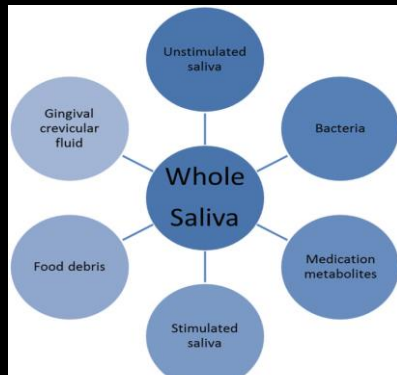


ПЛУНКАТА КАКО МЕДИУМ ВО МОЛЕКУЛАРНАТА ЛАБОРАТОРИСКА ДИЈАНОСТИКА

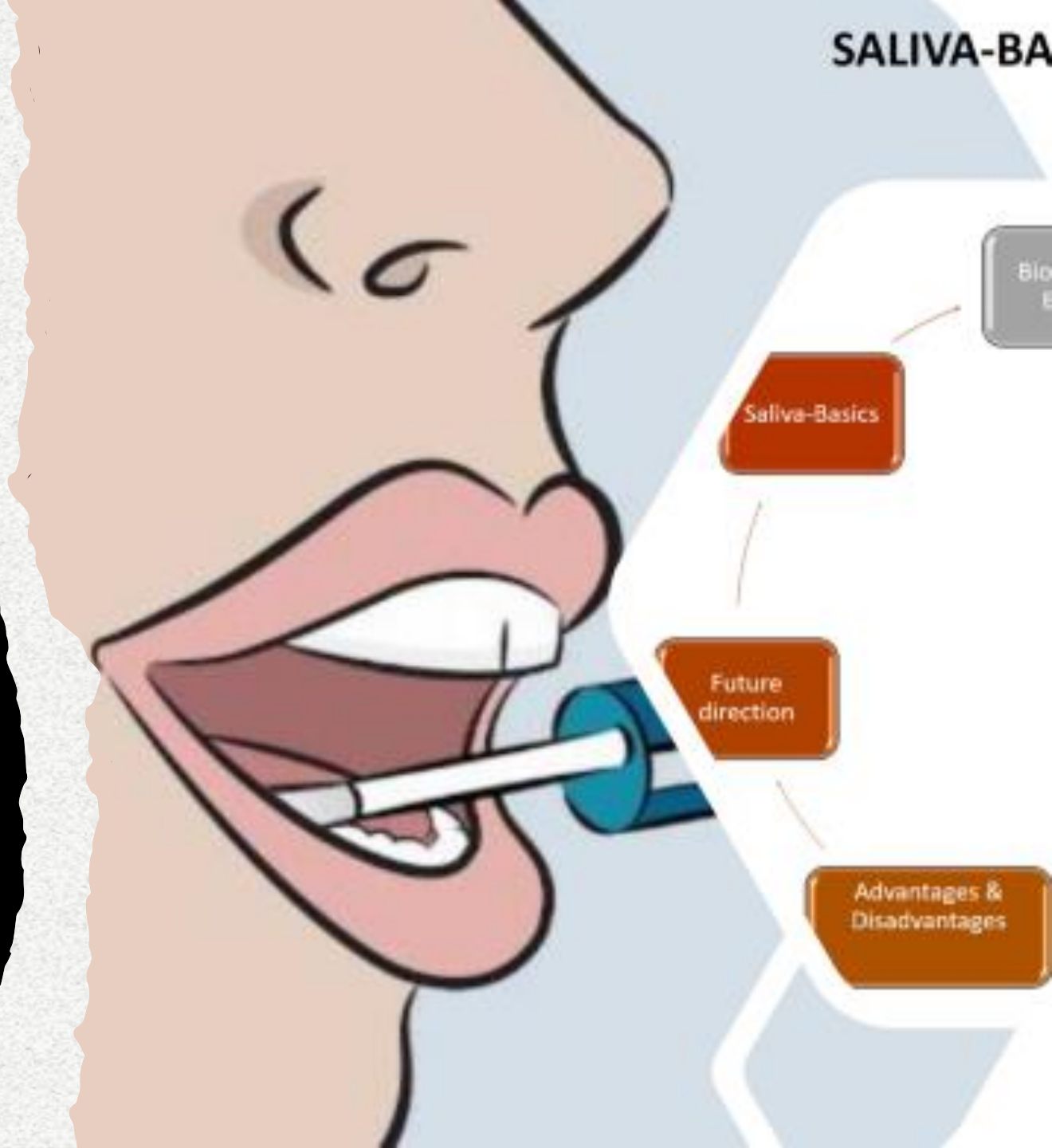
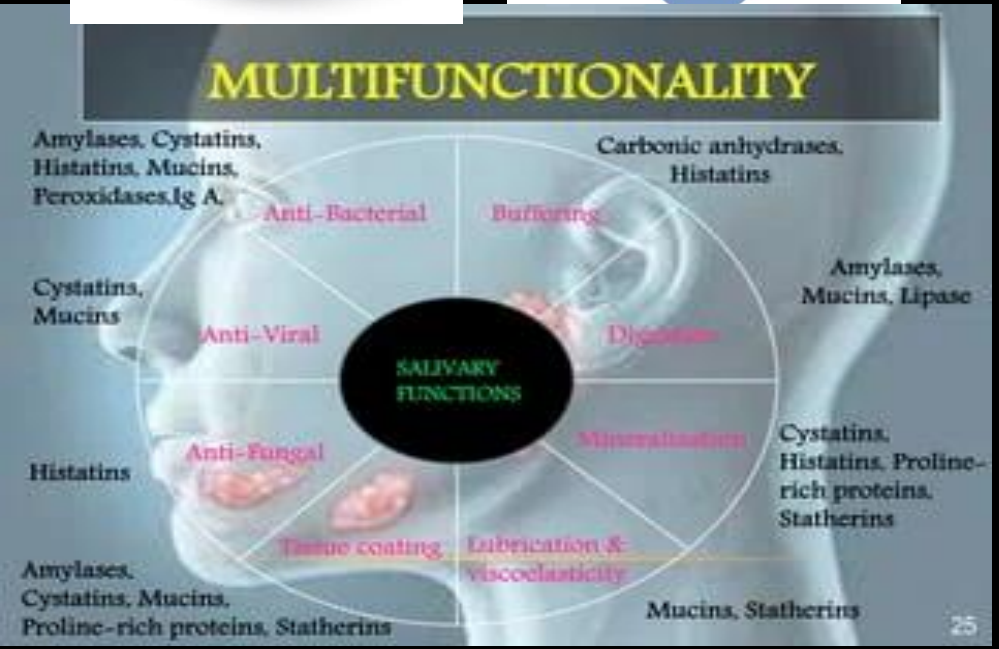
Проф. д-р Невенка Величкова, Факултет за медицински науки



51 Октомвриски средби со меѓународно учество, хотел Десарет, Охрид од 03-06 Октомври 2024г.



