

**BIOCHIMICA
DELLA SALIVA
DEI DENTI E DELLA
CARIE DENTALE**

Saliva

- È il fluido biologico che bagna la cavità orale.
- È un fluido complesso prodotto da numerose ghiandole specializzate che si scaricano nella cavità orale.
- Contiene elettroliti e proteine.
- Il volume totale di saliva prodotta ogni giorno negli adulti è compreso tra 500 e 1500 mL.

Funzioni della saliva

1. Azione antibatterica e antifungina
2. Soluzione tampone
3. Digestione
4. Mineralizzazione
5. Lubrificazione
6. Molti componenti salivari svolgono più funzioni. Ad esempio, l'amilasi, oltre ad essere un enzima, inibisce anche la precipitazione dei sali di calcio.

Composizione della saliva

- Le ghiandole parotidi producono solo secrezioni sierose, prive di mucina.
- Le ghiandole sottomandibolari e sublinguali secernono sia secrezioni sierose che contenenti mucina (glicoproteina presente nei secreti mucosi del tratto respiratorio e gastro-intestinale).
- La viscosità della saliva sottomandibolare solitamente diminuisce con l'aumentare della portata.
- La secrezione salivare è stimolata dall'olfatto e dal gusto.

Composizione della saliva

• Volume	500-1500 mL/giorno
• Velocità di flusso	0,1-0,25 mL/min
• pH	5,6-7,2 (medio 6,5)
• Contenuto d'acqua	97-99,5%
• Proteine totali	1-6 g/L
• Mucina	2,7 g/L
• Glucosio	10-20 mg/dL
• Potassio	10-40 mMol/L
• Sodio	2-50 mMol/L
• Calcio	1-2,5 mMol/L
• Magnesio	0,2-0,6 mMol/L
• Fosfato	2-22 mMol/L
• Cloruro	5-50 mMol/L
• Lipidi totali	20 mg/dL
• Colesterolo	7,5 mg/dL

Componenti inorganici

La saliva contiene gli stessi elettroliti degli altri fluidi corporei, i cui ioni principali sono **sodio, potassio, cloruro e bicarbonato.**

Componenti organici

- Carboidrato principale: **glucosio** (0,5–1 mMol/L)
- **Ormoni, immunoglobuline ed enzimi** possono essere rilevati in tracce.
- **Proteine totali**: inferiore all'1% di quella nel plasma.
- Importanti proteine della saliva: **mucina, staterina, istatine, lisozima, proteine ricche in prolina (PRP), anidrasi carbonica, lipasi linguale, amilasi, lattoferrina perossidasi e immunoglobulina A (IgA).**

Mucine

- Costituiscono le principali proteine della saliva.
- Le mucine salivari esistono in due forme; MG1 e MG2. Entrambi sono glicoproteine.
- Contengono gruppi carichi negativamente, come acido sialico e solfato.
- Sono idrofile e intrappolano l'acqua con conseguente elevata elasticità.
- I residui oligosaccaridici si legano alle proteine batteriche impedendo loro di aderire ai tessuti molli e allo smalto.

Funzioni della mucina

1. Rivestimento dei tessuti

- Rivestimento protettivo su tessuti duri e molli
- Ruolo primario nella formazione della pellicola **acquisita** La pellicola dentale, o pellicola acquisita, è un film proteico che si forma sullo smalto superficiale mediante il legame selettivo di glicoproteine della saliva che impedisce la deposizione continua di fosfato di calcio salivare. Si forma in pochi secondi dopo la pulizia di un dente o dopo la masticazione. Protegge il dente dagli acidi prodotti dai microrganismi orali dopo aver consumato carboidrati.
- Concentra molecole antimicrobiche all'interfaccia della mucosa

2. Lubrificazione

- Il loro allineamento con la direzione del flusso aumenta le qualità lubrificanti

I principali enzimi della saliva

I principali enzimi:

amilasi, lipasi linguale

Anidrasi carbonica

Perossidasi

Lisozima

Enzimi e altre proteine

Funzioni

- digestione
- azione tampone nella saliva
- funzione battericida
- azione antimicrobica:
degradazione della parete
cellulare dei batteri
- sintetizzati dalle cellule acinose

AMILASI

- Il principale enzima salivare è l'alfa-amilasi.
- L'amilasi agisce sui carboidrati. Taglia i legami glicosidici α -1,4 dell'amido. I prodotti sono piccole quantità di maltosio e polisaccaridi di dimensioni inferiori.
- Il pH ottimale dell'amilasi salivare è 6. La sua azione è di breve durata perché quando il cibo passa nello stomaco l'enzima diventa inattivo al pH altamente acido del lume gastrico.
- La ghiandola parotide secreta gran parte dell'amilasi.
- In caso di ostruzione dei dotti salivari o infiammazione delle ghiandole, l'amilasi salivare passa nel sangue e aumenta il livello di amilasi sierica.
- L'amilasi mostra anche deboli proprietà antibatteriche e proprietà tampone.

