

# Tükürük Proteinleri ve Çürük Üzerine Etkileri

## Salivary Proteins and Effects on Dental Caries: Review

Begüm Büşra CEVAL ÖZKOÇAK,<sup>a</sup>  
Emine ŞİRİN KARAARSLAN,<sup>a</sup>  
Fatma AYTAÇ<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Restoratif Diş Tedavisi AD,  
Gaziosmanpaşa Üniversitesi  
Diş Hekimliği Fakültesi, Tokat

Geliş Tarihi/Received: 14.07.2015  
Kabul Tarihi/Accepted: 28.10.2015

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Emine ŞİRİN KARAARSLAN  
Gaziosmanpaşa Üniversitesi  
Diş Hekimliği Fakültesi,  
Restoratif Diş Tedavisi AD, Tokat,  
TÜRKİYE/TURKEY  
karaarslan.emine@gmail.com

**ÖZET** Diş çürüğü, bakterilerin ağız içerisinde kolonizasyonu, bu ortamda çoğalması ve zaman içerisinde diyet ve konak faktörleri ile etkileşime girmesi sonucu oluşan multifaktöriyel ve enfeksiyöz bir hastalıktır. Etiyolojik faktörleri, hastalığın ilerleyişini ve profilaktik prosedürlerin etkinliğini belirlemek hastalığın anlaşılması ve tedavisi açısından önemlidir. Çürük oluşumu; tükürük, diş yüzey morfolojisi, genel sağlık, beslenme ve hormonal durum gibi iç savunma faktörleri ile diyet, mikrobiyal floranın diş yüzeyine kolonizasyonu, oral hijyen ve florür kullanılabilirliği gibi birçok dış faktörü içeren karmaşık bir olgudur. Ağız ve diş sağlığının devamı için tükürük salgısı ve bileşenlerinin önemi bilinmektedir. Çürük riskini değerlendirmede tükürük içerisindeki organik ve inorganik bileşenler, tükürüğün tamponlama kapasitesi, pH derecesi, viskozitesi ve miktarı büyük önem taşımaktadır. Hassas immünokimyasal analizlerin gelişimiyle tükürük salgısının bileşenleri ayrıntılı bir şekilde analiz edilebilmektedir. Farklı proteomik yaklaşımlar tükürük içerisinde 1.300'den fazla protein olduğunu bildirmektedir. Sadece majör tükürük glikoproteinleri değil, aynı zamanda minör tükürük proteinleri de oral kavitenin savunma mekanizmasında rol almaktadır. Bu çalışmada diş çürüğünü ilgilendiren tükürük proteinleri kapsamında; prolinden zengin proteinler, müsinler, antibakteriyel proteinler (salgısal immünglobulin A, laktoferrin, lizozim, peroksidaz sistemi, katherisidinler), staterin, sistatin, karbonik anhidraz enzimi, matriks metalloproteinazlar, amilaz, fosfataz, büyüme faktörleri ve sitokinlere yer verilmiştir. Amacımız; tükürüğün organik bileşenlerinin büyük bir kısmını oluşturan proteinlerin, çürük oluşumu ya da önlenmesi üzerine etkisini incelemektir.

**Anahtar Kelimeler:** Diş çürükleri; tükürük protein ve peptitleri; diş remineralizasyonu; diş mineralizasyonu

**ABSTRACT** Dental caries is a multifactorial infectious disease that is caused by bacterial colonization in the mouth, growth in this environment and interacting with diet and host factors in time. Our understanding of etiological factors, the progress of the disease, and the effectiveness of prophylactic procedures have led us to believe that we understand the disease. The formation of caries is a complex phenomenon involving internal defense factors, such as saliva, tooth surface morphology, general health, and nutritional and hormonal status, and a number of external factors—for example, diet, the microbial flora colonizing the teeth, oral hygiene, and fluoride availability. For the continuation of the oral and dental health, the importance of saliva and its components is well known. Organic and inorganic components, the buffering capacity, pH, viscosity and quantity of the saliva are very important to assess the caries risk. The components of saliva can be analyzed in detail with developed sensitive immunochemical analyses. Different proteomic approaches have reported the identification of over 1.300 proteins in saliva. It's not just the major salivary glycoproteins also minor salivary proteins have a role in the defense mechanisms of the oral cavity. In this review, it is mentioned dental caries associated saliva proteins; proline rich proteins, mucins, antibacterial proteins (secretory immunoglobulin A, lactoferrin, lysozyme, peroxidase system, cathelidins), statherin, cystatin, carbonic anhydrase enzyme, matrix metalloproteinases, amylase, phosphatase. The purpose of this review is to evaluate the caries formation and prevention effects of proteins that constitute a large portion of the organic component of saliva.

**Keywords:** Dental caries; salivary proteins and peptides; tooth remineralization; tooth demineralization

## ÇÜRÜĞÜN ETİYOLOJİSİ VE BAKTERİ PLAĞI

**D**iş çürüğü, çocukluk çağından itibaren bireyleri etkileyen multifaktöriyel enfeksiyöz bir hastalıktır. Ağızdaki mikroflora ile konak biyolojisi arasındaki dengenin bozulmasıyla ortaya çıkan çürük, plak içerisindeki karyojenik mikroorganizmaların fermente olabilen karbonhidratları kullanarak oluşturdukları organik asidin diş sert dokularında meydana getirdiği demineralizasyon sonucu oluşmaktadır.<sup>1</sup> Çürük oluşumunda ve şiddetinde mikrobiyal, genetik, immünolojik, çevresel faktörler ve davranış farklılıkları rol oynamaktadır.<sup>2</sup> Dental çürük oluşum sürecinde patolojik faktörlerle koruyucu faktörler arasındaki dinamik dengenin bozulduğu, patolojik faktörlerin koruyucu faktörlere ağır basmasıyla çürüğün ilerlediği görülmektedir.<sup>3</sup>

Belirtilen koruyucu ve patolojik faktörler, kişinin neden çürükleri olduğunun ve ilerleyen süreçte neden çürük oluşma riski altında olduğunun belirlenmesinde en önemli faktörlerdir. Aşağıdaki şekilde gösterilen üç koruyucu ve üç patolojik faktörün yanı sıra çürük oluşum sürecine etki eden kişisel ve çevresel etkenler de vardır. Bunlar:

- Konağa ilişkin faktörler;

- Dişin kimyasal elemanlarının aside dirençli olmayışı,

- Dişin morfolojisi ve konumunun plak retansiyonuna elverişli olması,

- Tükürükteki antibakteriyel elemanların yetersizliği,

- Tükürük özelliklerinin mikrobiyal adezyona zemin hazırlaması,

- Tükürükteki yetersiz tamponlama kapasitesi,

- Yetersiz remineralizasyon,

- Fermente olabilen karbonhidratlar;

- Plak ve asidojenik mikroorganizmalar;

- Zaman.<sup>4-6</sup>

Bireyin çürük riski, birçok faktöre bağlı olduğu için zamanla değişebilmektedir. Örneğin; mine ve kök çürüğü için fiziksel ve biyolojik risk faktörleri arasında yetersiz tükürük akışı ve içeriği,

karyojenik bakteri miktarı, yetersiz floride maruz kalma, diş eti çekilmesi, immünolojik komponentler, özel sağlık bakımına ihtiyaç duyulması ve genetik faktörler sayılabilmektedir. Ayrıca çürük riski, kişinin yaşam tarzı ve kontrolü altındaki davranışsal faktörlerden de etkilenmektedir. Bu faktörler arasında zayıf oral hijyen, rafine karbonhidratların sık tüketilmesi, şeker içeren oral ilaçların sık kullanımı ve bebeklerin uygunsuz şekilde beslenmesi sayılabilir. Çürük riski ile ilişkili diğer faktörler ise; yoksulluk, yoksunluk veya sosyal statü, eğitim düzeyi, sağlık sigorta kapsamı, dental "sealant"ların kullanımı, ortodontik apareylerin kullanımı, uyumsuz protezler vb.dir.<sup>5</sup>

## BAKTERİYEL PLAK VE BİYOFİLM TABAKASI

Bakteri plağı, diş üzerinde büyüyen ve iki önemli ağız ve diş hastalığı olan diş çürükleri ve periodontal hastalıkların etiyolojilerinde çok önemli yeri olan karışık mikrobiyal biyofilm tabakasıdır. Bakteri plağı, diş yüzeyinde meydana gelen bakteriyel ve tükürük orijinli polimerler içine gömülü farklı bir mikrobiyal birikim olarak tanımlanmaktadır. Bakteri plağında 500'den fazla bakteri türü izole edilmiştir. Biyofilm bir ekstraselüler salgı tabakasına önce tutunup sonra içine gömülerek organize olmuş bakteri topluluğudur. Ekstraselüler salgı tabakaları mantar şeklindeki bakteri kolonilerini çevreleyen koruyucu bir bariyer tabakasıdır.<sup>6,7</sup>

Pelikül; tükürük glikoproteinlerinin diş yüzeyleri ve yumuşak dokulara tutunması ile oluşan genellikle suda çözünmez protein tabakasıdır. Bakteri plağı oluşumunda çok önemli role sahiptir. Herhangi bir ajanla dişlerin fırçalanmasından çok kısa bir süre sonra dişlerin ince bir film tabakası ile kaplandığı görülür. Oluşan bu glikoprotein tabakasına kazanılmış pelikül (acquired pellicle) adı da verilmektedir. Tükürük glikoproteinlerinden kaynaklandığı için yapılarında glukoz, fruktoz, heksozaminler ve fukoz bulunmaktadır. Tükürük glikoproteinlerinin özellikle diş yüzeylerinde bulunan  $Ca^{++}$  ve  $PO_4^{-3}$  iyonlarına çok kolay bağlandıkları belirlenmiştir. Başlangıçta glikoproteinlerle oluşturulan bu biyofilm tabakası daha sonra bağlanan bakteriler ile yeniden düzenlenmektedir.<sup>6</sup>

## TÜKÜRÜĞÜN FONKSİYONLARI

Tükürük fonksiyonları ağız sağlığını korumak ve ekolojik dengeyi sağlamak için beş esas kategoride düzenlenmiştir:<sup>8</sup>

**a. Lubrikasyon ve koruma:** Tükürük, seromukozal bir örtünme sağlayarak, ağız dokularını lubrike ederek irriyan ajanlara karşı korumaktadır.<sup>9,10</sup> Bu fonksiyonu, tükürük viskoelastitesini sağlayan, dehidratasyona karşı koruyucu ve lubrikasyondan sorumlu olan müsinler (yüksek karbonhidrat içerikli proteinler) gerçekleştirmektedir. Çiğneme, konuşma ve yutma işlevlerinde önemli olan bu proteinler, aynı zamanda mikroorganizmaların oral dokulara adezyonunu modüle etmekte ve bu mikroorganizmaların proteolitik aktivitelerine karşı dokuları korur.<sup>11</sup>

**b. Tamponlama etkisi ve klerens:** Tükürük proteinlerinin negatif yüklü artıkları tampon olarak çalışmaktadır. Potansiyel patojenik mikroorganizmaların kolonizasyonunu önleyerek ve asidojenik mikroorganizmaların ürettiği asitleri nötralize ederek minerin demineralizasyonunu önlemektedir.<sup>10</sup>

Tükürük içerisindeki bazı temel proteinlerin bakteriler tarafından metabolize edilmesiyle oluşan ürünler, tükürüğün tamponlama görevine katkıda bulunmaktadır. Amino asit ve protein katabolizmasının ürünü olan üre, tükürük sıvısındaki diğer tampon sistemidir ve bakteriyel üreazların hidroliziyle amonyak ve karbondioksit çıkışı olmakta ve biyofilm pH'sı artmaktadır.<sup>12</sup> Kronik böbrek yetmezliği olan çocuklarda, tükürükte üre miktarının artmasına bağlı olarak daha az çürük gözlenmiştir.<sup>13</sup> Uyarılmamış tükürükte fosfat tampon sistemi görev alırken, uyarılmış tükürükte karbonik asit-bikarbonat sistem en önemli tamponlardır.<sup>11</sup>

**c. Diş bütünlüğünün korunması:** Diş minesinin kimyasal ve fiziksel bütünlüğünün korunmasında remineralizasyon ve demineralizasyonu modüle eden tükürük temel bir rol oynamaktadır. Mine hidroksiapatit yapısının stabilitesinin korunmasında esas faktörler serbest kalsiyum, fosfat ile çözeltideki florid seviyesi ile tükürük pH'sıdır.