SALIVA-BA

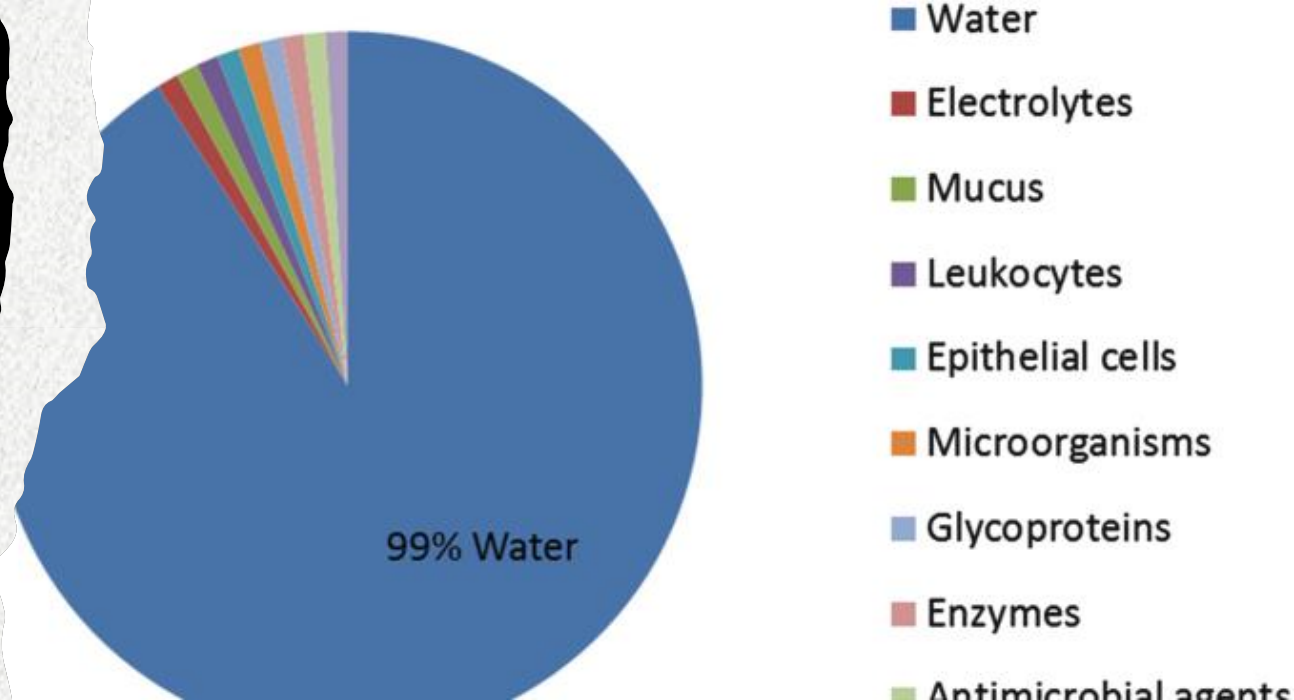
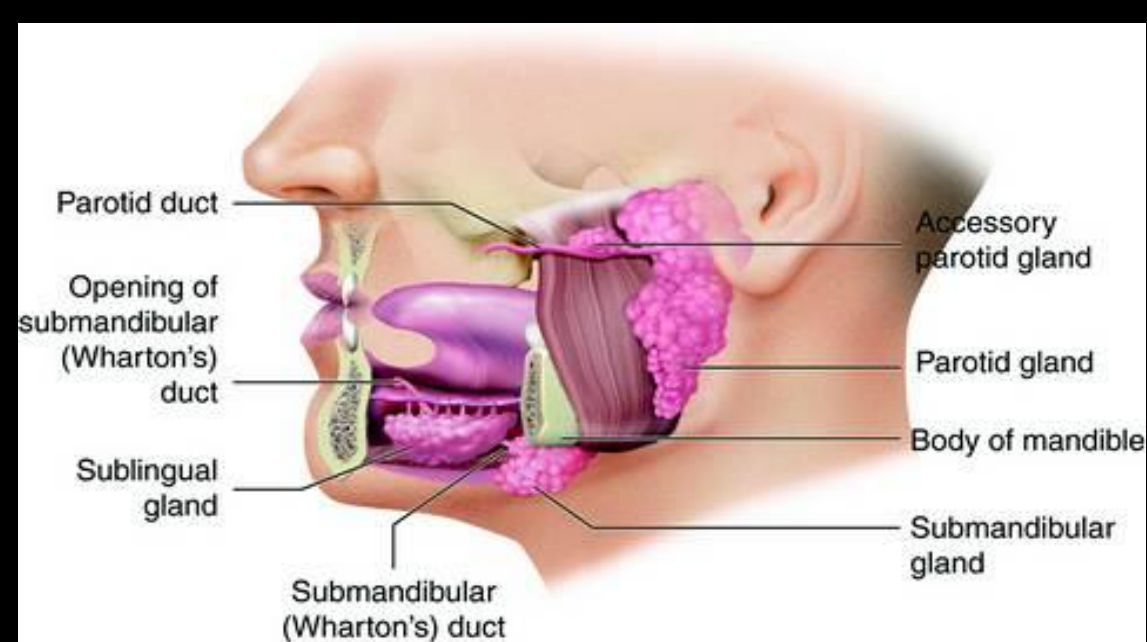