Altre proteine

1. Immunoglobulina A (IgA): anticorpi presenti nelle secrezioni corporee. Efficace contro i batteri cariogeni.
2. La lattoferrina chela il ferro.
3. Proteine ricche di istidina
 - attività antifungina
 - riducono gli attacchi batterici
 - riducono la precipitazione di calcio e fosfato
 - aiutano nella formazione della pellicola dentale
 - rallentano la perdita di ioni calcio e fosfato dai denti

Altre proteine

4. Staterine

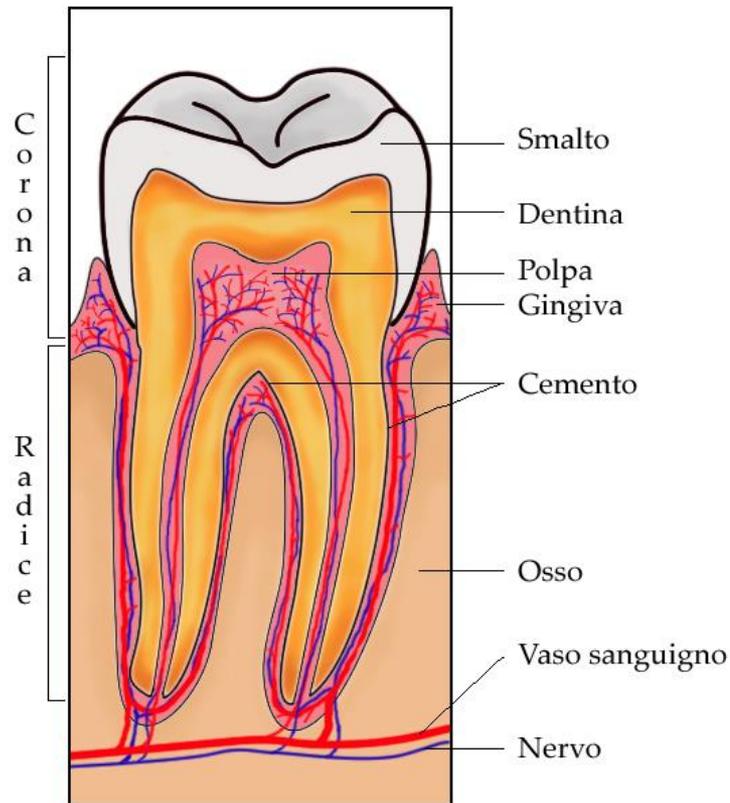
- sono proteine che impediscono la cristallizzazione del fosfato di calcio supersaturo nella saliva duttale.
- Il fosfato di calcio supersaturo è necessario per il mantenimento dell'integrità dello smalto.
- legano il calcio e impediscono la precipitazione del fosfato di calcio riducendo la probabilità di formazione di calcoli dentali.
- aiutano anche nella lubrificazione.

5. Proline Rich Protein (PRP)

- contengono un gran numero di residui di prolina (40% o più).
- Riducono la precipitazione del fosfato di calcio.
- PRP aiutano anche nella formazione della pellicola dello smalto che a sua volta riduce gli attacchi batterici
- Rallentano la perdita di ioni calcio e fosfato dai denti.

COMPOSIZIONE DEI DENTI

Durante la formazione dei denti, esiste una stretta associazione di materiale cristallino (minerale) inorganico e strutture fibrose organiche (polimero); entrambi i componenti svolgono un ruolo strutturale nel dente.

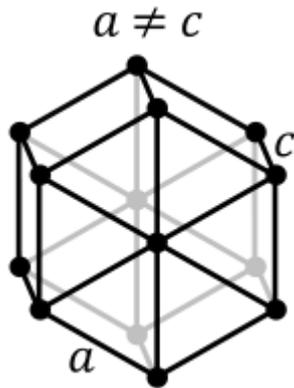


Componenti inorganici

- Il calcio inorganico viene depositato insieme al fosfato come idrossiapatite, che è la principale forma di calcio in tutti i tessuti dei denti (97% dello smalto e 70% della dentina).
- altre forme cristalline di fosfato di calcio possono essere presenti nei denti.
- Il fosfato di calcio amorfo (non cristallino) si trova nella dentina.