**d. Antibakteriyel aktivite:** Tükürük, ağız içi bakteri florasının devamlılığı için önemli olan pro-

teinleri içererek buradaki ekosistemi korumaktadır. Oral floradaki bakterilerin metabolizmalarını inhibe etmek, adezyonlarına engel olmak, bakteri duvarını parçalamak ve ağız içinde patojen bakterilerin kullanabileceği besin artıklarını tüketecek kommensal florayı desteklemek gibi yollarla antimikrobiyal etki göstermektedir.<sup>6,14</sup>

**e. Tat alma ve sindirim:** Plazma dikkate alındığında asinüsler içerisinde oluşan tükürük sıvısı izotoniktir. Ancak, tükürük kanallarının içerisinde geçerken hipotonik hâle gelmektedir. Hipotonik tükürük (düşük seviyede glikoz, sodyum, klorid ve üre) ve tükürüğün maddelerin çözülmesini sağlama özelliği, tat tomurcuklarının farklı tatları algılamasına olanak sağlamaktadır.

Gustin, bir tükürük proteinidir ve tat tomurcuklarının olgunlaşması ve gelişmesi için gereklidir.<sup>10</sup> Nişastanın sindirimi tükürükte başlar. Bu fonksiyonu, tükürük sıvısı içerisinde bulunan alfa amilaz enzimiyle (pityalin) gerçekleşmekte ve bu enzimle nişasta maltoz, maltotrioz ve dekstrinlere parçalanmaktadır. Bu enzimin aktivitesi gastrointestinal sistemin asidik kısımlarıyla inaktive olmakta ve sonuç olarak işlevi ağız ortamı ile sınırlı kalmaktadır.<sup>14</sup>

## DIAGNOSTİK OLARAK TÜKÜRÜĞÜN ÖNEMİ

Dental çürükler ve periodontit gibi yüksek prevalanslı oral hastalıkların takip edilmesinde sınırlı kanıtları olsa da tükürük, noninvaziv bir metot sağlamaktadır. Tükürük analizleri diş hekimliğinde esas olarak oral hastalıkların araştırılmasında ve tükürük tamponlama kapasitesi ve bakteriyel içeriğinin ölçümü ile çürük riskinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır.<sup>15</sup> Yapı ve fonksiyonları geleneksel biyokimyasal yöntemlerle (jel elektroforezi, kapiller elektroforezi, mass spektrometresi ve immunoassay yöntemleri) incelenen tükürük proteinleri klinik ve epidemiyolojik araştırmalarda, oral ve genel sağlık çalışmalarında büyük bir öneme sahiptir ve tükürük bir araştırma materyali olarak kabul edilmektedir.<sup>16</sup>

## TÜKÜRÜĞÜN KOMPOZİSYONU

Tükürük, başlıca 3 çift majör ve ağız mukozasının değişik yerlerine yerleşmiş pek çok minör tükürük

bezi tarafından salgılanan karışık bir sekresyondur. Yaklaşık %99'u su, geri kalanı ise organik ve inorganik maddelerden oluşan bu sıvıya tükürük bezlerinin dışında da katılım söz konusudur. Bunlar; oral mukoza transudant hücreleri, bakteriler, virüsler, üst solunum yolu sekresyonları, gastrointestinal reflü sıvısı, ekstraselüler sıvı ve diş eti oluşu sıvısıdır.<sup>11,14</sup>

Tükürük bileşenleri genel olarak inorganik moleküller, protein yapısında olmayan organik moleküller, protein/peptitler, hormonlar ve lipidler olarak sınıflandırılmaktadır. Tüm tükürüğün inorganik yapısını, esas olarak su ile tamponlama kapasitesini oluşturan zayıf ve güçlü iyonlar (Ca, Na, Mg, K, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, HPO<sub>4</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ve Cl) oluşturmaktadır.<sup>17</sup> Tükürüğün organik kısmının büyük çoğunluğunu ise proteinler oluşturmaktadır. Majör bez kaynaklı en az 40 tükürük proteini olduğu bilinmektedir. Bu proteinler nötralizasyon, yiyeceklerin sindirimi ve oral floranın düzenlenmesi gibi tükürüğün birçok fonksiyonuna eşlik etmektedir.<sup>14</sup>

## TÜKÜRÜK PROTEİNLERİ

Tükürük, oral dokuların korunmasında önemli görevleri olan bir sıvıdır.<sup>18</sup> Van Nieuw Amerongen ve ark. tükürük proteinlerinin diş yüzeyini temizleme, abrazyon ve atrisyona karşı koruma, remineralizasyona teşvik ederek demineralizasyonu geciktirme, asitleri hızla nötralize etme ve oral kaviteyi enfeksiyonlara karşı koruma gibi birçok özelliği olduğunu vurgulamışlardır.<sup>15</sup> Periodontal hastalıklar ve çürük riskini değerlendirmek için tükürük teşhis yaklaşımları geliştirilmiştir.<sup>19</sup> Hassas immüno-kimyasal analizlerin gelişimiyle tükürük salgısının bileşenleri ayrıntılı bir şekilde analiz edilebilmiştir. Farklı proteomik yaklaşımlar, tükürük içinde 1.300'ün üzerinde protein olduğunu bildirmiştir.<sup>18</sup> Çürüklere ya da birçok ağız hastalığına karşı olan bu koruma görevinde tükürük proteinlerinin önemi büyüktür. Bu proteinlerin çürük oluşumu veya gelişimi üzerindeki etkisi hâlâ araştırılmaktadır. Mandel ve ark., çürüklü ve çürüksüz erişkinlerin parotid tükürüğündeki protein düzeylerinde herhangi bir fark olmadığını bildirirken;<sup>20</sup> Balekjian ve ark., çürüksüz bireylerle kıyaslandığında, yaygın çürükleri olan grupta tükürük protein sevi-

yesinde önemli bir azalma ve amilaz miktarında önemli derecede artma gözlemlenmiştir.<sup>21</sup>

