

2. Pobieranie śliny mieszanej spoczynkowej i śliny mieszanej stymulowanej mechanicznie, chemicznie i mechaniczno-chemicznie

Grupa I - od osób zakwalifikowanych do **grupy I** pobrano ślinę mieszaną spoczynkową oraz ślinę mieszaną stymulowaną mechanicznie (Schemat 2). Pobieranie śliny spoczynkowej rozpoczynano się między godziną 12.00 a 13.00 (cykl „0”). W okresie poprzedzającym zbieranie śliny badani wolontariusze nie jedli, nie żuli gumy, nie palili papierosów, ani nie płukali jamy ustnej. Ślinę spoczynkową zbierano przez 5 min do sterylnych, silikonowych probówek typu Corning umieszczanych następnie w lodzie. Po 15 minutowej przerwie rozpoczynano pobieranie śliny stymulowanej mechanicznie. Ślinę stymulowaną zbierano 6-krotnie, każdorazowo przez 5 minut, w trakcie nieprzerwanej 30-minutowej stymulacji (cykle od I do VI). Wydzielanie śliny stymulowano mechanicznie poprzez obustronne żucie plastikowego krążka o średnicy 1 cm i grubości 0,5 cm. Każdy z

badanych w trakcie 30 minutowej stymulacji zebrał po 6 próbek śliny. W trakcie całego badania ślina była zbierana łącznie przez 30 minut (6 razy po 5 minut). Śliny do badań nie odwirowywano. Bezpośrednio po zebraniu ślina była zamrażana i przechowywana w -70°C . Pobieranie śliny spoczynkowej oraz stymulowanej wraz z przerwą trwało każdorazowo łącznie 50 minut.

Schemat 2. Procedura pobierania śliny spoczynkowej oraz śliny stymulowanej mechanicznie, żuciem plastikowego krążka

POBIERANA ŚLINA		CZAS POBIERANIA ŚLINY	CYKLE POBIERANIA ŚLINY		
Ślina spoczynkowa		5 min	cykl 0		
Przerwa - 15 minut					
Rozpoczęcie stymulacji i pobierania próbek śliny stymulowanej					
Ślina stymulowana mechanicznie nieprzerwanie przez 30 min	Podział czasu trwania stymulacji	I	0-5min	5 min	cykl I
		II	5-10 min	5 min	cykl II
		III	10-15 min	5 min	cykl III
		IV	15-20 min	5 min	cykl IV
		V	20-25 min	5 min	cykl V
		VI	25-30 min	5 min	cykl VI

Grupa II - od osób zakwalifikowanych do **grupy II** pobrano ślinę mieszaną spoczynkową oraz ślinę mieszaną stymulowaną chemicznie kwasem cytrynowym (Schemat 3). Pobieranie śliny spoczynkowej rozpoczynano między godziną 12.00 a 13.00 (cykl „0”). W okresie poprzedzającym zbieranie śliny badani wolontariusze nie jedli, nie żuli gumy, nie palili papierosów, ani nie płukali jamy ustnej. Ślinę spoczynkową zbierano przez 5 min do sterylnych, silikonowych probówek typu Corning umieszczanych następnie w lodzie. Po 15 minutowej przerwie rozpoczynano zbieranie śliny stymulowanej chemicznie (cykl od I do V). Wydzielanie śliny stymulowano poprzez podawanie 2 kropli soku cytrynowego na język co 2,5 min. Pobieranie śliny miało każdorazowo następujący przebieg: ślina była gromadzona w jamie ustnej przez 2,5 min, po czym wypływana do

próbówki, czynność tę powtarzano 2-krotnie, w każdym 5 minutowym cyklu. Każdy z badanych w trakcie 25-minutowej stymulacji zebrał po 5 prób śliny. W sumie w trakcie całego badania ślina była zbierana łącznie przez 25 minut (5 razy po 5 minut). Śliny do badań nie odwirowywano. Bezpośrednio po zebraniu ślina była zamrażana i przechowywana w -70°C . Pobieranie śliny spoczynkowej oraz stymulowanej wraz z przerwą trwało każdorazowo łącznie ok. 45 minut.

Schemat 3. Procedura pobierania śliny spoczynkowej oraz śliny stymulowanej chemicznie, kwaskiem cytrynowym

POBIERANA ŚLINA		CZAS POBIERANIA ŚLINY	CYKLE POBIERANIA ŚLINY		
Ślina spoczynkowa		5 min	cykl 0		
Przerwa - 15 minut					
Rozpoczęcie stymulacji i pobierania próbek śliny stymulowanej					
Ślina stymulowana chemicznie nieprzerwanie przez 25 min	Podział czasu trwania stymulacji	I	0-5 min	5 min	cykl I
		II	5-10 min	5 min	cykl II
		III	10-15 min	5 min	cykl III
		IV	15-20 min	5 min	cykl IV
		V	20-25 min	5 min	cykl V

Grupa III - od osób zakwalifikowanych do **grupy III** pobrano ślinę mieszaną spoczynkową oraz ślinę mieszaną stymulowaną mechaniczno-chemicznie żuciem gumy (Schemat 4). Pobieranie śliny spoczynkowej rozpoczynano między godziną 12.00 a 13.00 (cykl „0”). W okresie poprzedzającym zbieranie śliny badani wolontariusze nie jedli, nie żuli gumy, nie palili papierosów, ani nie płukali jamy ustnej. Ślinę spoczynkową zbierano przez 5 min do sterylnych, silikonowych próbek typu Corning umieszczanych następnie w lodzie. Po 15 minutowej przerwie rozpoczynano zbieranie śliny stymulowanej mechaniczno-chemicznie nieprzerwanie przez 120 minut żuciem gumy. Próbkę śliny pobierano w trakcie stymulacji 5-krotnie w określonych przedziałach czasowych: między 0 a 5 minutą stymulacji (cykl I), 25-30 (cykl II), 55-60 (cykl III), 85-90 (cykl IV), oraz

między 115 a 120 minutą stymulacji (cykl V). Aby utrzymać warunki badania na podobnym poziomie (stymulacja chemiczna), listek gumy do żucia wymieniano co 30 min. Należy zaznaczyć, iż podczas określonych w schemacie 4 przedziałach czasowych, ślina była zbierana do probówki przez 5 minut, a przez kolejne 25 minut żucia gumy połykana. Każdy z badanych zebrał po 5 prób śliny stymulowanej. W sumie w trakcie całej stymulacji, trwającej 120 minut, ślina była zbierana łącznie przez 25 minut (5 razy po 5 minut). Bezpośrednio po zebraniu ślina była zamrażana i przechowywana w -70°C . Całe badanie obejmujące pobranie śliny spoczynkowej, przerwę oraz żucie gumy, w trakcie którego pobierano ślinę stymulowaną trwało każdorazowo łącznie około 140 minut.

W badaniach wykorzystano gumę do żucia – firmy Wrigley’s Orbit bez cukru o składzie: sorbitol, syrop maltitolu, mannitol, acesulfam K, aspartam, baza gumowa, substancja utrzymująca wilgotność (glicerol), aromaty, przeciwutleniacz BHA. Guma nie zawierała dodatków jonów nieorganicznych tj.: wapnia i fosforanów.

Schemat 4. Procedura pobierania śliny spoczynkowej oraz śliny stymulowanej mechaniczno-chemicznie żuciem gumy

POBIERANA ŚLINA			CZAS POBIERANIA ŚLINY		CYKLE POBIERANIA ŚLINY	
Ślina spoczynkowa			5 min		cykl 0	
Przerwa - 15 minut						
Rozpoczęcie stymulacji i pobierania próbek śliny stymulowanej						
Ślina stymulowana mechaniczno-chemicznie nieprzerwanie przez 120 min	Podział czasu trwania stymulacji	I	0-5 min	Czas pobierania śliny	5 min (pierwsze 5 min stymulacji)	cykl I
		II	5-30 min		5 min (między 25 a 30 min)	cykl II
		III	30-60 min		5 min (między 55 a 60 min)	cykl III
		IV	60-90 min		5 min (między 85 a 90 min)	cykl IV
		V	90-120 min		5 min (między 115 a 120 min)	cykl V

3. Oznaczanie parametrów śliny spoczynkowej i stymulowanej

3.1. Ocena szybkości wydzielania śliny

Cała ilość śliny spoczynkowej zebranej w ciągu 5 min dzielono przez 5, otrzymując w ten sposób szybkość śliny wydzielanej w ml/min. Ilość zebranej śliny stymulowanej w każdym 5 minutowym cyklu dzielono przez 5 otrzymując w ten sposób szybkość wydzielania śliny stymulowanej w ml/min.

3.2. Oznaczanie wartości pH śliny oraz jej zdolności buforowych

W pierwszym etapie badań określano pH każdej świeżo pobranej próbki śliny, używając do tego celu pH-metru Fishera ze szklaną elektrodą. Następnie do każdej próbki zawierającej 2 ml śliny dodawano 0,1 ml 0,1 M HCL, mieszano delikatnie i ponownie oznaczano stężenie jonów wodorowych. Wartość pH każdej próbki mierzono bezpośrednio po jednej minucie od dodania kwasu (pH_1), a następnie pomiar powtarzano po pięciu minutach a uzyskany wynik oznaczano jako pH_2 .

Zdolności buforowe śliny

Zdolności buforowe śliny określano po jednej i pięciu minutach od dodania HCl. Dla każdej badanej próby śliny spoczynkowej i stymulowanej obliczano zdolności buforowe z następującego wzoru:

$$\text{zdolność buforowa} = \frac{0,01}{V [\text{dm}^3] \times \Delta H}$$

gdzie $\Delta H = pH - pH_1$; $\Delta H = pH - pH_2$

pH – wartość wyjściowa;

pH_1 – wartość pH po jednej minucie od dodania HCl;

pH_2 – wartość pH po pięciu minutach od dodania HCl;

3.3. Ocena lepkości śliny

Lepkość śliny badano przy użyciu wiskozymetru Hopplera, mierząc czas przepływu metalowej kulki w środowisku śliny w kapilarze o średnicy 2,1 mm. Do każdego badania

wykorzystywano 1 ml śliny. Uzyskane wartości porównywano do czasu przepływu tej samej kulki w wodzie. Lepkość $[\eta]$ obliczano przy pomocy następującego wzoru:

$$\eta \text{ śliny} = \frac{t \text{ śliny [s]}}{t \text{ wody [s]}} \times \eta \text{ wody}$$

gdzie:

$\eta \text{ wody} = 0,001 \text{ Pa} \times \text{s}$ – lepkość mierzona w temperaturze pokojowej 20° C

$t \text{ wody}$ = czas przepływu kulki w wodzie – 5,2 s

$t \text{ śliny}$ – czas przepływu metalowej kulki w ślinie w kapilarze, mierzony w sekundach

Lepkość $[\eta]$ śliny po wykonaniu obliczeń pomnożono $\times 100$ dla czytelniejszego zobrazowania wyników. Lepkość zbadano wyłącznie w próbkach zebranych w trakcie badania w grupie I oraz w grupie III. W grupie II badania lepkości nie wykonano ze względu na zbyt małą ilość śliny zebranej od uczestników badania.

Wiskozymetr Hopplera wykorzystany do badań został skonstruowany przez dr Michała Penkowskiego z Katedry i Zakładu Fizyki i Biofizyki GUM-ed na potrzeby tych badań.

3.4. Pomiar stężenia fosforanów nieorganicznych w ślinie

Stężenie fosforanów nieorganicznych (mmol/l) - badano metodą opracowaną na podstawie metody DAly'ego i ErtingshausenV zmodyfikowanej przez Wang'a i wsp. (210), stosując odczynniki firmy Alpha Diagnostics. W metodzie tej pomija się redukcję fosfomolibdenianu. Poziom powstałego fosfomolibdenianu jest mierzony przy długości fali 340 nm i jest on wprost proporcjonalny do stężenia fosforanu nieorganicznego. Uzyskane zabarwienie jest stabilne przez 1 godzinę. Objętość badanej próbki do objętości odczynnika powinna wynosić 1:50 (182,213,220). Wyniki były automatycznie obliczane przez analizator wg następującej reguły:

$$\text{fosfor} = (\text{absorbancja próbki} / \text{absorbancja kalibratora}) \times \text{stężenie kalibratora}$$

Stężenie fosforanów nieorganicznych podawano w Mm oraz mg/dl (mg/dl = mmol/l $\times 3,1$)

Stężenie fosforanów nieorganicznych oceniono wyłącznie w **Grupie I**, w pozostałych grupach ilość śliny była niewystarczająca dla wykonania pełnego badania u wszystkich uczestników.

3.5. Pomiar stężenia jonów wapnia

Do oceny stężenia jonów wapnia w ślinie (mM/l) zastosowano metodę Arsenazo III wykorzystującą metalochromogen Arsenazo III firmy Alpha Diagnostocs, który wiąże jony wapnia wytwarzając barwny kompleks, którego absorbancję można zmierzyć przy długości fali 650 nm. Arsenazo III ma silne powinowactwo do jonów wapnia i nie wykazuje interferencji ze strony innych kationów normalnie występujących w surowicy, osoczu czy moczu (odczynnik reaguje z wapniem w środowisku alkalicznym dając fioletowo zabarwiony kompleks). Intensywność tego zabarwienia mierzona przy długości fali 650 nm jest proporcjonalna do stężenia wapnia w badanej próbce, (objętość próbki do objętości odczynnika 1:50) (14,34,35,77,182,200). W skład odczynnika wchodzi: Arsenazo III-0,2 mmol/L, bufor imidazolowy-100 mmol/L o pH 6,75 ±0,1, niereagujące wypełniacze i stabilizatory. Wyniki oblicza się wg następującego wzoru:

3.6. Oznaczanie stężenia białka całkowitego

Dla oceny stężenia białka całkowitego zastosowano metodę Lowry'ego, z wykorzystaniem albuminy surowicy wołowej jako standardu, uzyskane wyniki przedstawiono w mg/ml (132).

3.7. Pomiar stężenia lizozymu, laktoferyny i IgA

Oznaczanie poziomu **lizozymu**, **laktoferyny** oraz immunoglobuliny **IgA** w próbkach śliny wykonano immunoenzymatyczną metodą ELISA. Wykorzystano następujące odczynniki:

a. - dla **lizozymu**: standard - Lysozyme (from human milk) (firmy Sigma-Aldrich), przeciwciała - Polyclonal Rabbit Anti-Human Lysozyme (firmy DakoCytomation)

- dla **laktoferyny**: standard - Lactoferrin from human milk (Sigma-Aldrich) przeciwciała - Anti-Human Lactoferrin (Sigma-Aldrich)

- dla **IgA**: standard - Human IgA (from colostrum) (Sigma-Aldrich), przeciwciała - Anti-Human IgA (a-chain specific) sprzężone z alkaliczną fosfatazą (Sigma-Aldrich) Przeciwciała drugorzędowe: Anti-Rabbit IgG (whole molecule)-Alkaline Phosphatase antibody produced in goat

- b. 0.05 M bufor węglanowy, pH 9.6
- c. bufor blokujący, zawierający 1% BSA w PBS + 0.05% Tween 20,
- d. bufor do płukania: PBS + 0,05% Tween 20, pH 7.4,
- e. bufor do detekcji: 10% diethanoloamina, pH 9.5 + 0.01% MgCl₂,

f. substrat dla alkalicznej fosfatazy: pNPP (firmy Fluka)

Oplaszczanie płytki antygenem (lizozym)- w celu uzyskania krzywej standardowej dwa pierwsze rzędy studzienek oplaszczano odpowiednimi rozcieńczeniami lizozymu w buforze węglanowym (50 μ l do każdej studzienki). Do dwóch studzienek dodano 50 μ l samego buforu węglanowego celu uzyskania tła. Do pozostałych studzienek dodawano po 50 μ l odpowiednich rozcieńczeń śliny (odwirowanej w 10 000 x g, 10 min.) w buforze węglanowym. Tak oplaszczoną płytkę wytrząsano przez 60 min na wytrząsarce w temperaturze pokojowej. Następnie wstawiono na kilkanaście godzin do temp. 4°C.

Kolejnym etapem była immunodetekcja: płytkę przepłukiwano 3x PBS (sól fizjologiczna buforowana fosforanami). Potem do każdej studzienki dodawano po 100 μ l buforu blokującego i inkubowano przez 60 min. na wytrząsarce w temp. pokojowej. Po blokowaniu płytkę przepłukiwano 3x buforem do płukania, dodawano po 60 μ l roztworu przeciwciał Polyclonal Rabbit Anti-Human Lysozyme w buforze blokującym w stosunku 1: 50 . Płytkę z przeciwciałami wytrząsano przez 90 min. Po inkubacji płytkę ponownie przemywano i blokowano przez 60 min. Następnie do każdej studzienki dodawano po 60 μ l roztworu przeciwciał II - Anti-Rabbit IgG (sprzężonych z alkaliczną fosfatazą) w buforze węglanowym w stosunku 1:2000 i wytrząsano przez 60 min. Po inkubacji z drugimi przeciwciałami płytkę przepłukiwano 2x PBS i 1x wodą destylowaną. Następnie do każdej studzienki dodawano po 60 μ l roztworu zawierającego pNPP w buforze do detekcji. Po upływie 30 min od dodania substratu do studzienek mierzono absorbancję przy długości fali 405 nm. Od uzyskanych wartości odjęto tło, poziom lizozymu w próbkach śliny wyliczono z krzywej standardowej.

W ten sam sposób wykonano testy ELISA dla **laktoferyny** oraz **immunoglobuliny IgA**, przy czym w przypadku IgA dodanie przeciwciał drugorzędowych (Anti-Rabbit IgG+ Alkaline Phosphatase) nie było konieczne, gdyż przeciwciała pierwszego rzędu (Anti-Human IgA) już były sprzężone z alkaliczną fosfatazą, a więc po inkubacji płytki z pierwszymi przeciwciałami i blokowaniu od razu dodawano substrat i wykonywano detekcję. Przy oznaczaniu laktoferyny użyto roztworu przeciwciał Anti-Human Lactoferrin w buforze węglanowym w stosunku 1:2000, natomiast przeciwciał drugorzędowych w buforze węglanowym w stosunku 1: 2000. Przy oznaczaniu IgA roztwór przeciwciał Anti-Human IgA w buforze węglanowym wynosił 1: 4000.

Stężenie IgA, lizozymu i laktoferyny podawano w μ g/ml.

4. Metody statystyczne

Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej obliczając średnią arytmetyczną \bar{X} , odchylenie standardowe (SD), medianę (Me) oraz zakres wartości badanych cech. Podczas weryfikacji hipotez wykorzystano zarówno testy parametryczne jak i nieparametryczne. Do oceny normalności rozkładu zmiennych zastosowano test Shapiro-Wilka. Oceniając istotność różnic pomiędzy dwoma grupami zastosowano test t-Studenta oraz test nieparametryczny U Manna-Whitneya. Do porównania większej liczby grup niż trzy zastosowano ANOVA oraz tzw. testy post-hoc (test Tukeya). W przypadku, kiedy nie można było posłużyć się ANOVA wykorzystano test Kruskala-Wallisa, który jest odpowiednikiem jednoczynnikowej analizy wariancji. Stosując test Kruskala-Wallisa dla $p < 0.05$ wykorzystano test post-hoc dla ANOVA Kruskala-Wallisa (porównania wielokrotne (dwustronne)).

W celu stwierdzenia powiązania siły oraz kierunku między dwiema zmiennymi zastosowano analizę korelacji obliczając współczynniki korelacji Pearsona i Spearmana. We wszystkich obliczeniach za poziom istotności przyjęto $p < 0.05$.

Wykonano obliczenia statystyczne dla powtarzających się parametrów w czasie w badanych grupach, oraz statystykę porównawczą wszystkich 3 grup. Do oceny istotności różnic parametrów w kolejnych momentach czasowych zastosowano ANOVA z powtarzanymi pomiarami lub nieparametryczny odpowiednik ANOVA Friedmana.

Wszystkie obliczenia statystyczne zostały przeprowadzone przy użyciu pakietu statystycznego StatSoft, Inc. (2008). STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. www.statsoft.com. oraz arkusza kalkulacyjnego Excel. We wszystkich obliczeniach za poziom istotności przyjęto $p < 0.05$.

Dobór metod statystycznych konsultowano z dr n.med. Dariuszem Świetlikiem, kierownikiem Wydziałowego Studium Informatyki Medycznej i Biostatystyki Wydziału Lekarskiego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

IV. Wyniki badań i ich omówienie

1. Właściwości fizyko-chemiczne śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechanicznie z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji

Przedstawione w **tabelach** od **I** do **XI** wyniki badań dotyczyły grupy I, w której wydzielanie śliny stymulowano mechanicznie poprzez obustronne żucie plastikowego krążka według procedury przedstawionej na Schemacie 2 (rozdział Materiał i metody str 32). Grupa ta liczyła 21 ochotników w wieku 21-34 lat (8 kobiet, 13 mężczyzn), ogólnie zdrowych, z prawidłowym wydzielaniem śliny, nie zgłaszających dolegliwości ze strony jamy ustnej. Wyniki badań obejmujące ocenę szybkości wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny stymulowanej mechanicznie przedstawiono w **tabeli I**. W **tabelach** od **II** do **XI** przedstawiono wyniki obrazujące stężenie jonów wodorowych, zdolność buforową, lepkość, stężenia jonów wapnia i fosforanów nieorganicznych, stężenia białka całkowitego, lizozymu, laktoferyny oraz IgA zarówno w ślinie spoczynkowej jak i w ślinie stymulowanej mechanicznie.

1.1. Szybkość wydzielania śliny

W tabeli I zestawiono wyniki dotyczące szybkości wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechanicznej.

Na podstawie danych zawartych w tabeli I można stwierdzić, iż szybkość wydzielania śliny spoczynkowej była istotnie niższa ($Me_0=0,71\text{ml/min}$) niż szybkość wydzielania śliny stymulowanej mechanicznie żuciem plastikowego krążka, niezależnie od czasu trwania stymulacji. Jednocześnie pomiędzy szybkościami wydzielania śliny stymulowanej pobieranej 6-krotnie w trakcie 30-minutowej stymulacji nie występowały istotne statystycznie różnice ($Me_I= 1,10$; $Me_{II}= 1,10$; $Me_{III}= 1,20$; $Me_{IV}=1,30$, $Me_V=1,30$; $Me_{VI}=1,20\text{ ml/min}$).

Stwierdzono ponadto istotną dodatnią korelację pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej, niezależnie od czasu pobierania. Zależność ta nie była istotna statystycznie tylko w przypadku śliny stymulowanej pobieranej w pierwszych 5 minutach stymulacji, oraz pomiędzy 10 a 15 minutą stymulacji. Wyniki te sugerują, iż im wyższa była szybkość wydzielania śliny spoczynkowej tym wyższa była szybkość wydzielania śliny stymulowanej. Zależność ta wzrastała wraz z wydłużaniem czasu trwania stymulacji.

Tabela I. Szybkość wydzielenia śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego kija) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierano śliny*	Szybkość wydzielenia śliny (ml/min)				Korelacja pomiędzy szybkością wydzielenia śliny spoczynkowej i stymulowanej (r)	
				Me	$\bar{X} \pm SD$	zakres	rozstęp		
21	22,7 ± 3,3	Ślina stymulowana i pobierania śliny Czas trwania stymulacji	Ślina spoczynkowa	0	0,71 ^a	0,69 ± 0,33	0,15 - 1,20	1,05	-----
			0-5 min	I	1,10 ^b	1,18 ± 0,39	0,70 - 2,30	1,6	0,3900
			5-10 min	II	1,10 ^c	1,15 ± 0,23	0,90 - 1,70	0,8	0,4982*
			10-15 min	III	1,20 ^d	1,15 ± 0,24	0,80 - 1,70	0,9	0,4113
			15-20 min	IV	1,30 ^e	1,18 ± 0,26	0,60 - 150	0,9	0,5000*
			20-25 min	V	1,30 ^f	1,16 ± 0,29	0,40 - 1,60	1,2	0,5699**
			25-30 min	VI	1,20 ^g	1,20 ± 0,26	0,60 - 1,64	1,04	0,4441*

*w każdym cyklu pobrano od badanych 21 próbek śliny

Różnica statystycznie znamienne oceniana testem ANOVA Friedmana przy $p < 0,05$ pomiędzy próbkami: a-b, a-c, a-d, a-e, a-f, a-g

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

1.2. Stężenie jonów wodorowych w ślinie oraz zdolności buforowe śliny

W tabeli II zestawiono dane dotyczące stężenia jonów wodorowych (pH) w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechanicznej.

Analizując mediany oraz średnie wartości stężeń jonów wodorowych w ślinie spoczynkowej i stymulowanej, można stwierdzić, iż stężenia jonów wodorowych w ślinie spoczynkowej było wyższe od stężeń obserwowanych w ślinie stymulowanej zbieranej 6-krotnie podczas nieprzerwanej 30-minutowej stymulacji mechanicznej. Zauważono istotne statystycznie różnice pomiędzy pH śliny spoczynkowej a pH śliny stymulowanej, zbieranej w 5-minutowych odstępach czasowych. Analizując wartości pH śliny stymulowanej, można stwierdzić, że najniższą wartość pH miała ślina pobierana przez pierwsze 5 minut stymulacji, a następnie wartość pH wzrastała wraz z czasem trwania stymulacji. Różnice istotne statystycznie stwierdzono pomiędzy śliną zebraną po 5 minutach stymulacji, a śliną uzyskaną po 15 i 25 minutach stymulacji.

Istotną statystycznie korelację o charakterze dodatnim stwierdzono pomiędzy wartościami pH w ślinie spoczynkowej a pH w ślinie stymulowanej. Im wyższa była wartość pH w ślinie spoczynkowej, tym istotnie wyższe były wartości pH stwierdzane w ślinie stymulowanej. Nie stwierdzono istotnych statystycznie korelacji pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej oraz stymulowanej a wartościami pH śliny.

Tabela II. Stężenie jonów wodorowych (pH) śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krawka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobrano śliny*	Wartości pH śliny				Korelacja pomiędzy pH śliny a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy pH śliny a spoczynkowej i stymulowanej (r)
				Me	$\bar{X} \pm SD$	zakres	rozstęp		
21	22,7 ± 3,3	Ślina spoczynkowa	0	7,0 ^a	6,95 ± 0,3	6,2 - 7,7	1,5	-----	0,1190
			I	7,2 ^b	7,17 ± 0,2	6,6 - 7,5	0,9	0,7277***	0,1666
		Ślina stymulowana i pobierania śliny Czas trwania stymulacji	II	7,3 ^c	7,29 ± 0,2	6,5 - 7,6	1,1	0,7123***	0,0411
			III	7,4 ^d	7,36 ± 0,2	7,0 - 7,8	0,8	0,7463***	0,1474
			IV	7,3 ^e	7,39 ± 0,2	7,0 - 7,8	0,8	0,6458**	0,3467
			V	7,4 ^f	7,37 ± 0,2	7,0 - 7,8	0,8	0,6855***	0,2511
			VI	7,4 ^g	7,38 ± 0,16	7,0 - 7,6	0,6	0,7121***	0,0569

*w każdym cyklu pobrano od badanych 21 próbek śliny

Różnica statystycznie znamienne oceniana testem ANOVA Friedmana przy **p<0,01: b-d, b-f, ***p<0,001: a-b,a-c,a-d,a-e,a-f,a-g,b-e,b-g

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

W **tabeli III** zestawiono dane dotyczące stężenia jonów wodorowych (pH) w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej mierzone po jednej minucie (pH₁) oraz po pięciu minutach (pH₂) od dodania 1ml 0,1M HCl z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechanicznej.

Po dodaniu 0,1 M HCl do próbek śliny spoczynkowej i stymulowanej stwierdzono po upływie zarówno jednej jak i pięciu minut, że pH (pH₁, pH₂) śliny spoczynkowej było zawsze niższe niż pH (pH₁, pH₂) śliny stymulowanej. Przy czym istotną statystycznie różnicę pomiędzy pH śliny spoczynkowej a stymulowanej stwierdzono tylko w ślinie zbadanej po upływie pięciu minut od dodania kwasu (pH₂) i dotyczyło to śliny pobieranej po dłuższej stymulacji, tj. między 15 a 20 oraz 25 a 30 minutą stymulacji (cykl IV i VI).

Istotną statystycznie korelację o charakterze dodatnim stwierdzono pomiędzy wartościami pH (pH₁, pH₂) śliny spoczynkowej a pH śliny stymulowanej, pobieranej w cyklu I ($p < 0,001$), zarówno po upływie jednej (pH₁) jak i pięciu (pH₂) minut od dodania kwasu. Stwierdzono ponadto dodatnią, znamioną statystycznie zależność pomiędzy wartościami pH stwierdzanymi po jednej pH₁ jak i po pięciu pH₂ minutach od dodania HCl a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Oznacza to, że im wyższa była szybkość wydzielania śliny spoczynkowej tym wyższe były wartości pH śliny, obserwowane po upływie jednej lub pięciu minut od dodania kwasu, co sugeruje lepsze zdolności buforowe były w ślinie spoczynkowej, która była szybciej wydzielana. Podobnej zależności pomiędzy wartościami pH₁ i pH₂ a szybkością wydzielania śliny a nie stwierdzono w przypadku śliny stymulowanej.

Tabela III. Stężenie jonów wodorowych (pH) w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krawężka) po dodaniu kwasu u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierano śliny*	Wartości pH po upływie 1 min (pH ₁) i po upływie 5 min od dodania 0,1M HCl (pH ₂) do śliny						Korelacja pomiędzy pH ₁ śliny spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy pH ₂ śliny spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy pH ₁ śliny a szybkością wydzielania śliny (r)	Korelacja pomiędzy pH ₂ śliny a szybkością wydzielania śliny (r)		
				$\bar{X} \pm SD$		zakres		rozstęp							
				Me	pH ₁	pH ₂	pH ₁	pH ₂	pH ₁					pH ₂	
21	22,7 ± 3,3	Ślina stymulowana i pobierania śliny	Ślina spoczynkowa	0	6,1	6,0 ^a	5,89 ± 1,13	5,84 ± 0,85	3,3-7,2	4,5-7,0	3,9	2,5	-----	0,4780*	0,5627**
				I	6,4	6,4	6,2 ± 0,75	6,14 ± 0,66	4,0-7,2	4,7-7,0	3,0	2,3	0,6842***	0,1585	0,1232
				II	6,5	6,5	6,4 ± 0,53	6,46 ± 0,38	4,4-7,0	5,6-7,0	2,6	1,4	0,5232*	0,0197	0,0236
				III	6,6	6,5	6,5 ± 0,89	6,29 ± 0,82	3,1-7,6	4,1-7,2	4,5	3,1	0,1761	0,1703	0,0813
				IV	6,6	6,7 ^b	6,42 ± 0,63	6,41 ± 0,6	4,5-7,2	4,8-7,1	2,7	2,3	0,5664**	0,0099	0,0701
				V	6,6	6,7	6,4 ± 0,7	6,47 ± 0,61	4,1-7,2	5,0-7,1	3,1	2,1	0,0727	-0,0955	0,9292
				VI	6,4	6,6 ^c	6,44 ± 0,49	6,52 ± 0,62	5,5-7,5	5,1-8,0	2,0	2,9	0,4299	0,1831	0,3725

*w każdym cyklu pobrano od badanych 21 próbek śliny

ANOVA Friedmana nie wykazała statystycznie istotnych różnic dla pH₁

Różnica statystycznie znamienne dla pH₂ oceniana testem ANOVA Friedmana przy *p<0,05; a-b,a-c

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

W **tabeli IV** zestawiono dane dotyczące zdolności buforowych śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechanicznej. Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy zdolnościami buforowymi śliny spoczynkowej a zdolnościami buforowymi śliny stymulowanej niezależnie od czasu trwania stymulacji. Nie stwierdzono również istotnych różnic pomiędzy śliną stymulowaną pobieraną w poszczególnych cyklach. Natomiast zdolność buforowa śliny spoczynkowej rzutowała w istotny sposób na zdolności buforowe śliny stymulowanej szczególnie na początku trwania stymulacji (cykl I). Im wyższa była zdolność buforowa śliny spoczynkowej, tym wyższa była zdolność buforowa śliny stymulowanej pobieranej w tym cyklu.

Stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy zdolnościami buforowymi śliny spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. W przypadku śliny stymulowanej nie stwierdzono żadnej korelacji pomiędzy zdolnościami buforowymi śliny a szybkością wydzielania śliny. Potwierdzają to dane zawarte w **tabeli III**.

Tabela IV. Zdolności buforowe śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krawka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji) GRUPA I

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierano śliny*	Zdolności buforowe śliny mierzone po upływie 1 min (ZB ₁) oraz po upływie 5 min od dodania 0,1M HCl (ZB ₂) do śliny						Korelacja pomiędzy ZB ₁ śliny spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy ZB ₁ śliny spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy ZB ₁ śliny a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy ZB ₂ śliny a szybkością wydzielenia śliny (r)		
				Me		$\bar{X} \pm SD$		zakres						rozstęp	
				ZB ₁	ZB ₂	ZB ₁	ZB ₂	ZB ₁	ZB ₂					ZB ₁	ZB ₂
21	22,7 ± 3,3	Ślina stymulowana Czas trwania stymulacji i pobierania śliny	0	Ślina spoczynkowa	0-5 min	4,5	4,0	4,8 ±3,6	5,5 ±4,2	0-17,5	0,5-15,5	17,5	15	0,6378**	0,6904**
					5-10 min	4,5	4,0	4,4 ±2,6	4,1 ±2,0	0-14	0,5-8,5	14	8,0	0,0198	0,0950
					10-15 min	4,0	4,5	4,2 ±4,2	5,3 ±3,4	0-20	2,0-15	20,5	13	0,0143	-0,1218
					15-20 min	4,5	4,0	4,8 ±3,0	4,8 ±2,7	0-13,5	0,5-12	13,5	11,5	0,3763	0,1499
					20-25 min	4,5	4,0	4,8 ±3,5	4,5 ±2,9	0-15,5	0-12	15,5	12	0,0350	-0,0066
					25-30 min	5,0	4,0	4,6 ±2,2	4,2 ±2,8	0-8,5	0-10	8,5	10,5	0,1662	-0,3911

*w każdym cyklu pobrano od badanych 21 próbek śliny

ANOVA Friedmana nie wykazała statystycznie istotnych różnic dla ZB₁ oraz ZB₂

1.3. Lepkość śliny

W tabeli V zestawiono dane dotyczące lepkości śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechanicznej.

Na podstawie danych zawartych w tabeli można stwierdzić, że lepkość śliny spoczynkowej była istotnie wyższa ($Me_0=1,13$) od lepkości każdej z próbek śliny stymulowanej zbieranej podczas nieprzerwanej 30-minutowej stymulacji żuciem plastikowego krążka ($Me_I=0,5$; $Me_{II}=0,34$; $Me_{III}=0,21$; $Me_{IV}=0,26$; $Me_V=0,26$; $Me_{VI}=0,023$). Największą lepkość stwierdzono w ślinie zebranej w trakcie pierwszych 5 minut stymulacji (cykl I) i była ona istotnie statystycznie większa niż w ślinie zebranej w cyklach IV, V i VI. Najniższą lepkość stwierdzono w ślinie zebranej między 25 a 30 minutą stymulacji (cykl VI) i była ona istotnie niższa od lepkości stwierdzonej w ślinie pobieranej w cyklach od I do V.

Jednocześnie stwierdzono znamienne statystycznie korelację, o charakterze dodatnim pomiędzy lepkością śliny spoczynkowej a lepkością śliny stymulowanej. Korelacja ta była istotna niezależnie od czasu trwania stymulacji. Charakter dodatni korelacji oznacza, że im wyższa była lepkość śliny spoczynkowej, tym wyższa była lepkość śliny stymulowanej. Natomiast pomiędzy lepkością a szybkością wydzielania śliny zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej nie występowała żadna zależność. Nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy lepkością a stężeniem białka całkowitego.

Tabela V. Lepkość śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krawka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobrano śliny*	Lepkość śliny			Korelacja pomiędzy lepkością śliny spoczynkowej a lepkością śliny stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy lepkością a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy lepkością a stężeniem białka całkowitego (r)	
				Me	$\bar{X} \pm SD$	zakres				rozstęp
21	22,76 ± 3,3	Ślina spoczynkowa	0	1,13 ^a	1,68 ± 1,55	0,07 - 4,84	4,77	-----	0,3051	
		Ślina stymulowana i pobierana śliny	I	0,5 ^b	1,24 ± 1,9	0,096 - 8,07	7,974	0,5356*	0,1177	
			II	0,34 ^c	1,08 ± 1,81	0,07 - 7,05	6,987	0,5859**	0,2870	
			III	0,21 ^d	0,64 ± 1,03	0,07 - 3,92	3,85	0,6291**	0,2936	
			IV	0,26 ^e	0,52 ± 0,73	0,07 - 3,07	3,0	0,4463*	0,2423	
			V	0,26 ^f	0,46 ± 0,61	0,057 - 2,46	2,403	0,4900*	0,2473	
			VI	0,023 ^g	0,04 ± 0,06	0,005 - 2,03	0,225	0,5771**	0,1370	

*w każdym cyklu pobrano od badanych 21 próbek śliny

Różnica statystycznie znamienne oceniana testem ANOVA Friedmana przy **p<0,05: a-d,a-e,a-f,a-g,b-e,b-f,b-g,c-g,d-g,e-g,f-g

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

1.4. Stężenie wapnia i fosforanów nieorganicznych

W **tabeli VI** zestawiono dane dotyczące stężenia jonów wapnia w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechanicznej.

Na podstawie danych zawartych w **tabeli VI** można stwierdzić, że stężenie jonów wapnia w ślinie stymulowanej mechanicznie żuciem plastikowego krążka, pobieranej 6-krotnie w ciągu nieprzerwanej 30-minutowej stymulacji ($Me_I=2,62$; $Me_{II}=2,38$; $Me_{III}=2,37$; $Me_{IV}=2,34$; $Me_V=1,92$; $Me_{VI}=1,97$ mg%), w każdym przypadku było niższe od stężenia jonów wapnia w ślinie spoczynkowej ($Me_0=3,52$ mg%). Stężenie jonów wapnia malało wraz z czasem trwania stymulacji. Zauważono znamiennej statystycznie różnicę w stężeniach jonów Ca^{2+} w ślinie spoczynkowej ($Me_0=3,52$ mg%) a stężeniach jonów Ca^{2+} w ślinie stymulowanej pobranej w cyklu V i VI ($Me_V=1,92$; $Me_{VI}=1,97$ mg%). Nie stwierdzono istotnej statystycznie korelacji pomiędzy stężeniem Ca^{2+} a szybkością wydzielania śliny zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej. Nie występowała również istotna zależność pomiędzy stężeniem Ca^{2+} w ślinie spoczynkowej a stężeniem Ca^{2+} w ślinie stymulowanej.

Tabela VI. Stężenie jonów wapnia w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krawczyka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierano śliny*	Stężenie jonów wapnia								Korelacja pomiędzy stężeniem wapnia w ślinie a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem wapnia w ślinie spoczynkowej i stymulowanej (r)
				Me		$\bar{X} \pm SD$		zakres		rozstęp			
				mg%	mM	mg%	mM	mg%	mM	mg%	mM		
				mg%	mM	mg%	mM	mg%	mM	mg%	mM		
21	22,7 ± 3,3	Ślina spoczynkowa i pobierania śliny Czas trwania stymulacji	0	3,52 ^a	0,89	3,64 ± 1,27	0,9 ± 0,31	1,64-6,31	4,0-1,54	4,67	1,14	0,0332	-----
			I	2,62	0,64	2,68 ± 1,05	0,65 ± 0,25	1,23-4,88	3,0-1,19	3,65	0,89	0,1274	-0,1901
			II	2,38	0,58	2,39 ± 0,72	0,58 ± 0,17	1,15-4,06	2,08-0,99	2,91	0,71	0,0499	0,0776
			III	2,37	0,58	2,39 ± 0,66	0,58 ± 0,16	0,74-3,57	0,18-0,87	2,83	0,69	0,1198	0,0923
			IV	2,34	0,57	2,34 ± 0,69	0,57 ± 0,16	1,02-3,61	2,05-0,88	2,59	0,63	-0,2063	0,0773
			V	1,92 ^b	0,47	1,95 ± 0,69	0,47 ± 0,16	1,06-4,06	2,06-0,99	3,0	0,73	0,4282	0,3571
VI	1,97 ^c	0,48	1,96 ± 0,81	0,48 ± 0,19	0,74-3,57	0,18-0,87	2,83	0,69	0,2210	0,2526			

*w każdym cyklu pobrano od badanych 21 próbek śliny

Różnica statystycznie znamiennej określana testem ANOVA Friedmana przy p<0,05: a-b,a-c

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05

W **tabeli VII** zestawiono dane dotyczące stężenia fosforanów nieorganicznych w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechanicznej.

Na podstawie danych zawartych w **tabeli VII** można stwierdzić, że stężenie fosforanów nieorganicznych w ślinie spoczynkowej ($Me_0=15$ mg%) było istotnie wyższe od stężenia fosforanów nieorganicznych w każdej z prób śliny stymulowanej zbieranych podczas nieprzerwanej 30-minutowej stymulacji żuciem plastikowego krążka ($Me_I=12,19$; $Me_{II}=11,42$; $Me_{III}=10,88$; $Me_{IV}=11,90$; $Me_V=11,26$; $Me_{VI}=12,22$ mg%). Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniach fosforanów nieorganicznych w ślinie stymulowanej, pobieranej w poszczególnych cyklach.

Jednocześnie zauważono znamiennej statystycznie korelację, o charakterze dodatnim pomiędzy stężeniem fosforanów nieorganicznych w ślinie spoczynkowej a stężeniem fosforanów nieorganicznych w ślinie stymulowanej. Korelację tę można było stwierdzić już po 5 minutach trwania stymulacji, i występowała ona w każdym z pozostałych cykli badania. Charakter dodatni korelacji oznacza, że im wyższe było stężenie fosforanów nieorganicznych w ślinie spoczynkowej, tym wyższe było ono również w ślinie stymulowanej. Ponadto stwierdzono zależność pomiędzy stężeniem fosforanów nieorganicznych a szybkością wydzielania śliny. Stwierdzona istotna korelacja miała charakter ujemny zarówno w ślinie spoczynkowej ($p<0,01$) jak i w ślinie stymulowanej, po dłuższym okresie stymulacji (cykl V - $p<0,05$, cykl VI - $p<0,01$). Dłuższa stymulacja uwypuklała ujemną zależność pomiędzy stężeniem fosforanów nieorganicznych a szybkością wydzielania śliny.

Tabela VII. Stężenie fosforanów nieorganicznych w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krawężka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierano śliny*	Stężenie fosforanów nieorganicznych										Korelacja pomiędzy stężeniem fosforanów w ślinie spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem fosforanów w ślinie a szybkością wydzielenia śliny (r)
				Me		$\bar{X} \pm SD$		zakres		rozstęp					
				mg%	mM	mg%	mM	mg%	mM	mg%	mM				
21	22,7 ± 3,3	Ślina spoczynkowa	0	15,0 ^a	4,91	17,21 ± 7,33	5,6 ± 2,26	9,24 - 43,08	2,89 - 12,62	31,14	9,73	0,5803**			
			Ślina stymulowana i pobierania śliny	I	12,19 ^b	3,81	13,11 ± 4,03	4,1 ± 1,25	8,32 - 25,24	2,60 - 7,89	16,92	5,29	0,7381***	-0,1810	
				II	11,42 ^c	3,57	10,73 ± 3,06	3,37 ± 0,98	3,81 - 15,51	1,19 - 5,16	11,7	3,97	0,50155*	-0,2195	
				III	10,88 ^d	3,40	11,68 ± 3,56	3,65 ± 1,11	5,85 - 21,47	1,83 - 6,71	15,52	4,88	0,40753*	-0,3199	
				IV	11,90 ^e	3,72	11,6 ± 4,22	3,53 ± 1,42	4,19 - 24,35	1,07 - 7,61	20,16	6,54	0,40870*	-0,2555	
				V	11,26 ^f	3,52	12,03 ± 4,16	3,76 ± 1,3	5,92 - 20,77	1,85 - 6,49	14,85	4,64	0,5545**	0,40870*	
				VI	12,22 ^g	3,90	12,22 ± 3,73	3,83 ± 1,16	5,28 - 20,77	1,65 - 6,49	15,49	4,84	0,6259**	-0,6350**	

*w każdym cyklu pobrano od badanych 21 próbek śliny

Różnica statystycznie znamiennej określana testem ANOVA Friedmana przy p<0,05: a-b,a-c,a-d,a-e,a-f,a-g

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

1.5. Stężenie białka całkowitego, lizozymu, laktoferyny, IgA

W tabeli VIII przedstawiono wyniki dotyczące stężenia białka całkowitego w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechanicznej.

Analizując dane zawarte w tej tabeli można stwierdzić, iż stężenie białka całkowitego w ślinie spoczynkowej było istotnie statystycznie wyższe ($Me_0=1,70$ mg/ml) w porównaniu do stężeń białka całkowitego stwierdzanych w ślinie zbieranej podczas nieprzerwanej 30-minutowej stymulacji mechanicznej ($Me_I=1,46$; $Me_{II}=1,12$; $Me_{III}=1,30$; $Me_{IV}=1,27$; $Me_V=1,29$; $Me_{VI}=1,39$ mg/ml). Jednocześnie nie stwierdzono różnic pomiędzy stężeniami białka całkowitego w ślinie stymulowanej pobieranej w poszczególnych cyklach.

Stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej a stężeniem białka w ślinie stymulowanej. Korelacja ta miała charakter dodatni, co oznaczało, że im wyższe było stężenie białka całkowitego w ślinie spoczynkowej, tym istotnie wyższe jego stężenia stwierdzano w ślinie stymulowanej i było to niezależne od czasu trwania stymulacji. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Stwierdzono natomiast znamiennej statystycznie ujemną korelację pomiędzy stężeniem białka całkowitego w ślinie stymulowanej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej, niezależnie od czasu trwania stymulacji (z wyjątkiem cyklu I). Oznaczało to, że im większa była szybkość wydzielania śliny stymulowanej, tym mniejsze było w niej stężenia białka całkowitego w każdym z badanych cykli (poza cyklem I).