IDROSSIAPATITE

L'idrossiapatite è un minerale naturale costituito da apatite di calcio con formula $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$, ma è di solito scritto $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ per sottolineare che la cella cristallina contiene due entità. Il gruppo OH^- può essere sostituito da F^- , Cl^- o CO_3^{2-} . Forma cristalli a sistema esagonale.



cristallo a sistema
esagonale



apatite

IDROSSIAPATITE: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$

- Nella bocca la situazione è più complessa.
- Il sale più comune presente nei denti è una forma impura di idrossiapatite di Ca, chiamata apatite biologica.
- Le impurezze includono: sodio, magnesio, potassio, piombo, stronzio, bario e carbonato. Esse introducono difetti nei cristalli di idrossiapatite, aumentandone la solubilità.
- E' abbastanza difficile fare in laboratorio idrossiapatite pura; non stupisce quindi che il minerale delle ossa e dei denti non sia puro, in quanto viene formato in un ambiente biologico, dove sono presenti molte sostanze diverse.

Componenti inorganici

- Gli ioni fosfato costituiscono il componente principale degli ioni presenti nel cristallo.
- La disposizione degli ioni fosfato forma dei canali ottaedrici che attraversano la struttura cristallina.
- Due terzi di questi canali sono occupati da ioni calcio.
- Il terzo rimanente dei canali è occupato da ioni fluoruro (fluoroapatite).

Componenti inorganici

Elementi presenti in tracce

- Nello smalto umano si trovano oligoelementi come ferro, zinco, rame e manganese.
- Ferro e zinco si accumulano vicino alla superficie del dente, cioè negli strati esterni di smalto.

Componenti organici

- Collagene
- È il principale componente proteico della calcificazione di tessuti come ossa, dentina e cemento.
- Ogni catena polipeptidica di collagene ha circa 1000 residui di aminoacidi.
- Le proteine strutturali e l'apatite dei denti devono essere sintetizzate in modo integrato.
- Nei denti le fibrille di collagene sono adatte ai ruoli di supporto dello stress tridimensionale e di orientamento e supporto dei cristalli di apatite.

Altre proteine nei denti

La matrice extracellulare contiene anche:
glicoproteine (GP) e glicosaminoglicani (GAG).

Queste proteine sono associate alla dentina e alla piastra basale.

Proteine della dentina

1. Specifiche dei denti e delle ossa:

- **collagene di tipo I**: costituisce il reticolo per la mineralizzazione,
- **glicoproteine acide e proteoglicani**: controllano l'inizio della formazione e la crescita dei cristalli.

2. Tre proteine principali specifiche della dentina

- Dentin phosphoryn
- Dentin matrix protein
- Dentin sialoprotein

svolgono un ruolo importante nel controllo della mineralizzazione.

Proteine dello smalto

Non c'è collagene

Amelogenina è una proteina della matrice extracellulare a basso peso molecolare.

Costituisce circa il 90% di tutte le proteine dello smalto.

Ha residui idrofobici all'esterno. L'importanza dell'amelogenina è stata evidenziata nella malattia amelogenesi imperfecta, dove l'assenza di amelogenina si traduce in uno smalto non propriamente formato

Funzione

Una porzione di 27 aminoacidi dell'amelogenina funziona come un canale del calcio.

La fosforilazione di un residuo di serina della proteina apre il canale del calcio, attraverso il quale gli ioni calcio si dirigono verso il fronte di mineralizzazione.

Inoltre influenza lo sviluppo del cemento.

Il processo di mineralizzazione

- La mineralizzazione è un processo mediante il quale calcio e fosfato inorganici vengono depositati sulla matrice organica.
- Gli osteoblasti sintetizzano e secernono la matrice organica, che viene poi mineralizzata.
- Gli osteoclasti sono coinvolti nel riassorbimento osseo.
- Fosfatasi alcalina: enzima chiave nel processo di mineralizzazione.
 - L'enzima libera il fosfato dai substrati, in modo che la concentrazione ionica (di calcio x fosfato) sia aumentata al livello di sovrasaturazione, portando alla deposizione di apatite.