## PROLİNDEN ZENGİN PROTEİNLER

Prolinden zengin proteinler (PRP) total protein miktarının %70'ini meydana getirmektedir. İnsan tükürüğünde bulunan 20'den fazla PRP, asidik (a-PRP), bazik (b-PRP) ve glikozillenmiş (g-PRP) olarak gruplandırılmaktadır. a-PRP'ler, Ca iyonuna bağlanarak hem tükürükteki iyonik Ca konsantrasyonunu düşürmekte, hem de hidroksiapatite absorbe olarak hidroksiapatitin çökmesini önleyerek minenin stabilizasyonuna yardımcı olmaktadır. Oral kavitede esas olarak Ca homeostazisinde görev alan a-PRP'ler aynı zamanda mine pelikül oluşumunda etkilidir ve ilk oluşmuş mine pelikülünde bulunmaktadır.<sup>14</sup>

## MÜSİNLER

Müsinler, glikoprotein ailesinin büyük bir üyesi olup, tükürük proteinlerinin %26'dan fazlasını oluşturmaktadır. Tükürükteki müsinler biyofilm tabakasının çoğunluğunu oluşturmakta ve yarı geçirgen bir bariyer işlevi görmektedir. Müsinler, düşük çözünürlüğü, yüksek viskozitesi olan ve kuvvetli yapışkan özelliğindeki proteinlerdir. İnsan tükürüğünde iki tip müsin varlığı gösterilmiştir:

- Düşük molekül ağırlıklı müsin (MG2),
- Yüksek molekül ağırlıklı müsin (MG1).<sup>14</sup>

Müsinler, molekül ağırlıkları, protein ve karbonhidrat içerikleri, oligosakkarit uzunluğu, siyalik asit sayısı, sülfat miktarı alt birimleri ve tükürükteki konsantrasyonları bakımından farklılık göstermektedir. Müsinler %70-80 oranında karbonhidrat içermektedirler ve esas fonksiyonları; lubrikasyon, hidrasyon ve oral kavitenin korunmasıdır. Bakteriyel proteazlar ve toksinler gibi potansiyel iritanların penetrasyonuna karşı bariyer görevi görmektedirler.<sup>22</sup> Müsinlerin ayrıca çiğneme, konuşma, yutmaya yardımcı olma ve mikroorganizmaların aglutinasyonunu sağlama gibi görevleri de vardır.<sup>23</sup>

Çürüğe dirençli hastaların tükürüğünde MG2'nin yüksek oranda bulunduğu gösterilmiştir. MG2'nin hidroksiapatite afinitesi düşüktür, diş tutunması zayıftır ve bu nedenle daha çok tükürük

içinde bulunan mikroorganizmalarla ilgilidir. Ağız boşluğunda MG2-immünglobulin (Ig) A kompleksinin tek immünglobulin A ve MG2'ye göre mukozal patojenlere daha iyi bağlandığı kanıtlanmıştır. MG2 aynı zamanda pelikül oluşumuna katılarak oral dokuların savunmasına katkıda bulunmaktadır.<sup>14</sup> Kutta ve ark., sentezlenen müsinler, karbonhidrat ve Ig'lerin viskoz bir tabaka oluşturduklarını, bu tabakanın enfeksiyona karşı koruduğunu ve tükürük akışını sağladığını söylemişlerdir.<sup>24</sup>

## ANTİBAKTERİYEL PROTEİNLER

### Salgısal İmmünglobulin A

Salgısal IgA, en önemli savunma mekanizması molekülüdür ve oral kavitenin başlıca Ig'dir. Oral kavitede mikrobiyal ataklara karşı ilk savunma sekretuar IgA tarafından yapılmaktadır.<sup>14</sup> Salgısal IgA çürük oluşumu üzerinde immünolojik bir kontrole sahiptir. Karyojenik mikroorganizmaların dış sert yüzeylerine adezyonunu önlemekte ve glikoziltransferaz aktivitesini inhibe edebilmektedir.<sup>25,26</sup>

Salgısal IgA'nın sentez ve salgılanmasının düzenlenmesi antijenik uyarılmanın yanında nöroendokrin kontrole de bağlıdır.<sup>27</sup> Bu durumda stres, egzersiz, hamilelik, menstrüel döngü ve farmakolojik müdahaleler de tükürük IgA seviyesini etkileyebilmektedir. Rashkova ve ark., farklı hastalıkları ya da oral ortamı etkileyen durumları olan çocuk hastaların salgısal IgA ve dental çürük seviyelerini incelemiş buna göre diyabeti, astımı olan ve ortodontik tedavi gören çocuklarla sağlıklı olanları karşılaştırmışlardır. Alınan verilere göre, sağlıklı çocuklarda yüksek salgısal IgA değerleri görülmemiş, astımlı çocuklarda orta değerler bulunmuş ve ortodontik tedavi gören çocuklarda ise en yüksek sIgA seviyelerine rastlanmıştır.<sup>28</sup>

### Laktoferrin

Laktoferrin, 76.000 dalton (Da) molekül ağırlığında demir bağlayan bir proteindir. Ferrik demir iyonlarına bağlanarak tükürüğü demirden arındırmakta ve bakterileri temel besin kaynaklarından biri olan demirden yoksun bırakmaktadır. Başta *Streptococcus mutans* olmak üzere pek çok bakteri türünde antibakteriyel etkiye sahiptir.<sup>6</sup> Demir bağlama kapasitesinden bağımsız olarak da *S. mutans*'ın adezyo-

nunun engellenmesinden de sorumludur.<sup>29</sup> Bunun yanında immün yanıtın modülasyonu, antiinflamatuar aktivite, hücre büyümesi ve farklılaşmasının düzenlenmesi, anti-tümör ve antiviral aktivite gibi görevleri de olan çok fonksiyonlu bir proteindir. Proteolitik aktivitesi, bakteriyel biyofilm oluşumunu inhibe etmesi ve kemik büyümesini teşvik etmesi de rapor edilen diğer görevleri arasındadır.<sup>30</sup>