Saliva-Basics

Future direction

Advantages & Disadvantages

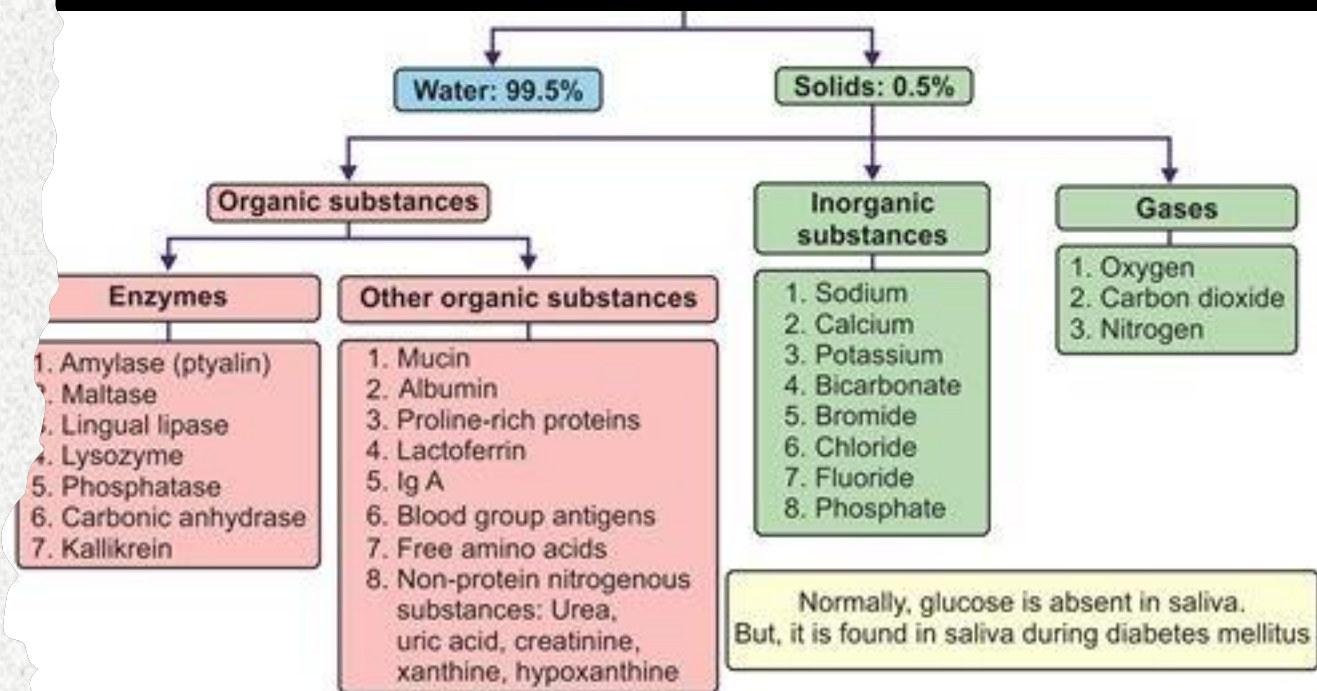


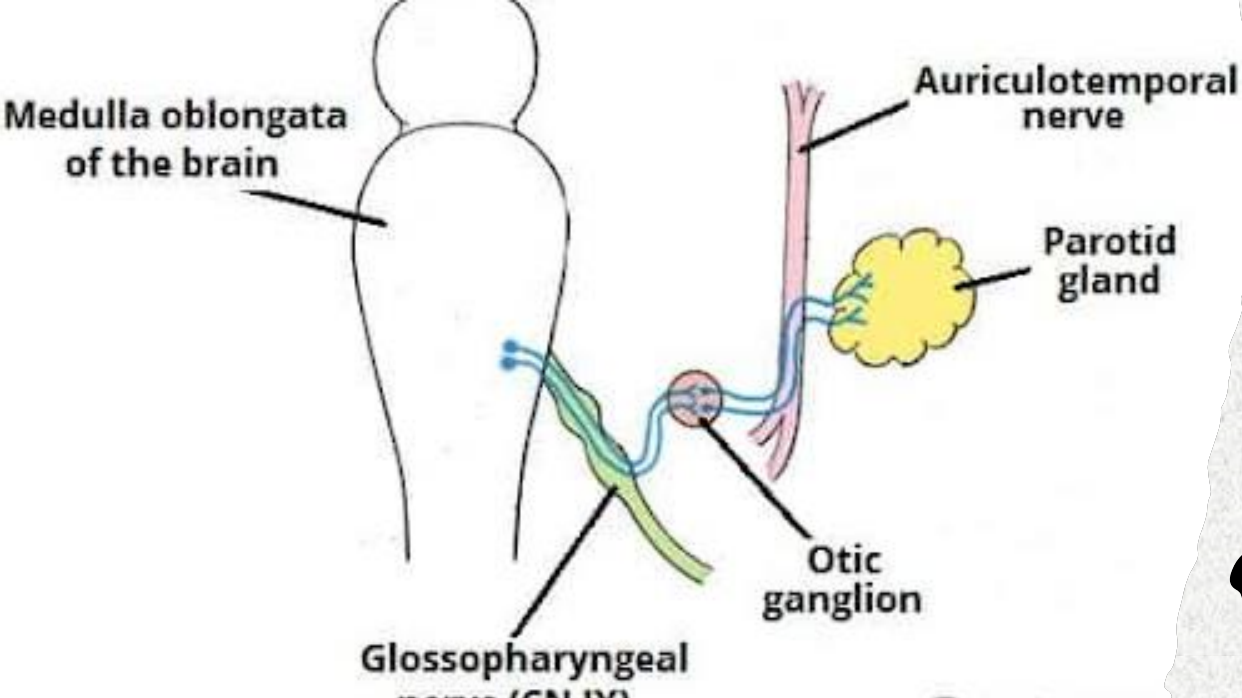


- слезеста, пенлива
- малку заматена течност
- без боја, мирис и вкус
- 1 до 1,5 литри
- слабо кисела до слабо базна (неутрална)

Одредувањето на pH

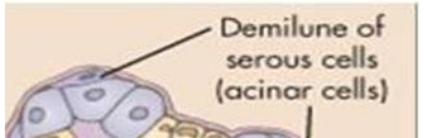
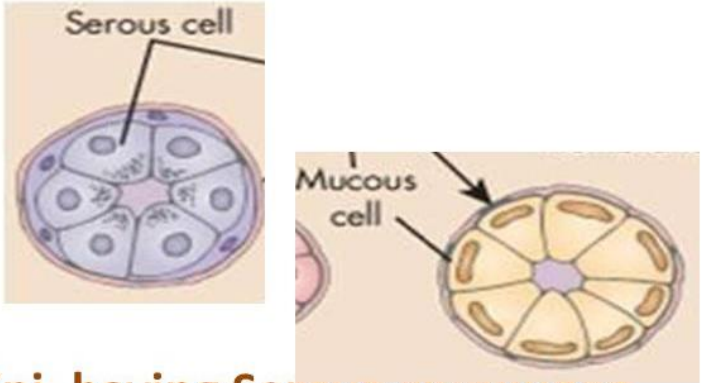
електрометриско и со помош на индикатори





Mixed salivary gland

- **Serous Acini**
- **Mucous Acini**
- **Seromucous Acini- having Serous acini**



НАЈЧЕСТИ МЕТОДИ КОИ СЕ КОРИСТАТ ЗА КОЛЕКЦИОНИРАЊЕ НА ВКУПНАТА ПЛУНКА

методот на истекување (исцрпување, дренажа)-draining method

методот на исплукување-spitting method

вшмукување (аспирација)-suction method

впивање со помош на стапчиња (absorbent)метод

најчести стимулуси

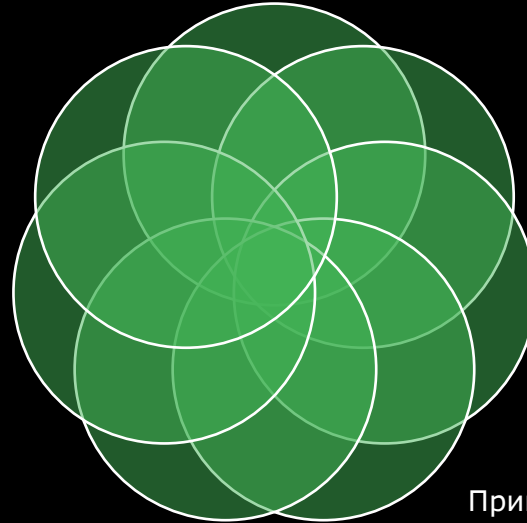
се џвакањето на парафинско топче или гума за џвакање (механичка стимулација)

лимонската киселина како густативен стимулус

Комерцијално достапен апсорбирачки систем –

се применува за испитување на медикаменти, хормони или мониторинг на стероиди

Добиената течност (флуид) потоа се користи за анализа



Salivette method (Sarstedt, Numbrecht, Germany)

со џвакање на памучно или на волнено крпче

Примерокот плунка за испитување се добива со враќање на крпчето во Salivette системот и центрифугирање на садот

испарувањето на примерокот да е минимално за време на колекциониот период

кај пациентите со ксеростомија се препорачува spitting (исплукување)

Методот со аспирирање и апсорбирачкиот метод не се препорачуваат за колекција на нестимулирана плунка