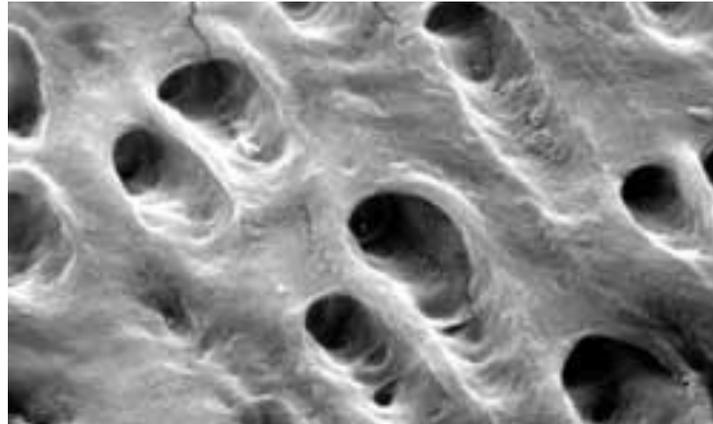
TESSUTI MINERALIZZATI

Smalto, dentina, ossa, cemento.

Differiscono per il tipo e la quantità di proteine della matrice presenti e per il contenuto minerale totale. In generale i minerali in questi tessuti sono in forma cristallina con una composizione chimica e una struttura simile all'apatite di calcio. Tuttavia questi tessuti differiscono fra di loro per la forma e la grandezza dei cristalli, il livello e la distribuzione di altri ioni, e per le proprietà chimico-fisiche (solubilità). Questi elementi cristallini sono poi strutturati in modo diverso all'interno di ogni tessuto. Queste differenze nella composizione, organica e inorganica, e nella struttura dei tessuti mineralizzati portano a proprietà meccaniche, porosità e densità diverse, che riflettono le loro diverse funzioni biologiche.

DENTINA

- Principale componente della parte interna del dente
- Più soffice dello smalto, con una struttura simile all'osso.
- Elastica, comprimibile, sensibile agli stimoli in quanto contiene dei sottili tubuli in tutta la sua struttura che la connettono al nervo centrale che si trova nella polpa.
- Tessuto “vivente”.
- Determina la grandezza e la forma del dente.
- Formata da cellule specializzate chiamate odontoblasti. Contiene il 70% di minerali (principalmente idrossiapatite), il 20% di composti organici (collagene I e proteine) e il 10% di acqua (in peso).
- La sua composizione e struttura le permette di assorbire i carichi funzionali che provengono dallo smalto senza fratturarsi.



La dentina contiene una complessa organizzazione di tubuli di circa $1 \mu\text{m}$ di diametro, che contengono i processi cellulari degli odontoblasti e liquido. Si ritiene che abbiano un ruolo nella funzione neurosensoriale.

Sotto le gengive, la dentina della radice è coperta da uno strato sottile di cemento, e non di smalto. Il cemento è una sostanza simile all'osso

FORMAZIONE DELLA DENTINA

Sono coinvolti molti geni che producono una matrice extracellulare complessa e molto organizzata.

La matrice viene processata e mineralizzata in un modo altamente controllato.

Il collagene di tipo I è il più abbondante. Interagisce con altre proteine iniziando e regolando il processo di mineralizzazione. Mutazioni nel **collagene di tipo I** o nelle proteine che interagiscono con lui portano alla **dentinogenesi imperfecta**.

Fra le altre proteine presenti nella dentina, la **sialofosfoproteina** si lega alle fibrille di collagene di tipo I e contribuisce alla regolazione della mineralizzazione su siti specifici del collagene.

Sembra che la mineralizzazione sia regolata da molecole idrofobiche e idrofiliche: le prime forniscono uno scheletro o una struttura da riempire (collagene nelle ossa) e le seconde sono coinvolte nella regolazione della nucleazione e crescita dei cristalli (fosforina nella dentina).

SMALTO

- La corona di tutti i denti è rivestita dallo smalto che protegge la dentina sottostante.
- Costituito per più del 95% da cristalli di apatite e per l'1-2% da proteine, il rimanente acqua.
- Ha una struttura unica altamente organizzata.
- Proprietà funzionali eccezionali, sostanza più dura nel corpo umano, perfino più dell'osso.
- La formazione dello smalto, amelogenesi, avviene a carico degli ameloblasti ed è il risultato di un processo extracellulare molto organizzato che regola la nucleazione, la crescita e l'organizzazione dei cristalli di minerale in formazione. La sua durezza è dovuta a bacchette di cristalli di calcio e fosfato strettamente impaccate in una matrice proteica. Lo smalto, una volta formato, non contiene cellule e presenta un basso turnover dei suoi minerali. Di conseguenza lo smalto maturo non è considerato un tessuto "vivente".