### Lizozim

Tükürük içerisinde antibakteriyel etkiye sahip olan proteinlerden biri olan lizozim 14,4 kD molekül ağırlığındadır. Bakteri hücre duvarındaki spesifik bağları, muramik asit içeren glikopeptid bölgesini, N-asetilmuramikasit ve N-asetil-D-glukozamin arasındaki beta 1-4 bağlarını hidroliz ederek hücre lizizi ve ölümüne sebep olmaktadır.<sup>18</sup> 2014 yılında yapılan bir çalışmada, erken çocukluk çağı çürükleri olan çocuklarda laktoferrin, lizozim ve lakto-peroksidaz içerikli diş macunlarının kısa dönem karşılaştırmalı etkisi incelenmiş ve bu proteinleri içeren diş macununun uygulanmasının tükürükteki *S. mutans* ve *Lactobacillus acidophilus* seviyesini azalttığı gösterilmiştir.<sup>31</sup>

### Peroksidaz Sistemi

İnsan tükürüğünde bulunan peroksidaz sistemi iki enzimden oluşmaktadır; biri parotit ve submandibuler tükürük bezlerinin asiner hücreleri tarafından üretilen tükürük peroksidazı, diğeri ise diş eti oluğunda etkili polimorfonükleer lökosit (PMNL)'ler tarafından üretilen miyeloperoksidazlardır.<sup>14</sup> Enzimler, kofaktör olarak hidrojen peroksid kullanılarak tiyosiyanatı (SCNS) okside ederek hipotiyosiyanat (HSCN<sup>-</sup>) anyonunu oluşturmaktadır. Oluşan hipotiyosiyanat ile hem bakterilerin metabolizması inhibe edilerek büyümesi kontrol altına alınmakta hem de bakteri ve lökositler tarafından oral kaviteye salınan serbest hidrojen peroksid kullanılarak potansiyel sitotoksik etkisinden ağız dokuları korunmuş olmaktadır.<sup>32</sup>

### Histatinler

Histatinler, küçük katyonik, histidin amino asidinden zengin, insan parotid, submandibuler ve sublingual bezlerden salgılanan multifonksiyonel protein ailesidir.<sup>14,33</sup> Güçlü antifungal aktivitelerinin

yanı sıra, çeşitli mikrobiyal suşlara karşı apoptotik faaliyet sergilemektedirler.<sup>34</sup> Protein grubunun içinde *Candida albicans*'lara karşı en yüksek antifungal aktiviteyi gösteren histatin-5 reseptörleriyle hücre membranına tutunarak hücre içerisine girmekte, reaktif oksijen türleri oluşturarak mitokondri ve sitoplazmik membranların zarar görmesine ve hücrelerin ölümüne neden olmaktadır.<sup>35</sup>

### Defensin

Defensinler, 380'den fazla üyesi olan ve altı sistein kalıntısı içeren arjininden zengin antimikrobiyal proteinlerden biridir.<sup>36</sup> Defensinler genel olarak mikroorganizma kaynaklı stres yanıtında görev almaktadır, doğal immün sistem hücrelerinin aktivasyonu ve migrasyonundan sorumludur.<sup>37</sup> Ayrıca, çalışmalarda defensinlerin hücre rüptürü ve lipopolisakkarit üretimini inhibe ederek oral streptokoklar üzerinde antimikrobiyal aktivitesi olduğu gösterilmiştir. İnsanlarda defensinlerin alfa-defensinler (granül nötrofillerde) ve beta-defensinler (mukozal epitellerin glandüler salgılarında) olmak üzere iki alt grubu bulunmaktadır. İnsan beta-defensin-2 (HBD-2), beta defensin-4 (hBD-4) ve alfa defensin-4 (Hnp-4) proteininin tükürükteki varlığı çürüğe karşı bir direnç sağlamaktadır.<sup>38</sup>

### Kathelisidinler

Kathelisidinler lökosit kemotaksisi, yara iyileşmesinin uyarılması ve geniş spektrumlu antibakteriyel aktivitesiyle konak savunma fonksiyonları olan yüksek miktarda heterojen peptitlerdir.<sup>39</sup> Bu proteinler yapısına göre üçe ayrılmaktadır. İnsanlarda belirlenen kathelisidinler hCAP-18/LL-37 grubudur ve sarmal yapıda olan sisteinden yoksun antimikrobiyal peptitlerdir.<sup>40</sup> Ağız boşluğunda özellikle diş eti oluşu sıvısında LL-37 bulunmaktadır. Bu nedenle, son zamanlarda hem defensinler hem de kathelisidinlerin periodontal hastalıklar ve çürük oluşumundaki rolleri incelenmiş, LL-37'nin karyojenik patojenlere membran yapılarını bozarak etki ettiği görülmüştür.<sup>41</sup>

### STATERİN

Parotis bezinden salgılanan staterin, tirozin ve prolinen zengin, fosforillenmiş bir proteindir.<sup>18</sup> Kalsiyum bağlayan proteinlerden biridir ve tükürüğün

kalsiyum fosfat tuzlarıyla süpersatüre olması için kalsiyumun çökmesini engellemekte ve tükürükte stabilize edici ve koruyucu bir ortam oluşturmaktadır.<sup>14</sup> Süpersatüre olmuş tükürükten kalsiyum fosfatın kendiliğinden çökmesini engellemesinin yanında kristal büyümesinden olan sekonder çökme de asidik amino terminal hegzapeptit kısmıyla önlemektedir.<sup>42</sup> Staterinin *Actinomyces viscosus*'un dış yüzeyine adezyonunu artırdığı bildirilmiştir.<sup>14</sup>

### SİSTATİN

Sistein proteinazların doğal inhibitörü olan sistatinlerin, sistein proteazların degradasyonuna karşı oral dokuları koruyabileceği öne sürülmüştür. İnsan tükürüğündeki sistatin aktivitesi esas olarak sistatin S, sistatin SA (asidik) ve sistatin SN (nötral) ile ilişkilendirilmiştir.<sup>43</sup> Tükürükteki ve pelikıldaki sistatinler multifonksiyoneldir. Hem konak hem de mikrobiyal kaynaklı sistein proteazlarını inhibe edebilmekte ve mine yüzeyinde mineralizasyon işlemlerinde rol oynamaktadırlar. Tükürükteki sistatinlerin HA'ya öncelikle adsorbe olduğu gösterilmiştir.<sup>14</sup> Düşük Çürük, Kayıp, Dolgulu Dişler [Decayed, Missed, Filled Teeth (DMFT)] İndeksi değerleriyle sistatinin ilişkili olduğunu gösteren çalışma, sistatinlerin oral kavitenin korunmasındaki rolünü desteklemektedir.<sup>44</sup>