Draining и *spitting* методот обезбедуваат сличен и речиси најточен проток на вкупната нестимулирана салива

методот на исплукување најчесто се препорачува за колекционирање на нестимулирана плунка

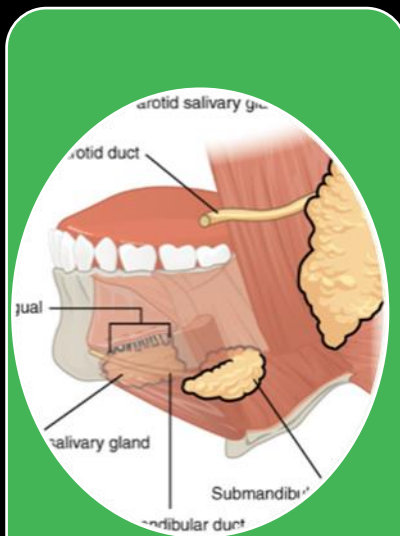
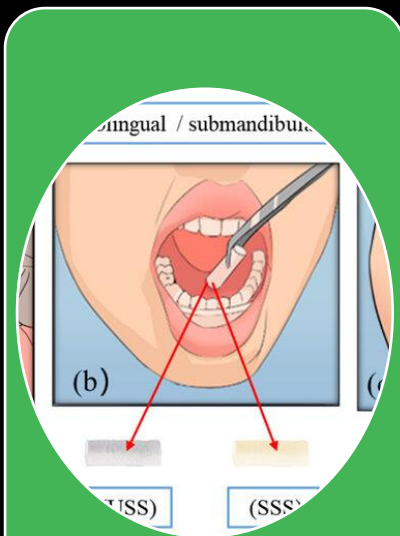
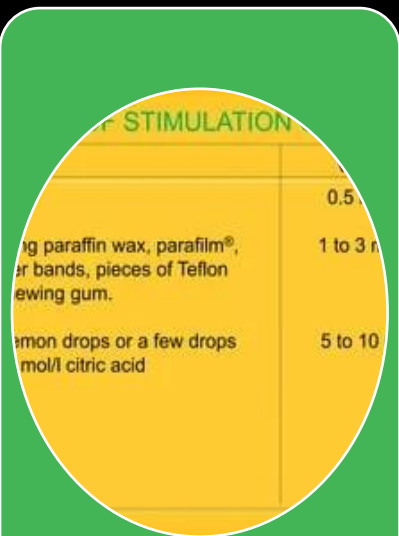
Which of These Common Mistakes in Collections Are You Making?



 paystand

Whole Saliva Flow Rates (ml/min)

	NORMAL FLOW RATES	ABNORMAL FLOW RATES
UNSTIMULATED (RESTING) WHOLE SALIVA	0.3-0.4 ml/min	<0.1 ml/min
STIMULATED WHOLE SALIVA	1-2 ml/min	<0.5 ml/min



Стимулираната мешана плунка наједноставно се добива со механичка стимулација, која се постигнува со цваќање на парафински топчиња или мека гума

Плунката се собира најмалку пет минути, но се препорачуваат 10 минути (особено кај здравите контролни испитаници, бидејќи периодот од 5 мин. може да биде недоволен за точно одредување на саливарната секреција и нејзиниот состав)

Секретот (плунка) од паротидната плунковна жлезда е наједноставен за колекционирање

Отворот на изводниот канал (*ductus Stenoni*) на паротидната жлезда е пристапен и лесен за манипулирање, па често при колекционирањето на него се аплицира Lashley или Carlsson-Crittenden колектор.

Papilla Stenoni е локализирана на букалната лигавица во висина на првиот/вториот максиларен молар

При колекционирањето, тенко цевче може да се вметне во дуктусот преку отворот на Стеноновата папила



Улогата на електролитите



Методи за одредување на електролити во плунката

центрифугираат, замрзнат и да се чуваат на соодветна температура

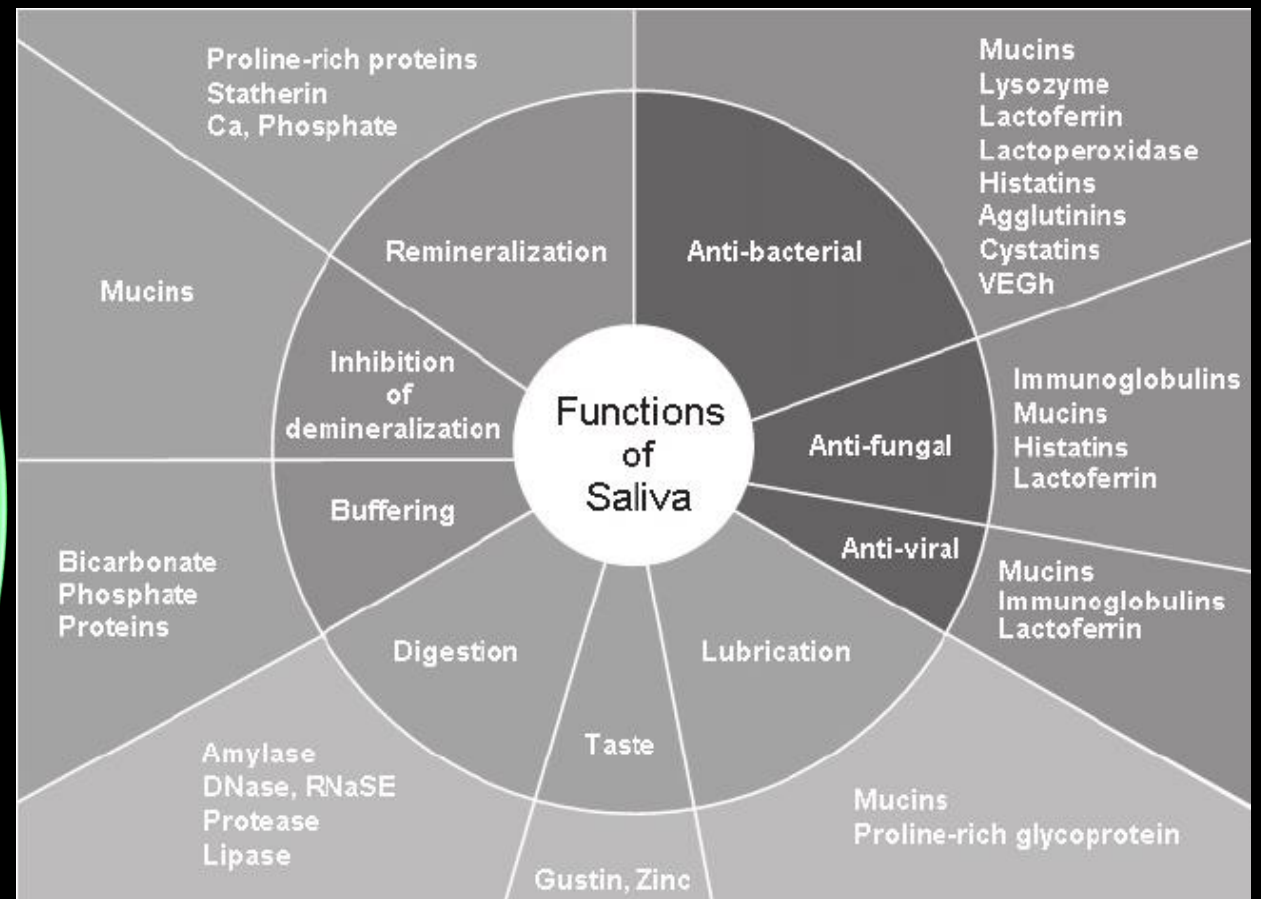
Концентрацијата на Са треба да се одредува веднаш после собирањето на примероците плунка, бидејќи Са е лабилен или е склон на преципитација