Tabela VIII. Stężenie białka całkowitego w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krażka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierano* śliny	Stężenie białka całkowitego (mg/ml)			Korelacja pomiędzy stężeniem białka w ślinie spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem białka w ślinie a szybkością wydzielenia śliny (r)	
				Me	$\bar{X} \pm SD$	zakres			rozstęp
21	22,7 ± 3,3	Ślina spoczynkowa	0	1,70 ^a	1,78 ± 0,47	0,88 - 2,64	1,76	-0,4040	
			Ślina stymulowana i pobierania śliny Czas trwania stymulacji	I	1,46 ^b	1,44 ± 0,47	0,62 - 2,5	1,88	0,6280**
		II		1,12 ^c	1,23 ± 0,36	0,77 - 2,05	1,28	0,6758***	-0,5426*
		III		1,30 ^d	1,30 ± 0,40	0,77 - 2,45	1,68	0,6354**	-0,5677**
		IV		1,27 ^e	1,32 ± 0,47	0,86 - 2,82	1,96	0,5594**	-0,7294***
		V		1,29 ^f	1,33 ± 0,45	0,59 - 2,73	2,14	0,6033**	-0,6122**
		VI	1,39 ^g	1,42 ± 0,45	0,57 - 2,82	2,25	0,4936*	-0,5332**	

*w każdym cyklu pobrano od badanych 21 próbek śliny

Różnica statystycznie znamiennej określana testem ANOVA Friedmana przy $p < 0,05$: a-b, a-c, a-d, a-e, a-f, a-g

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

W **tabeli IX** zestawiono dane dotyczące stężenia lizozymu w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechanicznej.

Analizując mediany oraz średnie wartości stężeń lizozymu można stwierdzić, iż nie różniły się one istotnie pomiędzy śliną spoczynkową a stymulowaną, zbieraną 6-krotnie podczas nieprzerwanej 30-minutowej stymulacji mechanicznej. Ponadto niezależnie od czasu trwania stymulacji stężenie lizozymu w badanej ślinie stymulowanej w poszczególnych cyklach było podobne.

Istotną statystycznie korelację o charakterze dodatnim stwierdzono pomiędzy stężeniem lizozymu w ślinie spoczynkowej a stężeniem lizozymu w ślinie stymulowanej (z wyjątkiem cyklu IV). Oznaczało to, że im wyższe było stężenie lizozymu w ślinie spoczynkowej, tym istotnie wyższe jego stężenia stwierdzano w ślinie stymulowanej. Natomiast nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy stężeniem lizozymu a szybkością wydzielania śliny zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej. Nie stwierdzono również zależności pomiędzy stężeniem lizozymu a stężeniem białka całkowitego w ślinie, zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej.

Tabela IX. Stężenie lizozymu w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krażka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina		Cykl pobrano śliny*	Stężenie lizozymu (µg/ml)			Korelacja pomiędzy stężeniem lizozymu w ślinie spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem lizozymu w ślinie a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem lizozymu a stężeniem białka całkowitego w ślinie (r)	
		Me	$\bar{X} \pm SD$		zakres	rozstęp					
21	22,7 ± 3,3	Ślina spoczynkowa		0	4,2	4,9 ± 3,4	0,4 - 11,0	10,6	-----	-0,0914	0,1177
		Ślina stymulowana Czas trwania stymulacji i pobierania śliny		I	4,1	4,6 ± 3,6	0,2 - 11,9	11,7	0,5758**	0,1826	0,1092
				II	3,4	3,8 ± 3,2	0,3 - 12,7	12,4	0,4528*	0,1236	0,0123
				III	3,2	4,1 ± 2,8	0,8 - 10,8	10,0	0,4481*	-0,3992	0,2132
				IV	4,7	4,8 ± 2,8	0,4 - 9,6	9,2	0,4022	0,0741	0,0061
				V	3,9	4,3 ± 3,4	0,2 - 11,8	11,6	0,4663*	0,0354	0,0649
		VI	5,3	5,1 ± 3,6	0,1 - 12,4	12,3	0,4891*	0,2286	0,0507		

*w każdym cyklu pobrano od badanych 21 próbek śliny

ANOVA Friedmana nie wykazała statystycznie istotnych różnic w poziomie i szybkości wydzielenia lizozymu

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05

W **tabeli X** zestawiono wyniki dotyczące stężenia laktoferyny w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechanicznej.

Analizując mediany oraz średnie wartości stężeń laktoferyny w ślinie, stwierdzono, że były one zawsze istotnie wyższe w ślinie spoczynkowej, niż w ślinie stymulowanej niezależnie od czasu trwania stymulacji.

Pomiędzy wartościami laktoferyny w ślinie spoczynkowej i wartościami laktoferyny w ślinie stymulowanej zauważono następującą prawidłowość: poziom laktoferyny w ślinie stymulowanej w znacznej mierze zależał od wartości wyjściowych, tzn. tych, które stwierdzono w ślinie spoczynkowej. Występująca zależność o charakterze korelacji dodatniej była statystycznie znamienna. Oznaczało to, że im więcej laktoferyny było w ślinie spoczynkowej, tym istotnie wyższe jej wartości stwierdzano w ślinie zbieranej podczas stymulacji, szczególnie podczas pierwszych 5 minut (cykl I), oraz po 25 minutach stymulacji (cykl VI). Natomiast nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem laktoferyny w ślinie a szybkością wydzielania śliny zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej. Stwierdzono istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy stężeniem laktoferyny a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej. Powyższej korelacji nie stwierdzono w ślinie stymulowanej.

Tabela X. Stężenie laktoferyny w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krążka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierano* śliny	Stężenie laktoferyny (µg/ml)			Korelacja pomiędzy stężeniem laktoferyny w ślinie a spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem laktoferyny w ślinie a szybkością wydzielania śliny (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem laktoferyny a stężeniem białka całkowitego w ślinie (r)	
				Me	$\bar{X} \pm SD$	zakres				rozstęp
21	22,7 ± 3,3	Ślina spoczynkowa i pobierania śliny i pobierania śliny	0	5,3	5,4 ^a ± 3,6	2,0 - 15,6	15,4	-----	0,0585	0,6185**
			I	3,2	3,4 ^b ± 2,0	0,6 - 7,4	6,8	0,6430**	-0,2616	0,3366
			II	15	1,9 ^c ± 1,0	0,6 - 3,8	3,2	0,3001	0,0006	0,4031
			III	2,4	2,4 ^d ± 1,6	0,4 - 7,1	6,7	0,4519*	-0,0383	0,2197
			IV	2,6	2,5 ^e ± 1,5	0,5 - 5,8	5,3	0,3884	-0,2108	-0,0640
			V	2,0	2,4 ^f ± 1,3	0,3 - 5,1	4,8	0,4909*	-0,1122	0,1520
			VI	2,3	2,5 ^g ± 1,2	0,9 - 5,6	4,7	0,5651**	-0,0454	0,0624

*w każdym cyklu pobrano od badanych 21 próbek śliny

Różnica statystycznie znamiennej określana testem ANOVA z powtarzanymi pomiarami przy $p < 0,001$: a-b, a-c, a-d, a-e, a-f, a-g

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

W **tabeli XI** przedstawiono dane dotyczące stężenia IgA w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechanicznej.

Na podstawie danych zawartych w **tabeli XI** można stwierdzić, iż stężenie IgA w ślinie stymulowanej mechanicznie żuciem plastikowego krążka, pobieranej 6-krotnie w ciągu nieprzerwanej 30-minutowej stymulacji, w każdym przypadku było istotnie niższe ($M_I=123$; $M_{II}=103$; $M_{III}=107$; $M_{IV}=105$; $M_V=124$; $M_{VI}=101$ $\mu\text{g/ml}$) od stężenia IgA w ślinie spoczynkowej ($M_{e_0}=221$ $\mu\text{g/ml}$). Stężenie IgA w cyklu I było wyższe od stężenia IgA w cyklu VI, ale różnica ta nie była istotna statystycznie, nie stwierdzono wyraźnej tendencji spadkowej w stężeniach IgA wraz z czasem trwania stymulacji.

Pomiędzy wartościami IgA w ślinie spoczynkowej i wartościami IgA w ślinie stymulowanej zauważono następującą prawidłowość: poziom IgA w ślinie stymulowanej w znacznej mierze zależał od wartości wyjściowych, tzn. tych, które stwierdzono w ślinie spoczynkowej. Występująca zależność o charakterze korelacji dodatniej była statystycznie znamienne, oznaczało to, że im więcej IgA było w ślinie spoczynkowej, tym istotnie wyższe jej wartości stwierdzano w ślinie zbieranej podczas stymulacji. Zauważono istotną statystycznie ujemną korelację pomiędzy stężeniem IgA a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej ($p<0,05$) oraz pomiędzy poziomem IgA w ślinie a szybkością wydzielania śliny stymulowanej na początku stymulacji (cykl I), oraz po 10 i 25 minutach stymulacji (cykl III i VI). Stwierdzono ponadto istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy stężeniem IgA a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej ($p<0,05$). Powyższą korelację stwierdzono również w ślinie stymulowanej, z wyjątkiem śliny pobieranej w cyklu III.

Tabela XI. Stężenie IgA w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krawężka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierano śliny*	Stężenie IgA (µg/ml)			Korelacja pomiędzy stężeniem IgA w ślinie a spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem IgA w ślinie a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem IgA a stężeniem białka całkowitego w ślinie (r)
				Me	$\bar{X} \pm SD$	zakres			
21	22,7±3,3	Ślina spoczynkowa i pobierania śliny Czas trwania stymulacji	0	221 ^a	255,9 ± 156,7	43 - 612	569	-0,4717*	0,6230*
			I	123 ^b	161,7 ± 126,8	34 - 474	440	0,6012**	0,4580*
			II	103 ^c	134,6 ± 125,3	12 - 607	595	0,5883**	0,5523*
			III	107 ^d	125,3 ± 82,7	19 - 351	332	0,7099***	-0,6080*
			IV	105 ^e	106,5 ± 55,1	24 - 233	209	0,7935***	-0,4282
			V	124 ^f	115,4 ± 62,1	16 - 235	219	0,8000***	-0,4030
		VI	101 ^g	113,3 ± 66,5	37 - 291	254	0,6930***	0,4775*	
								0,4582*	

*w każdym cyklu pobrano od badanych 21 próbek śliny

Różnica statystycznie znamiennej określana testem ANOVA Friedmana przy p<0,05: a-b,a-c,a-d,a-e,a-f,a-g

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

2. Właściwości fizyko-chemiczne śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej chemicznie kwasem cytrynowym z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji

Przedstawione w **tabelach** od **XII** do **XX** wyniki badań dotyczyły grupy II, w której wydzielanie śliny stymulowano poprzez podawanie 2 kropli soku cytrynowego na język co 2,5 min według procedury przedstawionej na schemacie 3 (rozdział: **Materiał i metody** str. 33). Grupa ta liczyła 40 ochotników w wieku 19-33 lat (18 kobiet, 22 mężczyzn), ogólnie zdrowych, z prawidłowym wydzielaniem śliny, nie zgłaszających dolegliwości ze strony jamy ustnej. Wyniki badań obejmujące ocenę szybkości wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny stymulowanej chemicznie przedstawiono w **tabeli XII**. W **tabelach** od **XIII** do **XX** przedstawiono wyniki obrazujące stężenie jonów wodorowych, zdolność buforową, stężenie jonów wapnia, stężenia białka całkowitego, lizozymu, laktoferyny oraz IgA zarówno w ślinie spoczynkowej jak i w ślinie stymulowanej chemicznie. Ze względu na to, że od jednego z badanych pobrano mniejszą ilość śliny nie można było oznaczyć w cyklu I poziomu laktoferyny i IgA u tego badanego. Dlatego też w tabelach XIX i XX wyniki badań dotyczące poziomu laktoferyny i IgA w cyklu I odnoszą się do 39 osób.

2.1. Szybkość wydzielania śliny

W tabeli XII zestawiono wyniki dotyczące szybkości wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji chemicznej.

Na podstawie danych zawartych w tabeli można stwierdzić, iż szybkość wydzielania śliny spoczynkowej ($Me_0=0,80$ ml/min) była wyższa od szybkości wydzielania śliny stymulowanej chemicznie kwasem cytrynowym, mierzonej 5-krotnie w ciągu nieprzerwanej 25-minutowej stymulacji. Nie zauważono znamiennej statystycznie różnicy pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej niezależnie od czasu trwania stymulacji. Nie stwierdzono również istotnej statystycznie zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej, pobieranej w różnych cyklach ($Me_I=0,60$; $Me_{II}=0,70$; $Me_{III}=0,70$; $Me_{IV}=0,60$; $Me_V=0,60$ ml/min). Stwierdzono istotną dodatnią korelację pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej w cyklu I,IV i V. Oznacza to, że im wyższa była szybkość wydzielania śliny spoczynkowej tym wyższa również była szybkość wydzielania śliny stymulowanej. Zależność ta wzrastała wraz z wydłużaniem czasu trwania stymulacji. Zależność ta nie była istotna statystycznie w przypadku śliny stymulowanej pobieranej w cyklu II i III).

Tabela XII. Szybkość wydzielenia śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierania śliny*	Szybkość wydzielenia śliny (ml/min)			Korelacja pomiędzy szybkością wydzielenia śliny spoczynkowej i stymulowanej (r)	
				Me	$\bar{X} \pm SD$	zakres		rozstęp
40	22,5 ± 3,5	Ślina spoczynkowa	0	0,80	0,84 ± 0,35	0,2 - 1,6	1,4	-----
		Ślina stymulowana i pobierania śliny	I	0,60	0,67 ± 0,25	0,2 - 1,4	1,2	0,5958***
			II	0,70	0,70 ± 0,37	0,2 - 2,2	2,0	0,2559
			III	0,70	0,72 ± 0,31	0,3 - 1,8	1,5	0,2087
			IV	0,60	0,70 ± 0,37	0,2 - 1,8	1,6	0,3545*
			V	0,60	0,75 ± 0,44	0,2 - 2,4	2,2	0,3886*

*w każdym cyklu pobrano od badanych 40 próbek śliny

Test ANOVA Friedmana nie wykazał istotnych statystycznie różnic pomiędzy szybkością wydzielenia śliny spoczynkowej a stymulowanej kwasem cytrynowym.

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

2.2. Stężenie jonów wodorowych w ślinie oraz zdolności buforowe śliny

W tabeli XIII zestawiono dane dotyczące stężenia jonów wodorowych (pH) w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji chemicznej.

Analizując mediany oraz średnie wartości stężeń jonów wodorowych w ślinie spoczynkowej i stymulowanej, można stwierdzić, iż stężenia jonów wodorowych w ślinie spoczynkowej było wyższe od stężeń obserwowanych w ślinie stymulowanej zbieranej podczas nieprzerwanej 25-minutowej stymulacji chemicznej. Istotne statystycznie różnice stwierdzono między śliną spoczynkową a stymulowaną pobieraną w cyklu II,III,IV i V. Natomiast pH śliny stymulowanej pobieranej w różnych cyklach nie różniło się.

Istotną statystycznie korelację o charakterze dodatnim stwierdzono pomiędzy wartościami pH w ślinie spoczynkowej a wartościami pH w ślinie stymulowanej. Oznacza to, że im wyższe było pH śliny spoczynkowej, tym wyższe wartości pH stwierdzano w ślinie stymulowanej. Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy wartościami pH śliny spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Natomiast istotną statystycznie korelację stwierdzono w przypadku śliny stymulowanej. Korelacja ta miała charakter dodatni, co oznacza, że wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny wzrastało również pH śliny.

Tabela XIII. Stężenie jonów wodorowych (pH) śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierania śliny *	Wartości pH śliny			Korelacja pomiędzy pH śliny spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy pH śliny a szybkością wydzielenia śliny (r)	
				Me	$\bar{X} \pm SD$	zakres			rozstęp
40	22,5 ± 3,5	Ślina spoczynkowa	0	6,9 ^a	6,89 ± 0,29	6,0 - 7,5	1,5	0,1701	
		Ślina stymulowana	I	7,1	7,06 ± 0,39	6,1 - 7,9	1,8	0,7031***	0,4573**
			II	7,0^b	7,05 ± 0,40	6,2 - 7,8	1,6	0,6595***	0,5218***
			III	7,0^c	7,05 ± 0,41	6,1 - 7,8	1,7	0,6279***	0,6037***
			IV	7,0^d	7,05 ± 0,41	6,2 - 7,7	1,5	0,6527***	0,5233***
			V	7,0^e	7,06 ± 0,40	6,1 - 7,9	1,8	0,6752***	0,4648**
		Czas trwania stymulacji i pobierania śliny							
		0-5 min							
		5-10 min							
		10-15 min							
		15-20 min							
		20-25 min							

*w każdym cyklu pobrano od badanych 40 próbek śliny

Różnica statystycznie znamienne oceniana testem ANOVA Friedmana przy **p<0,05; a-b,a-e, **p<0,01; a-d, ***p<0,001; a-c

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

Test T-studenta ślina spoczynkowa: ślina po 5 min stymulacji, cykl I p=0,000167

W **tabeli XIV** zestawiono dane dotyczące stężenia jonów wodorowych (pH) w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej mierzone po jednej (pH₁) oraz po pięciu (pH₂) minutach od dodania 1ml 0,1M HCl z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji chemicznej.

Analizując mediany oraz średnie wartości pH w ślinie spoczynkowej i stymulowanej, mierzonych po jednej i pięciu minutach od dodania kwasu HCl do każdej z próbek śliny, można stwierdzić, iż pH śliny spoczynkowej nie różniło się istotnie od pH (pH₁, pH₂) śliny stymulowanej pobieranej w poszczególnych cyklach. Również pH śliny stymulowanej (pH₁, pH₂) pobieranej w różnych cyklach nie różniło się.

Istotną statystycznie korelację o charakterze dodatnim stwierdzono pomiędzy wartościami pH śliny spoczynkowej (pH₁, pH₂) a pH śliny stymulowanej (pH₁, pH₂), pobieranej w kolejnych cyklach, zarówno po jednej jak i po pięciu minutach od momentu dodania kwasu ($p < 0,001$). Nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy wartościami pH śliny spoczynkowej (pH₁, pH₂) po jednej jak i pięciu minutach od momentu dodania HCl a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Stwierdzono natomiast dodatnią, znamioną statystycznie zależność pomiędzy wartościami pH stwierdzanymi w ślinie zarówno po jednej (poza cyklem V) jak i po pięciu minutach od dodania kwasu HCl a szybkością wydzielania śliny stymulowanej. Oznacza to, iż wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny stymulowanej wzrastały wartości pH śliny stymulowanej, mierzone po dodaniu kwasu. Reasumując, ślina stymulowana wydzielana szybciej, charakteryzowała się lepszymi zdolnościami buforowymi.

Tabela XIV. Stężenie jonów wodorowych śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) po dodaniu kwasu u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierania śliny *	Wartości pH po upływie 1 min (pH ₁) i 5 min od dodania 0,1M HCl (pH ₂) do śliny						Korelacja pomiędzy pH ₁ śliny spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy pH ₂ śliny spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy pH ₁ śliny a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy pH ₂ śliny a szybkością wydzielenia śliny (r)		
				Me		X̄ ± SD		zakres						rozstęp	
				pH ₁	pH ₂	pH ₁	pH ₂	pH ₁	pH ₂					pH ₁	pH ₂
40	22,5 ± 3,5	Ślina stymulowana i pobierania śliny Czas trwania stymulacji	Ślina spoczynkowa	0	6,3	6,4	6,11 ± 0,6	6,17 ± 0,56	5,0 - 6,9	5,0 - 6,9	1,9	1,9	0,1584	0,1804	
				I	5,0	6,35	6,24 ± 0,63	6,26 ± 0,64	5,0 - 7,8	5,0 - 7,8	2,8	2,8	0,6152***	0,4498**	
				II	5,0	6,45	6,26 ± 0,65	6,31 ± 0,6	5,0 - 7,6	5,0 - 7,2	2,6	2,2	0,6537***	0,4032*	
				III	6,3	6,4	6,25 ± 0,73	6,32 ± 0,65	4,3 - 7,7	4,6 - 7,2	3,4	2,6	0,6157***	0,4465**	
				IV	5,0	6,4	6,26 ± 0,63	6,38 ± 0,58	5,0 - 7,6	5,1 - 7,6	2,6	2,5	0,5856***	0,4397**	
			V	4,6	6,55	6,29 ± 0,71	6,37 ± 0,65	4,6 - 7,7	4,7 - 7,6	3,1	2,9	0,5529***	0,3312*		

*w każdym cyklu pobrano od badanych 40 próbek śliny

ANOVA Friedmana nie wykazała statystycznie istotnych różnic dla pH₁ oraz pH₂

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

W **tabeli XV** zestawiono dane dotyczące zdolności buforowych śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji chemicznej.

Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy zdolnościami buforowymi śliny spoczynkowej a zdolnościami buforowymi śliny stymulowanej niezależnie od cyklu pobrania. Nie stwierdzono również istotnych różnic pomiędzy wartościami określającymi zdolność buforową śliny stymulowanej pobieranej w poszczególnych cyklach. Natomiast występowała zależność pomiędzy zdolnością buforową śliny spoczynkowej a zdolnością buforową śliny stymulowanej, w przypadku gdy pomiarów dokonywano po jednej minucie od dodania HCl (ZB₁ - cykl I,II,III,IV). Nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy zdolnościami buforowymi śliny a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej oraz śliny stymulowanej .

Tabela XV. Zdolności buforowe śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina		Cykl pobierania śliny *	Zdolności buforowe śliny mierzone po upływie 1 min od dodania 0,1M HCL (ZB ₁) oraz mierzone po upływie 5 min od dodania 0,1M HCL (ZB ₂)						Korelacja pomiędzy ZB ₁ śliny spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy ZB ₂ śliny spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy ZB ₁ i ZB ₂ śliny spoczynkowej (r)	Korelacja pomiędzy ZB ₁ i ZB ₂ śliny a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy ZB ₂ i ZB ₁ śliny a szybkością wydzielenia śliny (r)
		Ślina stymulowana Czas trwania stymulacji i pobierania śliny	Ślina spoczynkowa		$\bar{X} \pm SD$		zakres		rozstęp						
					ZB ₁	ZB ₂	ZB ₁	ZB ₂	ZB ₁	ZB ₂					
40	22,5 ± 3,5	0	0-5 min	4,0	3,5	4,6 ± 5,4	4,3 ± 5,4	0,5 - 8,5	0 - 8,5	8,0	8,5	-----	-0,2250	-0,1389	
			5-10 min	4,0	3,7	4,1 ± 2,2	3,9 ± 2,2	0,5 - 10	0,5 - 10	9,5	9,5	0,2447	-0,3028	-0,2345	
			10-15 min	3,5	3,5	3,9 ± 2,2	3,7 ± 2,2	0 - 10	0,5 - 10	10	9,5	0,3559*	-0,1360	-0,0388	
			15-20 min	3,7	3,5	4,0 ± 2,6	3,6 ± 2,2	0 - 13,5	0 - 12	13,5	12	0,2963	-0,1576	-0,0329	
			20-25 min	3,5	3,2	3,9 ± 1,9	3,3 ± 1,8	0 - 9,5	0 - 9,0	9,5	9,0	0,3169*	0,2694	-0,2240	
				3,5	3,0	3,8 ± 2,4	3,4 ± 2,2	0,5 - 11,5	0,5 - 11	11	10,5	0,1686	0,2577	-0,0875	

*w każdym cyklu pobrano od badanych 40 próbek śliny

ANOVA Friedmana nie wykazała statystycznie istotnych różnic dla ZB₁ oraz ZB₂ pomiędzy zdolnością buforową śliny spoczynkowej i stymulowanej.

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

2.3. Stężenie wapnia

W **tabeli XVI** zestawiono dane dotyczące stężenia jonów wapnia w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji chemicznej.

Na podstawie danych zawartych w **tabeli XVI** można stwierdzić, że stężenie jonów wapnia w ślinie stymulowanej chemicznie kwasem cytrynowym, pobieranej 5-krotnie w ciągu nieprzerwanej 25-minutowej stymulacji, w każdym przypadku było istotnie wyższe ($Me_I=3,56$; $Me_{II}=3,89$; $Me_{III}=3,57$; $Me_{IV}=3,12$; $Me_V=4,18$ mg%) od stężenia jonów wapnia w ślinie spoczynkowej ($Me_0=3,07$ mg%). Nie stwierdzono regularności we wzroście stężenia jonów wapnia wraz z czasem trwania stymulacji.

Stwierdzono znamiennej statystycznie korelację o charakterze dodatnim pomiędzy stężeniem Ca^{2+} w ślinie spoczynkowej a stężeniem Ca^{2+} w ślinie stymulowanej. Korelacja ta występowała jedynie po 15 minutach stymulacji (cykl IV). Nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy stężeniem jonów wapnia a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Korelacja istotna statystycznie o charakterze ujemnym, występowała natomiast pomiędzy stężeniem jonów wapnia w ślinie stymulowanej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej pobieranej w cyklu II i cyklu V.

Tabela XVI. Stężenie jonów wapnia w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierania * śliny	Stężenie jonów wapnia								Korelacja pomiędzy stężeniem wapnia w ślinie a szybkością wydzielenia śliny (r)	
				Me		$\bar{X} \pm SD$		zakres		rozstęp			Korelacja pomiędzy stężeniem wapnia w ślinie a spoczynkowej i stymulowanej (r)
				mg%	mM	mg%	mM	mg%	mM	mg%	mM		
40	22,5 ± 3,5	Ślina spoczynkowa	0	3,07 ^a	0,75	3,05 ± 1,12	0,74 ± 0,27	1,10 - 5,33	0,27 - 1,3	4,23	1,03	-0,1859	
		Ślina stymulowana i pobierania śliny Czas trwania stymulacji	I	0-5 min	3,56 ^b	0,87	3,71 ± 1,22	0,90 ± 0,29	1,97 - 7,09	0,48 - 1,73	5,12	1,25	0,0082
			II	5-10 min	3,89 ^c	0,95	3,86 ± 0,95	0,94 ± 0,23	1,93 - 5,66	0,47 - 1,38	3,73	0,91	-0,4491*
			III	10-15 min	3,57 ^d	0,87	3,66 ± 0,86	0,89 ± 0,21	1,76 - 5,82	0,43 - 1,42	4,06	0,99	-0,2544
			IV	15-20 min	3,12 ^e	0,76	3,25 ± 1,0	0,77 ± 0,24	1,76 - 6,80	0,43 - 1,66	5,04	1,23	0,3841*
			V	20-25 min	4,18 ^f	1,02	4,37 ± 1,4	1,06 ± 0,34	1,96 - 8,93	0,48 - 2,18	6,97	1,7	-0,4181**

*w każdym cyklu pobrano od badanych 40 próbek śliny

Różnica statystycznie znamiennej określana testem ANOVA Friedmana przy $p < 0,05$: a-b,a-c,a-f,c-e,d-f,e-f

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

2.4. Stężenie białka całkowitego, lizozymu, laktoferyny, IgA

W tabeli XVII przedstawiono wyniki dotyczące stężenia białka całkowitego w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji chemicznej.

Analizując dane zawarte w tabeli można stwierdzić, iż stężenie białka całkowitego w ślinie spoczynkowej było wyższe ($Me_0=1,90$ mg/ml) w porównaniu do stężeń białka całkowitego w ślinie stymulowanej, zbieranej 5-krotnie podczas nieprzerwanej 25-minutowej stymulacji chemicznej ($Me_I=1,70$; $Me_{II}=1,70$; $Me_{III}=1,60$; $Me_{IV}=1,70$; $Me_V=1,50$ mg/ml). Stwierdzono znamienne statystycznie różnice w stężeniach BC w ślinie stymulowanej pomiędzy poszczególnymi cyklami.

Stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej a stężeniem białka w ślinie stymulowanej ($p<0,001$). Korelacja ta miała charakter dodatni, co oznacza, że im wyższe było stężenie BC w ślinie spoczynkowej, tym istotnie wyższe jego stężenia stwierdzano w ślinie stymulowanej. Nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy stężeniem BC a szybkością wydzielania śliny zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej.

Tabela XVII. Stężenie białka całkowitego w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej chemicznie (kwasem cytrynowy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierania * śliny	Stężenie białka całkowitego (mg/ml)			Korelacja pomiędzy stężeniem białka w ślinie spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem białka w ślinie a szybkością wydzielenia śliny (r)		
				Me	$\bar{X} \pm SD$	zakres			rozstęp	
40	22,5 ± 3,5	Ślina spoczynkowa i pobierania stymulacji i pobierania śliny	0	1,90 ^a	1,89 ± 0,69	0,6 - 3,2	2,6	-----	-0,1465	
			I	0-5 min	1,70 ^b	1,80 ± 0,62	0,6 - 3,4	2,8	0,6555***	-0,2189
				5-10 min	1,70 ^c	1,73 ± 0,60	0,6 - 3,4	2,8	0,7065***	-0,1884
				10-15 min	1,60 ^d	1,72 ± 0,61	0,6 - 3,3	2,7	0,7470***	-0,0638
				15-20 min	1,70 ^e	1,74 ± 0,63	0,4 - 3,8	3,4	0,6318***	-0,0009
				20-25 min	1,50 ^f	1,50 ± 0,53	0,5 - 2,9	2,4	0,6702***	-0,2581
V										

*w każdym cyklu pobrano od badanych 40 próbek śliny

Różnica statystycznie znamienne określana testem ANOVA Friedmana przy $p < 0,05$: a-f, b-f, c-f, d-f, e-f

Analizę korelacji obliczano stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

W tabeli XVIII zestawiono dane dotyczące stężenia lizozymu w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji chemicznej.

Analizując mediany oraz średnie wartości stężeń lizozymu można stwierdzić, iż występowała istotna statystycznie różnica pomiędzy śliną spoczynkową a śliną stymulowaną, zbieraną przez 20 minuty stymulacji (cykl I,II,III,IV). Najwyższe średnie wartości stężeń lizozymu stwierdzono w ślinie zebranej w cyklu V tj. między 20 a 25 minutą stymulacji ($Me_V = 3,2 \mu\text{g/ml}$, $\bar{x} = 4,5 \pm 1,7$), i były one równe stężeniu lizozymu stwierdzonemu w ślinie spoczynkowej ($Me_0 = 3,2 \mu\text{g/ml}$, $\bar{x} = 4,3 \pm 2,6$). Średnia wartość lizozymu stwierdzana w cyklu V była istotnie statystycznie wyższa niż stężenia lizozymu w cyklu I,II,III i IV. Natomiast pomiędzy cyklami I, II, III i IV nie występowały istotne różnice.

Istotną statystycznie korelację o charakterze dodatnim stwierdzono pomiędzy stężeniem lizozymu w ślinie spoczynkowej a stężeniem lizozymu w ślinie stymulowanej, pobieranej w cyklu II,III,IV i V. Oznacza to, że im wyższe było stężenie lizozymu w ślinie spoczynkowej, tym istotnie wyższe jego stężenia stwierdzano w ślinie stymulowanej. Takiej zależności nie stwierdzono w cyklu I. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem lizozymu a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej i stymulowanej. Nie stwierdzono również istotnej zależności pomiędzy stężeniem lizozymu a stężeniem białka całkowitego w ślinie zarówno spoczynkowej, jak i stymulowanej.

Tabela XVIII. Stężenie lizozymu w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierania * śliny	Stężenie lizozymu (µg/ml)			Korelacja pomiędzy stężeniem lizozymu w ślinie a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem lizozymu a stężeniem białka całkowitego w ślinie (r)		
				Me	$\bar{X} \pm SD$	zakres			rozstęp	
40	22,5 ± 3,5	Ślina spoczynkowa	0	3,2 ^a	4,3 ± 2,6	1,7 - 14,4	12,78	-0,1835	-0,0097	
			Ślina stymulowana i pobierania śliny	I	2,0 ^b	2,3 ± 1,8	0,5 - 10,8	10,29	-0,0777	-0,0999
				II	1,6 ^c	2,1 ± 1,3	0,7 - 6,6	5,9	0,5318***	-0,1383
				III	1,5 ^d	2,2 ± 1,6	0,7 - 8,6	7,9	0,6299***	-0,2235
				IV	2,5 ^e	2,5 ± 1,7	0,5 - 7,5	7	0,6458***	-0,0006
V	3,2 ^f	4,5 ± 1,7	0,9 - 15,4	14,5	0,5506***	-0,1121				

*w każdym cyklu pobrano od badanych 40 próbek śliny

Różnica statystycznie znamienne określana testem ANOVA Friedmana przy *p<0,05: a-b,a-c,a-d,a-e,b-f,c-f,d-f,e-f

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

W **tabeli XIX** zestawiono wyniki dotyczące stężenia laktoferyny w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji chemicznej.

Analizując mediany oraz średnie wartości stężeń laktoferyny w ślinie spoczynkowej ($Me_0=8,5\mu\text{g/ml}$) i stymulowanej ($Me_I=4,9$; $Me_{II}=5,8$; $Me_{III}=4,2$; $Me_{IV}=6,9$; $Me_V=6,6\mu\text{g/ml}$) stwierdzono, że były one wyższe w ślinie spoczynkowej. Statystycznie znamienne różnice występowały wyłącznie pomiędzy śliną spoczynkową a śliną stymulowaną zebranej w cyklu III. Różnice istotne statystycznie w stężeniach laktoferyny w ślinie stymulowanej stwierdzono pomiędzy cyklami III a IV oraz III a V, tzn. dopiero po 10 minutach stymulacji.

Pomiędzy wartościami laktoferyny w ślinie spoczynkowej i wartościami laktoferyny w ślinie stymulowanej zauważono następującą prawidłowość: poziom laktoferyny w ślinie stymulowanej w znacznej mierze zależał od wartości wyjściowych, tzn. tych, które stwierdzono w ślinie spoczynkowej. Występująca zależność o charakterze korelacji dodatniej była statystycznie znamienne, niezależnie od czasu trwania stymulacji (z wyjątkiem cyklu II i IV). Oznaczało to, że im więcej laktoferyny było w ślinie spoczynkowej, tym istotnie wyższe jej wartości stwierdzano w ślinie zbieranej podczas stymulacji. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem laktoferyny a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Natomiast stwierdzono ujemną korelację pomiędzy poziomem laktoferyny w ślinie stymulowanej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej. Korelacja ta była istotna statystycznie już na początku badania (cykl I: $p<0,05$), a szczególnie po 10 minutach stymulacji (cykl III,IV: $p<0,01$). Stwierdzono istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy stężeniem laktoferyny a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej, oraz pomiędzy stężeniem laktoferyny a BC w ślinie stymulowanej między 20 a 25 minutą stymulacji (cykl VI). Oznaczało to, że przy wyższych stężeniach białka całkowitego w ślinie stwierdzano wyższe stężenia laktoferyny.

Tabela XIX. Stężenie laktoferyny w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierania śliny ¹	Stężenie laktoferyny (µg/ml)			Korelacja pomiędzy stężeniem laktoferyny w ślinie spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem laktoferyny w ślinie a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem laktoferyny a stężeniem białka całkowitego w ślinie (r)	
				Me	$\bar{X} \pm SD$	zakres				rozstęp
40	22,5 ± 3,5	Ślina spoczynkowa	0	8,5 ^a	10,8 ± 8,1	2,2 - 35,8	33,5	-0,2330	0,3616*	
		Ślina stymulowana	Czas trwania stymulacji i pobierania śliny	I ²	4,9	6,2 ± 5,1	0,6 - 27,8	27,2	-0,3877*	0,2063
				II	5,8	6,7 ± 4,5	0,5 - 15,6	15,1	-0,1420	0,2260
				III	4,2 ^b	5,2 ± 3,7	0,3 - 17,5	17,2	0,5723***	0,0764
				IV	6,9 ^c	8,5 ± 5,6	0,6 - 20,7	20,1	0,2362	0,0737
V	6,6 ^d	8,4 ± 6,5	1,1 - 28,5	27,4	0,3362*	0,4949***				

¹w każdym cyklu pobrano od badanych 40 próbek śliny

²w cyklu I oznaczono poziom laktoferyny u 39 osób

Różnica statystycznie znamiennej określana testem ANOVA Friedmana przy p<0,05: a-b,b-c,b-d

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

W tabeli XX przedstawiono dane dotyczące stężenia IgA w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji chemicznej.

Na podstawie danych zawartych w tabeli można stwierdzić, iż stężenie IgA w ślinie stymulowanej chemicznie, pobieranej 5-krotnie w ciągu 25-minutowej stymulacji, w każdym cyklu było niższe ($Me_I=138,5$; $Me_{II}=137$; $Me_{III}=177$; $Me_{IV}=136$; $Me_V=173$ $\mu\text{g/ml}$) od stężenia IgA w ślinie spoczynkowej ($Me_0=264$ $\mu\text{g/ml}$). Zauważono znamiennej statystycznie różnicę w stężeniach IgA pomiędzy śliną spoczynkową a śliną stymulowaną pobieraną na początku badania (cykl I,II), oraz między 15 a 20 minutą stymulacji (cykl IV). Jednocześnie stwierdzono, istotne statystycznie różnice pomiędzy stężeniami IgA w ślinie stymulowanej, zebranej w poszczególnych cyklach (pomiędzy cyklem I a III oraz pomiędzy cyklem I a V).

Pomiędzy wartościami IgA w ślinie spoczynkowej i wartościami IgA w ślinie stymulowanej zauważono następującą prawidłowość: poziom IgA w ślinie stymulowanej w znacznej mierze zależał od wartości wyjściowych, tzn. tych, które stwierdzono w ślinie spoczynkowej. Występująca zależność o charakterze korelacji dodatniej była statystycznie znamiennej, niezależnie od czasu trwania stymulacji. Oznaczało to, że im więcej IgA było w ślinie spoczynkowej, tym istotnie wyższe jej wartości stwierdzano w ślinie zbieranej podczas stymulacji. Stwierdzono ponadto istotną ujemną korelację pomiędzy stężeniem IgA a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej ($p<0,001$) oraz pomiędzy stężeniem IgA a szybkością wydzielania śliny stymulowanej, która utrzymywała się niezależnie od czasu trwania stymulacji (cykl I: $p<0,001$, cykl III,IV: $p<0,01$, cykl II,V: $p<0,05$). Stwierdzono również występowanie dodatniej korelacji pomiędzy stężeniem IgA a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej ($p<0,01$). Powyższej zależności nie stwierdzono w ślinie stymulowanej.

Tabela XX. Stężenie IgA w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierania śliny ¹	Stężenie IgA (µg/ml)			Korelacja pomiędzy stężeniem IgA w ślinie a spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem IgA w ślinie a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem IgA a stężeniem białka całkowitego w ślinie (r)	
				Me	$\bar{X} \pm SD$	zakres				rozstęp
40	22,5 ± 3,5	Ślina spoczynkowa	0	264 ^a	267 ± 140,6	42,5 - 629,7	587,2	-0,5300***	0,4291**	
			Ślina stymulowana i pobierania śliny	I ²	138,5 ^b	151,5 ± 76,8	26 - 366,7	305,7	-0,5136***	0,0199
				II	137 ^c	158,7 ± 68,6	61 - 313	252	-0,3367*	0,0768
				III	177 ^d	178 ± 74,7	47 - 354	307	-0,5046**	0,0599
				IV	136 ^e	160,2 ± 91,7	55 - 401	346	-0,4959**	0,2497
V	173 ^f	187,4 ± 84,9	65 - 404	339	-0,4051*	0,2042				

¹w każdym cyklu pobrano od badanych 40 próbek śliny

²w cyklu I oznaczono poziom IgA u 39 osób

Różnica statystycznie znamiennej określana testem ANOVA Friedmana przy p<0,05: a-b,a-c,a-e,b-d,b-f

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

3. Właściwości fizyko-chemiczne śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie żuciem gumy z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji

Przedstawione w **tabelach** od **XXI** do **XXX** wyniki badań dotyczyły grupy III, w której wydzielanie śliny stymulowano mechaniczno-chemicznie poprzez żucie gumy według procedury przedstawionej na schemacie 4 (rozdział III Materiał i metody zastosowane w badaniu, str 35). Grupa ta liczyła 39 ochotników w wieku 20-36 lat (31 kobiety, 8 mężczyzn), ogólnie zdrowych, z prawidłowym wydzielaniem śliny, nie zgłaszających dolegliwości ze strony jamy ustnej. Wyniki badań obejmujące ocenę szybkości wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny stymulowanej mechaniczno-chemicznie przedstawiono w **tabeli XXI**. W **tabelach** od **XXII** do **XXX** przedstawiono wyniki obrazujące stężenie jonów wodorowych, zdolność buforową, lepkość, stężenia jonów wapnia, białka całkowitego, lizozymu, laktoferyny oraz IgA zarówno w ślinie spoczynkowej jak i w ślinie stymulowanej.

3.1. Szybkość wydzielania śliny

W **tabeli XXI** zestawiono wyniki dotyczące szybkości wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechaniczno-chemicznej.

Na podstawie danych zawartych w tabeli można stwierdzić, iż szybkość wydzielania śliny spoczynkowej była istotnie niższa ($Me_0=0,55$ ml/min) od szybkości wydzielania śliny stymulowanej mechaniczno-chemicznie, badanej 5-krotnie w ciągu nieprzerwanej 120-minutowej stymulacji, w odstępach 25-minutowych ($Me_I=1,22$; $Me_{II}=1,00$; $Me_{III}=1,30$; $Me_{IV}=1,55$; $Me_V=1,40$ ml/min). Jednocześnie pomiędzy szybkościami wydzielania śliny stymulowanej badanymi 5-krotnie w trakcie trwania całego badania nie występowały istotnie statystycznie różnice.

Nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej.

Tabela XXI. Szybkość wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina				Cykl pobierania śliny*	Szybkość wydzielania śliny (ml/min)				Korelacja pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej i stymulowanej (r)
		Ślina stymulowana		Czas trwania stymulacji			Czas pobierania śliny		Me	$\bar{X} \pm SD$	
39	21,0 ± 2,6	Ślina spoczynkowa				0	0,55 ^a	0,62 ± 0,32	0,25 - 1,7	1,45	-----
		0-5 min		między 0-5		I	1,22 ^b	1,22 ± 0,42	0,5- 2,5	2,0	0,1125
		5-30 min		między 2-5-30		II	1,00 ^c	1,07 ± 0,44	0,36 - 2,1	1,74	0,1316
		30-60 min		między 5-5-60		III	1,30 ^d	1,34 ± 0,56	0,4 - 2,74	2,34	0,1283
		60-90 min		między 8-5-90		IV	1,55 ^e	1,64 ± 0,77	0,6 - 4,78	4,18	0,0845
		90-120 min		między 11-5-120		V	1,40 ^f	1,62 ± 0,92	0,7 - 4,8	4,1	0,1854

*w każdym cyklu pobrano od badanych 39 próbek śliny

Różnica statystycznie znamienne oceniana testem ANOVA Friedmana przy $p < 0,05$ pomiędzy próbkami: a-b, a-c, a-d, a-e, a-f, b-e, c-e, c-f

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : nie stwierdzono istotnych statystycznie korelacji

3.2. Stężenie jonów wodorowych w ślinie oraz zdolności buforowe śliny

W tabeli XXII zestawiono dane dotyczące stężenia jonów wodorowych (pH) w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechaniczno-chemicznej.

Analizując mediany oraz średnie wartości pH śliny spoczynkowej i stymulowanej, można stwierdzić, iż pH śliny spoczynkowej było zawsze istotnie niższe od wartości pH śliny stymulowanej zbieranej podczas nieprzerwanej 120-minutowej stymulacji mechaniczno-chemicznej. Istotne statystycznie różnice występowały również pomiędzy pH śliny stymulowanej, zbieranej w poszczególnych cyklach (pomiędzy cyklem I a II, I a III oraz pomiędzy cyklem I a IV).

Stwierdzono istotną statystycznie korelację o charakterze dodatnim pomiędzy wartościami pH śliny spoczynkowej a pH śliny stymulowanej, co oznacza, że im wyższe było pH śliny spoczynkowej, tym istotnie wyższe wartości pH stwierdzano w ślinie stymulowanej. Nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy wartościami pH śliny spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Powyższą korelację stwierdzono natomiast pomiędzy wartościami pH a szybkością wydzielania śliny stymulowanej w cyklu II ($p < 0,05$), oraz cyklu V ($p < 0,01$). Korelacja ta miała charakter dodatni.

Tabela XXII. Stężenie jonów wodorowych (pH) śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechaniczno chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina				Cykl pobierania śliny*	Wartości pH śliny				Korelacja pomiędzy pH śliny a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy pH śliny a spoczynkowej i stymulowanej (r)							
		Ślina stymulowana	Czas trwania stymulacji	Czas pobierania śliny	Ślina spoczynkowa		Me	$\bar{X} \pm SD$	zakres	rozstęp									
39	21,0 ± 2,6				0	6,85 ^a	6,86 ± 0,36	5,6 - 7,5	1,9	0,0840	-----	0,5224***							
													Czas trwania stymulacji	0-5 min	7,45 ^b	7,44 ± 0,18	7,0 - 7,8	1,8	0,0414
														5-30 min	7,35 ^c	7,32 ± 0,24	6,7 - 7,8	1,1	0,3648*
													Czas pobierania śliny	między 0-5	7,3 ^d	7,33 ± 0,21	6,8 - 7,7	0,9	0,2780
														między 25-30	7,3 ^e	7,35 ± 0,22	6,9 - 7,8	0,9	0,2463
													Ślina spoczynkowa	między 30-60 min	7,4 ^f	7,38 ± 0,19	7,0 - 7,7	0,7	0,4627**
														między 55-60					
														między 60-90 min					
														między 85-90					
														między 90-120 min					
	między 115-120																		

*w każdym cyklu pobrano od badanych 39 próbek śliny

Różnica statystycznie znamienne oceniana testem ANOVA Friedmana przy **p<0,05: a-b,a-c,a-d,a-e,a-f,b-c,b-d,b-e

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

W tabeli XXIII zestawiono dane dotyczące stężenia jonów wodorowych (pH) w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej mierzone po jednej (pH_1) oraz po pięciu minutach (pH_2) od dodania 1ml 0,1M HCl z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechaniczno-chemicznej.

Analizując mediany oraz średnie wartości pH w ślinie spoczynkowej i stymulowanej, po jednej (pH_1) jak i pięciu minutach (pH_2) od dodania HCl do każdej z próbek śliny, można stwierdzić, iż w tym przypadku pH_1 , pH_2 śliny spoczynkowej było zawsze istotnie niższe od wartości pH_1 , pH_2 śliny stymulowanej. Natomiast nie stwierdzono różnic pomiędzy pH_1 i pH_2 mierzonych w kolejnych cyklach pobierania śliny stymulowanej.