### KARBONİK ANHİDRAZ ENZİMİ

Genel olarak insan karbonik anhidraz enzimi çeşitli dokularda pH homeostazisinin idamesinde görev almaktadır.<sup>45</sup> Aktif çürüklü çocuklarla kıyaslandığında, çürüksüz çocukların tükürüğündeki CA VI aktivitesinin yüksek olduğu belirtilmiştir.<sup>46</sup> Mine pelikılına bağlanabilen CA VI enzimi asitlerin uzaklaştırılmasına katkıda bulunur ve tamponlama etkisiyle oluşan bikarbonat iyonları, plak bakterileri tarafından üretilen asitleri nötralize edebilir ve demineralizasyon böylece azaltmış olur. CA VI enzimi minenin hidroksiapatit kristallerine adsorbe olabilir, pelikıl ve dental biyofilm içerisinde varlığını sürdürebilir.<sup>14,47</sup> Sonuç olarak, tükürük CA VI enzimi oral fizyoloji için anahtar enzim olup, bu enzim ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.

### MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR

Matriks metalloproteinaz (MMP)'lar; yıkımdan sorumlu birçok ekstraselüler matriks proteini ile or-

ganogenez, büyüme ve doku dönüşümü sırasında uyum içinde çalışan enzim grubudur. Şu ana kadar insanda 24 adet MMP kimliklendirilmiş, 26 adet iyi tanımlanmış üye rapor edilmiştir.<sup>48,49</sup> Tükürükten izole edilen MMP'ler de, tükürük direkt olarak çürük dentine ulaşabildiği için, yıkım sürecinde etkilidir. Çürük oluşumunda dentin ekstraselüler makriksinin yıkımında bakteriyel proteazlar ana sorumlu olarak görülmüştür.<sup>50,51</sup> Ancak birçok çalışma, çürüğün kontrolü ve gelişiminde bakteriyel asitlerin yaptığı demineralizasyonu takiben konak kaynaklı MMP'lerin de dentin yıkımına katıldığını göstermektedir.<sup>52</sup> Sulkala ve ark.nın yaptıkları bir çalışmada, MMP'lerin çürük patogenezinde önemli bir role sahip oldukları ve MMP inhibitörlerinin sistemik ya da topikal uygulamasının çürüğe karşı koruma sağlayacağı belirtilmiştir.<sup>53</sup>

#### AMİLAZ

Tükürük amilazı, amiloz ve amilopektin gibi nişastanın alfa (1,4) bağlarını hidroliz eden Ca içeren metalloenzimdir. Parotid tükürüğünün total proteininin %30'unu oluşturmaktadır. Nişasta ve kompleks karbonhidratları parçalayan hidrolitik bir enzimdir.<sup>14</sup> İnsan tükürüğündeki amilazın oral kavitedeki dağılımı değişkenlik göstermektedir, farklı yüzeylerdeki pelikülün farklı derecelerde amilaz içerdiği ve pelikülün esas bileşeni olduğu söylenebilir.<sup>54</sup>

#### FOSFATAZ

Organik fosforik asit monoesterlerini kendi bileşenlerine hidroliz ederler. Asit fosfataz ve alkalın fosfataz olmak üzere iki türü vardır.<sup>45</sup> Asidik fosfatazın aksine mine örneklerinin üzerinde oluşturulmuş parotis tükürüğünden elde edilen deneysel peliküllarda alkalın fosfataz bulunmuştur.<sup>7</sup> Dental çürükleri olan çocuklarda tükürük kalsiyum, fosfor ve alkalın fosfataz seviyelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, tükürüğün çürük risk durumunu yansıtabileceği fikri desteklenmiş ve çürüğe yatkın olan gruplarda alkalın fosfataz aktivitesi anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.<sup>55</sup>

#### BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE SİTOKİNLER

Biyolojik mediyatörler olarak da sınıflandırılan büyüme ve farklılaşma faktörleri, ağız ortamındaki çe-

şitli dokularda mevcut olup bu dokuların gelişimi, büyümesi ve rejenerasyonunda görev almaktadırlar. Polipeptit yapıda olan bu moleküller tükürükte de mevcuttur ve ağız sağlığının korunmasında büyük bir öneme sahiptir. Büyüme faktörlerinin daha çok periodontal dokular ve kemikteki etkileri bilinmesine rağmen çürük oluşumu üzerine etkisini araştıran çalışmalar henüz mevcut değildir.<sup>14</sup> Sitokinler, immün yanıtı düzenleyen protein yapısında moleküllerdir. Bakterilerin oral kavitede kolonize olmasıyla inflamasyon süreci başlamakta ve inflamatuvar lezyonlar konağın doğal ve adaptif immün yanıtını uyarmaktadır. Gornowicz ve ark., yaptıkları çalışmada, dental çürükleri olan hastaların tükürük sitokinlerindeki değişiklikleri incelemiş ve sonuçları kontrol grubuyla kıyasladıklarında diş çürüğü olan kişilerin uyarılmamış tükürüklerinde interlökin (IL)-6, IL-8 ve tümör nekrozis faktör (TNF)-alfa'nın yüksek miktarda olduğunu göstermişlerdir.<sup>56</sup>

#### Tükürük proteinlerinin ağız ve diş sağlığı açısından önemi özetlenecek olursa;

- Diş yüzeyi tükürük müsin ve prolinden zengin glikoproteinlerin oluşturduğu bir film tabakasıyla aşınmaya karşı korunmaktadır.
- Erken pelikül proteinleri, prolinden zengin proteinler ve staterin kalsiyum iyonlarını depolarak minenin remineralizasyonunu hızlandırmaktadır.
- Demineralizasyon tükürük ve plak sıvısındaki kalsiyum ve fosfat iyonlarının uyumu ile birlikte pelikül proteinleri tarafından yavaşlatılmaktadır.
- Birçok tükürük glikoproteini oral mikroorganizmaların diş minesine yapışmasını engellemekte ve bunların büyümesini inhibe edebilmektedir.
- Yalnızca bilinen majör tükürük glikoproteinleri değil (müsinler, prolinden zengin glikoproteinler, immünglobulinler), aynı zamanda aglutinin, laktoferrin, sistatin ve lizozim gibi minör tükürük proteinleri de oral kavitenin savunma mekanizmasında görev almaktadır.