- Prima linea di difesa contro i batteri e lo stress costante dovuto alla masticazione.
- E' molto forte, ma anche friabile. Infatti lo strato inferiore di dentina, ricco di proteine, previene la sua rottura in quanto assorbe le forze di compressione.
- Il componente principale dello smalto e della dentina è l'idrossiapatite, costituita da calcio e fosfato. La differenza fra questi due tessuti è dovuta al contenuto proteico: 20% nella dentina e 1-2% nello smalto.

L'amelogenina non sembrava avere le caratteristiche adatte alla formazione di cristalli di idrossiapatite. Infatti è lunga circa 1/10 del collagene e non ha la forma a bastoncino dei cristalli di idrossiapatite dello smalto.

STUDI IN VITRO. L'amelogenina forma spontaneamente sfere di circa 20 nm di diametro. Ogni sfera è formata da circa 24 catene di proteina. Queste nanosfere si uniscono a formare catene, e poi le catene si allineano a formare dei micronastri, lunghi alcune centinaia di micron e larghi circa 30 μm . La forma dei micronastri è in perfetto accordo con i cristalli dello smalto. L'immersione di questi micronastri in una soluzione di idrossiapatite ha portato alla formazione di cristalli di apatite molto ordinati lungo la lunghezza dei micronastri.