Stwierdzono istotną statystycznie korelację o charakterze dodatnim pomiędzy wartościami pH_1 w ślinie spoczynkowej a pH_1 w ślinie stymulowanej, zbieranej w cyklu II oraz III. Podobną zależność stwierdzono w przypadku pH_2 , występowała ona niezależnie od czasu trwania stymulacji (cykl I,II,III,IV,V). Oznacza to, że występowała współzależność pomiędzy wartościami pH_1 oraz pH_2 śliny spoczynkowej a wartościami pH_1 oraz pH_2 śliny stymulowanej. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy wartościami pH śliny spoczynkowej, mierzonymi po dodaniu HCl (pH_1 , pH_2) a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Stwierdzono natomiast dodatnią, znamioną statystycznie zależność pomiędzy wartościami pH śliny stymulowanej (pH_1 , pH_2), mierzonymi po dodaniu HCl a szybkością wydzielania śliny stymulowanej po 85 minutach stymulacji (cykl IV i V). Oznacza to, iż wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny stymulowanej wyższe były stwierdzane wartości pH śliny, występujące po upływie jednej (pH_1) jak i pięciu minut (pH_2) od dodania HCl. Lepsze zdolności buforowe stwierdzono w ślinie stymulowanej, która była szybciej wydzielana.

Tabela XXIII. Stężenie jonów wodorowych (pH) śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) po dodaniu kwasu u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina		* Cykl pobierania śliny	Wartości pH po upływie 1 min (pH ₁) oraz po upływie 5 min od dodania 0,1M HCl (pH ₂) do śliny						Korelacja pomiędzy pH ₁ śliny spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy pH ₂ śliny spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy pH ₁ śliny a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy pH ₂ śliny a szybkością wydzielenia śliny (r)		
		Czas trwania stymulacji			Czas pobierania śliny		$\bar{X} \pm SD$		zakres						rozstęp	
		Ślina stymulowana	Ślina spoczynkowa		0-5 min	między 0-5	pH ₁	pH ₂	pH ₁	pH ₂					pH ₁	pH ₂
39	21,0 ± 2,6			0												
				I	między 0-5	6,8 ^b	6,48 ± 0,91	6,65	4,3-7,4	3,9	3,1	0,3161*	0,1765	0,2170		
				II	między 25-30	6,4 ^c	6,38 ± 0,71	6,43 ± 0,54	3,8-7,4	3,6	2,8	0,4702**	0,1971	0,2041		
				III	między 55-60	6,45 ^d	6,2 ± 1,0	6,44 ± 0,46	2,5-7,4	5,2	1,9	0,4374**	0,0870	0,0621		
				IV	między 85-90	6,6 ^e	6,58 ± 0,42	6,57 ± 0,49	5,8-7,5	1,7	3,1	0,5850***	0,3789**	0,3437**		
		V	między 115-120	6,4 ^f	6,31 ± 0,57	6,56 ± 0,39	3,8-7,0	3,2	1,5	0,4835**	0,3046*	0,4037**				

*w każdym cyklu pobrano od badanych 39 próbek śliny

Różnica statystycznie znamienne dla pH₁ oceniana testem ANOVA Friedmana przy *p<0,05; a-b,a-c,a-d,a-e,a-f

Różnica statystycznie znamienne dla pH₂ oceniana testem ANOVA Friedmana przy *p<0,05; a-b,a-c,a-d,a-e,a-f

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

W **tabeli XXIV** zestawiono dane dotyczące zdolności buforowych śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechaniczno-chemicznej.

Analizując mediany oraz średnie wartości zdolności buforowych stwierdzono istotne różnice pomiędzy zdolnościami buforowymi śliny spoczynkowej a zdolnościami buforowymi śliny stymulowanej, ocenianymi po upływie jednej minuty od dodania HCl. Nie stwierdzono występowania istotnych różnic pomiędzy zdolnościami buforowymi stwierdzanymi w ślinie pobieranej w kolejnych cyklach.

Stwierdzono istotną statystycznie korelację o charakterze dodatnim, pomiędzy zdolnościami buforowymi śliny spoczynkowej a zdolnościami buforowymi śliny stymulowanej, oznaczanymi po pięciu minutach od dodania HCl (ZB₂ - cykl II, IV i V). Oznacza to, że zdolność buforowa śliny spoczynkowej rzutowała w istotny sposób na zdolności buforowe śliny stymulowanej. Nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy zdolnościami buforowymi śliny spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Stwierdzono natomiast istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy zdolnościami buforowymi śliny, ocenianymi zarówno po jednej (ZB₁) jak i pięciu minut (ZB₂) od dodania HCl (cykl IV). szybkością wydzielania śliny stymulowanej, po 85 minutach stymulacji.

Tabela XXIV. Zdolności buforowe śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina		Cykl pobierania * Czas pobierania śliny	Zdolności buforowe śliny mierzone po upływie 1 min (ZB ₁) oraz po upływie 5 min od dodania 0,1M HCl (ZB ₂) do śliny				Korelacja pomiędzy ZB ₁ i spoczynkowej stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy ZB ₂ i spoczynkowej stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy ZB ₁ i spoczynkowej stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy ZB ₂ i spoczynkowej stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy ZB ₁ i spoczynkowej stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy ZB ₂ i spoczynkowej stymulowanej (r)			
		Me			X̄ ± SD		zakres								rozstęp		
		ZB ₁	ZB ₂		ZB ₁	ZB ₂	ZB ₁	ZB ₂							ZB ₁	ZB ₂	
39	21,0 ± 2,6	Ślina spoczynkowa		0					-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----		
		Czas trwania stymulacji	0-5 min	między 0-5	I	4,0 ^a	3,0	4,6 ± 2,6	3,7 ± 2,7	0,5-12	0-11,5	11,5	11,5	0,1058	0,1415	0,1952	0,2185
			5-30 min	między 25-30	II	3,5 ^b	4,0	4,8 ± 4,3	3,9 ± 2,7	0-19	0-15,5	19,0	15,5	0,1572	0,1415	0,1544	
		Czas pobierania śliny	30-60 min	między 55-60	III	4,5 ^c	4,0	4,7 ± 3,1	4,4 ± 2,3	0,5-17	1,0-14	16,5	13,0	-0,0936	0,3665*	-0,0597	
			60-90 min	między 85-90	IV	4,0 ^d	4,0	5,6 ± 4,8	4,4 ± 2,0	0,5-23	0-10,5	22,5	10,5	0,1957	0,1957	0,1857	
		90-120 min	między 115-120	V	4,0 ^e	4,0	3,8 ± 1,7	3,9 ± 2,2	0-07,5	0-14	7,5	14,0	0,4832**	0,4832**	0,3181*		
							4,5 ^f	4,0	5,3 ± 2,6	4,1 ± 1,6	2,0-16,5	1,0-8,0	14,5	7,0	0,1432	0,5342***	0,2677

*w każdym cyklu pobrano od badanych 39 próbek śliny

Różnice statystycznie znamienne dla ZB₁ określone testem ANOVA Friedmana przy *p<0,05: a-b,a-c,a-d,a-e,a-f

ANOVA Friedmana nie wykazała statystycznie istotnych różnic dla ZB₂

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

3.3. Lepkość śliny

W tabeli XXV zestawiono dane dotyczące lepkości śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechaniczno-chemicznej.

Na podstawie danych zawartych w tabeli można stwierdzić, że lepkość śliny spoczynkowej była wyższa od lepkości badanej 5-krotnie w czasie nieprzerwanej 120-minutowej stymulacji żuciem gumy (poza cyklem I). Lepkość śliny stymulowanej malała wraz z czasem trwania stymulacji. Zauważono znamienne statystycznie różnice pomiędzy lepkością śliny spoczynkowej a lepkością śliny stymulowanej zebranej między 55 a 60 minutą (cykl III), między 85 a 90 minutą (cykl IV) oraz między 115 a 120 minutą stymulacji (cykl V). Istotne statystycznie różnice stwierdzono również pomiędzy lepkością śliny stymulowanej, zbieranej w cyklu V a lepkością śliny stymulowanej zebranej w cyklach I – IV.

Jednocześnie stwierdzono znamienne statystycznie korelację, o charakterze dodatnim pomiędzy lepkością śliny spoczynkowej a lepkością śliny stymulowanej ($p < 0,001$), utrzymującą się niezależnie od czasu trwania stymulacji. Charakter dodatni korelacji oznacza, że im wyższa była lepkość śliny spoczynkowej, tym wyższa była lepkość śliny stymulowanej. Nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy lepkością a szybkością wydzielania śliny, zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej. Nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy lepkością a stężeniem białka całkowitego zarówno w ślinie spoczynkowej jak i stymulowanej.

Tabela XXV. Lepkość śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina				Cykl pobierania * śliny	Lepkość śliny			Korelacja pomiędzy lepkością śliny a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy lepkością śliny a stężeniem białka całkowitego (r)	
		Ślina stymulowana	Czas trwania stymulacji	czas pobierania śliny	Me		$\bar{X} \pm SD$	zakres	rozstęp			
39	21,0 ± 2,6	Ślina spoczynkowa				0	0,55 ± 0,33	0,15-1,88	1,73	-----	-0,2802	0,0874
		Czas trwania stymulacji	Ślina stymulowana	Czas pobierania śliny	między 0-5	0,50 ^b	0,13-1,73	1,6	0,8497***	-0,2160	0,0215	
					między 25-30	0,46 ^c	0,11-1,34	1,23	0,8482***	-0,0350	0,0539	
					między 55-60	0,38 ^d	0,11-1,34	1,23	0,8627***	-0,1122	0,1415	
					między 85-90	0,38 ^e	0,096-1,26	1,164	0,8574***	-0,1098	0,0225	
					między 115-120	0,34 ^f	0,096-1,26	1,164	0,8511***	-0,1250	0,2176	

*w każdym cyklu pobrano od badanych 39 próbek śliny

Różnica statystycznie znamienne oceniana testem ANOVA Friedmana przy **p<0,05: a-d,a-e,a-f,b-d,b-e,b-f,c-e,c-f,d-f

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

3.4. Stężenie jonów wapnia

W tabeli XXVI zestawiono dane dotyczące stężenia jonów wapnia w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechaniczno-chemicznej.

Na podstawie danych zawartych w tabeli można stwierdzić, że stężenie jonów wapnia w ślinie stymulowanej żuciem gumy, pobieranej 5-krotnie w ciągu nieprzerwanej 120-minutowej stymulacji, prawie w każdym przypadku było niższe ($Me_{II}=3,25$; $Me_{III}=3,06$; $Me_{IV}=3,64$; $Me_{V}=3,63$ mg%) od stężenia jonów wapnia w ślinie spoczynkowej ($Me_0=3,89$ mg%). Stężenie Ca^{2+} w ślinie zebranej w cyklu I ($Me_I=4,04$ mg%) było nieznacznie wyższe od stężenia Ca^{2+} w ślinie spoczynkowej. Nie stwierdzono również regularności w spadku stężeń jonów wapnia wraz z czasem trwania stymulacji. Stwierdzono istotne statystycznie różnice pomiędzy stężeniem Ca^{2+} w ślinie spoczynkowej a stężeniem Ca^{2+} w ślinie stymulowanej, i dotyczyło to cyklu II,III,IV oraz V. Istotne statystycznie różnice w stężeniach Ca^{2+} występowały również pomiędzy śliną stymulowaną, badaną w poszczególnych cyklach (pomiędzy cyklem I a II,III,IV i V).

Stwierdzono korelację dodatnią pomiędzy stężeniem Ca^{2+} w ślinie spoczynkowej a stężeniem Ca^{2+} w ślinie stymulowanej, jednakże była ona znamienne statystycznie wyłącznie w ślinie stymulowanej pobranej w cyklu I i V. Oznacza to, że im wyższe stwierdzano stężenia Ca^{2+} w ślinie spoczynkowej, tym wyższe wartości Ca^{2+} stwierdzano w ślinie stymulowanej. Nie stwierdzono natomiast korelacji pomiędzy stężeniem Ca^{2+} w ślinie spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Istotna statystycznie korelacja o charakterze dodatnim pomiędzy stężeniem Ca^{2+} a szybkością wydzielania śliny stymulowanej występowała jedynie w ślinie pobieranej między 55 a 60 minutą stymulacji (cykl III).

Tabela XXVI. Stężenie jonów wapnia w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina	Cykl pobierania śliny *	Stężenie jonów wapnia								Korelacja pomiędzy stężeniem wapnia w ślinie spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem wapnia w ślinie a szybkością wydzielenia śliny (r)		
				Me		$\bar{X} \pm SD$		zakres		rozstęp					
				mg%	mM	mg%	mM	mg%	mM	mg%	mM				
				mg%	mM	mg%	mM	mg%	mM	mg%	mM				
39	21,0 ± 2,6	Ślina spoczynkowa	0	3,89 ^a	0,95	3,95 ± 0,91	0,96 ± 0,22	2,09-6,31	0,51-1,54	4,22	1,03	-----	0,0083		
			Czas pobierania śliny	między 0-5	4,04 ^b	0,99	4,26 ± 0,69	1,05 ± 0,17	3,36-6,31	0,82-1,54	2,95	0,72	0,4483 ^{**}	0,0951	
				między 25-30	3,25 ^c	0,79	3,2 ± 0,79	0,78 ± 0,19	1,16-5,27	0,28-1,28	4,11	1,0	0,2976	0,1911	
				między 55-60	3,06 ^d	0,74	3,21 ± 1,02	0,78 ± 0,24	1,32-6,19	0,32-1,51	4,87	1,19	0,2277	0,3881 [*]	
				między 85-90	3,64 ^e	0,88	3,84 ± 1,5	0,93 ± 0,36	1,82-11,75	0,44-2,87	9,93	2,42	0,1952	0,1413	
				między 115-120	3,63 ^f	0,85	3,56 ± 0,82	0,84 ± 0,22	2,08-5,54	0,13-1,35	3,46	1,22	0,4682 ^{**}	0,2754	
			Czas trwania stymulacji	0-5 min											
				5-30 min											
				30-60 min											
				60-90 min											
				90-120 min											

*w każdym cyklu pobrano od badanych 39 próbek śliny

Różnica statystycznie znamiennej określana testem ANOVA Friedmana przy p<0,05: a-c,a-d,a-e,a-f,b-c,b-d,b-e,b-f

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

3.5. Stężenie białka całkowitego, lizozymu, laktoferyny, IgA

W tabeli XXVII przedstawiono wyniki dotyczące stężenia białka całkowitego w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechaniczno-chemicznej.

Analizując dane zawarte w tabeli XXVII można stwierdzić, iż stężenie białka całkowitego w ślinie spoczynkowej było zawsze istotnie wyższe ($Me_0=1,82$ mg/ml) od stężeń białka całkowitego stwierdzanych w ślinie stymulowanej, zbieranej podczas nieprzerwanej 120-minutowej stymulacji mechaniczno-chemicznej ($Me_I=1,00$; $Me_{II}=1,00$; $Me_{III}=1,04$; $Me_{IV}=1,36$; $Me_V=1,23$ mg/ml). Stwierdzono istotne statystycznie różnice pomiędzy stężeniami białka całkowitego w ślinie stymulowanej pobieranej w poszczególnych cyklach (pomiędzy cyklem I a V oraz II a IV i V).

Stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej a stężeniem białka w ślinie stymulowanej. Korelacja ta miała charakter dodatni, co oznacza, że im wyższe było stężenie białka całkowitego w ślinie spoczynkowej, tym istotnie wyższe jego stężenia stwierdzano w ślinie stymulowanej, i było to niezależne od czasu trwania stymulacji. Nie stwierdzono istotnej zależności pomiędzy stężeniem białka całkowitego a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Powyższą korelację stwierdzono pomiędzy stężeniem białka całkowitego w ślinie stymulowanej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej. Jednakże korelacja ta o charakterze ujemnym była znamienna statystycznie tylko w przypadku śliny pobieranej między 115 a 120 minutą stymulacji (cykl V: $p<0,001$). Oznacza to, że im większa była szybkość wydzielania śliny stymulowanej, tym niższe było w niej stężenia białka całkowitego.

Tabela XXVII. Stężenie białka całkowitego w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina				Cykl pobierania śliny *	Stężenie białka całkowitego (mg/ml)			Korelacja pomiędzy stężeniem białka w ślinie a szybkością wydzielenia śliny (r)			
		Ślina stymulowana		Ślina spoczynkowa			Me	$\bar{X} \pm SD$	zakres		rozstęp	Korelacja pomiędzy stężeniem białka w ślinie spoczynkowej i stymulowanej (r)	
39	21,0 ± 2,6					0	1,82 ^a	1,93 ± 0,76	0,81 - 4,2	3,39	-----	-0,2488	
		Czas trwania stymulacji		Czas pobierania śliny		I	między 0-5	1,00 ^b	1,08 ± 0,37	0,57 - 2,41	1,84	0,6854***	-0,0967
							między 5-30	1,00 ^c	1,07 ± 0,39	0,47 - 2,41	1,94	0,6089**	-0,0535
							między 30-60	1,04 ^d	1,19 ± 0,41	0,46 - 2,14	1,68	0,4425**	-0,0726
							między 60-90	1,36 ^e	1,28 ± 0,34	0,64 - 1,94	1,3	0,5215***	0,1344
							między 85-90	1,23 ^f	1,29 ± 0,33	0,65 - 2,1	1,45	0,5162***	-0,5406***
		Czas trwania stymulacji		Czas pobierania śliny		V	między 115-120	1,23 ^f	1,29 ± 0,33	0,65 - 2,1	1,45	0,5162***	-0,5406***

*w każdym cyklu pobrano od badanych 39 próbek śliny

Różnica statystycznie znamiennej określana testem ANOVA Friedmana przy p<0,05: a-b,a-c,a-d,a-e,a-f,b-f,c-e,c-f

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

W tabeli XXVIII zestawiono dane dotyczące stężenia lizozymu w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechaniczno-chemicznej.

Analizując mediany oraz średnie wartości stężeń lizozymu można stwierdzić, iż były one niższe w ślinie spoczynkowej. Jednakże nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniami lizozymu w ślinie spoczynkowej a tymi występującymi w ślinie stymulowanej, zbieranej podczas nieprzerwanej 120-minutowej stymulacji mechaniczno-chemicznej. Niezależnie od czasu trwania stymulacji stężenie lizozymu w ślinie stymulowanej, badane w poszczególnych cyklach było podobne.

Stwierdzono istotną statystycznie korelację o charakterze dodatnim pomiędzy stężeniem lizozymu w ślinie spoczynkowej a stężeniem lizozymu w ślinie stymulowanej. Oznacza to, że im wyższe było stężenie lizozymu w ślinie spoczynkowej, tym istotnie wyższe jego stężenia stwierdzano w ślinie stymulowanej, i utrzymywało się niezależnie od czasu trwania stymulacji. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem lizozymu w ślinie spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Stwierdzono natomiast istotną statystycznie korelację o charakterze dodatnim pomiędzy stężeniem lizozymu w ślinie stymulowanej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej, występowała ona jednak jedynie między 55 a 60 minutą stymulacji (cykl III). Nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy stężeniem lizozymu a stężeniem białka całkowitego w ślinie, zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej.

Tabela XXVIII. Stężenie lizozymu w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina				Cykl pobierania śliny *	Stężenie lizozymu (µg/ml)			Korelacja pomiędzy stężeniem lizozymu w ślinie spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem lizozymu w ślinie a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem lizozymu a stężeniem białka całkowitego w ślinie (r)	
		Ślina stymulowana	Czas trwania stymulacji	Ślina spoczynkowa	czas pobierania śliny		Me	$\bar{X} \pm SD$	zakres				rozstęp
39	21,0 ± 2,6	Ślina stymulowana	Czas trwania stymulacji	0-5 min	Ślina spoczynkowa	0	2,2	2,5 ± 1,9	0,2 - 8,0	7,8	-----	0,2260	0,1182
				5-30 min		I	2,7	3,0 ± 1,7	0,6 - 7,9	7,3	0,5650***	0,1776	0,0944
				30-60 min		II	2,7	2,7 ± 1,5	0,3 - 6,9	6,6	0,5239***	-0,1094	0,0578
				60-90 min		III	2,9	3,1 ± 1,6	0,6 - 6,9	6,3	0,4307**	0,3498*	0,0779
				90-120 min		IV n=38	2,5	2,6 ± 1,4	0,6 - 6,7	6,1	0,5135***	0,2427	0,0645
				między 115-120	V	2,7	2,5 ± 1,1	0,4 - 5,9	5,5	0,5688***	0,1260	0,0365	

*w każdym cyklu pobrano od badanych 39 próbek śliny

ANOVA Friedmana nie wykazała statystycznie istotnych różnic w poziomie i szybkości wydzielenia lizozymu

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

W **tabeli XXIX** zestawiono wyniki dotyczące stężenia laktoferyny w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechaniczno-chemicznej.

Analizując mediany oraz średnie wartości stężeń laktoferyny w ślinie, stwierdzono, że były one istotnie wyższe w ślinie spoczynkowej niż w ślinie stymulowanej, niezależnie od czasu trwania stymulacji. Stwierdzono istotne statystycznie różnice pomiędzy stężeniami laktoferyny w ślinie stymulowanej pobieranej w poszczególnych cyklach (pomiędzy cyklem I,II,III a IV oraz pomiędzy cyklem IV a V).

Pomiędzy wartościami laktoferyny w ślinie spoczynkowej i wartościami laktoferyny w ślinie stymulowanej zauważono następującą prawidłowość: poziom laktoferyny w ślinie stymulowanej w znacznej mierze zależał od wartości wyjściowych, tzn. tych, które stwierdzono w ślinie spoczynkowej. Występująca zależność o charakterze korelacji dodatniej była statystycznie znamienne. Oznaczało to, że im więcej laktoferyny było w ślinie spoczynkowej, tym istotnie wyższe jej wartości stwierdzano w ślinie zbieranej podczas stymulacji, szczególnie podczas pierwszych 5 minut (cykl I - $p<0,01$), oraz między 25 a 30 (cykl II- $p<0,01$) i 115 a 120 minutą stymulacji (cykl V- $p<0,01$). Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem laktoferyny w ślinie spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Dodatnią istotną korelację pomiędzy poziomem laktoferyny w ślinie stymulowanej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej stwierdzono wyłącznie w cyklu V. Stwierdzono również istotną statystycznie korelację pomiędzy stężeniem laktoferyny a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej ($p<0,05$), oraz pomiędzy stężeniem laktoferyny a stężeniem białka całkowitego w ślinie stymulowanej (z wyjątkiem cyklu I i IV).

Tabela XXIX. Stężenie laktoferyny w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina				Cykl pobrania * śliny	Stężenie laktoferyny (µg/ml)			Korelacja pomiędzy stężeniem laktoferyny w ślinie a spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem laktoferyny w ślinie a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem laktoferyny a stężeniem białka całkowitego w ślinie (r)
		Ślina spoczynkowa		czas pobierania śliny			Me	$\bar{X} \pm SD$	zakres			
39	21,0 ± 2,6	Ślina spoczynkowa		0		8,2 ^a	11,3 ± 9,7	1,4 - 42,4	41	-----	-0,1329	0,3420*
		Czas trwania stymulacji	0-5 min	między 0-5	I	3,2 ^b	5,5 ± 6,7	0,9 - 43	42,1	0,4565**	-0,1059	0,1801
			5-30 min	między 25-30	II	3,8 ^c	5,2 ± 5,2	1,0 - 31,5	30,5	0,4400**	-0,0106	0,3780*
			30-60 min	między 55-60	III	4,2 ^d	5,0 ± 3,7	1,7 - 22,0	20,3	0,2002	-0,3182	0,4373**
			60-90 min	między 85-90	IV	6,5 ^e	9,7 ± 7,8	2,0 - 40,1	38,1	0,1712	-0,0230	0,1855
90-120 min	między 115-120	V	3,6 ^f	4,1 ± 2,2	0,5 - 11,7	11,2	0,3880**	0,4813**	0,4005*			

*w każdym cyklu pobrano od badanych 39 próbek śliny

Różnica statystycznie znamiennej określana testem ANOVA Friedmana przy $p < 0,05$: a-b, a-c, a-d, a-f, b-e, c-e, d-e, e-f

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

W tabeli XXX przedstawiono dane dotyczące stężenia IgA w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji mechaniczno-chemicznej.

Na podstawie danych zawartych w tabeli można stwierdzić, iż stężenie IgA w ślinie stymulowanej żuciem gumy, pobieranej 5-krotnie w ciągu nieprzerwanej 120-minutowej stymulacji, w każdym przypadku było istotnie niższe ($Me_I=86$; $Me_{II}=127$; $Me_{III}=156$; $Me_{IV}=115,1$; $Me_V=86,7$ $\mu\text{g/ml}$) od stężenia IgA w ślinie spoczynkowej ($Me_0=243$ $\mu\text{g/ml}$). Stwierdzono istotne statystycznie różnice pomiędzy stężeniami IgA w ślinie stymulowanej pobieranej w poszczególnych cyklach (pomiędzy cyklem I a II i III).

Stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy stężeniem IgA w ślinie spoczynkowej a stężeniem IgA w ślinie stymulowanej zbieranej między 55 a 60 minutą stymulacji (cykl III). Stwierdzono również istotną ujemną korelację pomiędzy poziomem IgA w ślinie spoczynkowej ($p<0,001$) a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej oraz pomiędzy stężeniem IgA w ślinie stymulowanej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej szczególnie w ślinie pobieranej między 115 a 120 minutą stymulacji (cykl V - $p<0,001$). Ponadto stwierdzono istotną korelację pomiędzy stężeniem IgA a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej ($p<0,001$). Powyższej korelacji nie stwierdzono w ślinie stymulowanej.

Tabela XXX. Stężenie IgA w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Liczba badanych (n)	Wiek (lata)	Pobierana ślina					Cykl pobierania śliny *	Stężenie IgA (µg/ml)			Korelacja pomiędzy stężeniem IgA w ślinie a stężeniem IgA w spoczynkowej i stymulowanej (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem IgA w ślinie a szybkością wydzielenia śliny (r)	Korelacja pomiędzy stężeniem IgA a stężeniem białka całkowitego w ślinie (r)
		Ślina stymulowana		Ślina spoczynkowa		Me		$\bar{X} \pm SD$	zakres	rozstęp			
		Czas trwania stymulacji		Czas pobierania śliny									
39	21,0 ± 2,6	Ślina stymulowana		Ślina spoczynkowa			0	243 ^a	75,3 - 966,3	890,7	-----	- 0,5302***	0,7759***
		0-5 min		między 0-5			I	86 ^b	26,0 - 216,8	190,8	0,2990	-0,2942	0,1464
		5-30 min		między 25-30			II	127 ^c	49,0 - 443,0	394	0,1385	-0,2859	0,0355
		30-60 min		między 55-60			III	156 ^d	33,0 - 442,0	409	0,4685**	-0,1520	0,0580
		60-90 min		między 85-90			IV	115,1 ^e	26,6 - 279,0	252,4	0,2141	-0,0835	0,0363
		90-120 min		między 115-120			V	86,7 ^f	22,7 - 407,5	384,8	0,2428	-0,6212***	-0,2187

*w każdym cyklu pobrano od badanych 39 próbek śliny

Różnica statystycznie znamiennej określana testem ANOVA Friedmana przy $p < 0,05$: a-b, a-c, a-d, a-e, a-f, b-c, b-d

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

4. Zestawienie zależności występujących pomiędzy wzrostem szybkości wydzielania śliny stymulowanej pobieranej w trakcie pierwszych 5 minut stymulacji oraz w ciągu 5 ostatnich minut stymulacji a badanymi właściwościami i składem śliny w zależności od formy stymulacji (Grupa I, II i III)

Na Schemacie 5B i 5C przedstawiono graficznie występujące zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej mechanicznie – plastikowym krążkiem, a badanymi parametrami śliny w **Grupie I**. Schemat B obrazuje ślinę pobieraną przez pierwsze 5 minut stymulacji w cyklu I, natomiast Schemat C – ślinę pobieraną pomiędzy 25 a 30 minutą stymulacji w cyklu VI. Dla porównania przedstawiono zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny a badanymi parametrami w ślinie spoczynkowej (A).

Na Schemacie 6B i 6C przedstawiono graficznie występujące zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej chemicznie kwasem cytrynowym a badanymi parametrami śliny w **Grupie II**. Podobnie jak na schemacie 5, przedstawiono zależności występujące w ślinie pobieranej przez pierwsze 5 minut stymulacji w cyklu I (B), oraz na koniec badania, trwającego 5 min krócej niż w **Grupie I**, w ślinie pobieranej pomiędzy 20 a 25 minutą stymulacji w cyklu V (C). Dla porównania przedstawiono zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny a badanymi parametrami w ślinie spoczynkowej (A).

Na Schemacie 7B i 7C przedstawiono graficznie występujące zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej gumą do żucia – stymulacja mechaniczno-chemiczna, a badanymi parametrami śliny w **Grupie III**. Podobnie jak na schemacie 5 oraz 6 przedstawiono zależności występujące w ślinie pobieranej na początku badania, przez pierwsze 5 minut stymulacji w cyklu I (B), oraz w ślinie pobieranej pomiędzy 25 a 30 minutą stymulacji w cyklu II (C). Badanie trwało 120 minut, dlatego też na schemacie 7D przedstawiono również zależności występujące pomiędzy szybkością wydzielania śliny a badanymi parametrami pod koniec badania, czyli w ślinie pobieranej pomiędzy 115 a 120 minutą stymulacji w cyklu V. Dla porównania również przedstawiono zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny a badanymi parametrami w ślinie spoczynkowej (A).

Analizując wyniki badań śliny uzyskane w czasie pierwszych pięciu minut stymulacji w poszczególnych grupach można stwierdzić, że największy wpływ na skład śliny stymulowanej miała stymulacja chemiczna (Grupa II, schemat 6B). Stwierdzono tutaj, iż wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny istotnie spadało stężenie immunoglobulin

IgA ($p < 0,001$) oraz laktoferyny ($p < 0,05$), odnotowano natomiast wzrost poziomu pH ($p < 0,01$). Podobnie jak w Grupie II, w Grupie I (stymulacja mechaniczna, schemat 5B) stwierdzono wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny stymulowanej istotny spadek stężenia IgA ($p < 0,05$). W przypadku śliny stymulowanej mechaniczno-chemicznie, gumą do żucia (Grupa III, schemat 7B) w czasie pierwszych pięciu minut stymulacji nie stwierdzono istotnych statystycznie zmian pomiędzy szybkością wydzielania śliny a badanymi parametrami śliny stymulowanej.

Porównując ślinę stymulowaną pobieraną pomiędzy 25 a 30 minutą stymulacji w Grupie I (Schemat 5C) i III (Schemat 7C) oraz między 20 a 25 minutą stymulacji w Grupie III (Schemat 6C) stwierdzono, iż zarówno w Grupie I (schemat 5) jak i Grupie II (schemat 6) występowała istotna statystycznie ujemna korelacja pomiędzy szybkością wydzielania śliny a stężeniem IgA, czyli wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny dochodziło do spadku stężenia IgA ($p < 0,05$). W Grupie II (Schemat 6B) oraz w Grupie III (Schemat 7C) stwierdzono, iż wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny stymulowanej istotnie wzrastał poziom pH ($p < 0,01$, Grupa II; $p < 0,05$, Grupa III). Ponadto w Grupie I (Schemat 5C) stwierdzono wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny istotny statystycznie spadek stężenia białka całkowitego ($p < 0,01$). Powyższej zależności nie stwierdzono ani w Grupie II (Schemat 6C), ani w Grupie III (Schemat 7C). Natomiast w Grupie II (Schemat 6C) stwierdzono, iż wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny spadało stężenie jonów wapnia ($p < 0,01$). Zależność ta nie występowała w Grupie I i Grupie III. W przypadku fosforanów, które były oznaczane wyłącznie w Grupie I (Schemat 5C) stwierdzono występowanie istotnej statystycznie ujemnej korelacji pomiędzy szybkością wydzielania śliny a ich stężeniem ($p < 0,01$).

W Grupie III (stymulacja mechaniczno-chemiczna) badanie prowadzono przez 120 minut, czyli znacznie dłużej niż w Grupie I i Grupie II, gdzie badanie kończyło się kolejno po 30 i 25 minutach. Dało to możliwość sprawdzenia jak długotrwała stymulacja żuciem gumy wpływa na poszczególne parametry śliny stymulowanej. Wyniki wskazują na występowanie istotnych zmian dotyczących badanych parametrów śliny w zależności od wzrostu szybkości wydzielania śliny. Stwierdzono, że po 115 minutach stymulacji w pobieranej ślinie występowała istotna statystycznie zależność pomiędzy szybkością wydzielania śliny a następującymi parametrami: pH (korelacja dodatnia; $p < 0,01$), stężeniem białka całkowitego (korelacja ujemna; $p < 0,001$), stężeniem IgA (korelacja ujemna) ($p < 0,001$), stężeniem laktoferyny (korelacja dodatnia; $p < 0,01$). Nie stwierdzono natomiast występowania współzależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny a lepkością, oraz

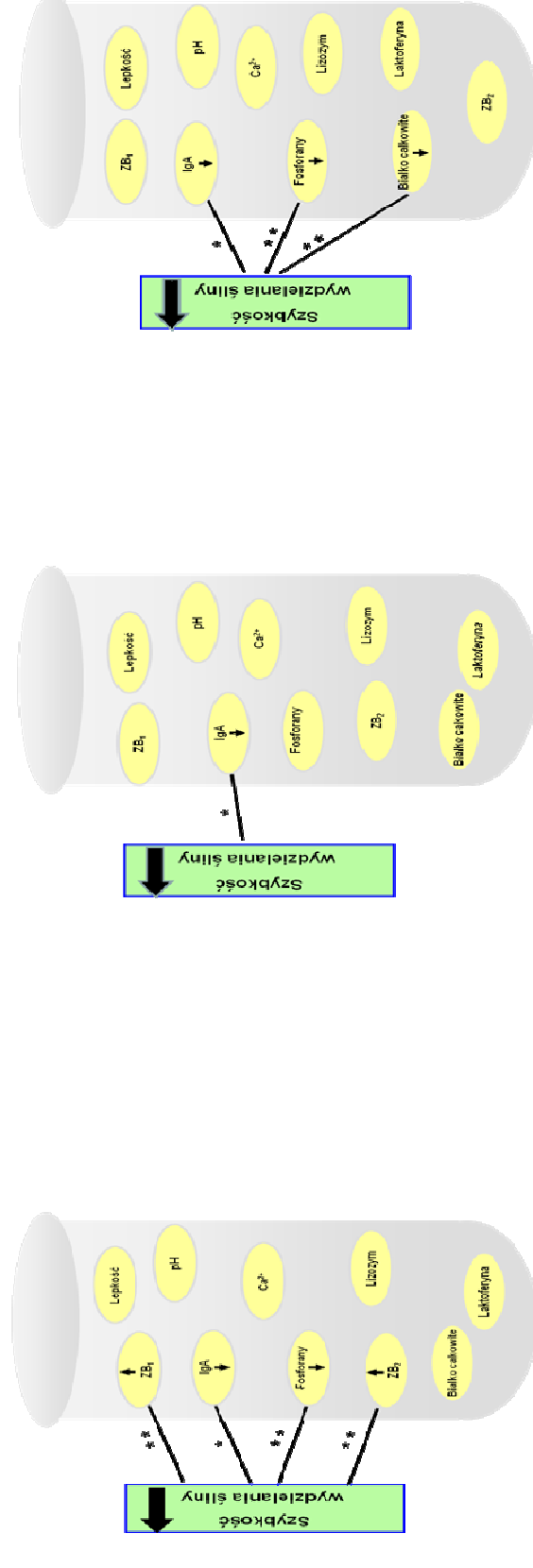
między szybkością wydzielania śliny a stężeniem lizozymu i stężeniem jonów wapnia (Schemat 7D).

Schemat 5. Zestawienie statystycznie znamiennej współzależności występujących pomiędzy szybkością wydzielenia śliny a badanymi parametrami śliny w GRUPIE I (stymulacja mechaniczna) pobieranych w wybranych cyklach badania.

A. Ślina spoczynkowa (cykl 0)

B. Ślina pobierana przez pierwsze 5 minut stymulacji (cykl I)

C. Ślina pobierana pomiędzy 25 a 30 minutą stymulacji (cykl VI) – ostatni cykl



↑ - wzrost ↓ - spadek

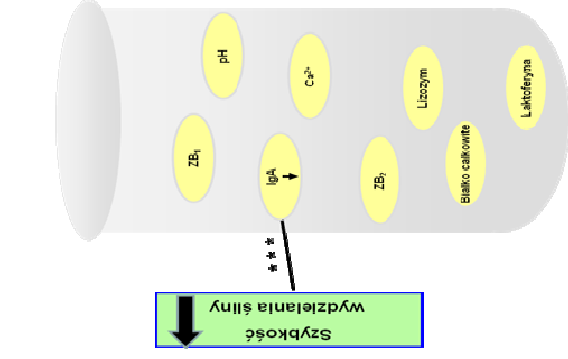
ZB₁ - zdolność buforowa śliny po 1 min od dodania 0,1 M HCl

ZB₂ - zdolność buforowa śliny po 5 min od dodania 0,1 M HCl

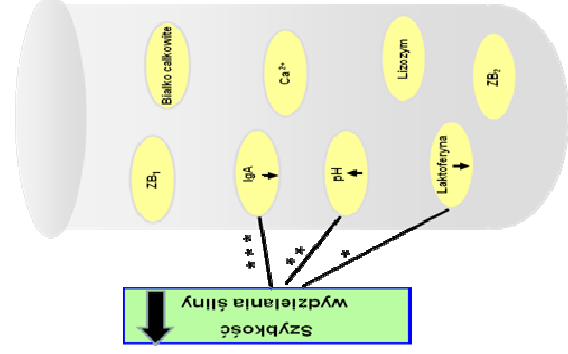
Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

Schemat 6. Zestawienie statystycznie znaczących współzależności występujących pomiędzy szybkością wydzielenia śliny a badanymi parametrami śliny w GRUPIE II (stymulacja chemiczna) pobieranych w wybranych cyklach badania.

A. Ślina spoczynkowa (cykl 0)

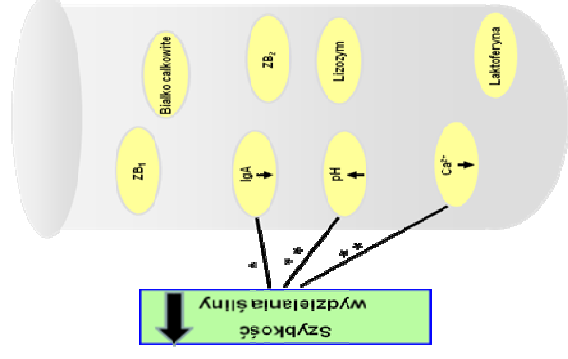


B. Ślina pobierana przez pierwsze 5 minut stymulacji (cykl I)



C. Ślina pobierana pomiędzy 20 a 25 minutą stymulacji (cykl V)

- ostatni cykl



↑ wzrost ↓ - spadek

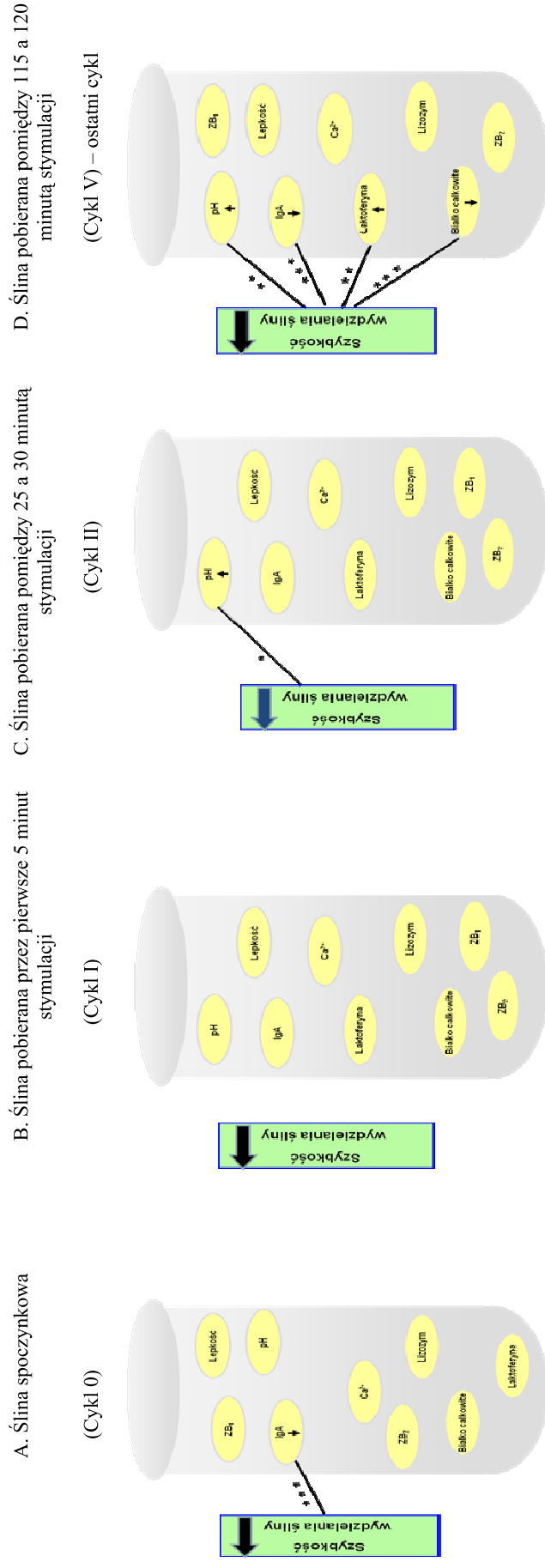
ZB₁ - zdolność buforowa śliny po 1 min od dodania 0,1 M HCl

ZB₂ - zdolność buforowa śliny po 5 min od dodania 0,1 M HCl

Analizę korelacji obliczano stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

W tej grupie nie badano stężenia fosforanów oraz lepkości ze względu na zbyt małą ilość pobranego materiału w kolejnych cyklach.

Schemat 7. Zestawienie statystycznie znamiennej współzależności występujących pomiędzy szybkością wydzielenia śliny a badanymi parametrami śliny w GRUPIE III (stymulacja mechaniczno-chemiczna) pobieranych w wybranych cyklach badania.



A. Ślina pobierana przez pierwsze 5 minut stymulacji

B. Ślina pobierana przez pierwsze 25 a 30 minut stymulacji

C. Ślina pobierana pomiędzy 115 a 120 minutą stymulacji

D. Ślina pobierana pomiędzy 115 a 120 minutą stymulacji

(Cykl 0)

(Cykl I)

(Cykl II)

(Cykl V) – ostatni cykl

↑ - wzrost ↓ spadek

ZB₁ - zdolność buforowa śliny po 1 min od dodania 0,1 M HCl

ZB₂ - zdolność buforowa śliny po 5 min od dodania 0,1 M HCl

Analizę korelacji obliczono stosując współczynnik korelacji Pearsona i Spearmana : *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,00

W tej grupie nie badano stężenia fosforanów, gdyż ilość śliny była niewystarczająca dla wykonania pełnego badania u wszystkich uczestników.

V. Dyskusja

Wydzielanie śliny zarówno stymulowanej jak i spoczynkowej w warunkach fizjologicznych jest procesem złożonym, na który jak wynika z piśmiennictwa, może wpływać w różnym stopniu wiele różnorodnych czynników. Do licznych czynników mogących zmieniać nie tylko szybkość wydzielania, ale też skład i właściwości śliny spoczynkowej i stymulowanej zalicza się poza rodzajem działającego bodźca również długość działania bodźca stymulującego, wielkość gruczołu ślinowego, masę i wzrost ciała, płeć, wiek, częstotliwość ruchów żucia, siłę żucia, a nawet porę dnia, miesiąca czy roku. Jednak uzyskane w tym względzie wyniki badań nie zawsze są jednoznaczne (17,42,45,48,54,56,60,67,68,63,88,97,90,104,107,105,111,138,152,153,169,171,172,173, 181,202,211).

Kentaro Ono i wsp. (153) badali zależność pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej żuciem parafiny a wielkością gruczołów ślinowych ocenianą z użyciem rezonansu magnetycznego. Autorzy wykazali istotną dodatnią korelację pomiędzy wielkością ślinianek przyuszných oraz podżuchwowych a szybkością wydzielania śliny mieszanej stymulowanej żuciem. U wszystkich badanych stwierdzono także istotną korelację dodatnią pomiędzy szybkością wydzielania śliny mieszanej a masą ciała i BMI (body mass index) przy stymulacji ślinianki przyusznej i podżuchwowej. Uzyskane wyniki wskazywały także, że im większa była wielkość gruczołów przyuszných i podżuchwowych, tym większa była szybkość wydzielania śliny stymulowanej żuciem, zależność ta była wyraźniejsza u mężczyzn. Autorzy nie stwierdzili natomiast korelacji pomiędzy wielkością ślinianek podjęzykowych a szybkością wydzielania śliny mieszanej stymulowanej. Nie stwierdzili również korelacji pomiędzy szybkością wydzielania śliny podjęzykowej a wzrostem badanych. W podobnym badaniu (152) autorzy oceniali zależność pomiędzy składem i szybkością wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej a wielkością poszczególnych gruczołów ślinowych, których wielkość określano za pomocą rezonansu magnetycznego. Autorzy stwierdzili, że rozmiar ślinianek przyuszných oraz podżuchwowych istotnie wpływał na szybkość wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej. Wykazali, że im większe były ślinianki przyuszne i podżuchwowe, tym większa była szybkość wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej (ślinianka przyuszna: $r=0,50$, $p=0,007$; ślinianka podżuchwowa: $r=0,44$, $p=0,02$). Podobna zależność nie występowała w przypadku ślinianki podjęzykowej. Autorzy stwierdzili ponadto, iż szybkość wydzielania białka całkowitego w ślinie spoczynkowej mieszanej (mg/min) była zależna od wielkości ślinianki

przyusznej ($r=0,58$, $p=0,001$) oraz ślinianki podżuchwowej ($r=0,43$, $p=0,023$). Podobna zależność nie występowała w przypadku ślinianki podjęzykowej. Stężenie białka całkowitego (mg/ml) w ślinie mieszanej spoczynkowej zależało istotnie wyłącznie od wielkości ślinianki przyusznej ($r=0,45$, $p=0,018$), podobnej zależności nie stwierdzono w przypadku zarówno ślinianek podżuchwowych jak i podjęzykowych. Ponadto z badań wynikało, że sama wielkość gruczołów przyusznych zależała istotnie od wagi badanych uczestników, podobnej zależności nie wykazano w przypadku gruczołów podżuchwowych i podjęzykowych (152).