■ Bunun yanında küçük katyonik antimikrobiyal peptitler de (defensin, kathelisidin ve histatinler) odak noktası hâline gelmiştir.<sup>16</sup>

Tükürük proteinlerinin çürük gelişimindeki rollerini belirlemek için ihtiyaç duyulan ileri düzey çalışmalar, diş çürükleri için önleyici olacak, ayrıca tedavi protokollerinin de geliştirilmesini kolaylaştıracaktır.

### Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması veya finansal destek bildirmemiştir.

### Yazar Katkıları

**Fikir/Kavram:** Araştırma ve/veya makalenin hipotezini veya fikrini oluşturmak: Begüm Büşra Cevval Özkoçak, Emine Şirin Karaarslan, Fatma Aytaç, **Tasarım:** Sonuçlara ulaşılmasını sağlayacak yöntemi tasarlamak: Begüm Büşra Cevval Özkoçak, **Denetleme/Danışmanlık:**

**Araştırmanın/çalışmanın yürütülmesini organize etmek, ilerlemesini gözetmek ve sorumluluğunu almak:** Emine Şirin Karaarslan, Fatma Aytaç, **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Hastaların takibi, ilgili biyolojik materyallerin toplanması, verilerin düzenlenmesi ve raporlanması, **deneylerin yapılması için sorumluluk almak:** Begüm Büşra Cevval Özkoçak, **Analiz ve/veya Yorum:** Bulguların mantıklı bir şekilde değerlendirilerek sonuçlandırılmasında sorumluluk almak: Begüm Büşra Cevval Özkoçak, Emine Şirin Karaarslan, Fatma Aytaç, **Kaynak Taraması:** Çalışma için gerekli kaynak taramasında sorumluluk almak: Begüm Büşra Cevval Özkoçak, **Makalenin Yazımı:** Çalışmanın tamamının ya da önemli bölümlerinin yazılmasında sorumluluk almak: Begüm Büşra Cevval Özkoçak, Emine Şirin Karaarslan, Fatma Aytaç, **Eleştirel İnceleme:** Çalışmanın teslim edilmesinden önce dil ve yazınsal düzeltmelerden bağımsız olarak bilimsel anlamda çalışmayı yeniden değerlendirmek: Emine Şirin Karaarslan, Fatma Aytaç

## KAYNAKLAR

1. Lenander-Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and dental caries. Adv Dent Res 2000;14:40-7.
2. Murdoch-Kinch CA, McLean ME. Minimally invasive dentistry. J Am Dent Assoc 2003; 134(1):87-95.
3. Doméjean S, White JM, Featherstone JD. Validation of the CDA CAMBRA caries risk assessment—a six-year retrospective study. J Calif Dent Assoc 2011;39(10):709-15.
4. Featherstone JD. Caries prevention and reversal based on the caries balance. Pediatr Dent 2006;28(2):128-32.
5. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. Lancet 2007;369(9555):51-9.
6. Yılmaz T. [Saliva and salivary glands], [Bacterial plaque]. Ağız ve Diş Biyokimyası. 1. Baskı. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi; 2012. p.109-202.
7. Stiefel DJ. Characteristics of an in vitro dental pellicle. J Dent Res 1976;55(1):66-73.
8. Humphrey SP, Williamson RT. Review of saliva: normal composition, flow, and function. J Prosthet Dent 2001;85(2):162-9.
9. Stack KM, Pappas AS. Xerostomia: etiology and clinical management. Nutr Clin Care 2001;4(1):15-21.
10. Nagler RM. Salivary glands and the aging process: mechanistic aspects, health-status and medicinal-efficacy monitoring. Biogerontology 2004;5(4):223-33.
11. de Almeida Pdel V, Grégio AM, Machado MA, de Lima AA, Azevedo LR. Saliva composition and functions: a comprehensive review. J Contemp Dent Pract 2008;9(3):72-80.
12. Ten Cate AR. Salivary glands. Oral Histology: Development, Structure and Function. 5th ed. St. Louis: Mosby; 1998. p.253-5.
13. Lucas VS, Roberts GJ. Oro-dental health in children with chronic renal failure and after renal transplantation: a clinical review. Pediatr Nephrol 2005;20(10):1388-94.
14. Emekli N, Yarat A, Kadir T, Tunali Akbay T, Çorak A, Pişiriciler R, et al. [Some proteins and enzymes in saliva]. Emekli N, Yarat A, editörler. Tükürük: Histolojisi Fizyolojisi Mikrobiyolojisi ve Biyokimyası. 1. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. p.225-70.
15. Van Nieuw Amerongen A, Bolscher JG, Veerman EC. Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? Caries Res 2004;38(3):247-53.
16. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. Clin Chim Acta 2007;383(1-2):30-40.
17. Thota JD. Saliva-A potential diagnostic tool. Journal of Dental and Medical Sciences 2014;13(2):52-7.
18. Laila Huq N, Cross KJ, Ung M, Myroforidis H, Veith PD, Chen D, et al. A review of the salivary proteome and peptidome and saliva-derived peptide therapeutics. Int J Pept Res Ther 2007;13(4):547-64.
19. Spielmann N, Wong DT. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. Oral Dis. 2011;17(4):345-54.
20. Mandel ID, Zorn M, Ruiz R, Thompson RH Jr, Ellison SA. The proteins and protein-bound carbohydrates of parotid saliva in caries-immune and caries-active adults. Arch Oral Biol 1965;10(3):471-5.
21. Balekjian AY, Meyer TS, Montague ME, Longton RW. Electrophoretic patterns of parotid fluid from caries-resistant and caries-susceptible individuals. J Dent Res 1975;54(4):850-6.
22. Jenkinson HF, Lamont RJ. Oral microbial communities in sickness and in health. Trends Microbiol 2005;13(12):589-95.
23. Zalewska A, Zwierz K, Zolkowski K, Gindzieski A. Structure and biosynthesis of human salivary mucins. Acta Biochim Pol 2000;47(4):1067-79.
24. Kutta H, May J, Jaehne M, Münscher A, Paulsen FP. Antimicrobial defence mechanisms of the human parotid duct. J Anat 2006;208(5):609-19.
25. Petersen PE. Challenges to improvement of oral health in the 21st century—the approach of the WHO Global Oral Health Programme. Int Dent J 2004;54(6 Suppl 1):329-43.