Неорганскиот фосфор се одредува спектрофотометриски, со примена на амониум-молибдат

Со центрифугирањето на примероците на плунка, содржината на флуоридите се намалува до 15%, а замрзнувањето не влијае на нивото на овој електролит

Нивото на нитратите и нитритите во свежите примероци плунка може значително да се намали, затоа што нив ги користат бактериите. Со користењето на бази се стабилизира нивото на нитратите и нитритите во текот на две недели на собна температура

Со заматувањето на примероците плунка не може да се одреди нивото на тиоцијанати и хипотиоцијанати со спектрофотометриски метод. Нивото на овие електролити се намалува кога плунката се чува неколку часа на студено.



Одредување на вкупните протеини

Квантитативно

најчесто се користи Биуретскиот метод

Методот се темели на реакцијата помеѓу пептидните врски и јоните на бакар во алкална средина, при што се добива комплекс обоен со виолетова боја

спектрофотометар

Квалитативно

**радијална имунодифузија и
микроимуноелектрофореза**

Со овие имунолошки методи може да се одреди и активноста на лизозимот



Примероците на плунка треба да се колекционираат секогаш во исто време од денот, по можност помеѓу 9:00 и 11:00 часот

Пациентот да се воздржува од јадење и пиене барем 90 минути пред колекционирањето

Ако е можно, да се прекине употребата на медикаменти кои можат да влијаат врз секрецијата на плунка, најмалку 1 ден или подолго

Да се исплакне устата со дејонизирана вода пред колекционирањето

Испитаникот треба да седи удобно, со отворени очи, главата да е навалена благо кон напред



- 採檢對象使用時先從Salivette中取出棉團咀嚼大約45秒。
- 唾液因此被活化並被棉團吸收，將棉團放回Salivette以確保檢體可安全儲存。
- 經短暫的離心後可收集到0.5~1.5毫升的唾液。

најмалку 30 минути пред земањето на плунката, пациентот не треба да ги мие забите, не треба да зема храна или било каква течност, ниту пак да џвака мастика за џвакање

Примероците од плунката се земаат со помош на специјални епрувети SALIVETE SARSTEDT (Germany), кои се состојат од повеќе делови

Основниот дел е пластична епрувета, во која е сместен подвижен перфориран пластичен додаток. Во додатокот се наоѓа памучна или полиестерска влошка, која се поставува под јазикот на пациентот во временски интервал од 30-45 секунди

Salivette®

Hygienic saliva collection for diagnosis and therapy monitoring



 SARSTEDT

нестимулираната плунка - памучната влошка не содржи хемиско средство

Стимулираната плунка - содржи хемиско средство за стимулирање на саливацијата (најчесто лимонска киселина)

да се внимава, бидејќи може да влијае врз резултатите на имунолошките анализа на хормоните (**лимонската киселина реагира со антителата**)

Кога памучната влошка ќе се натопи со плунка, истата се става во пластичниот перфориран додаток и епруветата се затвора со затварач

Центрифугирањето на примерокот на плунката се врши три минути на 3.000 вртежи во минута (плунката се ослободува од муцилот)

После центрифугирањето се вади пластичниот додаток заедно со памучната влошка, а епруветата со примерокот од плунката може да се замрзне до времето потребно за анализирање

I:
Collect
saliva

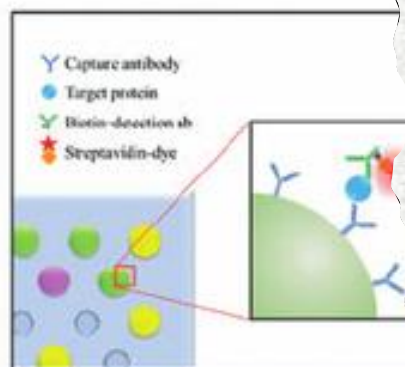
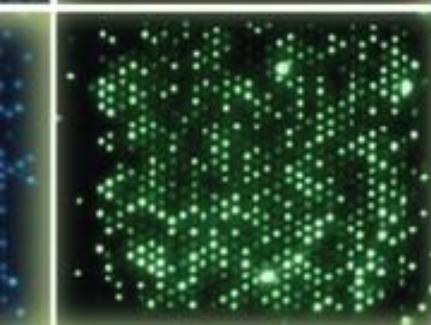
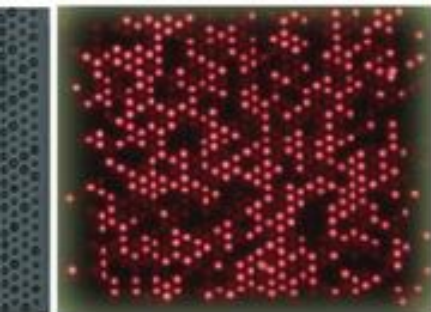


II:
Centrifuge
Saliva



V:

Automated multiplexed protein profiling
microspheres and sandwich immunoassay



VI:

Automated signal output
and image analysis

Замрзнувањето на примероците на плунката го спречува деградирањето на молекулите, како и растот и размножувањето на бактериите

Концентрацијата на електролитите се менува после центрифугирањето и замрзнувањето на примероците од плунката

Калциумот е "лабилен" и има склоност да преципитира (Поради тоа концентрацијата на калциумот треба да се одредува веднаш!!)

Нивото на саливарните бикарбонати може да се менува во зависност од условите на собирање и на чување на примероците од плунката

Пуферскиот капацитет на плунката е стабилен 48 часа после собирањето на примероците (одредувањето на pH на плунката мора да се изврши веднаш после земањето на примероците или пак примероците треба да се замрзнат на -800)

периодичното замрзнување и одмрзнување на плунката не влијае врз концентрацијата на **саливарниот кортизол**

Концентрацијата на **прогестеронот** во плунката е стабилна 3 месеци на собна температура



предтретман на примероците на плунката, како што се **центрифугирањето** (за да се отстранат бактериите и клеточниот дебрис), собирањето и чувањето на примероците на соодветна температура

Потребно е **примероците плунка да се замрзнат**, за да се спречи деградацијата на молекулите, како и растот и размножувањето на бактериите. Ова е многу важно, бидејќи **бактериските ензими, како протеазите, може да разградат некои од саливарните протеини.**

Со чувањето на плунката на собна температура, во времетраење од една недела нивото на **IgA** во плунката, со примена на **ELISA** тестот, не се намалува значително

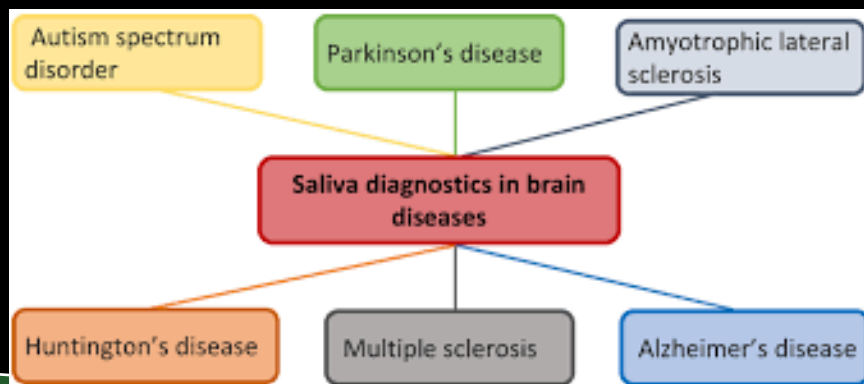
саливарната естераза / -20 °C

Активноста на саливарната пероксидаза се менува со заматување и центрифугирање на плунката, но таа останува стабилна, ако е замрзната и неколку месеци.