Ono K i wsp. (90) w kolejnej swojej pracy zbadali zależność pomiędzy wielkością gruczołów ślinowych, szybkością wydzielania i składem śliny mieszanej spoczynkowej a płcią badanych uczestników. Autorzy wykazali, że między kobietami i mężczyznami występowały istotne statystycznie różnice wielkości ślinianek przyusznych ($p<0,001$) oraz podżuchwowych ($p<0,001$). Podobne różnice dotyczyły szybkości wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej ($p<0,05$) oraz szybkości wydzielania białka całkowitego (mg/min) w tej ślinie ($p<0,05$). Wszystkie badane wartości były wyższe u mężczyzn. W przypadku gruczołów podjęzykowych nie stwierdzono podobnych różnic związanych z płcią. U wszystkich uczestników badania autorzy stwierdzili istotną statystycznie korelację dodatnią pomiędzy wielkością ślinianek przyusznych, ślinianek podżuchwowych, wzrostem oraz wagą i BMI a szybkością wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej ($p<0,001$). Powyższe korelacje (poza zależnością pomiędzy wielkością ślinianek przyusznych i podżuchwowych a wzrostem) występowały zarówno u kobiet jak i u mężczyzn. Na podstawie uzyskanych wyników badań, autorzy stwierdzili również, że płeć nie wpływała istotnie na stężenie białka całkowitego, aktywność amylazy oraz poziom pH i jonów Na^+ , K^+ w ślinie spoczynkowej mieszanej. Autorzy sugerowali, że większa szybkość wydzielania śliny spoczynkowej u mężczyzn w porównaniu z wartościami uzyskanymi u kobiet zależała od posiadania przez mężczyzn ślinianek o większym rozmiarze oraz ogólnie większej masy ciała (90).

Rotteveel i wsp. (171) oceniali w aspekcie płci szybkość wydzielania śliny spoczynkowej u zdrowych dzieci w wieku 6-11 lat. Nie odnotowali istotnych różnic w szybkości wydzielania śliny spoczynkowej pomiędzy chłopcami i dziewczynkami w tej samej grupie wiekowej. Podobne badanie przeprowadzili Yamamoto i wsp. (217). Zbadali 100 kobiet i 100 mężczyzn w wieku 22 -29 lat i stwierdzili, iż średnie wartości szybkości wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej oraz stymulowanej żuciem gumi i żuciem gazy, były istotnie wyższe u mężczyzn w porównaniu z kobietami. U obu płci odnotowano przy

tym istotną korelację dodatnią pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej i stymulowanej. Należy dodać, że autorzy nie stwierdzili korelacji pomiędzy szybkością wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej a wzrostem, wagą i BMI zarówno u kobiet i u mężczyzn. Ich zdaniem również szybkość wydzielania śliny mieszanej stymulowanej nie zależała od wzrostu, wagi i BMI zarówno u kobiet jak i u mężczyzn. Autorzy na podstawie wyników pracy stwierdzili również, że szybkość wydzielania śliny powinna być porównywana wyłącznie w grupach o tej samej płci. Zupełnie inne spostrzeżenia mieli Tylenda i wsp. (202), którzy badali szybkość wydzielania śliny spoczynkowej oraz stymulowanej kwasem cytrynowym u 90 ochotników w wieku 26-93 lat. Autorzy nie odnotowali istotnych różnic w szybkości wydzielania śliny spoczynkowej oraz stymulowanej ani pomiędzy poszczególnymi grupami wiekowymi, ani pomiędzy kobietami i mężczyznami. Podobne wyniki uzyskali Ghezzi i wsp. (75), którzy badali zależność pomiędzy szybkością wydzielania śliny a wiekiem u 36 zdrowych osób w różnych grupach wiekowych. Autorzy nie odnotowali istotnych różnic w szybkości wydzielania śliny zarówno ze ślinianki przyusznej jak i podżuchwowej, zarówno w przypadku podziału na wiek jak i na płeć. Stwierdzili natomiast, iż oznaczenie fizjologicznych zakresów szybkości wydzielania śliny może mieć praktyczne znaczenie dla badań klinicznych, oraz właściwego postępowania z pacjentami, u których wyniki odbiegają od wartości fizjologicznych.

Część autorów uważa, że wraz z dorastaniem dzieci wzrasta u nich szybkość wydzielania śliny i że jest ona wyższa u chłopców w porównaniu z dziewczynkami (107,114,153). Sanchez-Perez i wsp. (173) badali wpływ dorastania dzieci na szybkość wydzielania śliny stymulowanej. W tym longitudinalnym badaniu udział wzięło 110 dzieci w wieku 7 lat. Badając dzieci przez 6 lat, autorzy nie zaobserwowali istotnych różnic pomiędzy płcią badanych dzieci a szybkością wydzielania śliny stymulowanej przez pierwsze 5 lat badania. Natomiast w ostatnim roku badania, gdy dzieci miały 13 lat, stwierdzono u chłopców wyższe wartości wydzielania śliny stymulowanej w porównaniu z dziewczynkami, co można tłumaczyć różnicą w rozmiarze ślinianek i ich zdolności wydzielniczych. Potwierdzają to również badania dotyczące rozmiaru ślinianek prowadzone przez Ono K. i wsp. (153). Autorzy zaobserwowali także, iż dzieci wyłącznie z uzębieniem mlecznym wydzielają mniej śliny, wartości te wzrastają u dzieci z mieszanym uzębieniem (173). Natomiast, podobnie jak Yamamoto i wsp. (217), którzy badali osoby w wieku 22-29 lat, Sanchez-Perez i wsp. (173) u badanych dzieci nie odnotowali zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej a BMI.

Badania wskazują (5,6,17,75,93,114), że nie tylko szybkość wydzielania śliny może zmieniać się wraz z wiekiem ale również jej skład. Przeprowadzone badania dzieci w wieku od 3 dni do 12 miesięcy, wykazały, że stężenie jonów Mg, Cl, Ca w ślinie jest istotnie wyższe u dzieci niż u dorosłych, natomiast stężenie fosforu nieorganicznego, amylazy i IgA zdecydowanie niższe. Autorzy nie stwierdzili różnic w stężeniu jonów Na i K w ślinie niemowląt w porównaniu z dorosłymi (17). Anderson i wsp. (5) oceniając stężenie wapnia i fosforanów w ślinie mieszanej spoczynkowej i stymulowanej u dzieci z mieszanym użębieniem oraz u dorosłych, zbadali 15 dorosłych ochotników (w wieku 19-44 lat) oraz 15 dzieci (w wieku 6-12 lat). Analizując uzyskane wyniki autorzy stwierdzili, iż zarówno w ślinie spoczynkowej jak i stymulowanej mechanicznie, stężenie jonów wapnia było istotnie statystycznie niższe w grupie dzieci w porównaniu do grupy dorosłych. Powyższej zależności nie stwierdzili w przypadku fosforanów.

Wpływ nasilenia procesu żucia w postaci zwiększonej częstotliwości ruchów żucia na funkcję gruczołów ślinowych w aspekcie wydzielania śliny spoczynkowej badali Dodds wsp. (55) u 11 zdrowych, ochotników w wieku 18-25 lat. Analizując uzyskane wyniki autorzy stwierdzili, iż średnie wartości szybkości wydzielania śliny spoczynkowej przed i po 2 tygodniach intensywnego żucia gumy były podobne. Nie zanotowali również istotnych zmian w stężeniu białka całkowitego. Natomiast zarówno pH jak i zdolności buforowe istotnie wzrosły ($p < 0,05$).

Jednym z pierwszych autorów, który zauważył wahania dobowe w ilości wydzielanej śliny oraz fakt, że maksimum śliny spoczynkowej wydzielane jest w późnych godzinach popołudniowych był Dawes (44) . Badania te opisał już w 1972 roku. W 1974 ten sam autor udowodnił, iż występuje zależność pomiędzy rytmem dobowym a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej jak i stymulowanej wydzielanej przez ślinianki podżuchwowe (45). Podobne badania wcześniej prowadził Shannon (180), który badając przez okres 1 miesiąca szybkość śliny stymulowanej sokiem cytrynowym u 12 mężczyzn w wieku poborowym, obserwował zmiany pomiędzy poszczególnymi tygodniami. Hyde (88) badał szybkość wydzielania śliny stymulowanej parafiną w grupie 48 dzieci, w wieku 5-6 lat. Wyższe wartości zaobserwował w miesiącach jesiennych w porównaniu z zimowymi, co tłumaczył stresem związanym z uczęszczaniem do szkoły. Autorami próbującymi dowieść, że istnieją również różnice w ilości wydzielanej śliny zależnie od pory roku i miesiąca byli Kavanah & Svehla (107). Udowodnili oni, że szybkość wydzielania śliny spoczynkowej podlegała znacznym wahaniom w ciągu roku. Wyższe wydzielanie miało miejsce w chłodniejszych miesiącach. Odnotowali istotne statystycznie różnice w stężeniu

wapnia oraz zdolnościach buforowych u poszczególnych osób pomiędzy próbkami śliny zbieranymi w różnych miesiącach. Nie odnotowali natomiast istotnych różnic w stężeniach fosforanów nieorganicznych, w zależności od czasu pobierania próbek śliny. Autorzy sądzą, iż zmiany w szybkości wydzielania śliny związane z porą roku oraz metody pobierania śliny mogły mieć wpływ na uzyskane wyniki. Pojawiające się różnice w wydzielaniu śliny spoczynkowej w poszczególnych miesiącach były również tematem badania Kariyawasam & Dawes (105), którzy sugerowali, iż nawet niewielkie zmiany temperatury (np. o 2° C) w ciepłym klimacie mogą mieć wpływ na wydzielania śliny spoczynkowej. Zalecali także branie pod uwagę nie tylko rytmu dobowego, ale również rocznego wydzielania śliny. Najlepiej udokumentowany roczny rytm wydzielania śliny można znaleźć w badaniach Shannon (181), które dotyczyły wydzielania spoczynkowej śliny pobieranej ze ślinianki przyusznej. Najwyższe wartości szybkości wydzielania śliny odnotowano w miesiącu grudniu i styczniu, gdy średnia temperatura powietrza wynosiła 10°C, najniższe wartości zaś w lipcu i sierpniu, gdy średnia temperatura wynosiła 29°C. Zdaniem autorów niższe wartości szybkości wydzielania śliny były prawdopodobnie spowodowane odwodnieniem uczestników badania w miesiącach letnich (181).

W pracy własnej podjęto próbę określenia, do jakich zmian dochodzi w ślinie mieszanej w trakcie trwania stymulacji w ściśle określonych przedziałach czasowych. Punktem odniesienia była ślina mieszana spoczynkowa. W badaniach uczestniczyły osoby ogólnie zdrowe, niepalące, bez zmian w jamie ustnej i uzębieniu. Pod uwagę wzięto stymulację mechaniczną (żucie plastikowego krążka), stymulację chemiczną z wykorzystaniem kwasu cytrynowego oraz stymulację mechaniczno-chemiczną (żucie gumy bezcukrowej o smaku miętowym). Jak wynika z piśmiennictwa, w badaniach dotyczących wydzielania śliny, znaczną uwagę poświęca się bodźcom, które w różnym stopniu mogą wpływać na szybkość wydzielania śliny równocześnie modyfikując jej skład oraz właściwości. Bodźce stymulujące wydzielanie śliny, do których należą m.in. czynniki o charakterze mechanicznym, chemicznym oraz mechaniczno-chemicznym, są uważane przez wielu autorów za najważniejszy czynnik determinujący skład i właściwości śliny zarówno gruczołowej jak i mieszanej (4,5,18,25,30,39,40,41,42,47,56,75,98,130,131, 148, 149,160). Jednak analizując dostępne piśmiennictwo, można stwierdzić, że w prowadzonych badaniach dominuje znaczna różnorodność metodologiczna (m.in. ze względu na rodzaj śliny użytej do badań, metody pobierania i badania śliny, rodzaj czynnika stymulacyjnego, przedziały czasowe stymulacji, różne pod wieloma względami populacje badanych) co powoduje również duże zróżnicowanie wyników i utrudnia ich

porównywanie. Powoduje to również, że obraz wpływu różnych rodzajów stymulacji na wydzielanie i skład śliny jest niepełny (4,5,18,25,28,30,39,40,41,42,47,56,75,98,130,131, 148, 149,160).75).

1. Zmiany właściwości i składu śliny stymulowanej mechanicznie z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji.

W badaniach dotyczących wpływu stymulacji mechanicznej na wydzielanie i skład śliny istotne jest wyeliminowanie wszystkich innych czynników (poza mechanicznym) stymulujących wydzielanie śliny tj: smaku, zapachu, dźwięku, bodźców wzrokowych. Dlatego też w badaniach tego typu, do stymulacji wydzielania śliny stosuje się żucie kostki parafiny względnie specjalnie przygotowanych odlewów lub krążków plastikowych (12,63,149,151,163,165,210,211)

Szybkość wydzielania śliny a stymulacja mechaniczna

Szybkość wydzielania śliny stymulowanej mechanicznie była przedmiotem badań wielu autorów (63,163,210). W badaniach jako czynnika stymulującego najczęściej używano kostki parafiny (63,210). Parafina jest substancją bezsmakową, która podczas żucia dobrze zachowuje swoją twardość, wagę i objętość. Zdaniem autorów żucie parafiny lepiej pobudza mechanoreceptory przyzębia, ponieważ jest bardziej stabilnym bodźcem stymulacyjnym (98). Nieliczni autorzy wykorzystywali do stymulacji wydzielania śliny specjalnie przygotowane odlewy lub plastikowe krążki, które w ich ocenie umożliwiały uzyskanie czysto mechanicznego mechanizmu stymulacji (163). W zależności od autorów, we wspomnianych badaniach szybkość wydzielania śliny stymulowanej oceniana była w krótkich czasach trwania stymulacji - najczęściej był to okres 5 minut (63,163), 6 minut (210) lub 7,5 minuty (163). Liczebność grup, w których prowadzono te badania była zróżnicowana i wahała się od 5 (163), 22 (63) do 33 osób (210). Badane grupy różniły się płcią oraz zakresem wieku: Proctor & Carpenter (163) badali osoby w wieku 22-40 lat, Wang i wsp. (210) w wieku 21-61, a Engelen i wsp. (63) w wieku 19-33. Ponadto część autorów badała ślinę mieszaną (63,163,210), a część skupiała się wyłącznie na ślinie gruczołowej (163). Najbardziej zbliżone metodyką do moich badań były badania Wang'a i wsp. (210) oraz Engelen i wsp. (63), przy czym okres pobierania śliny stymulowanej mechanicznie był znacznie krótszy (6 i 5 min). To zróżnicowanie materiałów oraz metodyki badań utrudniało i utrudnia porównywanie uzyskanych przez różnych autorów wyników. Badając ślinę stymulowaną mechanicznie przez 5 min (63) i 6 minut (210), autorzy stwierdzili istotną dodatnią korelację pomiędzy szybkością wydzielania śliny

spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej. Natomiast wyniki badań własnych, które były prowadzone również w ślinie mieszanej wskazują, że istotna statystycznie dodatnia korelacja występowała podczas całego 30-minutowego badania, z wyjątkiem właśnie śliny stymulowanej pobieranej w czasie pierwszych 5 minut stymulacji oraz śliny pobieranej pomiędzy 10 a 15 minutą stymulacji (Tabela I). Ponadto stwierdziłam istotną statystycznie różnicę pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej mieszanej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej w każdym z cykli jej pobierania ($p < 0,05$). W czasie 30 minut stymulacji mechanicznej, niższa szybkość wydzielania śliny stymulowanej utrzymywała się na podobnym poziomie i nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy szybkościami wydzielania śliny stymulowanej pobieranej w różnym czasie trwania stymulacji (Tabela I). Proctor & Carpenter (163), którzy badali wydzielanie śliny przyuszczej stymulowanej przez 5 minut żuciem plastikowego krążka, stwierdzili także występowanie istotnej statystycznie różnicy pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej ($p < 0,05$). Ponadto autorzy ci stwierdzili aż 10-krotny wzrost szybkości wydzielania śliny stymulowanej w pierwszych minutach stymulacji w porównaniu do śliny spoczynkowej (162).

Olson i wsp. (151) badali szybkość wydzielania śliny mieszanej stymulowanej żuciem kostki parafiny przez 5 minut u osób niepalących. Średnia szybkości wydzielania tej śliny wynosiła $1,4 \pm 0,1$ ml/min. W badaniach własnych, w których szybkość wydzielania śliny stymulowano żuciem plastikowego krążka w zdrowej grupie ochotników bez nałogu palenia, średnia szybkość wydzielania śliny stymulowanej po 5 minutach stymulacji wynosiła $1,18 \pm 0,39$ ml/min, i była ona niższa od wartości uzyskanych przez Olson i wsp. w czasie 5 minut stymulacji (151). Należy zaznaczyć, że takiej wysokiej wartości szybkości wydzielania śliny stymulowanej nie stwierdziłam nawet po 25 minutach stymulacji.

Wartość pH i zdolności buforowe śliny a stymulacja mechaniczna

Zdolności buforowe śliny oraz jej odczyn, które mają istotny wpływ na utrzymanie stanu zdrowia zarówno twardych jak i miękkich tkanek jamy ustnej były przedmiotem badań wielu autorów (12,64,149). Badania te były zróżnicowane zarówno pod względem samej metodyki pomiaru (różny czas stymulacji, ślina mieszana lub gruczołowa) jak również badanej populacji. W związku z tym porównywanie wyników własnych z wynikami innych autorów jest znacznie utrudnione.

Englander i wsp. w swoim badaniu wykorzystali ślinę stymulowaną mechanicznie przez ok. 30 min, pobieraną bezpośrednio z ujścia ślinianki przyuszczej. W badaniu tym wzięło udział 82 mężczyzn, średnia wieku uczestników badania wynosiła 18 lat. Autorzy

stwierdzili dodatnią istotną statystycznie korelację pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej przyusznicej a poziomem pH i zdolnościami buforowymi śliny.

Neyraud i wsp. (149) u 4 mężczyzn i 3 kobiety w wieku 22-39 lat badali ślinę spoczynkową i stymulowaną pobieraną bezpośrednio z ujścia ślinianki przyusznicej, samo badanie trwało dłużej (ok. 1 godziny) i wykonywane było dwukrotnie. Do stymulacji używano kostki parafiny. Neyraud i wsp.(149) oceniając w tym badaniu zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny a pH śliny spoczynkowej i śliny stymulowanej wykazali, iż wraz ze wzrostem szybkości wydzielania zarówno śliny spoczynkowej jak i stymulowanej, pH śliny wzrastało liniowo. Wzrost szybkości wydzielania z 50 na 500 $\mu\text{l}/\text{min}$ spowodował wzrost pH z 5,8 do 7,0 (149).

Bardow i wsp. (12) natomiast badali ślinę mieszaną, stymulowaną żuciem kostki parafiny przez 5 minut, próbki śliny pobierano co 30 sekund. W badaniu wzięło udział 20 ochotników (9 mężczyzn, 11 kobiet) o średniej wieku ok. 26 lat. Autorzy stwierdzili istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej żuciem kostki parafiny a pH i zdolnościami buforowymi śliny. Liczniejszą grupę ochotników (32 kobiety i 30 mężczyzn) w wieku 21-29 lat zbadały Waszkiel i wsp. (211). Autorki, które badały również ślinę mieszaną stymulowaną żuciem kostki parafiny stwierdziły, że w grupie osób bez nadżerek szkliwa, pH śliny stymulowanej było wyższe od pH śliny spoczynkowej. Zaobserwowały również, że wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny spoczynkowej nieznacznie wzrastały zdolności buforowe śliny, natomiast wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny stymulowanej obniżała się jej zdolność buforowa. Autorki wykazały ponadto, iż osoby z niskim wskaźnikiem wydzielania śliny stymulowanej miały niższe średnie wartości pH niż osoby z wyższą szybkością wydzielania śliny. Podobnie jak Waszkiel i wsp. (211) stwierdziłam, że pH śliny stymulowanej było wyższe od pH śliny spoczynkowej (Tabela II). Natomiast w przeciwieństwie do wyników uzyskanych przez Bardow i wsp. (12), nie stwierdziłam istotnych statystycznie zależności pomiędzy wartością pH a szybkością wydzielania zarówno śliny spoczynkowej jak i stymulowanej, niezależnie od czasu trwania stymulacji. Oceniając zdolność buforową śliny stwierdziłam, że pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej a zdolnościami buforowymi ocenianymi zarówno po jednej (ZB_1), jak i po pięciu minutach (ZB_2) od dodania do śliny HCl, występowała istotna korelacja o charakterze dodatnim. Podobnej zależności nie stwierdziłam w przypadku śliny stymulowanej (Tabela IV).

Lepkość śliny a stymulacja mechaniczna

Rantonen & Meurman (165) oceniając lepkość w ślinie mieszanej spoczynkowej, zbadali 16 mężczyzn i 14 kobiet w wieku 22 lat. Zarówno ślina spoczynkowa jak i stymulowana były zbierane 5-krotnie w ciągu dnia. Wydzielanie śliny stymulowano żuciem parafiny, każdorazowo przez 3 minuty. Autorzy uważają, iż lepkość śliny spoczynkowej jest zależna od szybkości wydzielania, ale badając lepkość śliny pięciokrotnie w ciągu dnia stwierdzili istotną zależność lepkości od szybkości wydzielania śliny spoczynkowej i szybkości wydzielania śliny stymulowanej tylko w jednym badaniu, które było wykonane o godzinie 17.00 (korelacja ujemna). Stwierdzili ponadto istotną dodatnią korelację pomiędzy lepkością śliny spoczynkowej a lepkością śliny stymulowanej, ale również wyłącznie w badaniu przeprowadzanym o godzinie 17. Zdaniem autorów, na lepkość mogą wpływać również inne czynniki np. zmiana składu śliny w kolejnych próbkach, głównie w odniesieniu do ilości glikoprotein ślinowych. W badaniu własnym nie stwierdziłam jednak zależności lepkości śliny od stężenia białka całkowitego w ślinie (Tabela V). Ci sami autorzy (165) przyznają, że lepkość śliny jest parametrem trudnym do zbadania ze względu na swoją zmienność osobniczą i dobową, dodatkowa trudność wynika z faktu, że do końca nie wiadomo jakie czynniki wpływają na lepkość śliny. Podobne wnioski dotyczące lepkości i przyczyn rozbieżności w uzyskiwanych wynikach sformułował Roberts (168). Lepkością śliny mieszanej oraz substytutów śliny stosowanych w przypadku zaburzeń wydzielania śliny zajmowali się Christersson i wsp. (31), którzy oceniali lepkość śliny mieszanej stymulowanej żuciem parafiny. W badaniu wzięło udział 3 ochotników w wieku 33-44 lat. Od każdego z uczestników, w ciągu 60 minut trwania badania, zebrano 6 próbek śliny stymulowanej, pomiarów lepkości dokonywano w odstępach 10-minutowych. Autorzy nie stwierdzili zmian w lepkości śliny w ciągu czasu trwania całego badania.

Z moich badań wynika, że lepkość śliny mieszanej stymulowanej mechanicznie żuciem plastikowego krążka przez 30 minut, zmniejszała się wraz z wydłużeniem czasu stymulacji. Podobnej zależności nie stwierdzili Christersson i wsp. (31), chociaż ich badanie trwało dwukrotnie dłużej (60 minut) i również dotyczyło śliny mieszanej stymulowanej mechanicznie. Wprawdzie lepkość śliny stymulowanej była od początku niższa niż w ślinie spoczynkowej, to różnica pomiędzy lepkością śliny stymulowanej a lepkością śliny spoczynkowej była istotna statystycznie dopiero po 10 minutach stymulacji. Analizując uzyskane wyniki nie stwierdziłam zależności lepkości od szybkości wydzielania śliny zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej (Tabela V). Stwierdziłam natomiast znamienne statystycznie korelację, o charakterze dodatnim pomiędzy lepkością śliny

spoczynkowej a lepkością śliny stymulowanej i korelacja ta była istotna niezależnie od czasu trwania stymulacji (Tabela V). Podobną korelację stwierdził Rantonen & Meurman, ale w ich badaniach, występowała ona wyłącznie w określonych godzinach pomiaru (165).

Stężenie jonów wapnia i fosforanów nieorganicznych w ślinie a stymulacja mechaniczna

Stężenie jonów wapnia i fosforanów nieorganicznych w ślinie ma istotny wpływ na mechanizmy związane z remineralizacją twardych tkanek zębów. Niższe stężenie wapnia w ślinie zmniejsza zdolność do odkładania się wapnia w hydroksyapatytach szkliwa przy optymalnych wartościach pH. Szybciej następuje również proces rozpuszczania hydroksyapatytów przy niskim poziomie pH (6).

Stężenie jonów wapnia oraz jonów fosforanów nieorganicznych w ślinie spoczynkowej mieszanej tematem badań Bachanek i wsp. (9). W badaniu wzięło udział 59 ochotników w wieku 19-29 lat, których podzielono na grupy zależnie od deklarowanego nałogu palenia papierosów. W ślinie osób palących papierosy średnie stężenie jonów wapnia wynosiło $4,16 \pm 2,81$ mg/dl i nie różniło się statystycznie od wartości stwierdzonych w ślinie osób nie palących ($x=3,70 \pm 2,22$ mg/dl). W moich badaniach stężenie jonów wapnia w ślinie spoczynkowej wynosiło średnio $3,64 \pm 1,27$ mg%, i było zbliżone do wartości, które obserwowali autorzy u osób niepalących (Tabela VI). Należy zaznaczyć, że w moich badaniach udział brały tylko osoby niepalące. W przypadku fosforanów nieorganicznych autorzy (9) stwierdzili, że średnie stężenie fosforanów nieorganicznych w ślinie mieszanej spoczynkowej u osób palących wynosiło $26,84 \pm 7,95$ mg/dl, natomiast w ślinie osób niepalących $28,21 \pm 9,21$ mg/dl (różnica nieistotna statystycznie). Wartości te były znacznie wyższe od uzyskanych przeze mnie dla śliny mieszanej spoczynkowej ($17,21 \pm 7,33$ mg%) (Tabela VII). Powyższe różnice mogły wynikać z różnych metod badawczych. Autorzy (9) badali stężenie jonów fosforanu nieorganicznego z użyciem Liquick Cor-PHOSPHORUS diagnostic kit. W badaniach własnych stężenie fosforanów nieorganicznych (mmol/l) badano metodą opracowaną na podstawie metody DAly'ego i ErtingshausenV zmodyfikowanej przez Wang'a i wsp. (210), stosując odczynniki firmy Alpha Diagnostics. Sikorska i wsp. (185) zbadały poziom wapnia i fosforanu nieorganicznego w ślinie spoczynkowej mieszanej u 83 ochotników (45 chłopców, 38 dziewcząt) w wieku 16 lat. Od każdego z uczestników pobrano ślinę spoczynkową, w której metodą spektrofotometryczną określono stężenie jonów wapnia i fosforanów nieorganicznych. Średnie wartości stężenia jonów wapnia w ślinie spoczynkowej wynosiły $0,469 \pm 0,228$ mmol/l i były prawie

dwukrotnie niższe od wartości uzyskanych w pracy własnej w ślinie spoczynkowej ($0,9 \pm 0,31$ mmol/l) (Tabela VI). Natomiast w przypadku fosforanów nieorganicznych średnie wartości stężeń uzyskanych w badaniach własnych wynosiły $5,6 \pm 2,26$ mmol/l i były zbliżone do stężeń fosforanów uzyskanych przez autorki (Tabela VII). W przeciwieństwie do moich wyników, autorki stwierdziły, że wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny spoczynkowej poziom wapnia malał i była to zależność statystycznie istotna ($p=0,046$). Podobną tendencję obserwowwały w przypadku fosforanów nieorganicznych, ale nie była to zależność istotna statystycznie (185), natomiast w badaniach własnych zależność o charakterze korelacji ujemnej była istotna statystycznie (Tabela VII).

Anderson i wsp. (6) zbadali zmiany zachodzące w stężeniach jonów wapnia w ślinie mieszanej spoczynkowej i stymulowanej mechanicznie. Autorzy stwierdzili, iż stężenie jonów wapnia nie różniło się istotnie pomiędzy śliną spoczynkową a stymulowaną. Natomiast w badaniach własnych stwierdziłam istotną statystycznie różnicę pomiędzy stężeniem jonów wapnia w ślinie stymulowanej a stężeniem jonów wapnia w ślinie spoczynkowej ale dopiero po dłuższym czasie stymulacji – stężenie jonów wapnia było istotnie mniejsze w ślinie stymulowanej pobieranej pomiędzy 20 a 30 minutą stymulacji, ($p<0,05$) (Tabela VI). Nie stwierdziłam jednak korelacji pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej, jak również śliny spoczynkowej a stężeniem jonów wapnia w ślinie.

Bardow i wsp. (12) w badaniu, w którym wzięło udział 11 kobiet i 9 mężczyzn o średniej wieku ok. 26 lat, oceniali stężenie fosforanów nieorganicznych w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz stymulowanej mechanicznie żuciem parafiny. Autorzy stwierdzili, że stężenie fosforanów nieorganicznych jest zależne od szybkości wydzielania śliny stymulowanej i jest to korelacja o charakterze ujemnym. Bardow i wsp. (12) stwierdzili ponadto, iż w ślinie spoczynkowej stężenie fosforanów nieorganicznych było istotnie wyższe od tego obserwowanego w ślinie stymulowanej ($p<0,05$). Podobnie Anderson i wsp. (6) oceniając stężenia fosforanów w ślinie u dzieci z mieszanym uzębieniem oraz u osób dorosłych stwierdzili, iż zarówno w ślinie mieszanej spoczynkowej jak i stymulowanej mechanicznie, stężenie fosforanów było istotnie wyższe w ślinie spoczynkowej w porównaniu do śliny stymulowanej zarówno w grupie zbadanych dzieci ($p<0,001$) jak i w grupie dorosłych ($p<0,001$) (6). Również w moich badaniach stwierdziłam występowanie podobnej istotnej statystycznie różnicy pomiędzy stężeniem fosforanów nieorganicznych w ślinie spoczynkowej a stężeniem fosforanów nieorganicznych w ślinie stymulowanej ($p<0,05$) (Tabela VII). Uzyskane wyniki sugerują, że w trakcie stymulacji ślina staje się uboższa w fosforan nieorganiczny. Również na podstawie uzyskanych wyników badań

własnych, można stwierdzić, że poziom stężenia fosforanów nieorganicznych w ślinie stymulowanej w istotny sposób zależy od stężenia tych jonów w ślinie spoczynkowej (korelacja dodatnia występowała niezależnie od czasu trwania stymulacji). Wyniki badań sugerują również, że szybkość wydzielania śliny spoczynkowej jest czynnikiem istotnie wpływającym na stężenie fosforanów nieorganicznych w ślinie spoczynkowej (istotna korelacja ujemna), natomiast w przypadku śliny stymulowanej podobna zależność ujawniała się dopiero po dłuższym okresie stymulacji (pomiędzy 20 a 30 minutą stymulacji). Bardow i wsp. (12) korelację tę stwierdzili w ślinie stymulowanej, podczas trwania całego badania.

Stężenie białka całkowitego w ślinie a stymulacja mechaniczna

Ryament i wsp. (166) zbadali grupę 6 mężczyzn w wieku 30-36 lat, od których pobrali ślinę mieszaną spoczynkową, oraz stymulowaną żuciem kostki parafiny przez 15 minut. Autorzy zbadali zachowanie białka całkowitego w czasie przedłużonego żucia. Stwierdzili, że stężenie białka całkowitego w ślinie stymulowanej było niższe niż w ślinie spoczynkowej. Ponadto w ślinie stymulowanej stężenie białka całkowitego nie zmieniało się w trakcie przedłużonego czasu stymulacji, jak również nie zależało od intensywności żucia (166). Rayment i wsp. zbadali oddzielnie składowe białka (mucyny wysoko i nisko cząsteczkowe) i stwierdzili, że wysoko cząsteczkowe mucyny zachowywały się w badaniu podobnie jak białko całkowite, podczas gdy stężenie nisko cząsteczkowych mucyn nie różniło się w ślinie spoczynkowej i stymulowanej, ani nie zmieniało się w trakcie stymulacji. Profil wydzielania białka całkowitego różnił się natomiast w poszczególnych gruczołach ślinowych. W śliniankach przyusznych, po zadziałaniu mechanicznego bodźca stymulującego, stężenie białka całkowitego gwałtownie spadało, a następnie podnosiło się w miarę wydłużania czasu stymulacji. W śliniankach podżuchwowych i podjęzykowych stężenie białka wzrastało po stymulacji, osiągając wartość maksymalną i dalej pozostawało na niezmiennym poziomie (166). Bardow i wsp. (12) badali ślinę mieszaną, stymulowaną żuciem kostki parafiny przez 5 minut, próbki śliny pobierano co 30 sekund. Analizując uzyskane wyniki badań autorzy nie stwierdzili korelacji pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej a stężeniem białka całkowitego. Almstahl i wsp. (2) w swoim doświadczeniu obejmującym grupę pacjentów z prawidłowym wydzielaniem śliny oraz ze zmniejszonym wydzielaniem śliny badali stężenia różnych substancji białkowych, w tym białka całkowitego w ślinie mieszanej spoczynkowej i stymulowanej żuciem kostki parafiny przez 5-10 minut (czas trwania stymulacji zależał od szybkości wydzielania śliny). Autorzy stwierdzili występowanie istotnej statystycznie korelacji o charakterze ujemnym pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej a stężeniem białka całkowitego ($p < 0,0001$) w

obu grupach badanych (2). Neyraud i wsp. (149) badali ślinę pobieraną bezpośrednio z ujścia ślinianki przyusznej, a pobieranie śliny spoczynkowej oraz kilkukrotne pobieranie śliny stymulowanej trwało około 1 godziny. Cała procedura badania powtarzana była dwukrotnie. Autorzy porównywali skład śliny wydzielanej przez śliniankę przyuszną podczas spoczynku i krótkotrwałej stymulacji zuciem. Celem badania autorów była ocena zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny a stężeniem białka w ślinie spoczynkowej oraz stymulowanej. Autorzy wykazali, iż wydłużenie czasu stymulacji powodowało liniowy spadek stężenia białka całkowitego. Wzrost szybkości wydzielania z 50 na 500 $\mu\text{l}/\text{min}$ spowodował spadek stężenia białka z 1,0 do 0,7 g/l (149). Proctor & Carpenter (163), którzy do swojego badania zakwalifikowali 5 ochotników w wieku 22-40 lat, badali ślinę spoczynkową oraz stymulowaną pobieraną bezpośrednio z ujścia ślinianki przyusznej (czas trwania stymulacji: 5 i 7,5 minuty). Autorzy ci stwierdzili istotną statystycznie różnicę pomiędzy stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej i stymulowanej przyuszniczej już po 2,5 min trwania stymulacji ($p < 0,05$). W przeprowadzonym przez nich badaniu stężenie białka spadało wraz z czasem trwania stymulacji.

W badaniach własnych stężenie białka całkowitego w ślinie mieszanej stymulowanej, przez cały okres trwania stymulacji było istotnie niższe ($p < 0,05$) w porównaniu do stężeń białka całkowitego stwierdzanych w ślinie spoczynkowej. Należy zwrócić również uwagę, że im większe było stężenie białka całkowitego w ślinie spoczynkowej, tym istotnie wyższe było stężenie białka całkowitego w ślinie stymulowanej (Tabela VIII). Analizując poszczególne wartości białka całkowitego w ślinie stymulowanej w czasie 30-minutowej stymulacji, można stwierdzić że stężenie białka całkowitego nie zmieniało się istotnie. Uzyskane przeze mnie wyniki są zbieżne z wynikami Rayement i wsp. (166), którzy badali ślinę mieszaną oraz wynikami Proctora & Carpentera (163), których doświadczenie dotyczyło śliny gruczołowej przyuszniczej. Wyniki badań własnych wskazują również na występowanie istotnej statystycznie korelacji o charakterze ujemnym pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej, a stężeniem białka całkowitego. Powyższą korelację stwierdziłam już po upływie 5 minutach stymulacji, i była ona istotna statystycznie niezależnie od czasu trwania stymulacji. Podobną korelację stwierdzili również Amstahl i wsp. (2), którzy także badali ślinę mieszaną.

Stężenie lizozymu w ślinie a stymulacja mechaniczna

Zajączkowska-Białowąs i wsp. (223) oceniali stężenie lizozymu w ślinie spoczynkowej u 52 osób w wieku od 15 do 29 lat. Uzyskane wyniki stężeń lizozymu

autorzy odnosili nie tylko do objętości śliny, ale także do białka całkowitego. U 30 uczestników badanie powtarzano od 2 do 5 razy, w odstępach 1-2 tygodniowych, aby ocenić powtarzalność uzyskanych wyników. Autorzy stwierdzili, że średnie wartości stężeń lizozymu w ślinie spoczynkowej mierzone w stosunku do objętości wynosiły $0,75 \pm 47 \text{ mg\%}$, natomiast w stosunku do białka całkowitego $0,67 \pm 0,55 \text{ mg\%}$. Autorzy wykazali dodatnią zależność pomiędzy stężeniem lizozymu w ślinie spoczynkowej a poziomem białka całkowitego. W pracy własnej nie stwierdziłam zależności pomiędzy stężeniem lizozymu a stężeniem białka całkowitego.

Kirstila i wsp. (144), oceniając zależność pomiędzy stężeniem lizozymu w ślinie mieszanej spoczynkowej i ślinie stymulowanej żuciem parafiny, zbadali 33 chłopców i 30 dziewczynek w wieku 12 lat. Badanie przeprowadzono czterokrotnie w odstępach sześciomiesięcznych. Autorzy stwierdzili istotny statystycznie ($p < 0,001$) wzrost szybkości wydzielania śliny stymulowanej po dwóch latach badania oraz istotnie statystycznie spadek lizozymu ($p = 0,001$) z średnich wartości $14,1 \text{ }\mu\text{g/ml}$ do wartości $11,5 \text{ }\mu\text{g/ml}$, co zdaniem autorów sugerowało występowanie ujemnej korelacji pomiędzy tymi parametrami. Stężenie lizozymu nie zależało od ilości stwierdzanych ubytków próchnicowych.

Olson i wsp. (151) oceniali stężenie lizozymu w ślinie mieszanej stymulowanej żuciem kostki parafiny przez 5 minut w trzech grupach ochotników (grupa I - osoby nie palące papierosów, grupa II i III – osoby palące oraz osoby starające się rzucić nałóg palenia). W grupie I, przy średniej szybkości wydzielania śliny stymulowanej wynoszącej $1,4 \pm 0,1 \text{ ml/min}$, stężenie lizozymu wynosiło średnio $6,8 \pm 0,5 \text{ }\mu\text{g/ml}$. W grupie II przy średniej szybkości wydzielania śliny stymulowanej równej $1,5 \pm 0,1 \text{ ml/min}$, stężenie lizozymu wynosiło średnio $6,3 \pm 0,3 \text{ }\mu\text{g/ml}$, i było ono takie same jak w grupie III, gdzie średnia szybkość wydzielania śliny wynosiła $x = 1,6 \pm 0,3 \text{ ml/min}$. W badaniach własnych w trakcie pierwszych 5 minut stymulacji mechanicznej żuciem plastikowego krążka stwierdziłam, że średnie wartości stężeń lizozymu w ślinie wynosiły $4,6 \pm 3,6 \text{ }\mu\text{g/ml}$ i były one o około 30% niższe od wartości uzyskanych przez Olsona i wsp. (Tabela IX).

Narhi i wsp. (146) zbadali stężenie lizozymu w ślinie mieszanej stymulowanej u osób obojga płci w wieku 76, 81 oraz 86 lat. Średnie stężenie lizozymu u wszystkich uczestników badania wynosiło $8,1 \text{ mg/l}$. Była to wartość prawie dwukrotnie niższa niż uzyskane w badaniach własnych, które dotyczyły osób znacznie młodszych (Tabela IX). Ponadto autorzy stwierdzili istotną ujemną korelację pomiędzy stężeniem lizozymu a szybkością wydzielania śliny stymulowanej ($p < 0,05$). W badaniach własnych nie stwierdziłam istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniami lizozymu w ślinie

stymulowanej mechanicznie żuciem krążka, a stężeniem lizozymu w ślinie spoczynkowej. Stwierdziłam natomiast, że stężenie lizozymu w ślinie spoczynkowej wpływało na stężenie lizozymu w ślinie stymulowanej i była to istotna korelacja o charakterze dodatnim, utrzymująca się przez 30 minut badania (z wyjątkiem śliny pobranej między 15 a 20 minutą stymulacji). Nie stwierdziłam korelacji pomiędzy stężeniem lizozymu a szybkością wydzielania śliny zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej, którą stwierdzili w swoim badaniu Narhi i wsp. (146). Nie stwierdziłam również korelacji pomiędzy stężeniem lizozymu a stężeniem białka całkowitego zarówno w ślinie spoczynkowej jak i stymulowanej. Z moich badań wynika, że lizozym jest stałym parametrem śliny, którego stężenie w ślinie nie zmienia się istotnie podczas stymulacji mechanicznej niezależnie od czasu jej trwania.

Stężenie laktoferyny w ślinie a stymulacja mechaniczna

Sikorska i wsp. (184) badając 15-letnie dzieci (45 chłopców i 38 dziewczynek) stwierdzili, że stężenie laktoferyny w ślinie mieszanej spoczynkowej wynosiło średnio 5,16 µg/ml i nie różniło się w zależności od płci. Wartości te były podobne do stwierdzanych w ślinie spoczynkowej w pracy własnej. Ponadto autorzy pracy stwierdzili występowanie istotnej ujemnej korelacji pomiędzy stężeniem laktoferyny, a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej, której nie stwierdziłam w pracy własnej.

Almstahl i wsp. (2) oznaczali poziom laktoferyny w ślinie mieszanej u pacjentów zdrowych oraz ze zmniejszonym wydzielaniem śliny. Autorzy badali ślinę spoczynkową oraz stymulowaną żuciem kostki parafiny przez 5-10 minut. Analizując uzyskane wyniki autorzy stwierdzili występowanie ujemnej istotnej statystycznie korelacji pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej a stężeniem laktoferyny w ślinie w obu grupach badawczych ($p < 0,0001$). Autorzy nie oceniali zależności występujących w ślinie spoczynkowej. Kirstila i wsp. (114) oceniali stężenie laktoferyny u 12-letnich dzieci w ślinie mieszanej stymulowanej, a następnie badania powtórzyli po upływie 2 lat. Autorzy stwierdzili istotny ($p < 0,001$) wzrost szybkości wydzielania śliny stymulowanej po dwóch latach badania oraz znamienne spadki poziomu laktoferyny z wartości 15,9 µg/ml do wartości 9,9 µg/ml ($p < 0,001$), co zdaniem autorów sugerowało występowanie ujemnej korelacji pomiędzy tymi parametrami. Autorzy stwierdzili ponadto istotną ujemną korelację pomiędzy stężeniem laktoferyny a ilością ubytków próchnicowych (114).

Narhi i wsp. (146) zbadali u osób obojga płci w wieku 76, 81 oraz 86 lat, poziom laktoferyny w ślinie mieszanej stymulowanej żuciem parafiny. Poziom laktoferyny oceniano metodą immunoenzymatyczną. Średnie wartości stężenia laktoferyny w ślinie

stymulowanej wynosiły 13,2 mg/l. Autorzy stwierdzili ponadto istotną ujemną korelację pomiędzy stężeniem laktoferyny a szybkością wydzielania śliny stymulowanej ($p < 0,01$). Wyniki dotyczące stężenia laktoferyny w ślinie mieszanej stymulowanej mechanicznie uzyskane zarówno przez Kirstila i wsp. (114) dla dzieci, jak i przez Narhi i wsp. (146) dla osób w podeszłym wieku, były znacznie wyższe niż uzyskane w badaniach własnych (Tabela X).

Olson i wsp.(151) zbadali poziom laktoferyny w ślinie mieszanej w trakcie 5-minutowej stymulacji żuciem kostki parafiny u osób niepalących (grupa I) i osób palących (grupa II i III). W grupie I, średnie stężenie laktoferyny wynosiło $20 \pm 2,0 \mu\text{g/ml}$, w grupie II $15 \pm 1,0 \mu\text{g/ml}$ oraz $14 \pm 1,0 \mu\text{g/ml}$ w grupie III. Analizując wyniki własne dotyczące stężenia laktoferyny w trakcie 5-minutowej stymulacji żuciem plastikowego krążka, stwierdziłam, że średnie stężenie tego białka wynosiło $3,4 \pm 2,0 \mu\text{g/ml}$ i było około 6-krotnie niższe w porównaniu do stężeń stwierdzonych przez Olsena i wsp. w grupie niepalących. Wartości te były także prawie 4-krotnie niższe niż stwierdzone w grupach palących papierosy (grupa II), lub rzucających nałóg palenia (grupa III). W tym przypadku rozbieżność wyników mogła wynikać z różnych metod badania laktoferyny – w pracy własnej zastosowano metodę ELISA, autorzy natomiast zastosowali metodę immunoelektroforetyczną opracowaną w 1972 roku przez Laurell, zmodyfikowaną przez Weeke w 1973.

W badaniach własnych, w grupie w której wydzielanie śliny stymulowano mechanicznie, nie stwierdziłam występowania istotnej zależności pomiędzy stężeniem laktoferyny a szybkością wydzielania śliny, zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej. Stwierdziłam natomiast istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy stężeniem laktoferyny a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej, podobnej korelacji nie stwierdziłam w przypadku śliny stymulowanej. Stężenie laktoferyny w ślinie stymulowanej było tym większe, im większe jej wartości stwierdzano w ślinie spoczynkowej, szczególnie dotyczyło to pierwszych 5 minut stymulacji oraz ostatnich 10 minut stymulacji.. Należy również podkreślić, że stężenie laktoferyny w ślinie stymulowanej mechanicznie (we wszystkich cyklach pobierania śliny) było istotnie niższe niż stężenie laktoferyny w ślinie spoczynkowej (Tabela X). Wyniki te sugerują, że laktoferyna jest bardziej labilnym czynnikiem obrony nieswoistej w ślinie niż lizozym.