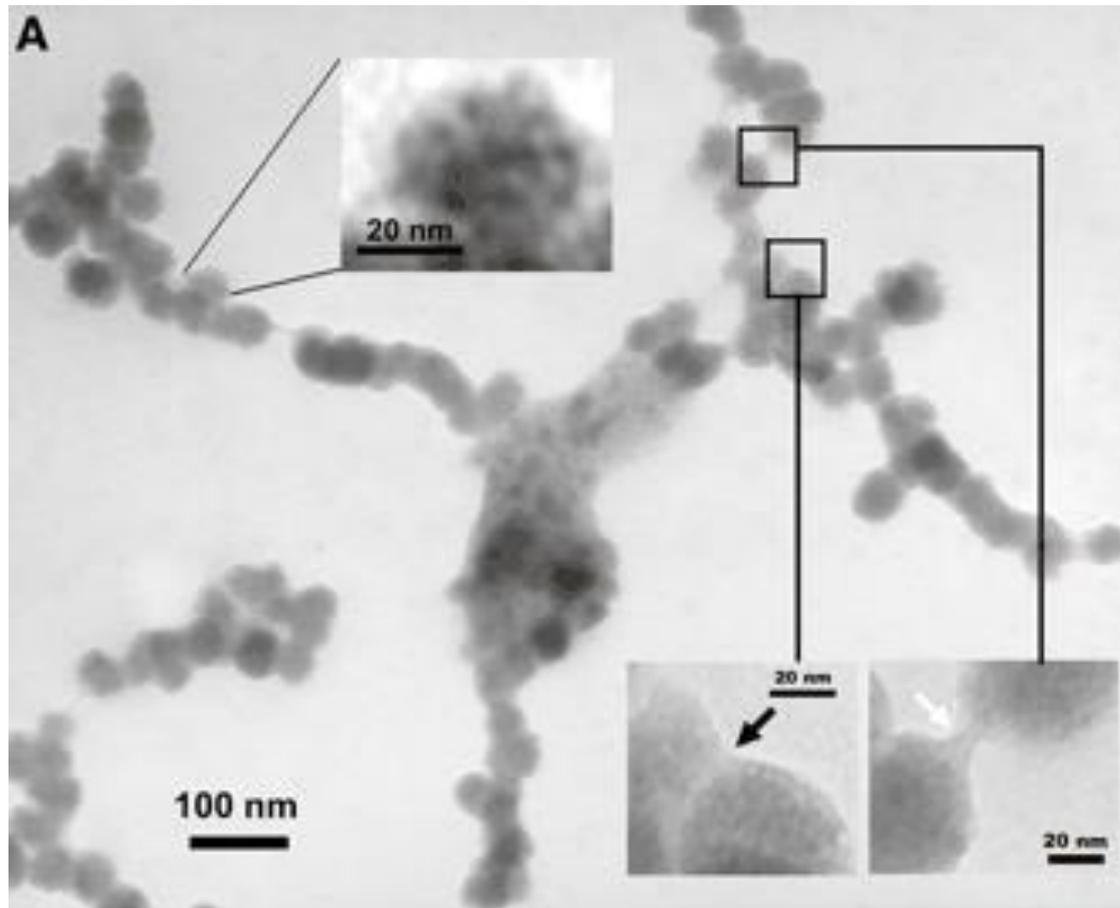
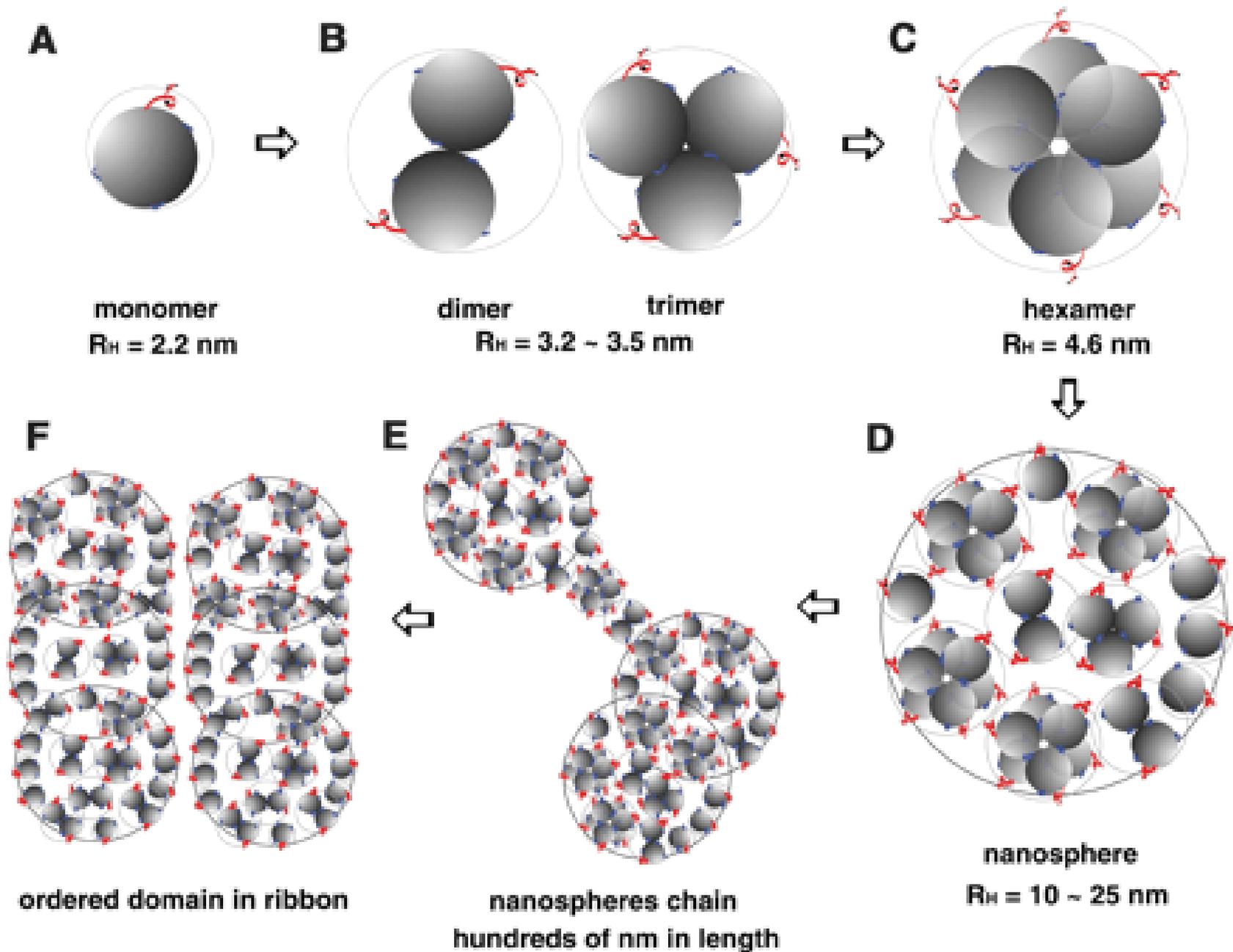