Протеазите се многу стабилни во плунката, а само некои од нив може да ја изгубат својата активност со долготрајното замрзнување на плунката на температура од -20 °C

Salivary Diagnostics:

What Can Your Saliva Reveal?



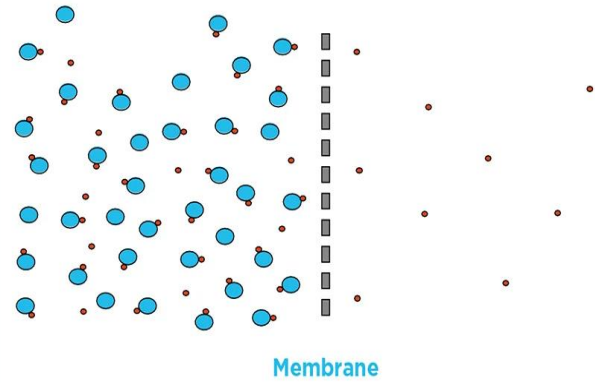
ZRT LCMS SALIVA STEROID PROFILE 7

Measures 7 endogenous steroid hormones
 LC-MS/MS is a highly sensitive technology for a more complete picture of hormone status, identification of synthetic hormones, and monitoring of hormone therapies

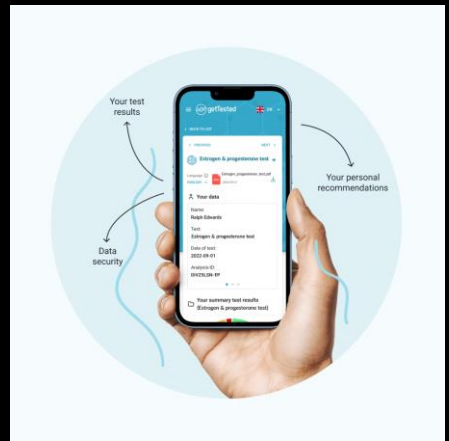


Blood
 Bound + free steroids

Saliva
 Free steroids



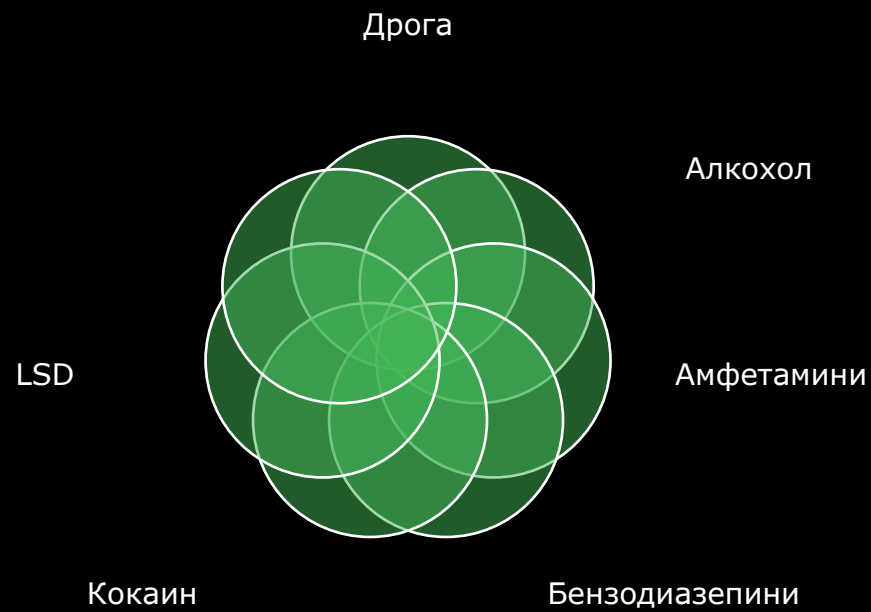
Blood	Saliva
<ul style="list-style-type: none"> Total steroid fraction Modified by binding proteins 95-98% of steroids biologically inactive Analytical problems at low concentrations 	<ul style="list-style-type: none"> Free steroid fraction Independent from binding proteins Biologically active hormone fractions Sensitive measurement by Luminescence immunoassay and ELISA.



ZRT BASIC SALIVA HORMONE PROFILE

Measures 5 hormones
 Basic assessment of reproductive and adrenal hormones





Non-invasive form of testing for substance abuse

- Tests for 7 Drugs
- Read Results in 10 Minutes
- Professional Accuracy
- Easy to Read Results
- Self-Testing CE Approved
- Used by Professionals

Drug-De

Multi-Drug-Test OF

10-20 min



предности

е без последици на трауматично искуствоприсутно при венепункцијата

Собирањето на плунката е многу едноставно, не се потребни посебни инструменти и обучен кадар

трансмисија на инфективни агенси значително се намалува

претставува идеален примерок од аспект на епидемиолошки студии со кои се опфаќа вонболничка популација.