Stężenie IgA w ślinie a stymulacja mechaniczna

Sikorska i wsp. (184) badając ślinę mieszaną spoczynkową u 38 dziewcząt i 45 chłopców w wieku ok. 15 lat., stwierdziły istotną ujemną korelację pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej a stężeniem IgA. Podobną korelację w przypadku stężenia

IgA w ślinie spoczynkowej i szybkością wydzielania śliny, stwierdziłam w pracy własnej (Tabela XI). Autorki nie badały zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej a poziomem IgA. Kirstila i wsp. (114) zbadali stężenie IgA w ślinie mieszanej stymulowanej u 12-letnich dzieci, a następnie badania to powtórzyli po upływie 2 lat. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzili, że poziom IgA nie uległ istotnym zmianom, przy jednoczesnym istotnym ($p < 0,001$) wzroście szybkości wydzielania śliny stymulowanej, co sugerowało zdaniem autorów występowanie braku zależności pomiędzy tymi parametrami. Ponadto u badanych autorzy stwierdzili wraz ze wzrostem liczby ubytków próchnicowych, istotny wzrost przeciwciał anty-S.mutans ($p < 0,006$). Narhi i wsp. (146) zbadali poziom IgA w ślinie mieszanej stymulowanej żuciem parafiny u osób obojga płci w wieku 76, 81 oraz 86 lat. Poziom IgA autorzy oceniali metodą immunoenzymatyczną. Średnie wartości stężenia IgA w całej grupie badawczej wynosiły 52,6 mg/l, przy czym autorzy stwierdzali istotnie wyższe stężenie IgA u kobiet niż u mężczyzn ($p < 0,02$). Pomiedzy stężeniem IgA w ślinie stymulowanej a szybkością jej wydzielania, występowała istotna ujemna korelacja ($p < 0,001$). Proctor & Carpenter (163) oceniali wpływ stymulacji mechanicznej na stężenie IgA w ślinie wydzielanej przez ślinianki przyuszne. W badaniu uczestniczyło 5 ochotników w wieku od 22 do 40 lat. Wydzielanie śliny stymulowano żuciem plastikowego krążka, a próbki śliny pobierano 12-krotnie podczas całego badania, przy czym ślinę spoczynkową pobierano na początku i na końcu badania. Autorzy stwierdzili, iż stężenie IgA w stymulowanej ślinie pobieranej z przyusznic w początkowej fazie żucia nie różniło się istotnie od stężenia IgA w ślinie spoczynkowej, natomiast wraz z wydłużaniem czasu trwania stymulacji stopniowo spadało ($p < 0,002$). Autorzy zauważyli ponadto zależność pomiędzy stężeniem białka całkowitego a stężeniem IgA, oba te parametry zmieniały się podobnie podczas stymulacji.

W przeprowadzonych badaniach własnych dotyczących wpływu stymulacji o charakterze mechanicznym na stężenie IgA w ślinie mieszanej stwierdziłam, że stężenie IgA w ślinie stymulowanej przez cały okres stymulacji było istotnie niższe od stężenia IgA w ślinie spoczynkowej. Poziom stężenia IgA w ślinie stymulowanej istotnie wzrastał wraz ze wzrostem stężenia IgA stwierdzanym w ślinie spoczynkowej (istotna korelacja dodatnia). Nie stwierdziłam istotnej statystycznie tendencji spadkowej w stężeniu IgA wraz z czasem trwania stymulacji, którą zauważyli Proctor & Carpenter (163). Rozbieżności w uzyskanych przeze mnie i autorów (163) wynikach mogły być spowodowane różnicami metodologicznymi – autorzy badali ślinę gruczołową w trakcie 8,5-minutowej stymulacji. Oprócz korelacji pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej a stężeniem w niej

IgA, stwierdziłam również istotną korelacją o charakterze ujemnym pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej a stężeniem IgA, na początku badania oraz po 10 i 25 minutach stymulacji, co jest zgodne z wynikami badań Narhi i wsp. (146). Natomiast średnie wartości IgA w ślinie stymulowanej przedstawione przez tych autorów są 2- i 3-krotnie niższe niż uzyskałam w moich badaniach (Tabela XI). W badaniach stwierdziłam także występowanie korelacji o charakterze dodatnim pomiędzy stężeniem IgA a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej oraz w ślinie stymulowanej, co pokrywa się z obserwacjami Proctora i Carpentera, które dotyczyły śliny gruczołowej przyuszcniczej (163).

2. Zmiany właściwości i składu śliny stymulowanej chemicznie z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji

W badaniach oceniających potencjał stymulacyjny różnych czynników chemicznych autorzy stosowali roztwory kwasu cytrynowego (63,75,130,148,202) chlorku sodu, cukru, czy siarczku bromu (63,148). W badaniach z kwasem cytrynowym najczęściej wykorzystywano roztwory 2% (75,130,202), 3% (148) lub 4% roztwór kwasu (63), podawane na grzbietową powierzchnię języka. Autorzy oceniali szybkość wydzielania śliny stymulowanej chemicznie w różnych przedziałach czasowych. Newbrun (148) w swoim doświadczeniu oceniającym potencjał stymulacyjny różnych substancji chemicznych, stymulował wydzielanie śliny kwasem cytrynowym przez 5 minut. Doświadczenie przeprowadzone przez Engelen i wsp. (63) również trwało zaledwie 5 minut. Natomiast badanie Ghezzi i wsp.(75) trwało aż 6 godzin, podczas których pobrano 16 próbek śliny stymulowanej, przy czym sam harmonogram pobierania próbek był skomplikowany i nie powielany w badaniach innych autorów. Autorzy w badaniach wykorzystywali głównie ślinę gruczołową, zarówno ze ślinianek przyuszcnych (75,130,148,202), jak i podżuchwowych (75,202), nieliczni tylko oceniali ślinę mieszaną (63). Badania przeprowadzono w różnych grupach wiekowych o różnej liczebności. Ghezzi i wsp. (75) podzielili 36 uczestników badania na 2 grupy wiekowe: I grupa: 20-38 lat (n=18), II grupa: 60-77 lat (n=18), uwzględniając podział na płeć. W badaniu Tylanda i wsp. (202) wzięło udział aż 90 ochotników w wieku od 26 do 93 lat. Badanych podzielono na 3 grupy wiekowe: osoby młode ≤ 39 lat (I grupa), osoby w średnim wieku 40-59 lat (II grupa), osoby starsze ≥ 60 lat (III grupa). W badaniu Losso i wsp. (130), natomiast wzięło udział 20 uczestniczek w wieku 17-33 lata.

Szybkość wydzielania śliny a stymulacja chemiczna

Engelen i wsp. (63) stymulując wydzielanie śliny mieszanej przez 5 minut nie stwierdzili istotnej statystycznie korelacji pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej kwasem cytrynowym. Tylenda i wsp. (202) badając wydzielanie śliny przyuszcniczej stwierdzili, iż w każdym przypadku szybkość wydzielania śliny spoczynkowej była niższa od szybkości wydzielania śliny stymulowanej. Nie odnotowali natomiast istotnych różnic w szybkości wydzielania śliny spoczynkowej oraz stymulowanej pomiędzy poszczególnymi grupami wiekowymi, powyższe różnice nie występowały również pomiędzy kobietami i mężczyznami.

W pracy własnej, szybkość wydzielania śliny stymulowanej 2% kwasem cytrynowym w każdym przypadku była niższa od szybkości wydzielania śliny spoczynkowej. Obserwując badanych w trakcie trwania doświadczenia stwierdziłam w każdym cyklu pobierania śliny znaczny wzrost szybkości wydzielania śliny wyłącznie w momencie aplikacji 2% kwasu cytrynowego na grzbietową powierzchnię języka, po czym szybkość wydzielania śliny spadała, co sugerowało wystąpienie efektu wysuszającego a nie stymulującego. Skutkiem tego, średnia wartość szybkości wydzielania śliny stymulowanej dla 5-minutowego cyklu była każdorazowo niższa niż w ślinie spoczynkowej. Nie stwierdziłam znamiennej statystycznie różnicy pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej niezależnie od czasu trwania stymulacji. Nie stwierdziłam również istotnej statystycznie zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej, niezależnie od cyklu jej pobierania (Tabela XII). Podobne wyniki badań uzyskali Losso i wsp. (130), którzy stwierdzili, że średnie wartości szybkości wydzielania śliny stymulowanej 2% kwasem cytrynowym były zbliżone do szybkości wydzielania śliny spoczynkowej. Ghezzi i wsp. (75) nie stwierdzili istotnych różnic w szybkości wydzielania śliny stymulowanej zarówno ze ślinianki przyuszcniczej jak i podżuchwowej w różnych grupach wiekowych i w odniesieniu do płci.

pH śliny oraz jej zdolności buforowe a stymulacja chemiczna

W przedstawianej pracy własnej stwierdziłam występowanie znamiennej dodatniej zależności pomiędzy wartością pH a szybkością wydzielania śliny mieszanej stymulowanej przez cały okres trwania stymulacji chemicznej kwasem cytrynowym. Stwierdziłam również dodatnią, znamiennej statystycznie zależność pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej a wartościami pH oznaczanymi w ślinie zarówno po jednej (poza cyklem V) jak i po pięciu minutach od dodania HCl do śliny. Nie stwierdziłam natomiast

istotnych zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny mieszanej stymulowanej a zdolnościami buforowymi tej śliny (Tabele XIII, XIV, XV).

Dodds i wsp. (55) badali wydzielanie śliny gruczołowej stymulowanej 2% roztworem kwasu cytrynowego, podawanym co 20 sekund na boczne powierzchnie języka. Ślinę pobierano bezpośrednio z ujścia ślinianki przyusznej. W badaniu uczestniczyło 39 mężczyzn i 46 kobiet w wieku 18-30 lat. Autorzy stwierdzili występowanie istotnej statystycznie korelacji ($p < 0,0001$) pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej a pH. Podobne wyniki uzyskałam w badaniach własnych wykonanych w ślinie mieszanej (Tabela XIII). Autorzy stwierdzili także występowanie istotnej korelacji ($p < 0,01$) pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej a zdolnościami buforowymi tej śliny (55). W moich badaniach podobna korelacja nie występowała (Tabela XV).

W dostępnym piśmiennictwie nie znalazłam więcej publikacji, które podnosiłyby problem wpływu stymulacji chemicznej kwasem cytrynowym na poziom pH i właściwości buforowe śliny mieszanej.

Stężenie jonów wapnia w ślinie a stymulacja chemiczna

Jednymi z nielicznych autorów, którzy badali zależność pomiędzy szybkością wydzielania śliny a stężeniem jonów wapnia w ślinie stymulowanej chemicznie i pobieranej ze ślinianek przyusznych byli Dodds i wsp. (55). Autorzy badali ślinę stymulowaną 2% roztworem kwasu cytrynowego, podawanego co 20 sekund na boczne powierzchnie języka. Ślinę pobierano bezpośrednio z ujścia ślinianki przyusznej. Autorzy stwierdzili brak zależności pomiędzy stężeniem jonów wapnia a szybkością wydzielania śliny stymulowanej w opisanych warunkach. W badaniach własnych, które przeprowadzałam w ślinie mieszanej, stwierdziłam występowanie istotnej korelacji o charakterze ujemnym pomiędzy stężeniem jonów wapnia a szybkością wydzielanej śliny stymulowanej pobieranej pomiędzy 5 a 10 minutą stymulacji ($p < 0,05$) oraz pomiędzy 20 a 25 minutą stymulacji ($p < 0,01$).

Blomfield i wsp. (18) oceniali wpływ wydłużonej stymulacji na stężenie nieorganicznych mikroelementów w ślinie przyuszczej. W badaniu wzięło udział 10 kobiet i 10 mężczyzn w wieku 22-36 lat. Wydzielanie śliny stymulowano podawaniem co 15 sekund 0,1ml 5% kwasu cytrynowego przez 10 minut trwania badania, natomiast ślina była zbierana co 2 minuty. Autorzy stwierdzili, że stężenie wapnia początkowo wysokie, często spadało do niskich wartości w trakcie badania, a następnie pod już koniec badania ponownie wzrastało. Te ewidentne zmiany występujące u poszczególnych osób nie były istotne statystycznie w całej grupie badawczej. Stężenie wapnia w ślinie wydzielanej przez śliniankę przyuszną mieściło się w granicach od 0,5 do 1,2 mM. Autorzy zauważyli, że wraz

z szybkością wydzielania śliny stymulowanej wzrastało stężenie wapnia, nie była to jednak zależność istotna statystycznie.

Veerman i wsp. (205) badali stężenie związków nieorganicznych w ślinie wydzielanej przez poszczególne gruczoły ślinowe. Od 5 ochotników pobrali ślinę przyuszną stymulowaną przez 15 minut 3% kwasem cytrynowym oraz ślinę spoczynkową wydzielaną przez śliniaki podżuchwowe i podjęzykowe. Autorzy stwierdzili, że średnie wartości stężeń wapnia w ślinie wydzielanej przez poszczególne ślinianki wynosiły: w ślinie stymulowanej przyuszniczej - 0,9 mM; w ślinie spoczynkowej podjęzykowej – 1,8 mM, a w ślinie spoczynkowej podżuchwowej - 1,5 mM. Autorzy nie oceniali zależności pomiędzy stężeniami jonów wapnia a szybkością wydzielania śliny przez poszczególne gruczoły. Uzyskane przez autorów wartości stężeń jonów wapnia w ślinie stymulowanej przyuszniczej były zbliżone do wartości uzyskanych w badaniach własnych w ślinie mieszanej po 15 minutach stymulacji, które średnio wynosiły 0,87 mM. Natomiast stężenie wapnia stwierdzane przez autorów w ślinie spoczynkowej wydzielanej przez gruczoły podjęzykowe i podżuchwowe były około dwukrotnie wyższe w porównaniu do wartości uzyskanych przez mnie w ślinie mieszanej spoczynkowej (Tabela XVI).

W dostępnym piśmiennictwie nie znalazłam więcej prac omawiających zagadnienie dotyczące wpływu stymulacji kwasem cytrynowym na stężenie jonów wapnia zarówno w ślinie mieszanej spoczynkowej jak i mieszanej stymulowanej.

Stężenie białka całkowitego w ślinie a stymulacja chemiczna

W badaniu Losso i wsp. (130) oceniającym wpływ stymulacji smakowej 5% kwasem cytrynowym na stężenie białka całkowitego w ślinie, udział wzięło 20 ochotniczek w wieku od 17 do 33 lat. Autorzy badali ślinę gruczołową przyuszną i stwierdzili, że najwyższe stężenie białka całkowitego występowało w ślinie spoczynkowej. Wraz z rozpoczęciem stymulacji, poziom białka spadał osiągając wartości minimalne po 9 minutach stymulacji kwasem, następnie powoli wzrastał, do wartości, które były zbliżone do tych stwierdzanych w ślinie spoczynkowej. Analizując wyniki pracy własnej stwierdziłam, iż stężenie białka całkowitego w ślinie stymulowanej, zbieranej 5-krotnie podczas nieprzerwanej 25-minutowej stymulacji chemicznej było niższe w porównaniu do stężeń białka całkowitego w ślinie spoczynkowej. Stwierdziłam również znamienne statystycznie różnice w stężeniach białka całkowitego w ślinie stymulowanej występujące pomiędzy poszczególnymi cyklami, czyli poziom białka całkowitego spadał wraz z czasem trwania stymulacji. (Tabela XVII). Stwierdziłam ponadto istotną statystycznie korelację o

charakterze dodatnim pomiędzy stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej a stężeniem białka w ślinie stymulowanej ($p < 0,001$). Nie stwierdziłam natomiast istotnej zależności pomiędzy stężeniem białka całkowitego a szybkością wydzielania śliny zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej niezależnie od cyklu pobierania śliny.

W dostępnym piśmiennictwie nie znalazłam więcej prac omawiających zagadnienie dotyczące wpływu stymulacji kwasem cytrynowym na stężenie białka całkowitego zarówno w ślinie mieszanej spoczynkowej jak i mieszanej stymulowanej.

Stężenie lizozymu w ślinie a stymulacja chemiczna

Związek pomiędzy szybkością wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej a stężeniem lizozymu zbadała Sikorska-Jaroszyńska M. i wsp. (186). W badaniu wzięło udział 40 kobiet i 46 mężczyzn w wieku ok. 17 lat. Od badanych pobrano wyłącznie ślinę spoczynkową. W analizie zależności między poziomem lizozymu w ślinie a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej, podobnie jak w badaniach własnych, autorki nie zaobserwowały istotnych korelacji, poziom lizozymu praktycznie nie zmieniał się wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny spoczynkowej (186). Podobne badanie oceniające aktywność lizozymu w ślinie mieszanej spoczynkowej przeprowadzili Zajączkowska-Białowas i wsp. (223). Badaniem objęto 118 osób obojga płci, w wieku od 14 do 40 lat, Autorki nie stwierdziły występowania istotnej zależności pomiędzy stężeniem lizozymu a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej.

W badaniu Yeh i wsp. (219) wzięły udział dwie grupy ochotników w różnym wieku. Do pierwszej grupy zakwalifikowano osoby w wieku od 34 do 64 lat, w drugiej grupie znalazły się osoby powyżej 65 roku życia. Od każdego z uczestników pobrano ślinę spoczynkową oraz stymulowaną przyuszcniczą i podjęzykowo-podżuchwową. Wydzielanie śliny stymulowano co 30 sekund podawaniem na język 2% kwasu cytrynowego. Analizując uzyskane wyniki badań Yeh i wsp. (219) wykazali istnienie ujemnej korelacji pomiędzy poziomem lizozymu a szybkością wydzielania śliny stymulowanej z przyusznicy ($p < 0,001$) oraz z szybkością wydzielania śliny stymulowanej ze ślinianki podżuchwowej i podjęzykowej ($p < 0,0001$). Autorzy w swoich badaniach nie uwzględnili analizy zależności pomiędzy lizozymem a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej (219).

Stężenie lizozymu w ślinie przyuszcniczej stymulowanej chemicznie (czynnik stymulujący ang. pep-o-mint lifesavers) w grupie 44 ochotników, studentów pierwszego roku stomatologii oceniali Rudney i Smith (167). Autorzy stwierdzili, że średnie wartości stężeń lizozymu w stymulowanej przyuszcniczej ślinie (wydzielanej z szybkością $0,2 \pm 0,15$ ml/min) wynosiły $4,35 \pm 4,3$ $\mu\text{g/ml}$ śliny. W pracy własnej, w której badałam ślinę mieszaną

stymulowaną kwasem cytrynowym, stwierdziłam (przy szybkości wydzielania śliny $0,67 \pm 0,25$ ml/min), iż stężenie lizozymu utrzymywało się na poziomie $2,3 \pm 1,8$ $\mu\text{g/ml}$ w trakcie 5 pierwszych minut stymulacji. Na podobnym poziomie utrzymywało się do dwudziestej minuty stymulacji, natomiast między 20 a 25 minutą stymulacji stężenie lizozymu wzrastało do wartości $4,5 \pm 1,7$ $\mu\text{g/ml}$ (przy szybkości wydzielania śliny równej $0,75 \pm 0,44$ ml/min). Autorzy, którzy zastosowali inny niż kwas cytrynowy czynnik stymulujący wydzielanie śliny, osiągnęli niższe wartości szybkości wydzielania śliny stymulowanej. Nie zbadali przy tym, czy występują zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny a stężeniem lizozymu.

Stężenie lizozymu w ślinie stymulowanej kwasem cytrynowym, przez 20 minut stymulacji było istotnie niższe niż stężenie lizozymu w ślinie spoczynkowej. Dopiero w 20 minutach stymulacji istotnie wzrosło do poziomu stwierdzanego w ślinie spoczynkowej (Tabela XVIII). Uzyskane dane sugerują, że lizozym w przypadku stymulacji kwasem cytrynowym nie jest tak stabilnym parametrem jak w przypadku stymulacji mechanicznej. Natomiast podobnie jak w przypadku stymulacji mechanicznej, nie stwierdziłam korelacji pomiędzy stężeniem lizozymu, a szybkością wydzielania śliny mieszanej stymulowanej, jak również pomiędzy stężeniem lizozymu a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Nie stwierdziłam także korelacji pomiędzy stężeniem lizozymu a stężeniem białka całkowitego. Istotna statystycznie korelacja występowała pomiędzy stężeniem lizozymu w ślinie spoczynkowej a stężeniem lizozymu w ślinie stymulowanej, co sugeruje, że stężenie lizozymu w ślinie spoczynkowej wpływa istotnie na stężenie lizozymu w ślinie stymulowanej.

Stężenie laktoferyny w ślinie a stymulacja chemiczna

Stężenie laktoferyny w ślinie przyuszczej stymulowanej chemicznie (pep-o-mint lifesavers) oceniali wcześniej wspomniani Rudney i Smith (167). Autorzy stwierdzili, że średnie wartości stężeń laktoferyny w ślinie stymulowanej (wydzielanej z szybkością $0,2 \pm 0,15$ ml/min) wynosiły $4,7 \pm 4,7$ $\mu\text{g/ml}$. W pracy własnej oceniającej ślinę mieszaną, (przy szybkości wydzielania śliny stymulowanej chemicznie równej $0,67 \pm 0,25$ ml/min) stwierdziłam, iż stężenie laktoferyny utrzymywało się na poziomie $6,2 \pm 5,1$ $\mu\text{g/ml}$ w trakcie 5 pierwszych minut stymulacji. Autorzy zastosowali inny czynnik stymulujący wydzielanie śliny, osiągnęli niższe wartości szybkości wydzielania śliny stymulowanej. W swoim badaniu nie oceniali zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny a stężeniem laktoferyny. Autorzy badali stężenie laktoferyny metodą immunoelektroforezy natomiast w badaniu własnym zastosowano metodę ELISA.

Uzyskane wyniki badań własnych sugerują, że w przypadku stymulacji kwasem cytrynowym, laktoferyna jest bardziej stabilnym parametrem, niż gdy wydzielanie śliny stymulowano mechanicznie. Analizując wpływ stymulacji chemicznej na poziom laktoferyny stwierdziłam występowanie istotnej ujemnej korelacji pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej a stężeniem laktoferyny na początku badania przez pierwsze 5 minut oraz pomiędzy 10 a 20 minutą stymulacji. Nie stwierdziłam natomiast występowania istotnej statystycznie zależności pomiędzy stężeniem laktoferyny a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Podobnie jak podczas stymulacji o charakterze mechanicznym, stwierdziłam istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy stężeniem laktoferyny a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej. Podobna korelacja występowała również po 20 minutach stymulacji (Tabela XIX).

Stężenie IgA w ślinie a stymulacja chemiczna

Miletic i wsp. (144) zbadali 48 ochotników, w dwóch grupach badawczych, podzielonych ze względu na wiek uczestników następująco: 20-30 lat (grupa 1), 60-80 lat (grupa 2). Badanie dotyczyło śliny spoczynkowej mieszanej. Analizując wyniki badań dotyczących śliny spoczynkowej autorzy nie stwierdzili korelacji pomiędzy stężeniem IgA a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej. Stwierdzili natomiast występowanie zależności o charakterze korelacji ujemnym pomiędzy wahaniami szybkości wydzielania śliny spoczynkowej, zależnymi od stanu emocjonalnego badanych a stężeniem IgA. Z wcześniej wybranych grup autorzy wyłonili dwie osoby, od których pobrano również ślinę stymulowaną 2% kwasem cytrynowym. W przypadku śliny stymulowanej autorzy stwierdzili, iż krótka stymulacja wydzielania śliny istotnie wpływała na spadek stężenia IgA. Również dwóch uczestników poddano badaniu, które miało ocenić wpływ krótkotrwałego intensywnego wysiłku fizycznego na stężenie IgA. Autorzy stwierdzili istotny spadek stężenia IgA w ślinie spoczynkowej pobranej po 1-godzinnym wysiłku w porównaniu do stężenia IgA w ślinie pobranej przed ćwiczeniami fizycznymi.

Seemann i wsp. (178) badając poziom immunoglobuliny IgA wydzielanej przez ślinianki przyuszne, podżuchwowe i podjęzykowe w odpowiedzi na eksperymentalnie wywołane zapalenie dziąseł zbadali 14 mężczyzn w wieku 27 lat. Od każdego z uczestników pobrali ślinę spoczynkową oraz stymulowaną kwasem cytrynowym przez kolejne 12 dni badania. Autorzy stwierdzili występowanie wyższych stężeń IgA w ślinie spoczynkowej w porównaniu do śliny stymulowanej, zarówno przyuszczej, podżuchwowej jak i podjęzykowej. Największe różnice występowały w przypadku śliny wydzielanej przez ślinianki przyuszne. Autorzy nie oceniali natomiast istotności tych

różnic oraz korelacji pomiędzy tymi parametrami. Istotny statystycznie wzrost stężenia IgA w porównaniu do wartości wyjściowych autorzy stwierdzili w ślinie stymulowanej przyusznicznej po 6 i 12 dniach eksperymentu. Zmiana ta nie dotyczyła śliny spoczynkowej. Istotne zmiany w stężeniach IgA nie dotyczyły również śliny wydzielanej przez ślinianki podżuchwowe i podjęzykowe. Autorzy nie stwierdzili ponadto istotnych statystycznie różnic w stężeniach IgA u ochotników z niewielkim i znacznego stopnia zapaleniem dziąseł.

Analizując wyniki badań własnych stwierdziłam podobnie jak Miletic i wsp. (144) występowanie ujemnej, istotnej statystycznie korelacji pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej oraz stymulowanej chemicznie a stężeniem IgA. W przeciwieństwie do cytowanych autorów (144) stwierdziłam ponadto zależność pomiędzy stężeniem IgA a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej i była to korelacja o charakterze dodatnim ($p < 0,01$). Powyższej korelacji nie stwierdziłam w przypadku śliny stymulowanej. Stwierdziłam ponadto, iż stężenie IgA w ślinie spoczynkowej wpływało na stężenie IgA w ślinie stymulowanej, była to korelacja o charakterze dodatnim utrzymująca się przez cały czas trwania stymulacji, czyli 25 minut. Stężenie IgA w ślinie stymulowanej było ok. dwukrotnie niższe w porównaniu do stężenia IgA stwierdzanego w ślinie spoczynkowej (Tabela XX). Podobną tendencję zauważyli Seermann i wsp. (178) mimo, że badali wyłącznie ślinę gruczołową.

3. Zmiany właściwości i składu śliny stymulowanej mechaniczno-chemicznie żuciem gumi z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji.

Właściwości gumi do żucia jako czynnika stymulującego wydzielanie śliny były przedmiotem licznych publikacji. Ten czynnik stymulacyjny łączy w sobie efekt stymulacji mechanicznej i chemicznej, dlatego też w wielu badaniach wykorzystywano gumi o różnym składzie, smaku, masie oraz twardości porównując przy tym ich właściwości nie tylko jako czynnika stymulującego, ale również mającego wpływ na stan zdrowia i higieny jamy ustnej (5,30,40,42,56,138,169). Badania porównawcze dotyczące wpływu różnych bodźców stymulujących, czyli kwasu cytrynowego, zapachu wanilii, zapachu mięty, żucia kostki parafiny na szybkość wydzielania śliny prowadzili Engelen i wsp. (63). Wykazali oni istotną różnicę w szybkości wydzielania śliny stymulowanej w zależności od stosowanych bodźców. Najwyższe wartości uzyskano podczas stymulacji kwasem cytrynowym, niższe w przypadku żucia kostki parafiny oraz w przypadku działania bodźcami zapachowymi.

Uzyskane wyniki odnoszono do śliny spoczynkowej, której szybkość wydzielania była najniższa. W innych badaniach porównawczych, Jensen i wsp. (98) oceniając szybkość wydzielania śliny oraz pH podczas stymulacji żuciem kostki parafiny i gumy stwierdzili, że występujące zmiany w ślinie były porównywalne, niezależnie od rodzaju stymulacji. Autorzy stwierdzili bowiem, że guma do żucia zawiera wprawdzie substancje smakowe, ale ich stężenie zmniejsza się wraz z upływem czasu (osłabiona stymulacja smakowa), ponadto traci ona swoją twardość oraz objętość. Stwierdzono, że guma o wyjściowej wadze 1,5 g, traciła po 1 minucie żucia 0,5 g, a po 21 minutach żucia następne 0,4 g, co mogło zmniejszać jej potencjał stymulacyjny w aspekcie stymulacji mechanicznej. Finn (68), którego liczne badania dotyczą gumy do żucia, za główną jej zaletę uznał fakt, iż żucie gumy doskonale stymuluje wydzielanie śliny, która ma właściwości oczyszczające zarówno tkanki twarde zębów jak i tkanki miękkie znajdujące się w jamie ustnej. Jego zdaniem istnieje również możliwość kontroli szybkości uwalniania składników leczniczych. Jako, że guma nie jest połykana, składniki aktywne przez dłuższy czas znajdują się w jamie ustnej, więc ich czas bezpośredniego działania też jest wydłużony. Może mieć to istotne znaczenie w przypadku remineralizacji szkliwa. Zdaniem autora gumy smakowe zawierające olejki aromatyczne mogą mieć działanie antyenzymatyczne oraz maskujące nieprzyjemny zapach z jamy ustnej.

W ostatnich latach zaleca się żucie bezcukrowej gumy w celu utrzymania zdrowia jamy ustnej, hamowania powstawania ubytków próchnicowych oraz kontroli płytki nazębnej. Dodawanie do gumy do żucia czynników aktywnych tj: enzymów, czynników abrazyjnych, czy jonów metali ma zwiększyć hamowanie powstawania płytki nazębnej. Do gumy do żucia dodaje się np. laktoperoksydazę aby zwiększyć właściwości antybakteryjne śliny. Innym składnikiem dodawanym do gumy do żucia jest dwutlenek krzemu - SD (*ang. silicon dioxide*), czyli substancja dodawana do past do zębów ze względu na swoje właściwości fizyczno-chemiczne zwiększające efektywność mycia zębów. Do gumy dodaje się także jony cynku, które mają hamować odkładanie się płytki nazębnej. W ostatnich latach popularnością cieszą się gumy do żucia zawierające w swoim składzie nikotynę o różnym stężeniu, które mają za zadanie ułatwić proces rzucania nałogu palenia papierosów (151). Należy zaznaczyć, że stosowanie w celach prozdrowotnych bezcukrowych gum do żucia wymaga przestrzegania określonych zasad, do których należą m.in. rozpoczynanie czynności żucia do 10 minut po skończonym posiłku, jednorazowy czas żucia nie dłuższy niż 10-20 minut, również łączny czas żucia gumy w ciągu dnia nie powinien być zbyt długi. Nie powinno się żuć gumy zbyt często w przypadku gdy zawiera ksylitol, który może

podrażniać przewód pokarmowy. Nieprzestrzeganie tych zasad eliminuje efekt profilaktyczny żucia gumy bez cukru, a samą czynność czyni szkodliwym nawykiem, który może prowadzić do powstania para funkcji zgryzowych, przerostu mięśni żucia, rozwoju bruksizmu, czy patologicznego starcia zębów.

Należy podkreślić, że przy stosowaniu bezcukrowej gumy do żucia w profilaktyce próchnicy istotną rolę odgrywa częstość jej żucia (164). W badaniu Leach i wsp. (122), oceniającym potencjalne zalety gumy do żucia jako czynnika remineralizującego niewielkie ubytki próchnicowe w szkliwie, wzięło udział 20 chętnych osobników, podzielanych na dwie grupy. Pierwsza grupa otrzymała gumę do żucia zawierającą sorbitol, którą żuli przez 20 min po każdym z 3 posiłków dziennie i po 2 chipsach cukrowych - badanie trwało 3 tygodnie. Druga grupa nie otrzymała żadnej gumy, ale zalecenia dotyczące jedzonych posiłków i chipsów były podobne, badanie również trwało 3 tygodnie. W obu grupach były wykonywane normalne codzienne zabiegi higienizacji z użyciem pasty do zębów zawierającej fluor. Dokładna analiza z użyciem mikroradiografii zawartości minerałów oraz powstałych zmian, wyglądających jak ubytki próchnicowe na szkliwie wykazała istotny wzrost stężenia minerałów w grupie żującej gumę.

Guma do żucia może być uważana również za unikalny rodzaj pożywienia, ponieważ znajduje się w jamie ustnej przynajmniej przez okres 30 minut, a uwalniane z niej kalorie są nieliczne (13). Ta unikalna kompozycja jej cech sprawia, że guma do żucia może być wykorzystywana jako niskokaloryczny dodatek do diety u osób z zaburzonym wydzielaniem śliny, szczególnie, że jak podają autorzy zaobserwowano zwiększone wydzielanie śliny podczas przedłużonego żucia (39,40,138,5,160,42,56).

Na podstawie dostępnego piśmiennictwa można jednak stwierdzić, że nadal pozostają niewyjaśnione aspekty wpływu długoterminowego i krótkoterminowego żucia gumy na wydzielanie śliny zarówno gruczołowej jak i mieszanej, jej właściwości i skład.

Żucie gumy a szybkość wydzielania śliny

Większość badań dotycząca wpływu żucia gumy na wydzielanie śliny była przeprowadzana w dłuższym niż 5-minutowa stymulacja odcinku czasowym i dotyczyła przede wszystkim śliny mieszanej. W jednym z pierwszych badań Dawes & Dong (40) stymulowali wydzielanie śliny żuciem bezcukrowej gumy przez 20 minut. W kolejnym badaniu Dawes & Kubieniec (42) oceniali wpływ żucia gumy przez 120 minut na szybkość wydzielania śliny oraz jej skład. Polland i Higgins (160) podobne badanie prowadzili przez 90 minut. Chow i wsp. (30) w ciągu jednego badania trwającego około 20 minut zbierali ślinę stymulowaną 8-krotnie, każdorazowo przez okres 2 minut. Przez podobny okres czasu

(czyli 20 minut) wydzielanie śliny stymulowanej żuciem gumy oceniane było przez Dong'a i wsp (56). W badaniu Anderson & Orchardson (5) wydzielanie śliny mieszanej było stymulowane gumą do żucia przez okres 60 minut, przy czym przez pierwsze 30 minut uczestnicy żuli bezcukrową gumę, przez kolejne 30 minut gumę zawierającą dwuwęglan sodu. Pobieranie śliny stymulowanej żuciem gumy w badaniu Yamamoto i wsp. (217) trwało 10 minut. Natomiast badanie Manton i wsp. (138) trwało najkrócej (uczestnicy badania żuli gumę przez 5 min), ale procedura była powtarzana czterokrotnie w ciągu dnia przez 14 kolejnych dni.

Liczebność grup i przedział wiekowy oraz płeć uczestników w poszczególnych badaniach różniły się istotnie, przy czym przeważały osoby z pełnym uzębieniem. W badaniu Chow i wsp. (30) uczestniczyły 4 kobiety i 4 mężczyzn (średnia wieku 37 lat). W badaniu Manton i wsp. (138) i Dawes & Kubieniec (42) wzięło udział po 10 osób (odpowiednio 6 mężczyzn i 4 kobiety oraz 5 mężczyzn i 5 kobiet w wieku od 23 do 66 lat). Grupy o podobnej liczebności i przedziale wiekowym wzięły udział w doświadczeniach Dawesa & Donga (40) oraz Donga i wsp. (56) (12 uczestników: 6 kobiet, 6 mężczyzn, w wieku od 21 do 57 lat). Grupę 11 kobiet i 9 mężczyzn w wieku od 18 do 35 lat zbadali Anderson & Orchardson (5). W badaniu Polland i wsp. (160) oceniającym wpływ długoterminowego żucia gumy na szybkość wydzielania śliny uczestniczyło 15 kobiet i 13 mężczyzn w wieku od 18 do 35 lat. Najliczniejsza grupa 200 uczestników (100 kobiet i 100 mężczyzn) w wieku 22-29 lat wzięła udział w badaniu Yamamoto i wsp. (217).

Analizując uzyskane przez tych autorów wyniki można jednoznacznie stwierdzić, iż niezależnie od czasu trwania stymulacji, w każdym przypadku szybkość wydzielania śliny mieszanej stymulowanej żuciem gumy, była wyższa od szybkości wydzielania śliny spoczynkowej (5,30,40,138,217). Dawes i wsp. (42) stwierdzili, że nawet po 120 minutach stymulacji żuciem gumy, szybkość wydzielania śliny była wyższa od szybkości wydzielania śliny spoczynkowej. Zauważyli jednak, że w czasie trwania stymulacji szybkość wydzielania śliny stymulowanej znacznie wzrastała tylko na samym początku badania (do 4,5 ml/min), następnie w ciągu pierwszych 40 minut stymulacji powoli spadała, przy czym były to nadal wartości równe 0,94 ml/min, czyli nadal około dwukrotnie wyższe od stwierdzanych w ślinie spoczynkowej t.j. od 0,39 ml/min. Należy zaznaczyć, że na tak wysokim poziomie szybkość wydzielania śliny stymulowanej utrzymywała się do końca badania, trwającego jeszcze przez 80 minut. W innym badaniu w trakcie 20-minutowej stymulacji Dawes i wsp. (40) zaobserwowali, że szybkość wydzielania śliny była najwyższa

w pierwszej minucie po rozpoczęciu badania, a następnie spadała, ale do końca badania była wyższa od szybkości wydzielania śliny spoczynkowej.

Wyniki badań własnych, w których wydzielanie śliny stymulowano żuciem gumy przez 120 minut wskazują, że na każdym etapie pobierania śliny stymulowanej (czyli po 5, 25, 55, 85 i 115 minutach stymulacji) szybkość jej wydzielania była istotnie wyższa od szybkości wydzielania śliny spoczynkowej. Należy podkreślić, że średnia szybkość wydzielania śliny stymulowanej na początku badania była ponad 2-krotnie wyższa od szybkości wydzielania śliny spoczynkowej, a pod koniec badania była prawie 3-krotnie wyższa od śliny spoczynkowej (Tabela XXI).

Chow i wsp. (30) stwierdzili, iż bez względu na skład wykorzystanych gum do żucia, szybkość wydzielania śliny stymulowanej 20-minutowym żuciem była istotnie statystycznie wyższa od szybkości wydzielania śliny spoczynkowej. Podobne wnioski na podstawie przeprowadzonego badania wyciągnęli Manton i wsp. (138). Stwierdzili oni, że średnia szybkość wydzielania śliny stymulowanej 5-minutowym żuciem gumy była trzykrotnie wyższa od szybkości wydzielania śliny spoczynkowej. Nie odnotowano istotnych różnic w potencjale stymulacyjnym pomiędzy poszczególnymi rodzajami gum wykorzystanymi w badaniu.

Jensen i wsp. (98) w swoim badaniu oceniającym efektywność żucia gumy i parafiny jako bodźców stymulujących, zbadali 2 kobiety i 6 mężczyzn w wieku od 25 do 45 lat. Ślinę zbierano 4-krotnie, w godzinach porannych i każdorazowo była to ślina stymulowana mieszana oraz ślina stymulowana pobierana bezpośrednio z ujścia ślinianki przyusznej. Ślinę stymulowaną zbierano w dwóch cyklach, w pierwszej kolejności ślinę mieszaną stymulowaną przez 6 minut, w drugiej części badania ślinę stymulowaną gruczołową przez 21 minut. W obu badaniach wydzielanie śliny stymulowano zarówno żuciem gumy jak i parafiny. Pierwsza część badania, obejmująca ślinę mieszaną, miała za zadanie porównać potencjał stymulacyjny gumy i parafiny oraz ich wpływ na szybkość wydzielania śliny. Na podstawie obserwacji dotyczących szybkości wydzielania śliny autorzy stwierdzili, iż guma do żucia w początkowym okresie po rozpoczęciu stymulacji ze względu na zawarte w niej substancje smakowe posiadała większy potencjał stymulacyjny od parafiny. Gdy guma do żucia traciła swoje właściwości fizyczne (twardość, kształt), to wtedy parafina stawała się lepszym stymulatorem i w większym stopniu wpływała na odpowiedź ślinianek na stymulację. Oceniając ślinę stymulowaną przyuszną autorzy stwierdzili, że z wyjątkiem pierwszych 6 minut badania, szybkość wydzielania śliny stymulowanej parafiną była wyższa od szybkości wydzielania śliny stymulowanej żuciem gumy (98). Anderson &

Orchardson (5) stwierdzili, że średnia szybkość wydzielania śliny stymulowanej niezależnie od użytej gumy była wyższa od spoczynkowej w trakcie całego badania, ale różnice te były istotne statystycznie tylko w ciągu pierwszych 15 minut stymulacji. Polland i wsp. (160), których badanie trwało 90 minut uzyskali podobne wyniki jak w przedstawionych powyżej pracach innych autorów (98,138,42,217). Stwierdzili jednak, że każdorazowo największe wydzielanie śliny występowało w ciągu pierwszych dwóch minut żucia świeżego listka gumy. Wprawdzie średnia szybkość wydzielania śliny stymulowanej była przez cały okres badania wyższa w porównaniu do śliny spoczynkowej, ale różnica była istotna statystycznie ($p < 0,05$) tylko do 55 minuty badania, natomiast całe badanie trwało 90 minut. Zdaniem tych autorów (160) początkowy wzrost szybkości wydzielania śliny podczas żucia gumy zależał zarówno od stymulacji smakowej jak i mechanicznej, natomiast obserwowany przez nich wraz z trwaniem żucia spadek wydzielania śliny, spowodowany był zmianami właściwości gumy. Należy wziąć pod uwagę, że w trakcie żucia guma traci swoje właściwości smakowe, jej masa może spaść nawet do 70% masy wyjściowej, staje się również bardziej miękka, co obniża potencjał mechanicznej stymulacji. Natomiast spadek szybkości wydzielania nie wydaje się być zależny od zmęczenia gruczołów ślinowych, co sugerują również moje badania, w których zmieniałam gumę do żucia co 30 minut. Podanie świeżej gumy do żucia powodowało każdorazowo zwiększanie wydzielania prawie identyczne z wydzielaniem przy rozpoczęciu badania i utrzymywało się na podobnym poziomie (Tabela XXI). Yamamoto K i wsp. (217) stwierdzili istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej żuciem przez 10 minut bezsmakowej gumy. Powyższa korelacja występowała zarówno u kobiet jak i mężczyzn ($p < 0,0001$). W badaniu własnym nie stwierdziłam występowania korelacji pomiędzy szybkością wydzielania śliny spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej żuciem gumy w żadnym z cykli pobierania śliny w trakcie stymulacji (Tabela XXI).

Kaczmarek i wsp. (203) przeprowadziły badanie oceniające wpływ dropsów bezcukrowych na szybkość wydzielania śliny mieszanej. Dropsy te można zaliczyć do grupy czynników stymulujących o charakterze mechaniczno-chemicznym. W badaniu auterek wzięło udział 40 ochotników obojga płci, w wieku 21-25 lat. Ślinę pobierano 4-krotnie: w pierwszym etapie ślinę spoczynkową, w drugim etapie ślinę stymulowaną żuciem i ssaniem dropsa, w trzecim etapie ślinę po 15 minutach od zakończenia ssania dropsa, w czwartym etapie po 30 minutach od zakończenia ssania dropsa. Autorki stwierdziły istotny ($p < 0,01$) wzrost szybkości wydzielania śliny w drugim etapie badania o 150%

($x=0,99\pm 0,71$ ml/min) w porównaniu do szybkości wydzielania śliny spoczynkowej pobieranej na początku badania ($x=0,39\pm 0,24$ ml/min). Również po 15 minutach od zaprzestania ssania dropsów widoczny był nadal utrzymujący się wzrost szybkości wydzielania śliny t.j. do wartości $0,59\pm 0,60$ ml/min, czyli o około 50% wyższej w porównaniu z wydzielaniem spoczynkowym ($x=0,48\pm 0,41$ ml/min), a po upływie dalszych 15 minut (czyli 30 minut od zaprzestania żucia cukierka) wzrost ten wynosił około 22% w porównaniu z szybkością wydzielania śliny spoczynkowej (203). Uzyskane przez autorki wartości szybkości wydzielania śliny zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej były nieznacznie niższe od wartości uzyskanych w badaniach własnych. Podobnie jak autorki stwierdziłam istotną statystycznie różnicę pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej żuciem gumy przez pierwsze 5 minut w porównaniu do śliny spoczynkowej ($p<0,05$) (Tabela XXI).

Analizując wpływ czynników stymulujących na wydzielanie śliny należy wziąć pod uwagę również czas trwania stymulacji. Efektem długoterminowego żucia gumy na wydzielanie śliny spoczynkowej oraz stymulowanej zainteresowali się Jenkins & Edgar (97). Uzyskane przez nich wyniki sugerują, iż wzmożone, długotrwałe żucie gumy może doprowadzić do zwiększonego wydzielania śliny spoczynkowej szczególnie u osób z wyjściowym niższym, niż przyjmowanym za normę, wydzielaniem śliny. Dlatego też ich zdaniem docelowo żucie gumy może mieć istotne znaczenie w profilaktyce próchnicy zębów. Podobne badanie prowadził Dawes (48), który stwierdził jednak, że wydłużone żucie gumy nie ma istotnego wpływu na szybkość wydzielania śliny spoczynkowej. Uzyskane przez Dawes'a wyniki różnią się od wyników uzyskanych przez Jenkins & Edgar (97), na co wpływ mogła mieć różna procedura pobierania śliny oraz odmienny dobór i liczebność grupy badawczej. Dawes stwierdził, iż pacjenci z zaburzonym wydzielaniem śliny podający, że po długotrwałym żuciu gumy, uczucie suchości zmniejszało się, mogą mylnie interpretować fakt zwiększonej ilości śliny stymulowanej gumą w porównaniu z fizjologiczną ilością śliny spoczynkowej, jako efekt ustąpienia suchości jamy ustnej w następstwie żucia gumy.