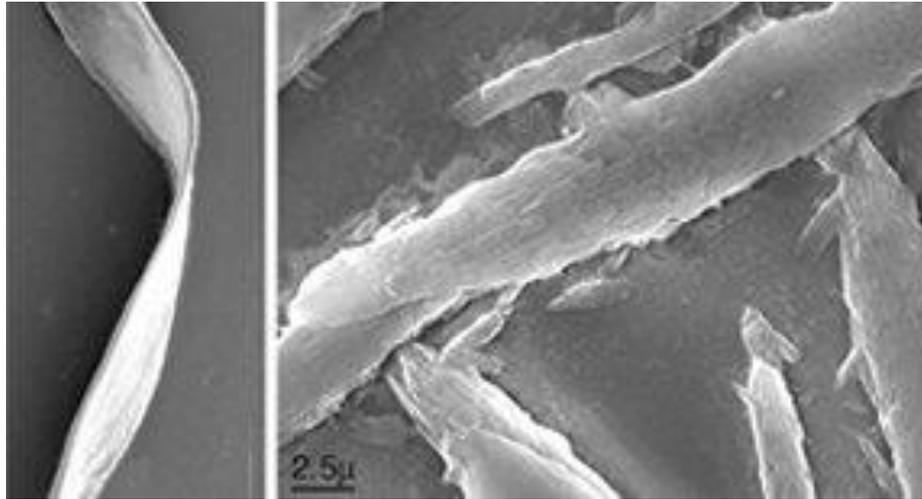
Immagine al microscopio elettronico a scansione delle nanosfere di amelogenina durante l'organizzazione in micronastri.

Modello per l'assemblaggio dell'amilogenina.

(A) La struttura terziaria conserva una struttura bipolare, con la coda C-terminale idrofilica (coda rossa) flessibile ed esposta sulla superficie. **(B e C)** oligomerizzazione dell'amilogenina mediante interazioni idrofobiche. **(D)** L'associazione di oligomeri e monomeri porta alla formazione delle nanosfere. **(E)** L'associazione delle nanosfere (10-15) è facilitata da un aumento della concentrazione di amilogenina e per aggiunta di composti idrofobici. **(F)** La natura bipolare delle molecole può facilitare la formazione o la riorganizzazione delle catene a costituire un nastro.



La struttura primaria dell'amelogenina può essere distinta in tre regioni: N-terminale ricco in Tyr, regione centrale idrofobica e C-terminale carica negativamente e idrofilica. Queste caratteristiche strutturali sono conservate in specie diverse, suggerendo quindi un ruolo importante nell'amelogenesi. La proteina è scarsamente solubile in acqua. La parte C-terminale è orientata verso l'esterno delle nanosfere. Gli ioni Ca^{2+} possono così legarsi a questa coda carica negativamente iniziando quindi la formazione dei cristalli simultaneamente in più punti del micronastro.



Durante lo sviluppo del dente, l'amelogenina si assembla in micronastri (sx). Questi ultimi servono come stampi per la formazione e crescita dei cristalli di idrossiapatite

Science News, Volume 167, No. 20, May 14, 2005, p. 312

CARIE DENTALE

cavità dentale o decadimento del dente

caries dal Latino = decadimento

distruzione locale dei tessuti del dente con demineralizzazione

Nelle fosse e fessure di premolari e molari, la fermentazione batterica dei residui di cibo porta alla produzione di acido

batteri

Streptococcus mutans

Proliferano a causa di:

- diminuzione del flusso di saliva
- il pH della placca scende a < 5
- formano destrano e causano la formazione di una placca appiccicosa, che intrappola batteri, calcio e ioni fosfato

EFFETTO DEGLI ACIDI

L'idrossiapatite si trova in equilibrio nella seguente reazione:



Poiché il valore di K_{ps} è molto piccolo, viene favorita la reazione verso sinistra. Questo previene la solubilizzazione dello smalto. Tuttavia il cibo che noi mangiamo è spesso acido, i protoni sono neutralizzati dagli OH^- e quindi l'acidità favorisce la dissoluzione del minerale.



Zuccheri introdotti con la dieta abbassano il pH nella bocca, perché i batteri che vivono nella bocca utilizzano lo zucchero e producono acido lattico. Questo causa la demineralizzazione dello smalto, che a sua volta permette ai batteri di invadere più profondamente lo smalto.