возможно е повеќекратно земање

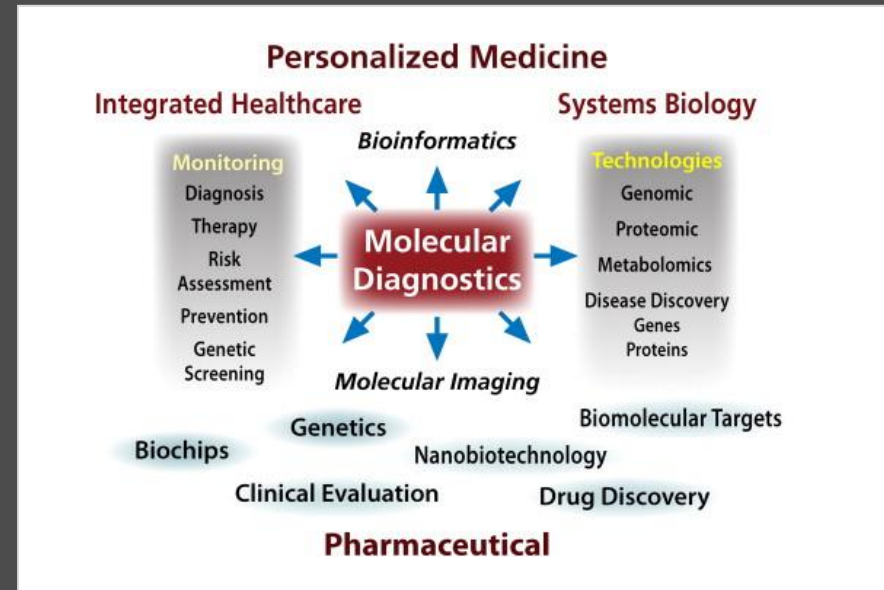
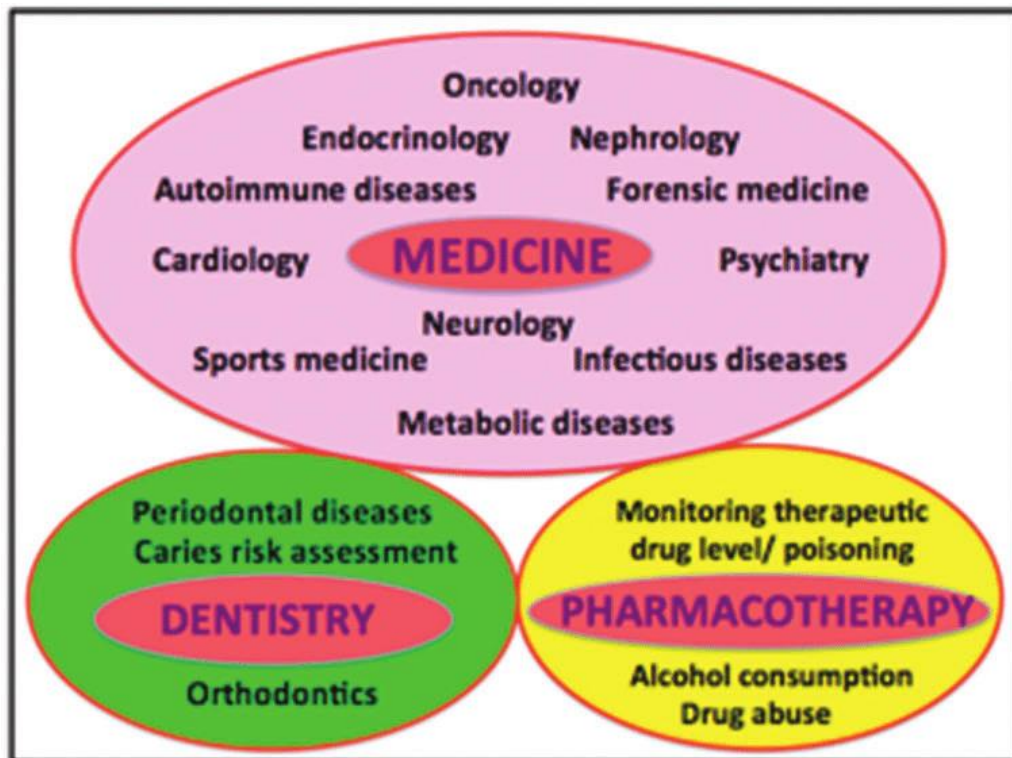
недостаток

како дијагностичка течност е што таа не претставува вистински одраз на концентрацијата на сите присутни параметри во крвта

голема вискозност, заради присуството на мукополисахаридите и мукопротеините.

Невозможно е или многу тешко е да се земе плунка кај пациенти кои заради различни причини имаат намалено лачење на плунката

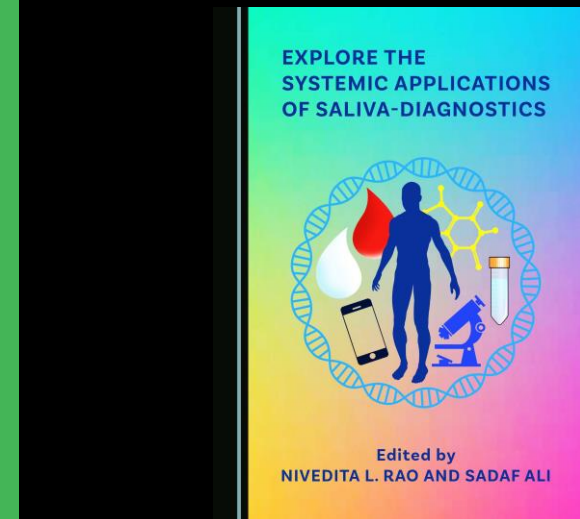
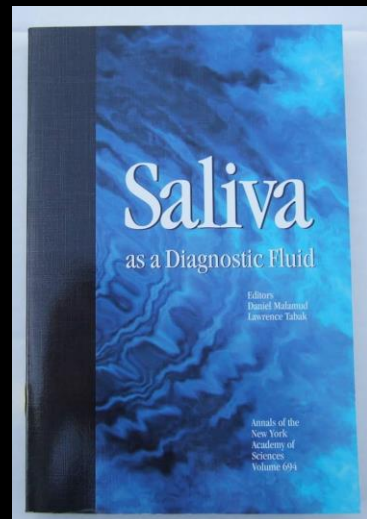
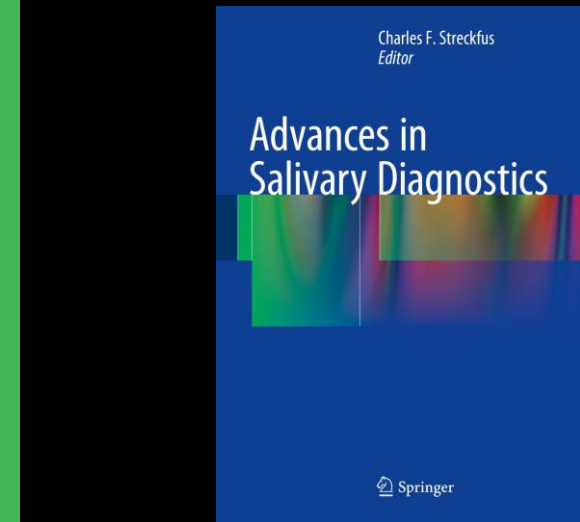
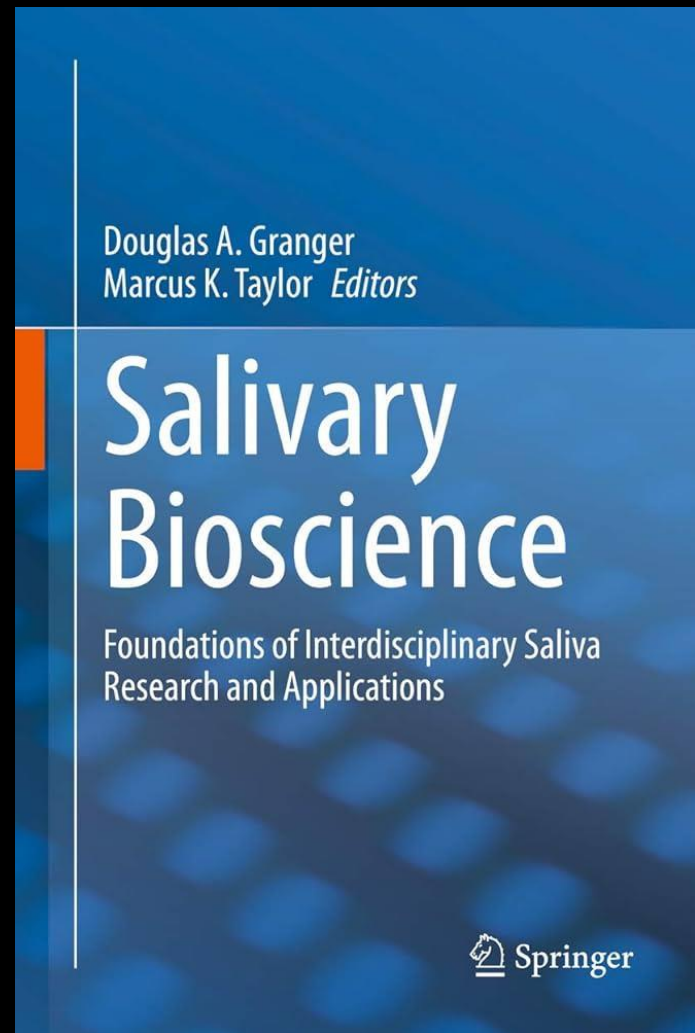
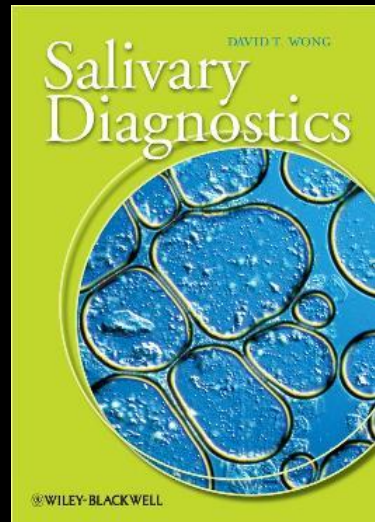
Без оглед на овие ограничувања плунката претставува дијагностичка течност на иднината