Olson i wsp. (151) oceniali długofalowy wpływ 15-tygodniowego intensywnego żucia przez 4 godziny dziennie dwóch różnych typów gum (gumy nie zawierającej w swoim składzie nikotyny – placebo, oraz gumy zawierającej nikotyne) na szybkość wydzielania śliny stymulowanej przez osoby palące. Grupę kontrolną stanowiły dla nich osoby zdrowe, bez nałogu palenia, nie stosujące żadnych gum do żucia. Ślinę stymulowaną na potrzeby tych badań pobierano bezpośrednio w trakcie 5-minutowej stymulacji żuciem kostki

parafiny. Średnia szybkość wydzielania śliny stymulowanej u osób stosujących gumę placebo wynosiła $1,5 \pm 0,1$ ml/min, natomiast u osób używających gumę z nikotyną średnia szybkość wydzielania śliny wynosiła $1,6 \pm 0,3$ ml/min. Dla porównania szybkość wydzielania śliny stymulowanej w grupie kontrolnej była niższa niż w dwóch wcześniej wymienionych grupach i wynosiła $x=1,4 \pm 0,1$ ml/min. Autorzy nie podają czy były to różnice istotne statystycznie. Natomiast w badaniach własnych, w których uczestniczyły osoby zdrowe, bez nałogu palenia, żujące gumę okazjonalnie oceniano wyłącznie bezpośredni wpływ żucia gumy na szybkość wydzielania śliny. Średnia szybkość wydzielania śliny stymulowanej 5-minutowym żuciem bezcukrowej gumy miętowej wynosiła 1,22 ml/min i była niższa od wartości uzyskanych w każdej z grup badanych przez Olson i wsp. (151). Wartości porównywalne do uzyskanych przez autorów stwierdziłam dopiero po 85 minutach żucia gumy i wynosiły one średnio $1,64 \pm 0,77$ ml/min (ślina pobierana pomiędzy 85 a 90 minutą stymulacji) oraz $1,62 \pm 0,92$ ml/min (ślina pobierana pomiędzy 115 a 120 minutą stymulacji) (Tabela XXI).

Dong i wsp. (56) stosując bezcukrową oraz zawierającą cukier gumę do żucia oceniali wpływ częstotliwości ruchów żucia oraz czasu trwania stymulacji na szybkość wydzielania śliny. Badani żuli z częstotliwością od 35 do 130 ruchów żucia/min. Dla obu typów gum (becukrowej oraz zawierającej cukier) szybkość wydzielania śliny była najwyższa w pierwszej minucie po rozpoczęciu badania. Szybkość wydzielania śliny stymulowanej gumą bezcukrową była niezależna od częstotliwości ruchów żucia. Najwyższe wartości szybkości wydzielania śliny stymulowanej żuciem zawierającej cukier odnotowano przy częstotliwości 90 ruchów żucia/min, i były one istotnie wyższe w porównaniu do wartości uzyskiwanych przy częstotliwości 70/min, 130/min, 35/min oraz 50/min. Szybkość uwalniania cukru z tej gumy była najwyższa w drugiej minucie badania, następnie progresywnie spadała, jednak cukier uwalniany był aż do końca badania, czyli 45 minut.

Żucie gumy a pH śliny i zdolności buforowe śliny

Wyniki badań innych autorów (24,40,42,44,45,47) wskazują, że zarówno pH śliny mieszanej spoczynkowej oraz stymulowanej, jak również ich właściwości buforowe charakteryzują się znaczną zmiennością.

Indywidualne wahania wartości pH oraz zdolności buforowe śliny w ślinie mieszanej spoczynkowej były przedmiotem badania Larsena i wsp. (120). Autorzy zbadali ślinę pobraną od 6 kobiet i 5 mężczyzn w wieku ok. 20 lat. Od każdego z uczestników badania ślina pobierana była 8-krotnie. Przeprowadzone przez autorów badanie trwało 7

tygodni. Mimo, że warunki pobierania śliny były takie same przez cały okres badania, to jednak otrzymane wyniki były bardzo zróżnicowane. Na ich podstawie autorzy stwierdzili, że zarówno pH, jak i zdolności buforowe są parametrami śliny, których nie można standaryzować na podstawie pojedynczych badań.

W badaniach dotyczących wpływu żucia gumy na pH śliny, Dawes & Kubieniec (42) użyli 2 rodzajów bezcukrowej gumy do żucia: o smaku miętowym i o smaku owocowym. Każdy z uczestników badania brał udział w 3 sesjach zbierania śliny, odbywających się w ciągu trzech kolejnych dni, ale w tych samych godzinach, aby uniknąć wpływu rytmu dobowego na wydzielanie śliny. Każdorazowo zbierane były próbki śliny spoczynkowej mieszanej przez 5 minut, pierwszego i drugiego dnia zbierano również ślinę stymulowaną (przy czym badani żuli każdorazowo jedną z gum przez 2 godziny), trzeciego dnia - w którym uczestnicy nie żuli gumy - przez 2 godziny zbierana była wyłącznie ślina spoczynkowa. W przypadku śliny spoczynkowej zbieranej przez 2 godziny stwierdzono, że średnie wartości pH utrzymywały się na poziomie 6,71- 6,9 przez cały czas trwania badania. W trakcie żucia gumy miętowej, pH śliny stymulowanej wzrastało od wartości pH=6,64 (stwierdzanych w ślinie spoczynkowej zbieranej przez 5 minut) do średnich wartości pH=7,35 w dziesiątej minucie stymulacji. Następnie wartości pH nieznacznie spadały, przy czym na końcu badania wartość pH wynosiła 7,3. W przypadku gumy owocowej, zawierającej kwasy owocowe, pH śliny stymulowanej spadało nawet poniżej wartości stwierdzanych w ślinie spoczynkowej (czyli poniżej pH=6,66) do wartości pH=6,24. Spadek ten obserwowany był tylko przez 2 minuty trwania stymulacji, następnie pH śliny wzrastało do wartości 7,2, i na tym poziomie utrzymywało się do końca badania. W ślinie pobieranej po 55-60 minutach stymulacji nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy pH śliny stymulowanej żuciem gumy miętowej, a pH śliny stymulowanej żuciem gumy owocowej. Na podstawie uzyskanych wyników autorzy stwierdzili, iż wartości pH w przeprowadzonym przez nich badaniu począwszy od drugiej minuty do końca drugiej godziny stymulacji, były istotnie wyższe w ślinie stymulowanej w porównaniu do śliny spoczynkowej, zbieranej dwukrotnie przez 5 minut oraz jednokrotnie przez dwie godziny. W kolejnych badaniach Dawes & Dong (40) użyli gumy do żucia zawierającej cukier oraz gumy bezcukrowej (gumy firmy Wrigley's Spearmint, każda o wadze ok. 3g). Badanie rozpoczynało się po upływie co najmniej godziny od posiłku i było to najpierw pięciominutowe zbieranie śliny spoczynkowej, a następnie 20-minutowe zbieranie śliny stymulowanej żuciem jednej z dwóch wcześniej opisanych gum. Analizując uzyskane wyniki autorzy stwierdzili, iż podczas 20 minut żucia, zarówno gumy bezcukrowej jak i

gumy zawierającej cukier, poziom pH śliny stymulowanej każdorazowo był wyższy od wartości zmierzonych w ślinie spoczynkowej, przy czym początkowo przez pierwsze 5 minut stymulacji wartość pH wzrastała, następnie, aż do końca badania, powoli spadała pozostając jednak na poziomie wyższym w porównaniu do wartości uzyskanych w ślinie spoczynkowej. W przypadku gumy zawierającej cukier, pH śliny stymulowanej na początku badania miało wartość 7,26, po 5 minutach 7,39, a na końcu badania 7,25 (przy wartości pH śliny spoczynkowej równej 7,06). W przypadku gumy bezcukrowej, pH śliny stymulowanej na początku badania miało wartość 7,36, po 5 minutach 7,61 na końcu badania 7,54 (przy wartości pH śliny spoczynkowej równej 7,04). Opisane przez autorów wahania wartości pH nie były istotne statystycznie (40).

Wpływ żucia gumy na wydzielanie śliny całkowitej, oraz możliwości wykorzystania jej jako źródła zwiększającego stężenie związków mineralnych w ślinie i polepszających właściwości buforowe śliny badali Chow i wsp. (30). Autorzy wyszli z założenia, iż guma może być źródłem związków potrzebnych do prawidłowej mineralizacji i rozwoju zębów. Guma do żucia zawierając w swym składzie substancje, które przez dłuższy czas kontaktują się z zębami (w trakcie czynności żucia) może być wykorzystana z minimalnym wysiłkiem ze strony pacjenta w celach profilaktycznych. Oceniając skuteczność różnych dodatków do gum o działaniu przeciwpróchnicznym autorzy zdecydowali się wykorzystać w swoim badaniu następujące związki mineralne: TTCP-DCPD (*ang. tetracalcium phosphate-dicalcium phosphate dihydrate*) o wzorze chemicznym $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}-\text{CaHPO}_4$ oraz MCPM (*ang. monocalcium phosphate monohydrate*) o wzorze chemicznym $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2\text{H}_2\text{O}$. Badaniem objętych zostało 8 ochotników (4 kobiety i 4 mężczyzn o średniej wieku 37 lat), ogólnie zdrowych, z prawidłowym wydzielaniem śliny spoczynkowej czyli $>0,2\text{ml}/\text{min}$. Eksperyment trwał 3 dni, przy czym każdego dnia badani żuli inną gumę: pierwszego dnia – zwykłą bezcukrową gumę balonową (guma kontrolna), drugiego dnia – gumę z dodatkiem MCPM, trzeciego dnia – gumę z dodatkiem TTCP-DCPA. Ślinę spoczynkową pobierano na początku badania przez 2 minuty, ślina stymulowana pobierana była przez 16 minut w dwuminutowych cyklach. Podczas analizy wyników dotyczących gumy kontrolnej autorzy stwierdzili, że w ciągu pierwszych 2 minut żucia tej gumy wartość pH spadała z 7,0 do $\text{pH}=6,2$. Było to według autorów spowodowane prawdopodobnie kwaśnymi dodatkami smakowymi w gumie. Następnie pH śliny wzrastało powyżej poziomu pH wyjściowego (czyli powyżej $\text{pH}=7,0$), osiągając na koniec badania wartość $\text{pH}=7,5$. W przypadku gumy z dodatkiem MCPM, średnie wartości pH śliny były istotnie niższe w porównaniu do wartości pH śliny stwierdzonych w próbkach śliny pobranych podczas żucia gumy

kontrolnej (bezcukrowej, balonowej) i utrzymywały się one na niższym poziomie przez całe badanie trwające 16 minut. Również, tak jak w przypadku gumy kontrolnej, przez pierwsze 2 minuty żucia gumy z dodatkiem MCPM, pH śliny spadało od wartości początkowej równej 7,0, ale spadek ten był znacznie większy i wartość pH po 2 minutach osiągała poziom 5,1, czyli niższy od pH krytycznego szkliwa. Podczas kolejnych minut żucia, pH wzrastało, aby na końcu badania uzyskać wartość równą 6,6. Podobną tendencję spadkową średnich wartości pH w ciągu 2 pierwszych minut żucia autorzy zaobserwowali również w przypadku gumy z dodatkiem TTCP-DCPD, ale był to spadek w tym przypadku nie tak spektakularny jak przy żuciu gumy z MCPM. W tym przypadku wartość pH z 7,0 spadła do pH = 6,6. Wraz z czasem trwania badania, poziom pH wzrastał aż do wartości 7,5, podobnie jak w przypadku gumy kontrolnej. Po 4 minutach żucia gumy z dodatkiem TTCP-DCPD, pH śliny stymulowanej (podobnie jak w przypadku gumy kontrolnej) było wyższe od pH śliny spoczynkowej. Jednak jak zaznaczyli autorzy, powyższe różnice nie były istotne statystycznie, co być może wynikało z małej grupy badanych. Wyniki uzyskane przez autorów sugerują, że skład gumy do żucia może mieć istotny wpływ na wartości pH śliny stymulowanej żuciem gumy (30).

Anderson & Orchardson (5) wykorzystali w badaniach dwa rodzaje gum: bezcukrową, miętową z dwuwęglanem sodu, oraz gumę bezcukrową, miętową (guma kontrolna). Ślinę spoczynkową i stymulowaną zbierano dwukrotnie od każdego uczestnika. Ślina mieszana spoczynkowa zbierana była przez 5 minut, natomiast ślina mieszana stymulowana przez 30 minut. Kolejnego dnia eksperyment powtórzono z drugą gumą. W przypadku gumy kontrolnej, pH śliny spoczynkowej wynosiło średnio 6,96 i po 4-6 minutach stymulacji wzrastało do wartości 7,39. Do końca badania wartości pH utrzymywały się na poziomie pH=7,15. W przypadku stymulacji gumą wzbogaconą dwuwęglanem sodu, wartość pH śliny stymulowanej wzrastała po 4-6 minutach stymulacji do pH= 8,06, następnie powoli spadała, jednak do końca badania utrzymując się na poziomie pH=7,3, czyli wyższym od wartości pH śliny spoczynkowej równej 6,91. Autorzy analizując uzyskane wyniki stwierdzili, iż średnie wartości pH w ślinie stymulowanej gumą bezcukrową oraz gumą bezcukrową zawierającą dwuwęglan sodu były istotnie wyższe podczas całego badania w stosunku do śliny spoczynkowej ($p < 0,05$). Autorzy stwierdzili również, iż podczas całego eksperymentu pH śliny stymulowanej miętową gumą bezcukrową było niższe w porównaniu z pH śliny stymulowanej żuciem miętowej gumy bezcukrowej ale z dodatkiem dwuwęglanów.

Edgar i wsp. (58) w jednym ze swoich badań oceniających wpływ różnych gum do żucia (zawierających cukier oraz bezcukrowych) na wartości pH śliny i pH płytki nazębnej oraz na poziom dwuwęglanów w ślinie, stwierdzili, iż bezcukrowa guma do żucia znacznie przyspieszała usuwanie cukrów z jamy ustnej. W przypadku gdy guma zawierała cukier, to dochodziło do uwalniania cukru z gumy, które trwało przez 45 minut, czyli przez całe badanie. Wyniki autorów wskazują jednak, że sam efekt wzrostu pH w płytce nazębnej w trakcie stymulacji żuciem gumy był obserwowany w przypadku obu gum do żucia i podobny efekt wzrostu dotyczył również pH śliny. Jakkolwiek szybkość wydzielania śliny stymulowanej żuciem była porównywalna w przypadku obu gum, to wartość pH śliny oraz stężenie dwuwęglanów było niższe w przypadku żucia gumy zawierającej cukier w porównaniu do gumy bezcukrowej. Zjawisko to autorzy tłumaczą faktem wykorzystywania dwuwęglanów zawartych w ślinie do neutralizacji oraz buforowania kwasów pochodzących z metabolizmu cukrów zawartych w gumie do żucia. Autorzy stwierdzili ponadto, iż zależność pomiędzy szybkością wydzielania śliny a stężeniem dwuwęglanów nie jest zależnością liniową i stężenie badanych składników jest najwyższe przy średnich wartościach szybkości wydzielania śliny. Oznaczało to, że wzrost szybkości wydzielania śliny nie skutkowało liniowym wzrostem pH śliny czy pH płytki nazębnej (58).

Bruzda-Zwiech i wsp. (24) przeprowadziły badanie oceniające pH oraz zdolności buforowe śliny mieszanej stymulowanej żuciem bezcukrowej gumy po płukaniu jamy ustnej 20% glukozą. W badaniu wzięło udział 106 kobiet i 20 mężczyzn (średnia wieku około 21 lat), których podzielono na dwie grupy. Od każdego z uczestników pobrano ślinę spoczynkową, a następnie zalecono każdemu 3-minutowe płukanie jamy ustnej 20% glukozą. W kolejnym etapie badania, w grupie I ponownie zebrano próbki śliny spoczynkowej po upływie 5,10,15,20 i 40 minutach od momentu płukania jamy ustnej 20% glukozą. Natomiast w grupie II każdy z uczestników badania bezpośrednio po płukaniu jamy ustnej roztworem glukozy, otrzymał bezcukrową gumę do żucia z zaleceniem żucia jej przez 20 minut. W trakcie żucia zbierano próbki śliny stymulowanej po upływie 5,10,15 oraz 20 minutach od rozpoczęcia żucia gumy. Wartości pH w ślinie stymulowanej żuciem gumy były każdorazowo wyższe od wartości stwierdzanych w ślinie spoczynkowej, czyli od $pH=6,94$. Po 5 minutach stymulacji pH wzrastało do wartości $pH=7,14$, po 10 minutach stymulacji pH wynosiło 7,2, po 15 minutach $pH=7,27$, a po 20 minutach $pH=7,32$. Na podstawie przeprowadzonego badania autorki stwierdziły, że 20-minutowe żucie gumy wspomagało neutralizację kwaśnego środowiska jamy ustnej, jakie powstało po przepłukaniu jamy ustnej roztworem glukozy. Żucie gumy nie pozwalało na spadek pH

poniżej wartości krytycznych i przesunęło równowagę w stronę zasadową (24). Sugerowały to również wyniki badań w grupie I, która nie żuła gumy, u której po 5 minutach od płukania jamy ustnej roztworem glukozy średnia wartość pH spadała do poziomu pH=5,98, po 10 minutach pH=6,23, po 15 minutach pH=6,4, po 20 minutach pH=6,65. Wartości te każdorazowo były niższe od wartości stwierdzanych w ślinie spoczynkowej, czyli od pH=7,06. Dopiero po 40 minutach od płukania jamy ustnej glukozą, pH śliny wynosiło 6,89 i było zbliżone do pH na początku badania. Wszystkie różnice w wartościach pH pomiędzy grupą I a grupą II badanych w tych samych odstępach czasowych były istotne statystycznie.

Englander i wsp. (64), którzy badali ślinę gruczołową stymulowaną 5-minutowym żuciem gumy u osób z aktywnymi ogniskami próchnicy (52 osoby) oraz ze zdrowymi zębami (30 osób) oceniali wpływ szybkości wydzielania śliny przyuszcniczej na wartości pH oraz zdolności buforowe tej śliny. Autorzy nie stwierdzili różnic statystycznych pomiędzy wartościami pH (grupa I – pH=7,37±0,17, grupa II – pH=7,33±0,24) oraz zdolnościami buforowymi pomiędzy poszczególnymi grupami. Analizując uzyskane wyniki badań autorzy ci stwierdzili istotną statystycznie korelację pomiędzy pH, zdolnościami buforowymi śliny a szybkością wydzielania śliny stymulowanej - badane parametry wzrastały wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny stymulowanej. Dla porównania w badaniach własnych prowadzonych w ślinie mieszanej, średnie wartości pH w ślinie stymulowanej przez 5 minut żuciem gumy wynosiły 7,44±0,18. W przeciwieństwie do autorów nie stwierdziłam występowania korelacji pomiędzy wartościami pH a szybkością wydzielania śliny stymulowanej w pierwszych 5 minutach stymulacji. Powyższa korelacja pojawiała się dopiero w ślinie zbieranej pomiędzy 25 a 30 minutą stymulacji żuciem. W przypadku zdolności buforowych również nie stwierdziłam korelacji pomiędzy tym parametrem a szybkością wydzielania śliny stymulowanej w pierwszych 5 minutach badania. Korelacja ta występowała dopiero po 85 minutach stymulacji żuciem (Tabela XXII, XXIV).

Jensen i wsp. (98) zbadali ślinę spoczynkową mieszaną i ślinę przyuszcniczą stymulowaną żuciem gumy u 8 ochotników w wieku 25-45 lat. Ślina spoczynkowa zbierana była przez 6 minut, ślina stymulowana natomiast przez 21 minut. Autorzy stwierdzili, iż szybkość wydzielania śliny stymulowanej była głównym czynnikiem determinującym poziom pH oraz zdolności buforowe śliny. Wraz ze wzrostem szybkości wydzielania śliny stymulowanej wzrastało w niej stężenie dwuwęglanów oraz HCO_3^- , czyli czynników determinujących zarówno pH śliny jak i jej zdolności buforowe.

Wyniki pracy własnej wskazują, że pH śliny mieszanej pobieranej podczas nieprzerwanej 120-minutowej stymulacji mechaniczno-chemicznej żuciem gumy bezcukrowej o smaku miętowym było zawsze istotnie wyższe od pH śliny spoczynkowej (Tabela XXII). Wyniki te są porównywalne w większości przypadków z wynikami uzyskanymi przez innych autorów, badających wpływ stymulacji żuciem gumy na wydzielania i właściwości śliny. Podobne wyniki uzyskali Dawes & Dong (40), którzy zarówno w przypadku żucia gumy zawierającej cukier jak i bezcukrowej stwierdzili, że wartości pH śliny stymulowanej były każdorazowo wyższe od wartości pH śliny spoczynkowej przez okres całego badania, czyli 20 minut. Dawes & Kubieniec (42) stymulując przez 120 minut wydzielanie śliny mieszanej żuciem gumy miętowej stwierdzili, że pH śliny stymulowanej było każdorazowo wyższe od pH śliny spoczynkowej zbieranej przez okres 5 minut oraz przez 2 godziny. W swoich badaniach stosowałam podobnie jak Dawes&Kubieniec (42) gumę bezcukrową miętową i uzyskałam podobne wyniki (Tabela XXII). Natomiast stosując w tych warunkach gumę owocową, autorzy obserwowali spadek pH śliny w ciągu pierwszych 2 minut stymulacji poniżej wartości pH w ślinie spoczynkowej, następnie pH śliny stymulowanej wzrastało i utrzymywało się na poziomie wartości zmierzonych w ślinie stymulowanej żuciem gumy miętowej. Wyniki tych badań te wyraźnie wskazują, że skład gumy może mieć wpływ na pH śliny (42).

Proc P i wsp. (161) w swojej pracy badały właściwości i wpływ bezcukrowych cukierków na pH śliny pobieranej po spożyciu cukierków – uzyskane wartości odnoszono do pomiarów wyjściowych wykonanych przed rozpoczęciem żucia cukierków. Cukierki te można zaliczyć do grupy czynników stymulujących wydzielanie śliny o charakterze mechaniczno-chemicznym. W badaniu uczestniczyło 38 kobiet i 16 mężczyzn o średniej wieku $22,19 \pm 1,06$. Autorki stwierdziły, że po 5 minutach od zaprzestania spożywania cukierków, średnie wartości pH śliny spoczynkowej wynosiły $7,11 \pm 0,33$, po 10 i 15 minutach wartości te kształtowały się na poziomie $6,95 \pm 0,25$ oraz $6,92 \pm 0,31$, dopiero po 20 minutach wartości pH nieznacznie spadały i wracały do wartości wyjściowej, czyli $pH=6,84 \pm 0,37$. Autorki stwierdziły również, że ze względu na brak spadku pH śliny, badane cukierki mogą stanowić alternatywę dla tradycyjnych słodczy zawierających próchnicotwórcze cukry (161). Podobne badanie dotyczące wpływu bezcukrowych dropsów na właściwości śliny mieszanej zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej przeprowadziły Kaczmarek i wsp. (103). Autorki zbadały pH oraz zdolności buforowe śliny pobranej od 40 osób w wieku 21-25 lat (schemat przeprowadzonego badania został dokładnie opisany w podrozdziale dotyczącym szybkości wydzielania śliny na str. 136). Uzyskane wartości pH

oraz zdolności buforowych każdorazowo odnoszono do śliny spoczynkowej zebranej na początku badania. Autorki stwierdziły, że pH śliny stymulowanej po 5 minutach ssania dropsów istotnie spadło ($p < 0,01$), z $pH = 6,90 \pm 0,37$ do $pH = 6,63 \pm 0,71$, natomiast po 15 minutach od zaprzestania ssania dropsa pH śliny istotnie wzrastało ($p < 0,01$) w porównaniu do pH wyjściowego, i wynosiło $7,12 \pm 0,32$. W ostatnim badaniu wykonanym po 30 minutach od zakończenia ssania bezcukrowych dropsów, pH śliny wynosiło $7,08 \pm 0,31$ było wyższe w porównaniu do pH wyjściowego śliny spoczynkowej, różnica ta nie była jednak istotna statystycznie. W przypadku zdolności buforowych śliny uzyskane wyniki każdorazowo odnoszono do zdolności buforowych śliny spoczynkowej, pobranej na początku badania. Stwierdzono, że w każdym z kolejnych etapów wykonanych badań były one wyższe o około 10% w ślinie stymulowanej 5-minutowym ssaniem dropsów, o około 30% po 15 minutach od zakończenia ssania dropsów oraz o około 17% po 30 minutach od zakończenia ssania dropsów. Zdaniem autorek ssanie dropsów powodowało chwilowy spadek pH śliny, ale był to spadek przejściowy spowodowany zawartością kwasowych substancji smakowych w cukierkach. Natomiast po zaprzestaniu ssania dropsów zostawał zrekompensowany i po 15 minutach odczyn śliny ulegał podwyższeniu do poziomu przewyższającego wartość śliny spoczynkowej, który utrzymywał się przez kolejne 15 minut. W związku z zawartością w dropsach polioli, nie będących dla bakterii płytki substratami do produkcji kwasów autorki uważają, że dropsy te nie są one kariogenne i można je stosować zarówno u dzieci jak i u dorosłych (103).

Na podstawie uzyskanych wyników badań własnych można stwierdzić, że w przypadku śliny stymulowanej żuciem gumy bezcukrowej o smaku miętowym obserwowano zależność istotną statystycznie pomiędzy wartościami pH a szybkością wydzielania śliny (korelacja dodatnia), ale pojawiała się ona dopiero po 25 minutach stymulacji, oraz pod koniec badania, czyli po 115 minutach stymulacji żuciem gumy. Podobnie jak w badaniach innych autorów (5,24,40) przez cały okres stymulacji, wartości pH śliny stymulowanej były istotnie wyższe od wartości pH stwierdzanych w ślinie spoczynkowej i wahały się od wartości $pH = 7,32 \pm 0,24$ w ślinie stymulowanej pobieranej między 25 a 30 minutą stymulacji do wartości $pH = 7,38 \pm 0,19$ w ślinie stymulowanej pobieranej między 115 a 120 minutą stymulacji. Ponadto można stwierdzić, że wartości pH śliny spoczynkowej istotnie korelowały z wartościami pH w ślinie stymulowanej (korelacja dodatnia), z wyjątkiem tych stwierdzanych pomiędzy 85 a 90 minutą badania (Tabela XXII).

W przypadku zdolności buforowych śliny, istotna dodatnia korelacja pomiędzy tym parametrem a szybkością wydzielania śliny stymulowanej występowała wyłącznie między 85 a 90 minutą badania, czyli po ok. 1,5 godziny trwania stymulacji, co sugeruje, że w trakcie żucia gumy przez 120 minut szybkość wydzielania śliny stymulowanej nie miała istotnego wpływu na jej zdolności buforowe. Należy jednak zaznaczyć, że zdolność buforowa śliny stymulowanej różniła się istotnie od zdolności buforowej stwierdzanej w ślinie spoczynkowej, przy czym największy potencjał buforowy śliny stymulowanej stwierdzano po 115-120 minutach stymulacji. (Tabela XXIV). W przypadku śliny spoczynkowej nie stwierdzono istotnej statystycznie korelacji pomiędzy wartościami pH i zdolnością buforową śliny spoczynkowej a szybkością jej wydzielania (Tabela XXII, Tabela XXIV).

Żucie gumy a lepkość śliny

W dostępnym piśmiennictwie nie znalazłam badań odnoszących się bezpośrednio do wpływu stymulacji wydzielania śliny żuciem gumy na lepkość śliny.

Ueda i wsp. (203) badali różne czynniki (w tym lepkość śliny oraz szybkość wydzielania śliny) wpływające na liczbę wykonywanych ruchów żucia w trakcie żucia cukierków przed ostatecznym połknięciem zbierającej się śliny w jamie ustnej, czyli tzw. NCS (*ang: number of chewing strokes before the last swallowing*). Mimo, że autorzy w badaniu nie użyli gumy do żucia, to wykorzystane przez nich cukierki można zaliczyć do czynników stymulacyjnych o charakterze mechaniczno-chemicznym. W badaniu wzięło udział 39 mężczyzn i 36 kobiet w wieku 24 lat. Autorzy analizowali 12 fizjologicznych czynników, które mogą wpływać na oceniany przez nich parametr NCS. Do czynników tych zaliczyli min: drogę poruszania się żuchwy podczas ruchu odwodzenia, analizę okluzji, siłę zwarcia, szybkość wydzielania śliny mieszanej stymulowanej żuciem parafiny, lepkość śliny mieszanej, oraz cechy osobowości uczestników. Wszystkie badania powtarzane były pięciokrotnie aby wyznaczyć średnie wartości oraz odchylenia standardowe. Autorzy stwierdzili istotną dodatnią korelację pomiędzy NCS a wszystkimi równocześnie branymi pod uwagę parametrami, w tym lepkością śliny mieszanej. W przypadku analizy poszczególnych parametrów pojedynczo, korelacje z NCS każdorazowo były nieistotne. Autorzy stwierdzili, że NCS nie zależy zatem od pojedynczych, specyficznych fizjologicznych czynników, ale od całej grupy czynników, włączając w to osobowość badanych uczestników i lepkość śliny oraz szybkość jej wydzielania (203).

Lepkość śliny mieszanej była również tematem badań Bredis i wsp. (22). Wprawdzie badanie nie dotyczyło bezpośredniego wpływu żucia gumy na lepkość śliny, ale autorzy

oceniali wpływ różnych bodźców smakowych, leków, wieku, płci oraz stanu emocjonalnego na właściwości reologiczne śliny mieszanej. Autorzy zbadali 1 kobietę i 1 mężczyznę w wieku 22 lat. Ślina stymulowana pobierana była każdorazowo po 15, 30 i 60 minut od zastosowania każdego z bodźców. W przypadku leków badanie wydłużone było aż do 120 minut. Analizując uzyskane wyniki autorzy nie stwierdzili wpływu wieku oraz płci na lepkość śliny. Zauważyli natomiast, iż niektóre bodźce smakowe oraz leki powodowały szybki wzrost lepkości, która spadała stopniowo wraz z upływem czasu od momentu zadziałania bodźca. Stan emocjonalny badanych ochotników okazał się również w istotny sposób wpływać na właściwości reologiczne śliny. Wszyscy autorzy podkreślają, że lepkość śliny jest parametrem trudnym do oceny jakościowej. Autorzy zalecają jednak branie go pod uwagę podczas planowania lub wykonywania badań dotyczących śliny.

W pracy własnej oceniałam wyłącznie wpływ żucia (w tym żucia gumy) na lepkość śliny i nie prowadziłam szczegółowych badań odnośnie samego aktu żucia. Analizując wpływ 2-godzinnej żucia gumy na lepkość śliny stymulowanej, stwierdziłam, że w początkowym okresie (czyli w I i II cyklu pobierania śliny) nie różniła się ona istotnie od lepkości śliny spoczynkowej, dopiero w cyklach III, IV i V pobierania, czyli po dłuższym okresie stymulacji, była istotnie niższa od lepkości śliny spoczynkowej (Tabela XXV). Nie stwierdziłam jednak korelacji pomiędzy lepkością a szybkością wydzielania śliny zarówno stymulowanej jak i spoczynkowej. Znamienna statystycznie korelacja o charakterze dodatnim występowała pomiędzy lepkością śliny spoczynkowej a lepkością śliny stymulowanej ($p < 0,001$) i utrzymywała się ona niezależnie od czasu trwania stymulacji, co sugeruje, że lepkość śliny spoczynkowej miała istotny wpływ na lepkość stwierdzaną w ślinie stymulowanej. Natomiast nie stwierdziłam istotnej zależności pomiędzy lepkością a stężeniem białka całkowitego zarówno w ślinie stymulowanej jak i spoczynkowej. (Tabela XXV). Taką istotną zależność o charakterze korelacji dodatniej pomiędzy stężeniem białka całkowitego a lepkością w ślinie spoczynkowej mieszanej stwierdziła Kochańska (109).

Żucie gumy a stężenie jonów wapnia w ślinie

Badania własne wskazują, że stężenie jonów wapnia w ślinie stymulowanej żuciem gumy, która nie zawierała w swoim składzie ani jonów wapnia ani fosforanów było istotnie niższe od stężenia jonów wapnia w ślinie spoczynkowej z wyjątkiem śliny pobieranej w pierwszych 5 minutach stymulacji, gdzie stężenie jonów wapnia w ślinie stymulowanej nieznacznie przewyższało stężenie tych jonów w ślinie spoczynkowej (Tabela XXVI). Dawes & Dong (40) i Dawes (46), którzy również badali ślinę mieszaną stwierdzili, iż stężenie jonów wapnia w ślinie stymulowanej pobieranej w ciągu 20 minut stymulacji

żuciem gumy nie różniło się istotnie od obserwowanego w ślinie spoczynkowej i dotyczyło to zarówno gumy bezcukrowej jak i zawierającej cukier. W badaniu dotyczącym gumy bezcukrowej, określone wcześniej w ślinie spoczynkowej stężenie jonów wapnia wynosiło 1,32 mmol/l, natomiast wraz z rozpoczęciem stymulacji wzrastało nieistotnie, osiągając maksymalne wartości (czyli 1,54 mmol/l) już po dwóch minutach trwania badania. Po 15-20 minutach stymulacji, stężenie jonów wapnia wynosiło 1,34 mmol/l, czyli zbliżone było do stężenia jonów wapnia w ślinie spoczynkowej. Podobną tendencję autorzy zaobserwowali w przypadku żucia gumy zawierającej cukier. W trakcie badania z użyciem tej gumy, stężenie jonów wapnia osiągało maksymalne wartości, czyli 1,49 mmol/l, pomiędzy 4 a 6 minutą stymulacji, a następnie powoli spadało aż do wartości 1,33 mmol/l stwierdzanych pod koniec badania. Wyniki te zbliżone były do stężenia jonów wapnia w ślinie spoczynkowej, które dla tej grupy (żującej gumę zawierającą cukier) wynosiło 1,32 mmol/l. Należy dodać, że wartości stężeń jonów wapnia podawane przez autorów dla śliny mieszanej spoczynkowej i stymulowanej były wyższe od stwierdzanych przeze mnie w tych samych warunkach pomiaru. Analizując wyniki badań własnych stwierdziłam, że średnie wartości stężeń wapnia w ślinie spoczynkowej wynosiły 0,96 mmol/l, po 5 minutach stymulacji żuciem gumy 1,05 mmol/l natomiast między 25 a 30 minutach stymulacji 0,78 mmol/l (Tabela XXVI).

Chow i wsp. (30) badając, czy guma do żucia może być źródłem minerałów niezbędnych do remineralizacji ubytków szkliwa przeprowadzili eksperyment z żuciem bezcukrowej gumy balonowej (guma kontrolna), gumy z dodatkiem MCPM oraz gumy z dodatkiem TTCP-DCPA (dokładny opis przebiegu eksperymentu i zastosowanych gum znajduje się na stronie 140 w rozdziale omawiającym pH oraz zdolności buforowe śliny). Ślinę spoczynkową pobierano na początku badania przez dwie minuty, ślina stymulowana pobierana była przez 16 minut w 2-minutowych cyklach. W ślinie stymulowanej gumą kontrolną, autorzy stwierdzili niewielki wzrost stężenia jonów Ca^{2+} , ale jedynie podczas pierwszych dwóch minut badania ($x=2,5\text{mmol/l}$), natomiast po sześciu minutach stymulacji wartości stężeń jonów Ca^{2+} były zbliżone do stężeń uzyskanych w ślinie spoczynkowej i wynosiły $x=1,25\text{mmol/l}$ (w ślinie spoczynkowej stężenie jonów wapnia wynosiło $x=1,24\text{mmol/l}$). W przeciwieństwie do gumy kontrolnej, żucie obu gum z dodatkiem fosforanów wapnia powodowało znaczny wzrost stężenia Ca^{2+} w ślinie stymulowanej obserwowany przez cały okres badania, z tym, że był on różny w zależności od rodzaju gumy. Guma z dodatkiem MCPM powodowała istotny ($p<0,05$) stały wzrost stężenia jonów wapnia w ślinie stymulowanej trwający do 12 minuty stymulacji (po 2 minutach stymulacji

$x=26\text{mmol/l}$; po 4 minutach $x=17\text{mmol/l}$; po 12 minutach $x=5\text{mmol/l}$). Między 12 a 16 minutą stymulacji gumą z MCPM nie obserwowano dalszego wzrostu stężeń wapnia. Natomiast guma z dodatkiem TTCP-DCPA powodowała istotny wzrost stężenia jonów wapnia w ślinie stymulowanej (w porównaniu do stężeń stwierdzanych w ślinie spoczynkowej oraz w ślinie stymulowanej żuciem gumy kontrolnej) aż do końca badania trwającego 16 minut - po 2 minutach stymulacji stężenie jonów wapnia wynosiło 31mmol/l ; po 4 minutach $x=27\text{mmol/l}$; po 16 minutach $x=15\text{mmol/l}$. Stężenie jonów wapnia w ślinie stymulowanej gumą do żucia z dodatkiem TTCP-DCPA było również istotnie wyższe od stężenia jonów wapnia w ślinie stymulowanej gumą do żucia z dodatkiem MCPM, ale w ślinie zbieranej pomiędzy 6 a 16 minutą badania (30). W moich badaniach, w których zastosowałam bezcukrową gumę miętową firmy Wrigley's Orbit, stwierdzone wartości stężeń jonów wapnia w ślinie stymulowanej żuciem gumy były znacznie niższe (nawet kilkunastokrotne) niż przedstawione przez autorów (Tabela XXVI).

Larsen i wsp. (120) zbadali ślinę mieszaną spoczynkową, pobraną 8-krotnie od 6 kobiet i 5 mężczyzn w wieku ok. 20 lat. Analizując uzyskane wyniki badań dotyczących jonów wapnia stwierdzili, że podczas całego badania (7 tygodni) zakres wartości dotyczących tego parametru śliny był bardzo szeroki (zarówno u poszczególnych osób jak i w całej grupie) i wahał się od $1,4\text{ mM/l}$ do $4,2\text{ mM/l}$, toteż ich zdaniem nie jest możliwe wyciąganie jakichkolwiek wniosków na podstawie pojedynczych analiz statystycznych (120). Wyniki moich badań również wskazują, że zakres stężeń jonów wapnia w ślinie spoczynkowej był również znaczny i wahał się od $0,51\text{mmol/l}$ do $1,54\text{mmol/l}$, przy czym były to wartości niższe niż w pracy Larsen i wsp. (120). Podobnie szerokie zakresy stężeń stwierdziłam w ślinie stymulowanej, w każdym z cykli pobierania tej śliny, jednak były one niższe niż podają Larsen i wsp. dla śliny spoczynkowej. (Tabela XXVI).

Wyniki badań własnych wskazują, że stężenie jonów wapnia w ślinie spoczynkowej miało istotny wpływ na stężenie tych jonów obserwowanych w ślinie stymulowanej na początku badania czyli przez pierwsze 5 minut stymulacji (korelacja dodatnia) oraz na końcu badania, między 115 a 120 minutą stymulacji (korelacja dodatnia). W ślinie spoczynkowej nie stwierdziłam korelacji pomiędzy szybkością wydzielania śliny a stężeniem jonów wapnia. Nie można natomiast jednoznacznie stwierdzić, czy istnieje korelacja pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej a stężeniem jonów wapnia, ponieważ istotna zależność pomiędzy tymi parametrami występowała wyłącznie między 55 a 60 minutą badania, czyli po około 1 godzinie stymulacji żuciem (Tabela XXVI). Podobnych analiz

dotyczących zależności pomiędzy szybkością wydzielania śliny stymulowanej a stężeniem jonów wapnia w aspekcie żucia gumy nie znalazłam w dostępnym piśmiennictwie.

Żucie gumy a stężenie białka całkowitego w ślinie

Jensen i wsp. (98) badali stężenie białka całkowitego w ślinie przyuszcniczej stymulowanej żuciem gumy i żuciem parafiny przez 21 minut. Ślinę do badań w ciągu 21 minut stymulacji pobierano każdorazowo 4 razy (po 1 minucie i następnie co 4 minuty), w godzinach porannych, bezpośrednio z ujścia ślinianki przyusznej. Autorzy stwierdzili, iż niezależnie od rodzaju stymulacji stężenie białka całkowitego w ślinie stymulowanej przyuszcniczej w znacznym stopniu zależało od szybkości wydzielania śliny i wzrastało wraz ze wzrostem szybkości jej wydzielania. Stężenie białka całkowitego w ślinie stymulowanej przyuszcniczej (niezależnie czy bodźcem stymulującym było żucie gumy czy parafiny) wahało się pomiędzy 0,16mg/ml a 0,98 mg/ml. Pomiedzy stężeniem białka całkowitego w ślinie stymulowanej gumą do żucia a stężeniem białka całkowitego w ślinie stymulowanej parafiną były istotne statystycznie różnice zarówno na początku jak i na końcu badania. W pierwszej minucie stymulacji żuciem gumy, stężenie białka całkowitego wynosiło średnio 0,89 mg/ml, natomiast w przypadku stymulacji parafiną stężenia białka całkowitego wynosiło średnio 0,52 mg/ml ($p<0,01$). Pod koniec badania, czyli między 17 a 21 minutą stymulacji, w przypadku żucia gumy, średnie stężenie białka całkowitego wynosiło zaledwie 0,17 mg/ml, podczas gdy w przypadku żucia parafiny stężenie białka całkowitego w ślinie było wyższe i wynosiło średnio 0,43 mg/ml ($p<0,01$). Autorzy zaznaczyli, że przez cały okres badania śliny stymulowanej przyuszcniczej żuciem gumy, stężenie białka całkowitego spadało istotnie wraz z czasem trwania stymulacji, natomiast w przypadku żucia parafiny spadek ten nie był istotny statystycznie (98).

Wyników badań własnych nie można bezpośrednio odnieść się do wyników Jensen i wsp., ponieważ moje badania dotyczyły śliny mieszanej stymulowanej żuciem gumy przez 120 minut, a czas pobierania śliny do badań różnił się nawet w pierwszych 30 minutach stymulacji. Jednak porównując wyniki uzyskane po pierwszych 5 minutach stymulacji oraz pomiędzy 25 a 30 minutą stymulacji można stwierdzić, że stężenie białka całkowitego było wyższe niż podawane przez Jensena i wsp. dla śliny przyuszcniczej stymulowanej żuciem gumy i wynosiło kolejno $1,08\pm 0,37$ mg/ml oraz $1,07\pm 0,39$ mg/ml (w tym ostatnim przypadku stężenie białka całkowitego było aż 6-krotnie wyższe od podawanych przez Jensen i wsp.). Nie zauważyłam również tendencji spadkowej wraz z czasem stymulacji, wręcz przeciwnie, po 85 minucie zaznaczył się istotny wzrost stężenia białka całkowitego (Tabela XXVII). W przeciwieństwie do Jensena i wsp. (98) nie stwierdziłam zależności

między szybkością wydzielania śliny a stężeniem białka całkowitego w okresie pierwszych 30 minut stymulacji żuciem gumy. Natomiast pod koniec badania, czyli w ślinie pobranej między 115 a 120 minutą stymulacji, stwierdziłam istotną korelację ujemną pomiędzy szybkością wydzielania śliny a stężeniem białka całkowitego ($p < 0,001$) (Tabela XXVII).

Należy podkreślić, że jak wynika z badań własnych, stężenie białka całkowitego w ślinie stymulowanej żuciem gumy przez 120 minut stymulacji było każdorazowo istotnie niższe od stężenia białka całkowitego w ślinie spoczynkowej. Może to świadczyć, że żucie gumy nie sprzyja większemu wydzielaniu białka przez gruczoły ślinowe w porównaniu do wydzielania w ślinie spoczynkowej. Należy dodać, że pomiędzy stężeniem białka całkowitego w ślinie stymulowanej a stężeniem białka w ślinie spoczynkowej występowała istotna statystycznie korelacja o charakterze dodatnim, co sugeruje, że u osób, u których stężenie białka całkowitego w ślinie spoczynkowej było wyższe, to również było ono wyższe w ślinie stymulowanej. (Tabela XXVII).

Żucie gumy a stężenie lizozymu w ślinie

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono publikacji bezpośrednio odnoszących się do wpływu stymulacji żuciem gumy na stężenie lizozymu w ślinie.

Olson i wsp. (151) oceniali u osób palących długofalowy wpływ intensywnego 15-tygodniowego żucia 4 godziny dziennie jednej z dwóch typów gum (gumy nie zawierającej w swoim składzie nikotyny – placebo, oraz gumy zawierającej nikotynę) na szybkość wydzielania śliny stymulowanej oraz stężenie lizozymu. Do oznaczania lizozymu autorzy zastosowali znacznie starszą metodę dyfuzji na płytce agarowej, zbliżonej do metody opracowanej w 1966 roku przez Osserman i Lawlor (cyt.151). Autorzy nie badali zależności występującej pomiędzy szybkością wydzielania śliny a stężeniem lizozymu. Oceniali wyłącznie stężenia lizozymu w ślinie stymulowanej pobieranej przed i po 15-tygodniowym intensywnym żuciu gumy placebo, względnie gumy zawierającej nikotynę. W analizie brali również przy tym pod uwagę, czy dane osoby rzuciły palenie po zastosowaniu którejś z gum. Natomiast ślinę do analiz biochemicznych pobierali bezpośrednio w trakcie 5-minutowego żucia kostki parafiny. Autorzy uzyskanych wyników nie odnosili do śliny spoczynkowej, której nie badali. Analiza przedstawionych przez nich wyników wykazała, że stężenie lizozymu w ślinie stymulowanej po okresie intensywnego żucia gumy zarówno placebo jak i z dodatkiem nikotyny, zwiększało się średnio od 30 do 40 %, w porównaniu do okresu sprzed rozpoczęcia eksperymentu, przy czym szybkość wydzielania śliny nie zmieniała się istotnie. Przed rozpoczęciem eksperymentu w ślinie stymulowanej stężenie

lizozymu miało średnio wartość $6,3 \pm 0,3$ $\mu\text{g/ml}$ (przy średniej szybkości wydzielania śliny od $1,5 \pm 0,1$ ml/min do $1,6 \pm 0,3$ ml/min). Dla porównania po intensywnym 15-tygodniowym żuciu gumy z placebo, średnie wartości lizozymu wahały się od $10,3 \pm 0,4$ $\mu\text{g/ml}$ do $10,6 \pm 0,6$ $\mu\text{g/ml}$ (przy średniej szybkości wydzielania śliny $1,7$ ml/min), a w przypadku żucia gumy z nikotyną, średnie wartości lizozymu wahały się od $10,3 \pm 0,5$ $\mu\text{g/ml}$ do $10,0 \pm 1,0$ $\mu\text{g/ml}$ (przy średniej szybkości wydzielania śliny $1,7 \pm 0,1$ ml/min, do $1,6 \pm 0,2$ ml/min). Fakt rzucenia względnie nie rzucenia palenia, nie miał wpływu na przedstawiany wzrost wartości lizozymu, podobnie jak rodzaj gumy żutej przez uczestników. Autorzy podkreślili, że wzrost stężenia lizozymu w ślinie osób stosujących gumę z nikotyną był podobny do wzrostu stwierdzanego w ślinie osób stosujących gumę bez nikotyny. Natomiast szybkość wydzielania śliny nie zmieniała się znacząco po okresie intensywnego żucia obu rodzajów gum.