Saccarosio e carie

- disaccaride a basso peso molecolare
- rapidamente metabolizzato dalla flora della placca batterica.
- la fermentazione del saccarosio produce acido lattico
- abbassamento del pH, a 5,0 o inferiore, nel punto di interfaccia tra placca e smalto.

Altre cause di carie dentale

- scarsa igiene orale
- masticazione del tabacco
- esposizione a piombo e cadmio (metalli che possono sostituire il calcio)
- iodio è in grado di penetrare nello smalto, nella polpa dentale e nei tessuti parodontali.
- alimentazione frequente abbassa il pH

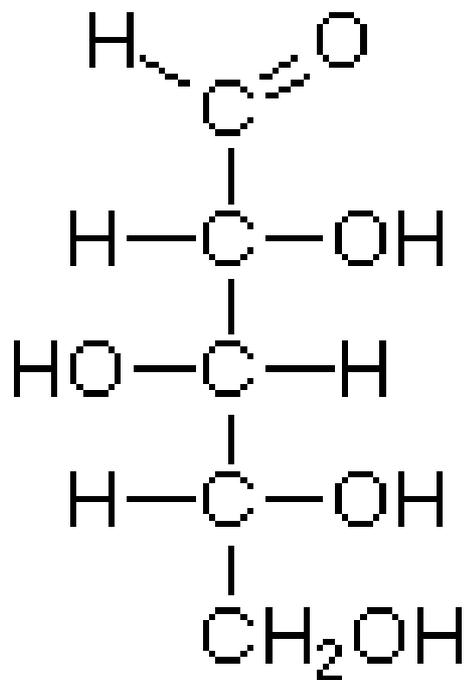
EFFETTO DELLO XILITOLO

La carie è il risultato di un effetto combinato di batteri e zucchero. Alcuni batteri, *Streptococcus mutans* è uno dei peggiori, aderiscono alla superficie dei denti grazie alla struttura della loro parete cellulare. Ogni boccone di cibo che contiene saccarosio fornisce ai batteri nutrienti; di conseguenza si moltiplicano e producono acidi mediante i processi metabolici. Questo conduce al famoso “attacco acido”. Quando il pH di questa massa di batteri (placca) cade sotto a 5.5, i sali di calcio e fosfato cominciano a sciogliersi dalla superficie dello smalto. La formazione di una cavità avviene molto lentamente all’inizio. Dopo aver mangiato dello zucchero ci vuole circa ½ ora prima che il pH della placca ritorni al valore di circa 7. Se si mangiano zuccheri più volte al giorno, i sali sono disciolti dallo smalto sempre più in profondità e lo smalto diventa poroso.

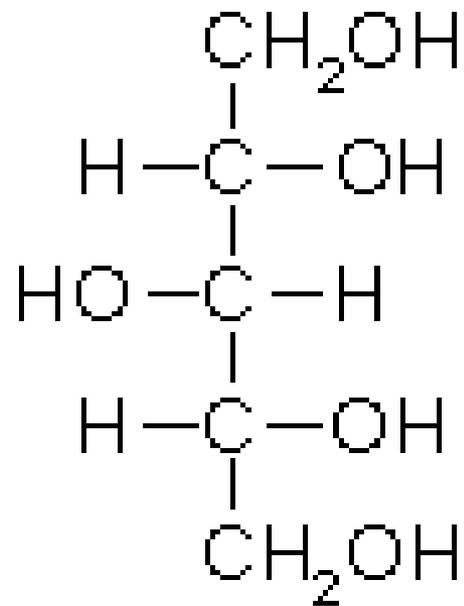
L'introduzione di xilitolo ferma l'attacco acido. I batteri sono incapaci di utilizzare lo xilitolo per il loro metabolismo e di conseguenza la loro crescita è ridotta. Il numero di batteri può scendere al di sotto del 90% e anche il pH non diventa acido. In presenza di xilitolo i batteri non aderiscono bene alla superficie dentale e la quantità di placca diminuisce.

La saliva ha un'azione protettiva della bocca e dei denti. La salivazione indotta dalla masticazione contiene tutti i componenti che servono per correggere la carie eventuale. La saliva che contiene xilitolo è più alcalina di quella stimolata da altri zuccheri. Quando il pH è a valori sopra il 7, i sali di calcio e fosfato che si trovano nella saliva precipitano in quelle parti dello smalto dove mancano.

L'importanza dello xilitolo per i denti fu scoperto all'inizio degli anni 70 in Finlandia, da scienziati dell'Università di Turku.



xilosio



xilitolo