Saliva = The BODY'S MIRROR

Salivary diagnostic testing is poised to revolutionize the delivery of health and dental care by providing chairside, noninvasive, and portable disease diagnosis and health monitoring.

By David T. Wong, DMD, DMSc



pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39164607/

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

PubMed® Search

Review > Inflammopharmacology. 2024 Oct;32(5):3037-3056. doi: 10.1007/s10787-024-01526-8. Epub 2024 Aug 20.

Opiorphin: an endogenous human peptide with intriguing application in diverse range of pathologies

Chanchal Tiwari¹, Heena Khan¹, Amarjot Kaur Grewal², Sanchit Dhankhar¹, Samrat Chauhan³, Kamal Dua^{4,5}, Gaurav Gupta^{6,7}, Thakur Gurjeet Singh⁸

Affiliations + expand
PMID: 39164607 DOI: 10.1007/s10787-024-01526-8

Abstract
Mammalian zinc ectopeptidases have significant functions in deactivating neurological and hormonal peptide signals on the cell surface. The identification of Opiorphin, a physiological inhibitor of zinc ectopeptidases that inactivate enkephalin, has revealed its strong analgesic effects in both chemical

ACTIONS: Cite, Collections

SHARE: X, f, S

PAGE NAVIGATION: Title & authors, Abstract

pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35953876/

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

PubMed® Search

Please fill out this field.

J Eat Disord. 2022 Aug 11;10(1):118. doi: 10.1186/s40337-022-00637-3.

Expression of salivary immunoglobulins and their association with analgesic neuropeptide opioidin in anorexia nervosa during adolescence

Elzbieta Paszynska¹, Amadeusz Hernik², Agnieszka Slopian³, Yves Boucher^{4,5}, Marta Tyszkiewicz-Nwafo³, Magdalena Roszak⁶, Karolina Bilska⁷, Monika Dmitrak-Weglarz⁷

Affiliations + expand
PMID: 35953876 PMCID: PMC9367138 DOI: 10.1186/s40337-022-00637-3

Abstract
Background: Patients who suffer from anorexia nervosa (AN) are characterized by exceedingly lower body weight, micro- and macro-nutrient deficiencies, and hyposalivation as compared to healthy subjects. In addition, AN may predispose to difficulties in oral health maintenance. However, little is

FULL TEXT LINKS: Read free full text on BMC, Full text PMC

ACTIONS: Cite, Collections

SHARE: X, f, S

newscientist.com/teching/1022030-154-painkilling-saliva-beats-morphine/

NewScientist

Sign in Enter search keywords

News Features Newsletters Podcasts Video Comment Culture Crosswords | This week's magazine

Health Space Physics Technology Environment Mind Humans Life Mathematics Chemistry Earth Society

Subscribe now

Health

Painkilling saliva beats morphine

15 November 2006

MEN'S saliva has yielded a painkiller three to six times as powerful as morphine. The team that isolated the substance, dubbed opioidin, hope that it may spawn a new generation of painkillers without the negative addictive and psychological effects of morphine.

When Catherine Rougeot at the Pasteur Institute in Paris and her colleagues injected a pain-inducing chemical into rats' paws, 1 gram of opioidin per kilogram of body weight gave the same pain relief as 3 grams of morphine. More dramatically still, rats needed six times as much morphine as opioidin to feel the same level of pain.

medrxiv.org/content/10.1101/2017.06.09.17060925

Journal of Analytical & Pharmaceutical Research

ISSN: 2473-0831

Research Article

Evaluation of Analgesic Effect of Human Saliva

Sana Sarfaraz, Saïma Ramzan, Tanveer Iqbal, Waheeda Fatima, Ayesha Sabir, Wajaha Rizvi

Correspondence: Sana Sarfaraz, Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Jinnah University for Women, Karachi, Pakistan

Received: October 01, 2017 | Published: October 12, 2017

Citation: Sarfaraz S, Ramzan S, Iqbal T, Fatima W, Sabir A, et al. (2017) Evaluation of Analgesic Effect of Human Saliva. J Anal Pharm Res 4(3): 801-75. DOI: 10.15406/japir.2017.06.00175

Download PDF

newscientist.com/teching/1022030-154-painkilling-saliva-beats-morphine/

NEWS

New natural painkiller discovered

By SIMON HARRINGTON | 13 NOVEMBER 2006

A short peptide isolated from human saliva has potentially powerful painkilling properties

Researchers in France have discovered a natural painkiller in humans which is ten times as powerful as morphine. The compound, a short peptide of five amino acids, has been named opioidin. The researchers suggest it has potential therapeutic uses in reducing pain.

Catherine Rougeot and colleagues at the Institut Pasteur in Paris isolated opioidin from human saliva, having previously identified a similar potent pain inhibitor in rats.

Laboratory studies demonstrated that opioidin exerts its effects by inhibiting the activity of two enzymes, neuronal ectopeptidases, found on the outer membrane of nerve cells. It

businessinsider.com/health/human-saliva-is-six-times-stronger-than-morphine-2016-12/

BUSINESS INSIDER

VIDEO > SCIENCE

Human saliva is six times stronger than morphine

Gene Tressler/HealthShed | Dec 6, 2016

Researchers have discovered a natural painkiller that's six times more powerful than morphine, and it's produced by human saliva. It's called opioidin — here's what you need to know.

Follow Tech Insider on Facebook

Watch Next

◆ ◆ ◆ LAB ◆ ◆ ◆
TECHS

= like you are =

precious
& few

A big thank you
for all that you do!