Odnosząc się do wyników pracy Olson i wsp.(151) należy zaznaczyć, że w moich badaniach analizowałam wpływ bezpośredniego żucia bezcukrowej gumy o smaku miętowym na poziom lizozymu w ślinie pobieranej w trakcie tego żucia, uwzględniałam przy tym szybkość wydzielania śliny. Pobierając ślinę w czasie pierwszych 5 minut stymulacji stwierdziłam, że jej szybkość wydzielania wynosiła $x=1,22 \pm 0,42$ ml/min i była średnio o 28% niższa od wartości uzyskanych przez Olsen i wsp. (151), natomiast stężenie lizozymu w ślinie było około 4-krotnie niższe od wartości podanych przez tych autorów i wynosiło $x=3,0 \pm 1,7$ $\mu\text{g/ml}$ (Tabela XXVIII).

Nie stwierdziłam istotnej różnicy w stężeniach lizozymu w ślinie stymulowanej w porównaniu do śliny spoczynkowej. W badaniach własnych nie stwierdziłam również korelacji pomiędzy stężeniem lizozymu a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej oraz śliny stymulowanej, z wyjątkiem śliny pobieranej pomiędzy 55 a 60 minutą stymulacji żuciem gumy ($p < 0,05$). Stwierdziłam natomiast bardzo wyraźną zależność o charakterze korelacji dodatniej pomiędzy stężeniem lizozymu w ślinie spoczynkowej a stężeniem lizozymu w ślinie stymulowanej przez okres trwania całego badania, czyli przez 120 minut. Nie stwierdziłam korelacji pomiędzy stężeniem lizozymu a stężeniem białka całkowitego (Tabela XXVIII). Jak sugerują powyższe wyniki długotrwała stymulacja żuciem gumy nie miała istotnego wpływu na zmiany stężenia lizozymu w ślinie stymulowanej. Można zatem powiedzieć, lizozym jest niezwykle stabilnym parametrem śliny - ślina nawet po dwóch godzinach stymulacji żuciem nie traci swoich właściwości obronnych, zależnych od lizozymu. Odporność o charakterze nieswoistym, za którą odpowiada między innymi lizozym nie ulega istotnemu spadkowi, co sugeruje, że właściwości przeciwbakteryjne oraz

przeciwgrzybicze śliny charakterystyczne dla lizozymu pozostają nadal na wysokim poziomie, nawet przy długotrwałym, trwającym dwie godziny, żuciu gumy.

Żucie gumy a stężenie laktoferyny w ślinie

Olson i wsp.(151) poza badaniem lizozymu opisanym wcześniej, zbadali również w tych samych grupach badawczych poziom laktoferyny. Autorzy nie badali zależności występującej pomiędzy szybkością wydzielania śliny a stężeniem laktoferyny. Oceniali wyłącznie stężenia laktoferyny w ślinie stymulowanej pobieranej przed i po 15-tygodniowym intensywnym żuciu gumy placebo, względnie gumy zawierającej nikotynę. W analizie brali również przy tym pod uwagę, czy dane osoby rzuciły palenie po zastosowaniu którejś z gum. Analiza przedstawionych przez nich wyników wskazuje, że stężenie laktoferyny po okresie intensywnego żucia gumy zarówno placebo, jak i z dodatkiem nikotyny w grupach osób nadal palących papierosy zmniejszyło się średnio o 30 do 35%, w porównaniu do okresu sprzed rozpoczęcia eksperymentu, przy czym szybkość wydzielania śliny nie zmieniła się istotnie. Przed rozpoczęciem eksperymentu w ślinie stymulowanej stężenie laktoferyny miało średnio wartość $15 \pm 1,0 \mu\text{g/ml}$ (przy średniej szybkości wydzielania śliny $1,5 \pm 0,1 \text{ ml/min}$ do $1,6 \pm 0,3 \text{ ml/min}$). Natomiast (przy średniej szybkości wydzielania śliny $1,7 \text{ ml/min}$) po intensywnym 15-tygodniowym żuciu gumy, średnie wartości laktoferyny wynosiły $11 \pm 1,0 \mu\text{g/ml}$ (guma placebo) oraz $10 \pm 1,0 \mu\text{g/ml}$ (guma z dodatkiem nikotyny). Dla porównania w grupie osób, które rzuciły palenie stężenie laktoferyny w ślinie stymulowanej przed rozpoczęciem eksperymentu miało średnio wartość $14 \pm 1,0 \mu\text{g/ml}$ (dla grupy zakwalifikowanej do żucia gumy placebo), $15 \pm 1,0 \mu\text{g/ml}$ (dla grupy zakwalifikowanej do żucia gumy z dodatkiem nikotyny) przy średniej szybkości wydzielania śliny kolejno: $1,5 \pm 0,1 \text{ ml/min}$ do $1,6 \pm 0,3 \text{ ml/min}$. Natomiast po intensywnym 15-tygodniowym żuciu gumy średnie stężenia laktoferyny w grupach osób, którym udało się rzucić nałóg palenia wahały się od $17 \pm 3,0 \mu\text{g/ml}$ (grupa osób żujących gumę placebo) do $14 \pm 2,0 \mu\text{g/ml}$ (grupa osób żujących gumę z dodatkiem nikotyny). Należy zaznaczyć, że stężenie laktoferyny po okresie intensywnego żucia gumy placebo w grupie osób, którym udało się rzucić nałóg palenia wzrosło średnio o 12%, natomiast w grupie osób żujących gumę z dodatkiem nikotyny praktycznie nie uległo zmianie w porównaniu do okresu sprzed rozpoczęcia eksperymentu, przy czym szybkość wydzielania śliny nie zmieniła się istotnie w obu grupach. Podsumowując uzyskane wyniki autorzy stwierdzili istotną statystycznie różnicę w stężeniach laktoferyny ($p < 0,05$) pomiędzy grupą osób nadal palących a grupą osób, które rzuciły palenie. Osoby, którym udało się rzucić nałóg palenia w ciągu 15

tygodni intensywnego żucia gumy miały istotnie wyższe stężenie laktoferyny w ślinie stymulowanej w porównaniu do osób nadal palących.

Odnosząc się do wyników pracy Olson i wsp.(151) należy podkreślić że w moich badaniach analizowałam wyłącznie wpływ bezpośredniego żucia bezcukrowej gumy o smaku miętowym na poziom laktoferyny z uwzględnieniem szybkości wydzielania śliny w ślinie pobieranej w trakcie tego żucia. W ślinie pobieranej w czasie pierwszych 5 minut stymulacji stężenie laktoferyny wynosiło $x=3,0\pm 1,7\mu\text{g/ml}$ i było około 5-krotnie niższe od wartości uzyskanych Olson i wsp. w grupie osób którym udało się rzucić palenie oraz około 3-krotnie niższe w porównaniu do grupy osób nadal palących (Tabela XXIX). Tak duża rozbieżność wyników może być spowodowana m.in. różnymi metodami badań laktoferyny – w pracy własnej zastosowano metodę ELISA, autorzy natomiast zastosowali metodę immunoelektroforetyczną opracowaną w 1972 roku przez Laurell, zmodyfikowaną przez Weeke w 1973.

Analizując wyniki badań własnych dotyczących stężenia laktoferyny w ślinie stymulowanej żuciem gumy nie stwierdziłam występowania zależności pomiędzy stężeniem laktoferyny a szybkością wydzielania śliny stymulowanej, z wyjątkiem ostatniego cyklu pobierania śliny, czyli między 115 a 120 minutą stymulacji (korelacja dodatnia). W przeciwieństwie innych autorów (183) nie stwierdziłam istotnej korelacji pomiędzy stężeniem laktoferyny a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Korelację taką, o charakterze ujemnym stwierdzili w swoim badaniu Sikorska i wsp. (183). Stwierdziłam natomiast występowanie istotnych różnic pomiędzy stężeniami laktoferyny w ślinie stymulowanej w porównaniu do stężeń laktoferyny w ślinie spoczynkowej (Tabela XXIX). Poziom laktoferyny w ślinie stymulowanej istotnie spadał do 60 minuty badania, przy czym wartości te były około 2 razy niższe od stężenia laktoferyny stwierdzanego w ślinie spoczynkowej. Po 90 minutach stymulacji, poziom laktoferyny wzrastał, ale były do wartości o 1/3 niższe od stężenia laktoferyny w ślinie spoczynkowej. Po 115 minutach stymulacji stężenie laktoferyny w ślinie stymulowanej około 2 razy niższe od stężenia laktoferyny w ślinie spoczynkowej. Istotna dodatnia zależność pomiędzy stężeniem laktoferyny w ślinie stymulowanej a stężeniem w ślinie spoczynkowej występowała na początku i pod koniec stymulacji. Należy zaznaczyć, że istotna statystycznie korelacja pomiędzy stężeniem laktoferyny a stężeniem białka całkowitego występowała w ślinie spoczynkowej, natomiast w ślinie stymulowanej taka korelacja występowała między 25 a 60 oraz między 115 a 120 minutą stymulacji żuciem gumy. Laktoferyna, jako jeden z mechanizmów obrony nieswoistej organizmu ma działanie bakteriobójcze, grzybobójcze

oraz zdolność do hamowania replikacji wirusów. Analizując uzyskane wyniki można powiedzieć, że w czasie 120 minut stymulacji żuciem gumy poziom laktoferyny w ślinie stymulowanej jest istotnie niższy niż w ślinie spoczynkowej, co sugeruje, że ślina może tracić część swoich właściwości obronnych zależnych od laktoferyny. Ciekawe są również obserwacje dotyczące zakresu stężeń laktoferyny stwierdzanych w ślinie. Są one duże w przypadku śliny spoczynkowej i utrzymują się przez cały okres stymulacji, z wyjątkiem ostatniego cyklu pobierania śliny – po 120 minutach stymulacji zakres indywidualnych wahań ulega istotnemu zawężeniu. (Tabela XXIX).

Żucie gumy a stężenie IgA w ślinie

W dostępnym piśmiennictwie nie znalazłam publikacji oceniających bezpośredni wpływ stymulacji o charakterze mechaniczno-chemicznym, czyli żucia gumy na stężenie IgA w ślinie. Analizując uzyskane wyniki własne stwierdziłam, że w trakcie 120 minut stymulacji żuciem gumy poziom IgA w ślinie był niższy niż w ślinie spoczynkowej. Stężenie IgA w ślinie stymulowanej pobieranej 5-krotnie w ciągu nieprzerwanej 120-minutowej stymulacji, w każdym przypadku było istotnie niższe od stężenia IgA w ślinie spoczynkowej, przy czym największy spadek (3-krotny) następował w trakcie pierwszych 5 minut stymulacji. Wyniki te sugerują, że w trakcie długotrwałego żucia gumy ślina może tracić część swoich właściwości obronnych zależnych od IgA. Analizując minimalne i maksymalne wartości stężeń IgA uzyskane w tych badaniach stwierdziłam, że zakres stężeń IgA w ślinie stymulowanej był kilkukrotnie mniejszy od obserwowanego zakresu stężeń w ślinie spoczynkowej. Zaobserwowano tym samym, że wraz z czasem trwania stymulacji indywidualne wahania stężeń ulegały zmniejszeniu. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem IgA w ślinie spoczynkowej a stężeniem IgA w ślinie stymulowanej z wyjątkiem śliny zbieranej między 55 a 60 minutą stymulacji (cykl III). Oznacza to, że stężenie IgA w ślinie spoczynkowej nie wpływało na stężenie IgA w ślinie stymulowanej. Należy zaznaczyć, że wyłącznie w ślinie spoczynkowej stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy stężeniem IgA a stężeniem białka całkowitego, natomiast zależność ta nie występowała w ślinie stymulowanej. W ślinie spoczynkowej stwierdzono istotną korelację ujemną pomiędzy stężeniem IgA a szybkością wydzielania śliny. Podobną zależność obserwowano w ślinie stymulowanej dopiero po 115 minutach stymulacji. Uzyskane wyniki badań sugerują, że to IgA stwierdzane w ślinie spoczynkowej ma decydujące znaczenie dla właściwego pełnienia funkcji obronnych przez tę immunoglobulinę.

Stężenie IgA oraz sIgA w aspekcie potencjału obronnego śliny było tematem badań wielu autorów. Tenovuo (196) w swojej pracy oceniającej mechanizmy obronne

występujące w jamie ustnej stwierdził, że średnia dzienna produkcja sIgA u dorosłych pacjentów wahała się w granicach 2-4 g/dobę, a jej stężenie nie spadało wraz z wiekiem, natomiast występowała mniejsza wrażliwość IgA na antygeny. Stwierdził ponadto, że IgA zawsze zależy od szybkości wydzielania śliny zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej, a spadek szybkości wydzielania śliny zawsze wiąże się ze spadkiem stężenia IgA w ślinie. U pacjentów przyjmujących np. leki obniżające ciśnienie tętnicze krwi, następował spadek szybkości wydzielania śliny, co skutkowało mniejszym stężeniem IgA w ślinie, czyli spadkiem zdolności obronnych śliny. Ten sam autor w pracy zbiorowej (198) porównując m.in. stężenie IgA w trzech grupach wiekowych (2-6 miesięcy, 1-3,8 lat, 19-21 lat) stwierdził brak istotnych różnic w stężeniach tej immunoglobuliny pomiędzy badanymi grupami. Jak w opisanym wcześniej badaniu, również i w tej pracy stwierdził istotną ujemną korelację pomiędzy tym parametrem a szybkością wydzielania śliny. W przeciwieństwie do Tenovuo (196,198), Jafarzadeh i wsp. (93) stwierdzili występowanie istotnej statystycznie różnicy w poziomach IgA w poszczególnych grupach wiekowych. Średnie wartości stężenia IgA w ślinie mieszanej w grupie ochotników w wieku 11-20 lat były istotnie wyższe w porównaniu do grupy, obejmującej dzieci w wieku 1-10 lat ($p < 0,01$). Średnie wartości stężenia IgA wzrastały wraz z wiekiem aż do 60 roku życia, następnie nieznacznie spadały u osób w wieku 61-70 lat. Podobna tendencja obserwowana była zarówno u kobiet jak i mężczyzn (93). Podobne badania oceniające wpływ wieku na stężenie IgA przeprowadzili również Eliasson i wsp. (62), którzy stwierdzili, że stężenie IgA było wyższe u starszych uczestników badania (powyżej 65 roku życia) w porównaniu do uczestników w wieku 18-64 lat. Weemaes i wsp. (214) wykazali, że szybkość wydzielania IgA wzrastała w okresie niemowlęctwa i dzieciństwa (1-12 lat). Challacombe i wsp. (27) stwierdzili natomiast, że poziom IgA wzrasta wraz z wiekiem, osiągając maksymalne wartości w najstarszej grupie ochotników, czyli powyżej 80 roku życia.

Zdania autorów dotyczące wpływu IgA na stan jamy ustnej są zróżnicowane (32,93,99,114,144,163,177,178,184). Wyniki badań wskazują na korelację dodatnią, ujemną lub brak korelacji pomiędzy IgA a próchnicą, czy chorobami przyzębia (93,99,150). Ta rozbieżność w wynikach może wynikać z braku w niektórych badaniach grup kontrolnych. Mogą one również zależeć od statusu społecznego oraz „stanu odżywienia” w danej grupie badawczej (93,99). Niewłaściwe odżywianie ma istotny wpływ na działanie systemu immunologicznego oraz pojawianie się chorób zakaźnych (32,114,177). W badaniach, w których oprócz stężenia IgA i jego wpływu na stan jamy ustnej, brano również pod uwagę

wzrost oraz wagę uczestników, nie stwierdzano jednak różnic pomiędzy poszczególnymi grupami badawczymi (150).

Wychodząc z założenia, że IgA i sIgA pełnią rolę obronną błony śluzowej jamy ustnej przed inwazją mikroorganizmów, to niedobór IgA może skutkować pojawieniem się zmian patologicznych na błonie śluzowej, jak i predysponować do chorób przyzębia. Nikfariam i wsp. (150) oceniali stan jamy ustnej pacjentów z selektywnym niedoborem IgA w porównaniu do zdrowej grupy kontrolnej. Autorzy oznaczali stężenie IgA w krwi oraz szybkość wydzielania IgA w ślinie mieszanej spoczynkowej. Średnie wartości szybkości wydzielania IgA w grupie kontrolnej wynosiły 705 μ l/2min, natomiast w grupie z selektywnym niedoborem IgA 427 μ l/2min. Autorzy nie stwierdzili różnicy w stanie jamy ustnej pomiędzy badanymi grupami. Ich zdaniem obniżone stężenie IgA w ślinie może być kompensowane wzrostem stężenia sIgM, wzrostem aktywności fagocytarnej komórek, odporności komórkowej oraz przez mechanizmy nieswoiste (lizozy i peroksydazę). Jones J. & Mason D.(101) oraz Scully C. & Cowson R. (177) uważają jednak, że niedobory IgA mogą być odpowiedzialne za pojawianie się zmian na błonie śluzowej jamy ustnej o charakterze aft nawracających, nawracających zakażeń wirusem opryszczki, a także zapaleniem migdałków, zapaleniem gardła, czy zakażeń grzybiczych.

VI. Wnioski

Na podstawie uzyskanych wyników badań, sformułowano w odniesieniu do poszczególnych rodzajów stymulacji wydzielania śliny, następujące wnioski:

1. Podczas 30-minutowej stymulacji mechanicznej wydzielania śliny:

- a) w porównaniu do śliny mieszanej spoczynkowej istotnie wzrastała szybkość wydzielania śliny i wartość pH, natomiast istotnemu obniżeniu ulegała lepkość śliny oraz istotnie spadało stężenie jonów wapnia, fosforanów nieorganicznych, białka całkowitego, laktoferyny i IgA;
 - zmiany dotyczące szybkości wydzielania śliny i pH (wzrost), stężenia jonów fosforanowych, białka całkowitego, laktoferyny i IgA (obniżenie) były istotne statystycznie już od początku stymulacji i utrzymywały się przez cały czas jej trwania;
 - zmiany dotyczące lepkości śliny i stężenia jonów wapnia (obniżenie), stały się istotne statystycznie dopiero po dłuższej stymulacji i następnie utrzymywały się do końca jej trwania;
- b) niezależnie od czasu trwania stymulacji, zdolności buforowe śliny i stężenie lizozymu w ślinie stymulowanej nie zmieniały się istotnie w porównaniu do śliny mieszanej spoczynkowej.

2. Podczas 25-minutowej stymulacji chemicznej wydzielania śliny kwasem cytrynowym:

- a) w porównaniu do śliny mieszanej spoczynkowej, w ślinie wzrastała istotnie wartość pH i stężenie jonów wapnia, natomiast istotnie obniżało się stężenie białka całkowitego, lizozymu, laktoferyny i IgA;
 - zmiany dotyczące stężenia jonów wapnia (wzrost), lizozymu i IgA (obniżenie), były istotne statystycznie już od początku stymulacji i utrzymywały się do końca stymulacji, poza lizozymem, który po 20 minutach stymulacji ponownie osiągał wartości zbliżone do śliny spoczynkowej;
 - zmiany dotyczące pH (wzrost) były istotne statystycznie dopiero po 5 minutach stymulacji i utrzymywały się przez pozostały czas trwania stymulacji;

- zmiany dotyczące stężenia białka całkowitego (obniżenie) były istotne statystycznie dopiero po 20 minutach stymulacji i utrzymywały się do końca stymulacji;
 - zmiany dotyczące stężenia laktoferyny (obniżenie) były istotne statystycznie po 10 minutach trwania stymulacji, a następnie obserwowano istotną tendencję wzrostową;
- b) niezależnie od czasu trwania stymulacji szybkość wydzielania śliny stymulowanej i jej zdolności buforowe nie zmieniały się istotnie w porównaniu do śliny mieszanej spoczynkowej.
- 3. Podczas 120-minutowej stymulacji mechaniczno-chemicznej żuciem bezcukrowej gumy:**
- a) w porównaniu do śliny mieszanej spoczynkowej istotnie wzrastała szybkość wydzielania śliny mieszanej, wartość pH i jej zdolności buforowe, natomiast istotnemu obniżeniu ulegała lepkość śliny oraz istotnie spadało stężenie jonów wapnia, białka całkowitego, laktoferyny i IgA.
- zmiany dotyczące szybkości wydzielania śliny i wartości pH (wzrost), stężenia białka całkowitego, laktoferyny i IgA (obniżenie) były istotne statystycznie już od początku stymulacji i utrzymywały się do jej końca;
 - zmiany dotyczące lepkości śliny i stężenia jonów wapnia (obniżenie) stały się istotne statystycznie dopiero po dłuższej stymulacji i utrzymywały się do jej końca;
 - zmiany dotyczące zdolności buforowych śliny (wzrost) były jednoznacznie istotne statystycznie po 115 minutach stymulacji;
- b) niezależnie od czasu trwania stymulacji stężenie lizozymu w ślinie stymulowanej nie zmieniało się istotnie w porównaniu do śliny mieszanej spoczynkowej.
4. Przez cały okres stymulacji, niezależnie od czasu pobrania śliny, pomiędzy wartościami stwierdzanymi w ślinie stymulowanej i w ślinie spoczynkowej, występowały istotne statystycznie współzależności o charakterze korelacji dodatniej. Zależność taką stwierdzono w przypadku pH, lepkości, stężenia fosforanów nieorganicznych, białka całkowitego i IgA (stymulacja mechaniczna); pH, stężenia białka całkowitego i IgA (stymulacja chemiczna); lepkości, stężenia białka całkowitego i lizozymu (stymulacja mechaniczno-chemiczna).

5. Spośród badanych parametrów w czasie pierwszych 5 minut stymulacji, szybkość wydzielania śliny stymulowanej korelowała ujemnie tylko ze stężeniem IgA (stymulacja mechaniczna), stężeniem jonów wodorowych, laktoferyny oraz IgA (stymulacja chemiczna) i zależność ta utrzymywała się przez cały okres trwania stymulacji tylko w przypadku stężenia jonów wodorowych i IgA.
6. Podczas długotrwałej stymulacji mechanicznej, chemicznej i mechaniczno-chemicznej może dochodzić do obniżenia właściwości obronnych śliny, którą może spowodować utrzymujący się spadek stężenia laktoferyny i IgA w ślinie stymulowanej. Właściwości obronne śliny związane z lizozymem mogą nie ulegać zmianom, ze względu na stabilny poziom tego białka.
7. Podczas długotrwałej stymulacji mechanicznej i mechaniczno-chemicznej może dochodzić do obniżenia właściwości remineralizacyjnych śliny związanych ze zmniejszeniem stężenia badanych składników mineralnych (stymulacja mechaniczna: jony wapnia i jony fosforanowe; stymulacja mechaniczno-chemiczna: jony wapnia).

VII. Streszczenie

Ślina stanowi naturalne środowisko dla tkanek miękkich oraz twardych jamy ustnej. Odpowiedzialna jest za utrzymanie homeostazy oraz zdrowia jamy ustnej. Pełni liczne funkcje do których zaliczyć można ułatwienie formowania kęsa pokarmowego, ochronę błony śluzowej przed mechanicznymi uszkodzeniami, wstępny proces trawienia. Ślina ponadto umożliwia odczucia smaku, rozpuszczając drobne molekuły, które docierają do kubków smakowych, oraz ma zdolność buforowania kwasów pochodzących z pokarmów dzięki dwuwęglanom. Ślina bierze również udział w remineralizacji drobnych ubytków szkliwa dzięki licznym jonom nieorganicznym. Obronna rola śliny przed mikroorganizmami jest możliwa dzięki systemowi odporności swoistej (immunoglobuliny) oraz nieswoistej (np. lizozym, laktoferyna, peroksydaza, nystatyny, histatyny).

Skład ilościowy oraz jakościowy śliny może ulegać wahaniom zarówno pod wpływem czynników fizjologicznych jak i patologicznych. Do czynników tych można zaliczyć: zapach i smak bodźca stymulacyjnego, żucie, stan psychiczny oraz hormonalny organizmu, czynniki dziedziczne, stan higieny jamy ustnej, czy też wysiłek fizyczny.

Wydzielanie śliny stymulowane bodźcami o charakterze mechanicznym, niezależnym od spożywania pokarmów oraz czysto chemicznym (stymulacja z wykorzystaniem kwasu cytrynowego) były przedmiotem licznych badań. Oba rodzaje stymulacji powodują wzrost szybkości wydzielania śliny chroniąc błonę śluzową przed potencjalnymi czynnikami uszkadzającymi. Połączenie bodźca smakowego z mechanicznym może powodować jeszcze większy wzrost szybkości wydzielania śliny w porównaniu do wyżej wspomnianych czynników.

Cel pracy

Celem podjętej pracy była ocena wpływu różnych typów stymulacji (mechanicznej, chemicznej, mechaniczno-chemicznej) oraz czasu trwania stymulacji na szybkość wydzielania śliny mieszanej i na jej właściwości (pH, zdolności buforowe, lepkość, stężenie fosforanów nieorganicznych, jonów wapnia, IgA, lizozymu, laktoferyny, białka całkowitego).

Material i metodyka badań

Badaniem objęto 110 ochotników w wieku od 22 do 37 lat . Od każdej osoby zebrano wywiad dotyczący aktualnych oraz przebytych chorób, nawyków higienicznych, obecnych nałogów (w tym palenia papierosów, przyjmowanych leków) a także zaburzeń w wydzielaniu śliny oraz związanego z tym uczucia suchości jamy ustnej. Na podstawie zebranego wywiadu do udziału w dalszych badaniach zakwalifikowano 100 ogólnie

zdrowych osób (58 kobiet, 42 mężczyzn) w wieku 20-36 lat ($22,06 \pm 3,1$), z prawidłowym wydzielaniem śliny, nie zgłaszających żadnych dolegliwości ze strony jamy ustnej. Następnie badanych podzielono losowo na 3 grupy. W każdej grupie od badanych pobrano ślinę mieszaną spoczynkową oraz ślinę mieszaną stymulowaną. Wydzielanie śliny w **Grupie I** stymulowano mechanicznie, w **Grupie II** chemicznie, a w **Grupie III** mechaniczno-chemicznie. W każdej z grup oceniano szybkość wydzielania śliny mieszanej, jej pH oraz zdolności buforowe, lepkość, stężenie fosforanów nieorganicznych, jonów wapnia, IgA, lizozymu, laktoferyny, białka całkowitego. Punktem odniesienia dla uzyskanych wyników dla śliny mieszanej stymulowanej była ślina mieszaną spoczynkową.

Stymulacja mechaniczna wydzielania śliny (Grupa I) - od osób zakwalifikowanych do **grupy I** pobrano ślinę mieszaną spoczynkową oraz ślinę mieszaną stymulowaną mechanicznie (Schemat 2). Pobieranie śliny spoczynkowej rozpoczynano się między godziną 12.00 a 13.00 (cykl „0”). W okresie poprzedzającym zbieranie śliny badani wolontariusze nie jedli, nie żuli gumy, nie palili papierosów, ani nie płukali jamy ustnej. Ślinę spoczynkową zbierano przez 5 min do sterylnych, silikonowych probówek typu Corning umieszczanych następnie w lodzie. Po 15 minutowej przerwie rozpoczynano pobieranie śliny stymulowanej mechanicznie. Ślinę stymulowaną zbierano 6-krotnie, każdorazowo przez 5 minut, w trakcie nieprzerwanej 30-minutowej stymulacji (cykle od I do VI). Wydzielanie śliny stymulowano mechanicznie poprzez obustronne żucie plastikowego krążka o średnicy 1 cm i grubości 0,5 cm. Każdy z badanych w trakcie 30 minutowej stymulacji zebrał po 6 próbek śliny. W trakcie całego badania ślina była zbierana łącznie przez 30 minut (6 razy po 5 minut). Śliny do badań nie odwirowywano. Bezpośrednio po zebraniu ślina była zamrażana i przechowywana w -70°C . Pobieranie śliny spoczynkowej oraz stymulowanej wraz z przerwą trwało każdorazowo łącznie 50 minut.

Stymulacja chemiczna wydzielania śliny (Grupa II) - od osób zakwalifikowanych do **grupy II** pobrano ślinę mieszaną spoczynkową oraz ślinę mieszaną stymulowaną chemicznie kwasem cytrynowym (Schemat 3). Pobieranie śliny spoczynkowej rozpoczynano między godziną 12.00 a 13.00 (cykl „0”). W okresie poprzedzającym zbieranie śliny badani wolontariusze nie jedli, nie żuli gumy, nie palili papierosów, ani nie płukali jamy ustnej. Ślinę spoczynkową zbierano przez 5 min do sterylnych, silikonowych probówek typu Corning umieszczanych następnie w lodzie. Po 15 minutowej przerwie rozpoczynano zbieranie śliny stymulowanej chemicznie (cykl od I do V). Wydzielanie śliny stymulowano poprzez podawanie 2 kropli soku cytrynowego na język co 2,5 min. Pobieranie śliny miało każdorazowo następujący przebieg: ślina była gromadzona w jamie

ustnej przez 2,5 min, po czym wypluwana do probówki, czynność tę powtarzano 2-krotnie, w każdym 5 minutowym cyklu. Każdy z badanych w trakcie 25-minutowej stymulacji zebrał po 5 prób śliny. W sumie w trakcie całego badania ślina była zbierana łącznie przez 25 minut (5 razy po 5 minut). Śliny do badań nie odwirowywano. Bezpośrednio po zebraniu ślina była zamrażana i przechowywana w -70°C . Pobieranie śliny spoczynkowej oraz stymulowanej wraz z przerwą trwało każdorazowo łącznie ok. 45 minut.

Stymulacja mechaniczno-chemiczna wydzielania śliny (Grupa III) - od osób zakwalifikowanych do **grupy III** pobrano ślinę mieszaną spoczynkową oraz ślinę mieszaną stymulowaną mechaniczno-chemicznie żuciem gumy (Schemat 4). Pobieranie śliny spoczynkowej rozpoczynano między godziną 12.00 a 13.00 (cykl „0”). W okresie poprzedzającym zbieranie śliny badani wolontariusze nie jedli, nie żuli gumy, nie palili papierosów, ani nie płukali jamy ustnej. Ślinę spoczynkową zbierano przez 5 min do sterylnych, silikonowych probówek typu Corning umieszczanych następnie w lodzie. Po 15 minutowej przerwie rozpoczynano zbieranie śliny stymulowanej mechaniczno-chemicznie nieprzerwanie przez 120 minut żuciem gumy. Próbkę śliny pobierano w trakcie stymulacji 5-krotnie w określonych przedziałach czasowych: między 0 a 5 minutą stymulacji (cykl I), 25-30 (cykl II), 55-60 (cykl III), 85-90 (cykl IV), oraz między 115 a 120 minutą stymulacji (cykl V). Aby utrzymać warunki badania na podobnym poziomie (stymulacja chemiczna), listek gumy do żucia wymieniano co 30 min. Należy zaznaczyć, iż podczas określonych w schemacie 4 przedziałach czasowych, ślina była zbierana do probówki przez 5 minut, a przez kolejne 25 minut żucia gumy połykana. Każdy z badanych zebrał po 5 prób śliny stymulowanej. W sumie w trakcie całej stymulacji, trwającej 120 minut, ślina była zbierana łącznie przez 25 minut (5 razy po 5 minut). Bezpośrednio po zebraniu ślina była zamrażana i przechowywana w -70°C . Całe badanie obejmujące pobranie śliny spoczynkowej, przerwę oraz żucie gumy, w trakcie którego pobierano ślinę stymulowaną trwało każdorazowo łącznie około 140 minut.

W badaniach wykorzystano gumę do żucia – firmy Wrigley’s Orbit bez cukru o składzie: sorbitol, syrop maltitiolu, mannitol, acesulfam K, aspartam, baza gumowa, substancja utrzymująca wilgotność (glicerol), aromaty, przeciwutleniacz BHA. Guma nie zawierała dodatków jonów nieorganicznych tj.: wapnia i fosforanów.

Autorka pracy uzyskała zgodę Niezależnej Komisji Etyki Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym na wykonanie wszystkich badań, które zostały wykorzystane w przedstawionej pracy.

Wyniki i ich omówienie

Uzyskane wyniki wykonanych badań zostały przedstawione w tabelach od I do XXX, oraz na schematach 5ABC,6ABC oraz 7ABC.

Stymulacja mechaniczna wydzielania śliny żuciem plastikowego krążka (Grupa I)

Analizując uzyskane wyniki w **grupie I**, w której wydzielanie śliny stymulowano mechanicznie można stwierdzić, że szybkość wydzielania śliny stymulowanej była każdorazowo wyższa od szybkości wydzielania śliny spoczynkowej. Wartości pH śliny stymulowanej również były każdorazowo wyższe od wartości pH śliny spoczynkowej. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy szybkością wydzielania śliny zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej a wartościami pH. Zdolności buforowe śliny po jednej minucie od dodania kwasu HCl były każdorazowo wyższe w ślinie stymulowanej w porównaniu do śliny spoczynkowej. Korelacja o charakterze dodatnim pomiędzy zdolnościami buforowymi a szybkością wydzielania śliny występowała wyłącznie w ślinie spoczynkowej. Lepkość śliny stymulowanej była każdorazowo wyższa od lepkości śliny spoczynkowej. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy lepkością a szybkością wydzielania śliny, oraz pomiędzy lepkością a stężeniem białka całkowitego zarówno w ślinie spoczynkowej jak i stymulowanej. Stężenie jonów wapnia oraz fosforanów w ślinie stymulowanej było każdorazowo niższe w ślinie stymulowanej w porównaniu do stężeń stwierdzanych w ślinie spoczynkowej. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem jonów wapnia a szybkością wydzielania śliny zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej. Korelacja taka, o charakterze ujemnym występowała natomiast w przypadku stężenia fosforanów nieorganicznych w ślinie spoczynkowej, oraz pod koniec badania, czyli po 20 minutach stymulacji i była ona istotna aż do końca badania, czyli 30 minut. Stężenie białka całkowitego w ślinie stymulowanej było każdorazowo niższe w ślinie stymulowanej w porównaniu do stężeń białka całkowitego stwierdzanych w ślinie spoczynkowej. Stwierdzono istotną statystycznie korelację o charakterze ujemnym pomiędzy stężeniem białka całkowitego a szybkością wydzielania śliny stymulowanej już po 5 minutach badania. Powyższej korelacji nie stwierdzono w ślinie spoczynkowej. Analizując mediany oraz średnie wartości stężeń lizozymu można stwierdzić, iż nie różniły się one istotnie pomiędzy śliną spoczynkową a stymulowaną. Ponadto niezależnie od czasu trwania stymulacji stężenie lizozymu w badanej ślinie stymulowanej w poszczególnych cyklach było podobne. Nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy stężeniem lizozymu a szybkością wydzielania śliny zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej. Nie stwierdzono również zależności pomiędzy stężeniem lizozymu a stężeniem białka całkowitego w ślinie, zarówno spoczynkowej jak i

stymulowanej. Stężenie laktoferyny oraz IgA w ślinie stymulowanej było każdorazowo niższe w porównaniu do stężeń laktoferyny oraz IgA stwierdzanych w ślinie spoczynkowej. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem laktoferyny w ślinie a szybkością wydzielania śliny zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej. Stwierdzono istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy stężeniem laktoferyny a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej. Powyższej korelacji nie stwierdzono w ślinie stymulowanej. W przypadku IgA zauważono istotną statystycznie ujemną korelację pomiędzy stężeniem IgA a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej oraz pomiędzy poziomem IgA w ślinie a szybkością wydzielania śliny stymulowanej na początku stymulacji (cykl I), oraz po 10 i 25 minutach stymulacji (cykl III i VI). Stwierdzono ponadto istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy stężeniem IgA a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej. Powyższą korelację stwierdzono również w ślinie stymulowanej, z wyjątkiem śliny pobieranej w cyklu III.

Stymulacja chemiczna wydzielania śliny kwaskiem cytrynowym (Grupa II)

Analizując wyniki uzyskane w **grupie II**, w której wydzielanie śliny stymulowano chemicznie kwaskiem cytrynowym szybkość wydzielania śliny stymulowanej była niższa w porównaniu do szybkości wydzielania śliny spoczynkowej. Wartości pH śliny stymulowanej były każdorazowo wyższe w porównaniu do śliny spoczynkowej. Stwierdzono istotną statystycznie korelację o charakterze dodatnim pomiędzy pH a szybkością wydzielania śliny stymulowanej. Powyższej korelacji nie stwierdzono w przypadku śliny spoczynkowej. Zdolności buforowe śliny po 1 minucie od dodania kwasu HCl były niższe w ślinie stymulowanej, z wyjątkiem śliny pobieranej przez pierwsze 5 minut stymulacji w porównaniu do śliny spoczynkowej. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy zdolnościami buforowymi śliny a szybkością wydzielania zarówno śliny spoczynkowej jak i stymulowanej. Stężenie jonów wapnia w ślinie stymulowanej było każdorazowo wyższe w porównaniu do stężeń stwierdzanych w ślinie spoczynkowej. Stwierdzono istotną statystycznie ujemną korelację pomiędzy stężeniem jonów wapnia a szybkością wydzielania śliny po 5 oraz 20 minutach stymulacji. Powyższej korelacji nie stwierdzono w przypadku śliny spoczynkowej. Stężenie białka całkowitego, lizozymu, laktoferyny oraz IgA było każdorazowo niższe w ślinie stymulowanej w porównaniu do wartości stężeń tych białek w ślinie spoczynkowej. W przypadku białka całkowitego oraz lizozymu nie stwierdzono korelacji pomiędzy tymi białkami a szybkością wydzielania śliny zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej. Nie stwierdzono również korelacji pomiędzy stężeniem lizozymu a stężeniem białka całkowitego zarówno spoczynkowej jak i

stymulowanej. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem laktoferyny a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Natomiast stwierdzono ujemną korelację pomiędzy poziomem laktoferyny w ślinie stymulowanej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej. Korelacja ta była istotna statystycznie już na początku badania (cykl I), a szczególnie po 10 minutach stymulacji (cykl III,IV). Stwierdzono istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy stężeniem laktoferyny a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej, oraz pomiędzy stężeniem laktoferyny a białkiem całkowitym w ślinie stymulowanej między 20 a 25 minutą stymulacji (cykl VI). W przypadku IgA stwierdzono istotną ujemną korelację pomiędzy stężeniem tej immunoglobuliny a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej, oraz pomiędzy stężeniem IgA a szybkością wydzielania śliny stymulowanej, która utrzymywała się niezależnie od czasu trwania stymulacji. Stwierdzono również występowanie dodatniej korelacji pomiędzy stężeniem IgA a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej. Powyższej zależności nie stwierdzono w ślinie stymulowanej.

Stymulacja mechaniczno-chemiczna wydzielania śliny żuciem bezcukrowej gumy miętowej (Grupa III)

Analizując wyniki uzyskane w **grupie III**, w której wydzielanie śliny stymulowano mechaniczno-chemicznie żuciem gumy stwierdzono, że szybkość wydzielania śliny stymulowanej była każdorazowo wyższa w porównaniu do szybkości wydzielania śliny spoczynkowej. Wartości pH śliny stymulowanej również były każdorazowo wyższe w ślinie stymulowanej w porównaniu do wartości stwierdzanych w ślinie spoczynkowej. Nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy wartościami pH śliny spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Powyższą korelację stwierdzono natomiast pomiędzy wartościami pH a szybkością wydzielania śliny stymulowanej w cyklu II, po 25 minutach, oraz cyklu V, po 115 minutach stymulacji. Korelacja ta miała charakter dodatni. Analizując mediany oraz średnie wartości zdolności buforowych stwierdzono istotne różnice pomiędzy zdolnościami buforowymi śliny spoczynkowej a zdolnościami buforowymi śliny stymulowanej, ocenianymi po upływie jednej minuty od dodania HCl. Nie stwierdzono występowania istotnych różnic pomiędzy zdolnościami buforowymi stwierdzanymi w ślinie pobieranej w kolejnych cyklach. Nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy zdolnościami buforowymi śliny spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Stwierdzono natomiast istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy zdolnościami buforowymi śliny, ocenianymi zarówno po jednej minucie od dodania HCl (cykl IV) a szybkością wydzielania śliny stymulowanej, czyli po 85 minutach stymulacji. Lepkość śliny stymulowanej była niższa od lepkości stwierdzanej w ślinie spoczynkowej, z

wyjątkiem pierwszych pięciu minut stymulacji, podczas których była nieznacznie wyższa. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy lepkością a szybkością wydzielania śliny oraz stężeniem białka całkowitego zarówno w ślinie spoczynkowej jak i stymulowanej. Stężenie jonów wapnia w ślinie stymulowanej było wyższe od stężenia jonów wapnia w ślinie spoczynkowej, z wyjątkiem pierwszych pięciu minut stymulacji. Istotna dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem jonów wapnia w szybkością wydzielania śliny występowała wyłącznie w ślinie stymulowanej, pomiędzy 55 a 60 minutą stymulacji. Stężenie białka całkowitego w ślinie stymulowanej było każdorazowo niższe w porównaniu do stężenia białka całkowitego w ślinie spoczynkowej. Istotna statystycznie korelacja pomiędzy szybkością wydzielania śliny a stężeniem białka całkowitego występowała wyłącznie w ślinie stymulowanej, po 115 minutach stymulacji. Stężenie lizozymu w ślinie stymulowanej było każdorazowo wyższe w porównaniu do stężenia lizozymu w ślinie spoczynkowej. Istotna dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem lizozymu a szybkością wydzielania śliny występowała wyłącznie w ślinie stymulowanej, pomiędzy 55 a 60 minutą stymulacji. Nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy stężeniem lizozymu a stężeniem białka całkowitego w ślinie, zarówno spoczynkowej jak i stymulowanej. W przypadku laktoferyny oraz IgA stężenia tych białek w ślinie stymulowanej były każdorazowo niższe w porównaniu do stężeń stwierdzanych w ślinie spoczynkowej. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem laktoferyny w ślinie spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej. Dodatnią istotną korelację pomiędzy poziomem laktoferyny w ślinie stymulowanej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej stwierdzono wyłącznie po 115 minutach stymulacji. Stwierdzono również istotną statystycznie korelację pomiędzy stężeniem laktoferyny a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej, oraz pomiędzy stężeniem laktoferyny a stężeniem białka całkowitego w ślinie stymulowanej (z wyjątkiem śliny pobieranej przez pierwsze 5 minut stymulacji oraz pomiędzy 85 a 90 minutą). Stwierdzono istotną ujemną korelację pomiędzy poziomem IgA w ślinie spoczynkowej a szybkością wydzielania śliny spoczynkowej oraz pomiędzy stężeniem IgA w ślinie stymulowanej a szybkością wydzielania śliny stymulowanej szczególnie w ślinie pobieranej między 115 a 120 minutą stymulacji. Ponadto stwierdzono istotną korelację pomiędzy stężeniem IgA a stężeniem białka całkowitego w ślinie spoczynkowej. Powyższej korelacji nie stwierdzono w ślinie stymulowanej.

Na podstawie analizy uzyskanych wyników wyciągnięto następujące wnioski:

1. Podczas 30-minutowej stymulacji mechanicznej wydzielania śliny:

- a) w porównaniu do śliny mieszanej spoczynkowej istotnie wzrastała szybkość wydzielania śliny i wartość pH, natomiast istotnemu obniżeniu ulegała lepkość śliny oraz istotnie spadało stężenie jonów wapnia, fosforanów nieorganicznych, białka całkowitego, laktoferyny i IgA;
 - zmiany dotyczące szybkości wydzielania śliny i pH (wzrost), stężenia jonów fosforanowych, białka całkowitego, laktoferyny i IgA (obniżenie) były istotne statystycznie już od początku stymulacji i utrzymywały się przez cały czas jej trwania;
 - zmiany dotyczące lepkości śliny i stężenia jonów wapnia (obniżenie), stały się istotne statystycznie dopiero po dłuższej stymulacji i następnie utrzymywały się do końca jej trwania;
- b) niezależnie od czasu trwania stymulacji, zdolności buforowe śliny i stężenie lizozymu w ślinie stymulowanej nie zmieniały się istotnie w porównaniu do śliny mieszanej spoczynkowej.

2. Podczas 25-minutowej stymulacji chemicznej wydzielania śliny kwasem cytrynowym:

- a) w porównaniu do śliny mieszanej spoczynkowej, w ślinie wzrastała istotnie wartość pH i stężenie jonów wapnia, natomiast istotnie obniżało się stężenie białka całkowitego, lizozymu, laktoferyny i IgA;
 - zmiany dotyczące stężenia jonów wapnia (wzrost), lizozymu i IgA (obniżenie), były istotne statystycznie już od początku stymulacji i utrzymywały się do końca stymulacji, poza lizozymem, który po 20 minutach stymulacji ponownie osiągał wartości zbliżone do śliny spoczynkowej;
 - zmiany dotyczące pH (wzrost) były istotne statystycznie dopiero po 5 minutach stymulacji i utrzymywały się przez pozostały czas trwania stymulacji;
 - zmiany dotyczące stężenia białka całkowitego (obniżenie) były istotne statystycznie dopiero po 20 minutach stymulacji i utrzymywały się do końca stymulacji;

- zmiany dotyczące stężenia laktoferyny (obniżenie) były istotne statystycznie po 10 minutach trwania stymulacji, a następnie obserwowano istotną tendencję wzrostową;
 - b) niezależnie od czasu trwania stymulacji szybkość wydzielania śliny stymulowanej i jej zdolności buforowe nie zmieniały się istotnie w porównaniu do śliny mieszanej spoczynkowej.
- 3. Podczas 120-minutowej stymulacji mechaniczno-chemicznej żuciem bezcukrowej gumy:**
- a) w porównaniu do śliny mieszanej spoczynkowej istotnie wzrastała szybkość wydzielania śliny mieszanej, wartość pH i jej zdolności buforowe, natomiast istotnemu obniżeniu ulegała lepkość śliny oraz istotnie spadało stężenie jonów wapnia, białka całkowitego, laktoferyny i IgA.
 - zmiany dotyczące szybkości wydzielania śliny i wartości pH (wzrost), stężenia białka całkowitego, laktoferyny i IgA (obniżenie) były istotne statystycznie już od początku stymulacji i utrzymywały się do jej końca;
 - zmiany dotyczące lepkości śliny i stężenia jonów wapnia (obniżenie) stały się istotne statystycznie dopiero po dłuższej stymulacji i utrzymywały się do jej końca;
 - zmiany dotyczące zdolności buforowych śliny (wzrost) były jednoznacznie istotne statystycznie po 115 minutach stymulacji;
 - b) niezależnie od czasu trwania stymulacji stężenie lizozymu w ślinie stymulowanej nie zmieniało się istotnie w porównaniu do śliny mieszanej spoczynkowej.
4. Przez cały okres stymulacji, niezależnie od czasu pobrania śliny, pomiędzy wartościami stwierdzanymi w ślinie stymulowanej i w ślinie spoczynkowej, występowały istotne statystycznie współzależności o charakterze korelacji dodatniej. Zależność taką stwierdzono w przypadku pH, lepkości, stężenia fosforanów nieorganicznych, białka całkowitego i IgA (stymulacja mechaniczna); pH, stężenia białka całkowitego i IgA (stymulacja chemiczna); lepkości, stężenia białka całkowitego i lizozymu (stymulacja mechaniczno-chemiczna).
5. Spośród badanych parametrów w czasie pierwszych 5 minut stymulacji, szybkość wydzielania śliny stymulowanej korelowała ujemnie tylko ze stężeniem IgA (stymulacja mechaniczna), stężeniem jonów wodorowych, laktoferyny oraz IgA

(stymulacja chemiczna) i zależność ta utrzymywała się przez cały okres trwania stymulacji tylko w przypadku stężenia jonów wodorowych i IgA.