26. Koga-Ito CY, Martins CA, Balducci I, Jorge AO. Correlation among mutans Streptococci counts, dental caries, and IgA to *Streptococcus mutans* in saliva. *Braz Oral Res* 2004;18(4):350-5.
27. Teeuw W, Bosch JA, Veerman EC, Amerongen AV. Neuroendocrineregulation of salivary IgA synthesis and secretion: implications for oral health. *Biol Chem* 2004;385(12):1137-46.
28. Rashkova M, Baleva M, Peneva M, Toneva N, Jegova G. Secretory immunoglobulin A (SIgA) and dental caries of children with different diseases and conditions influencing oral medium. *Journal of IMAB-Annual Proceeding (Scientific Papers) Book 2*. 2009;6-9.
29. Berlutti F, Ajello M, Bosso P, Morea C, Petrucca A, Antonini G, et al. Both lactoferrin and iron influence aggregation and biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *BioMetals* 2004;17(3):271-8.
30. Baker EN. Lactoferrin: a multi-tasking protein par excellence. *Cell Mol Life Sci* 2005;62(22):2529-30.
31. Gudipani RK, Kumar RV, G J, Pedden-gatagari S, Duddu Y. Short term comparative evaluation of antimicrobial efficacy of tooth paste containing lactoferrin, lysozyme, lactoperoxidase in children with severe early childhood caries: a clinical study. *J Clin Diagn Res* 2014;8(4):ZC18-20.
32. Malicka B, Kaczmarek U, Skośkiewicz-Malinowska K. Selected antibacterial factors in the saliva of diabetic patients. *Arch Oral Biol* 2015;60(3):425-31.
33. da Silva BR, de Freitas VA, Nascimento-Neto LG, Carneiro VA, Arruda FV, de Aguiar AS, et al. Antimicrobial peptide control of pathogenic microorganisms of the oral cavity: a review of the literature. *Peptides* 2012;36(2):315-21.
34. Edgerton M, Koshlukova SE. Salivary histatin 5 and its similarities to the other antimicrobial proteins in human saliva. *Adv Dent Res* 2000;14:16-21.
35. Li XS, Sun JN, Okamoto-Shibayama K, Edgerton M. *Candida albicans* cell wall ssa proteins bind and facilitate import of salivary histatin 5 required for toxicity. *J Biol Chem* 2006;281(32):22453-63.
36. Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2003;3(9):710-20.
37. Diamond G, Beckloff N, Weinberg A, Kisich KO. The roles of antimicrobial peptides in innate host defense. *Curr Pharm Des* 2009;15(21):2377-92.
38. Barrera JG, Tortolero GS, Rivas A, Flores C, Gonzales JL. Increased expression and levels of human  $\beta$  defensins (hBD2 and hBD4) in adults with dental caries. *Journal of Health Sciences* 2013;3(2):88-95.
39. Zanetti M. Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity. *J Leukoc Biol* 2004;75(1):39-48.
40. Bals R, Wilson JM. Cathelicidins--a family of multifunctional antimicrobial peptides. *Cell Mol Life Sci* 2003;60(4):711-20.
41. Adam P, Michael LC, Peppermey A, Chikindas ML. Antibacterial peptides: opportunities for the prevention and treatment of dental caries. *Probiotics Antimicrob Proteins* 2011;3(2):68.
42. Izumi M, Zhang BX, Dean DD, Lin AL, Saunders MJ, Hazuda HP, et al. Secretion of salivary statherin is compromised in uncontrolled diabetic patients. *BBA Clin* 2015;3:135-40.
43. Henskens YM, Veerman EC, Mantel MS, van der Velden U, Nieuw Amerongen AV. Cystatins S and C in human whole saliva and in glandular salivas in periodontal health and disease. *J Dent Res* 1994;73(10):1606-14.
44. Baron A, Barrett-Vespone N, Featherstone J. Purification of large quantities of human salivary cystatins S, SA and SN: their interactions with the model cysteine protease papain in a non-inhibitory mode. *Oral Dis* 1999;5(4):344-53.
45. Hannig C, Hannig M, Attin T. Review enzymes in the acquired enamel pellicle. *Eur J Oral Sci* 2005;113(1):2-13.
46. Szabó I. Carbonic anhydrase activity in the saliva of children and its relation to caries activity. *Caries Res* 1974;8(2):187-91.
47. Peres RC, Camargo G, Mofatto LS, Cortelazzi KL, Santos MC, Nobre-dos-Santos M, et al. Association of polymorphisms in the carbonic anhydrase 6 gene with salivary buffer capacity, dental plaque pH, and caries index in children aged 7-9 years. *Pharmacogenomics J* 2010;10(2):114-9.
48. Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol* 1993;64(5 Suppl):474-84.
49. Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999;274(31):21491-4.
50. Armstrong WG. Further studies on the action of collagenase on sound and carious human dentin. *J Dent Res* 1958;37(6):1001-15.
51. Sognnaes RF. Introduction to the problem of caries. *Ann NY Acad Sci* 1965;131(2):687-9.
52. Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res* 1998;77(8):1622-9.
53. Sulkala M, Wahlgren J, Larmas M, Sorsa T, Teronen O, Salo T, et al. The effects of MMP inhibitors on human salivary MMP activity and caries progression in rats. *J Dent Res* 2001;80(6):1545-9.
54. Carlen A, Borjesson AC, Nikdel K, Olsson J. Composition of pellicles formed in vivo on tooth surfaces in different parts of the dentition, and in vitro on hydroxyapatite. *Caries Res* 1998;32(6):447-55.
55. Vijayaprasad KE, Ravichandra KS, Vasa AA, Suzan S. Relation of salivary calcium, phosphorus and alkaline phosphatase with the incidence of dental caries in children. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2010;28(3):156-61.
56. Gornowicz A, Bielawska A, Bielawski K, Grabowska SZ, Wójcicka A, Zalewska M, et al. Pro-inflammatory cytokines in saliva of adolescents with dental caries disease. *Ann Agric Environ Med* 2012;19(4):711-6.