6. Podczas długotrwałej stymulacji mechanicznej, chemicznej i mechaniczno-chemicznej może dochodzić do obniżenia właściwości obronnych śliny, którą może spowodować utrzymujący się spadek stężenia laktoferyny i IgA w ślinie stymulowanej. Właściwości obronne śliny związane z lizozymem mogą nie ulegać zmianom, ze względu na stabilny poziom tego białka.
7. Podczas długotrwałej stymulacji mechanicznej i mechaniczno-chemicznej może dochodzić do obniżenia właściwości remineralizacyjnych śliny związanych ze zmniejszeniem stężenia badanych składników mineralnych (stymulacja mechaniczna: jony wapnia i jony fosforanowe; stymulacja mechaniczno-chemiczna: jony wapnia).

VIII. Spis Schematów

Schemat 1. Tworzenie śliny pierwotnej i ostatecznej (opracowane według Fejeskov, Tadlock)

Schemat 2. Procedura pobierania śliny spoczynkowej oraz śliny stymulowanej mechanicznie, żuciem plastikowego krążka

Schemat 3. Procedura pobierania śliny spoczynkowej oraz śliny stymulowanej chemicznie, kwaskiem cytrynowym

Schemat 4. Procedura pobierania śliny spoczynkowej oraz śliny stymulowanej mechaniczno-chemicznie żuciem gumy

Schemat 5. Zestawienie statystycznie znamiennej współzależności występujących pomiędzy szybkością wydzielania śliny a badanymi parametrami śliny w Grupie I (stymulacja mechaniczna) pobieranych w wybranych cyklach badania.

Schemat 6. Zestawienie statystycznie znamiennej współzależności występujących pomiędzy szybkością wydzielania śliny a badanymi parametrami śliny w Grupie II (stymulacja chemiczna) pobieranych w wybranych cyklach badania.

Schemat 7. Zestawienie statystycznie znamiennej współzależności występujących pomiędzy szybkością wydzielania śliny a badanymi parametrami śliny w Grupie III (stymulacja mechaniczno-chemiczna) pobieranych w wybranych cyklach badania.

IX. Spis tabel

Tabela I. Szybkość wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krążka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Tabela II. Stężenie jonów wodorowych (pH) śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krążka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Tabela III. Stężenie jonów wodorowych (pH) w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krążka) po dodaniu kwasu u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Tabela IV. Zdolności buforowe śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krążka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Tabela V. Lepkość śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krążka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Tabela VI. Stężenie jonów wapnia w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krążka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Tabela VII. Stężenie fosforanów nieorganicznych w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krążka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Tabela VIII. Stężenie białka całkowitego w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krążka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Tabela IX. Stężenie lizozymu w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krążka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Tabela X. Stężenie laktoferyny w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krążka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Tabela XI. Stężenie IgA w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej mechanicznie (żucie plastikowego krążka) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 21 do 34 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA I)

Tabela XII. Szybkość wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Tabela XIII. Stężenie jonów wodorowych (pH) śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Tabela XIV. Stężenie jonów wodorowych śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) po dodaniu kwasu u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Tabela XV. Zdolności buforowe śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Tabela XVI. Stężenie jonów wapnia w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Tabela XVII. Stężenie białka całkowitego w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Tabela XVIII. Stężenie lizozymu w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Tabela XIX. Stężenie laktoferyny w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Tabela XX. Stężenie IgA w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej chemicznie (kwasek cytrynowy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 19 do 33 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA II)

Tabela XXI. Szybkość wydzielania śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Tabela XXII. Stężenie jonów wodorowych (pH) śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Tabela XXIII. Stężenie jonów wodorowych (pH) śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) po dodaniu kwasu u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Tabela XXIV. Zdolności buforowe śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Tabela XXV. Lepkość śliny mieszanej spoczynkowej oraz śliny mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Tabela XXVI. Stężenie jonów wapnia w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Tabela XXVII. Stężenie białka całkowitego w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Tabela XXVIII. Stężenie lizozymu w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Tabela XXIX. Stężenie laktoferyny w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

Tabela XXX. Stężenie IgA w ślinie mieszanej spoczynkowej oraz ślinie mieszanej stymulowanej mechaniczno-chemicznie (żucie gumy) u osób ogólnie zdrowych w wieku od 20 do 36 lat z uwzględnieniem czasu trwania stymulacji (GRUPA III)

X. Piśmiennictwo

1. Adamik B., Właszczuk A.: Laktoferyna- rola w obronie jamy ustnej przed infekcją i właściwości immunotropowe. *Post.Hig.Med.Dośw.* 1996; 50, 33-41
2. Almstahl A., Wikstrom M., Groenink J.: Lactoferrin, amylase and mucin MUC5B and their relation to the oral microflora in hyposalivation of different origins. *Oral.Microbiol Immunol* 2001; 16, 345-352
3. Amerongen A.V., Nieuw Veerman E.C.I.: Salivary glands and saliva. Saliva – the defender of the oral cavity. *Oral Diseases* 2002; 8, 12-22
4. Anderson D.J., Hector M.P., Linden R.W.A.: The effects of unilateral and bilateral chewing, empty clenching and simulated bruxism, on the masticatory – parotid salivary reflex in man. *Exp Physiol* 1996; 81, 305-312
5. Anderson L.A., Orchardson R.: The effect of chewing bicarbonate-containing gum on salivary flow rate and pH in humans. *Arch. Oral. Biol.* 2003; 48, 201-204
6. Anderson P., Hector M.P., Rampersad M.A.: Critical pH in resting and stimulated whole saliva in groups of children and adults. *Int. J. Paediatric Dent.* 2001; 11, 266-273
7. Aps J.K.M., Martens L.C.: Review: The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. *Forensic Science Int.* 2005; 119-131
8. Bachanek T.: Wybrane aspekty immunologiczne w próchnicy zębów u dzieci. *Przegląd Stomatologii Wieku Rozwojowego*, V, 1993; 1-2, 45-47
9. Bachanek T., Nakonieczna-Rudnicka M., Kowalczyk K., Stryjecka-Zimmer M.: The Mount of calcium, magnesium and inorganic phosphorus in saliva of people smoking cigarettes and non-smokers. *Polish J of Environ Stud*, 2007; 16, 177-179
10. Barabolak R., Hoerman K., Kroll B., Record D.: Gum chewing profile in the US population. *Community Dent. Oral Epidemiol.* 1991; 19, 125-126
11. Barańska-Gachowska M., Tyczyńska U., Tyrkiel A., Grygier K., Chociłowska D., Kowalska M.: Poziom immunoglobulin śliny u dzieci 12-letnich w zależności od intensywności próchnicy, pH śliny oraz liczebności bakterii próchnicotwórczych, *Czas. Stomat.* 1997;L,1,3-7
12. Bardow A., Moe D., Nyvad B., Nauntofte B.: The Buffer capacity and Buffer systems of human whole saliva measured without loss of CO₂. *Arch. Oral. Biol.* 2000; 45, 1-12
13. Brock J.H.: The physiology of lactoferrin. *Biochem. Cell. Biol.* 2002; 80, 1-6
14. Bauer P.J.: *Anal Biochem* 1981; 110, 61-72
15. Baveye S., Ellass E., Mazuzier J., Spik G., Legrand D.: Lactoferrin: a multifunctional glycoprotein involved in the modulation of the inflammatory process. *Clin. Chem. Lab. Med.* 1999; 37, 3, 281-286
16. Bellamy W., Takase M., Yamauchi K., Wakabayashi H., Kawase K., Tomita M.: Identification of the bacterial domain of lactoferrin. *Biochimica Biophysica Acta* 1992; 1121, 130-136
17. Ben-Aryeh H.: *Arch. Oral. Biol.*, 1984; 29, 357

18. Blomfield J., Rush A.R., Allars H.M.: Interrelationship between flow rate, amylase, calcium, sodium, potassium and inorganic phosphate in stimulated human parotid saliva. *Arch Oral Biol*, 1967; 21, 645-650
19. Bolton R.W., Hlava G.L.: Evaluation of salivary IgA antibodies to cariogenic microorganisms In children. Correlation with dental caries activity. *J. Dent. Res.* 1982; 61, 11, 1225
20. Bonnans S.R., Noble A.C.: Interaction of salivary flow with temporal perceptron of sweetness, sourness, and fruitness. *Physiol&Behav* 1995; 57, 569-574
21. Brandtzaeg P.: The oral secretory immune system with special emphasis on its relation to dental caries. *Procc. Dinn. Dent. Soc.*, 1983; 79, 71
22. Bredis D., Moutrice M.F., Balmer R.T.: A study of the shear viscosity of human whole saliva. *Rheol. Acta*, 1980; 19, 365-374
23. Brock J.: Lactoferrin- a multifunctional immunoregulatory protein. *Immunology Today* 1995; 16, 9417-419;
24. Bruzda-Zwiech A., Proc P., Wochna-Sobanska M.: Ocena wpływu żucia gumy Orbit Berries na zdolności buforowe śliny. *Czas Stomat*, 2004; 1, 19-24
25. Burlage F.R., Pijpe J., Coppers R.P., Hemels M.E.W., Meertens H. Canrinus A., Vissink A.: Variability of flow rate when collecting stimulated parotid saliva. *Eur J. Oral Sci.* 2005; 113, 386-390
26. Challacombe S.J.: Serum and salivary antibodies to *S.mutans* in relation to the development and treatment of human dental caries. *Arch Oral Biol* , 1980; 25, 495
27. Challacombe S.J., Percival R.S., Marsh P.D.: Age-related changes in immunoglobulin isotypes in whole and parotid saliva and serum in health individuals. *Oral Microbiol Immunol* 1995; 10(4), 202-4)
28. Chiappin S., Antonelli G. Gatti R.: De Palo E. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clinica Chimica Acta* 2007; 383, 30-40
29. Ciejak M., Olszewska M., Jakubowska K., Żebielowicz D., Safranow K., Chubek D.: Aktywność amylazy i stężenie białka w ślinie u kobiet ciężarnych. *Roczniki Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie* 2007; 53, 42-45
30. Chow L.C., Takagi S., Shern R.J., Chow T.H., Takagi K.K., Sieck B.A.: Effects on whole saliva of chewing gums containing calcium phosphates. *J.Dent.Res.* 1994; 73(1), 26-32
31. Christersson C.E., Lindh L., Arnebrand T.: Film-forming properties and viscosities of saliva substitutes and human whole saliva. *Eur J Oral Sci* 2000; 108, 418-425
32. Chrustowicz Ł., Brzezińska-Błaszczuk E.: Rola IgA śliny w chorobach jamy ustnej – przegląd piśmiennictwa. *Czs. Stomatol.* 2006;7, 518-524
33. Ciejak M., Sporniak-Tutak K., Malinowski J.: Opieka stomatologiczna kobiet ciężarnych – na podstawie piśmiennictwa. *Czas. Stomat.* 2003;5:338-343
34. Connerty H.V., Briggs A.R.: *Clin Chem* 1965; 11, 716-28
35. Connerty H.V., Briggs A.R., *AM J. Clin Path* 1966; 45, 290-6.
36. Cyprysiak G., Tadeusiak W.: Zastosowanie śliny w diagnostyce medycznej. *Nowa Stomatologia*, 2/2001; 33-36

37. Cyprysiak G., Gorska R., Mikulska B., Kwiatkowska A., Fura A., Ruszkowska I.: Próchnica zębów i choroby przyzębia a odporność immunologiczna chorych na hemofilię. *Czas. Stom.* 1985; 11-12, 737
38. Dawes C.: Gland size estimation and body mass index improve salivary flow rate assessment. *Arch. Oral. Biol.* 2007; 52, 409-10
39. Dawes C., Macpherson L.M.D.: Effect of nine chewing gums and lozenges on salivary flow rate nad pH. *Caries Res.* 1992; 26, 176-182
40. Dawes C., Dong C.: The flow rate and electrolyte composition of whole saliva elicited by the use of sucrose-containing and sugar-free chewing-gum. *Arch. Oral. Biol.* 1995; 40(8), 699-705
41. Dawes C., Jenkins G.N.: The effects of different stimuli on the composition of saliva in man. *J. Physiol* 1964; 170, 86-100
42. Dawes C., Kubieniec K.: The effect of prolonged gum chewing on salivary flow rate and composition. *Arch. Oral. Biol.* 2004; 49, 665-669
43. Dawes C., O'Connor A.M., Aspen J.M.: The effect on human salivary flow rate of the temperature of a gustatory stimulus. *Arch Oral Biol.* 2000; 45, 957-961
44. Dawes C.: Circadian rhythms in human salivary flow rate and composition, *J. of Physiol.* 1972; 220, 529-545
45. Dawes C.: Circadian rhythms in the flow rate and composition of unstimulated and stimulated human submandibular saliva. *J Physiol* 1975; 244, 535-548
46. Dawes C.: Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissue. *J. Am Dent Assoc* 2008; 139, 18S-24S
47. Dawes C.: Stimulus effects on protein and electrolyte concentrations in parotid saliva. *J Physiol* 1984; 346, 579-588
48. Dawes C.: The unstimulated salivary flow rate after prolonged gum chewing. *Arch. Oral. Biol.* 2005; 50, 561-563
49. Dawson L.J.: Oral sugar clearance and salivary buffering effects in the control of plaque pH (abstract) *J. Dent. Res.* 1993; 72, 691
50. Davies G.A., Wantling E. Stokes J.R.: The influence of beverages on the stimulation and viscoelasticity of saliva: Relationship to mouthfeel. *Food Hydrocolloids* 2009; 23, 2261-2269.
51. Delbro D., Lisander B., Andersson S.A.: Atropine-sensitive gastrin excitation by local heating – the possibility of a visceral axon reflex arrangement. *Acta Physiologica Scandinavica* 1982; 114,319-320
52. Demers M., Brodeur J.M., Simard P.L., Mouton C., Veoleux G., Frechette S.: Caries predictor suitable for mass-screening in children. *Community Dent Health* 7, 1990; 11-21
53. Dens F., Boohaerts M., Boute P., DeClerck D., Vinckier F.: Quantitative determination of immunological components of salivary gland secretion in transplant recipients. *Bone Marrow Transpl.* 1996; 17, 421-423,
54. Dodds M.W.J., Hsieh S.C., Johnson D.A.: The effect of increased mastication by daily gum chewing on salivary gland output and dental plaque acidogenity. *J. Dent. Res.* 1991; 70(12), 1474-1478

55. Dodds M.W.J., Johnson D.A., Mobley C.C., Hattaway K.M.: Parotid saliva protein profiles in caries-free and caries-active adults. *Oral Surg Oral Med. Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997; 83, 244-51
56. Dong C., Puckett A.D., Dawes C.: The effect of chewing frequency and duration of gum chewing on salivary flow rate and sucrose concentration: *Arch Oral Biol*, 1995; 40, 585-588
57. Dziemiańczyk D., Marcinkiewicz M., Grabowska S.Z., Czyżewska E.: Mucyny ślinowe – skład biochemiczny i ich wpływ na biologiczne funkcje śliny w środowisku jamy ustnej-przegląd piśmiennictwa. *Czas Stom* 2000; 11, 715-720
58. Edgar W.M., Higham S.M., Manning R.H.: Saliva stimulation and caries prevention. *Adv. Dent. Res.* 1994; 8(2), 239-245
59. Edgar W.M.: Saliva its secretion, composition and functions. *Br. Dent. J.* 1992; 4, 305-312
60. Eisenbrand L.L.: Variation in the pH of saliva of five individuals. *J. Dent. Res.* 1943; 148-156
61. El Ouazzanti T., Mei N.: Electrophysiological properties and role of vagal thermoreceptors of lower esophagus and stomach of cat. 1982; 83, 995-1001
62. Elliasson L., Birkhed D., Osterberg T., Carlen A.: Minor salivary gland secretion rates and immunoglobulin A in adults and the elderly. *Eur J Oral Sci.* 2006; 114, 494-9
63. Engelen L., Wijk R.A., Prinz J., Bilt A., Bosman F.: The relation between saliva flow after different stimulations and the perception of flavor and texture attributes in custard desserts. *Physiology and Behavior* 2003; 78, 165-169
64. Englander H.R., Mau L.M., Hoerman K.C., Chauncey H.H.: Dental caries activity, and the pH, titratable alkalinity, and rate of flow of human parotid saliva. *J. Dent. Res.* 1954; 33, 751-756
65. Everhart D.L., Klapper B., Carter W.H., Moss S.: Evaluation of dental caries experience and salivary IgA in children ages 3-7. *Caries Res.* 1977; 11, 211
66. Farnaud S., Evans R.: Lactoferrin- a multifunctional protein with antimicrobial properties. *Mol. Immunol.* 2003; 40, 395-405
67. Fejerskov O., Kidd E.: Próchnica zębów. Choroba próchnicowa i postępowanie kliniczne. Wyd. I. red. Kaczmarek U. wydawnictwo medyczne Urban&Partner, Wrocław 2006
68. Finn S.B.: Chewing gum studies. *Annals New York Academy of Sciences*, 350-359
69. Fukui Y., Fukui K., Moriyama T.: Inhibition of enzymes by human salivary immunoglobulin A. *Infect. Immun.* 1997; 8, 335-340
70. Flores C.M., Leong A.S., Dussor G.O., Harding-Rose C., Hargreaves K.M., Kilo S.: Capsaicin-evoked CGRP release from rat buccal mucosa: development of a model system for studying trigeminal mechanisms of neurogenic inflammation. *Eur. J. Neurosci.* 2001; 14, 1113-1120
71. Ganong W.F.: Fizjologia, red naukowa Joanna Lewin-Kowalik, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2007
72. Garrett J.R., Ekstrom J., Anderson L.C.: Glandular mechanisms of salivary secretion. Karger, Basel. 1988; 21-72
73. Gawor E.: Receptory dotyku w naturalnym uzębieniu- przegląd piśmiennictwa. *Czas Stomat* 2008; 61, 132-139

74. Gaviao M.B.D., Engelen L., van der Bilt A.: Chewing behavior and saliva secretion. *Eur. J. Oral. Sci* 2004; 19-24
75. Ghezzi E.M., Lange L.A., Ship J.A.: Determination of variation of stimulated salivary flow rates. *J. Dent. Res.* 2000; 79, 1874-8
76. Gibbons R.J., van Houte J.: Selective bacterial adherence to oral epithelial surfaces and its role as an ecological determinant. *Infect. Immun.* 1971; 3, 567-574
77. Gindler E.M., Kin J.D.: *AM J Clin Path* 1972; 58, 376-82.
78. Gjørstrup P., Parotid secretion of fluid and amylase In Rabbit Turing feedeing. *J. Physiol* 1980; 309, 101-116
79. Gorr S-U.: Antimicrobial peptides of the oral cavity. *Periodonntology* 2000, vol 51, 2009; 152-180
80. Grundbacher F.J.: Variation in levels of immunoglobulins A, G and E in human saliva. *Archs Oral Biol* 1988;33, 121-126
81. Hall D.H.: Ochronne i reparacyjne funkcje ludzkiej śliny. *Quintessence* 1994; 2, 403-406
82. Hara K., Ikeda M., Saito S., Matsumoto S., Numata K., Kato N., Tanaka K., Sekihira H.: Lactoferrin inhibits hepatitis B virus infection In cultured human hepatocytes. *Hepatol. Res.* 2007; 24, 228-235
83. Hanning C., Hanning M., Attin T.: Enzymes In the acquired enamel pellicle. *Eur J. Oral Sci* 2005; 113, 2-13
84. Hector M.P., Linden R.W.: Reflexes of salivary secretion.1999. In: Garrett J.R., Ekstrom J., Anderson I.C.(Eds), *Neural Mechanisms of salivary secretion*. Karger, Basel, 196-217
85. Hector M.P., Linden R.W.A.: The possible role of periodontal mechanoreceptors in the control of parotid secretion in man. *Q J Exp Physiol* 1987; 72, 285-301
86. Hess M. Kugler J.,Haake D.: Secretion of salivary immunoglobulin a in relatin to age, saliva flow, mood states, secretion of albumin, cortisol and catecholamines In saliva. *Journal of Clinnical Immunology* 1992;12,45-49
87. Holzer P.: Local effector function of capsaicin - sensitive sensory nerve endings involvement of tachykins, calcitonin gene related peptide and other neuropetides, *Neuroscience* 1988; 24, 739-768)
88. Hyde E.J.: Salivary flow rate of children and its relationship to dental caries. *J. Can. Dent. Assoc.* 1972; 38(5), 186-9
89. Ikebe K., Matsuda K., Morii K., Hazeyama T., Kagawa R., Ogawa T., Nokubi T.: Relationship between bite force and salivary flow In older adults. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol Endod* 2007; 104, 510-5
90. Inoue H., Ono K., Masuda W., Morimoto Y., Tanaka T., Yokota M. Inenaga K.: Gender difference in unstimulated whole saliva flow rate and salivary gland sizes. *Arch. Oral Biol.* 2006; 51, 1055-1060
91. Iontcheva J.: Human salivary mucin MG1 selectively forms heterotypic complexes with amylase, PRP, staterin and histatins. *J. Dent. Res* 1997; 76, 734-743

92. Jach M., Gońda M., Lisiecka K., Bober J., Mokrzycka M., Kuczak M.: Wykorzystanie wybranych badań fizykochemicznych śliny w diagnostyce stomatologicznej – na podstawie piśmiennictwa. *Czas. Stomat*, 2008; 5, 353-358
93. Jafarzadeh A., Sadeghi M., Karam G., Vazirinejad R.: Salivary IgA and IgE levels in health subjects: relation to age and gender. *Braz Oral Res* 2010; 24, 21-7
94. Jakobisiak M.: *Immunologia*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1993
95. Jankowska A., Waszkiel D., Kobus A., Zwierz K.: Ślina jako główny składnik ekosystemu jamy ustnej. *Wiad. Lek.* 2007; 60, 253-257
96. Jankowska A.K., Waszkiel D., Kowalczyk A.: Ślina jako główny składnik ekosystemu jamy ustnej. *Wiadomości Lekarskie* 2007; LX, 3, 4148-154
97. Jenkins G.N., Edgar W.M.: The effect of daily gum chewing on salivary flow rates in man. *J. Dent. Res.* 1989; 68(5), 786-790
98. Jensen J.L., Karatsaidis A., Brodin P.: Salivary secretion: stimulatory effects of chewing-gum versus paraffin tablets. *Eur. J. Oral Sci.* 1998; 106, 892-896
99. Jentsch H., Beetke E., Gocke R.: Salivary analyses and caries increment over 4 years: an approach by cluster analysis. *Clin Oral Invest* 2004; 8, 156-160
100. Johnson Leonard R.: *Essential Medical Physiology*, 3rd edition, Elsevier Academic Press 2003
101. Jones J.H., Mason D.K.: *Oral manifestation of Systemic Disease*. Philadelphia: W. B. Saunders, 1980; 131-2
102. Kaczmarek U., Herman K., Patrzyk A.: Aktywność peroksydazy i stężenie białka w ślinie a wiek badanych i suplementacja fluorkowa. *Stomatologia Współczesna*, 2001; 8, 31-35
103. Kaczmarek U., Borysewicz-Lewicka M., Pietkiewicz A., Grzesiak I.: Wpływ dropsów bezcukrowych na wybrane parametry śliny mieszanej. *Czas Stomat.* 2004; 8, 501-508
104. Kapała A.: Główne procesy chorobowe jamy ustnej u pacjentów po allogenicznej transplantacji szpiku kostnego. *Rozprawa doktorska* 2008
105. Kariyawasam A.P., Dawes C.: A circannual rhythm in unstimulated salivary flow rate when ambient temperature varies by only 2°C. *Arch. Oral Biol.* 2005; 50, 919-922
106. Kaufman E., Lamster I.B.: The diagnostic applications of saliva – a review. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 2002; 13, 197-212
107. Kavanah D.A., Svehla G.: Variation of salivary calcium, phosphate and buffering capacity in adolescents. *Arch Oral Biol* 1998; 43, 1023-1027
108. Knychalska-Karwan Z.: *Fizjologia i patologia błony śluzowej jamy ustnej*, Wydawnictwo Czelej, 2002, Lublin
109. Kochańska B.: Niektóre fizykochemiczne i enzymatyczne właściwości śliny mieszanej a próchnica zębów. *Rozprawa doktorska*. Gdańsk, 1982
110. Kochańska B., Borowska-Afeltowicz E.: Stężenie fosforanów nieorganicznych w ślinie mieszanej w różnych warunkach fizjologicznych. *Czas. Stomat*, 1989; 42, 166-170

111. Kochańska B., Sibora P., Witek E.: Badania rytmiki dobowej oraz zmienność w czasie niektórych parametrów śliny mieszanej w warunkach fizjologicznych. *Czas. Stom*, 1980; 33, 491-498
112. Kochańska B.: Stężenie stateryny w ślinie a występowanie próchnicy zębów i ubytków niepróchnicowego pochodzenia. Rozprawa habilitacyjna. *Annales Academiae Medicae Gedanensis* 2000; 7, XXX
113. Konturek S.J.: Fizjologia człowieka. Podręcznik dla studentów medycyny. Wrocław 2007; 1058-1059
114. Kirstila V., Hakkinen P., Jentsch H., Viljia P., Tenovuo J.: Longitudinal analysis of the association of human salivary antimicrobial agents with caries increment and cariogenic micro-organisms: A two-year cohort study. *J Dent Res*, 1998; 77, 73-80
115. Kumar A.M., Solano M.P., Rernandez J.B., Kumar M.: Adrenocortical response to ovine corticotropin-releasing hormone in young man: cortisol measurements in matched samples of saliva and plasma. *Horm Res* 2005; 64, 55-60)
116. Kugler J., Hess M., Haake D.: Secretion of salivary immunoglobulin A in relation to age, saliva flow, mood states, secretion of albumin, cortisol and catecholamines In saliva. *Journal of Clinical Immunology* 1992; 12, 45-49
117. Lachowicz L., Turska E.: Biochemia jamy ustnej. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2008, wyd. 1
118. Lagrelow F., Oliverly A.: Caries-protective factors in saliva. *Adv. Dent. Res.* 1994; 8, 229-238
119. Larsen M.J., Fejerskov O.: Clinical and structural challenges in remineralization of dental enamel lesions. *Scand J. Dent. Res.* 1989; 97, 285-296
120. Larsen M.J., Jensen A.F. Madsen D.M. Pearce E.I.F.: Individual variation of pH, buffer capacity, and concentrations of calcium and phosphate in unstimulated whole saliva. *Arch oral Biol* 1999; 44, 111-117
121. Lashley K.S.: Reflex secretion of the human parotid gland. *Exp Psychol* 1916; 1, 461-493
122. Leach S.A., Lee G.T.R., Edgar W.M.: Remineralization of artificial caries-like lesions in human enamel in situ by chewing sorbitol gum. *J. Dent. Res.* 1989; 68, 1064-1068
123. Leal S.C., Bittar J., Portugal A., Falcao D.P., Faber J., Zanotta P.: Medication in elderly people: its influence on salivary patten, signs and symptoms of dry mouth. *Gerodontology* 2010; 27, 129-133
124. Lee V.M., Linden R.W.A.: An olfactory- submandibular salivary reflex in humans. *Exp Physiol* 1992; 77, 221-224
125. Lehner T.: Regulation of immune responses to streptococcal protein antigens involved in dental caries. *Immunology Today* 1982; 3, 73
126. Lenander L.: Saliva and dental caries. *Adv. dent. res.* 2000; 14, 40-47
127. Ligtenberg T.J.M., Veerman E.C.I., Amerongen A.V.N.: A role for levis a antigens on salivary agglutinin in binding to S.mutans. *Ant van Leeuwenh* 2000; 77, 21-30
128. Lima D.P., Diniz D.G., Moimaz S.A.S., Sumida D.H., Okamoto A.C.: Saliva: reflection of the body. *Int J Infection Diseases* 2010; 14, 184-188

129. Little J.: Eating disorders dental implications. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 2002; 93, 138-143
130. Losso E.M., Singer J.M., Nicolau J.: Effect of gustatory stimulation on flow rate and protein content of human parotid saliva according to the side of preferential mastication. *Arch Oral Biol* 1997; 42, 83-87
131. Lourdis O., Demetriou N., Bazopoulou-Kyrkanies E.: Chewing effects on secretion rate of stimulated human mixed saliva. *J. Dent. Res.* 1970; 49(5), 1132-1135
132. Lowry i wsp. *Biol- Chem* 1951; 193, 265-275
133. Mackie D.A., Pangborn R.M.: Mastication and its influence on human salivary flow and alpha-amylase secretion. *Physiol Behav* 1990; 47, 593-5
134. Mackiewicz S., Wiktorowicz K.: *Immunologia w zarysie PZWL*, Warszawa, 1990; 9-31
135. Małaczewska J. Rotkiewicz Z.: Laktoferyna – białko multipotencjalne, *Med. Wet.* 2007; 63, 2, 136-139
136. Małoszewska-Dugiełło J., Ilewicz L., Wierucka-Młynarczyk B., Hupsch-Marzec H., Mykietów-Smalec B.: Badania poziomu immunoglobulin klasy IgA w ślinie u chorych oparzonych. *Somatologia Współczesna*, 2002; 9, 28-32
137. Mandel D.: The function of saliva. *J. Dent. Res.* 1987; 66, 623-627
138. Manton D.J., Walker G.D., Cai F., Cochrane N.J., Shen P., Reynolds E.C.: Remineralization of enamel surface lesions in situ by the use of three commercially available sugar-free gums. *International Journal of Pediatric Dentistry.* 2008; 18, 284-290
139. Marcotte H., Lavoie M.C.: Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 1998; 62, 71-109
140. Marek B., Kos-Kudła B., Buntner B.: Ślina - użyteczny materiał diagnostyczny w praktyce pediatrycznej. *Pediatrics Polska*, 1992; LXVII, 1
141. Mandel D.: The function of saliva. *J. Dent. Res.* 1987; 66, 623-627
142. Mese H., Matsuo R.: Invited review: Salivary secretion, taste and hyposalivation. *J. Oral Rehab.* 2007; 34, 711-723)
143. Meurman J., Rantonen P.: Salivary flow rate, buffering capacity, and yeast counts in 187 consecutive adult patients from Kuopio, Finland, *Scand. J. Dent. Res.* 1994; 102, 229-234
144. Miletic I.D., Schiffman S.S., Miletic V.D., Sattely-Miller E.A.: Salivary IgA secretion rate in young and elderly persons. *Physiol Behav* 1996; 60, 243-248
145. Miller A., Miller I., Kurnatowska A., Rabe-Jabłońska J.: Zaburzenia sekrecji śliny jako efekt uboczny farmakologicznego leczenia zaburzeń psychicznych – przegląd piśmiennictwa. *Postępy Psychiatrii i Neurologii* 2006; 15, 29-34
146. Narhi .O., Tenovuo J., Ainamo A., Vilja P.: Antimicrobial factors, sialic acid, and protein concentration in whole saliva of the elderly. *Scand J Dent Res* 1994; 102, 120-125
147. Nederfors T., Nauntofte B., Twetman S.: Effects of furosemide and bndroflumethiazide on saliva flow rate and composition. *Arch. Oral. Biol.* 2004; 49, 507-513
148. Newbrun E.: Observation on the amylase content and flow rate of human saliva following gustatory stimulation. *J. D. Res.* 1962; 3, 459-465

149. Neyraud E., Bult J. H. F., Dransfield E.: Continous analysis of parotid saliva during resting and short-duration simulated chewing, *Arch. Oral Biol* 2009; 54, 449-456
150. Nikfarjam J., Pourpak Z., Shahrabi M., Nikfarjam L., Kouhkan A., Moazeni M., Aghamohammadi A.: Oral manifestation in selactive IgA deficiency. *Int J. Dent Hygiene*, 2004; 2, 19-25
151. Olson B.L., McDonald J. L., Gleason M.J., Stookey G. K., Schemehorn B. R., Drook C.A., Beiswanger B.B., Christen A.G.: Comparison of various salivary parameters in smokers before and after the use of a nicotine-cantaining chewing gum. *J. Dent. Res* 1985; 64(5)
152. Ono K., Morimoto Y., Inoue H., Masuda W., Tanaka T., Inengak.: Relationship of the unstimulated whole saliva flow rate and salivary gland size estimated by magnetic resonance image in healthy young humans. *Archives of Oral Biol* 2006; 51, 345-349
153. Ono K., Inoue H., Masuda W., Morimoto Y., Tanaka T., Yokota M., Inenaga K.: Relationship of chewing stimulated whole saliva flow rate and salivary gland size., *Arch Oral Biol*. 2007; 52, 427-431
154. Ostrowski K.: *Histologia*, red Ostrowski K., wyd. II, Warszawa 1995; Wydawnictwo Lekarskie PZWL
155. Pangborn R. M., Witherly S.A., Jones F.: Parotid and whole mouth secretion in response to viewing, handling and sniffing food. *Perception* 1979; 8, 339-346
156. Petersen Ole H.: *Human Physiology*, 5th editio, Blackwell Publishing 2007
157. Piątkowska A.: Immunoglobuliny śliny u dzieci ze żłobków lubelskich. *Przegląd Stom. Wieku Rozwojowego* 2/3 1999; 26/27
158. Płocica I., Beck B., Wierzch R.: Poziom lizozymu w ślinie u chorych z zapaleniem przyzębia. *Czas Stomat.* 1998; LI,6, 373-379
159. Pol J., Buczkowska-Radlinska J., Bińczak-Kuleta A., Trusewicz M.: Mucyny śliny ludzkiej – ich rola i znaczenie. *Roczniki Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie* 2007;53, 87-91
160. Polland K.E., Higgins F., Orchardson R.: Salivary flow rate and pH during prolonged gum chewing in humans. *Journal of rehabilitation*. 2003; 30, 861-865
161. Proc P., Daszkowska M., Wochna-Sobańska M.: Wpływ spożywania bezcukrowych cukierków Orbit Proffesional Mints i Classic na zmiany pH śliny. *Czas Stomatol*, 2007; 10, 663-668
162. Proctor G.B., Carpenter G.H.: Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. Review. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical* 2007; 113, 3-18
163. Proctor G.B., Carpenter G.H.: Chewing stimulates secretion of human salivary secretory immunoglobulin A. *J. Dent. Res.* 2001; 80, 3, 909-913
164. Pypeć J., Stec M., Mikołajczyk M.: Żucie gumy bez cukru – nawyk czy element profilaktyki przeciwpróchnicowej? *Czas Stomat*, 2005; 10, 714-718
165. Rantonen J.F., Meurman J.H.: Viscosity of whole saliva, *Acta Odont Scand*, 1998; 56, 4, 210-214
166. Rayment S.A., Liu B., Soares R.V., Offner G. D., Oppenheim F.G., Traxler R.F.: The effect of duration and intensity of stimulation on total protein and mucin concentrations in resting and stimulated whole saliva. *J. Dent. Res*, 2001; 80, 6, 1584-1587

167. Rudney J.D., Smith Q.T.: Relationship between levels of lysozyme, lactoferrin, salivary peroxidase, and secretory immunoglobulin A in stimulated parotid saliva. *Infection and Immunity*, 1985; 49(3), 469-475)
168. Roberts B.J.: A study of the viscosity of saliva at different shear rates in dentate and edentulous patients. *J. Dent.* 1977; 5(4), 303-309
169. Rosenthal S.L., Bowen R., Vazakas J.: Comparative analysis of saliva in pregnant and non-pregnant women. *J. Dent Res.* 1959; 9, 883-887
170. Rosza Z., Mattilla J., Jacobson E.D.: Substance P mediates a gastroesophageal thermoreflex in rats. *Gastroenterology* 1988; 95, 265-276
171. Rotteveel L.J.C., Jongerius P.H., Limbeek J., Hoogen F.: Salivation in healthy schoolchildren. *Int. J. of Pediatric Otorhinolaryngology* 2004; 68, 767-774
172. Rugg-Gunn (Rugg-Gunn A.J., Edgar W.M., Jenkins G.N.: The effect of heating some snacks upon the pH of human dental plaque. *Br. Dent. J.* 1978; 145, 95-100
173. Sanchez-Perez L., Saenez-Martinez L., Irigoyen-Camacho E., Zepeda-Zepeda M., Acosta-Gio E., Mendez-Ramirez I.: Stimulated saliva flow rate patterns in children: A six-year longitudinal study. *Arch. Oral. Biol.* 2009; 54, 970-975
174. Schele A.A.: Mechanism of dental plaque formation., *Adv. Dent. Res.* 1994; 8, 246-253
175. Schipper R., Silletti E., Vingerhoeds M.: Saliva as research material: Biochemical, physicochemical and practical aspects. *Arch. Oral. Biol.* 2007; 52(12), 1114 -1135
176. Scott B.J.J., Hassanwalia R., Linden R.W.A.: The masticatory-parotid salivary reflex in edentulous subjects. *J Oral Rehab* 1998; 25, 28-33
177. Scully C., Cowson R.A.: *Medical Problem in Dentistry*. London: Wright, 1993; 473-6
178. Seermann R., Hagewald S., Sztankay V., Drews J., Bizhang M., Kage A.: Levels of parotid and submandibular/sublingual salivary immunoglobulin A in response to experimental gingivitis in humans. *Clin Oral Invest* 2004; 8, 233-237
179. Sengupta J.N., Gebhart G.F.: *Gastrointestinal afferents and sensation in physiology of the gastrointestinal tract*, vol.1 ed Johnson L. R. 3rd Ed , pp 483-519. Raven Press, New York
180. Shannon I.L.: Effects of visual and olfactory stimulation on parotid secretion rate in the human. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1974; 146(4), 1128-31
181. Shannon II.: Climatological effects on human parotid gland function. *Arch. Oral. Biol.* 1966; 11, 451-453
182. Shepard M.D., Mezzachi R.D.: *Clin Biochem Revs* 1983; 4, 61-7
183. Sikorska M., Mielnik-Błaszczak M., Kapeć E.: Poziom albuminy i białka całkowitego w ślinie a próchnica zębów u młodzieży, *Magazyn Stomatologiczny* 5, 1999; 33-35
184. Sikorska M., Mielnik-Błaszczak M.: Poziom immunoglobulin w ślinie a próchnica zębów u młodzieży 15-letniej, *Magazyn Stomatologiczny*, 11, 1998; 33-36
185. Sikorska M., Mielnik-Błaszczak M., Kapeć E.: Poziom wapnia i fosforu nieorganicznego w ślinie a stan twardych tkanek zębów u młodzieży. *Czas Stomat* 2000; 4, 221-224)

186. Sikorska-Jaroszyńska M.H.J., Mielnik-Błaszczak M., Kapeć E.: Poziom lizozymu w ślinie spoczynkowej a próchnica zębów w grupie młodzieży 17-letniej. *Czas. Stomat.* 2001; 9, 571-576
187. Sobamiec H., Kobierska A.: Funkcje śliny, właściwości przeciwutleniające. *Mag. Stomat.* 1998; 6, 35-39
188. Sreebny L.M., Schwartz S.S.: A reference guide to drugs and dry mouth. *Gerodontology* 1986; 5, 75-99
189. Sreebny L.M., Banoczy J., Baum B.J., Edgar W.M., Epstein J.B., Fox P.C., Larmas M.: Saliva: Its role in health and disease. *Int Dent J* 1992; 42, 291-304
190. Sreebny L.M., Schwartz S.S.: A reference guide to drugs and dry mouth -2nd edition. *Gerodontology* 1997; 14, 33-47
191. Surdacka A.: Udział śliny w zapobieganiu próchnicy zębów- przegląd piśmiennictwa. *Czas Stomat*, 2003; 9, 585-590
192. Tadlock Charles H.: *Physiology*, 2nd edition, 1996
193. Tafil-Klawe M., Klawe J.J.: *Wykłady z fizjologii człowieka*; Wydawnictwo Lekarskie PZWL, wyd I, Warszawa 2009
194. Tenovuo J.: Antimicrobial factors in saliva. Ontogeny and relation to oral health, *J. Dent. Res.*, 1987; 66, 2, 475
195. Tenovuo J.: Antimicrobial factors in whole saliva of human infants. *Infect Immun* 1986; 51, 1, 49
196. Tenovuo J.: Oral Defence factors in elderly. *Endod Dent Traumatol.* 1992; 8, 93-98
197. Tenuovo J.: Salivary parameters of relevance for assessing caries activity in individuals and populations. *Community Dent Oral Epidemiol* 1997; 25, 82-6
198. Tenovuo J., Grahn E., Lehtonen O.P., Hyppa T., Karhuvaara L., Vilja P.: Antimicrobial factors In saliva: Ontogeny and relation to oral health. *J Dent Res* 1987; 66(2), 457-479
199. Thylstrup A., Fejerskov O.: *Textbook of clinical cariology*. Munksgard 3rd edition, Copenhagen 1996; 200-260
200. Tietz NW. (Ed) *Textbook of Clinical Chemistry* WB Saunders 1986; 1350
201. Traczyk W.Z.: *Fizjologia człowieka z elementami fizjologii stosowanej i klinicznej*. Red: Traczyk W.Z., Trzebski A., wyd III, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2001
202. Tylenda C.A., Ship J.A., Fox P.C., Baum B.J.: Evaluation of submandibular salivary flow rate In different age groups. *J. D. Res* 1988; 67(9), 1225-1228
203. Ueda T., Sakurai K., Sugiyama T.: Individual difference In the number of chewing strokes and its determinant factors. *Journal of Oral Rehabilitation*, 2006; 33, 85-93
204. van Steenberghe D.: The structure and function of periodontal innervation. A review of literature. *J. Periodontal Res* 1979; 14, 3, 185-203
205. Veerman ECI., Van den Keybus., Vissink A., Nieuw Amerongen A.V.: Human glandular salivas: their separate collection and analysis. *Eur J Oral Sci* 1996; 104, 346-352

206. Villanova N., Azpiroz F., Malagelada J.R.: Perception and Gut reflexes induced by stimulation of gastrointestinal thermoreceptors In humans. *Jurnal of Physiology* 1997; 502.1, 215-222
207. Vining R., Mc Ginley R.: *Front. Oral. Physiol.*, 1984; 5, 21
208. Volker J.F.: The effect of saliva on blood coagulation. *Orthodont Oral Surg* 1942; 25, 277-281
209. Voss F.: Saliva as a fluid for measurement of estriol levels, *Am. J. Obstet. Gynecol* 1999; 180, 226-31
210. Wang S.L., Zhao Z.T., Li J., Zhu X.Z., Dong H., Zhang Y.G.: investigation of clinical value of total saliva flow rates. *Arch Oral Biol* 1998; 43, 39-43
211. Waszkiel D., Andrzejewicz I., Marczuk-Kolada G.: Wydzielanie i buforowość śliny u osób z nadżerkami szkliwa, *Czasopismo Stomatologiczne*, 1998; LI, 8, 497-503
212. Watanabe S., Dawes C.: A comparison of the effect of casting and chewing foods on the flow rate of whole saliva in man. *Arch Oral Biol* 1988; 33, 761-4
213. Watchel M et al., Creation and Verification of Reference Intervals. *Laboratory Medicine* 1995; 26, 593-7.
214. Weemaes C., Klasen I., Goertz J., Beldhuis-Valkis M., Olafsson O., Haraldsson A.: Development of immunoglobulin A in infancy and childhood. *Scand J Immunol.* 2003; 58(6), 642-8
215. Wierzbicka M.: *Periodontologia kliniczna cz.1*, Sanmedia, Warszawa 1992
216. Wisłowska M., Smirnow J.: Lizozym i jego znaczenie biologiczne. *Reumatologia* 2000; 38, 3, 369-372
217. Yamamoto K., Kurihara M., Matsusue Y., Imanishi M., Tsuyuki M., Kirita T.: Whole saliva flow rate and body profile in healthy young adults. *Arch. Oral. Biol* 2009; 54, 464-469
218. Yao Y., Grogan J., Zehnder M., Lendenmann U., Nam B., Wu Z., Costello C., Oppenheim F.: Compositional analysis of human acquired enamel pellicle by mass spektrometry. *Arch. Oral. Biology* 2001; 46, 293-303
219. Yeh C.K., Dodds M.W., Zuo P., Johnson D.A.: A population – based study of salivary lysozyme concentrations and candida counts. *Arch.Oral Biology* 1997; 42, 25-31
220. Young DS.: *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition* 1990; 3, 265-270.
221. Zaccaro Scelza M.F., Silva D.F., Ahiandzro N.K., da Silva L.E., Scelza P.: The influence of medication on salivary flow of the elderly: preliminary study. *Gerodontology* 2010; 27,278-282
222. Zajączkowska-Białowąs L., Kunicka D., Umiastowski J.: Badania nad ilościową oceną lizozymu w ślinie. *Czas Stomat*, 1978; 3, 253-257
223. Zajączkowska-Białowąs L., Kunicka D.: Aktywność lizozymu w ślinie ludzkiej w próchnicy zębów. *Czas. Stomat.* 1982; 4, 181-186
224. Zalewska A., Waszkiel D., Błahuszewska K., Marciniak J., Kowalczyk A.: Pojemność buforowa, pH i stężenie immunoglobuliny A w ślinie całkowitej, spoczynkowej osób młodych odpornych i podatnych na próchnicę. *Czas Stomat*, 2006; 4, 221-226